

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

İMMÜN TROMBOSİTOPENİK PURPURA PATOGENEZİNDE VE
TEDAVİSİNDE Fc γ RIIB'NİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sedat ADAR

TRABZON - 2018

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**İMMÜN TROMBOSİTOPENİK PURPURA PATOGENEZİNDE VE
TEDAVİSİNDE Fc γ RIIB'NİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sedat ADAR

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Erol ERDURAN

TRABZON - 2018

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tezimin her aşamasında desteğini, hoŐgörösünü ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Erol Erduran'a, laboratuvar ortamının hazırlanmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr.Orhan Deđer'e, biyokimyasal çalıŐmaları yapan Sayın Doç. Dr. Selim Demir'e, istatistiksel analizlerin yapılmasında yardımcı olan Sayın Dr. Cevriye Ceyda Kolaylı'ya, uzmanlık eğitimim boyunca her konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, tez hastalarımın takiplerinde yardımları olan araŐtırma görevlisi arkadaşlarım ve ocuk servislerinde çalıŐan tüm sağlık personeline, tezimin hazırlanmasında maddi kaynak sağlayan KTÜ Bilimsel AraŐtırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne, varlıkları ile huzur kaynağım olan ocuklarım Ömer ve Ahmet ile eŐim Mehtap Adar'a, manevi desteklerini ve sevgilerini hep yanımda hissettiğim sevgili aileme teşekkür ediyorum.

Dr. Sedat ADAR

ÖZET

İMMÜN TROMBOSİTOPENİK PURPURA PATOGENEZİNDE VE TEDAVİSİNDE SERUM Fc γ RIIB DÜZEYİNİN ROLÜ

İmmün trombositopenik purpura (İTP) dolaşımdaki trombositlerin yıkımının artması ile karakterize, kendi kendini sınırlayan, çocukluk çağının en sık karşılaşılan edinsel trombositopeni nedenidir. Bu çalışmada çocukluk çağı akut ve kronik İTP hastalarında tedavinin serum Fc γ RIIb düzeyine etkisi ve Fc γ RIIb'nin İTP patogenezindeki rolü araştırılmıştır.

Çalışma prospektif olarak Nisan 2015-Şubat 2017 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalı'nda yapıldı. Çalışmaya yeni tanı 40 akut İTP hasta ile takipleri devam eden 14 kronik İTP ve 40 sağlam çocuktan oluşan kontrol grubu dahil edildi. Etik kurul onayı alındı (Dosya No: 2015/106 24237859, Sayı: 475).

Çalışmaya alınan hasta gruplarından akut İTP tanı hastalardan rastgele 20 tanesine ilk tedavi olarak yüksek doz metil prednizolon (YDMPZ) tedavisi (oral olarak üç gün 30 mg/kg/gün, dört gün 20 mg/kg/gün sabah saat 06.00'da), rastgele 20 kişilik diğer gruba intravenöz immünglobulin (İVİG) tedavisi (1 gr/kg/gün iki gün) verildi. İlk tedaviden sonra trombosit sayısı $\leq 20.000/\mu\text{L}$ olan hastalarda; YDMPZ tedavisi almışsa İVİG tedavisine, İVİG tedavisi almış ise YDMZ tedavisine geçildi. Bu süreçte hastalardan ilk tanı zamanında, ilk tedaviye cevap alınamamışsa tedavi değişikliği sırasında ve tedavi bitiminde ELİSA yöntemiyle serum Fc γ RIIb düzeylerine bakıldı. Yeni tanı 40 akut İTP hastasında, 14 kronik İTP hastasında (son bir aydır tedavi almamış olma şartı sağlanarak) ve 40 tane sağlıklı çocukta serum Fc γ RIIb düzeyleri bakıldı.

Çalışmaya alınan ve ilk tedavi olarak YDMPZ tedavisi verilen 20 hastanın 15 tanesinde (%75) tedaviye cevap alındı ve trombosit sayılarında istatistiksel olarak yükselme olmasına rağmen (p=0.001) serum Fc γ RIIb düzeyinde artış gözlenmedi (p=0.078). Akut İTP hastalarından 20 kişiden oluşan ilk tedavi olarak İVİG verilen grupta ise 13 hastada (%65) tedaviye cevap alındı. Bu grupta trombosit sayısında istatistiksel olarak artış olan hastalarda eş zamanlı olarak Fc γ RIIb serum düzeylerinde de istatistiksel olarak anlamlı artış gözlendi (sırasıyla p=0.002, p=0.002). Tedaviye cevap veren hastaların

tedavi öncesi ile tedavi sonrası bakılan serum Fc γ RIIb düzeyleri arasında anlamlı fark gözlemlendi (p=0.002).

Tedaviye cevapsız akut İTP olgularının tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum Fc γ RIIb düzeyleri açısından; kronik İTP ve sağlam çocuk grubundan farklı olmadığı görüldü (p=0.126). Tedaviye cevapsız olguların tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum Fc γ RIIb düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0.169). İTP hastalarında tedavi ile serum düzeyinde anlamlı artış sağlanamayan hastalar da trombosit sayısında da yükselme olmaması patogeneizde serum Fc γ RIIb'nin rolü olduğunu düşündürmektedir.

Tedavi olarak İVİG veya YDMPZ verilen hastaların uzun dönem takiplerinde her iki hasta grubunda birer hastada kronik İTP gelişti ve verilen ilk tedavinin hastalığın uzun dönem sonuçlarına etkisi olmadığı görüldü.

Anahtar sözcükler: İTP, Fc γ RIIb, İVİG, YDMPZ, patogeneiz, tedavi

SUMMARY

THE ROLE OF Fc γ RIIB IN THE PATHOGENESIS AND TREATMENT OF IMMUNE THROMBOCYTOPENIC PURPURA

Immune thrombocytopenic purpura (ITP) is the most common acquired thrombocytopenia of childhood, characterized by increased destruction of circulating platelets. In this study, we aimed to investigate the effect of treatment on Fc γ RIIb level in childhood acute and chronic ITP patients and the and serum level of this receptor in the pathogenesis of the disease.

The study was carried out prospectively between April 2015 and February 2017 in Karadeniz Technical University Medical Faculty, Department of Pediatrics, Pediatric Hematology and Oncology Division. Forty newly diagnosed acute ITP patients, 14 chronic ITP patients and 40 healthy children were included in the study. The ethics committee approval was obtained (Dosya No: 2015/106 24237859, Sayı: 475).

Patients with acute ITP were randomly assigned to either high dose methyl prednisolone (HDMPZ)(three days 30 mg / kg / day, four days 20 mg / kg / day at 06.00 am perorally) or intravenous immunoglobulin (IVIG) (1 gr/kg/day for two days) as the initial treatment. Initial drug was stopped if the patient's platelet count was detected as $\leq 20.000/\mu\text{L}$ and the patient was switched to the other regimen. The Fc γ RIIb serum levels were measured by ELISA method at baseline and end of treatment as well as at the interval of treatment switch. The Fc γ RIIb serum levels were measured and compared in 40 acute ITP, 14 chronic ITP patients (provided that they had not been treated for the last one month) and 40 healthy children.

A favorable response was obtained in 15 of 20 patients treated with HDMPZ as the first line treatment and there was no increase in Fc γ RIIb serum level although there was a statistically significant increase in platelet counts. Whereas, 13 out of 20 patients responded favorably to initial administration of IVIG as first line treatment of acute ITP. A statistically significant increase in Fc γ RIIb receptor expression was also observed simultaneously in patients with increased platelet counts in this group. There was a significant difference between pre-treatment and post-treatment Fc γ RIIb receptor levels in

all treatment responsive patients, and this difference was found to be due to the increase in Fc γ RIIb receptor expression in the patient group given IVIG.

Pre-treatment and post-treatment serum Fc γ RIIb levels of unresponsive acute ITP cases were similar to the levels in both chronic ITP and control groups. There was also no statistically significant difference between pre-treatment and post-treatment serum levels of Fc γ RIIb in cases unresponsive to treatment. The fact that the platelet count did not increase in patients who did not achieve a significant increase in serum Fc γ RIIb level after treatment showed the importance of Fc γ RIIb expression in the pathogenesis.

Long-term follow-up of patients treated with IVIG or HDMPZ showed that chronic ITP developed in one patient in both groups suggesting that initial treatment did not affect the long-term outcome of the disease.

Keywords: ITP, Fc γ RIIb, IVIG, HDMPZ, pathogenesis, treatment

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	II
ÖZET	III
SUMMARY	V
İÇİNDEKİLER.....	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Trombositopenilerin Sınıflandırılması.....	3
2.1.1. İmmün Trombositopenik Purpura (İTP)	7
2.3. Fc Reseptörleri.....	19
2.3.1. Fc Reseptörleri Hakkında Genel Bilgiler.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi ve Özellikleri.....	25
3.2. Araç, Gereçler ve Laboratuvar Yöntemleri	27
3.3 İstatistiksel Analiz.....	29
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA.....	38
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	46
7. KAYNAKLAR.....	49

TABLULAR DİZİNİ

Tablo I.	Çocuklarda trombositopeninin etiyolojik sınıflandırılması:	4
Tablo II.	Akut ve kronik İTP'nin özellikleri	12
Tablo III:	Akut-kronik İTP hastalarının ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet ve trombosit değerleri	31
Tablo IV.	İVİG ve YDMPZ tedavisine cevap veren akut İTP hastalarının tedavi öncesi ve sonrası trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri	32
Tablo V.	Tedavi öncesi ve tedavi sonrası İVİG tedavisine cevap veren akut İTP hastalarının; kronik İTP hastalarının ve kontrol grubu vakalarının trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri	33
Tablo VI.	YDMPZ tedavisine cevap veren akut İTP hastalarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası kronik İTP hastalarının ve kontrol grubunun trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri	34
Tablo VII.	Tedaviye cevap veren akut İTP hastalarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası, kronik İTP ve kontrol grubu vakalarının trombosit sayıları ile serum FcγRIIb düzeyleri.....	35
Tablo VIII.	Tedaviye cevap vermeyen akut İTP hastalarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası, kronik İTP hastalarının ve kontrol grubu vakalarının trombosit sayıları ile serum FcγRIIb düzeyleri	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1:** Aktive edici ve inhibe edici FcγR'lerin yapısı, hücresel dağılımı ve IgG izotipine bağlanma afinitesi 21
- Şekil 2:** FcR fonksiyonları..... 22
- Şekil 3.** Serum FcγRIIb seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan standart grafiği .. 29



KISALTMALAR

Ab:	Antikor
ANA:	Antinükleer Antikor
anti-ds-DNA:	<i>Anti double stranded Deoksiribonükleik Asit</i> (Çift sarmallı DNA antikor)
aPTT:	Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
APAS:	Antifosfolipid Antikor Sendromu
ASH:	<i>American Society of Hematology</i> (Amerikan Hematoloji Birliği)
ATP:	Adenozin Trifosfat
BCG:	<i>Bacillus Calmette-Guerin</i> (Verem aşısı)
CMV:	Sitomegalovirüs
C3, C4:	Kompleman 3, Kompleman 4
CVID:	<i>Common variable immuno deficiency</i> (Sık Değişken İmmün Yetmezlik)
DİK:	Dissemine İntravasküler Koagülasyon
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
EBV:	Ebstein Barr Virüsü
EDTA:	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
EGF:	<i>Endotelial Growth Faktör</i> (Endotelyal Büyüme Faktörü)
FcγRI (CD64):	Fc (fragment crystallizable-kristalize parça) Gama Reseptör 1
FcγRIIb (CD32):	Fc Gama Reseptör 2b
FcγRIII (CD16):	Fc Gama Reseptör 3
FcεRI:	Fc epsilon Reseptör 1
GIIB/IIIa:	Glikoprotein IIb/IIIa
HIV:	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> (İnsan immün yetmezlik virüsü)
HLA:	<i>Human Leukocyte Antigen</i> (İnsan doku uygunluk antijeni)

HÜS:	Hemolitik Üremik Sendrom
IFN-γ :	İnterferon-gamma
IL:	İnterlökin
ITAM:	İmmün reseptör tirozin esaslı aktivasyon Motifi
ITIM:	İmmün reseptör tirozin esaslı inhibisyon Motifi
İKK:	İntrakranial Kanama
İTP:	İmmün Trombositopenik Purpura
iv:	İntravenöz
İVİG:	İntravenöz İmmünglobulin
KİA:	Kemik İliği Aspirasyonu
MMR:	Kabakulak Kızamık Kızamıkçık aşısı
MPV:	Mean Platelet Volume (Ortalama trombosit hacmi)
MHC:	<i>Major Histocompatibility Complex</i> (Doku uygunluk kompleksi)
PT:	Protrombin Zamanı
RES:	Retiküloendotelyal Sistem
SLE:	Sistemik Lupus Eritematozus
TNF-α:	Tümör Nekrozis Faktör- α
TMB:	Tetrametil benzidin
YDMPZ:	Yüksek Doz Metil Prednizolon

:

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İmmün trombositopenik purpura (İTP), trombosit membran üzerindeki glikoprotein-IIb/IIIa (GpIIb/IIIa) ve GpIb/V/IX kompleksine karşı antikor oluşumu sonucu, antikorlarla kaplı trombositlerin retikuloendotelial sistem (RES) makrofajlarında bulunan Fc reseptörleri aracılı yıkımı ile ortaya çıkan düşük trombosit sayısı ve mukokutanöz kanama ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (1, 2). Artmış otoimmünite nedeni ile trombosit membran antijenine karşı oluşan bu antikorlar, RES makrofajlarında Fc reseptörler aracılı trombosit yıkımını hızlandırırlar (3).

İmmün trombositopenik purpura tanısı, trombositopenin eşlik ettiği diğer olası tanıların dışlanması ile konur. Klinik olarak eşlik eden başka bir hastalık, ilaç kullanım öyküsü ve trombositopeniye yol açabilecek diğer etkenlerin bulunmaması durumunda trombositopeninin saptanması, periferik yaymada trombositopeninin doğrulanması, gerektiği zaman yapılacak olan kemik iliği aspirasyonunda genellikle artmış megakaryositlerin görülmesi ile tanı koyulur (4).

İmmün trombositopenik purpura hastalarında sıklıkla 3 ay içinde spontan iyileşme olur. Hastaların çok az bir kısmında İTP devam eder ve semptomlar 3-12 ay arasında görülür. Hastaların yaklaşık %20'sinde 12 aydan fazla süredir trombositopenin devam etmesi ile kronik İTP gelişir. Başka bir sebep olmaksızın trombositopeni varlığı primer İTP olarak adlandırılmaktadır. Sekonder İTP ise ilaca bağlı, insan immün yetmezlik virüsü (HIV), Sistemik Lupus Eritamatozus (SLE), sık değişken immün yetmezlik (CVID), yanlış kan transfüzyonu veya bakteriyel, viral protozoal enfeksiyonlar gibi altta yatan bir sebebe bağlıdır. Hastalıkta klinik bulgular ile trombositopeninin ağırlığı her zaman bir paralellik göstermez (4-5).

Literatürde otoimmünitenin İTP patogenezindeki rolü ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı; yeni tanı akut İTP vakalarında tanı anında, intravenöz immunglobulin (İVİG) ve yüksek doz metilprednizolon (YDMPZ) tedavileri sonrası, tedaviye cevap veren ve vermeyen hastalar ile kronik İTP vakalarında, serum

Fc γ RIIb düzeyi çalışılarak Fc Reseptör ailesinden Fc γ RIIb serum düzeyinin dolayısıyla makrofajların hastalık patogenezindeki rolünü ortaya koymaktır.



2. GENEL BİLGİLER

Kan, plazma adı verilen sıvı kısım ile şekilli elamanlar olarak adlandırılan lökositler, eritrositler ve trombositlerden oluşmuştur. Hücrelerin %99'undan fazlasını eritrositler oluşturur ve kanın oksijen taşıyan hücreleridir. Lökositler vücudun bağışıklık sisteminde görevli olan hücreleridir. Trombositler ise hemostazda görevlidirler.

Trombositler dolaşım sisteminde primer hemostazdan sorumlu, kemik iliğindeki megakaryositlerden köken alan, dolaşımında bulunma süreleri yaklaşık sekiz gün olan, ortalama hacmi (MPV) $8.9 \pm 1.5 \mu\text{m}^3$ olan çekirdeksiz hücrelerdir. Kemik iliğindeki megakaryositlerin sitoplazmalarından ayrılan trombositler normalde 1-4 μm çapındadır. Trombositlerin 1/3'ü dalakta, 2/3'ü kan dolaşımında bulunur. Normal trombosit sayısı 150.000-450.000/ μL 'dir (6,7). Trombosit sayısının 150.000/ μL 'den düşük olması trombositopeni olarak tanımlanır. 100.000-150.000/ μL arasındaki değerler hafif düzeyde trombositopeni, 50.000-100.000/ μL arasındaki değerler orta düzeyde trombositopeni, 50.000/ μL altı değerler ciddi düzeyde trombositopeni olarak değerlendirilir (8). Trombositopeni için primer mekanizma azalmış yapım, artmış yıkım veya dalakta toplanmadır (9). Trombositopeni veya trombosit fonksiyon bozukluklarında peteşi, purpura, ekimoz, epistaksis, menoraji, hematüri, gastrointestinal sistem kanamaları ve nadiren intrakranial kanama görülür. Trombosit fonksiyon bozukluğu ya da trombositopeniler genellikle mukokutanöz kanamalar şeklinde ortaya çıkar ve primer hemostaz hastalıkları için ayırt edici bir özelliktir (10).

2.1. Trombositopenilerin Sınıflandırılması

Trombositopeni; trombositlerin yetersiz yapımına, aşırı yıkımına ya da anormal dağılımına (dalakta göllenme) bağlı olabilir.

Çocukluk çağında görülen trombositopenilerin etiyolojik sınıflandırılması Tablo 1'de görülmektedir (8).

