

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

OTOİMMÜN HEMOLİTİK ANEMİ VE İDYOPATİK TROMBOSİTOPENİK
PURPURALI HASTALARDA PERİFERİK KAN T REGULATUAR HÜCRE VE B
LENFOSİT ALT GRUP DEĞİŞİKLİKLERİ

THE CHANGE OF PERIPHERAL BLOOD T REGULATORY CELL AND B
LYMPHOCYTE SUBGROUPS IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE HEMOLYTIC
ANEMIA AND IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA

Uzmanlık Tezi

Dr.Semiha AYHAN

Trabzon-2010

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

OTOİMMÜN HEMOLİTİK ANEMİ VE İDYOPATİK TROMBOSİTOPENİK PURPURALI
HASTALARDA PERİFERİK KAN T REGULATOR HÜCRE VE B LENFOSİT ALT
GRUP DEĞİŞİKLİKLERİ

THE CHANGE OF PERIPHERAL BLOOD T REGULATORY CELL AND B
LYMPHOCYTE SUBGROUPS IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE HEMOLYTIC
ANEMIA AND IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA

Uzmanlık Tezi

Dr.Semiha AYHAN

Tez Danışmanı: Doç.Dr.Mustafa YILMAZ

Trabzon-2010

ÖNSÖZ

Tezimde ve asistanlık sürem boyunca bana çok yardımcı olan tez hocam Dr. Mustafa YILMAZ'a teşekkür ederim.

Kendilerinden bir şeyler öğrenme fırsatı bulduğum tüm hocalarıma ve birlikte çalışmaktan çok memnun kaldığım uzmanlarım, asistan arkadaşlarım olmak üzere hekim arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman sevgi ve desteklerini hep yanıbaşım da hissettiğim aileme,

Hayatıma anlam katan ve desteklerini esirgemeyen eşim NUMAN'a teşekkür ederim.

Dr.Semiha AYHAN

KISALTMALAR

AD.....	Anlamalı değil
C3.....	Kompleman 3
FcR.....	Fc reseptör
IL 2.....	İnterlökin 2
ITP.....	İdyopatik(otoimmün)trombositopenik purpura
IgG.....	İmmünoglobulin G
IgM.....	İmmünoglobulin M
IVIG.....	İntravenöz immünglobulin
Gp.....	Glukoprotein
LDH.....	Laktat dehidrogenaz
MAC.....	Membran attack complex
MCV.....	Ortalama Eritrosit Hacmi
MPV.....	Ortalama Trombosit Hacmi
MHC.....	Major histocompatibility complex
OİHA.....	Otoimmün hemolitik anemi
SLE.....	Sistemik lupus eritematozus
Th1.....	T helper 1
Th2.....	T helper 2

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. İdyopatik Trombositopenik Purpura	2
2.2. Otoimmün Hemolitik Anemi	8
2.3. Periferik Kan Lenfosit Grupları.....	14
3. MATERYAL ve METOD	16
4. BULGULAR	19
5. TARTIŞMA.....	27
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	31
7. TÜRKÇE ÖZET	32
8.İNGİLİZCE ÖZET	33
9. KAYNAKLAR.....	34

1. GİRİŞ VE AMAÇ

CD4+/CD25+ T lenfositler, regülatuar T lenfosit olarak adlandırılırlar. Bu hücreler timus kontrol ve süzgecinden sıyrılan otoreaktif T lenfositlerin aktivasyon ve proliferasyonunu önleyen hücreler olarak bilinirler. T regülatuar lenfositlerdeki yetersizlik bazı otoimmün hastalıklara yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarda multiple skleroz, myestenia graves, tip 1 diyabetes mellitus, romatoid artrit ve psöriazis gibi otoimmün orjinli olduğu düşünülen hastalıklarda periferik kan T regülatuar lenfositlerin oran ve fonksiyonlarında belirgin olarak azalma bildirilmiştir (1, 2).

Periferik kan B lenfositler CD19+/27+ bellek ve CD19+/CD27- naif hücreleri olmak üzere başlıca 2 gruba ayrılırlar. Literatürde multiple skleroz, romatoid artrit ve sistemik lupus eritematozis gibi bazı otoimmün hastalıklarda periferik kan bellek B lenfosit oranlarının normal kaldığı, azaldığı veya artmış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (3).

İdyopatik trombositopenik purpura nedeni tam olarak bilinmeyen immün bir trombositopenidir. Akut ya da kronik seyirli olabilir. Kronik idyopatik trombositopenik purpura erişkinlerde daha fazla görülür. Otoimmün hemolitik anemiler otolog eritrosit antijenlerine karşı antikor yapımı ile karakterize bir anemi grubudur. Literatürde idyopatik trombositopenik purpura ve otoimmün hemolitik anemili hastalarda tanı anında ve bu hastalıkların seyri esnasında periferik kan lenfosit subgrupları ile ilgili çok sayıda çalışma olmakla birlikte T regülatuar lenfosit değişiklikleri ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Bu hastalık gruplarında periferik kan bellek B lenfositlerinde değişiklik olup olmadığını ve varsa bunların hastalık seyrine etkisini analiz eden yeterli veri yoktur.

Bu çalışmada idyopatik trombositopenik purpura ve otoimmün hemolitik anemili hastalar da periferik kan T regülatuar lenfositler başta olmak üzere T lenfosit alt grupları ve bellek B lenfosit oranlarının analizlerinin yapılması ve varsa mevcut değişikliklerin tanı, tedavi ve prognozla ilişkisinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İdyopatik Trombositopenik Purpura

ITP nedeni tam olarak bilinmeyen immün bir trombositopenidir. Akut ve kronik seyirli olabilir. Akut ve kronik ITP insidans, prognoz ve tedavi açısından farklılıklar içerir. Çoğu klinisyen akut ve kronik ITP'nin farklı hastalıklar olduğuna inanmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1: Akut ve kronik idyopatik trombositopenik purpuranın karakteristik özellikleri

	Akut ITP	Kronik ITP
Pik yaşı	Çocuk, 2-6 yaş	Erişkin, 20-40 yaş
Kadın /erkek oranı	1:1	3:1
Öncesinde enfeksiyon varlığı	1-3 hafta öncesi sık	Nadir
Kanama başlangıcı	Ani	Sinsi
Ağız içi hemorajik bül	Sıklıkla var	Genellikle yok
Trombosit sayısı	<20.000/ μ l	30.000-80.000/ μ l
Eozinofili ve lenfositoz	Sık	Nadir
Hastalık süresi	2-6 hafta, nadiren daha uzun	Aylar ya da yıllar
Spontan remisyon	%80	Nadir

2.1.1. İnsidans

ABD'de ITP'nin yıllık insidansı ortalama 10.000 de 1,6'dır. Akut ITP, 6 aydan kısa süren, çoğunlukla spontan düzelen, çocukluk ve genç erişkinleri etkileyen trombositopeni olarak adlandırılır. Kronik ITP, 6 aydan uzun süren, çoğunlukla erişkinlerde görülen ve trombositopeninin düzelmesi için tedavi gerektiren bir hastalıktır. Erişkin kronik ITP hastalarının ortalama yaşı 40-45 arasındadır (4).

2.1.2. Patofizyoloji

ITP sendromu, trombosit membranının değişik kısımlarına karşı gelişmiş genellikle IgG yapısındaki antitrombosit antikorları ile kaplanmış trombositlerin mononukleer makrofaj sisteminde özellikle karaciğer ve dalakta dolaşımdan uzaklaştırılması nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Otoantikorlarla kaplı trombositlerin yıkımına karşı bir cevap olarak çoğu hastada kompanseuar olarak trombosit üretiminde bir artış olabilmektedir. Buna rağmen bazı durumlarda kemik iliğinde intramedüller antikor kaplı trombositlerin makrofajlar tarafından yıkımı veya megakaryopoezin inhibisyonu sonucunda trombosit üretiminde azalma olabilmektedir (5).

2.1.2.1. Trombosit Otoantikorları

ITP'de trombosit yüzeyinde artmış miktarda IgG vardır. Trombosit yıkım hızı trombosit ile ilişkili IgG seviyeleri ile orantılıdır (6). ITP'de Gp Ib, Gp IIb/IIIa, Gp Ib/5/9, Gp IV, glukosifingolipitlere ve kardiyolipinlere karşı otoantikorlar saptanmıştır (7). Otoantikorlar trombositlere bağlanmakta ve primer olarak trombosit yaşamını kısaltarak trombositopeniye sebep olmaktadır. ITP'de hücre aracılıklı immünitenin rolü açık değildir. Bununla birlikte ITP'li hasta verilerinde T lenfositlerin fenotipik ve fonksiyonel anormallikleri ileri sürülmektedir. Trombositlere karşı reaktif T hücre klonları kronik ITP'li çocukların dalağında, periferik kanında ve erişkinlerin periferik kanında tanımlanmıştır. Oтореaktif periferik T lenfositler hastalık patofizyolojisine aracılık edebilirler (8, 9, 10).

2.1.2.2. Trombosit Yaşam Süresi

ITP'de trombositlerin yaşam süresi dakikalardan 2-3 gün arasında olacak şekilde kısalmıştır (11). Splenik sekestrasyon ve yıkım birçok hastada kısalmış yaşam süresinden sorumludur (7). Bunun yanında karaciğer ve kemik iliğinin retikuloendotelial hücreleri antikor kaplı trombositlerin sekestrasyonunda önemli rol oynayabilirler. Bu hastalar çok düşük trombosit sayısı olan ve splenektomi sonrası trombositopenisi devam eden hastalardır (12).

