

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

**AKUT VE KRONİK İDİOPATİK
TROMBOSİTOPENİK PURPURALI ÇOCUKLARDA
OKSİDATİF STRESİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Semiha ÇAKMAK

TRABZON - 2013

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

**AKUT VE KRONİK İDİOPATİK
TROMBOSİTOPENİK PURPURALI ÇOCUKLARDA
OKSİDATİF STRESİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Semiha ÇAKMAK

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Erol ERDURAN**

TRABZON - 2013

ÖNSÖZ

Tezimin her aşamasında desteğini ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Erol Erduran'a, tezimin hazırlanmasında maddi kaynak sağlayan KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne, laboratuvar ortamının hazırlanmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Yüksel Aliyazıcıoğlu'na, biyokimyasal çalışmaları yapan Sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim Turan'a, istatistiksel planlamayı yönlendiren Sayın Prof. Dr. Gamze Çan, Prof. Dr. Murat Topbaş ve istatistiksel analizlerin yapılmasında yardımcı olan Sayın Dr. Bekir Bulut'a, uzmanlık eğitimim boyunca her konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, tez hastalarımın takiplerinde yardımları olan araştırma görevlisi arkadaşlarıma, manevi desteklerini ve sevgilerini hep yanımda hissettiğim sevgili aileme teşekkür ediyorum.

Dr. Semiha ÇAKMAK
Trabzon, 2013

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLolar DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İdiopatik Trombositopenik Purpura (İTP).....	6
2.1.1. Patogenez.....	7
2.1.2. Klinik.....	10
2.1.3. Laboratuvar Bulguları.....	11
2.1.4. Tanı.....	11
2.1.5. Ayırıcı Tanı.....	12
2.1.6. Tedavi.....	13
2.1.6.1. Kortikosteroid Tedavisi.....	13
2.1.6.2. İntravenöz İmmünglobulin (İVİG).....	14
2.1.6.3. Anti-Rh (D) İmmünglobulin.....	14
2.1.6.4. Splenektomi.....	14
2.1.6.5. Diğer Tedavi Seçenekleri.....	15
2.2. Kronik İdiopatik Trombositopenik Purpura.....	15
2.3. Serbest Radikaller.....	17
2.3.1. Toksik Oksijen Radikallerinin Kaynakları.....	18
2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri.....	20
2.3.2.1. DNA ve Nükleik Asitler.....	20
2.3.2.2. Proteinler.....	21
2.3.2.3. Lipidler.....	21
2.3.2.4. Karbonhidratlar.....	22
2.4. Antioksidan Sistemler.....	22
2.5. Total Antioksidan Kapasite (TAK).....	22

3. MATERYAL VE METOD	24
3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi	24
3.2. Araç-Gereçler ve Laboratuvar Yöntemleri	26
3.3. İstatiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	43
6.1. Sonuçlar.....	43
6.2. Öneriler.....	44
7. ÖZET	46
8. SUMMARY	47
9. KAYNAKLAR.....	48

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Çocuklarda Trombositopeninin Patofizyolojik Sınıflandırılması.....	4
Tablo 2. Akut ve Kronik İTP'nin Özellikleri.....	6
Tablo 3. Radikal ve Radikal Olmayan Reaktif Oksijen Türleri.....	17
Tablo 4. Kronik, Akut İTP ve Kontrol Grubunun Yaş, Cinsiyet ve Trombosit Değerleri	28
Tablo 5. Vakaların Laboratuvar Bulgularının Karşılaştırılması	31
Tablo 6. 8-OHdG Seviyelerinin Gruplar Arası Post-Hoc İkili Karşılaştırması	32
Tablo 7. MDA Seviyelerinin Gruplar Arası Post-Hoc İkili Karşılaştırması.....	33
Tablo 8. TAK Seviyelerinin Gruplar Arası Post-Hoc İkili Karşılaştırması.....	34
Tablo 9. TOS Seviyelerinin Gruplar Arası Post-Hoc İkili Karşılaştırması.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. İmmün Trombositopeninin Patofizyolojisi.....	7
Şekil 2. Serbest Oksijen ve Nitrojen Radikallerinin Oluşumu ve Etkileri.....	10
Şekil 3. Kronik İTP'nin Patofizyolojisi	16
Şekil 4. Vücuttaki Önemli Serbest Radikaller ve Serbest Radikal Hasarı Sonuçları.....	18
Şekil 5. Nötrofillerin Oksijen Radikalleri Aracılığıyla Bakteri Fagositozu	19
Şekil 6. Serbest Oksijen Radikallerinin Yol Açtığı Hücre Hasarı.....	20
Şekil 7. Yaş Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı	29
Şekil 8. Cinsiyetin Gruplara Göre Dağılımı	29
Şekil 9. Trombosit Sayılarının Gruplara Göre Dağılımları	30
Şekil 10. Serum 8-OHdG Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı.....	31
Şekil 11. Serum MDA Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı	32
Şekil 12. Serum Protein Karbonil Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı.....	33
Şekil 13. Serum TAK Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı.....	34
Şekil 14. Serum TOS Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı	35
Şekil 15. Serum OSİ Seviyesinin Gruplara Göre Dağılım	36

KISALTMALAR

ADP	: Adenozin Difosfat
ALPS	: Otoimmün Lenfoproliferatif Sendrom
ANA	: Antinükleer Antikor
anti-ds-DNA	: Anti double stranded Deoksiribonükleik Asit (Çift sarmallı DNA antikor)
aPTT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
ASH	: American Society of Hematology (Amerikan Hematoloji Birliği)
ATP	: Adenozin Trifosfat
5-OHUr	: 5 hidroksiurasil
C3, C4	: Kompleman 3, Kompleman 4
DIC	: Dissemine İntravasküler Koagülasyon
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EBV	: Epstein Barr Virüsü
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
GIIB/IIIa	: Glikoprotein IIb/IIIa
GpIb	: Glikoprotein Ib
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GST	: Glutasyon Transferaz
HIV	: Human Immunodeficiency Virüs (İnsan immün yetmezlik virüsü)
HLA	: Human Leucocyte Antigen (İnsan doku uygunluk antijeni)
HÜS	: Hemolitik Üremik Sendrom
IFN-γ	: İnterferon-gamma
IL	: İnterlökin
İKK	: İntrakranial Kanama
İTP	: İmmün Trombositopenik Purpura
iv	: İntravenöz
İVİG	: İntravenöz İmmünglobulin
KİA	: Kemik İliği Aspirasyonu

MDA	: Malondialdehit
MPV	: Mean Platelet Volume (Ortalama trombosit hacmi)
NEK	: Nekrotizan Enterokolit
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
PMN	: Polimorfonükleer Lökosit
PT	: Protrombin Zamanı
RES	: Retiküloendotelyal Sistem
ROS	: Reactive oxygen Substances (Reaktif oksijen ürünleri)
8-OHdG	: 8-hidroksi deoksiguanozin
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAK	: Total Antioksidan Kapasite
TBAR-RS	: Tiobarbituric Acid Reactive Substance
TGF-β	: Transforming Growth Factor- β
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör- α
TOS	: Total Oksidan Stres
TPO	: Trombopoietin
TTP	: Trombotik Trombositopenik Purpura
WBC	: White Blood Cell (Beyaz kan hücresi)
vWF	: von Willebrand Faktör
vWH	: von Willebrand Hastalığı
UV	: Ultraviyole

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İdiopatik trombositopenik purpura (İTP) düşük trombosit sayısı ($<100.000/\text{mm}^3$) ve mukokutanöz kanama ile karakterize, immün aracılı bir hastalıktır (1). Antikor ile duyarlanmış trombositlerin retiküloendotelial sistemde (RES) yıkımı söz konusudur (2).

İdiopatik trombositopenik purpuranın nedeni bilinmemektedir, ancak çocukların %50-80'inde saptanan anti-trombosit antikorlar İTP'nin gelişmesinden sorumlu tutulmaktadır (3). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda İTP'li hastaların %20'sinde antitrombosit antikorları tespit edilememektedir. Bu durum İTP fizyopatolojisinde başka mekanizmalar olduğunu düşündürmektedir. Nitekim trombositopeni ile seyreden lösemi ve aplastik anemide de antitrombosit antikorları bulunmaktadır ve bu antikorlar İTP için spesifik değildir (4,5).

Oksidatif stres, prooksidan ve antioksidan dengede bozulma şeklinde tanımlanır. Reaktif oksijen ürünleri (ROS), oksidatif fosforilasyon esnasında üretilmektedir. Bu ürünler; hücre proliferasyonu, trombosit agregasyonu, kemotaksis, apoptozis, nükleer faktör kappa-B, aktivatör protein -1 ve hipoksinin uyardığı faktör-1 gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu gibi hücre fonksiyonları için gereklidir. Ancak fazla üretildiğinde lipid, protein, hücre membranı ve nükleik asitlere zarar vermektedir (6).

Otoimmün hastalıklar oksidatif stres ile ilişkilidir. Reaktif oksijen ürünleri immün sistem hücreleri için önemli sinyal molekülleridir (7). T lenfositlerin fonksiyonu hücre içi oksidatif antioksidan dengedeki değişikliklerden belirgin şekilde etkilenir. Reaktif oksijen ürünleri, T lenfosit aktivitesini baskılayarak otoimmün hastalıklar için zemin oluşturur. İdiopatik trombositopenik purpuranın immün bir hastalık olması nedeniyle İTP'nin patogenezi oksidatif hasarın rolü olduğu düşünülmektedir (8, 9).

Oksidatif stresin değerlendirilmesinde; oksidasyona uğramış ürünler ya da oksidasyona karşı savunma mekanizmaları (total antioksidan kapasite {TAK}, total oksidatif stres {TOS}, oksidatif stres indeksleri {OSİ}) kullanılmaktadır. Oksidasyon

ürünleri; DNA için 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) ve 5 hidroksiurasil (5-OHUr); protein için protein karboniller; lipid için ise tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri (TBAR-RS), malondialdehit (MDA) ve F2 izoprostanlardır (9).

Bu çalışmanın amacı; immün bir hastalık olan akut ve kronik İTP'li hastalarda DNA, lipid ve protein oksidasyon ürünleri ve antioksidan kapasitenin çalışılarak, hastalığın patogenezinde oksidatif stresin rolünün olup olmadığını belirlemektir. Literatürde bu konuyla ilgili olarak sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. İdiopatik trombositopenik purpuralı pediatrik hastalarda yapılan bir çalışmada; oksidatif stres belirleyicisi olan vanin-1'in hastalığın kronikleşmesinde rol oynadığı ve İTP'li hastalarda glutatyon düzeyinin kontrol grubuna oranla daha düşük olduğu gösterilmiştir (9). Başka bir çalışmada ise akut ve kronik İTP'li pediatrik hastalarda MDA, TOS, OSİ düzeylerinde artış ve TAK seviyesinde azalma izlenmiştir (10). Biz de çalışmamızda akut ve kronik İTP'nin patogenezinde oksidatif hasarın rolü olup olmadığını ortaya koymak için hastalarda; DNA oksidasyon ürünü 8-OHdG, protein oksidasyon ürünü protein karbonil, lipid oksidasyon ürünü MDA; oksidasyon mekanizmasını gösteren TOS, TAK ve OSİ'yi çalışmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

Trombositler kemik iliğindeki megakaryositlerden üretilen, çekirdeksiz, dolaşımda bulunma süreleri yaklaşık 8 günolan ve primer hemostazda görevli hücrelerdir. Ortalama trombosit volümü (*MPV*) $8.9 \pm 1.5 \mu\text{m}^3$ 'dür. Ancak İTP gibi trombosit yıkımının arttığı durumlarda periferik kanda büyük trombositler görülür (11).

Damar duvarı zedelendiğinde subendotelial kollajen ve von Willebrand Faktör (*vWF*) salınır. von Willebrand Faktör trombosit yüzeyinde glikoprotein-Ib (*GpIb*) aracılığıyla trombositlere bağlanır. Bu süreç trombosit adhezyonu olarak isimlendirilir. Trombosit aktivasyonunu takiben adenosin difosfat (*ADP*), adenosin trifosfat (*ATP*), kalsiyum (*Ca*), magnezyum (*Mg*), serotonin, tromboksan A2, trombosit aktive edici faktör (*PAF*), fibrinojen, P-selektin, B-tromboglobulin, Faktör V, multimerin, trombosit faktör-4, K vitamini bağımlı koagülasyon faktörleri (protrombin, faktör VII, faktör IX ve faktör X) salınır. Dolaşımda bulunan fibrinojen, aktive trombosit üzerindeki reseptörü GPIIb/IIIa' ya bağlanarak trombositleri birbirine bağlar ve bu agregasyon olarak adlandırılır. Böylelikle vasküler hasarın olduğu yerde hemostatik bir tıkaç oluşturulur (11, 12).

Normal trombosit sayısı $150-450.000/\text{mm}^3$ 'dür. İdiopatik trombositopenik purpurada trombositopeni eşik değeri $100.000/\text{mm}^3$ olarak kabul edilmiştir. Trombositopeni için primer mekanizma azalmış yapım, artmış yıkım veya dalakta toplanmadır (13, 14). Trombosit fonksiyon bozukluğu ya da trombositopeniler genellikle mukokutanöz kanamalar şeklinde ortaya çıkar ve primer hemostaz hastalıkları için ayırt edici bir özelliktir. Trombositopeni veya trombosit fonksiyon bozukluklarında peteşi, purpura, ekimoz, epistaksis, menoraji, hematuri, gastrointestinal kanama ve nadiren intrakranial kanama görülür (15).

Tablo 1. Çocuklarda Trombositopeninin Patofizyolojik Sınıflandırılması, (12).**I. Trombosit yıkım artışı: Megakaryositik trombositopeniler (Kemik iliğinde megakaryositler normal veya artmıştır.)****A. İmmun Trombositopeniler**

1. İdiopatik trombositopenik purpura
2. Sekonder trombositopeniler
 - a. Enfeksiyonun uyardığı (viral, bakteriyel)
 - b. İlaça bağlı
 - c. Posttransfüzyon purpura
 - d. Otoimmün hemolitik anemi ile birlikte giden (Evans Sendromu)
 - e. Sistemik lupus eritematozus ve diğer otoimmün hastalıklar
 - f. Kemik iliği transplantasyonu
 - g. İmmün yetmezlikler
 - h. Lenfoproliferatif hastalıklar
3. Neonatal immün trombositopeniler
 - a. Neonatal immün trombositopeni (annedeki immün trombositopeniye bağlı)
 - b. Neonatal alloimmün trombositopeni
 - c. Eritroblastozis fetalis (Rh uyumsuzluğu)

B. Nonimmün Trombositopeniler:

1. Trombosit tüketimine bağlı trombositopeniler:
 - a. Mikroanjiopatik hemolitik anemi: hemolitik üremik sendrom, trombotik trombositopenik purpura
 - b. Dissemine intravasküler koagülasyon
 - c. Hemofagositik lenfositosis
 - d. Kasabach-Merritt sendromu (dev hemanjiom)
 - e. Siyanotik kalp hastalığı
2. Trombosit yıkımına bağlı trombositler
 - a. İlaçlar (ristosetin, protamin sülfat, bleomisin)
 - b. Enfeksiyonlar
 - c. Kardiyak (intrakardiyak defektin tamiri, prostetik kalp kapakçığı, solventriküler çıkış yolu obstrüksiyonu)
 - d. Malign hipertansiyon

II. Trombosit anormal dağılımına ve göllenmesine bağlı

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

III. Trombosit yapımında azalmaya bağlı- etkisiz trombopoiez (kemik iliğindeki 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
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
 7. Edinsel aplastik hastalıklar
 - a. İdiopatik
 - b. İlaçlara bağlı
 - c. Radyasyon
 - d. Viral infeksiyonlara bağlı (Hepatitler, insan immün yetmezlik virüsü, ebstein barr virüs.)

B. Kemik iliğinin infiltrasyonu

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

IV. Psödötrombositopeni

- A.** Kan örneği alınırken trombosit aktivasyonu,
- B.** Büyük trombositlerin sayılamaması,
- C.** EDTA'ya bağlı in vitro trombosit aglütinasyonu,
- D.** Trombosit glikoprotein reseptörlerini bağlayan abciximab, eptifibatide, tirofiban gibi monoklonal antikolar,
- E.** Hiperlipidemi, paraproteinemi gibi durumlar.

2.1. İdiopatik Trombositopenik Purpura (İTP)

İdiopatik trombositopenik purpura; izole trombositopeni, kısalmış trombosit ömrü ve kemik iliğinde genellikle megakaryosit artışı ile karakterize otoimmün bir hastalıktır. Ancak her immün trombositopeni İTP değildir. Yaklaşık 4-5/100.000 çocuk/yıl insidans ile yaygın kazanılmış bir kanama hastalığıdır (15). İdiopatik trombositopenik purpura evreleri yeniden tanımlanmıştır (1, 16):

Yeni tanı konmuş (akut) İTP: Tanıdan itibaren ilk üç ayı kapsar.

Persistan (ısrarcı) İTP: Tanıdan itibaren 3-12 aylarda olup spontan remisyona girmeyen veya tedavi kesildiğinde remisyonda kalamayan olguları kapsar.

Kronik İTP: 12 ay veya daha fazla süren İTP bu grupta yer alır.

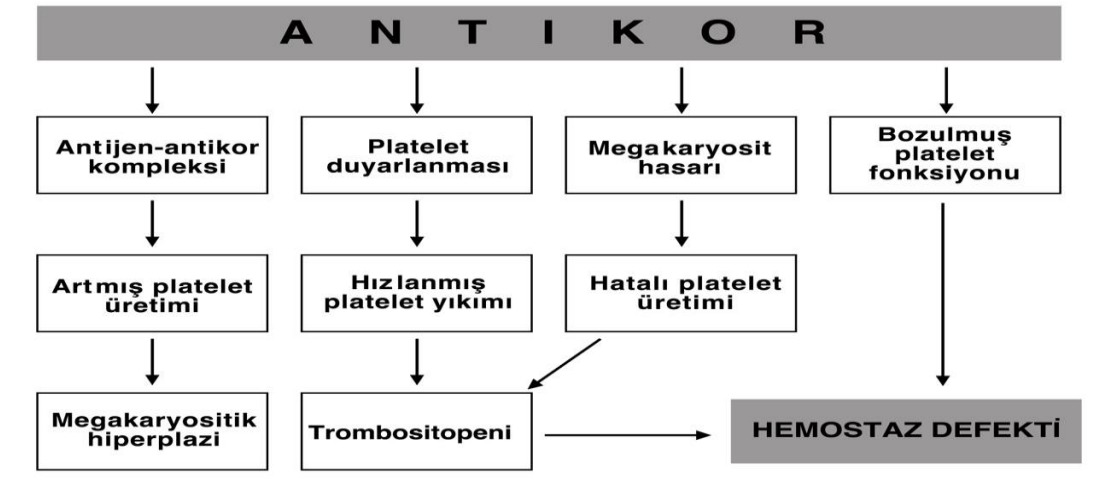
Tablo 2. Akut ve Kronik İTP'nin Özellikleri, (12).