Tablo I. Çocuklarda trombositopeninin etiyolojik sınıflandırılması:

- I. Artmış trombosit yıkımı:** Megakaryositik trombositopeniler (Kemik iliğinde megakaryositler normal veya artmıştır.)
- A. İmmun Trombositopeniler**
1. İdiopatik trombositopenik purpura
 2. Sekonder İmmun trombositopeniler
 - a. Enfeksiyonlara bağlı (viral, bakteriyel)
 - b. İlaça bağlı
 - c. Transfüzyon sonrası purpura
 - d. Otoimmün hemolitik anemi ile birlikte seyreden trombositopeni (Evans Sendromu)
 - e. SLE, Antifosfolipid antikör Sendromu (APAS)
 - f. Kemik iliği transplantasyonu
 - g. İmmün yetmezlikler
 - h. Lenfoproliferatif hastalıklar
 - i. Hipertiroidizm
 3. Neonatal immün trombositopeniler
 - a. Anedeki immün trombositopeniye bağlı neonatal immün trombositopeni
 - b. Neonatal alloimmün trombositopeni
 - c. Eritroblastozis fetalis (Rh uyumsuzluğu)
- B. Nonimmün Trombositopeniler:**
1. Trombosit tüketimine bağlı trombositopeniler:
 - a. Mikroanjiopatik hemolitik anemi: hemolitik üremik sendrom (HÜS), trombotik trombositopenik purpura
 - b. Dissemine intravasküler koagülasyon (DİK)
 - c. Virüslere bağlı hemofagositik sendrom
 - d. Kasabach-Merritt sendromu (dev hemanjiom)
 - e. Siyanotik konjenital kalp hastalığı
 2. Trombosit yıkımına bağlı trombositler
 - a. İlaçlar (ristosetin, protamin sülfat, bleomisin)
 - b. Enfeksiyonlar
 - c. Kardiyak (intrakardiyak defektin tamiri, prostetik kalp kapakçığı, sol ventriküler çıkış yolu obstrüksiyonu)

d. Malign hipertansiyon

II. Trombosit dağılım bozuklukları ve göllenme

1. Hipersplenizm (portal hipertansiyon, Gaucher hastalığı, infeksiyon, neoplazi)
2. Hipotermi
3. Polisitemi (konjenital siyanotik kalp hastalıkları)

III. Azalmış trombosit üretimi- etkisiz trombopoez (kemik iliğinde megakaryositler azalmış veya yoktur: amegakaryositik trombositopeniler)

A. Megakaryositlerin hipoplazisi veya baskılanması

1. İlaçlar (klorotiazid, östrojenler, etanol, tolbutamid)
2. Konstitüsyonel trombositopeniler
 - a. TAR (Trombositopeni ve radius yokluğu) sendromu
 - b. Konjenital amegakaryositik trombositopeni
 - c. Radio-ulnar sinostozla birlikte amegakaryositik trombositopeni
 - d. Korpus kallosum agenezisi sendromu ile birlikte trombositopeni
 - e. Rubella sendromu
 - f. Trizomi 13 ve 18
 - g. Paris-Trousseau sendromu
3. İnefektif trombopoez
 - a. Megaloblastik anemiler (folat ve vitamin B₁₂ eksikliği)
 - b. Ağır demir eksikliği anemisi
 - c. Ailesel trombositopeniler
 - d. Paroksizmal noktürnal hemoglobinuri
4. Kontrol mekanizması bozuklukları
 - a. Trombopoietin eksikliği
 - b. Siklik trombositopeni
5. Metabolik hastalıklar
 - a. Metil malonik asidemi
 - b. Ketotik glisinemi
 - c. Holokarboksilaz sentetaz eksikliği
 - d. İzovalerik asidemi
 - e. İdiopatik hiperglisinemi
6. Kalıtsal trombosit bozuklukları
 - a. Bernard-Soulier sendromu

- b. May Hegglin anomalisi ve diğer MYH-9 geni ile ilişkili hastalıklar
- c. Wiskott-Aldrich sendromu
- d. Saf cinsiyete bağlı trombositopeni
- e. Akdeniz trombositopenisi
- 7. Edinsel aplastik hastalıklar
 - a. İdiopatik
 - b. İlaçlara bağlı (Doz ilişkili: antineoplastik ajanlar, benzen, organik ve inorganik arsenik, mesantoin, tridion, antitiroidler, antidiabetikler, antihistaminikler, fenilbutazon, insektisidler, altın bileşikleri; idiyosenkrazi; kloramfenikol)
 - c. Radyasyon
 - d. Viral infeksiyonlara bağlı [(Hepatitler, HIV, Ebstein Barr Virüsü (EBV),

Sitomegalovirüs (CMV)]

B. Kemik iliğinin infiltrasyonu

- 1. Benign durumlar (depo hastalıkları)
- 2. Malign hastalıklar
 - a. Primer infiltrasyon: lösemiler, myelofibrozis, histiyositozis, osteopetrozis
 - b. Sekonder infiltrasyon: lenfomalar, nöroblastoma, diğer solid tümör metastazları

IV. Psödotalrombositopeni

- 1. Kan örneği alınırken trombosit aktivasyonu
- 2. Büyük trombositlerin sayılamaması
- 3. EDTA'ya bağlı in vitro trombosit aglütinasyonu
- 4. Trombosit glikoprotein reseptörlerini bağlayan abciximab, eptifibatide, tirofiban gibi monoklonal antikolar
- 5. Hiperlipidemi, paraproteinemi gibi durumlar

Çocuklarda trombositopeninin ayırıcı tanısı seçilecek tedaviyi etkileyeceğinden önemlidir. Trombosit yıkımına bağlı trombositopeniler, immun ve immun olmayan trombositopeniler olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar. İTP akut başlangıçlı trombositopeninin en sık nedenidir (11).

2.1.1. İmmün Trombositopenik Purpura (İTP)

İmmün trombositopenik purpura trombositlere karşı gelişmiş otoantikorların trombosit yıkımına neden olarak trombosit sayısında düşüklüğü ile seyreden otoimmün bir hastalıktır. Trombosit membranındaki GpIIb/IIIa ve GpIb/IX kompleksi antijenlerine karşı otoantikor üretimi vardır. Otoantikorlarla duyarlanmış trombositler RES’de yıkılırlar. İTP’nin patofizyolojik temeli, humoral yanıtın gecikmesine bağlı olarak trombosit yaşam süresi kısılmasıdır (8-10 günden 1-2 dk veya 2-3 güne düşer). Plazmada antitrombosit antikorlar bulunur. Kemik iliğinde genellikle megakaryosit artışı görülür. Bazen megakaryosit sayısı normal, hatta azalmış olarak da saptanabilir (12).

Çocukluk çağında en sık 2-6 yaşları arasında gözlenmekte, 10.000 çocukta 1 insidansla görülmektedir. Kız ve erkek çocuklarda görülme sıklığı yaklaşık olarak aynıdır. Çoğu hastada trombositopeni gözlenmeden önce viral enfeksiyon öyküsü bildirilmiştir ve otoimmün yanıtı bu enfeksiyonların tetiklediği öngörülmektedir. İmmün trombositopenik purpura sıklığının mevsimsel olarak en sık ilkbaharda ve en az sonbaharda görülmesi bu görüşü desteklemektedir. İTP bir yaşından önceki çocuklarda sıklıkla beklenmemekte ve bu da immün sistemin henüz olgunlaşmamış olmasına bağlanmaktadır. Neonatal immün trombositopeniler ise anne kaynaklı antikorlar gibi yabancı kökenli antikorlarca gerçekleşmektedir (12).

İmmün trombositopenik purpura görülen vakaların çoğunda EBV, CMV, HİV, kızamık, kızamıkçık, suçiçeği, kabakulak gibi birçok virüs enfeksiyonundan veya BCG, kızamık, kızamıkçık, kabakulak (MMR), suçiçeği gibi aşılarından 1 veya 4 hafta sonra trombosit yüzey antijenlerine karşı otoantikorlar geliştiği gösterilmiştir. Antitrombosit antikorlar hastaların %50-80’inde saptanır. %20 hastada antikor saptanmamış olup etiolojide başka mekanizmaların da rol oynadığı düşünülmektedir. Antikorlar sıklıkla IgG tipinde, daha nadiren IgA ve IgM tipindedir (12-14).

İmmün Trombositopenik Purpura Patogenezi

İmmün trombositopenik purpura’da trombosit yüzey glikoproteinlerine karşı oluşan otoantikorlar trombosit yıkımına ve trombosit üretim bozukluğuna neden olur. Patogenezi T lenfosit ilişkili sitotoksikite gibi otoantikorlardan bağımsız mekanizmalar da yer alabilir. Genel olarak İTP’de üretim ve yıkım arasındaki denge bozulmuş görünse de

trombosit sayısındaki düşüklüğe neden olan asıl neden dalaktaki makrofajlarda Fc aracılı otoantikör ilişkili artmış trombosit yıkımıdır (15). İTP’de en sık Gp IIb/IIIa (%43-57) ve GpIb/IX (%18-50)’a karşı otoantikör gelişir (16). Ciddi İTP vakalarında birden çok trombosit antijenine karşı antikör vardır (17). İTP patogenezinde rol oynayan mekanizmalar; B hücreleri, Fc γ R ve retiküloendotelial sistem, kompleman sistemi, T hücreleri, immün hücre olarak trombositler ve genetik farklılıklar olarak sayılabilir (18).

B hücreleri ve antitrombosit antikörler

B hücreleri tarafından üretilen antitrombosit antikörlerle kaplı trombositler RES’de makrofaj ve dendritik hücrelerce yıkıma uğratılmaktadırlar. Antikör-trombosit komplekslerinin bu antijen sunucu hücreler tarafından opsonizasyonu, trombositlerin hücre içi işlemlerini kolaylaştırır ve "yabancı" trombosit peptidleri dizisi olarak MHC II aracılığıyla T hücreleri tarafından sunuma yol açabilir. MHC II tarafından trombosit peptidlerinin sunumu T hücrelerini aktive eder ve trombosit yıkımıyla sonuçlanan antitrombosit aktivitenin artışına neden olur.

Otoantikörler sıklıkla GpIb/IX ve GPIIb / IIIa'ya karşı özgül olmasına rağmen diğer trombosit yüzey antijenlerine karşıda gelişebilir. Antitrombosit otoantikörlerin İTP patogenezinde merkezi bir rol oynadığı düşünülse de, bazı hastalarda teşhis anında tespit edilebilir bir antikör bulunmamaktadır. Bu durum trombositlere sıkı bir şekilde bağlanan antikörlerin mevcut laboratuvar teknikleri ile plazmada tespit edilememesi, boyut olarak küçük ve olağan dışı olmasından kaynaklanabilir. Bu nedenle antitrombosit antikörlerin tespit edilemediği bir hasta alt grubu kabul edilebilir Hastalığın ana patofizyolojisini oluşturan antikör aracılı otoimmünite ile uyumlu olarak, İTP’deki antitrombosit antikörlerin tipleri, titreleri ve muhtemel mekanizmalarında oldukça çeşitlilik vardır (18).

Fc γ R ve retiküloendotelial sistem

İmmün trombositopenik purpura’da, trombosit yüzey membran glikoproteinlerine karşı oluşmuş antitrombosit antikörler ile kaplı trombositler RES’deki monositik fagositik sistemde bulunan Fc γ R-içeren makrofajlar tarafından temizlenmektedir. Fc γ R’ler antikörlerin sabit Fc bölgesini bağlayan ve opsonizasyonla ilişkili monositik fagositik hücreler üzerinde bulunan reseptörlerdir. Fc γ R sistemi “aktivatör” (Fc γ RI, Fc γ RII ve Fc γ RIII) ve “inhibitör” (Fc γ RIIb) Fc γ Rler tarafından oluşturulur. Aktivatör reseptörler olan

Fc γ RII ve Fc γ RIIIa indirekt olarak antikor-kaplı trombositlerin fagositozunda görev alırlar (19). Hücre yüzeyinde inhibitör özellikteki Fc γ RIIb aktive olduğunda trombosit fagositozu durmakta trombosit sayısı korunmaktadır. İTP patogenezinde düşük düzeydeki inhibitör Fc γ RIIb'nin rolü olduğu gösterilmiştir (20-22). Bu nedenle, monositik fagositik hücrelerin üzerinde bulunan Fc γ Rlerin dengesi (aktivatör ve inhibitör) İTP'de Fc γ R-aracılı antikor-antijen kompleksinin temizlenmesi için aktivatör reseptörler yönünde olduğu gösterilmiştir(19).

Kompleman sistemi

Genel olarak hücre yüzey antijenlerine spesifik olarak bağlı olan antikorlar sadece dolaşımdan trombositlerin temizlenmesinde Fc γ R'lere aracılık eder. Trombositleri yıkım için görünür duruma getirebilir. Son yıllarda, İTP hastalarının plazmasında trombositlere karşı kompleman sisteminin aktive olduğu in vitro olarak gösterilmiştir(19)

T hücreleri

Normalde timusta, otoantijenleri tanıyan yüksek afiniteli olgunlaşmamış CD4⁺ T lenfositlerin programlı hücre ölümü gerçekleşir (timik delesyon-merkezi tolerans) (23).

Otoantijenik bir uyarı geliştiğinde, timik delesyondan kaçmış yüksek afiniteli CD4⁺ T lenfositler, antitrombosit antikor cevabını uyarabilir (24).

Yüksek afiniteli olgunlaşmamış CD4⁺ T lenfositler delesyondan kaçarsa toleransı sağlamak için periferik mekanizmalar aktifleşir. Periferde bu yüksek afiniteli CD4⁺ T lenfositler; yardımcı uyarıcı sinyallere ulaşamayınca (CD40-CD40 ligand veya CD28-CD80/86) kendiliğinden yok olur veya anerjik hale dönüşebilirler (25). Fas ve FasL aracılı apopitoz, CTLA-4 gibi membran moleküllerinin inhibitör etkisi ve CD4⁺CD25⁺ FoxP3 T lenfositler (Treg) sayesinde aktive olamadan baştan inhibisyona uğrattılır (26, 27). Periferik dokularda bulunan tüm bu tolerans mekanizmaları, otoreaktif T lenfosit inhibisyonuna katkı sağlar ve bu mekanizmalar çeşitli yollarla yetersiz kaldığında otoreaktif T lenfositler vücudun kendi antijenlerine saldırırlar. Tedavide; azatioprin, siklofosfamid ve siklosporin gibi immun baskılayıcı ilaçlar T lenfositleri baskılamak için kullanılırlar (28).

İmmün trombositopenik purpura patogenezinin sorumlu tutulan disfonksiyonel hücrel immunitede bu trombosit-spesifik otoreaktif T lenfositler rol oynar. Otoreaktif T

lenfositler trombosit antijenlerini tanıyarak cevap verirler ve B lenfositleri aracılığıyla otoantikör üretimini sağlarlar (1). B lenfositlerden antitrombosit antikör üretimi, hem T lenfosit aktivasyonu hem de T ve B lenfositlerin karşılıklı etkileşimiyle ilişkilidir. Antitrombosit antikör üretimi, T lenfositlerin kontrolünde olan birçok düzenleyici hücrel mekanizma ile meydana gelir (28).

İmmün trombositopenik purpura'da, Th1/Th2 (helper CD₄ hücreleri) T lenfosit oranları dengesizdir ve Th1 lenfosit hakimiyetindedir (Şekil 1) (20). Primer İTP ile kronik İTP hastaları yüksek Th₁/Th₂ oranları ve yüksek Tc1/Tc2 (sitotoksik CD8 hücreleri) oranlarına sahiptir (1). Th1/Th2 oran dengesizliği hastalığın şiddetiyle orantılıdır, yani Th1/Th2 oranı ne kadar yüksekse trombosit sayısı o kadar düşüktür (29). İTP hastalarında ayrıca T-hücre cevabını baskılayan CD4⁺, CD25⁺ T-reg hücrelerinin sayısı azalmıştır. Doğal olarak, Treg sayısında artış İTP'de hastalığın şiddetiyle ters ilişkilidir (30). Th1 ve Th2 T lenfosit oranındaki değişikliğe ek olarak total CD4/CD8 oranı da İTP'de azalmış olarak gözlenmiş olup bu oran hastalığın remisyonuyla düzelmektedir (1).

T hücrelerinin Th1 ve Th2'den farklı başka bir alt kümesinin, İTP'de dahil otoimmün hastalıklardan sorumlu olabileceği tespit edilmiştir. Th1 ve Th2 T hücrelerine benzer olarak, bu T hücre alt kümesi sitokin sekresyon profillerinden tanınır. T hücreleri, proinflamatuvar bir sitokin olan IL-17 sekrete eder, ve İTP patogeneğinde IL-17 üretimi ile rol oynar. IL-17 sekrete eden T hücre alt kümesi içinde, İTP'de Tc17 (CD8) hücreleri gibi Th17 (CD4) hücreleri de artmış olup Tc17 hücrelerinin artışı CD4/CD8 oranının azalması ile bağlantılıdır (31). Ek olarak farklı bir T-hücre alt kümesi olan Th22 (CD4 IFN γ IL-17 IL-22) tanımlanmış ve birkaç otoimmün hastalığın gelişmesinde rolü olduğu tespit edilmiştir. Th22 hücreleri İTP hastalarında önemli derecede yükselmiştir ve bu artış Th1 ve Th17 hücrelerinin sayısındaki artış ile ilişkili bulunmuştur (32). Başka bir sitokin olan IL-21, bazı CD4⁺ T hücreleri ve natural killer T hücreleri tarafından sentezlenir ve hem Th17 hücrelerini hem de B hücrelerini uyarma kabiliyetine sahiptir. İTP'de, T hücrelerinde IL-21 ekspresyonu tedavi edilmemiş yeni tanı konulmuş İTP hastalarında yükselmiştir, fakat dolaşımdaki IL-21'ler değişmemiştir (19, 33).

İmmün hücre olarak trombositler

Trombositlerin kendileri aktif olarak immüniteye katılırlar ve İTP'deki immün cevabın oluşmasında da rolleri vardır (20). Spesifik olarak, CXCL5, CCL5, EGF ve

CD40L sitokinlerinin salınımı İTP’de ve aplastik anemi hastalarında anlamlı şekilde düşük bulunmuş ve bu sitokinlerin seviyesi trombositopeninin derecesiyle de kuvvetli bir şekilde bağlantılı olduğu ileri sürülmüştür (34). Bu trombosit türevi sitokinlerin düşmesinin hem Th1/Th2 dengesinin hem de hematopoezin etkilenmesiyle ilişkili olduğu öne sürülmüştür (35).

Gen ekspresyonu ile ilişkili İTP

İTP’yi araştırmak için yeni ve gelişmiş moleküler teknolojilere başvurulmuştur. Son zamanlarda, yetişkin ve pediatrik İTP hastalarında tüm kan gen ekspresyonu yapılmıştır (İTP kan “transkriptomu”). Sonuç olarak İTP’de gen ekspresyon ağı tanımlanmış fakat hastalar arasında aynı genetik temel tespit edilememiştir (36).

Kronik İTP:

Kronik İTP, trombositopeninin ($<100.000/\mu\text{L}$) 12 aydan daha uzun sürmesi durumudur (37). Çocuklarda İTP vakalarının %10-20’si kronikleşir ve kronik İTP’lerin 1/3’ünden fazlası aylar veya yıllar sonra kendiğinden remisyona girer. Rekürren İTP ise; trombosit sayısı normale döndükten sonra trombositopeni atakları ile seyreden kronik İTP’nin bir formu olarak kabul edilir (38, 39).

Akut İTP hastalarının hangisinde kronik İTP gelişeceğini öngörmek zordur. Risk faktörü olarak kız cinsiyet, yaşın ileri olması ve sinsi olarak hastalığın başlamış olması kronikleşme göstergesi olabilir (40). Hastaların %10-20’sinde kronik İTP (trombosit sayısı $<100.000/\mu\text{L}$) gelişmektedir (41, 42) Bu hastalarda sinsi seyir yanında akut İTP’ye göre daha yüksek trombosit sayısı bulunmakta olup öncesinde enfeksiyon ya da aşılama öyküsü bulunmamaktadır (43).