2.1.3. Kronik ITP Kliniği

ITP'de olan hemoraji, peteşi, purpura ve ekimöz tipindedir. Hastada sadece deride ekimoz ve purpura var ise kuru purpura, buna ilaveten mukozal membranlarda da kanama var ise yaş purpura olarak adlandırılır. Yaş purpura olan hastalarda trombosit sayısı daha düşük ve komplikasyon oranları daha yüksektir. Hemorajinin ciddiyeti ve sıklığı genellikle trombosit sayısı ile koreledir. Trombosit sayısı 50.000 üzerinde olan hastalar travma olmaksızın spontan hemoraji oluşumundan çoğunlukla hafif düzeyde etkilenirler. Trombosit sayısı 10.000-50.000 arasında olan hastalarda spontan hemoraji ciddiyeti değişkendir; örneğin ekimoz ve purpura. Trombosit sayısı 10.000'in altında olan hastalarda ise kanamanın mortalite ve morbitide riski daha yüksektir (7).

2.1.4.Laboratuvar

Periferik kan bulguları: Trombosit boyutu ve morfolojik görünümündeki anormallikler yaygındır. Trombositler genelde büyüktür (3-4 µm çapta). Boyut ve şekil olarak çeşitlilik göstermektedir. Anormal küçük trombositler ve trombosit fragmanları (mikropartiküller) belirgindir. Ortalama trombosit hacmi (MPV) ve trombosit boyutu heterojenitesinin (trombosit dağılım aralığının) ölçümü, ITP'li hastaların değerlendirilmesinde yararlı bilgiler sağlayabilir (13). Çok sayıda megatrombosit bulunması, yüksek MPV değerlerine sebep olur. Megatrombositozun altında yatan asıl mekanizma halen belirsizdir. Trombosit yıkımına cevap olarak hızlandırılmış trombosit oluşumunun bir sonucu olabilir. ITP'li hastalarda MPV artışı trombosit sayısı ile genellikle ters orantılı olacak şekilde koreledir. Bazı hastalarda anemi olabilir. Anemi genellikle kan kaybına bağlıdır ve sıklıkla normositerdir. Eğer kanama ciddiye ve uzun sürdüyse, demir eksikliği anemisi görülebilir. ITP'li hastalarda pozitif Coombs testi ve otoimmün hemolitik anemi olabilir. Bu birliktelik evans sendromu olarak bilinir (14). Lökosit sayısı hastaların tamamına yakınında normaldir. Koagölasyon testlerin de sadece uzamış kanama zamanı gibi trombositopeniye atfedilebilen değerşiklikler vardır. Protrombin zamanı, parsiyel tromboplastin zamanı ve fibrinojeni içeren kan koagölasyon testlerinin sonuçları, unkomplike trombositopenili hastalarda normaldir.

Kemik iliği bulguları: Kemik iliğindeki değişiklikler genellikle megakaryositlerle sınırlıyken, kan kaybının bir sonucu olarak normoblastik hiperplazi oluşabilir. Ara sıra olan eozinofili hariç, lökositler seri normaldir (7). Megakaryositlerin genellikle boyutları artmıştır (15). Sayıları normal veya artmış olabilir. Muhtemelen hızlanmış trombopozeze bağlı olarak megakaryositlerin tek çekirdekli, dar stoplazmalı ve göreceli olarak daha az granülleri olan formları yaygındır. (16).

2.1.5. Ayırıcı Tanı

Trombositopenik bir hastanın değerlendirilmesindeki ilk basamak, azalmış trombosit sayısını doğrulamak için periferik yaymanın incelenmesidir. EDTA (etilendiamin tetraasetik asit) varlığında trombositler; granülositler ya da monositlerle aglutinasyona girerler. Bunun yanında trombositler venöz kan örneğindeki beyaz kan hücrelerinin yüzeyine rozet formasyonda bağlanmış olduğundan dolayıda sayılamayabilirler (trombosit satellitizmi) (7).

ITP, periferik trombositopeninin gösterilmesiyle birlikte öykü, fizik muayene ve tam kan sayımında trombositopeniye yol açacak başka nedenin olmamasına dayalı bir dışlama tanısıdır. Splenomegali, trombositopeninin dalağın büyümesiyle ilişkili altta yatan ayrı bir hastalığın varlığına bağlı hipersplenizmin bir sonucu olabileceğini göstermektedir (7).

Akut lösemi, myelodisplastik sendrom ve aplastik aneminin başlangıç semptomları ITP'yi taklit edebilir. Trombositopeninin görüldüğü ITP dışındaki hematolojik bozukluklar da genellikle trombositopeni dışında lökosit ve eritrosit anormallikleri mevcuttur. ITP karakteristik bir kemik iliği değişikliğine sebep olmaz. Bu nedenle kemik iliği incelemesi rutin olmamalıdır. Ancak 60 yaşın üzerindeki hastalarda veya diğer etyolojileri gösterebilecek atipik bulguları olan hastalarda kemik iliği aspirasyonu yararlı olabilir (7).

Periferik yaymada şistositlerin bulunması, trombositopeninin mikroanjyopatik bir süreçle ilişkili olabileceğini gösterir. Trombotik trombositopenik purpura (TTP) veya hemolitik üremik sendrom (HÜS) da trombositopeni ile birlikte artmış laktat dehidrogenaz ve indirekt bilirübin seviyeleri gibi hemolizin laboratuvar bulguları mevcuttur. Ayrıca TTP'de geçici, multifokal nörolojik bulgular, böbrek yetmezliği, ateş görülebilir. HÜS'te ise sadece böbrek yetmezliği olabilir. Dissemine intravasküler koagülopatide trombositopeni ile birlikte koagülasyon anormallikleri bulunabilir (7).

İmmün trombositopeni tanısı konulduktan sonra ikinci önemli basamak: ITP ile HIV, hepatit C, hepatit B gibi viral enfeksiyonların, sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi kollajen vasküler hastalıkların, kronik lenfositik lösemi gibi lenfoproliferatif bozuklukların ve ilaç alımı gibi immün trombositopenik purpuranın sekonder formlarının ayrılmasıdır. Özellikle bir erişkinde trombositopeninin gelişiminde farmakolojik bir etyolojiden şüphelendirmelidir. Çünkü trombositopeniyle ilişkili birçok ilaç erişkinlerde çocuklardan daha sık olarak kullanılmaktadır. Trombositopeninin heparin alımına sekonder olma olasılığını elimine etmek de gereklidir. Ayrıca, antifosfolipid antikor sendromu trombositopeniyle ilişkili olabilecek bir bozukluktur (7).

2.1.6. ITP'nin Tedavisi

Erişkin ITP tedavisi: ITP tanısı alan hastalar kanama olsun ya da olmasın trombosit sayısı $<30.000/\mu\text{l}$ veya aktif kanaması varsa trombosit sayısı $<50.000/\mu\text{l}$ ise tedavi edilmelidir (17). Spontan remisyonlar erişkinlerde çok nadir görülmektedir (tahmini %5). Çoğu spontan remisyon erken dönemlerde meydana gelmiştir. Yaşlı hastalarda ITP nadirdir; bildirilmiş yayınlardaki hastaların sadece %30'u 45 yaşın üzerindedir. Ancak bu hastalar genç hastalara oranla tedaviye daha refrakter olabilirler ve hemoraji komplikasyonu yüksektir.

A-Steroid tedavisi: Steroidler erişkin ITP'li hastalar da klasik ilk basamak tedavisidir. Prednizolon (genellikle, başlangıç dozu olarak 1 mg/kg/gün) ile tedavi edilmiş hastalarda tam ve parsiyel (trombosit $>50,000/\mu\text{l}$) cevaplar ortalama %65-85 oranında gözlenmiştir. İlacın kesilmesinden sonra sürdürülebilir cevap hastaların sadece %25 veya daha azında gözlenmiştir. Cevap veren hastalarda trombosit sayısı genellikle 1 hafta içinde yükselmiştir ve pik değerlere 2-4 haftada ulaşmıştır. 4 haftada herhangi bir cevap alınamayan hastaların prednizolona cevap vermesi beklenmediğinden splenektomi veya diğer tedavi seçenekleri düşünülmelidir (7).

Etki Mekanizması: Steroid tedavisi ITP'li hastalarda trombosit sayısındaki artışın yanı sıra ilave olarak endotel stabilizasyonu sağlayarak purpurik kanamayı iyileştirmektedir.

Trombositopeni üzerine etkisi: Reversibl trombositopenide steroidlerin etki mekanizması biraz karışıktır. Steroidler trombositopeniyi birçok mekanizmayla düzeltirler.

- (a) Antikor kaplı trombositlerin dalaktaki veya kemik iliğindeki tüketiminin azalması
- (b) Dalakta antikor yapımının azalması
- (c) Kemik iliğinde antikor yapımının azalması
- (d) Belirsiz mekanizmalarla kemik iliğinde trombosit üretiminin artması

B-Splenektomi: Steroidlere 4-6 hafta da cevap vermeyen ciddi trombositopenili (<10,000/ μ l), steroid azaltılırken relaps olan ya da 3 ay süre ile trombosit sayısı 30,000/ μ l altında olan hastalarda splenektomi dikkate alınmalıdır. Splenektomi sonrası sürdürülebilir tam cevap oranı hastaların ~%50-80'dir. Ameliyat sonrası trombosit sayısı sıklıkla 24-48 saat içinde hızla artar. Yaklaşık 10 gün içinde 1 milyon/ μ l kadar ve hatta daha yüksek değerlere çıkabilir. Cerrahi mortalite <%1'dir. Perioperatif kanama nadirdir. Splenektomiye cevap vermeyen veya splenektomiye başlangıçtaki cevabından sonra relaps olan hastalar, aksesuar dalağın varlığı açısından değerlendirilmelidir (7).