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/mm ₃	40.000-80.000/mm ₃
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

İmmün trombositopenik purpura altta yatan hastalığın olup olmasına göre primer ve sekonder olarak da sınıflandırılır. Primer immün trombositopeni altta yatan bir sebebe bağlı olmaksızın trombositlerin immün yıkımıyla karakterizedir. Ancak geçirilmiş nonspesifik viral enfeksiyon öyküsü olabilir. Sekonder immün trombositopeni ise çocuklarda nadirdir. Viral veya bakteriyel enfeksiyonlar, ilaç alımı, kan transfüzyonu, immün yetmezlik, lenfoproliferatif hastalıklar, kemik iliği transplantasyonu veya sistemik lupus eritematozus gibi bir hastalık nedeniyle trombositlerin immün yıkımı söz konusudur (15, 17).

2.1.1. Patogenez

Harrington'nun antitrombosit faktörün varlığını göstermesi ve bu faktörün immunglobulin olduğunun kanıtlanmasıyla İTP'de trombositopeni nedeninin immün aracılı mekanizma ile ortaya çıktığı üzerinde durulmuştur (18). İmmün trombositopeninin patofizyolojisi Şekil 1'de görülmektedir (12):



Şekil 1. İmmün Trombositopeninin Patofizyolojisi

Viral bir enfeksiyondan 1-4 hafta sonra, trombosit yüzey antijenlerine (glikoprotein IIb/IIIa ve Ib/V/IX) karşı otoantikor gelişir (4). Bu antikorlar çoğunlukla IgG yapısında olup plazma hücreleri tarafından üretilirler. Dolaşımda bulunan antikorla kaplanmış trombositler, dalak makrofajları üzerindeki Fc reseptörleri tarafından tanınarak fagosite edilirler (11). İmmün trombositopenik purpuranın patofizyolojisinde esas organ dalaktır. Dalak hem otoantikor yapımında, hem de trombositlerin yıkımında rol almaktadır (19-21).

Akut ve kronik İTP'de immün mekanizmayı başlatan olay farklıdır. Akut İTP de bu otoantikorların viral veya bakteriyel enfeksiyonlara karşı immün cevap sırasında oluştuğu ve membran glikoproteinleri ile çapraz reaksiyon verdiği düşünülmektedir. Kronik İTP de ise trombosit otoantikorları altta yatan bir immün disregülasyon sonucunda gelişmektedir (22).

İdiopatik trombositopenik purpura'da artmış trombosit yıkımı megakaryopoezin uyarımına neden olmaktadır. Artmış trombosit yıkımının patogenezi esas rolü üstlendiğinin bilinmesine karşılık birçok vakada hatalı trombosit üretiminin önem taşıdığı

gösterilmiştir (2). Trombosit otoantikörleri trombosit üretimini inhibe ederek trombositopeni gelişimine katkıda bulunurlar (23). İdiopatik trombositopenik purpurada HLA-B3 ve HLA-B12 doku antijenleri beklenilenden daha sık bulunmuştur. Bu durumun İTP için hazırlayıcı bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (24).

Günümüzde self antijen tanıma ve toleranstaki bozukluk, anormal hücre yüzey moleküllerinin bulunması, Th1/Th2 sitokin profillerinin değişmesi, hatalı megakaryopoez ve hücrel sitotoksiste patogeneze sorumlu tutulan mekanizmalardır (2).

Trombosit yıkımında kompleman sisteminin rolü olduğu, trombosit ilişkili C3 ve C4 düzeylerinin yüksek saptanması ile gösterilmiştir. Kronik İTP’de anti-trombosit antikörleri klasik kompleman yolunu aktive ederek trombosit fagositozunu artırmakta ya da membran atak kompleksinin oluşumu ile trombosit membranında delikler oluşturarak trombosit lizisine yol açmaktadır. İdiopatik trombositopenik purpurada 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 (25, 26).

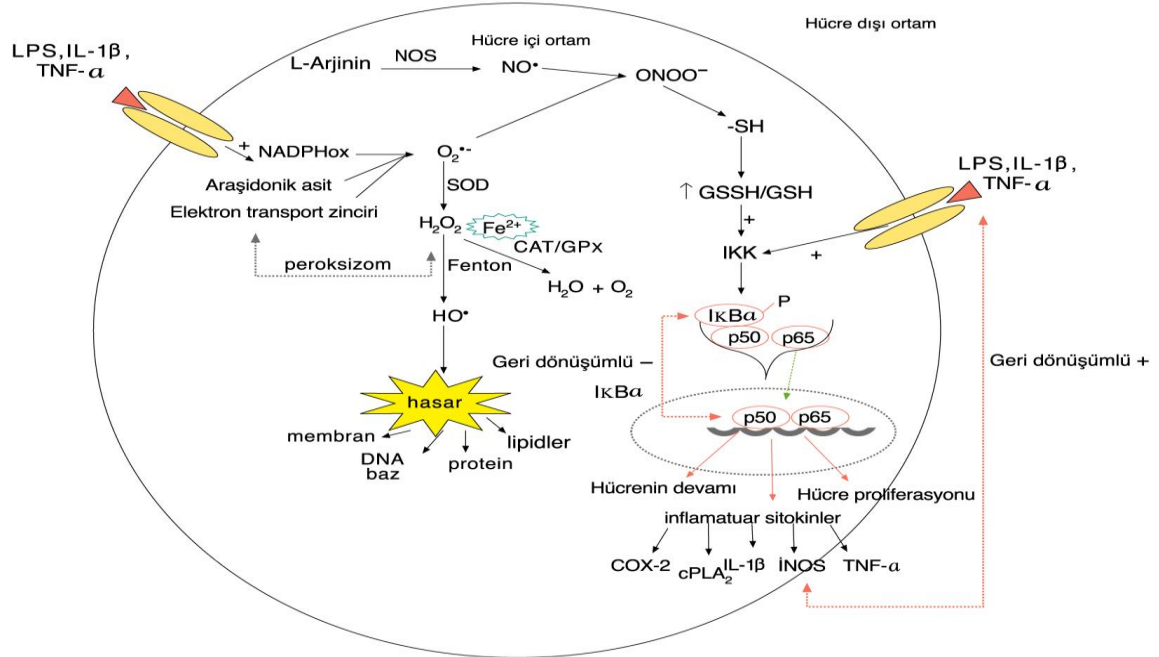
Trombositopeni patogenezinde anti-trombosit antikörler dışında hücrel immünitinin de rolü vardır. T lenfositler bunu hem B lenfositler üzerinden antitrombosit antikör üretimini sağlayarak, hem de T hücre aracılı sitotoksiste ve kompleman aracılı trombosit lizisi ile yaparlar (27, 28). CD4⁺ T helper hücreleri ve özellikle Th1/Th2 oranı kronik İTP ve diğer otoimmün hastalıkların gelişimiyle yakından ilgilidir. CD4⁺ T helper hücreleri, sitokin tiplerine göre 3 ana gruba ayrılır: Th1 hücreleri; IFN- γ , IL-2, TNF- α salınımını sağlar ve makrofaj aktivasyonundan sorumludur. Th2 hücreleri; IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 sitokinlerini serbestleştirerek bazı makrofaj fonksiyonlarını inhibe ederler. Th3 hücreleri; TGF- β (*Transforming Growth Factor*) salınımı ile immün sistem süpresyonunu sağlarlar (29, 30). Son zamanlarda bulunan yeni bir CD4⁺ hücre dizisi olan Th17; IL-17, TGF- β ve IL-6 salınımından sorumlu olup, otoimmün hastalıkların gelişiminde Th1’den daha etkilidir (31). İdiopatik trombositopenik purpurada hastalığın aktivasyonu ile birlikte Th1/Th2 oranında ve Th17 hücrelerinde artış olduğu gösterilmiştir (32).

Sitokin profili özellikle T hücrelerinin farklılaşmasında olmak üzere immün sistem regülasyonunda oldukça önem taşımaktadır. İdiopatik trombositopenik purpurada sitokin

yolağındaki kısmi bir disregülasyon sonucu, antitrombosit antikörlerinin oluştuğı ileri sürülmektedir. Yapılan çalışmalarda İTP'li çocuk hastalarda IL-17 ve IFN- γ düzeylerinde artış, TGF- β 1 düzeyinde azalma (30); bir diğerk çalışmada ise IL-4, IL-6, IL-10 düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (33). Ayrıca T ve B lenfosit aktivasyonu ile soluble IL-2 reseptör (sIL-2R) düzeyinde artış olmaktadır. Lenfosit aktivasyonunun bir göstergesi olarak sIL-2R düzeyi akut ve kronik İTP'de yüksek bulunmuştur ve steroid tedavisi ile baskılanamayan sIL-2R sahip İTP'li hastalar kronikleşmektedir (34).

Apoptozis aşamasında Fas (CD95) otoantikörleri, otoimmün lenfoproliferatif sendromda olduğu gibi İTP'li hastalarda da lenfositlerin uzun süreli yaşamalarına ve uzamış antikör üretimine neden olmaktadır (35). İdiopatik trombositopenik purpuralı hastalarda aktive T lenfositlerin apoptozisi azalmaktadır (36). Fas/Fas ligand yolağındaki değışim, aktive T lenfosit apoptozisini azaltarak İTP ve diğerk immünolojik hastalıkların gelişimine neden olmaktadır. Kronik İTP'li hastalarda aktive CD8+ T hücreleri megakaryosit apoptozisini baskılayarak hatalı trombosit üretimine yol açmaktadır (37).

Oksidatif hasar otoimmün hastalıkların patogeneğinde önemli bir role sahiptir. İdiopatik trombositopenik purpura'nın immün bir hastalık olması nedeniyle, oksidatif stresin İTP gelişiminde etkili olacağı düşünülmektedir. Reaktif oksijen radikalleri oksijenli hücre metabolizması esnasında üretilir ve hücre fonksiyonunda önemli rolleri vardır. Makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler ortamdaki oksijen varlığında NADPH oksidaz sistemi ile aktive olur. Bu aşamada lipopolisakkaritler, IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinler NADPH oksidazın aktivasyonunu artırır. Sonuçta oksijen tüketimi artar ve süperoksit anyonu (O_2^-) üretilir ve O_2^- , hidrojen peroksite (H_2O_2) dönüşür. Hidrojen peroksit, demir varlığında Fenton reaksiyonu ile reaktif hidroksil radikalini (HO^\cdot) oluşturur. Reaktif hidroksil radikali de lipit, protein ve DNA hasarına neden olur. Bir diğerk taraftan; arjinin, nitrik oksit sentaz ile deaminasyona uğrayarak reaktif nitrojen radikalleri açığa çıkmaktadır. Bu radikaller hücrelerdeki -SH grubunu indirgeyerek glutatyonu okside etmekte ve kappabeta inhibitör (Ikb) kinaz aracılığıyla inflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonuna yol açmaktadır (8) (Şekil 2).



Şekil 2. Serbest Oksijen ve Nitrojen Radikallerinin Oluşumu ve Etkileri

(LPS: lipopolisakkarit, IL-1 β : interlökin 1 β , TNF α : tümör nekrozis faktör α , O $_2^{\bullet-}$: süperoksit anyon radikali, H $_2$ O $_2$: hidrojen peroksit, HO \bullet : hidroksil radikali, NO: nitrik oksit, NOS: nitrik oksit sentaz, ONOO $^-$: peroksinitrit, -SH: sülfidril grupları, GSSH/GSH: okside/redükte glutatyon oranı, IKK: inhibitör kappa kinaz, SOD: süperoksit dismutaz, CAT; katalaz, GPx: glutatyon peroksidaz, COX2: siklooksijenaz 2, iNOS: indüklenmiş nitrik oksit sentaz, cPLA2: sitozolik fosfolipaz A2).

2.1.2. Klinik

İdiopatik trombositopenik purpura'nın klinik bulguları, sağlıklı bir çocukta ani başlangıçlı peteşi ve purpuradır. Vakaların %10'undan azında dalak palpe edilebilir ve viral infeksiyonla birliktedir. Trombositopeninin eşlik ettiği hepatosplenomegali veya belirgin lenfadenopati İTP tanısından uzaklaştırılmalıdır (3).

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 trombosit sayısı 20,000/mm 3 'ün altında olduğu zaman gözlenmektedir. Trombosit sayısı 10,000/mm 3 'ün altında olduğu zaman ise ağır mukozal kanamalar, hematuri ve menoraji görülmektedir (38). Hastalığın en korkulan komplikasyonu ise intrakranial kanamadır. Vakaların yüzde birinden azında ve özellikle trombosit sayısı <10.000/mm 3 iken gözlenmektedir (12).

2.1.3. Laboratuvar Bulguları

Tam kan sayımında trombosit sayısı her zaman $100,000/\text{mm}^3$ 'ün altındadır, yaygın kanama bulguları olanlarda sıklıkla $<20,000/\text{mm}^3$ 'tür. Normalde ortalama trombosit hacmi $8.9 \pm 1.5 \mu\text{m}^3$ olup, İTP'de genellikle artmıştır. Bu artmış trombosit yapımı ve yıkımının bir göstergesidir.

Akut İTP 'de hemoglobin değeri, beyaz kan hücresi (BK) sayısı ve lökosit formülü normaldir. Eğer aktif bir enfeksiyon varsa nötrofili, lenfositöz veya atipik mononükleer hücre bulunabilir. Kan kaybı miktarı ile orantılı anemi olabilir. Tam kan sayımında saptanan trombositopeniyi psödotrombositopeni ve diğer hematolojik bozukluklardan dışlamak için periferik yayma yapılmalıdır. Periferik kan yaymasında çok az sayıda, kemik iliğinde yapımın hızlandığını yansıtan iri trombositler görülebilir (38).

Kemik iliği incelemesi yapıldığında karakteristik olarak normal veya artmış sayıdaki megakaryositlerle, normal granülositik ve eritrositik 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 (38).

Pıhtılaşma profilinde kanama zamanı genellikle uzun, protrombin zamanı (*PT*), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (*aPTT*), fibrinojen düzeyi normaldir (39). Cr 51 veya İndium111 ile işaretlenmiş trombositlerin yaşam süreleri belirlenebilir. İdiopatik trombositopenik purpura'da trombosit yaşam süresi normal olan 6-9 günden 1-4 saate kadar azalır (19).

2.1.4. Tanı

İdiopatik trombositopenik purpura'nın tanısı klinik olarak konulur. Tipik İTP vakası ise kemik iliği aspirasyonu yapmaya gerek yoktur, ancak steroid tedavisi başlanacak hastaya öncesinde kemik iliği aspirasyonu yapılmalıdır (38).

İdiopatik trombositopenik purpura düşünülen bir hastada kemik iliği aspirasyonu yapılmasını gerektiren durumlar şunlardır (22):

1. Öyküde ağırlık kaybı, kemik ağrısı gibi kuşkulu bulgular,
2. Belirgin lökositöz,
3. Anemi ve lökopeni,

4. Organomegali, lenfadenopati,
5. Steroid tedavisini başlamayı düşünmek.

Yukarıda bahsedilen 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 yapılmalıdır (22).

İdiopatik trombositopenik purpurada tanı kriterleri şunlardır (12):

Trombosit sayısı $<100.000/\text{mm}^3$ olan bir hastada olan bir hastada;

1. Fizik muayene: Peteşi, purpura, ekimoz dışında normal fizik muayene bulguları, dikkate değer lenfadenopati ve splenomegalinin olmaması,
2. Trombositopeni dışında periferik kan tablosunun normal olması,
3. Kemik iliği: Artmış megakaryosit sayısı ile birlikte eritroid ve miyeloid hücre serilerinin normal olması,
4. Hipersplenizm, mikroanjiopatik hemolitik anemi, tüketim koagulopatisi, ilaç ilişkili trombositopeni, enfeksiyonlar [akut β hemolitik streptokok enfeksiyonu, suçiçeği, kızamık, kızamıkçık, kabakulak, sitomegalovirus, Epstein–Barr virus, insan immün yetmezlik virüsü (HIV)], aşı öyküsü (BCG, kızamık), otoimmün hastalıklar (sistemik lupus eritematozus), kan transfüzyonu ve lenfoproliferatif hastalıklar dışlandıktan sonra akut İTP tanısı konulmalıdır.

2.1.5. Ayırıcı Tanı

İdiopatik trombositopenik purpuranın, trombositopeni ile seyreden hastalıklardan ayırıcı tanısı mutlaka yapılmalıdır. Bir çocukta beklenmedik trombositopeni tespit edildiği zaman ilk olarak laboratuvar hatası ve psödotrombositopeni dışlanmalıdır (12). Anemi, lökositoz, lökopeni veya anormal lökosit morfolojisi varsa akut lösemi, aplastik anemi, miyelodisplazi, lenfoma ve kemik iliğine metastaz yapan malign hastalıkların dışlanması için kemik iliği aspirasyon incelemesi yapılması gereklidir (36). Otoimmün hastalıklardan şüphe ediliyorsa Coomb's, ANA, anti-ds-DNA testleri yapılabilir. Sistemik lupus eritematozuslu hastaların bir kısmı izole trombositopeni ile başvurmaktadır. Kronik İTP'lerde kollajen doku hastalıkları dışlanmalıdır (40, 41). İnsan immün yetmezlik virüsü enfeksiyonu için risk faktörü varsa serolojik testler yapılmalıdır. İzole trombositopeni HIV'in ilk bulgusu olabilir (17).

Splenomegalinin olması ise hipersplenizmi düşündürmelidir. Büyümüş dalakta trombosit göllenmesi ve yıkımı sonucunda olduğu düşünülmektedir, genellikle nötropeni ve anemi ile birlikte. Kemik iliğinde megakaryositler çok sayıdadır (38).