Kronik İTP’de trombosit sayısı $1.000-100.000/\mu\text{L}$ arasında olabilir. Bazı hastalarda sıklıkla enfeksiyona sekonder gelişen aralıklı trombositopenide tedavi gereksinimi olmayabilir. Farmakolojik tedavi kanama gelişmesi ya da kanama için risk faktörü olması, anksiyete, halsizlik gibi eşlik eden durumlarda verilir (44). Kronik İTP’de, anti-trombosit antikoları, klasik kompleman yolunu aktive ederek trombositlerin fagosite edilmesine veya membran atak kompleksinin oluşumu ile trombosit membranında delikler açarak trombosit parçalanmasına neden olmaktadır. İTP’de kompleman aktivasyonunun sıklığı ve

duyarlılığı halen tam olarak açıklanamamakla birlikte İTP'li hastaların yaklaşık %50'sinde kompleman sistem aktivasyonu gerçekleşmektedir. Hatta otoantikör düzeyi saptanabilen hastalarda saptanamayanlara göre kompleman aktivasyonu sıklığının daha fazla oranda olduğu bulunmuştur (45, 46). Akut ve kronik İTP'nin özellikleri tablo II'de görülmektedir (12).

Tablo II. Akut ve kronik İTP'nin özellikleri

Özellikler	Akut	Kronik
Yaş	2-6 yaş	10 yaş üzeri
Cinsiyet	Erkek= Kız	Kız/Erkek= 3/1
Mevsimsel dağılım	İlkbahar	Yok
Viral enfeksiyon öyküsü	%80	Nadir
Otoimmün hastalık birlikteliği	Nadir	Sık
Başlangıç	Ani	Sinsi
Trombosit sayısı	< 20.000/ μ L	40.000-80.000/ μ L
Eozinofili ve lenfositoz	Sık	Nadir
IgA/IgG düzeyi	Normal	Düşük
Trombositopeni süresi	2-6 hafta	12 ay, yıllar
Prognoz	% 80 spontan iyileşme	Değişken,kronik seyir olabilir

KLİNİK

İTP'nin klinik bulguları sağlıklı bir çocukta ani başlangıçlı peteşial tarzda döküntü ve purpuradır. Peteşi, purpura, ekimoz ve kanama bulgularının dışında fizik muayene genellikle normaldir. Splenomegali nadirdir. Vakaların %10'undan azında fizik muayenede dalak palpe edilebilir. Splenomegali genellikle viral enfeksiyonlarla birlikte dir. Trombositopeninin eşlik ettiği hepatosplenomegali veya belirgin lenfadenopati İTP'de beklenmez (47). Ekimozlar en çok alt ekstremitelerin ön yüzlerinde ve kostalar, skapula, omuzlar gibi çıkıntılı kemiklerin üzerinde görülür. Genellikle kolay morarma ve ciltte peteşiler ilk bulgulardır ve sıklıkla trombosit sayısı 20.000/ μ L'nin altında olduğu zaman gözlenmektedir. Trombosit sayısı 10.000/ μ L'nin altında olduğu zaman ise ağır mukozal kanamalar, hematüri ve menoraji görülmektedir (48). Hastalığın en korkulan komplikasyonu ise intrakranial kanamadır, vakaların % 0,5-1'inde ve özellikle trombosit sayısı<10.000/ μ L iken gözlenmektedir (49).

Laboratuvar Bulguları

İmmün trombositopenik purpura'da tam kan sayımında trombosit sayısı genellikle 100.000/ μL 'nin altındadır. Yaygın kanama bulguları olanlarda trombosit sayısı sıklıkla $<20.000/\mu\text{L}$ 'dir. Normalde ortalama trombosit hacmi $8.9\pm 1.5 \mu\text{m}^3$ olup, İTP'de genellikle artmıştır. Bu durum artmış trombosit yapımı ve yıkımının bir sonucudur

Akut İTP 'de hemoglobin değeri, beyaz kan hücresi sayısı ve lökosit formülü normaldir. Eğer aktif bir enfeksiyonun eşlik ettiği trombositopeni varsa periferik yaymada nötrofili, lenfositöz veya atipik mononükleer hücre bulunabilir. Kan kaybı miktarı ile orantılı anemi olabilir. Tam kan sayımında saptanan trombositopeniyi psödotalrombositopeni ve diğer hematolojik bozukluklardan dışlamak için periferik yayma yapılmalıdır. Periferik kan yaymasında çok az sayıda, kemik iliğinde yapımın hızlandığını yansıtan iri trombositler görülebilir (39, 50).

Kemik iliği incelemesinde karakteristik olarak normal veya genellikle artmış sayıdaki megakaryositlerle, normal granülositer ve eritrositer seriler görülür. Megakaryositlerin bazıları immatür olabilir ve bu da artmış trombosit yapım ve yıkımını gösterir. Nadiren eozinofili ve lenfosit artışı görülebilir. Belirgin kan kaybı varsa eritroid hiperplazi saptanır (48).

Pıhtılaşma testlerinde kanama zamanı genellikle uzun, protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), fibrinojen düzeyi normaldir (51). Cr 51 veya İndium111 ile işaretlenerek değerlendirilen trombosit yaşam süresi İTP'de 1-4 saate kadar azalmaktadır (52).

Tanı

İmmün trombositopenik purpuranın tanısı klinik olarak konulur. Tipik İTP vakası ise tanı için kemik iliği aspirasyonu yapmaya gerek yoktur ancak steroid tedavisi başlanacak hastaya öncesinde kemik iliği aspirasyonu yapılması önerilmektedir (48).

İmmün trombositopenik purpura düşünülen bir hastada kemik iliği aspirasyonu yapılmasını gerektiren durumlar şunlardır :

1. Kilo kaybı, kemik ağrısı gibi maligniteyi düşündüren belirti ve bulgular,
2. Belirgin lökositoz,
3. Anemi ve lökopeni,
4. Organomegali, lenfadenopati,
5. Tedavide steroid uygulanacak olması

Bu bulgular lösemi, miyelodisplazi veya miyelodisplastik sendrom, malignensi, familyal ya da akkiz hemofagositik lenfohistiyositoz ve aplastik anemi vakalarında da olacağından ayırıcı tanı açısından kemik iliği aspirasyonu tedavi öncesinde yapılmalıdır (53).

İTP’de tanı kriterleri şunlardır (50):

İTP tanısı diğer olası hastalıkların dışlanması ile konulan bir tanıdır.

Trombosit sayısı <100.000/mm³ olan bir hastada olan bir hastada;

1. Fizik muayene: Peteşi, purpura, ekimoz dışında normal fizik muayene bulguları, belirgin lenfadenopati ve splenomegalinin olmaması,
2. Trombositopeni dışında periferik kan tablosunun normal olması,
3. Kemik iliği: Genellikle artmış megakaryosit sayısı ile birlikte eritroid ve miyeloid hücre serilerinin normal olması,
4. Hipersplenizm, mikroanjiopatik hemolitik anemi, tüketim koagülopatisi, ilaç ilişkili trombositopeni, enfeksiyonlar (akut β hemolitik streptokok enfeksiyonu, suçiçeği, kızamık, kızamıkçık, kabakulak, CMV, EBV, HIV, aşı öyküsü (BCG, kızamık), otoimmün hastalıklar (SLE, APAS), kan transfüzyonu ve lenfoproliferatif hastalıklar dışlandıktan sonra klinikte akut İTP tanısı konulmalıdır.
5. 2-3 hafta önce geçirilmiş bir viral enfeksiyon öyküsü olması. İTP hastalarının %80’inde geçirilmiş viral enfeksiyon öyküsü mevcuttur.

Ayırıcı Tanı

İTP'nin trombositopeni ile seyreden diğer hastalıklardan ayırıcı tanısı mutlaka yapılmalıdır. Bir çocukta beklenmedik trombositopeni tespit edildiği zaman ilk olarak laboratuvar hatası ve psödotrombositopeni dışlanmalıdır (50). Anemi, lökositoz, lökopeni veya anormal lökosit morfolojisi varsa akut lösemi, aplastik anemi, miyelodisplazi, lenfoma ve kemik iliği tutulumu ile giden malign hastalıkların dışlanması için kemik iliği aspirasyon incelemesi yapılması gereklidir (54). Otoimmün hastalıklardan şüphe ediliyorsa Coomb's, Antinükleer Antikor (ANA), anti-ds-DNA testleri yapılabilir. Sistemik lupus eritematozuslu hastaların bir kısmı izole trombositopeni ile başvurmaktadır. Kronik İTP'lerde kollajen doku hastalıkları dışlanmalıdır (55, 56). İnsan immün yetmezlik virüsü enfeksiyonu için risk faktörü varsa serolojik testler yapılmalıdır. İzole trombositopeni HIV'in ilk bulgusu olabilir (57).

Splenomegalinin olması ise hipersplenizm düşündürmektedir. Büyümüş dalakta trombosit göllenmesi ve trombosit yıkımı sonucunda olduğu düşünülmekte olup genellikle nötropeni ve anemi ile birlikte. Kemik iliğinde megakaryositler çok sayıdadır (48).

Trombositopeni ile nutrisyonel anemiler arasında ilişki varlığı gösterilmiştir. Demir eksikliği anemisi, vitamin B12 ve folat eksikliğine bağlı megaloblastik anemide trombopoezin etkilenmesiyle yapım azlığına bağlı trombositopeni görülebilmektedir (58).

Birçok ilaç immün trombositopeni ile ilişkilidir (50). İTP tanısı konulurken trombositopeniye neden olan ilaç alım öyküsünün olmaması gerekir. 2013 yılında yapılan bir çalışmada 153 çeşit ilacın immün trombositopeniye yol açtığı belirtilmiştir (59). En sık trombositopeni yapan ilaçlar da aşağıda listelenmiştir (59).

En sık trombositopeni yapan ilaçlar: trombositopeniye yol açma mekanizmalarına göre üç grupta sınıflandırılabilir:

1. Antikor bağımlı trombositopeni yapan ilaçlar
2. Kemik iliği baskılaması ile trombositopeni yapan ilaçlar
3. Primer İTP benzeri sendrom yapan ilaçlar

1. Antikor bağımlı trombositopeni yapan ilaçlar

-Asetaminofen

-Amiodaron

-Ampisilin

-Beta-laktam antibiyotikler (örneğin penisilinler, sefalosporinler, antikor bağımlı)

-Karbamazepin

-Seftriakson

-Etambutol

-GP IIb/IIIa inhibitörleri (örneğin, abciximab, tirofiban, eptifibatid; antikor bağımlı)

-Haloperidol

-Heparin

-Ibuprofen

-Irinotekan

-Mirtazapin

-Naproksen

-Oxaliplatin

-Penisilin

-Fenitoin

-Piperasilin

-Kinidin

-Kinin

-Ranitidin

-Rifampin

-Simvastatin

-Sulfonamidler

-Suramin

- Tirofiban
- Trimetoprim-sulfametoksazol
- Vankomisin

2.Kemik iliği baskılaması ile trombositopeni yapan ilaçlar

- Daptomisin
- Linezolid
- Valproik asit

Altın bileşikleri (kemik iliği baskılanması, primer İTP benzeri sendrom)

3.Primer İTP benzeri sendrom yapan ilaçlar

- KKK aşısı (primer İTP-benzeri sendrom)
- Altın bileşikleri (kemik iliği baskılanması, primer İTP benzeri sendrom)

Tedavi:

Akut İTP kendiliğinden düzelen bir özellik gösterdiği için tedavi verilip verilmemesi tartışmalıdır (37). Amerikan ve İngiliz Hematoloji Derneği'nin 'İTP Tedavi Rehberi'ne göre tedavi kararı semptomlardan çok trombosit sayısına göre düzenlenmiştir. Trombosit sayısı $>30.000/\mu\text{L}$ olan asemptomatik veya minör purpuralı hastalara tedavi verilmesinin gereksiz olduğu belirtilmiş, trombosit sayısı $20.000/\mu\text{L}$ 'nin altında ve belirgin mukoza kanaması olan veya minör purpura olsa da trombosit sayısı $10.000/\mu\text{L}$ 'nin altında olan hastalara tedavi verilmesi gerektiği önerilmiştir (49,60).

İmmün trombositopenik purpura'da tedavinin, hastalık süresi ve prognoza etkisi yoktur. Akut İTP'de kullanılan başlıca tedavi seçenekleri steroid, intravenöz immünglobulin(İVİG) ve anti-D immünglobülin ve splenektomidir (61). Yeni tedavi seçeneği olarak kronik İTP'li hastalarda trombopoietin reseptör agonisti olan eltrombopag (50 mg/kg/gün) kullanılmaya başlanmıştır.

Kortikosteroid Tedavisi:

Akut ve kronik İTP tedavisinde kortikosteroid tedavisi oral ve intravenöz yoldan en çok tercih edilen tedavi şeklidir. İVİG'e göre daha ucuz kolay ulaşılabilir ve oral kullanım

kolaylığı vardır (62). Steroidlerin tedavide başlıca etki mekanizmaları; antikör yapımını ve antikör antijen bağlanmasını engellemesi, kemik iliğinde megakaryositlerden trombosit sentezini arttırması, fagositozu ve damar geçirgenliğini azaltarak etki göstermeleridir (57). Yan etkileri açısından tedavi aşamasında dikkatli olmak gerekir. Tansiyon yüksekliği, kan şekeri yüksekliği, uzun süreli kullanımda kılınmada artış, cushingoid yüz görünümü, psikoz, psödötümör serebri, katarakt ve büyümede gerilik yapabilir.

Çeşitli doz ve sürelerde kullanılabilen prednizolonun verilme şekli: 1-2 mg/kg/gün (en fazla 60 mg/gün) 2 hafta süre ile verilmesi, sonra azaltılarak 1-2 hafta içinde kesilmesidir. Ayrıca intravenöz veya oral metil prednizolon 30 mg/kg/gün 3 gün (maksimum 1 gr/gün), 20 mg/kg/gün 4 gün (maksimum 1 gr/gün) sık tercih edilen bir tedavi yöntemidir (62).

İntravenöz İmmünglobulin (İVİG):

İlk kez Imbach ve ark. tarafından İTP'li çocuklarda kullanılmıştır (64). Retiküloendotelyal hücrelerdeki Fc reseptörlerini (FcγRIIIA) bloke ederek trombositlerin fagositozla yıkımını inhibe eder (65). Toplam doz 2 gr/kg olacak şekilde 0.4 gr/kg 5 gün ya da 1 gr/kg 2 gün verilir. Kortikosteroid tedavisine göre daha pahalıdır. Yan etkileri daha sık ve daha ciddi görülür. Aseptik menenjit, alerjik reaksiyonlar baş ağrısı, kusma, ateş, titreme, hemolitik anemi, viral enfeksiyon bulaşma riski, böbrek fonksiyonlarında bozulma ve IgA eksikliği olan hastalarda anafilaksi başlıca yan etkileridir (48).

Anti-Rh (D) İmmünglobulin

Sadece Rh(+) kan grubuna sahip olan ve splenektomi yapılmamış, akut İTP'li hastalarda kullanılmaktadır. Anti-D antikörle kaplanan eritrositler dalak tarafından tutulmakta, böylelikle trombositlerin yıkımı önlenmektedir. Anti-D (WinRho)[®] 50-75 µg/kg dozunda, i.v. yoldan 3-5 dakikada verilmelidir. Ateş, baş ağrısı, ekstra vasküler hemolize bağlı hemoglobinde düşme, böbrek fonksiyonlarında bozulma ve allerjik reaksiyonlar başlıca yan etkileridir.

Splenektomi

Amerikan Hematoloji Birliği (ASH)'nin önerisine göre:

a. Tedaviye yanıtı hayati tehdit eden kanaması olan hastalarda,

b. Kronik ITP' de tanıdan en az 1 yıl sonra kanama semptomları olan ve trombosit sayısı $<10,000/mm^3$ (3-12 yaş) veya $<30,000/mm^3$ (8-12 yaş) olan hastalarda splenektomi düşünülmelidir (55)

2.3. Fc Reseptörleri

2.3.1. Fc Reseptörleri Hakkında Genel Bilgiler

Doğal ve kazanılmış bağışıklık yanıtları optimal mekanizmaların birlikte cevap vermesi ile hastalıklardan koruyuculuk sağlanır. Fc reseptörler doğal bağışıklık sisteminin bir parçasıdır, doğal bağışıklık sisteminin hücrelerince salınır. İmmün globülin reseptörleri olarak rol oynar. Doğal ve kazanılmış immunitede direnç ile kontrol mekanizmalarında rol oynayan antikorların düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar (66). Fc reseptörleri ile ilgili şimdiye kadar yapılan çalışmalar bu reseptörlerin bağışıklık sisteminde istenen ve istenmeyen birçok etkinin merkezinde rol aldığı yönündedir. Fc reseptörlerinin bağışıklık sistemindeki bu geniş etki yelpazesinden dolayı Fc-tabanlı biyolojik tedavilerin düzenlenmesi gündeme gelmiştir (66).

İTP'nin patogeneğinde trombositlerin otoantikor aracılı fagositozunun rol oynadığı kabul edilmektedir. İnsan makrofajları, IgG'ye spesifik olarak bağlanan birçok Fc reseptörü eksprese etmektedir.