ITP için tedavide splenektominin etkinliği: antikora duyarlı hale gelmiş trombositlerin yıkımından primer olarak sorumlu organın çıkarılmasına dayanmaktadır. Dalağın çıkarılması antikor üretiminde bir azalmayla da sonuçlanabilir (7).

C- İmmünsüpresif tedaviler: ITP için immünsüpresif ilaçların etkinliği değişkendir ve elde edilen remisyonlar kısa ömürlüdür. İmmünsüresif tedavi, splenektomi veya steroidlere cevap vermeyen hastalar gibi refrakter vakalar için saklanmalıdır. Refrakter hastalarda siklofosamid, vinkristin veya vinblastin tedavisi kullanılabilir. Bir diğer tedavide kullanılan ajan anti-CD20 monoklonal antikor olan rituximabdır (7).

D-Yüksek doz immünglobülin: Randomize çalışmalarda; 400 mg/kg/gün (5 gün), 1.000 mg/kg/gün (2 gün) veya 500 mg/kg/gün (2 gün) rejimleri karşılaştırıldığında eşit etkinlik göstermiştir. Trombositler 2 gün sonra artmaya başlayabilir ve genellikle pik seviyesine tedavi sonrası 1 haftada ulaşır. IVIG'nin etkisi birçok mekanizma bağlı olabilir. Bunlar, retiküloendotelyal hücrelerin Fc reseptör bloğu, B hücreleri ve antikorlar üzerine etkileri, anti-inflamatuar ve hücre büyümesi üzerine etkilerini içermektedir. IVIG ile tedavi

pahalıdır. Cerrahi öncesi veya hayati risk içeren kanaması olan hastaların tedavisinde tedaviye cevabın hızlı olması nedeniyle uygun bir ajandır (7).

E-Anti-D: Rh(+) hastalarda kullanılabilir. Anti-D immunoglobulin, spesifik olarak eritrositlerdeki D antijenine bağlanır. Antikor ile kaplı eritrositler retikuloendotelial sistemde özellikle dalakta öncelikle tutularak Fc reseptör blokajı yaparlar ve trombositlerin klirensini azaltırlar. Anti-D'ye çocuklar erişkinlerden ve splenektomisiz hastalar splenektomililerden daha iyi cevap vermektedir. Trombosit sayısında artış genellikle 48 saat sonra başladığından acil tedavide yeri yoktur (7).

2.2.Otoimmün Hemolitik Anemi

2.2.1. Sınıflama

Otoimmün hemolitik anemi (OİHA) hastanın kendi eritrositlerine karşı patolojik antikor üretimi ve antikor aracılıklı eritrosit tüketimini içerir. Sınıflandırılmasında en kolay yol otoantikorların karakteristik sıcaklık aktivitesine göre sınıflandırmaktır (Tablo 2). Soğukta aktifleşen otoantikorların tipik olarak vücut ısısında aktiviteleri azdır. Otoantikorların eritrositlere karşı afinitesi sıcaklık 0°C'ye doğru düştükçe artmaktadır. Aksine sıcakta aktifleşen otoantikorlar 37°C'de artmış bir afiniteye sahiptir. Soğukta aktifleşen otoantikorlar genellikle IgM tipinde ve kompleman bağlar. Eritrositlerin intravasküler alanda hızlı bir şekilde yıkımına yol açmakta veya eritrositlerin karaciğer aracılıklı klerensi olmaktadır. Aksine sıcakta aktifleşen otoantikorlar IgG tipindedir. Primer olarak eritrositlerin dalakta yıkımına yol açmaktadır (18).

2.2.2. Etyoloji

İmmün tolerans, spesifik bir antijene karşı immün yanıtın gelişiminde bireysel bir yetersizliğin olduğu durumdur. Self tolerans kişinin kendi bireysel antijenlerine karşı cevap oluşturamamasıdır. Self tolerans kaybı otoimmünite ile sonuçlanır. Kendi antijenlerine karşı reaksiyona giren T hücreler veya otoantikorlar doku hasarı ve otoimmün hastalıklara neden olabilirler. OİHA'de bu antikorlar kendi eritrosit antijenlerine karşıdır. Fc reseptör aracılıklı fagositozla temizlemeye (ekstravasküler hemoliz) veya kompleman aracılıklı yıkıma (intravasküler hemoliz) yol açabilirler (19, 20).

Tablo 2: İmmün hemolitik aneminin sınıflandırılması

A. Soğukta aktif antikorlar	D.İlaça bağlı immün hemolitik anemi
1.Soğuk aglutinin hastalığı	1.İlaç adsorpsiyon tipi (penisilin)
a.Primer yada idiopatik	2.Neoantijen tipi (kinidin, stibofen)
b.Sekonder	3.Otoimmün tip (α -metildopa)
-Lenfoproliferatif hastalıklar	4.Nonimmün tip(I.kuşak sefalosporinler)
-Otoimmün hastalıklar	E.Transplantasyona bağlı hemolitik anemi
-İnfeksiyonlar(Mycoplasma pnemonia, İnfeksiyöz mononükleoz, Diğer virüsler)	1.Hematopoetik stem cell transplantasyonu
2.Paroxysmal soğuk hemoglobinüri	a.Minör ABO grup uyumsuzluğu
a.Sifiliz	b.Major ABO grup uyumsuzluğu
b.Kızamık, kabakulak, diğer virüsler	c.Pasif antikor transferi
B.Mix soğuk-sıcak aktif antikorlar	2.Solit organ transplantasyonu
C.Sıcak aktif antikorlar	
1.İdyopatik otoimmün hemolitik anemi	
2.Sekonder otoimmün hemolitik anemi	
3.Lenfoproliferatif hastalıklar	
4.Otoimmün hastalıklar	
5.Malignensi	
6.Viral infeksiyonlar	

Santral tolerans: Santral tolerans, santral lenfoid organlarda (T hücreler için timus, B hücreler için kemik iliği) self reaktif T ve B lenfositlerin maturasyonundaki bozukluk sonucu meydana gelmektedir. Santral tolerans periferik dolaşımda olan seçilmiş özel non-otoreaktif T hücreler tarafından oluşturulur ve otoimmüniteyi engeller. Santral tolerans tamamlanmazsa kendi antijenlerine karşı aktif T hücre popülasyonu dolaşıma kaçar. Bu T hücreler organa özgü ya da sistemik otoimmün hastalıklara neden olurlar (18).

Periferik tolerans: Bozulmuş periferik tolerans mekanizması intratimik negatif seleksiyondan kaçan T hücre tarafından oluşturulmaktadır. Periferik toleransın oluşumundaki mekanizma anerji, regülatuar T hücrelerin baskılanması ve programlı hücre ölümü ile birlikte klonal delesyondur. Anerji lenfositlerin uzun süreli veya geri

dönüşümsüz fonksiyonel inaktivasyonunu ifade eder. Antijene özgü T hücrelerinin aktivasyonu için iki sinyal gerekmektedir. Uygun MHC taşıyan hücrece antijenin sunulması ve antijen sunan hücrede uygun ikinci uyarıcı moleküllerin (kostimulan) bulunması gereklidir. Kostimulanların yokluğu negatif bir sinyal olarak iletilir ve T lenfosit anejik hale gelir (18).

Otoimmünitenin başlamasını etkileyen faktörler: Otoimmünite çok çeşitli faktörler tarafından etkilenebilir. Bunlar arasında doğal otoantijenler, genetik ve çevresel faktörler yer alır (21). MHC class I ve class II genleri bazı otoimmün hastalıkları predispoze edebilirler. İnsan HLA-DQ-6 molekülü OİHA ile ilişkili bulunmuştur. Ama diğer otoimmün hastalıklar gibi genetik multifaktörieldir (18).

2.2.3. Laboratuvar tanısı

OİHA tanısı için iki kriter olmalıdır. Bunlar hemolizin klinik veya laboratuvar kanıtı ve otoantikörlerin serolojik kanıtıdır.

Rutin laboratuvar tetkikler: Hemolizin değerlendirilmesindeki ana testler tam kan sayımı, periferik yayma, bilirubin, laktat dehidrogenaz (özellikle izoenzim I), haptoglobilin, hemoglobinüri veya hemosiderinürüdür. Hemolizin genel işaretleri hemoglobin ve hemotokritin azalması, serum LDH ve indirek bilirubinde artma ve de yeterli hematopoetik rezervle birlikte polikromazi ve retikülositozudur. Haptoglobilin tipik olarak azalmıştır. Akut faz reaktanı olduğu için ardaşık olarak düzeyine bakılmalıdır. İnvasküler hemolizde hemoglobinemide, hemoglobinüri, hemosiderinüri, methemalbünemide artış ve haptoglobilin de azalma mevcuttur. OİHA de hemoliz intravasküler ya da ekstrasvasküler olabilir. İnvasküler hemoliz tipik olarak agresif ve hızlıdır. Ekstrasvasküler hemoliz ise daha ılımlıdır (18).