Trombositopeni ile nutrisyonel anemiler arasında ilişki varlığı gösterilmiştir. Demir eksikliği anemisi, vitamin B12 ve folat eksikliğine bağlı megaloblastik anemide trombopoezin etkilenmesiyle trombositopeni görülebilmektedir (42).

Birçok ilaç, immün trombositopeni ile ilişkilidir (12). İTP tanısı konulurken trombositopeniye neden olan ilaç alım öyküsünün olmaması gerekir.

2.1.6. Tedavi

Akut İTP kendiliğinden düzelen bir özellik gösterdiği için tedavi verilir verilmemesi tartışmalıdır (43). Amerikan ve İngiliz Hematoloji Derneği'nin 'İTP Tedavi Rehberi'ne göre tedavi kararı semptomlardan çok trombosit sayısına göre düzenlenmiştir. Trombosit sayısı $>30,000/\text{mm}^3$ olan asemptomatik veya minör purpuralı hastalara tedavi verilmesinin gereksiz olduğu belirtilmiş, trombosit sayısı $20,000/\text{mm}^3$ 'ün altında ve belirgin mukoza kanaması olan veya minör purpura olsa da trombosit sayısı $10,000/\text{mm}^3$ 'ün altında olan hastalara tedavi verilmesi gerektiği önerilmiştir (44, 45).

İdiopatik trombositopenik purpurada tedavinin hastalık süresine, prognozuna etkisi yoktur. Akut İTP'de kullanılan başlıca tedavi seçenekleri steroid, İVİG ve anti-D globulin tedavisinden oluşmaktadır (46).

2.1.6.1. Kortikosteroid Tedavisi

Akut ve kronik İTP tedavisinde kortikosteroid tedavisi oral ve intravenöz yoldan en çok tercih edilen tedavi şeklidir. İntravenöz gamaglobuline göre daha ucuzdur ve oral kullanım kolaylığı vardır (47). Steroidler antikor yapımını ve antikor antijen bağlanmasını engellemenin yanında, fagositozu ve damar geçirgenliğini azaltarak etki gösterirler (16). Ancak yan etkileri oldukça fazladır. Hipertansiyon, hiperglisemi, uzun süreli kullanımda hirsütizm, cushingoid yüz görünümü, psikoz, psödötümör serebri, katarakt ve büyüme geriliği yapabilir (9, 38, 48).

Çeşitli doz ve sürelerde kullanılabilen prednizolonun en sık 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, 20 mg/kg/gün 4 gün (maksimum 1 gr/gün) sık tercih edilen bir tedavi yöntemidir (49).

2.1.6.2. İntravenöz İmmünglobulin (İVİG)

İlk kez Imbach ve ark. tarafından İTP'li çocuklarda kullanılmıştır (50). Retiküloendotelyal hücrelerdeki Fc reseptörlerini (FcγRIIIA) bloke ederek trombositlerin fagositozla yıkımını inhibe eder (51). Toplam doz 2 gr/kg olacak şekilde 0.4 gr/kg 5 gün ya da 1 gr/kg 2 gün verilir. Kortikosteroid tedavisinden daha pahalıdır ve yan etkileri daha sık görülür. Aseptik menenjit, baş ağrısı, kusma, ateş, titreme, hemolitik anemi, viral enfeksiyon bulaşma riski, böbrek fonksiyonlarında bozulma ve IgA eksikliği olan hastalarda anafilaksi başlıca yan etkileridir (38, 52).

2.1.6.3. Anti-Rh (D) İmmünglobulin

Sadece Rh(+) kan grubu olan ve splenektomi yapılmamış, akut İTP'li hastalarda kullanılmalıdır (38, 53). Anti-D antikorla 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 anafilaksi başlıca yan etkileridir (12, 54).

2.1.6.4. Splenektomi

Amerikan Hematoloji Birliği (ASH)'nin önerisine göre:

- a. Tedaviye yanıtı hayati tehdit eden kanaması olan hastalarda,
- b. Kronik İTP' de tanıdan en az 1 yıl sonra kanama semptomları olan ve trombosit sayısı $<10,000/\text{mm}^3$ (3-12 yaş) veya $<30,000/\text{mm}^3$ (8-12 yaş) olan hastalarda splenektomi düşünülmelidir (55).

2.1.6.5. Diğer Tedavi Seçenekleri

Özellikle kronik İTP'li hastalarda, genellikle splenektomi sonrası cevapsız vakalarda kullanılan diğer tedavi seçenekleri: yüksek doz deksametazon, vinka alkaloidleri, danazol, mikofenolat mofetil, siklofosamid, azatioprin, siklosporin, interferon-alfa 2b, dapson, kolşisin, antifibrinolitik tedavi (traneksamik asit, epsilon aminokaproik asit gibi), plazmaferez, son yıllarda rituksimab (anti-CD20 monoklonal antikor), rekombinant faktör VIIa'dır. Bu tedavilerin çocuklardaki güvenilirlik ve yararlılığı az, yan etkilerinin ciddi olması nedeniyle kullanımı kısıtlıdır (12, 22, 38).

2.2. Kronik İdiopatik Trombositopenik Purpura

Kronik İTP, trombositopeninin ($100.000/\text{mm}^3$) 12 aydan daha uzun sürmesidir (43). 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 (1, 12).

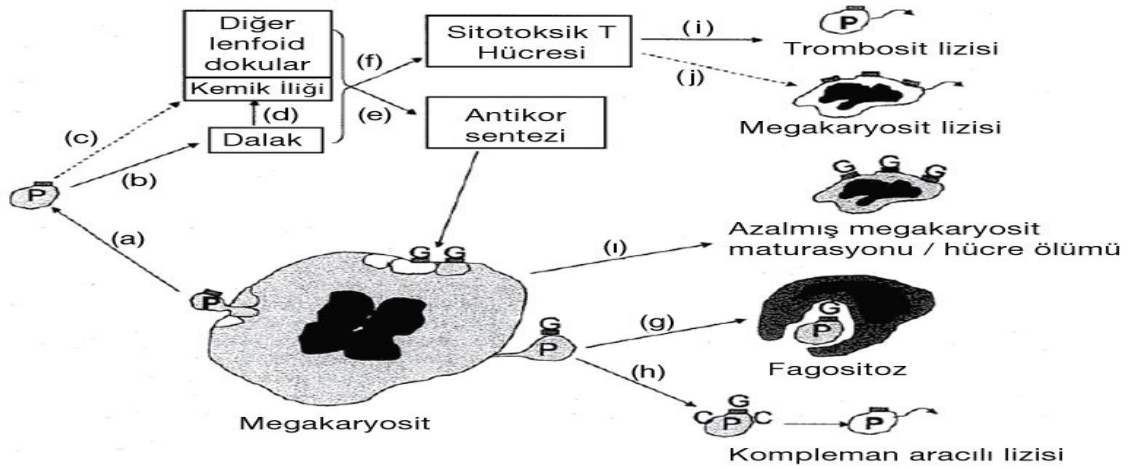
Kronikleşmeyi belirleyici faktörler; kız cinsiyet, 10 yaşından büyük olmak, 1-4 hafta öncesinde geçirilen viral enfeksiyon hikayesinin olmaması, steroid veya İVİG tedavisi ile baskılanamayan serum sIL-2 seviyesinin olması, başka bir otoimmün hastalığa sahip olmak ve sinsi başlangıçtır (13, 34). Kronik İTP gelişen hastalarda ayırıcı tanı için yapılması gereken testler: kemik iliği aspirasyonu, immunglobulin ve lenfosit alt grupları, spesifik antikor düzeyleri, antinükleer antikor, direkt Coomb's testi, antifosfolipit antikorları, tiroid fonksiyon testleri, HIV ve H. pylori için serolojik testler ve anne babanın tam kan sayımı ile periferik yaymalarının değerlendirilmesidir (11, 12, 56).

Akut İTP patogeneğinde, enfeksiyöz ajana karşı yönlendirilmiş immün yanıtın çapraz reaktivitesi söz konusu iken; kronik İTP'de ise spesifik otoantikor üretimi, T hücre aktivasyonu ve sitokin üretimini artırması ile HLA-DR tarafından uyarılan immün yanıt rol oynamaktadır. Bununla birlikte İTP'nin her iki formunda da immün yanıt sonlandırılmasında bir bozukluk olduğu varsayılmaktadır (41, 57, 58). Kronik İTP'de akut İTP'de olduğu gibi viral bir enfeksiyon tetikleyici faktör olabilir ancak viral enfeksiyon asemptomatiktir ya da tanımlanmamıştır (2). Akut İTP'de viral bir enfeksiyon ya da

inflamasyon sonrası açığa çıkan serbest radikaller trombositler üzerinde oksidatif hasar oluştururken, altta yatan immün disregülasyon sonucunda bu süreç uzamakta ve kronik İTP gelişimine katkıda bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda oksidatif hasarın özellikle kronik İTP gelişimiyle ilgili olduğu gösterilmiştir (9).

Kronik İTP’de akut İTP’de olduğu gibi hücrel ve humoral immün yanıt aracılığıyla trombosit yıkımında artış ya da trombopoezde baskılanma olmaktadır. Çocukluk çağında yapılan bir çalışmada TNF’deki genetik polimorfizmin kronik İTP gelişiminde rolü olduğu gösterilmiştir (59). Akut İTP’li çocuk hastalarda IL-2 ve IFN γ düzeylerinde, kronik İTP’ye göre artış saptanması, hastalığın erken dönemindeki Th1aktivasyonunun baskın olduğunu göstermektedir (60). Kronik İTP ‘de hücre içi sitokinler ile ilgili (IL-4, IFN- γ) yapılan bir çalışmada ise Th2 oranı azalırken, Th1’de anlamlı değişiklik izlenmemiş ve Th1/Th2 oranında artış saptanmıştır (61). Bu durum akut ve kronik İTP’nin patogenezinde farklı mekanizmaların rol oynadığı görüşünü desteklemektedir (60).

Kronik İTP’nin patofizyolojisi Şekil 3’te gösterilmektedir (62):



Şekil 3. Kronik İTP'nin Patofizyolojisi

(P:Platelet, G:Glikoprotein, C:Kompleman)

Şekil 3’de belirtildiği gibi, antitrombosit otoantikorun trombositlere bağlanmasıyla (a), intravasküler alandaki trombositlere karşı ilk immün yanıt dalakta (b) ve kimi zaman da kemik iliğinde (c) olmaktadır. Antijen duyarlı hafıza hücrelerinin gelişimiyle daha yaygın bir immün yanıt açığa çıkmaktadır (d). Trombositlere karşı IgG tipi antitrombosit antikorları (e) oluşmakta veya sitotoksik T lenfositleri (f) açığa çıkmaktadır.

Otoantikörlerin trombositlere bağlanmasıyla fagositoz (g) ya da kompleman ilişkili lizisi (h) aracılığıyla trombosit yıkımı olmakta ve megakaryosit maturasyonu azalmaktadır (i). Sitotoksik T lenfositler trombosit (i) ve megakaryosit lizisine (j) neden olmaktadır (62).

Kronik İTP 'de tedavinin amacı hastalığın tamamen ortadan kaldırılması değil kanama ataklarını önlemektir. Tedavi trombosit sayısına göre değil klinik yakınmalara göre yapılmalıdır. Ayrıca tedavinin potansiyel yan etkileri ile kanama riski arasındaki denge de gözetilmelidir. Çünkü kronik vakaların %50-60'ı tedavisiz stabil seyretmektedir (11,12).

2.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller; bir veya birden fazla eşleşmemiş tek elektron içeren yüksek reaktiviteli, kısa ömürlü, kararsız molekül veya gruplardır (63). Tüm reaktif oksijen türleri radikal değildirler. Örneğin singlet oksijen, eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür, elektronlarından birinin ters yönde başka bir orbitalle yer değiştirmesiyle oluşur (64).

Tablo 3. Radikal ve Radikal Olmayan Reaktif Oksijen Türleri, (64).

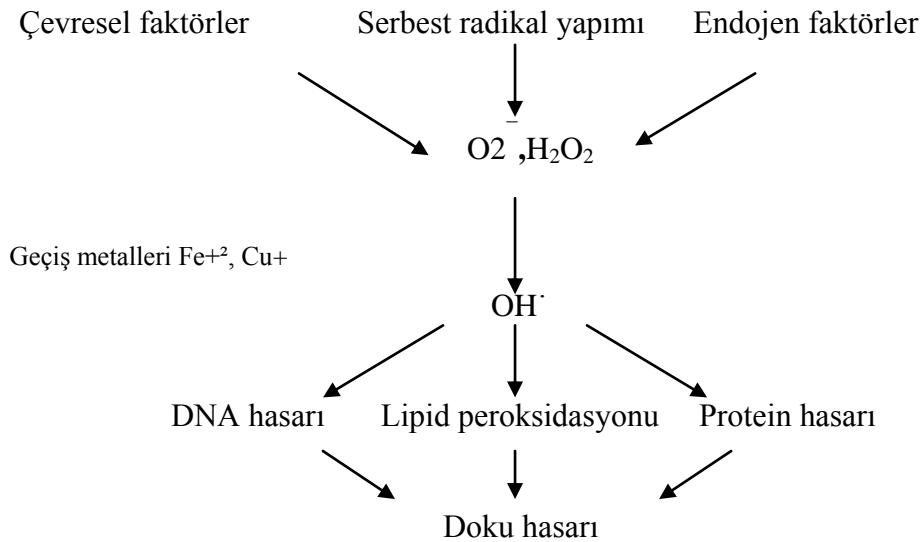
Radikal	Nonradikal
Hidroksil (OH)	Peroksinitrit (ONOO [·])
Alkoksil (L(R)O [·])	Hipoklorit (⁻ OCl)
Hidroperoksil (HOO [·])	Hidroperoksit (L(R)OOH)
Peroksil (L(R)OO [·])	Singlet oksijen (¹ O ₂)
Nitrik oksit (NO [·])	Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
Süperoksit (O ₂ ^{·-})	Ozon (O ₃)

Serbest radikaller etkileşime girdikleri moleküllerle kolaylıkla elektron alışverişi yaparak başka moleküllerin yapısını bozmakta, bu durum protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zarar çocukluk çağında birçok hastalığa neden olmaktadır (65, 66). Yenidoğan döneminde bronkopulmoner displazi, prematüre retinopatisi, nekrotizan enterokolit, perinatal beyin hasarı, patent ductus arteriosus, neonatal hemokromatozis; daha büyük yaş grubunda astım, kistik fibrozis, juvenil romatoid artrit, kolestatik karaciğer hastalığı, kwashiorkor, çeşitli kanser türleri ve otoimmün hastalıklar oksidatif stresle ilişkilidir (67, 68).

Hücreler serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için bunların ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidanlar üretmektedir. Organizmada oksidan ve antioksidan sistem arasında denge vardır. Bu dengenin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır ve birçok patolojik olayın başlamasına zemin hazırlar (69).

Bu bileşikler aerobik hücre metabolizma sürecinin doğal bir yan ürünüdür. Hücre yaralanması, fagositoz ve bazı enzimatik reaksiyonlar sırasında endojen olarak üretilebildiği gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisi ile de oluşmaktadır. Bu dış etkenler enfeksiyon, UV radyasyon, çevre kirleticileri, çeşitli tıbbi tedavi yolları ve kontamine sulardır (70).

Vücudumuzda serbest radikallerin oluşumu ve serbest radikallerin neden olduğu hasar Şekil 4'te görülmektedir (71):



Şekil 4. Vücuttaki Önemli Serbest Radikaller ve Serbest Radikal Hasarı Sonuçları

2.3.1. Toksik Oksijen Radikallerinin Kaynakları

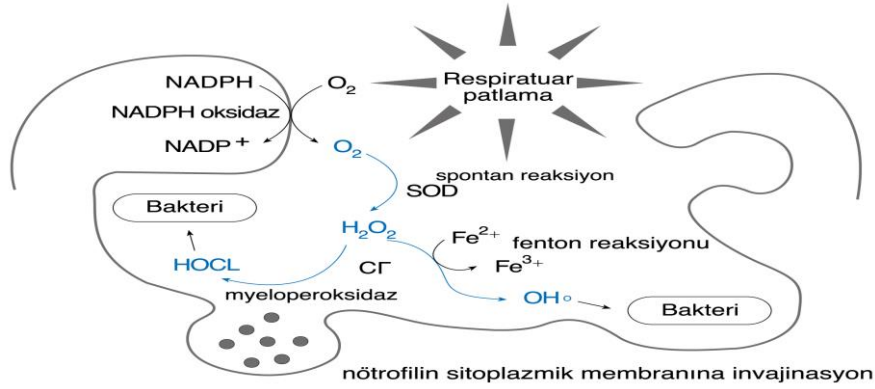
Hücrelerde birçok endojen radikal üretim kaynağı vardır:

1. Mitokondrial ve Mikrozomal Elektron Transport Zinciri: Mitokondri, hücrelerdeki en büyük serbest oksijen radikal kaynağıdır. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksit radikal üretimi artar (72).

2. Aktive Fagositler (Polimorfonükleer Lökositler (PMNL) ve Makrofajlar):

Aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller ve eozinofillerde fagositik solunumsal patlama sırasında da serbest radikaller oluşur (73). Fagositlerin uyarılması, heksoz monofosfat şanti ile glukozun oksidasyonunda artışa yol açar. NADPH oksidazın aktive olmasıyla solunum patlaması başlamakta ve süperoksit oluşmaktadır. Süperoksit, kendiğinden veya süperoksit dismutaz (SOD) yoluyla daha az reaktif olan H_2O_2 üretir. Fagozom içine salınan myeloperoksidaz HOCl ve diğer aldehytleri üretir. Fenton reaksiyonu ile demir varlığında H_2O_2 'den oluşan HO^\bullet lipidler, proteinler ve DNA üzerinde hasara neden olur (70, 72).