Antikorların biyolojik özelliklerinin Fc kısımları tarafından sağlandığı ve hücreye dayalı reseptörleri içerdiği, Brambell tarafından 1964 yılında ileri sürülmüştür (66). Boyden ve Sorkin, 1960'larda, eksojen olarak üretilen 7S γ -globulinin makrofajların yüzeyine bağlandıktan sonra antijenin fagosite edildiğini göstermişlerdir. Hücre yüzeyine bağlanan antikorlar ile immün hücrelerin daha fazla antijenlerle reaksiyona girebildiğini ileri sürmüşlerdir (58). Sonraki on yılda, önceden oluşturulmuş antijen-antikor komplekslerinin, sadece fagositlere değil aynı zamanda kazanılmış bağışıklık sisteminin hücrelerine de (örneğin B hücrelerine) Fc aracılığıyla bağlandığı tespit edilmiştir. Bu dönemde Fc reseptör terimi de doğmuş oldu (59-61). Bu dönemde yapılan çalışmalarda, ya hücresele reseptör temelli ya da Fc'ye bağımlı sistemler kavramı ileri sürülmüştür. Son 50 yılda yapılan araştırmalarda, FcR'nin (tüm formlarında) basit bir patojen yok etme

mekanizmasından daha fazlasını sağladığını ortaya koymuştur. Fc reseptörler yapı ve işlev açısından çeşitlilik gösterirler ve bağışıklık yanıtlarını, dolaylı inflamatuvar cevapları kontrol / modüle eden karmaşık bir immün modülasyon/regülasyon sistemi oluştururlar. Bağışıklığın kritik bir bölümünü oluşturmalarına rağmen, FcR lökositlere sınırlı değildir ve hematopoietik olmayan hücreler üzerinde bol miktarda eksprese edilirler. Aslında, FcR, pro-inflamatuvar ve sitotoksik efektör sistemlerini aktive eder ve düzenler. Nötralize edici antikorların etkinliği için anti-patojen immünite de gereklidirler. Enfeksiyonlara karşı humoral bağışıklık sistemi için önemlidir ve birçok patojen, FcR sisteminden kaçmak için savunma mekanizmaları geliştirmektedir. Kazanılmış bağışıklık sisteminde B hücresi fonksiyonlarını düzenlerler. Bağışıklığın daha fazla işlevsel hale gelmesi için antikor tarafından yakalanan antijeni, antijen sunma yollarına iletirler. Dolaşımdaki IgG'nin taşınması ve katabolizmasını kontrol ederler. Birçok terapötik monoklonal antikorun etkinliğindeki rolleri nedeniyle klinik öneme sahiptirler (62)

FcR hakkındaki birçok çalışma, lökositler üzerinde bulunan ve çoğunlukla klasik veya standart FcR olarak adlandırılan Ig gen süper ailesine ait olan reseptörler üzerinde bulunan reseptörlerin alt grupları ile ilgilidir (66). Bu çalışmalar IgG reseptörleri, Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32), Fc γ RIII (CD16) ve IgE reseptörü Fc ϵ RI (hepsi yüksek oranda ilişkili) ve Fc α RI (CD89) (Ig süper ailesinin üyesi olup sadece uzaktan ilişkili) ile ilgili yapılmaktadır. Bu reseptörler Tip I FcR olarak adlandırılır. Diğer lökositlerce salınan Fc ϵ RII (CD23) ve yakın zamanda tanımlanan bazı diğer reseptörlerde tip 2 FcR olarak adlandırılmaktadır. FcR etkinliği sadece hücre membranındaki etkileşimle ilişkili olmayıp TRIM 21–Fc bağlantısı gösterilerek hücre içi etkinliği de ortaya konulmuştur (63).

Fc γ R ailesinin genetiği karmaşıktır ve hastalığa duyarlılıkta ve antikor tedavisinin başarısında önemli bir belirleyici faktördür. Hargreaves ve ark., insan Fc γ R genetiğinin karmaşıklığının, ailenin evrimi ve hastalığın polimorfizminin etkisi hakkında kapsamlı bir analiz yapmıştır (64). İnsanlarda 6 çeşit Fc γ R eksprese edilmektedir (Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIa (CD32A), Fc γ RIIb (CD32B), Fc γ RIIc (CD32C), Fc γ RIIIa (CD16A) ve Fc γ RIIIb (CD16B)). Bu reseptörler Ig G'ye bağlanma afinitelerine ve sinyal aktivitelere göre sınıflandırılmaktadır. Fc γ RI, sadece yüksek afiniteli reseptördür ve monomerik IgG'yi bağlayabilir. Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa ve Fc γ RIIIb ise IgG ile düşük afiniteyle bağlanan reseptörler olarak belirlenmiştir. Çalışmamıza esas olan Fc γ RIIb, aktive edici FcR'leri sınırlandırmaya yarayan sitoplazmik alanındaki diğer uyarıcı reseptörlerden

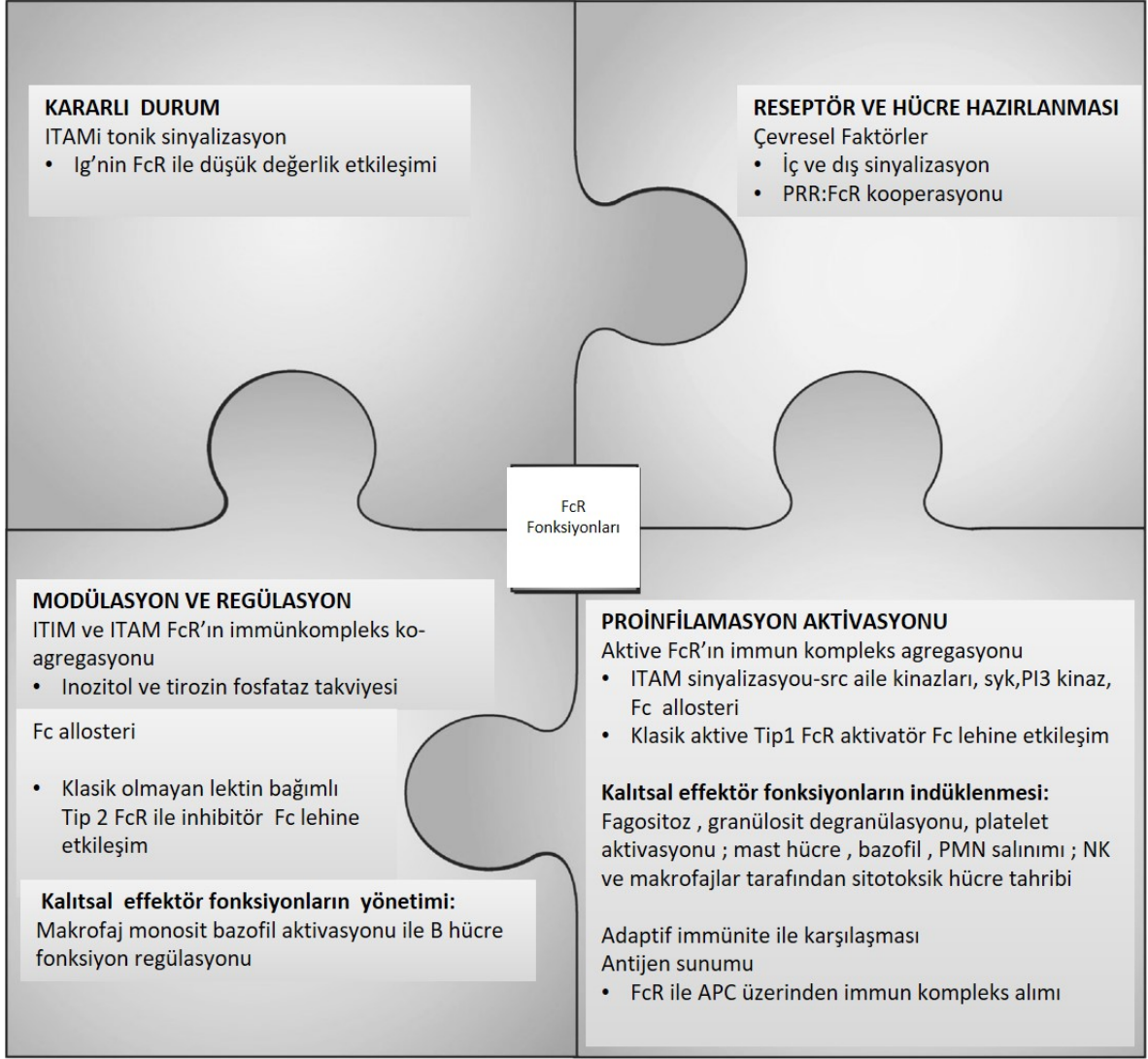
İmüno-reseptör Tirosin esaslı İnhibitör Motif (ITIM) kullanan tek inhibitör reseptördür (65,66) (Şekil 5).

Fonksiyon	Aktivatör				İnhibitör		
Yapı	ITAM				GPI anchor		
Hücre Membranı	ITAM				ITIM		
İsim	FcγRI	FcγRIIA	FcγRIIC	FcγRIIIA	FcγRIIIB	FcγRIIB	
Lenfoid	Ekspresyon Yok	Ekspresyon Yok	NK Hücre	NK Hücre	Ekspresyon Yok	B Hücre ve Plazma Hücre	
Ekspresyon	Myeloid	Monosit, DH ve Makrofaj	Monosit, DH, Trombosit ve Makrofaj	Ekspresyon Yok	Monosit, DH ve Makrofaj	Ekspresyon Yok	Monosit, DH ve Makrofaj
Granülosit	Nötrofil ve Eozinofil	Nötrofil	Ekspresyon Yok	Ekspresyon Yok	Nötrofil, Bazofil ve Mast Hücre	Nötrofil, Bazofil ve Mast Hücre	
IgG Bağlanma Affinitesi	IgG1>>>IgG2, IgG3 ve IgG4	IgG1 ve IgG3 >> IgG2>IgG4	IgG1>IgG3>> IgG2>IgG4	IgG1>>IgG2 ve IgG3> IgG4	IgG1 ve IgG3>>IgG2 ve IgG4	IgG1>IgG3>>IgG4>IgG4	

DH: Dendritik hücre

Şekil 1: Aktive edici ve inhibe edici FcγR'lerin yapısı, hücreyel dağılımı ve IgG izotipine bağlanma afinitesi

İmmün sistemin regülasyonu aynı hücreden aynı anda üretilebilen aktivatör ve inhibitör FcRlerin IgG'ye farklı afinitelerde bağlanması ve aktivatör/inhibitör (A/İ) oranlarının etkinliği ile hücre içi sinyal yolları yolu ile düzenlenmektedir. Bu sistem immün regülasyonda esneklik, koordinasyon ve özenli bir regülasyon sağlamaktadır (67). İmmün reseptör tirosin esaslı A/İ motifi (İTAM / İTİM) sistemi bağımlı sinyal aktivasyon ve sinyal inhibisyonunun mekanizması iyi tanımlanmıştır. İTAM ve İTİM reseptörlerinin hücre içinden hücre dışına, hücre dışından hücre içine haberleşmede modülasyonu değiştirerek Fc reseptörlerin İg'lere bağlanmasını etkiler ve immunitiyi etkiler. Son dönemde yapılan bir çalışmada bu etkinliğin manipüle edilerek terapötik etkinliği değiştirebileceğini göstermektedir (68). Fc reseptörlerinin fonksiyonları Şekil 2'de gösterilmiştir (69).



Şekil 2: FcR reseptörlerinin fonksiyonları

FcγRIIb nin fonksiyonları (70)

- a) IgG için FcγRIIb B hücresi aktivasyonu, germinal merkezlerde B hücrelerinin lokalizasyonu ve aynı zamanda plazma hücresine dönüşümünü sağlayarak humoral bağışıklığın kontrol edilmesinde önemli bir role sahiptir. FcγRIIb, B hücresi reseptör (BCR) aktivasyon eşliğini artırarak ve T hücrelerince B hücresine antijen sunumunu baskılayarak B hücresi aktivasyonunu inhibe etme yönünde düzenler. Folliküler dendritik hücreler (FDH) , germinal merkez B hücrelerine sunum için immün kompleks antijeni yakalamakta görevli FcγRIIb 'yi eksprese eder. Germinal merkez FDH'lerde FcγRIIb'nin bulunmaması, antikor ve bellek tepkilerinin bozulmasına neden olur. Olgunlaşarak farklılaşmış plazma hücrelerince BCR'ler çok az veya hiç eksprese edilmezler.

Yüksek seviyelerde eksprese edilen Fc γ RIIb ise in vitro bağışıklık kompleksleri ile çapraz bağlanarak hücre apoptozunu indükleyebilir.

- b) Fc γ RIIb, CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerine antijen sunumunun yanı sıra, dendritik hücrelerin bağışıklık-kompleks antijeninin Fc γ RIIb'ye bağı etkileşmesini inhibe ederek antijen sunumunu etkiler. Fc γ RIIb'ye bağışıklık kompleksinin blokajının dendritik hücrelerin olgunlaşması ve tip I interferon üretimine neden olması nedeniyle, Fc γ RIIb'nin dendritik hücrelerin olgunlaşmasını inhibe ettiği düşünülmektedir. Fc γ RIIb'nin işlenmemiş bir antijen sunabileceğı, BCR ile etkileşebileceğı ve B hücrelerini aktive edebileceğı ihtimali olduğu düşünülmektedir.
- c) Fc γ RIIb, doğal bağışıklığı da etkileyebilir. Makrofajların, Fc γ RIIb'ye çapraz bağlanmasını, Toll like reseptör 4'ün (TLR4) yanı sıra Fc γ RIIb aracılı fagositozu ve sitokin salınımını (tümör nekroz faktörü, interlökin-6 (IL-6) ve IL-1 α dahil) inhibe eder (TLR4 aracılı aktivasyon). Nötrofillerde aktive edici Fc γ R 'lerin çapraz bağlanması fagositoz, süperoksit üretimi ve artmış nötrofil adezyonu, yuvarlanma ve migrasyon ile sonuçlanır. Bu inflamatuvar süreç ise Fc γ RIIb'nin nötrofillere bağlanmasıyla engellenir.
- d) Fc γ RIIb ayrıca IgE'nin indüklediğı mast hücresi ve bazofil degranülasyonunu inhibe eder, böylece aşırı duyarlılık tepkilerinin kısıtlanmasına katkıda bulunur.

Fc γ RIIb nin otoimmün hastalıklardaki rolü:

Otoimmün hastalıklar, kazanılmış immün yanıtın otoantijenler yolu ile self tolerans kaybına neden olması sonucu ortaya çıkar. Otoimmün yanıtlar hücrel ve humoral yanıtın komponentleri ile işlev görür. Humoral yanıt otoantikörleri gerektirir. Antikörlerin enflamasyon yanıtı oluşturması immün hücreler üzerindeki FcR'lere bağımlıdır. FcR'lerin kontrol dışına çıktığı durumlarda inflamatuvar yanıtın artması söz konusu olmaktadır. B hücrelerinden salınan inhibitör etkili Fc γ RIIb'nin tolerans ve düzenlemede önemli olduğu gösterilmiştir. FcR'lerin doğal bağışıklığı da etkileyerek otoimmünite rolleri olduğu bildirilmiştir (71). Otoimmün olaylarda Fc γ RIIb, antikör aracılı otoimmün hastalığın önlenmesi için, otoantikör üretimine, makrofajları, nötrofilleri ve otoreaktif T hücrelerine immün kompleks yapmış otoantijenin imünojenik sunumunu inhibe etme yolu ile B

hücreleri üzerindeki etkileri azaltıp, otoantikorlara bağlı inflamasyonu kontrol etmede kritik bir rol oynamaktadır. Aynı zamanda otoimmünitedeki doku hasarının çoğalmasını sınırlayan TLR ve C5a aracılı aktivasyonunu kontrol edebilir (72-73).

İnsan Fc γ RIIb genindeki polimorfizmler SLE, romatoid artrit, anti glomerul bazal membran hastalığı ve İTP gibi bir takım otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (74). İTP’de trombosit yıkımı ile karakterize otoimmün bir hastalıktır. Çocukluk çağı İTP hastalığında Fc γ RIIb 232 I/T geninin hastalığın kronikleşmesinin göstergesi olabileceği bildirilmiştir (). Yapılan bir çalışmada hastaların bir alt grubunda, dolaşımdaki monositlerde Fc γ RIIb 'nin düşük yüzey ekspresyonunun trombositopeni şiddeti ile ilgili olduğu, H. pylori eradikasyonu, trombosit sayımında ve monositlerde Fc γ RIIb ekspresyonunda artışa neden olduğu tespit edilmiş ve Helicobacter pylori enfeksiyonu İTP ile ilişkilendirilmiştir (20). Benzer şekilde, Wu ve ark. İTP’li hastalarda splenik makrofajlar üzerinde azalmış Fc γ RIIb ekspresyonu ve H. pylori enfeksiyonu ile düşük Fc γ RIIb seviyeleri arasında bir ilişki olduğunu gözlemlemişlerdir (75). Bir diğer araştırmada ise İTP hastaları sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında; Fc γ RIIb 232 I/T taşıyıcılığı artmış bir sıklıkta bulunmuş ayrıca H. pylori eradikasyonunu takiben trombosit sayısında düzelmeye gösterme olasılığı daha yüksek tespit edilmiştir (76). Bu veriler derlendiğinde Fc γ RIIb ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla enfeksiyon ve otoimmünite arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu prospektif, kontrollü klinik çalışma; Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alınarak (Dosya No: 2014/115 24237859, Sayı: 120) Nisan 2015-Şubat 2017 tarihleri arasında Pediatri Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalı'nda yapıldı.

3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi ve Özellikleri

Çalışmaya, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji polikliniğine veya servisine akut trombositopeni nedeniyle başvuran; trombositopeni etiyojisinde otoimmün hastalıklar (SLE, JRA), ilaçlar, viral enfeksiyonlar, lenfoproliferatif hastalıklar, ailevi trombositopeni, yanlış kan transfüzyonu öyküsü, DIK, sepsis, akut β -hemolitik streptokok enfeksiyonu ekarte edilmiş 41 Akut İTP vakası, yine çocuk hematoloji bölümünde takip edilen 14 Kronik İTP vakası ve 40 adet de sağlıklı kontrol grubu alındı. Çalışmaya alınan vakaların ve kontrol grubunun ailelerinden yazılı onam alındı. Bir akut İTP vakası İVİG tedavisinin birinci gününde başka merkeze kendi isteği ile gittiği için çalışma dışında bırakıldı.

Akut İTP vakasından (n=40) rastgele 20 hastaya yüksek doz metil prednizolon (YDMPZ) (öncesinde kemik iliği aspirasyonu incelemesi yapılarak, üç gün 30mg/kg, dört gün 20 mg/kg'dan en fazla 1gr/gün dozunda, sabah saat:06.00'da oral olarak), rastgele 20 hastaya ise İVİG (1 gr/kg 2 gün) tedavisi verildi. Tedavi sonucunda trombosit sayısı 100.000/ μ L üzerinde olan hastalar tedaviye tam yanıtı, 50.000-100.000/ μ L arasında olan hastalar tedaviye kısmi yanıtı kabul edildi ve tedavi değişikliği yapılmadı. Tedavi sonrası trombosit sayısı 20.000/ μ L altında kalan hastalar ise tedaviye yanıtı kabul edilerek; İVİG almış ise YDMPZ, YDMPZ almış ise İVİG verilmesi şeklinde tedavi rejiminde değişikliğe gidildi. Hastaların serum Fc reseptör düzeylerine tedaviye yanıt alınan hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası olmak üzere iki defa, tedaviye yanıt alınmayıp tedavi değişikliği yapılan hastalarda ise; yapılan tedavi değişikliğinin son gününden bir gün sonra bir defa daha olmak üzere toplam üç defa bakıldı.

Kronik İTP tanısı ile takip edilen ve son bir ay içerisinde trombosit düşüklüğü nedeni ile herhangi bir tedavi almamış 14 kronik İTP hastası ve 40 sağlıklı çocuk kontrol

grupları olarak çalışmaya alındı. Kronik İTP ve sağlıklı kontrol grubundaki çocuklardan bir defa serum FcγRIIb düzeyi bakıldı. Kronik İTP grubunda, serum FcγRIIb düzeyinin tedaviden etkilenmemesi için bu gruptan bakılan serum FcγRIIb düzeyi aralıklı almış olduğu tedavilerin kesilmesinden arasında en az otuz gün sonra bakıldı.