Serolojik araştırmalar: Bu amaçla DAT testi yapılır.

Direkt antiglobulin testi (DAT, direkt coombs testi): hasta eritrositlerinin üzerine reaktan bir serum eklenir. Reaktan içinde insan IgG'sine, kompleman komponentlerine veya her ikisine karşı geliştirilmiş antikorlar vardır. Bu serum ile muamele edilen hasta eritrositlerinde çökme (aglutinasyon) olup olmadığı gözlenir. Eritrositlerin yüzeyinde IgG

veya kompleman olması durumunda eklenen antikorlar eritrositlerin aglütine olmasına yol açar. Bu durum pozitif DAT testi olarak değerlendirilir. Soğuk aglütinin hastalığında hasta eritrositleri üzerinde sadece kompleman bulunur; IgG bulunmaz (22).

2.2.4. Soğuk Reaktif Otoimmün Hemolitik Anemi

2.2.5.1. Soğuk Aglütinin Hastalığı

Klinik: Kronik ılımlı hemolitik anemidir. Genellikle kışın alevlenir. Hemoglobin 7g/dl nin altına nadiren düşer. Hemoliz hızı endojen bilirubin metabolizma kapasitesinden fazla ise sarılık oluşur. Bazı hastalar soğuğa maruz kaldıklarında hemoglobinemi ve hemoglobüri ile birlikte olan hemoliz atakları oluşur. Bu atakları engellemek için daha sıcak iklimlere göç etmek zorunda kalabilirler. Vucüta soğuk olan ayak, burun, kulak ve ellerdeki damarlarda eritrositlerin aglütine olması ile akrosiyanoz meydana gelir. Soğuk aglütinin hastalığı olan hastaların az bir kısmında hepatomegali veya splenomegali olabilir. İnfeksiyöz mononükleoz veya lenfomaya bağlı sekonder soğuk aglütinin hastalığında dalak daha büyük olabilir (18).

Tedavi: Anemi ılımlı ve kronik olmasından dolayı hastaların çoğunda antikorların aktivite gösterdiği düşük sıcaklık derecelerine maruz kalmakta korunmaktan başka spesifik tedaviye gerek yoktur. Bazı hastaların daha ılık iklim bölgelerine göç etmesi gerekebilir. Ciddi anemi ve kardiyovasküler hastalığı olanlarda agresif tedaviye ihtiyaç duyulmaktadır. Tedavide immünsüpresif tedavi kullanılabilir. Splenektomi ve steroid tedavide faydasızdır.

2.2.5. Sıcak Reaktif İmmün Hemolitik Anemi

Sıcak reaktif immün hemolitik anemi, immün hemolitik anemilerin %70'ini oluşturur. Genelde otoantikorlar IgG tipindedir. Antikorlar eritrosit yüzeyine kompleman bağlanmasına yol açar. Genellikle kompleman kaskadı membran atak kompleksine kadar ilerlemez. Tipik olarak eritrositler dalakta ekstravasküler hemoliz ile yıkılır. Altta yatan bir hastalığa ikincil olabilir veya bazı vakalarda altta yatan süreç tanımlanamaz ve idiopatik olarak kabul edilir (18). Sıcak immün hemolitik anemiye yol açan sebepler primer (idiopatik) ve sekonder immün hemolitik anemi olarak sınıflandırılır (Tablo 3).

Tablo 3: Sıcak reaktif hemolitik anemiye neden olan hastalıklar

Otoimmün hastalıklar	Viral enfeksiyonlar
Sistemik lupus eritromatozis	Epsten-barr virus
Romatoid artrit	Hepatit C
Skleroderma	HIV/AIDS
Ülseratif kolit	Diğer neoplastik hastalıklar
Antifosfolipit antikor	Timoma
Lenfoproliferatif hastalıklar	Ovarian dermoid kist, Teratom
Kronik lenfositik lösemi	Kaposi sarkomu
Akut myelosit lösemi	Karsinoma
Hodgkin lenfoma	Diğer nedenler
Non-hodgkin lenfoma	Gebelik
Waldenström makroglobulinemisi	Kemik iliği transplantasyonu
Diğer lenfoproliferatif hastalıklar	Hipogamaglobulinemi
Multipl myelom	Disglobulinemi

2.2.6.1.Primer İmmün Hemolitik Anemi

Sıcak otoantikorlar OİHA'nin %48-70'inden sorumludur (23). Primer ya da idyopatik immün hemolitik anemi, sıcak reaktif immün hemolitik anemilerin yarısından daha azını oluşturur. Herhangi bir yaş grubunda görülebilir. Çoğu seride bayanlarda iki kat daha fazladır . Irksal farklılık yoktur. Bir ailede birden fazla kişide görülebildiğinden genetik yatkınlık öngörülmektedir (18). Özellikle etkilenen bir kan grubu gösterilememiştir. OİHA'nin insidansı 50.000-75.000'de 1'dir (23).

Sıcak reaktif hemolitik anemi olan hastalarda uzun dönem araştırmalar sonucunda altta yatan bir sebep bulunmuştur.

Klinik: Değişken bir klinik prezentasyonu vardır. Hastalarda tipik olarak güçsüzlük, mide bulantısı, baş dönmesi, egzersizle olan dispne gibi anemi semptomları yavaş yavaş gelişebilmektedir. Diğer taraftan ateş, kanama, öksürük, karın ağrısı ve kilo kaybı gibi daha

az spesifik semptomlar görülebilir (23). Ağır hemoliz olan hastalarda anemi semptomları ile birlikte sarılık, solukluk, ödem ve koyu idrar görülmektedir. Anemiye splenomegali, hepatomegali, lenfadenopati eşlik edebilir (18).

Laboratuvar: Hemoglobin ve hemotokrit değeri hemolizin şiddetine göre tamamen normal veya çok düşük değerlerde olabilir. Genç eritrositlerin oranının artmasının bir göstergesi olarak MCV genellikle yükselmiştir. MCV yüksekliği ayrıca kronik hemolizli hastalar da folat eksikliğine bağlıda olabilir. Retikülosit sayısı genelde artmış olmakla birlikte bazı hastalarda retikülositopeni görülebilir. Enfeksiyon sonrası kemik iliği baskılanması, malign myelofitizis, parvavirüs B19 enfeksiyonu, retikülositlere karşı oluşan otoantikör varlığında retikülositopeni gelişebilir (24). Periferik yaymada tipik olarak retikülositoz, makrositoz, polikromatofili ve çekirdekli eritrositler görülür. Monosit ve daha az miktarda nötrofillerden meydana gelen eritrofagositler nadir olarak periferik yaymada görülebilir. Buda OİHA'nin bir göstergesidir (18).

Serum bilirubin artışı karaciğer hastalığı olmadığı durumlarda nadiren 5mg/dl'nin üzerine çıkar ve ankonjuge bilirubin yüksekliği vardır (18). Eritrositlerin yüzeyinde immünglobulinlerin ve/veya komplemanların olması immün aracılıklı hemolitik aneminin karakteristik özelliğidir. Sıcak OİHA olan vakaların %95'inden fazlasında DAT pozitifdir. OİHA'li hastaların %20-66'sında eritrosit yüzeyinde IgG, %24-63'ünde IgG ve C3, %7-14'ünde sadece C3 ve %1-4'ünde DAT negatifdir (23). Hemolizin ciddiyeti eritrosite bağlanan otoantikörlerin sayısı ve DAT'ın gücü ile koreledir (25). DAT negatif olan hastalarda hemolizin neden olduğu hala bilinmemektedir (18).

Tedavi: OİHA'nin primer tedavisi 1-2mg/kg/gün metilprednizolondur. Hemoliz olan hastalarda folat eksikliği görülebileceğinden folik asit replasmanı önerilir. Semptomatik hastalarda veya hemoglobin değeri 5mg/dl'nin altına düşen hastalarda transfüzyon gerekebilir. Steroide refrakter veya steroid tedavisi sonrası relaps olan hastalarda splenektomi yararlıdır. Splenektominin etkin olmadığı veya splenektomi sonrası relaps gelişen hastalarda immün süpresif tedavi veya ritüksimab kullanılır. Pozitif DAT'lı, ılımlı retikülositoz, normal hemotokriti olan hastalarda steroid tedavisi rutin değildir. Kemik iliği eritrosit yıkımını karşılayamaz ve takriben anemi gelişirse müdahale etmek gerekir. Spesifik tedavi gerektiren ve sıklıkla OİHA'ye neden olan hastalıkları aydınlatmak için ek tetkikler yapılmalıdır. Alttı yatan hastalığın tedavi edilmesi OİHA'yi kontrol altında tutabilir (18).

2.3. Periferik kan lenfosit grupları

Lenfositler morfolojik olarak birbirine çok benzemelerine ve hatta birbirinden ayırt edilmemelerine karşın işlevsel anlamda köken aldığı dizi ve fenotip olarak birbirinden farklıdır. Günümüzde bu hücreler monoklonal antikör panelleri ile tanınabilen yüzey proteinleri aracılığı ile birbirlerinden ayırt edilebilmektedirler. Bu proteinlerin standart adlandırılması "CD" (ayırım kümesi "cluster of differentiation") olarak tanımlanırlar. Bunlar belli bir hücre tipi veya hücre başkalaşım evresini tanımlamak için kullanılırlar ve bir antikör kümesi veya grubu tarafından tanınırlar. Periferik kanda üç sınıf lenfosit vardır bunlar T lenfosit, B lenfosit, doğal killer (NK, doğal öldürücü) hücrelerdir. Tüm lenfositler kemik iliğindeki kök hücrelerden gelişir. B lenfositler kemik iliğinde, T lenfositler timusta olgunlaşır. Olgun lenfositler yüzeylerinde taşıdıkları özgül reseptörleri tanıyan antijen ile karşılaştıklarında jenaratif (üretken) lenfoid organları terk ederek dolaşıma ve periferik lenfoid organlara geçerler (26).