Nötrofillerin fagositik solunumsal patlaması sonrası oluşan serbest oksijen radikalleri aracılığı ile bakteri fagositozu Şekil 5'te görülmektedir (69):



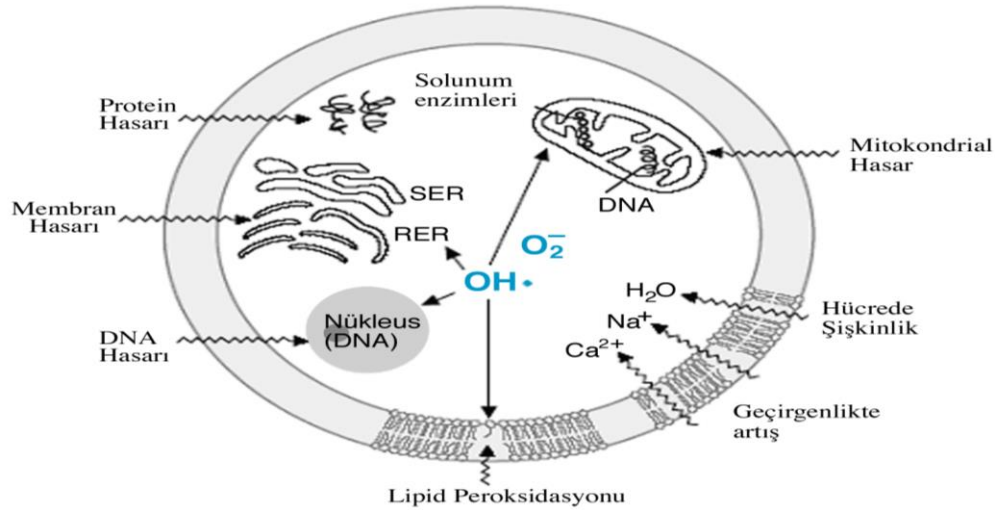
Şekil 5. Nötrofillerin Oksijen Radikalleri Aracılığıyla Bakteri Fagositozu

Bu mekanizma enfeksiyon hastalıklarında, enflamatuar hastalıklarda, lokal inflamasyonda (artrit gibi), normal yara iyileşmesi ve sekonder olarak iskemi-reperfüzyon durumlarında etkilidir (72, 74).

3.İskemi-reperfüzyon: İskemi sonrası reperfüzyon ve hipoksiden sonra deoksijenasyon doku hasarına yol açabilir. Bu durum şok tablosunda ve yenidoğan döneminde NEK, prematüre retinopatisi, perinatal beyin hasarı gibi durumlarda görülür (65, 75).

2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikallerin biyolojik sistemlerdeki zararlı etkileri çeşitlidir. Oksidatif atağameyilli olan bütün hücre elemanlarında hasara yol açabilir (76). Serbest oksijen radikallerinin hücrede oluşturduğu hasar Şekil 6'da görülmektedir (72):



Şekil 6. Serbest Oksijen Radikallerinin Yol Açtığı Hücre Hasarı

(SER: Düz endoplazmik retikulum, RER: Granüllü endoplazmik retikulum)

2.3.2.1. DNA ve Nükleik Asitler

Serbest oksijen radikalleri pürin ve pirimidin bazlarını etkileyerek DNA'da mutasyona neden olurlar. Nükleik asitin serbest radikal aracılı hasarlanmasındaki mekanizmalar DNA'nın tek ve çift zincir kırıkları, bazların ve deoksiribozun spesifik modifikasyonu, DNA zincirleri arası ürünler ve DNA-protein çapraz bağlarının oluşumudur. Ayrıca bozulmuş DNA replikasyonuna bağlı hücre proliferasyonunda azalma ve protein sentezinde defekt izlenir (65). DNA oksidasyon ürünleri içinde en çok oluşan ve en mutajenik olanı guaninin oksidasyonu sonucu üretilen 8-OHdG'dir (77).

2.3.2.2. Proteinler

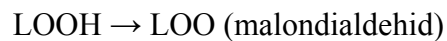
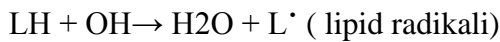
Serbest radikal atağı sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılabilir; 1-Aminoasitlerin modifikasyonu, 2-Proteinlerin fragmantasyonu, 3-Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmaları (78)

Proteinler serbest radikallerin etkilerine lipidlere oranla daha az hassastır ve aminoasit içeriklerine bağlı olarak etkilenirler. Aromatik aminoasitlerde (fenil alanin, tirozin, triptofan) doymamış yapılar bulunduğundan oksidasyondan daha çok etkilenirler. Sülfürlü aminoasitler olan sistein ve sistin de serbest radikal atağına hassas aminoasitlerdendir. Radikaller membran proteinleri ile de reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarını bozarlar (78). Proteinlerin amin gruplarının oksidasyonu ile protein karbonil deriveleri oluşmaktadır (79).

2.3.2.3. Lipidler

Lipidler serbest radikallerin etkilerine en hassas biyomoleküllerdir. Membran kolesterolü ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyona uğrarlar (80).

Hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansatüre yağ asitleridir. Bu tip reaksiyonlarda serbest radikallerin etkisiyle çoklu doymamış yağ asitlerinden hidrojen atomu uzaklaşır ve lipid radikalleri ortaya çıkar. Lipid radikali (L[•]) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar (72).



Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir (72). Doku, kan ve vücut sıvılarında ölçülerek lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (81).

2.3.2.4. Karbonhidratlar

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Okzoaldehitler proteinlere bağlanıp antimitotik etki ederek kanser ve yaşlanmaya neden olurlar. İnflamatuvar eklem hastalıklarında serbest radikaller hiyalüronik asit gibi karbonhidratları parçalamaktadır (82).

2.4. Antioksidan Sistemler

Vücutta reaktif oksijen türlerinin etkileri antioksidan mekanizmalarla kontrol altında tutulmaktadır. Serbest radikalleri metabolize eden ve serbest radikal oluşumunu önleyen bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir (83).

Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen antioksidanlar; enzim ve enzim olmayanlar şeklinde iki grupta incelenirler. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon transferaz(GST), glutatyon redüktaz, katalaz (CAT), mitokondrial sitokrom oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, ürik asit, laktoferrin, albumin gibi maddelerdir (77, 78). Eksojen antioksidanlar α - tokoferol (vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C) ve folik asit, allopurinol, adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokörleri, asetilsistein, mannitol, albumindir (72, 84).

2.5. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Organizma serbest radikallere bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Oksidatif stresin değerlendirilmesinde; oksidasyona uğramış ürünler ya da antioksidan savunma gücünü gösteren belirteçler [TAK, total oksidan stres (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ)] kullanılmaktadır (71). Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Ürik asit, albumin ve askorbik asit total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni kanda glutatyon, bilirubin,

alfa tokoferol, beta karoten ve flavinoidler gibi antioksidan sistem komponentlerine nazaran ürik asit, albumin ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasıdır (85).

Antioksidan savunma sistemleri ortak etkiler ve ilişkiler ağına sahiptir. Örneğin; vitamin C ve glutatyon, vitamin E'nin indirgenmiş şeklini tekrar rejenere edebilir. Ürik asit, vitamin C'nin oksidasyonunu engelleyerek sinerjistik etki gösterir. Böylelikle antioksidan durumun belirlenmesinde tek tek antioksidan etkilerin ölçümü yanı sıra ortak antioksidan etki yani 'total antioksidan kapasitenin' bilinmesi gereklidir. Plazmanın total antioksidan kapasitesi her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlıdır (86).

Otoimmün hastalıkların patogeneğinde oksidan hasar önemli bir rol oynamaktadır (8). Akut ve kronik İTP de immün bir hastalık olduğundan; biz bu çalışmamızda, akut ve kronik İTP'nin patogeneğinde oksidan hasarın rolü olup olmadığını araştırdık. Akut ve kronik İTP'li hastalarda total oksidan ve antioksidan sistemi; protein, DNA ve lipid oksidasyon ürünlerini çalışarak hastalığın gelişmesinde oksidan hasarın rolünü ortaya koymaya çalıştık.

3. MATERYAL VE METOD

Bu prospektif klinik çalışma; 2010-2011 yılları arasında, KTÜ Tıp Fakültesi Pediatri Hematoloji Anabilim Dalı tarafından planlanıp, etik kurul izni (dosya no: 2010/32, karar no:7) alındıktan sonra, Biyokimya Anabilim Dalı' nın katkısıyla ortaklaşa olarak yapıldı. Çalışmaya alınan her çocuk için yasal velilerinden “bilgilendirilmiş olur formu” alındı. Çalışmamız, K.T.Ü. Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından desteklendi (proje kodu: 2010.114.003.1).

3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi

Çalışma 3 grup oluşturularak yapıldı:

Grup 1 (Çalışma grubu): K.T.Ü. Tıp Fakültesi Pediatri Hematoloji Polikliniğinde kronik İTP tanısı ile izlenen, 1-16 yaş arası,27 hastadan oluşmaktadır.

Grup 2 (Çalışma grubu): K.T.Ü. Tıp Fakültesi Pediatri Hematoloji Polikliniğine başvuran, 1-16 yaş arası, 27 akut İTP'li hastadan oluşmaktadır.

Grup 3 (Kontrol grubu): K.T.Ü. Tıp Fakültesi Sağlam Çocuk Polikliniğine başvuran,1-16 yaş arası, hasta gruplarıyla benzer yaş ve cinsiyette, ek bir hastalığı, enfeksiyon bulgusu, ilaç kullanımı olmayan 31 sağlıklı çocuktan oluşmaktadır.

Kronik İTP hastalarından oluşan grup-1'deki vakalar için aşağıdaki tanı kriterleri kullanıldı (12, 43):

1.Akut İTP tanısı ile takip edilmesine rağmen, trombosit sayısının 12 aydan daha uzun süreli $<100.000/mm^3$ olan vakalar,

2. Kronik trombositopeniye neden olan konjenital yada akkiz kemik iliği yetmezliği, Kassabach-Merrit sendromu, hemolitik üremik sendrom, Wiskott-Aldrich sendromu, tip 2b von Willebrand hastalığı, sistemik lupus eritematozus, antifosfolipid antikor sendromu, otoimmün lenfoproliferatif hastalık, lösemi, solid tümörler, immün yetmezlik, dissemine

intravasküler koagulopati, sepsis, metilmalonik asidemi, isovalerik asidemi, propiyonik asidemi, vit B12 ve folik asit eksikliği, ağır demir eksikliği anemisi gibi hastalıkların olmaması.

Akut İTP hastalarından oluşan grup-2'deki vakalar için aşağıdaki tanı kriterleri kullanıldı (12):

Trombositopenisi ($<100.000/\text{mm}^3$) olup;

1. İki-üç hafta önce geçirilmiş bir viral enfeksiyon öyküsünün olması,

2. Trombositopeniye neden olabilecek β hemolitik streptokok, parvovirus, hepatit virüsleri, insan immün yetmezlik virüsü, ebstein barr virüs, sitomegalovirüs, suçiçeği, toksoplazmozis, kala azar, malarya, kızamık, kızamıkçık, kabakulak ya da herhangi bir akut enfeksiyonun olmaması,

3. Yanlış kan transfüzyon öyküsünün bulunmaması,

4. Trombositopeniye yol açan herhangi bir ilaç almamış olması,

5. Trombositopeniye neden olabilecek otoimmün lenfoproliferatif sendrom, SLE gibi bir otoimmün hastalığın olmaması.

6. Lenforetiküler sistem malignansisinin olmaması,

7. Ailevi trombositopeni öyküsünün olmaması.

Klinik olarak tüm hastalar ve kontrol grubundaki çocuklar detaylı bir şekilde genel fizik muayeneden geçirildi. Grup 1'deki kronik İTP'li hastalardan siklosporin veya diğer immünsüpresif tedavi alanlar, bu ilaçların vücuttaki oksidan ve antioksidan sistem üzerine etkisi olacağından, tedaviye bir ay ara verildikten sonra vakalardan kan örnekleri alındı. Akut İTP tanısı konan hastalar ise tanı anında, herhangi bir ilaç tedavisi uygulanmadan önce çalışmaya dahil edildi.

Akut ve kronik İTP'li hastaların periferik kanlarından alınan örneklerde tam kan sayımı, direkt coombs testi, anti nükleer antikor, oksidasyon ürünlerinden 8-OHdG, protein karbonil, MDA, ayrıca oksidan/antioksidan dengenin değerlendirilmesi için TOS, TAK ve OSİ çalışıldı. Oksidan indeks değeri, TAK/TOS oranından elde edildi ($\text{OSI} = (\text{TOS}, \mu\text{mol/l}) / \text{TAK}, \text{mmol trolox equivalent/l} \times 100$). Ayrıca kronik İTP'li hastalarda serum immunoglobulin, vit B12 ve folik asit seviyeleri, hepatit C antikorları, gaytada *Helikobakter pylori* antijeni bakıldı.

3.2. Araç-Gereçler ve Laboratuvar Yöntemleri

Tüm olguların tam kan sayımları, biyokimya laboratuvarında Beckman Coulter LH 750 tam otomatik kan sayımı cihazı ile kendi orijinal solüsyonları kullanılarak ölçüm yapıldı. Örneklerde; ANA varlığı, indirekt immunfluoresan testi ile belirlendi. Bu amaçla Antibodies against cell nuclei (IgG) (*Euroimmun, Lübeck, Almanya*) kitleri kullanıldı (87).Direkt coombs testi jel santrifigasyon sistemi ile Hemakin kiti (*Grifols, İspanya*) kullanılarak çalışıldı (88).

Numuneler TAK ve TOS analizleri için bir adet jelli biyokimya tüpüne; MDA, protein karbonil grubu ve 8-OHdG için birer tane üç ml EDTA'lı tüpe kan alındı. Ayrılan periferik venöz kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifuj edildikten sonra serum örnekleri, çalışma yapıncaya kadar, -80C'de derin dondurucuda saklandı. 8-OHdG için DNA izolasyonu yapıldı. Çalışma günü hasta ve kontrol grubu örnekleri derin dondurucudan alınarak adı geçen testler toplu olarak bir defada laboratuvarında çalışıldı.

Oksidan ve antioksidan dengenin bozulduğunun göstergesi olarak total antioksidan kapasite (*TAK, Katolog no: RL017, Mega Tıp Sanayi ve Ltd., İstanbul, Türkiye*)ve total oksidatif stres(*TOS, Katolog no: RL019, Mega Tıp Sanayi ve Ltd., İstanbul, Türkiye*) değerleri spektrofotometrik yöntemle belirlendi (89, 90).Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA, TBARS(*Tiobarbituric Acid Reactive Substance*) metodu ile tespit edildi (89). Oksidasyon sonucu DNA üzerinde meydana gelen hasarın belirleyicisi olarak 8-OHdG (*Katolog no: 049KOG-HS10/E, JalCA, Tokyo, Japonya*) kit kullanılarak; okside olmuş protein miktarının tespiti içinse protein karbonil grupları, HPLC (yüksek performans sıvı kromatografisi) cihazı ile kromatografik olarak hastanemiz Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı (90, 91).

3.3. İstatiksel Analiz

Çalışmadaki veriler SPSS 13.01 istatiksel program paketi kullanılarakdeğerlendirildi. Sürekli ölçümler (sayısal değerler) ortalama ve standart sapma (SS) olarak özetlendi.Parametrik koşulları sağlayan değişkenler için ANOVA (Post Hoc; Bonferroni), parametrik koşulları sağlamayan değişkenler için Kruskal Wallis Varyans Analizi (posthoc yanılma düzeyi aşağı çekilerek Mann-Whitney U testi) kullanıldı. Tüm testlerde

istatistiksel önem düzeyi 0.05olarak alındı. $p<0.05$ olanlar anlamlı olarak kabul edildi. Verilerin ortalamaları, aritmetik ortalama \pm standart sapma (ort \pm ss) olarak hesaplandı.

4. BULGULAR

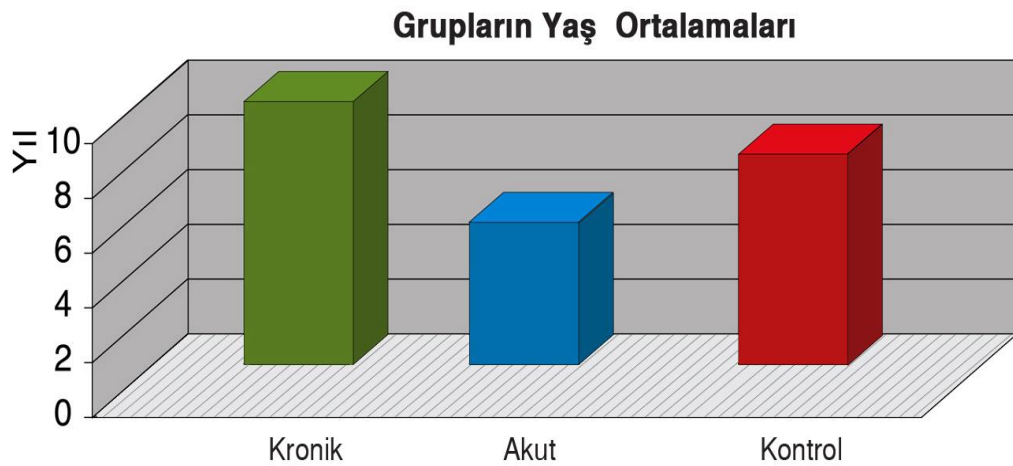
Çalışma grubunu; kronik İTP'li 27 hasta (Grup 1) ve akut İTP'li 27 hasta (Grup 2); kontrol grubunu ise (Grup 3) 31 sağlıklı çocuk oluşturdu. Akut ve kronik İTP'li hastaların yaşları, cinsiyet ve trombosit sayıları Tablo 4'te özetlenmiştir:

Tablo 4. Kronik, Akut İTP ve Kontrol Grubunun Yaş, Cinsiyet ve Trombosit Değerleri