Grup 1. Akut İTP tanısı alan, İVİG tedavisi verilen ve tedaviye yanıt veren hastalar (toplam 13 hasta); tedavi öncesi Grup 1a, tedavi sonrası verileri Grup 1b olarak sınıflandırıldı.

Grup 2. Akut İTP tanısı alan, YDMPZ tedavisi verilen ve tedaviye yanıt veren hastalar (toplam 15 hasta); tedavi öncesi Grup 2a, tedavi sonrası Grup 2b olarak sınıflandırıldı.

Grup 3. Akut İTP tanısı alan, İVİG tedavisi verilen ve tedaviye yanıt vermediği için YDMPZ verilen hastalar (toplam 7 hasta) olarak sınıflandırıldı.

Grup 4. Akut İTP tanısı alan, YDMPZ tedavisi verilen ve tedaviye yanıt vermediği için İVİG verilen hastalar (toplam 5 hasta) olarak sınıflandırıldı.

Grup 5. Kronik İTP tanısı ile izlenen ve son bir aydır herhangi bir tedavi almayan hastalar (toplam 14 hasta) olarak sınıflandırıldı.

Grup 6: Sağlıklı çocuklardan meydana gelen kontrol grubu (toplam 40 adet sağlıklı çocuk) oluşturuldu.

Çalışmaya Alınma Kriterleri

Aşağıdaki kriterlerin hepsini karşılayan vakalar çalışmaya Akut İTP olarak dahil edildi:

- 18 yaşının altında olması
- Trombosit sayısının $<20.000/\mu\text{L}$ olması
- Otoimmün hastalıklar (SLE, JRA, APAS gibi),
- İlaçlara bağlı trombositopeni,
- İnfeksiyonlar (kızamık, kızamıkçık, kabakulak, suçiçeği, EBV, CMV, sepsis, akut β -hemolitik streptokok enfeksiyonu gibi)

- Lenfoproliferatif hastalıklar,
- Ailevi trombositopeni,
- Yanlış kan transfüzyonu öyküsü,
- Dissemine intravasküler koagülasyon,
- Malignite olmaması
- Psödotrombositopeni olmaması

Çalışmaya alınan vakalarda yapılan işlemler

Araştırmaya Çocuk Hematoloji-Onkoloji Polikliniğine ve Çocuk Acil polikliniğine başvuran ve trombositopeni etiyojisinde diğer nedenlerin dışlanmış olduğu 40 Akut İTP vakası, yine çocuk hematoloji bölümünde takip edilen 14 Kronik İTP vakası ve 40 adet de sağlıklı çocuklardan oluşturulmuş kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan 40 akut İTP vakasına hemogram, periferik yayma, direkt coombs testi, antinükleer antikor (ANA), boğaz kültürü bakıldı.

3.2. Araç, Gereçler ve Laboratuvar Yöntemleri

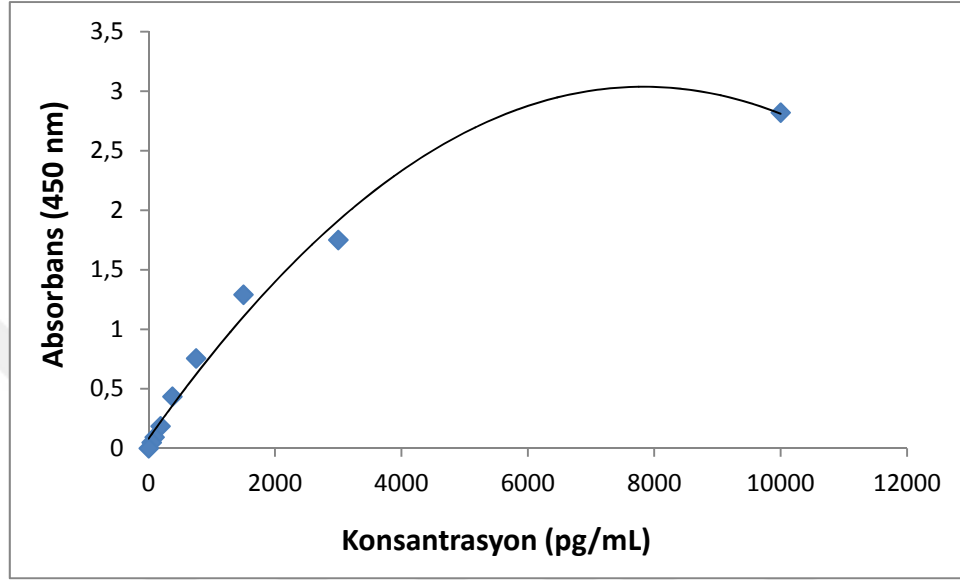
Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden onam formu eşliğinde seperatör jelli biyokimya tüpüne alınan kan örnekleri, oda sıcaklığında 20 dakika bekletilerek pıhtılaşmaları sağlandı. Sonrasında tüpler 1800×g'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası serum kısımları dikkatlice kapaklı küçük tüplere aktarıldı ve çalışılncaya kadar -80°C'de saklandı. Hemogram sayımı için EDTA'lı tüpe alınan kan örnekleri hastanemiz biyokimya laboratuvarında spektrofotometrik yöntem kullanılarak Sysmex XN-1000 (Japonya- 2014) cihazında çalışıldı. Periferik kan yayması tez sorumlu asistanı tarafından Wright yöntemi ile boyama yapılarak değerlendirildi. CD32(FcγRIIb) serum düzeyleri ise Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay (ELİSA) yöntemi ile çalışıldı.

CD32 (FcγRIIb) Seviyelerinin Belirlenmesi

Serum FcγRIIb seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ticari ELISA kit (Boster Biological Technology, Cat No: EK1312, Pleasanton, CA, ABD) kullanılarak ölçüldü. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- -80°C’de muhafaza edilen serumlar oda sıcaklığına getirildi. Çözülen örnekler vortekslenerek homojen hale gelmeleri sağlandı.
- Fc γ RIIb standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı. Hem örneklerden hem de standartlardan her bir kuyucuğa 100’er μ L olacak şekilde ilaveler yapıldı. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C’de çalkalayıcıda 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt içeriği uzaklaştırıldı ve her bir kuyucuğa 100’er μ L biotinle işaretli anti-human Fc γ RIIb antikor çözeltisi eklendi. Pleyt folyo ile kapatılarak 37°C’de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda pleyt yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 3 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa 100’er μ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, tekrar folyo ile kapatılarak 37°C’de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için Tetrametil benzidin (TMB) substrat çözeltisinden 90’ar μ L eklendi ve pleyt 37°C’de çalkalayıcıda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm’deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95’e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 100’er μ L renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, USA) 450 nm dalga boyunda okundu.

- Standart konsantrasyonlarına karşı elde edilen absorbans değerleri kullanılarak standart eğri oluşturuldu (Şekil 8). Örneklerdeki FcγRIIb seviyeleri bu standart eğri kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar pg/mL cinsinden verildi. Bu ELISA yönteminin intra-assay dağılımının tekrarlanabilirliği % 4.3 olarak bulundu.



Şekil II. FcγRIIb seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan standart grafiği

3.3. İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar SPSS programına aktarılıp istatistiksel analizleri yapıldı.

Verilerin analizinde SPSS 13.0 paket programı kullanıldı. Çalışma evreninin büyüklüğünün hesaplanmasında %80 güvenilirlik ve %5 hata payı esas alındı. Verilerin özetlenmesinde sayısal veriler için ortalama ve standart sapma, niteliksel veriler için sayı ve yüzde kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu “Tek Örnekli Kolmogorov Smirnov testi” ile analiz edildi. Bağımsız iki grup arasındaki ölçümsel verilerin karşılaştırılmasında veriler normal dağılıma uyuyorsa ‘Student-t testi’, uymuyorsa ‘Mann Whitney U testi’ kullanıldı. Bağımsız iki grup arasındaki ölçümsel verilerin korelasyonunun değerlendirilmesi için ‘bivariate Pearson korelasyon analizi’ uygulandı. Bağımsız üç grup arasındaki ölçümsel verilerin karşılaştırılmasında veriler normal dağılıma uymadığı için ‘Kruskall Wallis testi’ kullanıldı. İstatistiksel analizde ölçümlerle tespit edilen trombosit ve FcγRIIb reseptörü

düzeyi ortalama \pm standart sapma şeklinde, niteliksel veriler ise sayı ve yüzde ile ifade edildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışmamıza Nisan 2015-Şubat 2017 tarihleri arasında KTÜ Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji polikliniğine ve Çocuk polikliniklerine başvuran 40 akut, 14 kronik İTP'li hasta ve 40 sağlam çocuk dahil edildi. Akut ve kronik İTP'li hastalar ile kontrol grubunda bulunan hastaların çalışmanın başlangıcındaki yaş, cinsiyet ve trombosit sayıları Tablo III'de görülmektedir:

Tablo III: Akut-Kronik İTP Hastalarının ve Kontrol Grubunun Yaş, Cinsiyet ve Trombosit Değerleri

	Akut İTP (n= 40) (ort ± ss)	Kronik İTP (n= 14) (ort ± ss)	Kontrol grubu (n= 40) (ort ± ss)	P
Yaş (yıl) (min-mak)	5.5± 4.6 (3/12-16)	10.00 ± 5.1 (2-16)	6.55 ± 5.0 (4/12-17,5)	0.36
Cinsiyet (E/K)	20/20	7/7	20/20	0.99
Trombosit sayısı (/µL) (min-mak)	6,534 ± 4,278 (1,000-19,000)	17,642 ± 8,499 (5,000-33,000)	343,800 ± 117,633 (211,000-825,000)	<0.0001

min: minimum **mak:** maksimum

Çalışmaya alınan kronik İTP, akut İTP ve kontrol gruplarının arasında yaş ortalamaları açısından anlamlı fark yoktu (p=0,36). Vakaların gruplara göre cinsiyet dağılımında da istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı (p=0,99). Trombosit sayıları arasında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p<0,0001).

Intravenöz İmmünglobulin tedavisi verilen 20 hastanın 13 (%65)'ü tedaviye cevap verirken (kısmi veya tam cevap), yedi hastada (%35) tedaviye yanıt alınamadı. İVİG tedavisine cevap vermeyen yedi hasta YDMPZ'e cevap verdi ancak bir hasta sık relapslar sonrası kronik İTP olarak kabul edildi. YDMPZ tedavisi verilen 20 akut İTP hastasının 15 (%75)'i tedaviye cevap (tam veya kısmi cevap) verirken, beş (%25) hastada ise tedaviye yanıt alınamadı. YDMPZ tedavisine cevap vermeyen beş vaka ise İVİG tedavisine cevap verdi. Ancak bu gruptaki hastalardan bir tanesinin sonraki takiplerinde sık relapslar gelişti ve kronik İTP kabul edildi.

Yeni tanı Akut İTP hastalarının İVİG ve YDMPZ tedavilerine cevap veren tedavi öncesi ve tedavi sonrası trombosit sayıları ve eş zamanlı olarak ölçülen serum FcγRIIb düzeyleri tablo IV’te görülmektedir.

Tablo IV. İVİG ve YDMPZ tedavisine cevap veren akut İTP hastalarının tedavi öncesi ve sonrası trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri

AKUT İTP

	İVİG tedavisine cevap veren (n=13)		YDMPZ tedavisine cevap veren (n=15)	
	Tedavi öncesi Grup 1a (ort ± ss)	Tedavi sonrası Grup 1b (ort ± ss)	Tedavi öncesi Grup 2a (ort ± ss)	Tedavi sonrası) Grup 2b (ort ± ss)
Trombosit sayısı(/μL)	7,538 ± 5,471 ^(a)	131,076 ± 54,463 ^(b)	7,866 ± 3,583 ^(c)	208,000 ± 182,382 ^(d)
Serum FcγRIIb düzeyi (pg/L)	109.8 ± 28.5 ^(e)	1,131.2 ± 861.6 ^(f)	161.7 ± 138.9 ^(g)	122.6 ± 58.0 ^(h)

a-b; p=0.002

e-f; p=0.002

a-c:0.97

e-g:0.067

c-d; p=0.001

g-h; p=0.078

b-d:0.047

f-h:0.000

Intravenöz immünglobulin tedavisiyle trombosit sayısı ve FcγRIIb reseptör düzeyi anlamlı artış gözlenirken (sırasıyla p=0.002, p=0.002). YDMPZ tedavisiyle trombosit sayısında anlamlı artış olmasına rağmen(p=0.001) serum FcγRIIb düzeyinde anlamlı bir artış saptanmadı (p= 0.078). İVİG veya YDMPZ verilen hastalar arasında tedavi öncesi trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri açısından istatistiksel olarak fark gözlenmedi (sırasıyla p=0.97, p=0.067). İVİG ve YDMPZ verilen hastalarda tedavi sonrası trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlendi (sırasıyla p=0.047, p=0.000).

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası İVİG tedavisine cevap veren akut İTP hastalarının, kronik İTP hastaları ve kontrol grubu vakalarının trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri tabloV’te görülmektedir.

Tablo V. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası İVİG tedavisine cevap veren akut İTP hastalarının, kronik İTP hastalarının ve kontrol grubu vakalarının trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri

	İVİG tedavisine cevap (+) (n=13)		Kronik İTP (n:14) Grup 5 (ort ± ss)	Kontrol Grubu (n:40) Grup 6 (ort ± ss)
	Tedavi öncesi Grup 1a (ort ± ss)	Tedavi sonrası Grup 1b (ort ± ss)		
Trombosit Sayısı (/μL)	7,538.5±5,471.4 ^(a)	131,076.9±54,463.3 ^(b)	17,642.86±8,499.8 ^(c)	340,600±124,129 ^(d)
Serum FcγRIIb düzeyi (pg/mL)	109.9 ± 28.5 ^(e)	1,131.2 ± 861.8 ^(f)	113,1 ± 35,1 ^(g)	110.6 ± 25.4 ^(h)

a-b;p=0.002 a-c; p=0.003 a-d; p=0.000 b-c; p=0.000 b-d; p=0.000 c-d; p=0.000 e-f;p=0.002 e-g; p=1 e-h; p=0.880 f-g; p=0.000 f-h; p=0.000 g-h; p=0.984

Grup 1a ve Grup 1b arasında trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi (sırasıyla p=0.002 p=0.002). Grup 1a ile Grup 5 ve Grup 6 arasında trombosit sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen (sırasıyla p=0.003 ve p=0.000) bu gruplar arasında serum FcγRIIb düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmedi (sırasıyla p=1, p=0.880). Grup 1b ile Grup 5 ve Grup 6 arasında trombosit sayıları (sırasıyla p=0.000, p=0.000) ve FcγRIIb serum düzeyleri açısından anlamlı fark gözlemlendi (sırasıyla p=0.000, p=0.000).

Grup 5 ve grup 6 arasında trombosit sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen (p=0.000), bu gruplar arasında serum FcγRIIb düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmedi (p=0.984).

YDMPZ tedavisine cevap veren akut İTP hastalarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası, kronik İTP hastalarının ve kontrol grubunun trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri Tablo VI'da gösterilmiştir.

Tablo VI. YDMPZ tedavisine cevap veren akut İTP hastalarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası kronik İTP hastalarının ve kontrol grubunun trombosit sayıları ve serum FcγRIIb düzeyleri

	YDMPZ cevap (+) (n=15)		Kronik İTP (n=14) Grup 5 (ort ± ss)	Kontrol Grubu (n=40) Grup 6 (ort ± ss)
	Tedavi öncesi Grup 2a (ort ± ss)	Tedavi sonrası Grup2b (ort ± ss)		
Trombosit Sayısı(/μL)	7,866.7±3,583.0 ^(a)	208,000±182,382.3 ^(b)	17,642.9±8,499.8 ^(c)	340,000±124,129 ^(d)
Serum FcγRIIb düzeyi(pg/ml)	161.7 ± 138.9 ^(e)	122.6 ± 58.0 ^(f)	113,1 ± 35,0 ^(g)	110.60 ± 25.4 ^(h)

a-b; p:0.001 a-c; p=0.002 a-d; p=0.000 b-c; p=0.000 b-d; p=0.000 c-d; p=0.001
e-f; p:0.816 e-g; p=0.206 e-h; p=0.193 f-g; p=0.965 f-h; p=0.983 g-h; p=0.84

Grup 2a ile Grup 2b arasında trombosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark varken (p=0.001) serum FcγRIIb düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p=0.816). Grup 2a ile Grup 5 ve Grup 6 arasında trombosit sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen (sırasıyla p=0.002, p=0.000), bu gruplar arasında serum FcγRIIb düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (sırasıyla p=0.206 p=0.193). Grup 2b ile Grup 5 ve Grup 6 arasında trombosit sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen (sırasıyla p=0,000, p=0,000), bu gruplar arasında serum FcγRIIb düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla p=0.965, p=0.983). İVİG ile serum FcγRIIb düzeyi anlamlı derecede artarken YDMPZ ile serum FcγRIIb seviyesinde anlamlı artış saptanmamıştır.

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası İVİG ve YDMPZ tedavisine cevap veren akut İTP (Grup1 + Grup2), kronik İTP hastalarının ve kontrol grubu vakalarının trombosit sayıları ile serum FcγRIIb düzeyleri Tablo VII’de görülmektedir.

Tablo VII. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası İViG ve YDMPZ tedavisine cevap veren akut İTP (Grup1 + Grup2), kronik İTP hastalarının ve kontrol grubu vakalarının trombosit sayıları ile serum FcγRIIb düzeyleri

	Tedaviye cevap (+) (n=28)		Kronik İTP (n=14) Grup 5 (ort ± ss)	Kontrol Grubu (n=40) Grup 6 (ort ± ss)
	Tedavi öncesi Grup 1+2 (ort ± ss)	Tedavi sonrası Grup 1+2 (ort ± ss)		
Trombosit Sayısı(μL)	7,714.3±4,470.9 ^(a)	172,285.7±141,747 ^(b)	17,642.9±8,499.8 ^(c)	340,000±124,129 ^(d)
Serum FcγRIIb düzeyi(pg/ml)	137.6 ± 105.2 ^(e)	122.6 ± 58.1 ^(f)	113,0 ± 35,1 ^(g)	110.6 ± 25.4 ^(h)

a-b; p=0.000 a-c; p=0.000 a-d; p=0.000 b-d; p=0.000 b-c; p=0.000
e-f; p=0.889 e-g; p=0.360 e-h; p=0.447 f-h; p=0.010 f-g; p=0.031

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası gruplar arasında (grup 1+2) trombosit sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen (p=0.000), serum FcγRIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p=0.889). Tedavi öncesi Grup 1+2 ile Grup 5 ve Grup 6 arasında trombosit sayıları açısından istatistiksel olarak fark saptanmasına rağmen (sırasıyla p=0.000, p=0.000), bu gruplar arasında serum FcγRIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p=0.360, p=0.447).