Periferik kandaki lenfositlerin %60-70'i T lenfositlerden oluşur. T lenfositlerin yüzey belirteci CD3'dür. T lenfositler hücrel immünitenin hücreleridir. T lenfositlerin antijen reseptörleri ise yalnızca peptid yapılı antijenleri tanırlar. Bu peptidler major histokompatibilite antijenleri (MCH) adı verilen özel peptid sunan moleküllere bağlı durumdadırlar. Bu moleküller antijen sunan hücreler (ASH) adı verilen bir grup özelleşmiş hücrelerde bulunurlar. T lenfositleri arasında, CD4+ T hücrelerine yardımcı T hücreleri adı verilir. Bu hücreler antikör yapımı için B lenfositlere ve yutulmuş mikropların yıkımı için fagositlere yardım ederler. CD8+ T lenfositler ise sitotoksik lenfositler olarak adlandırılırlar. Bu hücreler hücre içi mikropları ve yabancı antijenleri taşıyan hücreleri lizis ederler (26).

Reguluar T lenfositler veya Treg'ler CD4+ lenfositlerin bir alt kümesidir. Timusta otoantikörleri tanıyan bazı olgunlaşmamış T lenfositler reguluar (düzenleyici) hücre niteliği kazanarak periferik dolaşıma giderler. Otoantikörlere bağlanan olgunlaşmamış T lenfositlerin negatif seçim ile silinmesini veya reguluar T lenfosit olmasını neyin belirlediği henüz bilinmemektedir. Periferik tolerans, olgun T lenfositlerin periferde otoantikörleri tanıması ile oluşur. Sonuçta anerji (işlevsel yanıtızsızlık) veya apoptozise yol açar veya reguluar T lenfositler tarafından otreaktif lenfositler baskılanır. Reguluar

lenfositlerin çoğunluğu CD4+ fenotipindedir ve yüksek düzeyde IL-2 reseptörünün alfa zincirini gösterir (CD25). Bazı regülatuar lenfositler TGF- β ve IL-10 gibi lenfositlerin ve makrofajların aktivasyonunu durduran sitokinlerde üretmektedirler (26). CD4+ T helper altgrupları Th1, Th2 ve Th17 hücrelerini içermektedir . Th1 ve Th17 hücreleri otoimmünitede önemli bir rol oynarken, Th2 hücreleri atopik hastalıklarda önemli rol oynar. T regülatuar lenfositler bu üç alt grup T helper lenfositlerin aktivitesinin düzenlenmesinde ve etkinliklerinin azalmasına yol açar (27).

B lenfositler periferal kan lenfositlerin % 20'sini oluştururlar. Yüzeysel belirteçleri CD19 ve CD20'dir. B lenfositler naif ve CD19-CD27+ bellek (memory) B lenfosit olmak üzere başlıca 2 gruba ayrılırlar Naif lenfositler mikrobiyal antijenleri tanımları ve aynı zamanda mikrobun uyardığı(ikincil) tehlike uyarılarını da algıladıkları zaman antijene özgü lenfositler çoğalır (prolife olur), efektör ve bellek B lenfositlere dönüşürler. Naif lenfositler antijenler için reseptör taşımalarına rağmen antijeni ortadan kaldıracak işlevleri yapamazlar. Hücrelerin efektör hücrelere ve bellek hücrelerine dönüşmeleri antijeni tanıması ile başlar. Buda immün yanıtın antijene özgül olduğunun göstergesidir (26).

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı tarafından yürütülmüştür. Çalışma protokolü Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokal Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (20.06.2008 tarih ve 2008/24 sayılı dosya numarası ile).

3.1. Hastalar ve kontrol grubu

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı Polikliniği'ne temmuz 2008 ile ağustos 2009 tarihleri arasında başvuran ardaşık 20 ITP'li hasta (13 bayan, 7 erkek hasta, yaş dağılımı 17-68 arasında olup yaş ortalamaları 36.5 yıl), 2 OİHA'li hasta (2 bayan hasta) dahil edildi. Kontrol grubu olarak yaş, cinsiyet uyumlu 20 sağlıklı birey seçildi (13 bayan, 7 erkek birey, yaş dağılımı 17-65 olup yaş ortalamaları 36 yıl).

	Kontrol grubu	Hasta grubu
Cinsiyet	13 bayan, 7 erkek	13 bayan, 7 erkek
Yaş ortalaması	36 yıl	36.5 yıl

ITP hastaları için tanı kriterleri: Trombosit sayısı 100.000'in altında olan, fizik muayenede kanama bulguları dışında bulgusu olmayan, tam kan sayımı ve periferik yaymada trombositopeni dışında normal bulguları olan, HbsAg, HCV, HIV, ANA, Anti ds DNA negatif; göğüs radyografisi, tiroid fonksiyon testleri, idrar analizi, hemoglobin ve beyaz küre değerleri normal, splenomegalisi olmayan hastalar ITP tanısı ile çalışmaya dahil edildiler. 60 yaş üstünde olan veya ITP yönünden şüpheli bulguları olan hastalara kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi yapılarak tanı kesinleştirildi.

ITP hastaları için dışlama kriterleri:

Fizik muayenede kanama bulguları dışında özellik olmaması

Periferik yayma ve kan sayımında trombositopeni dışında normal olması

HbsAg, HCV, HIV, ANA, Anti ds DNA negatif olması

Göğüs radyografisinin normal olması

Tiroid fonksiyon testleri, idrar analizi normal olması

60 yaş üstünde olan veya ITP yönünden şüpheli bulguları olan hastalara kemik iliği aspirasyon ve biyopsisinde ITP dışı bulgular

Anemi ve hemolizin genel işaretleri olan retikülositoz, serum LDH ve indirek bilirubinde artış ve direkt coombs testi pozitif olan hastalar OİHA olarak çalışmaya dahil edildi. Bu hastalarda HbsAg, HCV, HIV, ANA, Anti ds DNA negatifti. İlaç kullanım öyküleri yoktu.

3.2. Akımsitometrik analiz ve periferik kan lenfosit alt grup oranlarının saptanması

Çalışmaya dahil edilen her hastadan ilk tanı anında ve bir ay sonra olmak üzere toplam iki kez 2 mililitre periferik kan (EDTA'lı tüp) örneği alındı. Kontrol grubundaki bireylerden ise bir kez kan örneği aynı şekilde alındı. Akım sitometrisi ile T regülatuar lenfosit(CD4+/CD25+), T lenfosit (CD3+/CD19-), T helper (CD3+/CD4+), T supresör (CD3+/CD8+), B lenfosit (CD19+/CD3-), bellek (memory) B lenfosit (CD19+/CD27+) oranları örnek alındıktan sonraki 2 saat içerisinde çalışıldı. Periferik kan analizinde CD3 için anti CD3-PE (phycoerytrin), CD4 için anti CD4-FITC (fluorescein isothiocyanate), CD8 için anti CD8-FITC, CD19 için anti CD19-PE, CD25 için anti CD25-PE, CD27 için anti CD27-FITC ile konjuge halde tek renkli monoklonal antikolar kullanıldı. Kan örnekleri coulter TQ.prep'de 10 dakika inkübe edilerek ve ortama litik solüsyon eklenerek eritrositler ortamdaki uzaklaştırıldı. Her bir örnek için uygun izotipik kontroller kullanıldı. İncelemeler Coulter Epics XL.MCL akım sitometri cihazı ile gerçekleştirildi. Lenfositler "forward scatter" ve "side scatter" özellikleri ile tanımlanıp "gate" içine alınarak analiz gerçekleştirildi. Her bir kapı içerisinde 10.000 hücre saydırıldı. Her bir monoklonal

antikorla reaksiyon veren lenfositler, floresan özelliklerine göre ayrılıp oranları yüzde olarak rapor edildi.

3.3. İstatistiksel analiz

Grupların karşılaştırılmasında ölçümle elde edilen verilerin normal dağılım gösterdiği saptandı. Hasta grubu ve kontrol grubunun karşılaştırılması için student-t testi kullanıldı. Hasta grubu başlangıç ve 1.ay sonu verileri karşılaştırılması için paired-samples t testi kullanıldı. Ölçümle elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma, sayımla elde edilen veriler sayı (%) olarak ifade edildi. Anlamlılık düzeyi $P<0.05$ olarak alındı.