	Kronik İTP (n= 27) (ort ± ss)	Akut İTP (n= 27) (ort ± ss)	Kontrol (n= 31) (ort ± ss)	p
Yaş (Yıl) (min-mak)	9.56±4.51 (5.05-14.07)	5.21±4.73 (0.48-9.94)	7.77±4.63 (3.14-12.4)	0.004
Cinsiyet (E/K)	10/17	12/15	13/18	0.853
Trombosit (/mm ³) (min-mak)	60.333±33.863 (26.470-94.196)	25.851±29.533 (3.682-55.384)	304.677±73.566 (231.111-378.243)	0.000

min: minimum
mak: maksimum

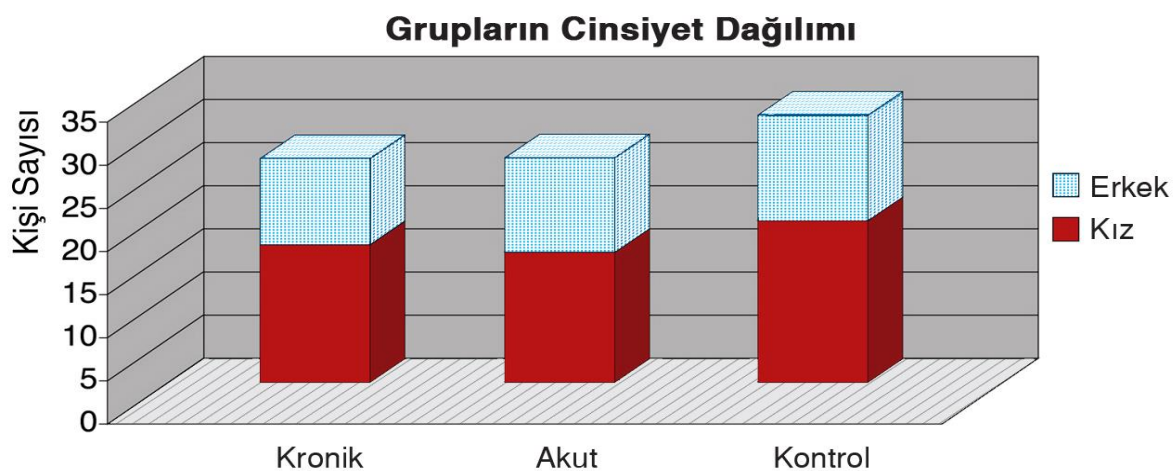
Çalışmaya alınan kronik İTP, akut İTP ve kontrol gruplarının yaş ortalaması arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı (p=0.004). Vakaların yaş ortalamaları Şekil 7'de gösterilmektedir:



Şekil 7. Yaş Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı

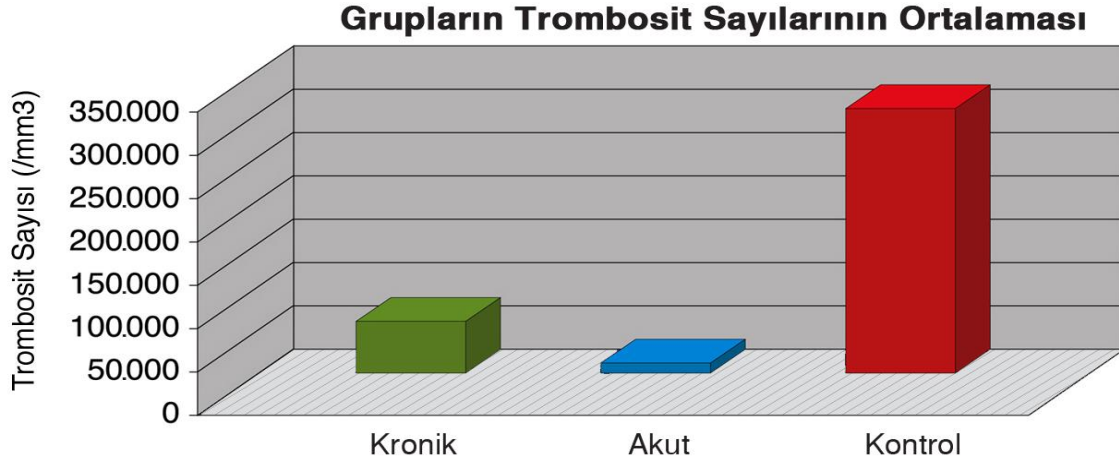
Kronik İTP'li hastaların yaş ortalamasının akut İTP'li hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p=0.003$). Kontrol grubu ile akut ve kronik İTP'li hastaların yaş ortalamaları arasında ise anlamlı fark yoktu (sırasıyla $p=0.443$, $p=0.115$).

Grup 1'in 10'u erkek (%37.0), 17'si kız (%63.0) idi. Grup 2'nin 15'si kız (%55.6), 12'si erkek (%44.4) idi. Grup 3'ün ise 18'i kız (%58.1), 13'si (%41.9) erkekti. İstatistiksel olarak grupların cinsiyet dağılımları arasında anlamlı fark yoktu ($p =0.853$). Grupların cinsiyete göre dağılımları Şekil 8'de görülmektedir:



Şekil 8. Cinsiyetin Gruplara Göre Dağılımı

Kronik İTP'li çocukların trombosit sayısı ortalaması $60.333 \pm 33.863/\text{mm}^3$, akut İTP'li çocukların trombosit sayısı ortalaması $25.851 \pm 29.533/\text{mm}^3$, kontrol grubunun trombosit ortalaması ise $304.677 \pm 73.566/\text{mm}^3$ olarak bulundu. Grupların trombosit ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p=0.04$). Vakaların trombosit ortalamaları Şekil 9'da gösterilmektedir:



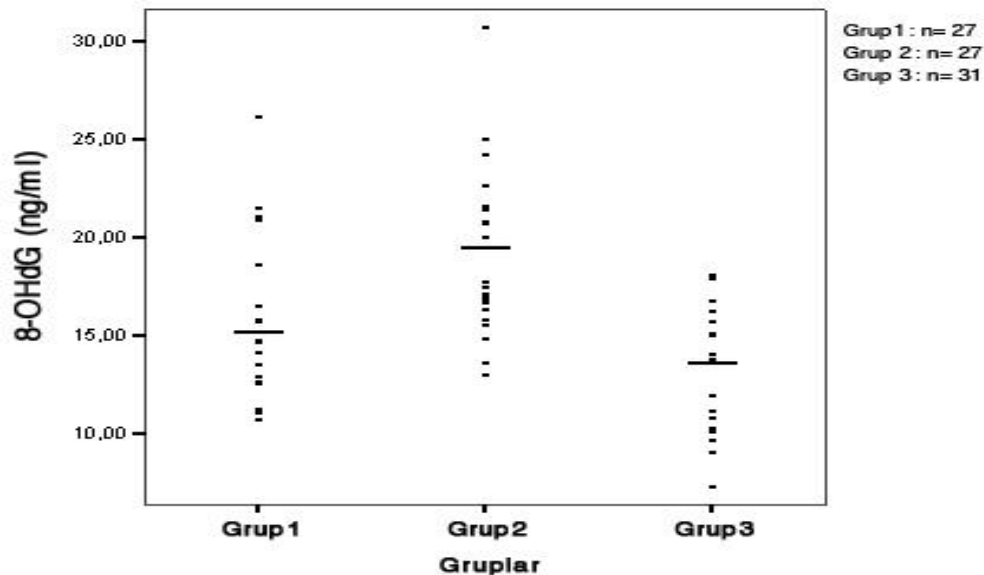
Şekil 9. Trombosit Sayılarının Gruplara Göre Dağılımları

Çalışmaya alınan her 3 grubun laboratuvar bulguları Tablo 5'te gösterilmiştir. Laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında 3 grup arasında 8-OHdG, MDA, TAK ve TOS düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.004$, $p=0.000$). Protein karbonil ve OSİ değerinde ise 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla $p=0.208$, $p=0.066$).

Tablo 5. Vakaların Laboratuvar Bulgularının Karşılaştırılması

	Grup I (n= 27) ort ± SD (min- mak)	Grup II (n= 27) ort ± SD (min- mak)	Grup III (n= 31) ort ± SD (min- mak)	p
8-OHdG (ng/ml)	15.63±3.96 (10.76-26.13)	19.04±4.16 (13.06-30.68)	13.24±3.14 (7.32-17.96)	0.000
MDA (nmol/mL)	0.12±0.10 (0.04-0.47)	0.08±0.05 (0.02-0.30)	0.04±0.59 (0.00-0.30)	0.000
Protein karbonil (molkarbonil/molprotein)	3.30±0.46 (2.81-4.46)	3.40±0.70 (2.08-4.52)	3.53±0.93 (2.68-3.65)	0.208
TAK (mmolTroloxEquiv/L)	0.90±0.12 (0.45-1.07)	0.79±0.15 (0.28-1.04)	0.76±0.19 (0.04-1.21)	0.004
TOS (µmolH2O2Equiv/L)	0.82±0.74 (0.19-2.68)	0.63±0.76 (0.27-3.99)	0.38±0.45 (0.07-2.39)	0.000
OSİ (TOS/TAK)	0.08±0.08 (0.00-0.28)	0.07±0.10 (0.00-0.58)	0.06±0.11 (0.00-0.60)	0.066

8-OHdG seviyesi Grup 2’de Grup 1’e oranla daha yüksekti (p=0.000). 8-OHdG seviyesinin ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı Şekil 10’da görülmektedir:

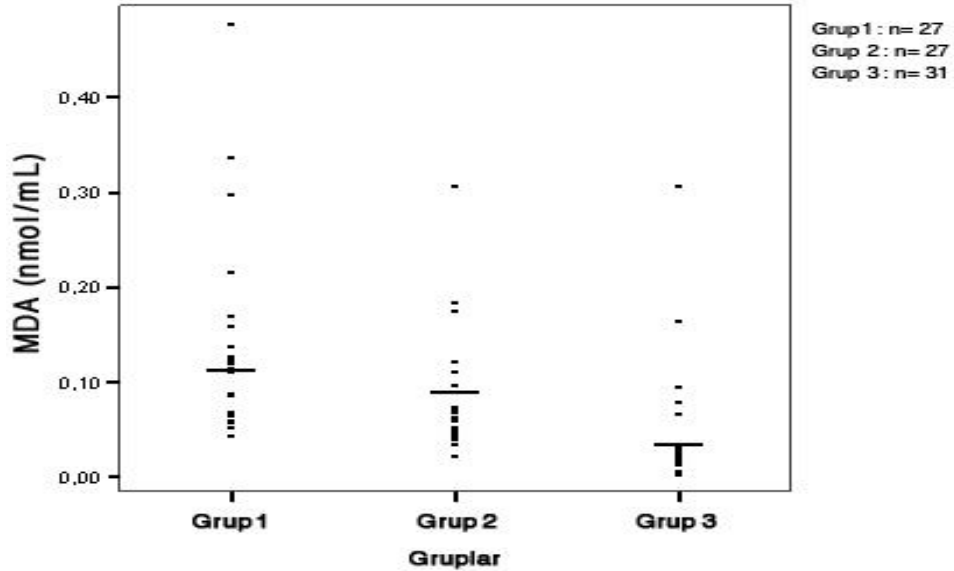
**Şekil 10. Serum 8-OHdG Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı**

Gruplar Arası Post-hoc ikili karşılaştırma analizi sonucunda da, 8-OHdG düzeyinin; Grup 2'de Grup 3'e ve Grup 1'e oranla istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.013$). 8-OHdG; Grup 1'de Grup 3'den daha yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.129$). 8-OHdG düzeyi gruplar arası post-hoc ikili karşılaştırılması Tablo 6'da gösterilmiştir:

Tablo 6. 8-OHdG Seviyelerinin Gruplar Arası Post-Hoc İkili Karşılaştırması

Gruplar	ort \pm SS (min- mak)	ort \pm SS (min- mak)	p
Grup I – Grup II	15.63 \pm 3.96 (10.76-26.13)	19.04 \pm 4.16 (13.06-30.68)	0.013
Grup I – Grup III	15.63 \pm 3.96 (10.76-26.13)	13.24 \pm 3.14 (7.32-17.96)	0.129
Grup II – Grup III	19.04 \pm 4.16 (13.06-30.68)	13.24 \pm 3.14 (7.32-17.96)	0.000

İstatistiksel olarak 3 grup arasındaki; MDA düzeyleri arasında anlamlı farklılık izlendi ($p=0.000$). MDA seviyesinin gruplar arasındaki dağılımı Şekil 11'de gösterilmektedir:



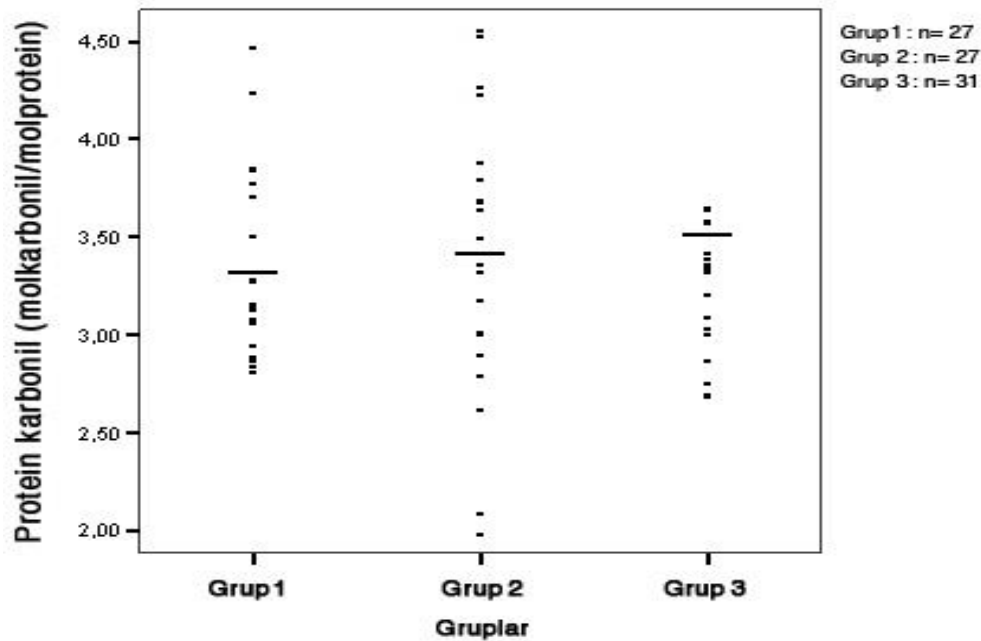
Şekil 11. Serum MDA Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı

MDA için yapılan gruplar arası post-hoc ikili karşılaştırma analizi sonucunda ise Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken ($p=0.064$), Grup 1 ile Grup 3 ve Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$). MDA için gruplar arası post-hoc ikili karşılaştırma Tablo 7’de gösterilmiştir:

Tablo 7. MDA Seviyelerinin Gruplar Arası Post-Hoc İkili Karşılaştırması

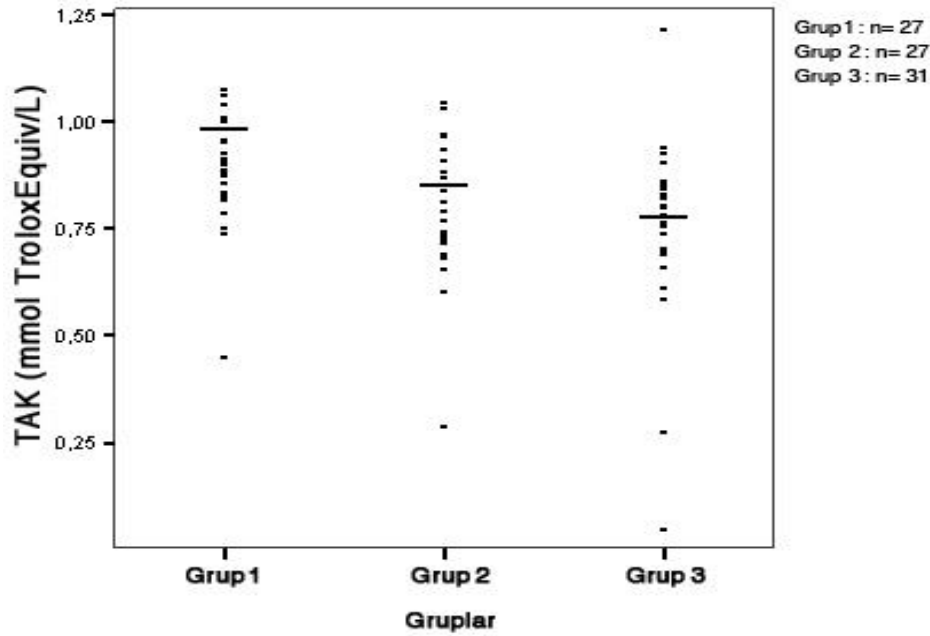
Gruplar	ort \pm SS (min- mak)	ort \pm SS (min- mak)	p
Grup I – Grup II	0.12 \pm 0.10 (0.04-0.47)	0.08 \pm 0.05 (0.02-0.30)	0.64
Grup I – Grup III	0.12 \pm 0.10 (0.04-0.47)	0.04 \pm 0.59 (0.00-0.30)	0.000
Grup II – Grup III	0.08 \pm 0.05 (0.02-0.30)	0.04 \pm 0.59 (0.00-0.30)	0.000

İstatistiksel açıdan karşılaştırıldığında protein karbonil düzeyi için gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0.208$). Protein karbonil seviyesinin ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı Şekil 12’de görülmektedir:



Şekil 12. Serum Protein Karbonil Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı

İstatistiksel olarak üç grup arasındaki; TAK düzeyleri arasında anlamlı farklılık izlendi ($p= 0.004$). TAK düzeyinin gruplar arasındaki dağılımı Şekil 13'te gösterilmektedir:



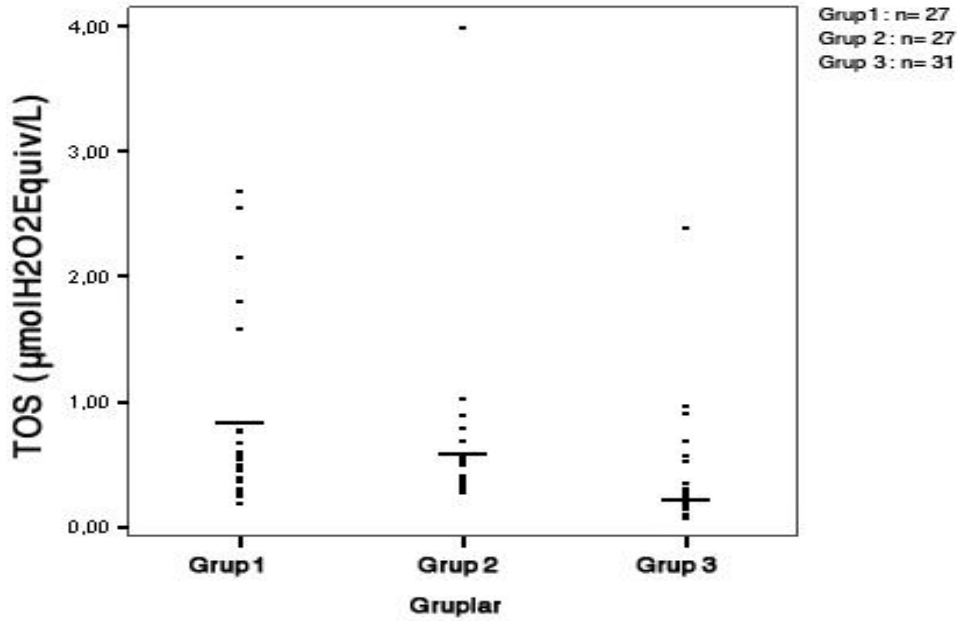
Şekil 13. Serum TAK Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı

TAK için gruplar arası post-hoc ikili karşılaştırma analizi sonucunda ise Grup 1 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p= 0.004$). Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (sırasıyla $p=0.05$, $p=1.00$). TAS için gruplar arası post-hoc ikili karşılaştırma Tablo 8'de gösterilmiştir:

Tablo 8. TAK Seviyelerinin Gruplar Arası Post-Hoc İkili Karşılaştırması

Gruplar	ort \pm SS (min- mak)	ort \pm SS (min- mak)	p
Grup I – Grup II	0.90 \pm 0.12 (0.45-1.07)	0.79 \pm 0.15 (0.28-1.04)	0.050
Grup I – Grup III	0.90 \pm 0.12 (0.45-1.07)	0.76 \pm 0.19 (0.04-1.21)	0.004
Grup II – Grup III	0.79 \pm 0.15 (0.28-1.04)	0.76 \pm 0.19 (0.57-0.95)	1.000

TOS düzeyinin seviyesinin ortalama değeri, Grup 1’de Grup 2’e oranla, istatistiksel olarak anlamlı olmayarak, daha yüksekti ($p=0.383$). Üç grup arasındaki TOS düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0.000$). TOS düzeyinin gruplar arasındaki dağılımı Şekil 14’te gösterilmektedir:



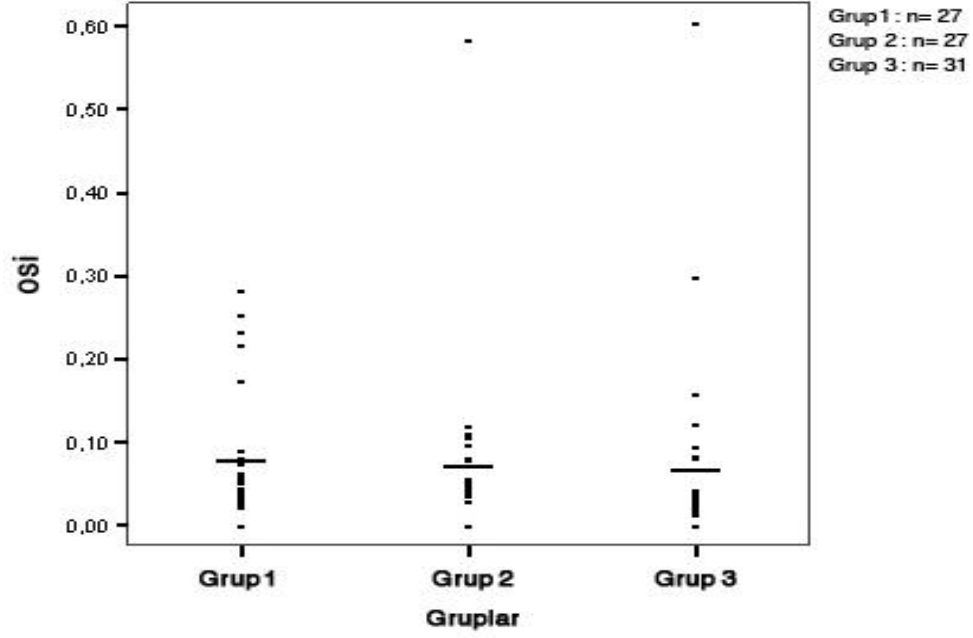
Şekil 14. Serum TOS Seviyesinin Gruplara Göre Dağılımı

TOS için gruplar arası post-hoc ikili karşılaştırma analizi sonucunda ise Grup 1 ile Grup 3 arasında ve Grup 2 ile Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$). Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0.383$). TOS için gruplar arası post-hoc ikili karşılaştırma Tablo 9’da gösterilmiştir:

Tablo 9. TOS Seviyelerinin Gruplar Arası Post-Hoc İkili Karşılaştırması

Gruplar	ort ± SS (min- mak)	ort ± SS (min- mak)	p
Grup I – Grup II	0.82±0.74 (0.19-2.68)	0.63±0.76 (0.27-3.99)	0.383
Grup I – Grup III	0.82±0.74 (0.19-2.68)	0.38±0.45 (0.07-2.39)	0.000
Grup II – Grup III	0.63±0.76 (0.27-3.99)	0.38±0.45 (0.07-2.39)	0.000

İstatistiksel açıdan karşılaştırıldığında OSİ düzeyi için gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p=0.066$). OSİ düzeyinin ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı Şekil 15'te görülmektedir:



Şekil 15. Serum OSİ Seviyesinin Gruplara Göre Dağılım

5. TARTIŞMA

İdiopatik trombositopenik purpuranın etyopatogenezine yönelik çalışmalar devam etmekle birlikte hastalığın patogenezi halen netlik kazanmamıştır. Öne sürülen hipotezlerden en önemlileri apopitozis, sitokin salınımı ve oksidatif stresdir. İdiopatik trombositopenik purpura patogenezinde rol oynayan mekanizmalar açığa kavuşturulmuşça tedavi alanında yeni yaklaşımlara ışık tutacağı kanısındayız.

Yapılan çalışmalarda oksidatif hasarın, otoimmün hastalıkların gelişimiyle ilgili olduğu gösterilmiştir (8). İdiopatik trombositopenik purpuranın da immün bir hastalık olması nedeniyle İTP patogenezinde oksidatif hasarın sorumlu olacağını düşünmekteyiz. İdiopatik trombositopenik purpurada artan oksidatif hasar inflamasyon ve apoptotik hücre ölümüne katkıda bulunarak, immün sistem fonksiyonlarını azaltmaktadır (92).

Serbest radikal hasarı birçok hastalığın etyolojisi ve prognozu açısından, üzerinde önemle durulan bir kavramdır. Serbest radikaller son derece reaktif ve kısa ömürlü bileşiklerdir. Bu yüzden doğrudan ölçümleri zordur ve genellikle lipidler, proteinler ve DNA ile reaksiyonu sonucu oluşan çeşitli son ürünlerin ölçümü gibi dolaylı metodlar kullanılır (93). Çalışmamızda serbest radikal hasarının göstergesi olarak protein karbonil, MDA, 8-OHdG ve oksidan-antioksidan seviyelerin tayini için TAK, TOS ve OSİ 'ni kullandık.

Çalışmamızda DNA oksidasyon ürünü olan 8-OHdG; lipid peroksidasyon ürünü olan MDA; antioksidan savunma sistemini gösteren TAK ve TOS; akut ve kronik İTP'li hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu. Protein oksidasyon ürünü olan protein karbonil ve OSİ'de ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi. Oksidatif hasarın hücrelerde DNA, lipid ve proteinlere eş zamanlı olabileceğini öngören hipotezlerin varlığıyla birlikte (93); biz İTP'li hastalarda gelişen oksidatif hasarın, protein oksidasyon basamağına gelmeden önce, hücrelerdeki lipid ve DNA'yı etkilediğini düşünmekteyiz.

Serbest radikal hasarına en duyarlı olan bileşikler lipidlerdir. Serbest radikaller hücrede ilk olarak membran lipidleriyle etkileşerek lipid peroksidasyonu sonucunda membran bütünlüğünü bozarlar. Bunun sonucunda da membran proteinleri, membran reseptörleri ve bunlara bağlanan enzimler inaktive olur (94). Bizim çalışmamızda da lipid peroksidasyon göstergesi olarak MDA'yı akut ve kronik İTP'de kontrol grubuna oranla daha yüksek saptadık (sırasıyla $p=0,00$, $p=0.00$). MDA ortalama seviyesi; kronik İTP'li hastalarda, akut İTP'li hastalardan daha yüksek olmasına rağmen, MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi. Böylece hem akut, hem kronik İTP patogenezinde lipid peroksidasyonunun rolü olduğunu göstermiş olduk.

Çalışmamızda DNA oksidasyon ürünü olan, 8-OHdG seviyesi; akut İTP'li hastalarda, kronik İTP'li hastalardan daha yüksekti ($p=0.013$). 8-OHdG düzeyi akut İTP'li hastalarda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak daha yüksek saptandı ($p=0.000$). 8-OHdG düzeyi kronik İTP'li hastalarda kontrol grubundan daha yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.129$). Bunun, DNA'nın iyi korunan bir molekül olması ile tüm reaktif oksijen türlerinin DNA üzerinde hasara neden olmamasına bağlı olduğunu düşünüyoruz. DNA üzerindeki çoğu hasar akut İTP'li hastalarda olduğu gibi, enfeksiyon gibi oksidan bir maruziyet sonrası gelişen hidroksil radikalleri aracılığıyla gelişmektedir (95).

Çalışmamızda oksidan-antioksidan seviyelerin tayini için bakılan TOS ve TAK düzeylerinin ortalama değeri kronik İTP'li hastalarda akut İTP'li hastalardan daha yüksek tespit edildi. İstatistiksel açıdan değerlendirildiğinde ise TOS değeri akut ve kronik İTP'li hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$). TAK değeri ise sadece kronik İTP'li grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.004$). Böylelikle hem akut hem kronik İTP'de oksidatif stresin artmış olduğunu gösterdik. Akut İTP'li hastalarda total antioksidan yanıtın yetersiz kaldığını, kronik İTP'de ise artan total oksidatif strese yanıt olarak total antioksidan kapasitenin arttığını saptadık. Kronik İTP'de total antioksidan kapasitenin artmasıyla, DNA oksidatif hasara karşı korunmakta ve DNA oksidasyon ürünü olan 8-OHdG seviyesinde kontrol grubuna göre artış olmamaktadır.

Çocukluk çağında görülen akut İTP'nin her iki cinsiyette eşit sıklıkta görüldüğü, ancak kronik İTP'nin kızlarda daha sık olduğu bilinmektedir (12). Çalışmamızdaki akut İTP tanılı çocukların %55.6'ı kız, %44.4'ü erkek; kronik İTP'li çocukların %63'ü kız,

%37'si erkekti. Kronik İTP'nin on yaş üzerinde ve kızlarda, başlangıç trombosit sayısının daha yüksek olduğu, öncesinde geçirilmiş infeksiyon öyküsü olmayan vakalarda daha sık olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (96). Çalışmamızda da kronik İTP'li çocukların yaş ortalaması 9.56 yaş, akut İTP'li çocukların yaş ortalaması ise 5.21 idi. Çalışmamızdaki kronik İTP'li çocukların trombosit ortalaması 60.333/mm³, akut İTP'li çocukların trombosit ortalaması 25.851/mm³ idi. Çalışmamız yaş, cinsiyet ve trombosit değerleri açısından literatürle uyumluydu.

İdiopatik trombositopenik purpura patogeneziyle ilgili yapılan çalışmalarda antitrombosit antikorlarının sıçanlarda trombosit apoptozisini artırdığı gösterilmiştir. Kronik İTP'li çocuk hastalarda ise trombosit apoptozisinin belirleyicileri olan aneksin V, kaspaz3ve mitokondri içtransmembran potansiyeldepolarizasyonu çalışılmış ve bu belirteçlerde artış izlenmemiştir. Yine aynı çalışmada kronik İTP' de apoptotik yolun düzenleyicisi olan CXCR4 kemokin düzeyinde artış saptanmış ve çocukluk çağı kronik İTP'de trombosit apoptozisindeki direnç varlığı gösterilmiştir (97).

Son zamanlarda oksidatif stresin, otoimmün hastalıkların patogeneziindeki rolü anlaşıldıkça bu alandaki çalışmalar yoğunlaşmıştır. Otoimmün hastalıkların gelişiminde oksidatif hasarın bir sebep mi, yoksa primer hastalık sürecinin bir sonucu mu olduğu açık değildir. Literatürde İTP dışında, Henoch-Schonlein purpurası (HSP), Sistemik lupus erimatozus (SLE), sistemik skleroz, romatoid artrit, hemolitik anemiler, tip 1 diabetes mellitus gibi otoimmün hastalıklarda oksidatif stresin arttığı tespit edilmiştir (8, 98). Otoimmün hastalıklarda özellikle dolaşımdaki otoantikorlara yönelik, proteinlerin oksidatif hasarında artış izlenmesine rağmen çalışmamızda protein oksidasyon son ürünü olan protein karbonil düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlemedik.

Oksidatif stres çalışmalarında bizim çalışmamızda olduğu gibi serbest radikallerin artışı veya antioksidan savunma sistemlerinin yetersizliği araştırılmaktadır. Hassan ve ark. (98), otoimmün bir hastalık olan romatoid artrit (RA) ve sistemik lupus eritematozuslu hastalarda (SLE) oksidan-antioksidan durumu araştırmak için yaptıkları çalışmada, SLE ve RA'li hastalarda MDA düzeyinde artış, glutatyon ve glutatyon peroksidaz enzim düzeyinde azalma tespit etmişlerdir. Luchi ve ark. (99) ise otoimmün hemolitik anemi ile serbest radikaller arasındaki ilişkiyi araştırmışlar, SOD enziminde eksikliğin eritrositlerde oksidatif hasara neden olarak otoimmün hemolitik anemiye yol açtığını saptamışlardır.

Nur E. ve ark. (100) orak hücreli anemili hastalarda antioksidan etkili N-asetil sistein tedavisinden sonra serum glutatyon düzeylerinde artış izlemişlerdir.

Polat ve ark.'nın (101) erişkin yaş grubunda yaptığı bir çalışmada İTP'li hastalarda lipid peroksidasyonu ve antioksidanların rolünü araştırmışlar, plazma malondialdehit (MDA), glutatyon ve askorbik asit seviyelerini analiz etmişlerdir. İTP'li hastalarda MDA seviyelerini kontrol grubuna göre yüksek, glutatyon ve askorbik asit seviyesini kontrol grubuna göre düşük bulmuşlardır. Biz de çalışmamızda tanı anında akut ve kronik İTP'li hastalarda lipid peroksit düzeyi kontrol grubuna oranla belirgin yüksek, TAK düzeyinin ise akut İTP'li hastalarda belirgin yüksek saptadık.

Akbayram ve ark. (10) oksidatif hasar ve antioksidan kapasitenin çocukluk çağında İTP ile ilişkisini araştırmışlar, akut ve kronik İTP'li hastalarda MDA, TOS ve OSİ düzeyinin belirgin yüksek, TAK düzeyinin ise kontrol grubuna göre düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

İTP tanılı çocuklarda oksidatif stres ve antioksidan yanıtı araştırmak için yapılan bir çalışmada (102);kronik İTP olgularında total peroksit düzeyi ve OSİ, akut İTP olgularından daha yüksek bulunmuştur. Yine aynı çalışmada; TAK akut İTP olgularında; kronik İTP olgularına göre daha düşük izlenmiş olup, tedavi sonrası dönemde ise anlamlı oranda artış izlenmiştir. Çalışmamızda; TOS, TAK ve MDA'nin ortalama düzeyi kronik İTP'de, 8-OHdG'nin ortalama düzeyi ise akut İTP'li hastalarda daha yüksek tespit edilmiştir. Akut İTP'nin daha gürültülü bir tablo oluşturmasına ya da kronik İTP'de immün disregülasyonun daha belirgin olmasına rağmen çalışmamızda akut ve kronik İTP'li hastaların oksidasyon belirteçleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlemedik.

Milz ve ark.'nın (103) İTP 'li hastalarda yapmış olduğu çalışmada; hastalığın akut fazında antioksidan kapasitenin azalmış olduğu, glutatyon peroksidaz enzim aktivitesinin ise arttığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda ise İTP'li hastalarda hem TOS, hem de buna yanıt olarak TAK'ın artmış olduğunu saptadık.

Koç A. ve ark. (104) İTP'li çocuklarda TOS, TAK, serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin durumu ve yüksek doz metil prednizolon tedavisinin bu sistemler üzerine etkilerini araştırmışlar;akut İTP'de oksidan streste artış, antioksidan kapasite,paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinde azalma olduğunu, steroid tedavisinin bu değişiklikleri düzelttiğini gözlemişlerdir.

Zhang ve ark.'nın (9) İTP'li çocuk hastalarda yaptığı bir çalışmada; epitelyal hücrelerdeki, oksidatif hasarla ilişkili, proinflamatuvar bir molekül olan vanin-1 düzeyindeki artışın, İTP'nin kronikleşmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada mononükleer hücrelerde oksidatif stresi indüklemek için sodyum arsenat verilmiş ve vanin-1, antiinflamatuvar bir molekül olan peroksizom proliferatör aktivatör reseptör ve glutatyon düzeyinde azalma izlenmiştir.

Arajuo C. ve ark.'nın (105) vivaks malaryalı hastalarda, trombositopeni gelişiminde oksidatif stresin rolünü araştırmak için yaptıkları çalışmada, glutatyon peroksidaz ve MDA düzeyi trombositopeni gelişmiş hastalarda, trombositopeni gelişmemiş olanlara göre yüksek saptanmıştır. Plasmodium vivaks malarya enfeksiyonunda gelişen trombositopeni patogeneğinde de, trombositlerin oksidatif hasarının sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür.

Worner ve ark. (106) trombosit süspansiyonlarına potasyum tetraperoksokromat ekleyerek serbest oksijen radikallerini oluşturdular ve trombositlerde şekil değişikliği ve agregasyonu gözlemlədiler. Ohyashiki ve ark. (107) sıçan trombositlerinin hidrojen peroksit ve serbest oksijen radikallerine maruz kaldıkları zaman trombosit lipid peroksidasyonun arttığını ve buna paralel olarak agregasyon kapasitesinin azaldığını gösterdiler.

Fıçıcılar ve ark.'nın (108) sıçanlarda yaptığı bir çalışmada total antioksidan kapasitenin artışıyla trombositlerin sekresyon ve agregasyonunda azalma olduğu izlenmiştir. Monteiro ve ark. (109) yaptığı başka bir çalışmada ise yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda, reaktif oksijen üretimi ve trombosit agregasyonunda artış tespit edilmiştir. Bu durum oksidan-antioksidan durumun trombosit fonksiyonlarını da etkilediğini göstermektedir.