Tedavi sonrası Grup 1+2 ile Grup 5 ve Grup 6 karşılaştırıldığında; trombosit sayıları (sırasıyla p=0.000, p=0.000) ve serum FcγRIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,031, p=0,01).

Tedaviye cevap vermeyen akut İTP'li hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası trombosit sayıları ile serum FcγRIIb düzeylerinin kronik İTP ve kontrol grubuyla karşılaştırılması Tablo VIII'da verilmiştir.

Tablo VIII. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası tedaviye cevap vermeyen akut İTP ve kronik İTP hastalarının ve kontrol grubu vakalarının trombosit sayıları ile serum FcγRIIb düzeyleri

	Tedaviye cevap (-) Grup 3+4		Kronik İTP Grup 5 (n=14) (ort ± ss)	Kontrol Grubu Grup 6 (n=40) (ort ± ss)
	Tedavi öncesi (n=12) (ort ± ss)	Tedavi sonrası (n=12) (ort ± ss)		
Trombosit sayısı (/μL)	3,600±3,238.7 ^(a)	6,200±2,299.8 ^(b)	17,642.9±8,499.8 ^(c)	340,000±124,129 ^(d)
Serum FcγRIIb düzeyi (pg/ml)	128,1 ± 27,790 ^(e)	105,1 ± 35,177 ^(f)	113,1 ± 35,1 ^(g)	110.6 ± 25.4 ^(h)

a-b; p=0.038 a-c; p=0.000 a-d; p=0.000 b-c; p=0.001 b-d; p=0.000 c-d; p=0.001 e-f; p=0.169 e-g; p=0.143 e-h; p=0.234 f-g; p=0.558 f-h; p=0.300 g-h; p=0.840

Tedaviye cevap vermeyen tüm yeni tanı akut İTP’li hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası trombosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenirken (p=0.038), FcγRIIb reseptör ekspresyonu düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0.169). Tedaviye cevap vermeyen tüm yeni tanı Akut İTP’li hastaların tedavi öncesi trombosit sayıları, kronik İTP ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark varken (sırasıyla p=0.000 ve p=0.000), bu grupların serum FcγRIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p=0.143, p=0.234). Tedaviye cevap vermeyen tüm akut İTP’li hastaların tedavi sonrası trombosit sayıları ile kronik İTP hastalarının ve kontrol grubunun trombosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark varken (sırasıyla p=0.001, p=0.000), aynı grupların serum FcγRIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla p=0.558, p=0.300). Kronik İTP ve kontrol grubu arasında trombosit sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen (p=0.001), bu gruplar arasında serum FcγRIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.840).

Akut İTP tedavisi olarak YDMPZ verilen hastaların %75’inden (15/20) tedaviye yanıt alınıp tedavilerine devam edildi. Hastaların %25’inde (5/20) ise tedaviye yanıt alınamayıp İVİG tedavisine geçildi. İVİG tedavisi verilen yeni tanı akut İTP hastasının ise

% 65'inden (13/20) tedaviye yanıt alınıp tedavilerine devam edildi. Yüzde 35 hastada (7/20) ise tedaviye yanıt alınamayıp YDMPZ tedavisine geçildi.

YDMPZ tedavisine cevap vermeyip İVİG tedavisine geçilen toplam beş hastanın üçünde (%60) tedaviye cevap alındı. İVİG tedavisinden cevap alınamayıp YDMPZ tedavisine geçilen toplam yedi hastanın beşinde (%71) tedaviye cevap alındı. İlk tedavi olarak İVİG ve YDMPZ tedavisi verilen her iki gruptan birer hasta relapslar sonrasında kronik İTP kabul edildi.



5. TARTIŞMA

Çalışmamızda; İTP'nin patogenezinde FcγRIIb'nin rolü olup olmadığının tespiti için serum FcγRIIb seviyeleri ile YDMPZ ve İVİG'in İTP tedavisindeki etkinliğinin FcγRIIb üzerinden olup olmadığını incelenmiştir. Çalışmamız değerlendirildiğinde; serum FcγRIIb düzeyinin İTP patogenezindeki rolünün ortaya konulması için, farklı iki tedavi verilip sadece FcγRIIb serum düzeylerine bakılması açısından özgün bir çalışmadır. Otoimmüitenin trombosit sayısını azaltıcı etkisini reseptör düzeyinde ortaya koyan farklı çalışmalar olmasına rağmen (77-84) bizim çalışmamız serum FcγRIIb düzeyinin tedaviyle ne şekilde değiştiğini ve trombosit sayısı üzerine iyileştirici etkisini ortaya koymaya yönelik bir çalışmadır.

İTP patogenezinine yönelik yapılmış literatürde birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar daha çok trombosit sayısındaki düşmenin öncelikle mononükleer fagositik sistemdeki fagositozdan ileri geldiğini öne sürmekle birlikte T-hücre aracılı trombosit yıkımı, platelet apoptozisi ve trombosit üretimindeki düzensizliğinde hastalık patogenezinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (78).

Hastalığın tedavisinde 30 yılı aşkın bir süredir başarı ile kullanılan İVİG tedavisiyle beraber çalışmalar İVİG'in etki mekanizması ile hastalık patogenezinin ilişkisi üzerine yoğunlaşmıştır. İlk olarak 2001 yılında fare modeli ile yapılan bir çalışmada anti-trombosit antikorlarla, FcγR aracılı fagositoz ile trombositopeni geliştiği ileri sürülmüştür. (79). Başka bir çalışmada. FcγRIIb doğuştan yok olan farelerde İVİG ile tedavi sağlanmış olup patogenezin FcγRIIb'den bağımsız olduğu öne sürülmüştür (80). Yapılan farklı çalışmalarda ise FcγRIIb eksikliğinin oluşturulduğu deneklerde İVİG tedavisine cevap alınamamıştır (81-85). Deney hayvanlarında yapılan bu çalışmalarda FcγRIIb'nin hastalık patogenezinde yeri olduğu, İVİG tedavisine cevap alınamamasının reseptör eksikliği nedeni ile olduğu ortaya konulmuştur. Bizim çalışmamızda benzer şekilde İVİG tedavisi ile FcγRIIb'de artış sağlanan hastaların trombosit sayısında artış olduğu gösterilmiştir.

FcγRIIb'nin yoğun olarak bulunduğu dalak makrofajları gözönüne alınarak splenektomi yapılmış farelere İVİG verilmiş ve İTP tedavisi bu farelerde başarılı olmuştur. Farelerde FcγRIIb'den bağımsız olarak İVİG tedavisi ile başarı sağlanmış olması; İVİG'in

tedavide farklı yolları kullandığını ve farelerde FcγRIIb'nin genetik olarak farklılık içerebileceğine bağlanmıştır (85-87). Başka bir çalışmada İVİG verilen farelerin tedaviden sonra dalak dokusunda FcγRIIb mRNA'sında bir artış olmadığı gösterilmiştir . İVİG'in etki mekanizmasının tek bir yolak üzerinden olmayıp immunomodulator etkisinin karmaşık olduğu ve bu çalışmalardaki sonuçların fare ve insan arasındaki genetik polimorfizmden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (88). Bir çalışmada, inhibitör Fcγ reseptörü FcγRIIb'nin İVİG ile ekspresyonunun artırılarak İTP tedavisinde etkin bir şekilde kullanılabilirliği bulunmuştur (89). Daha sonra aynı grup tarafından yapılan çalışma İVİG'in koloni stimüle edici faktör-1'e bağlı makrofajlar ile etkileştiğini ve bununda, dalakta bulunan makrofajlarda inhibe edici reseptör olan FcγRIIb 'nin ekspresyonunda artışa yol açtığını ve trombositlerin fagosite edilmesini inhibe ettiğini ortaya koyulmuştur (90). Biz de çalışmamızda, İVİG tedavisi ile serum FcγRIIb düzeylerinin anlamlı şekilde arttığını ve eş zamanlı olarak trombosit sayısında yükselme olduğunu saptadık.

Başka bir Fc reseptörü olan FcRIIc (aktivator reseptör ve trombosit yıkımını hızlandırmaktadır) ise sağlıklı erişkinlerin %18'inde eksprese edilmekte olup İTP ile ilişkilendirilmiştir (İTP hastalarının %34.4'ünde mevcut). Bu çalışmanın sonucu olarak aktive olmuş FcγRIIc; vücutta aktivator ve inhibitör FcR(FcγRIIb) dengesini bozarak(aktive reseptör artışı) trombositopeniyi gerçekleştirdiği öne sürülmüştür (91).

Samuelsson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bizim çalışmamızla benzer şekilde İVİG'in, bir fare İTP modelinde trombositopeniye karşı korunmak için düşük yoğunluklu IgG reseptörü FcγRIIb 'nin ekspresyonunun artırılması gerektirdiğini ortaya koymuştur (92). Song ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada; İVİG ile tedavi edilmiş immün trombositopenik farelerde FcγRIIb ekspresyonunda artış olduğunu ve trombosit sayısındaki iyileşmeyi doğrulamıştır (93). Bizim çalışmamızda bu çalışmalarla benzer olarak; İVİG tedavisi ile FcγRIIb'nin artışıyla trombosit sayısında iyileşme saptadık.

Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yüksek doz deksametazon tedavisinden sonra serum FcγRIIb mRNA ve proteininde önemli bir artış olduğu gösterilmiştir (94). Bizim çalışmamızda steroid tedavisinden sonra trombosit sayısında iyileşme görülsede bu hastaların FcγRIIb serum düzeylerinde artış gözlemlenmedi. Bu bulgu steroidlerin FcγRIIb üzerinden İTP tedavisinde etkili olmadığını düşündürmektedir.

İşlevsel olarak iki büyük grup altında toplanan (aktivatör ve inhibitör) Fc reseptörlerine yönelik yapılan bir çalışmada aktivatör grupta yer alan (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa) reseptörlerden biri olan FcγRI'nin bir monoklonal antikor ile bloke edilmesinin, İTP üzerinde az iyileştirici etkiye sahip olduğu görülmüş olup bu da diğer aktivatör reseptörler olan FcγRIIa ve FcγRIIIa'nın İTP'de trombosit yıkımına aracılık edebileceğini İleri sürülmüştür (95). Başka bir çalışmada ise, serum FcγRIIb düzeyinin İTP hastalarında azaldığını FcγRIIb'nin azalmış serum düzeyi ile dalak dokularında artmış trombosit yıkımı arasında ilişki bulunmuştur (96).

Akut İTP tanısı alan 40 hastanın 20 tanesine İVİG tedavisi verildi. Hastalarımızda İVİG'in başarı oranını %65 (13/20 hasta) olarak bulduk. Literatürde birçok çalışmada İTP tedavisinde İVİG'in başarı oranları %60-80 olarak saptanmıştır (97-100). Akut İTP tanısı alan 40 hastanın 20 tanesine YDMPZ tedavisi verildi. YDMPZ'nin başarı oranını %75 (15/20 hasta) olarak bulduk. YDMPZ tedavisi başarı oranı literatürde %60-75 olarak bildirilmiştir (101).

Yapılan 81 hastalık bir seride (31'i yeni teşhis edilmiş, 7'si persistan İTP, 43'ü kronik İTP) İVİG ile tedavi başarı oranı % 75.7 bulunmuştur. Tedavi dozu ve süresi 1 gr/kg/gün dozda iki gün olup ilaca bağlı yan etki gözlenmemiş ve tedaviyle kanama sıklığında azalma tespit edilmiştir (102).

İVİG'in tedavi edici olarak birçok mekanizması mevcut olduğu düşünülmektedir. Otoantikör ilişkili hastalıklarda Fc reseptör aracılı mekanizmalar önemlidir. Aktive FcγR blokajı antikor kaplı trombositlerin bağlanmasını, makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını ve granülositlerin degranülasyonunu inhibe eder (103).

İntravenöz immünglobulin ve YDMPZ tedavisi verdiğimiz hastalardan birer hastada kronik İTP gelişti. İlk tedavi olarak İVİG veya YDMPZ tedavisinin uzun dönem sonuçlarında kronik İTP ye dönüşme açısından her iki grup arasında literatürle uyumlu olarak farklılık bulunmadı (104).

İntravenöz immünglobulin tedavisine cevap veren akut İTP hastalarında serum FcγRIIb düzeyinin anlamlı olarak daha fazla artış gösterdiği tespit edilirken (p=0.000) YDMPZ alanlarda FcγRIIb serum düzeylerinde artış saptanmad (p=0.78) Buna karşılık

tedaviye cevap oranları arasında YDMPZ ve İVİG tedavileri arasında anlamlı bir farklılık yoktu (p=0.913).

İmmun trombositopeni fare modeli çalışmasında İVİG'in antiinflamatuvar özelliğinin moleküler etkisi değerlendirilmiştir. İVİG klinik olarak patojenik otoantikolar tarafından tetiklenen trombosit tüketimini önlemiştir. Bloke edici İnhibitör FcγRIIb, korunma için gereklidir. Çünkü; genetik delesyon veya blokan monoklonal antikorla FcγRIIb'nin ortadan kaldırılması ile İVİG'in tedavi edici özelliğinin ortadan kalktığı gösterilmiş ve bizim çalışmamızla benzer sonuçlar bulunmuştur. Aynı çalışmada İVİG verilmesiyle dalak makrofajlarında FcγRIIb'nin yüzey ekspresyonunun artırılması trombosit sayısındaki artış ile ilişkili olarak bulunmuştur. Böylece otoantikolarla tetiklenen hastalıklarda inhibitör sinyalizasyonun düzenlenmesi yeni tedavi seçeneği olabilir (105).

İntravenöz immünglobulin İTP'li çocukların trombositlerinde hızlı ve uzun süreli artışa sebep olur. İTP ile ilgili farelerde yapılan bir çalışmada; İVİG etkinliğinin mekanizmasının dalak makrofajlarında inhibitör Fc reseptör FcγRIIb'nin artışıyla olduğu düşünülmektedir (106). Başka bir çalışmada İVİG verilmesinin periferik kan CD14(+) monositlerinde FcγRIIb ekspresyonunda benzer artış oluşturup oluşturmadığını araştırmak için 20 İTP'li çocukta yapılmıştır. İTP hastaları ve kontrollerde periferik kan monositlerinde FcγRIIb ekspresyonunu akım sitometri ile İVİG tedavisi öncesi ve sonrasında ölçülmüş. Bu araştırmacılar İTP'li çocuklarda İVİG'in periferik kan monositlerinde FcγRIIb ekspresyonunu arttırmadığı sonucuna varmışlar (107) Bizim çalışmamızda bakılan serum FcγRIIb düzeyleri toplam düzey olduğu için sadece monositler düzeyinde reseptör ekspresyonunda artış olup olmadığı konusunda bir sonuca varılamamıştır.

Bir çalışmada İVİG'in potent makrofaj aktivatörü olan ve inflamasyonu arttıran interferon-gamma (IFN-γ)'ya hücrel cevabı araştırılmıştır. İVİG; IFN-γ sinyalini ve IFN-γ-ilişkili gen ekspresyonunu bloke ettiği saptanmıştır. IFN-γ sinyalinin inhibisyon mekanizması IFN-γ reseptörünün IFNGR2 alt biriminin ekspresyonunun baskılanmasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür. İVİG'in inhibitör etkisinin bir kısmı çözünebilir immün komplekslere bağlı olduğu ve FcγRIII ile bağımlı olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, aktive olmuş FcγRIII'ün IFN-γ sinyalinde beklenmeyen bir inhibitör rolü tespit

edilmiştir ve bu da IFN- γ 'ya makrofaj cevabının inhibisyonunun İVİG'in anti-inflamatuar özelliğine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (108).

Yüksek doz metil prednizolon tedavisiyle trombosit sayılarında yükselme sağlanan hastalarda Fc γ RIIb serum düzeylerinde anlamlı bir yükselme gözlemlenmedi. Yapılan bir çalışmada, primer immün trombositopenisi olan 23 hastada monositlerdeki FcRI ekspresyonu yüksek doz deksametazon tedavisi önce ve sonrasında çalışılmış, ITP hastalarında FcRI ciddi oranda yüksek olup yüksek doz steroid sonrası azaldığı görülmüştür. Tedavi edilmemiş hastalarda monositlerdeki FcRIIa/IIb mRNA ekspresyon oranı sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yüksek doz steroid tedavisi sonrasında ise oran azalmış ve FcRIIb'nin mRNA'sında artmış ekspresyon tespit edilmiştir. Eş zamanlı olarak FcRIIa, FcRI, ve monosit fagositoz kapasitesinde belirgin azalma tespit edilmiştir. Hasta ve kontroller arasında monositlerdeki FcRIII ekspresyonu açısından anlamlı fark tespit edilmemiş olup FcR dengesinin bozulmasının İTP patogenezinde rol oynayabileceği ve yüksek doz steroid tedavisinin İTP'li hastalarda monosit FcR dengesini inhibitör FcRIIb tarafına kaydırabileceği ileri sürülmüştür (109) Bizim çalışmamızda ise YDMPZ tedavisi verdiğimiz hasta grubunda tedaviye cevap verip trombosit sayısında iyileşme gözlemlediğimiz İTP hastalarında Fc γ RIIb'nin serum düzeyinde yükselme tespit edilmedi. Bu bulgu İTP'li hastalarda YDMPZ tedavisinin etkisini Fc γ RIIb üzerinden gerçekleştirmediğini düşündürmektedir. Diğer Fc reseptörleri çalışılmadığı için İTP'nin patogenezinde ve tedavisinde tüm Fc R'lerin rolü olup olmadığı ortaya koyulamamıştır.

İntravenöz immünglobulin tedavisine cevap veren akut İTP'li hastaların tedavi sonrası serum Fc γ RIIb düzeyleri ile , kronik İTP hastaları ve sağlam çocuklardan oluşan gruplar arasında serum Fc γ RIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (sırasıyla p=0.000, p=0.000). Bu gruplar arasında fark olması İVİG tedavisiyle akut İTP hastalarında serum Fc γ RIIb düzeylerinin belirli bir seviyeye getirilmiş olmasından kaynaklanmış olabileceğini düşündürdü.

İntravenöz immünglobulin ve YDMPZ tedavisine cevap vermeyen akut İTP hastalarının serum Fc γ RIIb seviyeleri ile, kronik İTP ve kontrol grubunun serum Fc γ RIIb seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (sırasıyla p=0.558, p=0.300). Tedavi ile Fc γ RIIb düzeylerinde yükselme olmaması ve eş zamanlı olarak trombosit

sayısının düşük kalması Fc γ RIIb'nin İTP patofizyolojisinde trombositleri koruyucu etkisini ortaya koymaktadır.