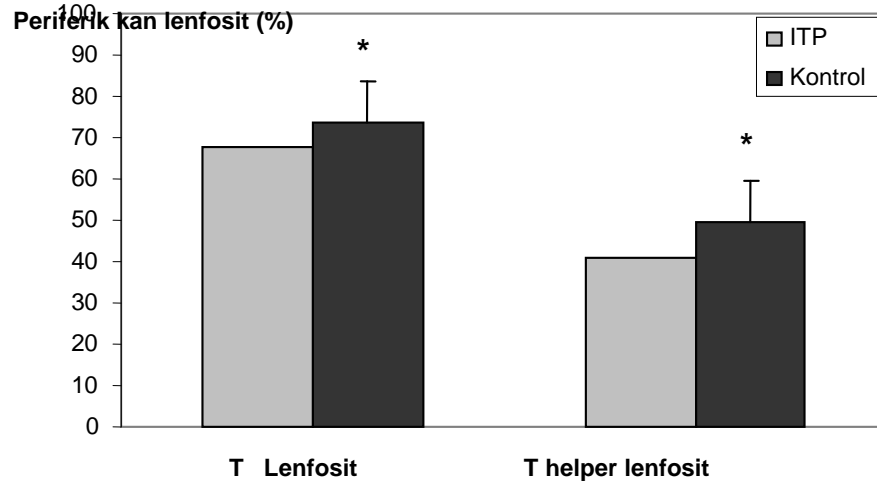
4. BULGULAR

ITP'li hastaların tanı anındaki periferik kan lenfosit subgrup oranları ile kontrol grubu periferik kan lenfosit supgrup oranları karşılaştırıldığında; T lenfosit oranları, T helper lenfosit oranları, T regülatuar lenfosit oranları ve bellek B lenfosit oranları hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (Tablo 4, Grafik 1-2). Periferik kan T supresör ve B lenfosit oranlarına bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı (Tablo 4).

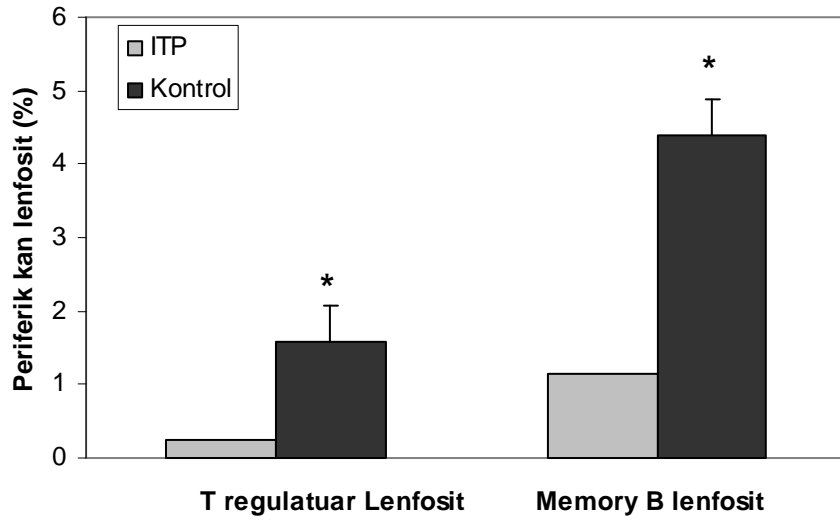
Tablo 4. ITP'li hastalarda tanı anındaki periferik kan lenfosit subgrup oranları ile kontrol grubu periferik kan lenfosit subgrup oranlarının karşılaştırılması

Lenfosit subgrupları	Tanı anı (%)	Kontrol (%)	p
T regülatuar lenfosit(CD4+/CD25+)	0.25±0.17	1.14±0.77	0.0001
T lenfosit (CD3+/CD19-)	67.6±7.7	73.5±4.4	0.006
T helper lenfosit (CD3+/CD4+)	40.9±8.8	49.5±4.4	0.001
T supresör lenfosit (CD3+/CD8+)	28.4±9.7	24.1±3.4	AD
B lenfosit (CD19+/CD3-)	16.1±5.8	17.7±4.9	AD
Bellek B lenfosit (CD19+/CD27+)	1.57±1.24	4.38±2.41	0.001

ITP'li hastaların tanı anındaki periferik kan lenfosit subgrup oranları ile 1.ay sonundaki periferik kan lenfosit subgrup oranları karşılaştırıldığında; bellek B lenfosit oranları tanı anında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (Tablo 5, Grafik 3). Periferik kan T lenfosit oranları, T helper lenfosit oranları, T regülatuar lenfosit oranları, T supresör ve B lenfosit oranlarına bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı (Tablo 5). T regülatuar lenfosit oranları tanı anında 1. ay sonuna oranla daha düşük bulunmasına rağmen muhtemelen vaka sayısının az olması nedeniyle aradaki fark anlamlı düzeye ulaşmadı (Tablo 5).



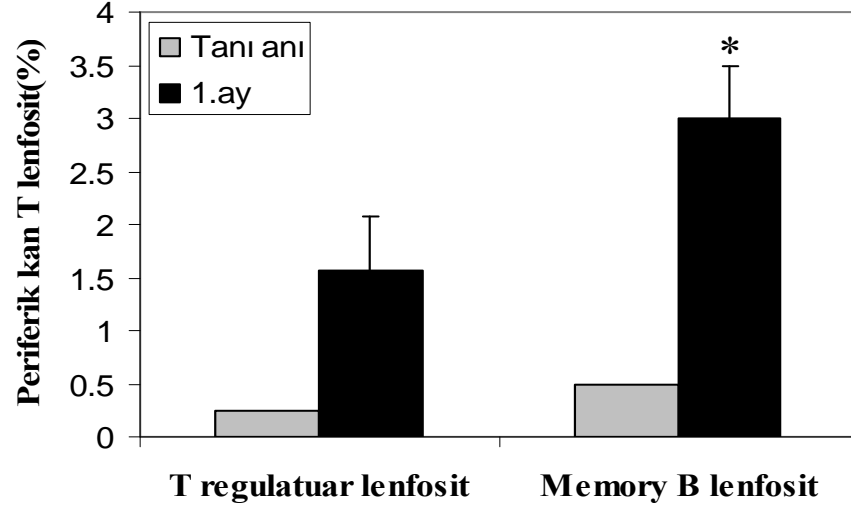
Grafik 1. Periferik kan T lenfosit ve T helper lenfosit oranları ITP'li hastalarda tanı anında kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşüktü (*: $p < 0.05$).



Grafik 2. Periferik kan T regulatuar lenfosit ve bellek B lenfosit oranları ITP'li hastalarda tanı anında kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşüktü (*: $p < 0.05$).

Tablo 5. ITP'lı hastalarda tanı anı ve 1.ay sonunda periferik kan lenfosit subgrup oranları

Lenfosit subgrupları	Tanı anı (%)	1. ay (%)	p
T reglatuar lenfosit(CD4+/CD25+)	0.25±0.17	0.50±0.66	AD
T lenfosit (CD3+/CD19-)	67.6±7.7	67.7±10.2	AD
T helper lenfosit (CD3+/CD4+)	40.9±8.8	42.6±9.7	AD
T supresör lenfosit (CD3+/CD8+)	28.4±9.7	26.4±8.3	AD
B lenfosit (CD19+/CD3-)	16.1±5.8	18.3±8.8	AD
Bellek B lenfosit (CD19+/CD27+)	1.57±1.24	3.0±1.7	0.008

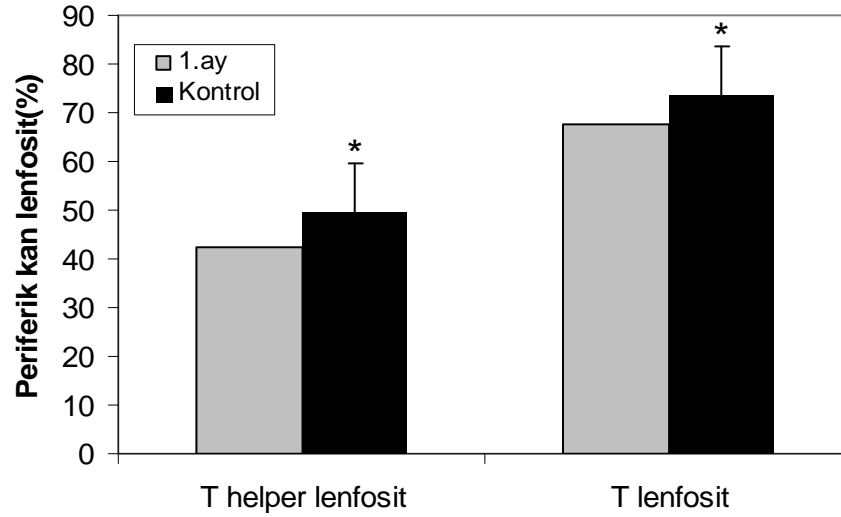


Grafik 3. Periferik kan bellek B lenfosit oranları, ITP'lı hastalarda tanı anında 1.ay sonuna göre anlamlı oranda düşüktü (*: p<0.05).