Basili S. ve ark. (110), sirozlu hastalarda, artan oksidatif stresle trombosit aktivasyonunun ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Sirozda oksidatif hasarın göstergesi olarak, NADPH oksidaz-2 ilişkili peptid, trombosit aktivasyonunda görevli isoprostan, trombosit aktivasyon belirteci olan CD40 Ligand (*sCD40L*) ve P-selectinde artış olduğunu göstermişlerdir. Oksidatif stresin trombosit agregatlarını stabilize eden CD40 ligand salınımı ve süperoksid anyonları ile etkileşime giren isoprostan oluşumunu artırarak trombosit aktivasyonunu sağladığı ileri sürülmüştür (110).

Dietrich-Muszalska A. ve ark. (111), şizofrenili hastaların trombositlerindeki oksidatif hasarı araştırmışlar ve kontrol grubuna göre antioksidan bir enzim olan süperoksit

dismutaz düzeyininin (*SOD*) azaldığını, lipid peroksidasyon ürünü olan tiyobarbitürik asid reaktif ürünün arttığını tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak; oksidatif hasar diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi İTP patogenezi ve gelişmesinde rol oynamaktadır. Ayrıca serbest oksijen radikalleri trombositlerin yapısal ve fonksiyonel hasarına da neden olmaktadır. İdiopatik trombositopenik purpura hastalarında doğal ya da sentetik antioksidanların kullanımının oksidatif stresin azaltılması yoluyla iyileşmeyi hızlandıracağı ve komplikasyonları azaltmaya yardımcı olabileceği düşüncesindeyiz. Bu konuda daha fazla klinik ve laboratuvar çalışmaları ile yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

1. Grup 1 (kronik İTP)' in yaş ortalaması 9.56 ± 4.51 yıl ve Grup 2 (akut İTP)' nin yaş ortalaması 5.21 ± 4.73 yıl, Grup 3 (kontrol)'ün yaş ortalaması ise 7.77 ± 4.63 yıl idi. Kronik İTP'li çocukların trombosit sayısı ortalaması $60.333 \pm 33.863/\text{mm}^3$, akut İTP'li çocukların trombosit sayısı ortalaması $25.851 \pm 29.533/\text{mm}^3$, kontrol grubunun trombosit ortalaması ise $304.677 \pm 73.566/\text{mm}^3$ olarak bulundu. Yaş, cinsiyet ortalamaları ve trombosit sayılarına göre gruplar karşılaştırıldığında; gruplar arasında yaş ortalamaları ve trombosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi (sırasıyla $p=0.004$, $p=0.000$). Grupların cinsiyet dağılımları arasında ise anlamlı fark yoktu ($p=0.853$).
2. Her üç grubun laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; 8-OHdG, MDA, TAK ve TOS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.004$, $p=0.000$). Protein karbonil ve OSİ değerlerinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (sırasıyla $p=0.208$, $p=0.066$).
3. 8-OHdG düzeyinin Grup 2'de Grup 1'den ve Grup 2'de Grup 3'den istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0.013$, $p=0.000$). 8-OHdG düzeyi; Grup 1'de Grup 3 'den daha yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
4. MDA düzeyinin Grup 1'de Grup 3'den ve Grup 2'de Grup 3'den istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$). Grup1'in MDA düzey ortalaması Grup 2'den daha yüksek olmasına karşılık, Grup 1 ve Grup 2 arasında MDA düzeyi istatistiksel açıdan anlamlı farklılık izlenmedi ($p=0.064$).

5. TAK düzeyi Grup 1'de Grup 3'den istatistiksel olarak daha yüksek tespit edildi ($p=0.004$). Grup1'in TAK düzeyi Grup 2'den daha yüksek olmasına karşılık, Grup 1 ve Grup 2 arasında ve Grup 2 ile Grup 3 arasında TAK düzeyi arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi (sırasıyla $p=0.050$, $p=1.000$).
6. TOS düzeyinin Grup 1'de Grup 3'e ve Grup 2'de Grup 3'e oranla istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$). Grup1'in TOS düzeyi Grup 2'den daha yüksek olmasına karşılık, Grup 1 ve Grup 2 arasında TOS düzeyi arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi ($p=0.383$).

6.2. Öneriler

1. DNA oksidasyon ürünü olan 8-OHdG, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA, antioksidan savunma sistemini gösteren TAK ve TOS akut ve kronik İTP'li hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum oksidatif hasarın diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi İTP gelişimiyle yakından ilgili olduğunu düşündürmektedir.
2. Protein oksidasyon ürünü olan protein karbonil düzeyleri arasında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklı değildi. Bu durum; İTP'de gelişen oksidatif hasarın protein oksidasyon basamağına gelmeden önce trombositlerdeki lipid ve DNA'yı etkilediğini göstermektedir.
3. 8-OHdG düzeyinin akut İTP'li hastalarda kontrol grubuna oranla daha yüksek saptanmış olması, DNA'nın iyi korunan bir molekül olması nedeni ile DNA üzerindeki çoğu hasarın hidroksil radikalleri aracılığıyla geliştiğini düşündürmektedir.
4. Lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeyini, akut ve kronik İTP'de kontrol grubuna oranla daha yüksek saptamış olmamıza rağmen, akut ve kronik İTP'li hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit etmedik. Bu durum, İTP'de oksidan hasarın boyutundan bağımsız olarak, serbest radikallerin ilk olarak trombosit membran lipidleriyle etkileşerek, lipid peroksidasyonu sonucunda membran bütünlüğünü bozduğunu göstermektedir.
5. Çalışmamızda kronik İTP'li çocukların yaş ortalaması ve trombosit sayısını daha yüksek saptadık. Çalışmamız yaş ve trombosit değerleri açısından literatürle uyumluydu.

6. Serbest oksijen radikalleri trombositlerin yapısal ve fonksiyonel hasarında trombositopeninin oluşmekanizmasında önemli rol oynamaktadır.
7. Akut ve kronik İTP patogeneğinde oksidatif hasarın rolü olduğunu düşünmekteyiz.

7. ÖZET

AKUT VE KRONİK İDİOPATİK TROMBOSİTOPENİK PURPURALI ÇOCUKLARDA OKSİDATİF STRESİN ROLÜ

Amaç: Çocukluk çağı akut ve kronik idiopatik trombositopenik purpurada oksidatif hasarın rolü olup olmadığını araştırmayı hedefledik.

Gereç ve Yöntem: Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Ana Bilim Dalı Hematoloji Bölümüne 01/05/2011 ile 01/05/2012 tarihleri arasında başvuran, kronik İTP'li 27 hasta (grup I) ve akut İTP'li 27 hasta (grup II) çalışma grubunu oluşturdu. Hasta grubuyla benzer yaş ve cinsiyette olan ve sağlam çocuk polikliniğine başvuran 31 sağlıklı çocuk kontrol grubunu (grup III) oluşturdu. Her üç grubun periferik kanlarından alınan örneklerde; tam kan sayımı, direkt coombs testi, anti nükleer antikor, DNA oksidasyon ürünü olarak 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), protein oksidasyon ürünü olarak protein karbonil, lipid peroksidasyon ürünü olarak malondialdehit (MDA), ayrıca oksidan/antioksidan dengenin değerlendirilmesi için total oksidatif stres (TOS), total antioksidan kapasite (TAK) ve oksidan indeks (OSİ) çalışıldı. Oksidan indeks değeri, TAK/TOS oranından elde edildi ($OSİ=(TOS, \mu mol/l)/TAK, mmol trolox equivalent/l \times 100$). Üç grubun verileri SPSS 13.01 istatistik programı ile karşılaştırıldı.

Bulgular: 8-OHdG, MDA, TAK ve TOS düzeylerinde üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.004$, $p=0.000$). Protein karbonil ve OSİ değerlerinde ise üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (sırasıyla $p=0.208$, $p=0.066$). Grup II'deki 8-OHdG seviyesi, grup I ve grup III'den istatistiksel açıdan daha yüksekti (sırasıyla $p=0.013$, $p=0.000$). Grup I'deki 8-OHdG seviyesi, grup III'den istatistiksel açıdan anlamsız olarak daha yüksekti ($p=0.129$). Grup I ve Grup II'deki MDA seviyesi, Grup III'den istatistiksel olarak daha yüksek saptandı (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$). Ancak MDA düzeylerinde, Grup I ile Grup II arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0.064$). TAK düzeyi, Grup I'de Grup III'den istatistiksel olarak daha yüksekti ($p=0.004$). Grup I ve Grup II'deki TOS düzeyi, Grup III'e göre anlamlı olarak daha yüksekti (sırasıyla $p=0.000$, $p=0.000$). Hastaların demografik özellikleri değerlendirildiğinde; Grup I'deki hastaların yaş ortalaması Grup II ve Grup III'e göre istatistiksel olarak daha büyük idi ($p=0.004$). Grup II'deki hastaların trombosit sayıları ise Grup I ve Grup III'e göre istatistiksel olarak daha düşük idi ($p=0.000$).

Sonuç: Akut ve kronik İTP'li hastalarda hem oksidan stres, hem de buna yanıt olarak total antioksidan yanıt artmaktadır. 8-hidroksideoksiguanozin, MDA, antioksidan savunma sistemini gösteren TAK ve TOS akut ve kronik İTP'li hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Protein karbonilde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığın izlenmemesi İTP'de gelişen oksidatif hasarın protein oksidasyon basamağına gelmeden önce trombositlerdeki lipid ve DNA'yı etkilediğini düşündürmektedir. Sonuç olarak akut ve kronik İTP'nin patogenezinde oksidatif hasarın rolü olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: idiopatik trombositopenik purpura, antioksidan kapasite, oksidatif stres.

8. SUMMARY

THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN CHILDREN WITH ACUTE AND CHRONIC IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA

Aim:To investigate whether oxidative damage is involved in acute and chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) in childhood.

Materials and Methods:Twenty-seven patients with a diagnosis of chronic ITP (Group I) and 27 with a diagnosis of acute ITP (Group II) applying to the Karadeniz Technical University Faculty of Medicine Pediatric Department Hematology Division between 01/05/2011 and 01/05/2012 were included in the study group. Thirty-one healthy children (Group III) applying to healthy children clinic constituted the control group. Total blood count, direct Coombs test, antinuclear antibodies, a product of DNA oxidation: 8-OH deoxy-guanosine (8-OHdG), a product of protein oxidation: protein carbonyl, a product of lipid peroxidation: malondialdehyde (MDA) and also total oxidative stress (TOS), total antioxidant capacity (TAC) and oxidant stress index (OSI) for analysis of the oxidant/antioxidant balance were all investigated from specimens collected from peripheral blood in all three groups. OSI value was obtained from the TAC/TOS ratio ($OSI = (TOS, \mu\text{mol/l}) / TAC, \text{mmol trolox equivalent/l} \times 100$). Data for the three groups were compared using SPSS 13.01.

Results:A statistically significant difference was determined in 8-OHdG, MDA, TAC and TOS levels between the three groups ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.004$ and $p=0.000$, respectively). No significant difference was observed in protein carbonyl and OSI levels between the three groups ($p=0.208$ and $p=0.066$, respectively). 8-OHdG level in Group II was statistically higher compared to those in the Group I and Group III ($p=0.013$ and $p=0.000$, respectively). 8-OHdG level in Group I was higher not statistically compared to those in the Group III ($p=0.129$). MDA level in Group I and Group II were statistically higher compared to Group III ($p=0.000$ and $p=0.000$, respectively). However MDA level, were not statistically different between Group I and Group II ($p=0.064$). TAC level in the Group I, was statistically higher than Group III ($p=0.004$). TOS level in the Group I and Group II was statistically higher compared to those in the Group III ($p=0.000$ and $p=0.000$, respectively). In terms of patients' demographic characteristics, mean age of the patients in Group I was greater than in groups II and III. Thrombocyte numbers in Group II were lower than those in groups I and III ($p=0.000$).

Conclusion: Both oxidant stress and total antioxidant response as a response to this rise in acute and chronic ITP patients. 8-OH deoxy-guanosine, MDA, TAC which shows the antioxidant defense system and TOS were higher in acute and chronic ITP patients compared to the control group. Protein carbonyl, exhibited no statistically significant difference among the groups, suggesting that oxidative damage occurring in ITP affects the lipid in thrombocytes and DNA before the protein oxidation stage. In conclusion, we think that oxidative damage is involved in the pathogenesis of acute and chronic ITP.

Key Words: Idiopathic thrombocytopenic purpura, antioxidant capacity, oxidative stress.

9. KAYNAKLAR

1. Stasi R, Gernsheimer T, Michel M, Provan D, Arnold DM, Bussel JB, Cines DB, Chong BH, Cooper N, Godeau B, Lechner K, Mazzucconi MG, McMillan R, Sanz MA, Imbach P, Blanchette V, Kühne T, Ruggeri M, George JN: Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood*, 113(11): 2386-93, 2009.
2. Zhou B, Zhao H, Yang RC, Han ZC: Multi-dysfunctional pathophysiology in ITP. *Crit Rev Oncol/Hematol*, 54(2): 107–16, 2005.
3. Liu XG, Li JL, Qin P, Ren J, Ma SH, Sun L, Shi Y, Ji XB, Zhu YY, Ma DX, Guo CS, Du X, Hou M, Peng J: Determination of platelet-bound glycoprotein-specific autoantibodies by flow cytometric immunobead assay in primary immune thrombocytopenia. *Eur J Haematol*, 86(4): 339-46, 2011.
4. Bussel J, Cines D: Immune thrombocytopenic purpura, neonatal alloimmune thrombocytopenia and posttransfusion purpura. In Hoffman R, Benz EJ, Shattil Philadelphia (Eds.): Churchhill livingstone, 2086-114.
5. Gernsheimer T: Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: mechanisms of pathogenesis. *Oncol*, 14(1): 12-21, 2009.
6. Granota E, Kohenb R: Oxidative stres in childhood in health and disease states. *Clin Nutr*, 23(1): 3-11, 2004.
7. Griffiths HR: ROS as signalling molecules in T cells--evidence for abnormal redox signalling in the autoimmune disease, rheumatoid arthritis. *Redox Rep*, 10(6): 273-80, 2005.
8. Filipin L, Vercelino R, Marroni NP, Xavier RM: Redox signalling and the inflammatory response in rheumatoid arthritis. *British Society for Immunology, Clin Exp Immunol*, 152(3): 415-22, 2008.
9. Zhang B, Lo C, Shen L, Sood R, Jones C, Cusmano-Ozog K, Park-Snyder S, Wong W, Jeng M, Cowan T, Engleman EG, Zehnder JL: The role of vanin-1 and oxidative stress-related pathways in distinguishing acute and chronic pediatric ITP. *Blood*, 117(17): 4569-79, 2011.

10. Akbayram S, Doğan M, Akgün C, Peker E, Bay A, Cakson H, Oner AF: The association of oxidant status and antioxidant capacity in children with acute and chronic ITP. *J Pediatr Hematol Oncol*, 32(4): 277-81, 2010.
11. Wilson BD: Acquired Platelet Defects. In Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE (Eds.): *Nathan and Oski's Haematology of Infancy and Childhood*. W.B. Saunders Company, 7th ed., 2009; pp 1553-91.
12. Renaud T: Disorders of Platelets. In Lanzkowsky P (Ed.): *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*, Elsevier Inc New York, 5th ed., 2011; pp 321-78.
13. Mohssen E, Samar F, Abeer AM: Predictors of Chronic Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Pediatr Blood Cancer*, 54: 959-62, 2010
14. Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Williams WJ (Eds.): *Essential Thrombocythemia and thrombocytosis*. Williams Manuel of Hematology. 6th Edition, McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York, 2003; pp 415-19.
15. Belletrutti M, Ali K, Barnard D, Blanchette V, Chan A, David M, Luke B, Price V, Ritchie B, Wu J; Canadian Pediatric Chronic ITP Working Group; Canadian Pediatric Thrombosis and Hemostasis Network: Chronic Immune Thrombocytopenic Purpura in Children: a survey of the Canadian experience. *J Pediatr Hematol Oncol*, 29(2): 95-100, 2007.
16. Türk Hematoloji Derneği: İmmün Trombositopeni Tanı ve Tedavi Kılavuzu, Ulusal Tedavi Rehberi, 2011; III. Bölüm, 27-59.
17. Rudolph A, Kamei R, Overby K, Caroline A, Bertram H: Kan Hastalıkları. Rudolph MA, Lister GE, First GE, First LR, Gershon AA (Eds.), Yurdakök M (Çeviri Ed.): *Rudolph's Fundamentals of Pediatrics*. McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York, 21th ed; 2003, pp 553-58.
18. Harrington WJ, Minnich V, Hollingsworth JW, Moore CV: Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura 1951. *J Lab Clin Med*, 115(5): 636-45, 1990.
19. Watts RG: Idiopathic thrombocytopenic purpura: a 10-year natural history study at the Childrens Hospital of Alabama. *Clin Pediatr (Phila)*, 43(8): 691-702, 2004
20. Segal JB, Powe NR: Prevalance of immune thrombocytopenia: analyses of administrative data. *J Thromb Haemost*, 4 (11): 2377-83, 2006.
21. Geddis AE, Balduini CL: Diagnosis of immune thrombocytopenic purpura in children. *Curr Opin Hematol*, 14(5): 520-525, 2007.