İTP'de düşük trombosit sayılarının ana nedeni, otoantikörler ile trombosit opsonizasyonu, ardından retiküloendotelyal sistem (RES) ile fagositozdur (110). Bununla birlikte, İTP'nin patofizyolojisi oldukça karmaşıktır ve azalmış trombosit döngüsüne (111) kalıtsal ve/veya edinilmiş genetik nedenlere (112, 113) T hücrelerinin aracılık ettiği sitotoksositeye (114) baskın proinflamatuvar durumlara (115) bazı immün hücrelerin disfonksiyonuna (116,117) ve periferik immün tolerans kaybına (118) bağlı olabilir. İmmün sistemin tolerans kaybına yol açan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamış olup sitokin düzensizliği tolerans kaybına yol açan güçlü bir ara mekanizma olarak kabul edilir (119). İTP hastalarında, sağlıklı kontrollere kıyasla, çok sayıda sitokin serumda arttığı, dengesiz bir immün yanıtın ortaya çıktığı gösterilmiştir (120). Bütün bu durumlar göz önüne alındığında YDMPZ tedavisinin bu karmaşık otoimmün sistemi baskıladığı sitokin deşarjını azalttığı ve anti-inflamatuvar etkisiyle trombosit sayısını yükselttiği düşünülmektedir.

Bizim çalışmamızda YDMPZ tedavisi verdiğimiz hasta grubunda her ne kadar trombosit sayısı ile eş zamanlı olarak Fc γ RIIb serum düzeylerinde artma olmasa da YDMPZ'nin bu sayılan diğer yolaklar üzerinden trombosit sayısında yükselme sağladığını ve akut İTP tedavisinde iyi bir tedavi seçeneği olduğunu düşündürmektedir. Yapılan bir çalışmada, YDMPZ tedavisinin akut İTP tedavisinde iyi bir tedavi seçeneği olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (121). Bizim çalışmamızda her iki tedavi seçeneğinde akut İTP hastalarında, trombosit sayısını yükselttiğini gözlemledik. Literatürde İVİG ve YDMPZ tedavisinin çocuklarda akut İTP'nin tedavisinde güvenli ve başarılı bir şekilde kullanılabileceğini bildiren yayınlar vardır (121,122).

Tedaviye cevap veren tüm akut İTP hastalarının tedavi sonrası trombosit sayıları ve serum Fc γ RIIb düzeyleri ile kronik İTP hastalarının ve kontrol grubu vakalarının trombosit sayısı ve serum Fc γ RIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi (sırasıyla p=0.000, p=0.000, p=0.031, p=0.010). Kronik İTP hastalarında trombosit sayısına eş zamanlı olarak Fc γ RIIb serum düzeyleri düşüklüğünde eşlik etmesi patofizyolojide Fc γ RIIb önemini desteklemektedir. Ayrıca; tedaviden cevap alınan akut İTP'li hastalarında trombosit sayısı ile eş zamanlı olarak serum Fc γ RIIb düzeylerinin

yükselmeside trombosit koruyucu bu Fc γ RIIb'nin hastalığın patofizyolojisinde rolü olduğunu göstermektedir.

Yeni tanı akut İTP'li hastaların tedavi öncesi serum Fc γ RIIb reseptör düzeyleri, kronik İTP ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla p=0.360 p=0.447). Bu bulgular vucutta tanı anında akut ve kronik İTP'li hastaların kanlarında bazal düzeyde Fc γ RIIb olduğuna işaret etmektedir. Tüm Akut İTP'li hastaların tedavi sonrası trombosit sayıları ve serum Fc γ RIIb düzeyleri, kronik İTP ve kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla p=0.000 p=0.004 p=0.039 p=0.005). Bu bulgu, tedaviye cevap veren akut İTP'li hastalarda bazal seviyenin üzerine çıkartılan serum Fc γ RIIb düzeyleri ile trombosit sayısında iyileşme sağlanabileceğini düşündürmektedir. Tedavi verilen (tedaviye cevaplı ve tedaviye cevapsız) akut İTP hastalarının trombosit değerleri arasında tedavi öncesi ve tedavi sonrası anlamlı fark varken (p=0.000), serum Fc γ RIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p=0.199). Serum Fc γ RIIb düzeyleri arasında anlamlı fark gözlenmemesi, tedaviye cevapsız akut İTP vakalarında serum Fc γ RIIb düzeylerinde artış olmamasından kaynaklandığını düşündürmektedir.

Tedaviye cevap vermeyen akut İTP'li hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası trombosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenirken (p=0.038), serum Fc γ RIIb düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu (p=0.169). Burada trombosit sayısında istatistiksel olarak her ne kadar fark gözlemlensede tedavi sonrası trombosit sayıları 20000/ μ L'nin üzerine yükselmemişti. Tedaviye cevap vermeyen akut İTP hasta grubunda serum Fc γ RIIb seviyesinde yükselme olmaması, trombosit sayısında anlamlı yükselme sağlamamıştır.

Tedaviye cevap vermeyen akut İTP'li hastaların tedavi öncesi serum Fc γ RIIb düzeyleri kronik İTP ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p=0.143, p=0.126). Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı çocuklarla tedaviye cevapsız olan akut İTP hastaları arasında fark olmaması Fc γ RIIb'nin bazal değerinin otoimmünite tetiklendiği zaman trombositleri koruyucu etkisi için bu düzeyin yetersiz kaldığı sonucunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak akut İTP'li hastaların tedavisinde kullanılan İVİG tedavisi etkisini Fc γ RIIb üzerinden gösterirken, YDMPZ tedavisi etkisini Fc γ RIIb üzerinden göstermediği

kanaatine varılmıştır. İVİG ile tedavi edilmiş akut İTP'li hastaların tedavi sonrası serum Fc γ RIIb seviyesinin; kontrol grubu, kronik İTP ve YDMPZ tedavisi alan akut İTP hasta grubundan daha yüksek olması;

- a) Akut ve kronik İTP'li hastalarda, fizyolojik seviyelerdeki Fc γ RIIb seviyesinin İTP'yi tedavi etmekte yetersiz olduğu,
- b) Yüksek doz metil prednizolon tedavisinden sonra trombosit sayısında artış olmasına karşılık serum Fc γ RIIb seviyesinin artmaması, YDMPZ tedavisinin akut İTP'li hastalarda Fc γ RIIb üzerinden trombosit sayısını artırmadığını,
- c) İntravenöz immünglobulin tedavisinden sonra trombosit sayısında artış ile birlikte serum Fc γ RIIb seviyesinde artması, İVİG tedavisinin akut İTP'li hastalarda Fc γ RIIb üzerinden de trombosit sayısını artırdığı

sonucunu ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

SONUÇLAR

1. Akut İTP'li hastaların yaş ortalaması 5.5 ± 4.6 yıl, kronik İTP yaş ortalaması 10.0 ± 5.1 yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması 6.6 ± 5.0 yıl idi. Kronik İTP'li çocukların trombosit sayısı ortalaması $17,642 \pm 8,499/\mu\text{L}$, akut İTP'li çocukların trombosit sayısı ortalaması $6,534 \pm 4,278/\mu\text{L}$ kontrol grubunun trombosit ortalaması ise $343,800 \pm 117,633/\mu\text{L}$ olarak bulundu. Yaş ortalamaları, cinsiyet dağılımı ve trombosit sayısına göre gruplar karşılaştırıldığında; gruplar arasında yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (sırasıyla $p=0.36$, $p=0.99$). Grupların trombosit sayıları arasında ise anlamlı fark vardı ($p<0.0001$).
2. İntravenöz immünglobülin tedavisi verilen hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası trombosit sayıları ve serum Fc γ RIIb düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (sırasıyla $p=0.002$ ve $p=0.002$). YDMPZ tedavisi verilen hastaların trombosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen ($p=0.001$) Fc γ RIIb reseptör düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.078$). İVİG tedavisiyle trombosit sayısı ve Fc γ RIIb reseptör düzeyi anlamlı artış gözlenirken (sırasıyla $p=0.002$, $p=0.002$) YDMPZ tedavisiyle trombosit sayısında anlamlı artış olmasına rağmen ($p=0.001$) serum Fc γ RIIb düzeyinde anlamlı bir artış saptanmadı ($p=0.078$).
3. İntravenöz immunglobulin tedavisi verilen akut İTP'li hastaların tedavi sonrası serum Fc γ RIIb düzeyleri ile kronik İTP ve kontrol grubu vakaların serum Fc γ RIIb düzeyleri arasında anlamlı fark gözlemlendi (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.000$).

4. Yüksek doz metil prednizolon tedavi öncesi akut İTP vakaları (Grup 2a) ile kronik İTP (Grup 5) ve kontrol grubu vakaları (Grup 6) arasında trombosit sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmasına rağmen (sırasıyla $p=0.002$, $p=0.000$) bu gruplar arasında serum Fc γ RIIb düzeyi açısından anlamlı fark gözlenmedi (sırasıyla $p=0.206$ $p=0.193$). Akut İTP hastalarında YDMPZ tedavisi ile trombosit sayısında artış gözlendi ise de ($p=0.000$) serum Fc γ RIIb düzeylerinde bir artış gözlenmedi ($p=0.816$).
5. Yüksek doz metilprednizolon tedavisi verilen akut İTP hastalarının %75'inde (15/20) tedaviye yanıt alındı. İVİG tedavisi verilen akut İTP hastasının ise % 65'inde (13/20) tedaviye yanıt alındı. Her iki grupta birer hastada uzun dönemde kronik İTP gelişti. İlk tedavi olarak İVİG veya YDMPZ başlanan hastaların uzun dönem sonuçları arasında fark gözlenmedi ($p=0.000$).
6. İntravenöz immunglobulin ile tedavi edilen akut İTP'li hastaların tedavi sonrası serum Fc γ RIIb seviyesinin; kontrol grubu, kronik İTP, İVİG ve YDMPZ tedavisi verilmeden önceki hasta grubundan daha yüksek olması;
 - a.) Akut İTP ve kronik İTP'li hastalarında, fizyolojik seviyelerdeki Fc γ RIIb seviyesinin İTP'yi tedavi etmekte yetersiz olduğu,
 - b.) Yüksek doz metilprednizolon tedavisinden sonra trombosit sayısında artış olmasına karşılık serum Fc γ RIIb seviyesinin artmaması, YDMPZ tedavisinin akut İTP hastalarında Fc γ RIIb üzerinden trombosit sayısını artırmadığı,
 - c.) İntravenöz immunglobulin tedavisinden sonra akut İTP hastalarında trombosit sayısındaki yükselmeye birlikte serum Fc γ RIIb seviyesinde artması, İVİG tedavisinin Fc γ RIIb üzerinden de trombosit sayısını yükselttiği sonucunu ortaya koymaktadır.

ÖNERİLER

1. İntravenöz immünglobulin tedavisi başlanan akut İTP hastalarında trombosit değerlerinde yükselme ile birlikte serum FcγRIIb düzeyinin eş zamanlı olarak artış göstermesi bu inhibitör reseptörün hastalığın patofizyolojisinde rolü olduğunu ve İVİG'in FcγRIIb seviyesini artırarak İTP'de trombositopeniyi düzelttiği kanaatindeyiz.
2. Yüksek doz metil prednizolon tedavisi verilen hasta grubunda trombosit sayısı artış gösterirken eş zamanlı olarak serum FcγRIIb düzeyinde artış olmaması, YDMPZ tedavisinin serum FcγRIIb düzeyi üzerinden İTP'li hastalarda trombosit sayısını yükseltmediğini düşündürmektedir.
3. İntravenöz immünglobulin tedavisine cevapsız olgularda FcγRIIb reseptör düzeyinde artış olmaması yine bu reseptörün hastalık patogenezinde önemli bir yere sahip olduğunu düşündürmektedir.
4. İntravenöz immünglobulin ve YDMPZ tedavisi alan hasta gruplarında birer hasta uzun dönem takiplerinde kronik İTP tanısı aldığı için; akut İTP hastalarına başlanan ilk tedavilerin (İVİG ve YDMPZ) uzun dönemde hastalığın seyrini değiştirmede göstermektedir. Bu sebeple maliyetler ve yan etkiler gözönüne alındığında YDMPZ tedavisi akut İTP tedavisinde daha uygun bir seçenektir.
5. Yüksek doz metil prednizolon tedavisine cevap veren hastalarda trombosit sayısındaki yükselmeye eş zamanlı olarak FcγRIIb reseptör seviyesinin yükselmemesi, diğer yandan bu grubun kronik İTP ve sağlam çocuklarla karşılaştırıldığında FcγRIIb reseptör düzeylerinin istatistiksel olarak farklı olmaması, vucutta bazal FcγRIIb seviyesinin İTP'li hastalarda trombosit sayısını yükseltmekte etkili olmadığını göstermektedir.
6. İTP'de trombositopeni, otoimmünitadaki birçok faktörden etkilendiği için patogeneze yönelik daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Wang T, Zhao H, Ren H, Guo J, Xu M, Yang R, et al. Type 1 and type 2 T-cell profiles in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica*. 2005;90(7):914-23.
2. Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. *The New England Journal of Medicine*. 2002;346(13):995-1008.
3. Andersson PO, Wadenvik H. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP): molecular mechanisms and implications for therapy. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2004;6(24):1-17.
4. British Committee for Standards in Haematology General Haematology Task Force. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. *British Journal of Haematology*. 2003;120(4):574-96.
5. Kojouri K, George JN. Recent advances in the treatment of chronic refractory immune thrombocytopenic purpura. *International Journal of Hematology*. 2005;81(2):119-25.
6. Wilson D, Acquired Platelet Defects. In: Stuart O, David N, David Gingsburg A (Eds). *Textbook of hematology of infancy and childhood*. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2009. p. 1571-3.
7. Bussel J, Renaud T. Disorders of platelets. In: Lanzkowsky P, Lipton J, Fish J (Eds). *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. 5th ed. San Diego, CA: Elsevier; 2011. p.321-77.
8. Erkurt MA, Kaya E, Berber I, Koroglu M, Kuku I. Immune Thrombocytopenia in adults: review article. *Journal of Hematology*. 2012;1(3):44-53.
9. Lichtman MA. Essential Thrombocythemia and Thrombocytosis. In: Lichtman M, Kipps TJ, Williams WJ (Eds). *Williams Manual of Hematology*. 6th ed. New York: McGraw Hill Medical Publishing Division; 2006. p. 312-64.
10. Belletrutti M, Ali K, Barnard D, Blanchette V, Chan A, David M, et al. Chronic immune thrombocytopenic purpura in children: A survey of the Canadian experience. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2007;29(2):95-100.
11. Kliegman RM, Stanton B, Geme JS, Schor NF, Behrman RE. Nelson textbook of pediatrics. In: Akhil M, Waldemar AC (Eds). *Digestive System Disorders*. 20th ed. Elsevier Health Sciences; 2015. p. 871-80.
12. D'Orazio JA, Neely J, Farhoudi N. ITP in children: pathophysiology and current treatment approaches. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2013;35(1):1-13.

13. DiPaola JA, Buchanan GR. Immune thrombocytopenic purpura. *Pediatric Clinics of North America*. 2002;49(5):911-28.
14. Lazarus AH, Semple JW, Cines DB. Innate and adaptive immunity in immune thrombocytopenia. *Seminars in Hematology*. 2013;26(5):68-70.
15. Kashiwagi H, Tomiyama Y. Pathophysiology and management of primary immune thrombocytopenia. *International Journal of Hematology*. 2013;98(1):24-33.
16. Tomiyama Y, Kosugi S. Auto antigenic epitopes on platelet glycoproteins. *International Journal of Hematology*. 2005;81(2):100-5.
17. Stasi R. Immune thrombocytopenia: pathophysiologic and clinical update. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2012;38(5):454-62.
18. Johnsen J. Pathogenesis in immune thrombocytopenia: new insights. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2012;13(5):306-12.
19. Cines DB, Bussel JB, Liebman HA, Luning P. The ITP syndrome: Pathogenic and Clinical Diversity. *Blood*. 2009;113(26):6511-21.
20. Asahi A, Nishimoto T, Okazaki Y, Suzuki H, Masaoka T, Kawakami Y, et al. Helicobacter pylori eradication shifts monocyte Fc gamma receptor balance toward inhibitory Fc gamma R IIB in immune thrombocytopenic purpura patients. *The Journal of Clinical Investigation*. 2008;118(8):2939-49.
21. Liu XG, Ma SH, Sun JZ, Ren J, Shi Y, Sun L, et al. High-dose dexamethasone shifts the balance of stimulatory and inhibitory Fc gamma receptors on monocytes in patients with primary immune thrombocytopenia. *Blood*. 2011;117(6):2061-9.
22. Kaveri SV. Intravenous immunoglobulin: exploiting the potential of natural antibodies. *Auto immunity reviews*. 2012;11(11):792-4.
23. Semple JW. Immune pathophysiology of auto-immune thrombocytopenic purpura. *Blood Reviews*. 2002;16(1):9-12.
24. Cooper N, Bussel J. The pathogenesis of immune thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology*. 2006;133(4):364-74.
25. Dubois B, Chapat L, Goubier A, Kaiserlian D. CD4+ CD25+ T cells as key regulators of immune responses. *European Journal of Dermatology*. 2003;13(2):111-6.
26. Jonuleit H, Schmitt E. The regulatory T cell family: distinct subsets and their interrelations. *Journal of Immunology*. 2003;171(12):6323-7.
27. Zhou B, Zhao H, Yang RC, Han ZC. Multi-dysfunctional pathophysiology in ITP. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2005;54(2):107-16.

28. Panitsas FP, Theodoropoulou M, Kouraklis A, Karakantza M, Theodorou GL, Zoumbos NC, et al. Adult chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) is the manifestation of a type-1 polarized immune response. *Blood*. 2004;103(7):2645-7.
29. Sakakura M, Wada H, Tawara I, Nobori T, Sugiyama T, Sagawa N, et al. Reduced CD4+ CD25+ T cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Thrombosis Research*. 2007;120(2):187-93.
30. Hu Y, Ma DX, Shan NN, Zhu YY, Liu XG, Zhang L, et al. Increased number of Tc17 and correlation with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. 2011;6(10):265-7.
31. Hu Y, Li H, Zhang L, Shan B, Xu X, Li H, et al. Elevated profiles of Th22 cells and correlations with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. *Human Immunology*. 2012;73(6):629-35.
32. Zhu X, Ma D, Zhang J, Peng J, Qu X, Ji C, et al. Elevated interleukin-21 correlated to Th17 and Th1 cells in patients with immune thrombocytopenia. *Journal of Clinical Immunology*. 2010;30(2):253-9.
33. Semple JW, Italiano JE, Freedman J. Platelets and the immune system. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(4):264-74.
34. Feng X, Scheinberg P, Samsel L, Rios O, Chen J, McCoy J, et al. Decreased plasma cytokines are associated with low platelet counts in aplastic anemia and immune thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2012;10(8):1616-23.
35. Sood R, Wong W, Gotlib J, Jeng M, Zehnder J. Gene expression and pathway analysis of immune thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology*. 2008;140(1):99-103.
36. Cole H. Rapid update on childhood immune thrombocytopenic purpura. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2012;48(5):378-9.
37. Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, Michel M, Provan D, Arnold D, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood*. 2009;113(11):2386-93.
38. Lanzkowsky P. Disorders of platelets. In: Lanzkowsky P, Lipton J, Fish J (Eds), *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. New York: Elsevier; 2000. p. 233-50.
39. Blanchett VS, Price V. Childhood chronic immune thrombocytopenic purpura: un resolve dissues. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2003;25(6):28-33.
40. Rosthoj S, Rajantie J, Treutiger I, Zeller B, Tedgard U, Henter J, et al. Duration and morbidity of chronic immune thrombocytopenic purpura in children: five-year follow-up of a Nordic cohort. *Acta Paediatrica*. 2012;101(7):761-6.