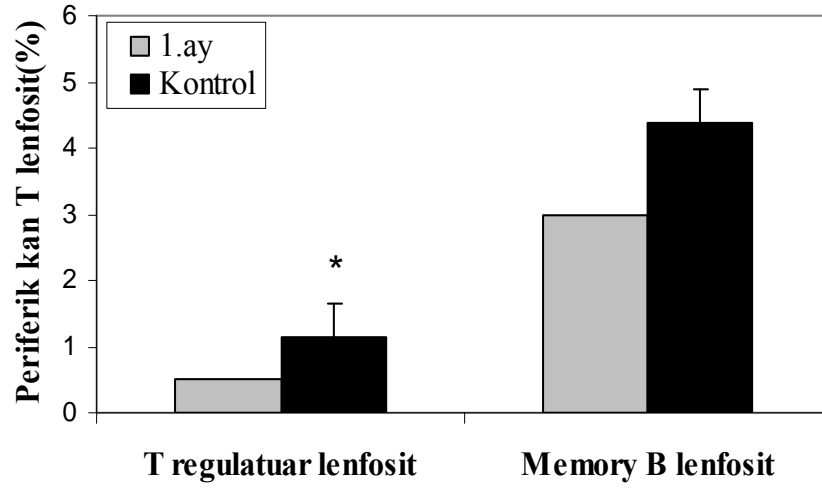
ITP'lı hastalarda 1.ay sonu değerleri ile kontrol grubu arasında periferik kan lenfosit subgruplarına bakıldığında; T lenfosit oranı, T reglatuar lenfosit oranı ve T hepler lenfosit oranları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (Tablo 6, Grafik 4-5). Periferik kan T supresör lenfosit, B lenfosit ve bellek B lenfosit oranlarına bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı (Tablo 6).

Tablo 6. ITP'lı hastalarda 1.ay sonu ve kontrol grubu periferik kan lenfosit subgrup oranları.

Lenfosit subgrupları	1.ay(%)	Kontrol (%)	p
T regulatuar lenfosit(CD4+/CD25+)	0.50±0.66	1.14±0.77	0.009
T lenfosit (CD3+/CD19-)	67.7±10.2	73.5±4.4	0.032
T helper lenfosit (CD3+/CD4+)	42.6±9.7	49.5±4.4	0.01
T suprosör lenfosit(CD3+/CD8+)	26.4±8.3	24.1±3.4	AD
B lenfosit (CD19+/CD3-)	18.3±8.8	17.7±4.9	AD
Bellek B lenfosit (CD19+/CD27+)	3.0±1.7	4.38±2.41	AD



Grafik 4. ITP'lı hastalarda 1.ay sonunda T lenfosit ve T helper lenfosit oranları kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktü(*: p<0.05).



Grafik 5. ITP'lı hastalarda 1.ay sonunda periferik kan T regulatuar lenfosit oranları kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşüktü. Bellek B lenfosit oranları açısından ise anlamlı fark yoktu. (*: $p<0.05$).

ITP tanısı konulduğunda tedavi ihtiyacı gösteren (trombosit <30.000 /mikrolitre) ve tedavi ihtiyacı göstermeyen (trombosit >30.000 /mikrolitre) hastalar karşılaştırıldığında; tedavi ihtiyacı gösteren hastalarda T regulatuar lenfosit oranları daha düşük olarak bulundu. Ancak muhtemelen vaka sayısının azlığı nedeniyle gruplar arasında istatistiksel fark saptanmadı.

Trombosit sayısı 30.000 /mikrolitre'nin altında olan ITP'lı hastalara 1mg/kg/gün dozunda metilprednizolon verildi. Tedavi verilen 10 hasta 3 ay süre ile takip edildi. Hastaların 6'sı tedaviye cevap vermiş, 4'ü tedaviye cevap vermemiştir. Tedavi cevabı olmayan hastalarda T regulatuar lenfosit ve bellek B lenfosit oranı daha düşük bulundu. Ancak bu düşüklük muhtemelen vaka sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 7).

Tablo 7. Tedaviye cevabı olan ve olmayan hastalarda tanı anında regulatuar T lenfosit ve bellek B lenfosit oranları.

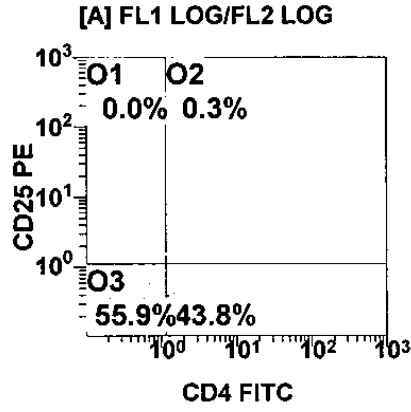
	Tedavi cevabı olan hastalar (%)	Tedavi cevabı olmayan hastalar (%)	p
Regulatuar T lenfosit	0.33±0.30	0.16±0.05	AD
Bellek B lenfosit	2.1±1.8	1.1±0.75	AD

Tedavi cevabı olan ve olmayan ITP hastalarında 1.ay sonu regulatuar T lenfosit ve bellek B lenfosit oranlarında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 8).

Tablo 8. Tedavi cevabı olan ve olmayan hasta gruplarında 1. ay sonunda regulatuar T lenfosit ve bellek B lenfosit oranları.

	Tedavi cevabı olan hastalar (%)	Tedavi cevabı olmayan hastalar (%)	p
Regulatuar T lenfosit(CD4+/CD25+)	1.75±1.1	0.16±0.05	AD
Bellek B lenfosit (CD19+/CD27+)	3.7±2.2	4.4±2.1	AD

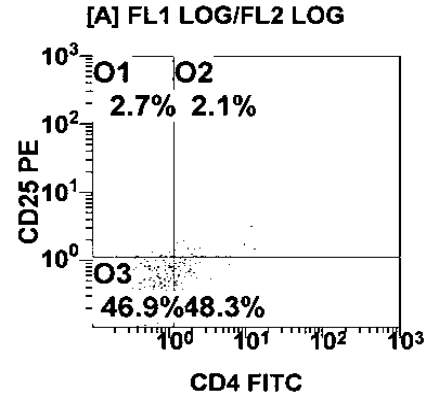
OİHA'li iki hastanın yaşları 20 ve 53'idi. Hastaların her ikisinde bayandı. Lenfosit oranlarına tanı anı ve 1. ay sonunda bakıldığında sırası ile; I. hastada regulatuar T lenfosit(CD4+/CD25+) 0.1/0.1, T lenfosit (CD3+/CD19-) 86/85.5, helper T lenfosit (CD3+/CD4+) 70/65.8, supresör T lenfosit (CD3+/CD8+) 21.2/25.7, B lenfosit (CD19+/CD3-) 4.9/7.9, bellek B lenfosit (CD19+/CD27+) 0.5/1.7'idi. 2.hastada regulatuar T lenfosit (CD4+/CD25+) 0.1/0.3, T lenfosit (CD3+/CD19-) 83/84.5, helper T lenfosit (CD3+/CD4+) 39.9/48.7, supresör T lenfosit (CD3+/CD8+) 36.8/43.8, B lenfosit (CD19+/CD3-) 10.2/14.7, bellek B lenfosit (CD19+/CD27+) 1.8/5.9'idi. Çalışma süresi içinde dahil edilen OİHA'li vaka sayısı iki olduğundan istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.



[A] FL1 LOG/FL2 LOG

Region	Number	%Gated	X-Mean	HP
160	43.84	5.3	0.1	
O1	0	0.00	0.0	0.0
O2	1	0.27	1.9	0.3
O3	204	55.89	0.4	##

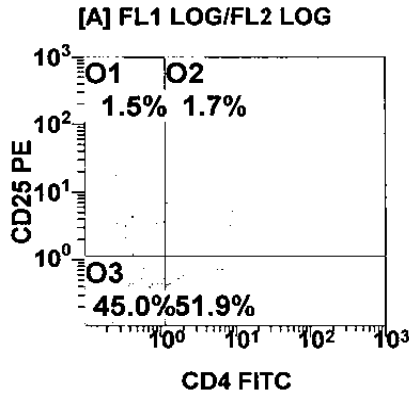
A. ITP'lı bir hastada tanı anı regülatuar T lenfosit oranı



[A] FL1 LOG/FL2 LOG

Region	Number	%Gated	X-Mean	HP
1027	48.26	8.2	0.1	
O1	58	2.73	0.6	##
O2	45	2.11	3.1	0.2
O3	998	46.90	0.5	##

B. Bir sağlıklı gönüllüde regülatuar T lenfosit oranı

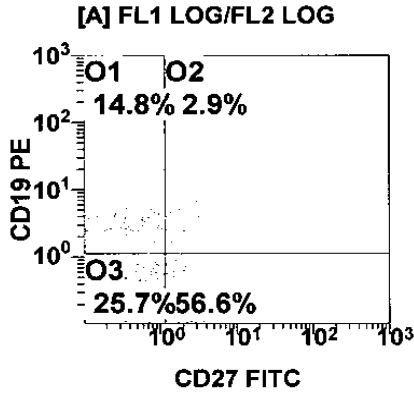


[A] FL1 LOG/FL2 LOG

Region	Number	%Gated	X-Mean	HP
751	51.86	8.0	0.4	
O1	21	1.45	0.3	##
O2	25	1.73	6.7	0.3
O3	651	44.96	0.4	##

C. ITP'li bir hastada 1.ay sonu regülatuar T lenfosit oranı

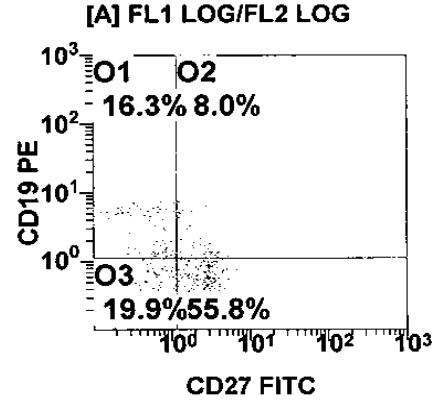
Şekil 1. ITP'li bir hasta da tanı anı ile 1.ay sonu ve sağlıklı bir gönüllüde T regülatuar lenfosit oranlarının akım sitometrik görünümü.