22. Kemahlı S: Trombosit bozuklukları. Hasanoğlu E, Düşünsel R, Bideci A (Ed.): Türkiye Temel Pediatri Derneği, Temel Pediatri. Güneş Tıp Kitabevi, 2010, pp 1005-9.
23. Terry Gernsheimer: Chronic Idiopathic Thrombocytopenic Purpura: Mechanisms of Pathogenesis. *Oncologist*, 14(1): 12–21, 2009.
24. Negi RR, Bhorla P, Pahuja A, Saikia B, Varma N, Malhotra P, Varma S, Luthra-Guptasarma M: Investigation of the Possible Association between the HLA Antigens and Idiopathic Thrombocytopenic Purpura (ITP). *Immunol Invest*, 41(2): 117-28, 2012.
25. Peerschke EI, Yin W, Ghebrehivet B: Complement activation on platelets: Implications for vascular inflammation and thrombosis. *Mol. Immunol*, 47(13): 2170-75, 2010.
26. Najaoui A, Bakchoul T, Stoy J, Bein G, Rummel MJ, Santoso UJ, Sachs UJ: Autoantibody-mediated complement activation on platelets is a common finding in patients with immune thrombocytopenic purpura(ITP). *Eur J Haematol*, 88(2): 167-74, 2012.
27. Anis SK, Abdel Ghany EA, Mostafa NO, Ali AA: The role of PTPN22 gene polymorphism in childhood immune thrombocytopenic purpura. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 22(6): 521-25, 2011.
28. Olsson B, Andersson PO, Jernas M, Jacobsson S, Carlsson B, Carlsson LM, Wadenvik H: T –cell mediated cytotoxicity toward platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nat Med*, 9(9): 1123-24, 2003.
29. Panitsas FP, Theodoropoulou M, Kouraklis A, Karakantza M, Theodorou GL, Zoumbos NC, Maniatis A, Mouzaki A: Adultchronicidiopathicthrombocytopenicpurpura (ITP) is the manifestation of a type-1polarizedimmuneresponse. *Blood*, 103(7): 2645-47, 2004.
30. Wang JD, Chang TK, Lin HK, Huang FL, Wang CJ, Lee HJ: Reduced expression of transforming growth factor- β 1 and correlated elevation of interleukin-17 and interferon- γ in pediatric patients with chronic primary immune thrombocytopenia (ITP). *Pediatr Blood Cancer*, 57(4): 636-40, 2011.
31. Ma D, Zhu X, Zhao P, Zhao C, Li X, Zhu Y, Li L, Sun J, Peng J, Ji C, Hou M: Profile of Th17cytokines (IL-17, TGF-beta, IL-6) and Th1cytokine (IFN-gamma) in patients with immunethrombocytopenic purpura. *Ann Hematol*, 87(11): 899-904, 2008.
32. Zhu X, Ma D, Zhang J, Peng J, Qu X, Ji C, Hou M: Elevated interleukin-21 correlated to Th17 and Th1 cells in patients with immune thrombocytopenia. *J Clin Immunol*, 30(2) 253-59, 2010.

33. Wu KH, Peng CT, Li TC, Wan L, Tsai CH, Lan SJ, Chang MC, Tsai FJ: Interleukin 4, interleukin 6 and interleukin 10 polymorphisms in children with acute and chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 128(6): 849-52, 2005.
34. Erduran E, Aslan Y, Aliyazicioglu Y, Mocan H, Gedik Y: Plasma soluble interleukin-2 receptor levels in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol*, 57(2): 119-23, 1998.
35. Clementi R, Chiocchetti A, Cappellano G, Cerutti E, Ferretti M, Orilieri E, Dianzani I, Ferrarini M, Bregni M, Danesino C, Bozzi V, Putti MC, Cerutti F, Cometa A, Locatelli F, Maccario R, Ramenghi U, Dianzani U: Variations of the perforin gene in patients with autoimmunity/lymphoproliferation and defective Fas function. *Blood*, 108(9): 3079-84, 2006.
36. Zhang Y, Chen Q, Fang N: Relationship between apoptosis and CD30 expression of activated T-lymphocyte in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *J exp hemato/ Chinese Association of Pathophysiol*, 18(1): 195-98, 2010.
37. Li S, Wang L, Zhao C, Li L, Peng J, Hou M: CD8+ Tcellssuppressautologousmegakaryocyteapoptosis in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 139(4): 605-11, 2007.
38. Ünüvar A: Edinsel trombositopeni ve işlev bozuklukları. Anak S, Aydoğan G, Çetin M, İrken G, Kemahlı S, Öztürk G, Yeşilipek MA (Eds.): *Pediatric Hematoloji*. İstanbul Tıp Kitabevi, 1. Baskı, 2011; pp 445-69.
39. Cooper N, Heddle NM, Haas M, Reid ME, Lesser ML, Fleit HB, Woloski BM, Bussel JB: 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 FcγRIIa and FcγRIIIa polymorphisms. *Br J Haematol*, 124(4): 511-18, 2004.
40. Bredlau AL, Semple JW, Segel GB: Management of immune thrombocytopenic purpura in children: potential role of novel agents. *Paediatr Drugs*, 13(4): 213-23, 2011.
41. Blanchette V, Carcao M: Approach to the investigation and management of immune thrombocytopenic purpura in children. *Semin Hematol*, 37(3): 299-314, 2000.
42. Perlman MK, Schwab JG, Nachman JB, Rubin CM: Thrombocytopenia in children with severe iron deficiency. *J Pediatr Hematol Oncol*, 24(5): 380-84, 2002.
43. Cole CH: Rapid update on childhood immune thrombocytopenic purpura.
44. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L Jr, Crowther MA: American Society of Hematology. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood*, 117(16): 4190-07, 2011.

45. Shad AT, Gonzalez CE, Sandler SG. Treatment of immune thrombocytopenic purpura in children: current concepts. *Paediatr Drugs*, 7(5): 325-36, 2005.
46. Provan D, Stasi R, Newland AC, Blanchette VS, Bolton-Maggs P, Bussel JB, Chong BH, Cines DB, Gernsheimer TB, Godeau B, Grainger J, Greer I, Hunt BJ, Imbach PA, Lyons G, McMillan R, Rodeghiero F, Sanz MA, Tarantino M, Watson S, Young J, Kuter DJ: International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood*, 115(2): 168-86, 2010.
47. Özsoylu Ş: Comparison of intravenous immunoglobulin and high dose anti-D immunoglobulin as initial therapy for childhood immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 152(6): 783-784, 2011.
48. Aslan D, Yetkin S: İmmün Trombositopeni. *Katkı Pediatri Dergisi*, 23: 343-57, 2002.
49. Özsoylu Ş: Comparison of intravenous immunoglobulin and high dose anti- D immunoglobulin as initial therapy for childhood immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 152(6): 783-84, 2011.
50. Imbach P, Barandun S, Baumgartner C, Hirt A, Hofer F, Wagner HP. High-dose intravenous gammaglobulin therapy of refractory, in particular idiopathic thrombocytopenia in childhood. *Helvetica Paediatrica Acta*, 36(1): 81-86, 1981.
51. Teeling JL, Jansen-Hendriks T, Kuijpers TW, de Haas M, van de Winkel JG, Hack CE, Bleeker WK: Therapeutic efficacy of intravenous immunoglobulin preparations depends on the immunoglobulin G dimers: studies in experimental immune thrombocytopenia. *Blood*, 98(4): 1095-99, 2001.
52. George JN, Vesely SK, Buchanan GR: Immune Thrombocytopenic Purpura. Crowther MA, Ginsberg J, Schunemann HJ, Meyer RM and Lottenberg R (Eds.): Evidence-based Hematology. 1th Edition. Blackwell Publishing Ltd, New York, 2008, pp 206-12.
53. Tarantino MD, Bolton-Maggs PHB: Update on the management of immune thrombocytopenic purpura in children. *Curr Opin Hematol*, 14(5): 526-34, 2007.
54. Gaines AR, Lee-Stroka H, Byrne K, Scott DE, Uhl L, Lazarus E, Stroncek DF: Investigation of whether the acute hemolysis associated with Rho(D) immune globulin(human) administration for treatment of immune thrombocytopenic purpura is consistent with the acute hemolytic transfusion reaction model. *Transfusion*, 49(6): 1050-8, 2009.
55. Blanchette V, Bolton-Maggs P: Childhood Immune Thrombocytopenic Purpura: Diagnosis and Management. *Hematol Oncol Clin North Am*, 24(1): 249-73, 2010.

56. Arceci RJ, Hann IM, Smith OP: Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Pediatric Hematology*, 3th Edition. Blackwell Publishing. 2006; pp 526-47.
57. Vukmanovic-Stejic M, Vyas B, Gorak-Stolinska P, Noble A, Kemeny DM: Human Tc1 and Tc2/Tc0 CD8 T-cell clones display distinct cell surface and functional phenotypes. *Blood*, 95: 231-40, 2000.
58. Mc Millan R: Autoantibodies and autoantigens in chronic immune thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol*; 37: 239-48, 2000.
59. Satoh T, Pandey JP, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y, Kuwana M: Single nucleotide polymorphisms of the inflammatory cytokine genes in adults with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J of Haematol*; 124(6): 796-801, 2004.
60. Del Vecchio GC, Giordano P, Tesse R, Piacente L, Altomare M, De Mattia D: Clinical significance of serum cytokine levels and thrombopoietic markers in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood Transfusion*, 10(2): 194-99, 2012.
61. Ogawara H, Handa H, Morita K, Hayakawa M, Kojima J, Amagai H, Tsumita Y, Kaneko Y, Tsukamoto N, Nojima Y, Murakami H: High Th1/Th2 ratio in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J of Haematol*, 71(4): 283-88, 2003.
62. Pruemer J: Epidemiology, pathophysiology and initial management of chronic immune thrombocytopenic purpura. *Am J Health Syst Pharm*, 66(2): 4-10, 2009.
63. Macásek J, Zeman M, Vecka M, Vávrová L, Kodydková J, Tvrzická E, Zák A: Reactive oxygen and nitrogen species in the clinical medicine. *Cas Lek Cesk*. 150(8): 423-32, 2011.
64. Jones DP: Radical-free biology of oxidative stress. *Am J of Physiology Cell Physiol*, 295(4): 849-68, 2008.
65. Halliwell B: Free radicals and antioxidants-quo vadis? *Trends Pharmacol Sci*, 32(3):125-130, 2011.
66. Diplock AT: Introduction: markers of oxidative damage and antioxidant modulation. *Free Radic Res*, 33:21-26, 2000.
67. Granot E, Kohen R: Oxidative stress in childhood in health and disease. *Clin Nutr*, 23(1): 3-11, 2004.
68. Gupta P, Narang M, Banerjee BD, Basu S: Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mothers: a case control study. *BMC Pediatr*, 4:14, 2004.

69. Lee J, Giordano S, Zhang J: Autophagy, mitochondria and oxidative stress: cross-talk and redox signalling. *Biochem J*, 441(2): 523-40, 2012.
70. Dinçer Y, Akçay T: DNA hasarı, *Türk Biyokimya Dergisi*, 25(2): 73-9, 2000.
71. Young IS, Woodside J: Antioxidants in health and disease, *J Clin Pathol*, 54: 176-86, 2001.
72. Smith C, Lieberman M, Mark's AD: Oksijen Toksisitesi ve Serbest Radikal Örsentisi. Mark's AD (Ed.): *Mark's Temel Tıbbi Biyokimya Klinik Yaklaşım*, Güneş Tıp Kitapevi, 2. baskı, 2007, pp 439-56.
73. Galley HF: Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *Br J Anaesth*, 107(1): 57-64, 2011.
74. Oredsson S, Plate G, Qarford P: Experimental evaluation of oxygen free radical scavengers in the prevention of reperfusion injury in sceletal muscle. *Eur J Surg*, 160(2): 97-103, 1994.
75. Loukogeorgakis SP, van den Berg MJ, Sofat R, Nitsch D, Charakida M, Haiyee B, de Groot E, MacAllister RJ, Kuijpers TW, Deanfield JE: Role of NADPH oxidase in endothelial ischemia/reperfusion injury in humans. *Circulation*, 121(21): 2310-16, 2010.
76. Wu D, Yotnda P: Production and Detection of Reactive Oxygen Species (ROS) in Cancers. *J Vis Exp*, 57: 2011.
77. Hori A, Mizoue T, Kasai H, Kawai K, Matsushita Y, Nanri A, Sato M, Ohta M: Body iron store as a predictor of oxidative DNA damage in healthy men and women. *Cancer Sci*, 101(2): 517-22, 2010.
78. Delibaş N, Özçankaya R: Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2(3): 11-17, 1995.
79. Mohanty JG, Bhamidipaty S, Evans KM, Rifkind JM: A fluorimetric semimicroplate format assay of protein carbonyls in blood plasma. *Anal Biochem*, 15; 400(2): 289-94, 2010.
80. Niki E: Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med*, 47(5): 469-84, 2009.
81. Talarowska M, Gałecki P, Maes M, Gardner A, Chamielec M, Orzechowska A, Bobińska K, Kowalczyk E: Malondialdehyde plasma concentration correlates with declarative and working memory in patients with recurrent depressive disorder. *Mol Biol Rep*, 39(5): 5359-66, 2012.

82. Duan J, Kasper DL: Oxidative depolymerization of polysaccharides by reactiveoxygen/nitrogen species. *Glycobiology*, 21(4): 401-9, 2011.
83. Scandalios JG: The rise of ROS. *Trends in Biochem Sci*, 27(9): 483-6, 2002.
84. Nordberg J, Arner ES: Reactive oxygen species, antioxidants and mammalian thrieroxidoxin system. *Free radic Biol Med*, 31(11): 1287-312, 2001.
85. Burtis CA, Ashwood ER: Vitaminler. Aslan D (Ed.): *Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Ankara Palme Yayınları,: 548-550, 332-333, 578-601, 2005.
86. Sies H, Stahl W, Sundquist AR: Antioxidant function of vitamins. Vitamin E and C, betacarotene and other carotenoids. *Ann N Y Acad Sci*, 669: 7-20, 1992.
87. Us Dürdal A (Ed.): *Otoimmün Hastalıkların Serolojik Tanısı*. Serolojik Tanı Yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara, 2. baskı, 2006; 70-7.
88. Zantek ND, Koepsell SA, Tharp DR Jr, Cohn CS: The direct antiglobulin test: A critical step in the evaluation of hemolysis. *Am J Hematol*, 87(7): 707-9, 2012.
89. Erel O: A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*, 37(2): 112-9, 2004.
90. Erel O: A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 38(12): 1103-11, 2005.
91. Yagi K: Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. *Adv Exp Med Biol* 1994;366;1-15.
92. Akbayram S, Doğan M, Akgün C, Mukul Y, Peker E, Caksen H, Oner AF: The assosiation of Oxidant Status and Antioxidant Capacity in Children With Acute and Chronic ITP. *J Pediatr Hematol Oncol*, 32: 277-81, 2010.
93. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A: Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*, 329(1-2): 23-38, 2003.
94. Valko M, Leibfritz D, Moncol J: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39: 44-84, 2007.
95. Kohen R, Nyska A: Oxidation of biological systems: Oxidative stres phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*, 30(6): 620-50, 2002.
96. ElAlfy M, Farid S, Abdel Maksoud A: Predictors of Chronic Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Pediatr Blood Cancer*, 54: 959-62, 2010.

97. Wang JD, Ou TT, Wang CJ, Chang TK, Lee HJ: Platelet apoptosis resistance and increased CXCR4 expression in pediatric patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Thromb Res*, 126(4): 311-18, 2010.
98. Hassan SZ, Gheita TA, Kenawy SA, Fahim AT, El-Sorougy IM, Abdou MS: Oxidative stress in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients: relationship to disease manifestations and activity. *Int J Rheum Dis*, 14(4): 325-31, 2011.
99. Luchi Y, Kibe N, Tsunoda S, Suzuki S, Mikami T, Okada F, Uchida K, Fujii J: Implication of oxidative stress as a cause of autoimmune hemolytic anemia in NZB mice. *Free Radic Biol and Med*, 48(7): 935-44, 2010.
100. Nur E, Brandjes DP: N-acetylcysteine reduces oxidative stress in sickle cell patients. *Ann Hematol*, 91(7): 1097-105, 2012.
101. Polat G, Tamer L, Tanrıverdi K, Gürkan E, Başlamışlı F, Atık U: Levels of malondialdehyde, glutathione and ascorbic acid in idiopathic thrombocytopenic purpura. *East Afr Med J*, 79: 446-49, 2002.
102. Varol Fİ. İdiopatik trombositopenik purpura tanılı çocuklarda oksidatif stres ve antioksidan durum. Uzmanlık tezi. Tez danışmanı: Akarsu S. Fırat Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Elazığ, 2007.
103. Kamhieh-Milz J, Bal G, Sterzer V, Kamhieh-Milz S, Arbach O, Salama A: Reduced antioxidant capacities in platelets from patients with autoimmune thrombocytopenia purpura (ITP). *Platelets* 23(3): 184-94, 2012.
104. Cura M. İmmün trombositopenik purpuralı çocuklarda kısa süreli yüksek doz steroid tedavisinin oksidan, antioksidan sistem, serum paraoksanaz ve aril esteraz enzimlerinin aktivitelerine etkisi. Uzmanlık tezi. Tez danışmanı: Koç A. Harran Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa, 2009.
105. Araujo CF, Lacerda MV, Abdalla DS, Lima ES: The role of platelet and plasma markers of antioxidants status and oxidative stress in thrombocytopenia among patients with vivax malaria. *Mem do Inst Oswaldo Cruz*, 103(6): 517-21, 2008.
106. Wörner P, Patscheke H, Paschen W: Response of platelets exposed to potassium tetraperoxochromate, an extracellular source of singlet oxygen, hydroxyl radicals, superoxide anions and hydrogen-peroxide. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, 360(4): 559-70, 1979.
107. Ohyashiki T, Kobayashi M, Matsui K: Oxygen-radical-mediated lipid peroxidation and inhibition of ADP-induced platelet aggregation. *Arch Biochem Biophys*, 288(1): 282-6, 1991.

108. Fiçicilar H, Zergeroğlu AM, Tekin D, Ersöz G: The effects of acute exercise on plasma antioxidant status and platelet response. *Thromb Res*, 111(4-5): 267-71, 2003.
109. Monteiro PF, Morganti RP, Delbin MA, Calixto MC, Lopes-Pires ME, Marcondes S, Zanesco A, Antunes E: Platelethyperaggregability in high-fatfedrats: a role for intraplateletreactive-oxygenspeciesproduction. *Cardiovasc Diabetol*,11:5, 2012.
110. Basili S, Raparelli V, Riggio O, Merli M, Carnevale R, Angelico F, Tellan G, Pignatelli P, Violi F; CALC Group. NADPH oxidase-mediated platelet isoprostane over-production in cirrhotic patients: implication for platelet activation. *Liver International*. 2011; 31(10):1533-15440.
111. Dietrich-Muszalska A, Olas B, Rabe-Jablonska J. Oxidative stress in blood platelets from schizophrenic patients. *Platelets*. 2005;16(7):386-391.