41. Neunert CE, Buchanan GR, Imbach P, Bolton-Maggs PH, Bennett CM, Neufeld E, et al. Bleeding manifestations and management of children with persistent and chronic immune thrombocytopenia: data from the Intercontinental Cooperative ITP Study Group (ICIS). *Blood*. 2013;121(22):4457-62.
42. Gaines AR. Acute onset hemoglobinemia and/or hemoglobinuria and sequelae following Rh(o)(D) immune globulin intravenous administration in immune thrombocytopenic purpura patients. *Blood*. 2000;95(8):2523-9.
43. Klaassen RJ, Mathias SD, Buchanan G, Bussel J, Deuson R, Young NL, et al. Pilot study of the effect of romiplostim on child health-related quality of life (HRQoL) and parental burden in immune thrombocytopenia (ITP). *Pediatric Blood & Cancer*. 2012;58(3):395-8.
44. Peerschke EI, Yin W, Ghebrehiwet B. Complement activation on platelets: implications for vascular inflammation and thrombosis. *Molecular Immunology*. 2010;47(13):2170-5.
45. Najaoui A, Bakchoul T, Stoy J, Bein G, Rummel MJ, Santoso S, et al. Auto antibody-mediated complement activation on platelets is a common finding in patients with immune thrombocytopenic purpura (ITP). *European Journal of Haematology*. 2012;88(2):167-74.
46. Liu XG, Li JL, Qin P, Ren J, Ma SH, Sun L, et al. Determination of platelet-bound glycoprotein specific auto anti-bodies by flow cytometric immuno bead assay in primary immune thrombocytopenia. *European Journal of Haematology*. 2011;86(4):339-46.
47. Çetin M. Edinsel trombositopeni ve işlev bozuklukları. In: Anak S, Çetin M, İrken G, Kemahlı S, Öztürk G, Yeşilipek MA (Eds). *Pediatric Hematoloji*. İstanbul Tıp Kitabevi; 2011. p. 445-69
48. Shad AT, Gonzalez CE, Sandler SG. Treatment of immune thrombocytopenic purpura in children: current concepts. *Paediatric Drugs*. 2005;7(5):325-36.
49. Renaud T. Disorders of Platelets. In: Lanzkowsky P (Ed). *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. 5th ed. New York: Elsevier; 2011. p.321-78.
50. Cooper N, Heddle NM, Haas M, Reid ME, Lesser ML, Fleit HB, et al. Intravenous (IV) anti-D and IV immunoglobulin achieve acute platelet increases by different mechanisms: modulation of cytokine and platelet responses to IV anti-D by Fc gamma RIIa and Fc gamma RIIIa polymorphisms. *British Journal of Haematology*. 2004;124(4):511-8.
51. Watts RG. Idiopathic thrombocytopenic purpura: 10-year natural history study at the children's Hospital of Alabama. *Clinical Pediatrics*. 2004;43(8):691-702.
52. Kemahlı S. Trombosit Bozuklukları. In: Hasanoğlu E, Bideci A (Eds). *Türkiye Temel Pediatri Derneği, Temel Pediatri*. Güneş Tıp Kitabevi; 2010. p.1005-9.

53. Zhang Y, Chen Q, Fang N. Relation ship between apoptosis and CD30 expression of activated T-lymphocyte in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. 2010;18(1):195-8.
54. Blanchette V, Carcao M. Approach to the investigation and management of immune thrombocytopenic purpura in children. *Seminars in Hematology*. 2000;37(3):299-314.
55. Bredlau AL, Semple JW, Segel GB. Management of immune thrombocytopenic purpura in children: potential role of novel agents. *Paediatric Drugs*. 2011;13(4):213-23.
56. Rudolph A, Overby K, Caroline A, Bertram H. Blood Disease. In: Rudolph MA, First GE, First LR, Gershon AA (Eds.), Yurdakök M (Çeviri Ed.). *Rudolph's Fundamentals of Pediatrics*. 21th ed. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2003. p.553-8.
57. Perlman MK, Schwab JG, Nachman JB, Rubin CM. Thrombocytopenia in children with severe on deficiency. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2002;24(5):380-4.
58. Arnold DM, Kukaswadia S, Nazi I, Esmail A, Dewar L, Smith JW, et al. A systematic evaluation of laboratory testing for drug-induced immune thrombocytopenia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2013;11(1):169-76.
59. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L, Crowther MA, et al. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood*. 2011;117(16):4190-207.
60. Provan D, Stasi R, Newland AC, Blanchette VS, Bolton-Maggs P, Bussel JB, et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood*. 2010;115(2):168-86.
61. Ozsoylu S. Comparison of intravenous immunoglobulin and high dose anti-D immuno globulin as initial therapy for childhood immune thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology*. 2011;152(6):783-4.
62. Zhang B, Lo C, Shen L, Sood R, Jones C, Cusmano-Ozog K, et al. The role of vanin-1 and oxidative stress-related pathways indistinguishing acute and chronic pediatric ITP. *Blood*. 2011;117(17):4569-79.
63. Imbach P, Barandun S, Baumgartner C, Hirt A, Hofer F, Wagner HP, et al. High-dose intravenous gamma globulin therapy of refractory, in particular idiopathic thrombocytopenia in childhood. *Helvetica Paediatrica Acta*. 1981;36(1):81-6.
64. Teeling JL, Jansen-Hendriks T, Kuijpers TW, DeHaas M, vande Winkel JG, Hack CE, et al. Therapeutic efficacy of intravenous immunoglobulin preparations depends on the immunoglobulin G dimers: studies in experimental immune thrombocytopenia. *Blood*. 2001;98(4):1095-9.
65. Hogarth PM. Fc receptors: introduction. *Immunological Reviews*. 2015;268(1):1-5.

66. Brambell F, Hemmings W, Morris I. A theoretical model of gamma-globulin catabolism. *Nature*. 1964;203(9):1352-5.
67. Boyden SV, Sorkin E. In Vitro: The Adsorption of antigen by spleen cells previously treated with antiserum. *Immunology*. 1960;3(3):272.
68. Basten A, Miller JF, Sprent J, Pye J. A receptor for antibody on B lymphocytes method of detection and functional significance. *The Journal of Experimental Medicine*. 1972;135(3):610-26.
69. Basten A, Sprent J, Miller JF. Receptor for antibody-antigen complexes used to separate T cells from B cells. *Nature: New biology*. 1972;235(58):178-80.
70. Paraskevas F, Lee ST, Orr KB, Israels LG. A receptor for Fc on mouse B-lymphocytes. *Journal of Immunology*. 1972;108(5):1319-27.
71. Paraskevas F, Orr KB, Anderson ED, Lee ST, Israels LG. The biologic significance of Fc receptor on mouse B-lymphocytes. *Journal of Immunology*. 1972;108(6):1729-32.
72. Hargreaves CE, Rose-Zerilli MJ, Machado LR, Iriyama C, Hollox EJ, Cragg MS, et al. Fc gamma receptors: genetic variation, function, and disease. *Immunology Review*. 2015;268(1):6-24.
73. Smith KG, Clatworthy MR. FcγRIIb in autoimmunity and infection: evolutionary and therapeutic implications. *Nature Reviews Immunology*. 2010;10(5):328-43.
74. Espeli M, Smith KG, Clatworthy MR. FcγRIIb and autoimmunity. *Immunology Review*. 2016;269(1):194-211.
75. Zhang Y, Liu S, Liu J, Zhang T, Shen Q, Yu Y, et al. Immune complex/Ig negatively regulate TLR 4-triggered inflammatory response in macrophages through FcγRIIb-dependent PGE2 production. *Journal of Immunology*. 2009;182(1):554-62.
76. Wenink MH, Santegoets KC, Huijbens R, Koenen HJ, VanBeek R, et al. The inhibitory FcγRIIb dampens TLR4-mediated immune responses and is selectively up-regulated on dendritic cells from rheumatoid arthritis patients with quiescent disease. *Journal of Immunology*. 2009;183(7):4509-20.
77. Karsten CM, Pandey MK, Figge J, Kilchenstein R, Taylor PR, Rosas M, et al. Anti-inflammatory activity of IgG1 mediated by Fc galactosylation and association of FcγRIIb and dectin-1. *Nature Medicine*. 2012;18(9):1401-6.
78. Bruin M, Bierings M, Uiterwaal C, Revesz T, Bode L, Wiesman ME, et al. Platelet count, previous infection and FcγRIIb genotype predict development of chronic disease in newly diagnosed idiopathic thrombocytopenia in childhood: results of a prospective study. *British Journal of Haematology*. 2004;127(5):561-7.
79. Wu Z, Zhou J, Prsoon P, Wei X, Liu X, Peng B, et al. Low expression of FcγRIIb in macrophages of immune thrombocytopenia affected individuals. *International Journal of Hematology*. 2012;96(5):588-93.

80. Satoh T, Miyazaki K, Shimohira A, Amano N, Okazaki Y, Nishimoto T, et al. FcγRIIb gene polymorphism in adult Japanese patients with primary immune thrombocytopenia. *Blood*. 2013;122(11):1991-2.
81. Lazarus AH, Semple JW, Cines DB. Innate and adaptive immunity in immune thrombocytopenia. *Semin Hematol*. 2013;50(1):68-70.
82. Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. *Science*. 2001;291(5503):484-6.
83. Bazin R, Lemieux R, Tremblay T. Reversal of immune thrombocytopenia in mice by cross-linking human immunoglobulin G with a high-affinity monoclonal antibody. *British of Journal Haematology*. 2006;135(1):97-100.
84. Crow AR, Song S, Freedman J, Helgason CD, Humphries RK, Siminovitch KA, et al. IVIG-mediated amelioration of murine ITP via FcγRIIb is independent of SHIP1, SHP-1, and Btk activity. *Blood*. 2003.15;102(2):558-60.
85. Leontyev D, Katsman Y, Branch DR. Mouse background and IVIG dosage are critical in establishing the role of inhibitory FcγRIIb for the experimental ITP. *Blood* 2012;119(8):5261-4.
86. Crow AR, Amash A, Lazarus A. CD 44 antibody-mediated amelioration of murine immune thrombocytopenia (ITP): mouse background determines the effect of FcγRIIb genetic disruption. *Transfusion*. 2015;55(9):1492-500.
87. Leontyev D, KatsmanY, Ma XZ, Miescher S, Kasermann F, Branch DR, et al. Sialylation- independent mechanism involved in the amelioration of murine immune thrombocytopenia using intravenous gammaglobulin. *Transfusion*. 2012;52(9):1799-805
88. Schwab I, Biburger M, Kronke G, Schett G, Nimmerjahn F. IVIG mediated amelioration of ITP in mice is dependent on sialic acid and SIGNR1. *European Journal of Immunology* 2012;42(8):826-30.
89. Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. *Science*. 2001;291(9):484-6.
90. Bruhns P, Samuelsson A, Pollard JW, Ravetch JV. Colony stimulating factor-1 dependent macrophages are responsible for IVIG protection in antibody-induced auto immune disease. *Immunity*. 2003;18(7):573-81.
91. Breunis WB, VanMirre E, Bruin M, Geissler J, DeBoer M, Peters M, et al. Copy number variation of the activating FcγRIIc gene predisposes to idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2008;111(3):1029-38.
92. Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitor Fc receptor. *Science*. 2001;291(9):484-6.

93. Song S, Crow AR, Freedman J. Monoclonal IgG can ameliorate immune thrombocytopenia in a murine model of ITP: an alternative to IVIG. *Blood*. 2003;101(12):3708–13.
94. Liu XG, Ma SH, Sun JZ, Ren J, Shi Y, Sun L, et al. High-dose dexamethasone shifts the balance of stimulatory and inhibitory Fc γ R on monocytes in patients with primary immune thrombocytopenia. *Blood*. 2011;117(5):2061–9.
95. Psaila B, Bussel JB. Fc receptors in immune thrombocytopenias: a target for immunomodulation. *Journal of Clinical Investigation*. 2008;118(8):2677-81.
96. Wu Z, Zhou J, Prsoon P, Wei X, Liu X, Peng B, et al. Low expression of Fc γ RIIb in macrophages of immune thrombocytopenia-affected individuals. *International Journal of Hematology*. 2012;96(5):588-93.
97. Robak T, Salama A, Kovaleva L, Vyhovska Y, Davies SV, Mazzucconi MG, et al. International Privigen in ITP Study Group. Efficacy and safety of Privigen, an ovel liquid intra venous immunoglobulin formulation, in adolescent and adult patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Hematology*. 2009;14(4):227-36.
98. Robak T, Mainau C, Pyringer B, Chojnowski K, Warzocha K, Dmoszynska A, et al. Efficacy and safety of an intravenous immunoglobulin 10% formulation (octagam®10%) in patients with immune thrombocytopenia. *Hematology*. 2010;15(5):351-9.
99. Vander JW, VanBeem RT, Robak T, Deptala A, Strengers PF, VoxSang Z, et al. Efficacy and safety of an a nofiltered liquid intravenous immunoglobulin product in patients with primary immuno deficiency and idiopathic thrombocytopenic purpura. *Journal of Hematology* 2011;101(2):138-43.
100. Dash CH, Gillanders KR, Stratford ME, Gascoigne EW, Leach SJ. Safety and efficacy of Gammaplex® in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Clinical Trials*. 2014;9(6):966-7.
101. Ma J, Fu LL, Chen ZP, Ma JY, Zhang R, Su Y, et al. Clinical study of pulsed high-dose dexamethasone treatment in 38 children with primary immune thrombocytopenic purpura. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2016;37(10):912-5.
102. Hong J, Bang SM, Mun YC, Yhim HY, Lee J, Lim HS, et al. Efficacy and safety of a new 10% intravenous immunoglobulin product in patients with primary immune thrombocytopenia (ITP). *Journal of Korean Medicine Science*. 2018;24;33(19):142-4.
103. Kaveri SV. Intravenous immunoglobulin: exploiting the potential of natural antibodies. *Autoimmun Review*. 2012;11(11):792-4.
104. Heitink KJ, Uiterwaal CM, Porcelijn L, Tamminga RJ, Smiers FJ, Van Woerden NL, et al. Intravenous immunoglobulin versus observation in childhood immune thrombocytopenia:a randomized controlled trial. *British Journal of Haematology*. 2008;143(1):100-6.

105. Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. *Science*. 2001;291(55):484-6.
106. Shimomura M, Hasegawa S, Seki Y, Fukano R, Hotta N, Ichiyama T, et al. Intravenous immunoglobulin does not increase Fc γ RIIB expression levels on monocytes in children with immune thrombocytopenia. *Clinical and Experimental Immunology*. 2012;169(1):33-7.
107. Park-Min KH, Serbina NV, Yang W, Ma X, Krystal G, Neel BG, et al. Fc γ RIIb-dependent inhibition of interferon- γ responses mediates suppressive effects of intravenous immunoglobulin. *Immunity*. 2007;26(1):67-78.
108. Liu XG, Ma SH, Sun JZ, Ren J, Shi Y, Sun L, et al. High-dose dexamethasone shifts the balance of stimulatory and inhibitory Fc γ R on monocytes in patients with primary immune thrombocytopenia. *Blood*. 2011;117(6):2061-9.
109. Harrington WJ, Minnich V, Hollingsworth JW, Moore CV. Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2011;38(19):1-10.
110. Ballem P, Segal G, Stratton JR, Gernsheimer T, Adamson JW, Slichter SJ, et al. Mechanisms of thrombocytopenia in chronic autoimmune thrombocytopenic purpura. Evidence of both impaired platelet production and increased platelet clearance. *Journal of Clinical Investigation*; 2012;80(18):33-40.
111. Emmerich F, Bal G, Barakat A, Milz J, Muhle C, Martinez-Gamboa L, et al. High-level serum B cell activating factor and promoter polymorphisms in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *British of Journal Haematology*. 2007;136(27):309-14.
112. Wu KH, Peng CT, Li TC, Wan L, Tsai CH, Lan SJ, et al. Interleukin-4, interleukin-6 and interleukin-10 polymorphisms in children with acute and chronic immune thrombocytopenic purpura. *British of Journal Haematology*. 2005;128(14):849-52.
113. Olsson B, Andersson PO, Jernas M, Jacobsson S, Carlsson B, Carlsson LM, et al. T-cell-mediated cytotoxicity to ward platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nature Medicine*. 2003;12(9):1123-4.
114. Cines DB, Schreiber AD. Immune thrombocytopenia. Use of a Coomb santi globulin test to detect IgG and C3 on platelets. *New England Journal of Medicine*. 1979;30(15):106-111.
115. Guo C, Chu X, Shi Y, He L, Li L, Wang W, et al. Th1-dominant cytokine profiles by high-dose dexamethasone in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Journal of Clinical Immunology*. 2007;27(8):557-62.
116. Li Z, Zhong H, Bao W, Boulad N, Evangelista J, Haider MA, et al. Defective regulatory B-cell compartment in patients with immune thrombocytopenia. *Blood*. 2012;120(8):3318-25.

117. Olsson B, Andersson PO, Jacobsson S, Carlsson L, Wadenvik H, et al. Disturbed apoptosis of T-cells in patients with active idiopathic thrombocytopenic purpura. *Thrombosis and Haemostasis*. 2005;93(12):139-44.
118. Fogarty PF. ITP. *Tolerance Lost Blood*. 2011;118(14):6232-4.
119. Ferrara JL. Cytokines and their regulation of tolerance. *Journal of Clinical Investigation*. 2000;105(13):1043-4.
120. Bal G, Futschik ME, Hartl D, Ringel F, Kamhieh-Milz J, Sterzer V, et al. Identification of novel biomarkers in chronic immune thrombocytopenia (ITP) by micro array-based serum protein profiling. *British Journal of Haematology*. 2016;172(8):602-15.
121. Erduran E. Mega dose methylprednisolone treatment in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP): Authors' reply. *Turkish Journal Of Pediatrics*. 2004;4(46):293-4.
122. Erduran E, Aslan Y, Gedik Y, Orhan F. A randomized and comparative study of intravenous immunoglobulin and mega dose methylprednisolone treatments in children with acute idiopathic thrombocytopenic purpura. *Turkish Journal Pediatrics*. 2003;45(4):295-300.