[A] FL1 LOG/FL2 LOG

Region	Number	%Gated	X-Mean	HP
1044	56.65	2.9	0.2	
O1	273	14.81	0.3	##
O2	53	2.88	3.1	0.2
O3	473	25.66	0.5	##

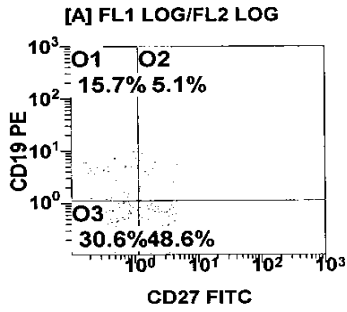
A. ITP'li bir hastada tanı anı bellek B lenfosit oranı



[A] FL1 LOG/FL2 LOG

Region	Number	%Gated	X-Mean	HP
1148	55.76	2.8	0.6	
O1	336	16.32	0.4	##
O2	165	8.01	2.5	0.2
O3	410	19.91	0.5	##

C. Bir sağlıklı gönüllüde bellek B lenfosit oranı



[A] FL1 LOG/FL2 LOG

Region	Number	%Gated	X-Mean	HP
644	48.60	3.1	0.4	
O1	208	15.70	0.4	##
O2	68	5.13	2.1	0.6
O3	405	30.57	0.4	##

B. ITP'li bir hastada 1. ay sonu bellek B lenfosit oranı

Şekil 2. ITP'li bir hastada tanı anı ile 1. ay sonu ve sağlıklı bir gönüllüde bellek B lenfosit oranlarının akım sitometrik görünümü.

5. TARTIŞMA

Erişkinlerde ITP öncelikli olarak artmış trombosit yıkımı ile karakterize, kronik, edinsel ve organ spesifik bir otoimmün hastalıktır. Trombositlere karşı otoantikör gelişimi ve otoantikörlerle kaplı trombositlerin retiküloendotelial sistemde yıkımı sonucu trombositopeni ortaya çıkmaktadır. ITP’da primer immunolojik defekt platelet spesifik otoreaktif T lenfositlerin aktivasyonu sonucu antiplatelet antikör üreten B lenfositlerin oluşumu ve proliferasyonudur; yani ITP Tip 1 T lenfosit predominant bir hastalıktır. ITP’da periferik kan lenfosit alt gruplarında bazı değişikliklerin olduğu geçmiş yıllarda bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda tanı anında periferik kan T lenfosit, T helper lenfosit, T regülatuar lenfosit ve bellek B lenfosit oranlarının hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olduğu, T supresör lenfosit ve B lenfosit oranlarının ise anlamlı miktarda değişmediği saptanmıştır. Ware ve arkadaşları bizim bulgularımıza benzer şekilde kronik ITP’li hastalarda kontrol grubuna göre T lenfosit ve T hepler lenfosit oranlarının azaldığını göstermiştir (28). Mizutami ve arkadaşları tarafından kronik ITP’lı hastalarda CD4/CD8 oranının azaldığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda kronik ITP hastalarında kontrol grubuna göre CD4 düşük iken anlamlı olmamakla birlikte CD8 oranı yüksek olarak bulunmuştur. Bulgularımız mizutami ve arkadaşlarının bulguları ile uyumludur. Bu çalışmada genel olarak ITP’ lı hastalarda periferik kan T ve B lenfositlerdeki tüm değişiklikler irdelenmiş olmakla birlikte, çalışmanın primer amacı regülatuar T lenfosit ve bellek B lenfositlerdeki olası değişikliklerin analiz edilmesidir. Nitekim ITP’ lı hastalarda periferik kanda regülatuar T lenfosit ve bellek B lenfosit oranları sağlıklı insanlara göre düşük bulunmuştur.

Regülatuar T lenfosit oran ve fonksiyonlarındaki düşüklüklerin bir takım otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Multiple skleroz, myestenia graves, tip 1 diyabetes mellitus, romatoid artrit ve psöriazis gibi otoimmün orjinli olduğu düşünülen hastalıklarda T regülatuar lenfositlerin oran ve fonksiyonlarında belirgin azalmalar olduğu rapor edilmiştir (1). ITP’lı hastalarda T regülatuar hücre değişiklikleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Liu ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada aktif evrelerdeki ITP

hastalarında, remisyondaki hastalarla ve sağlıklı gönüllülerle karşılaştırıldığında, periferik kan regülatuar T lenfosit oranlarının anlamlı düzeyde düşük olduğunu göstermişlerdir (29). Sakakura ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada sağlıklı gönüllüler ile ITP'li hasta grubu karşılaştırıldığında regülatuar T lenfosit oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamış olmakla birlikte; trombosit sayısı düşük olan hastalarda trombosit sayısı 100.000/uL nin üzerinde olan hastalara oranla regülatuar T lenfosit sayısı daha düşük olarak bulunmuştur (30). Ling ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada regülatuar T lenfosit oranları ITP hastalarına göre kontrol grubunda daha yüksek olarak bulunmuştur (31). Shu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise tedavi öncesi ITP hastalarındaki regülatuar T lenfosit oranları tedavi sonrası ve kontrol grubuna oranla daha düşük bulunmuştur. Yine bu çalışmada regülatuar T lenfosit oranı ile trombosit düzeyi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (32). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular literatür verileri ile uyumludur. Nitekim hasta grubumuzda regülatuar T lenfosit oranları düşük bulunmuştur. Diğer bir ilginç bulgu ise tedaviye cevap veren hastalarda tedaviye cevap vermeyenlere kıyasla hem tanı anında hem de 1. ay sonunda, muhtemelen vaka sayısının azlığı nedeniyle istatistik anlamlı düzeye ulaşmasa da, regülatuar T lenfosit oranlarının daha yüksek bulunmasıdır. Bu durum tedavi cevabı ile T regülatuar hücre oranı veya sayı artışı arasında bir korelasyon olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim Shu ve arkadaşlarının da gösterdiği gibi regülatuar T lenfosit oranlarındaki belirgin yükselmeler efektif bir tedavi cevabının erken göstergeleri olabilmektedir (32). Bizim çalışmamız ve literatürde yayımlanmış diğer çalışmalardan elde edilen veriler T regülatuar lenfosit azalmasının ITP patogenezinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Nitekim Regülatuar T lenfositlerin antijen spesifik, poliklonal veya allojeneik stimuluslarla ortaya çıkan T lenfosit cevabını inhibe edebildiği bilinmektedir. ITP'da regülatuar T lenfositlerin azalmasının, otoreaktif T lenfositlerin aktivasyonunu etkili bir şekilde inhibe edemediklerini düşündürmektedir. T regülatuar hücrelerdeki azalma daha fazla periferik kan mononükleer hücre proliferasyonu ve interleukin 2 yapımı dolayısıyla daha fazla antitrombosit antikor yapımından sorumlu olabilir (33). Yine regülatuar T hücrelerinin sayısındaki azalma ITP hastalarında proenflamatuar Th1 sitokin cevabından ve remisyona giren hastalarda antienflamatuar Th2 üretimine geçişten de sorumlu olabilir. T regülatuar hücreler direkt hücresel temas yoluyla otoreaktif lenfositleri suprese edebileceği gibi ayrıca interleukin 10 ve transforming growth faktör beta gibi sitokinlerin salınımına yol açarakta

immün inhibisyona neden olabilir. Günümüze kadar elde edilen bilgiler regülatuar T lenfositlerin azalmasının ITP patogeneğinde rol oynayabileceğini düşündürmekle birlikte, bu hücrelerin oran ve sayılarının azalması veya varsa fonksiyon kayıplarının biyolojik temelleri ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

B lenfosit seri hücrelerinden olan plazmablast, plazma hücre ve bellek B lenfositlerinin major görevi spesifik antijenlere karşı antikor sekrete etmektir. Bellek hücreleri, antijen uyarısı ile çoğalan B lenfositlerden gelişen hücrelerdir. Antijenin yokluğunda da uzun süre yaşamlarını sürdürürler. Periferik kan bellek B lenfositlerin bazı otoimmün hastalıklarda anormal dağılım gösterdikleri rapor edilmiştir. Örneğin SLE' de periferik bellek B lenfositlerde aktivasyon ile hastalık aktivasyonu arasında ilişki saptanmıştır (34). Sjögren sendromlu hastalarda periferik kan bellek B lenfositlerin azaldığı ve bu hücrelerin tükrük bezlerinde birikim gösterdiği Hansen ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (35). Romatoid artritli hastalarda yapılan çalışmalarda ise farklı bulgular elde edilmiştir. Bazı raporlarda periferik kan B lenfosit oranlarının arttığı, bazı raporlarda ise değişmediği belirtilmiştir. Souto-Carneiro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise romatoid artritli hastaların hastalık süresinden bağımsız olarak periferik bellek B hücreleri normal kişilere kıyasla belirgin olarak düşük bulunmuştur. Yine bu çalışmada TNF tedavisi ile periferik bellek B lenfosit oranı artığı gözlenmiştir (36). Niino ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada multipl sklerozlu hastalarda sağlıklı gönüllülere göre bellek B lenfosit oranları aynı olarak rapor edilmiştir (37). Bizim çalışmamızda da Romatoid artritli hastalar ve sjögren sendromlu hastalara benzer şekilde periferik kan bellek B lenfositlerin azaldığı saptanmıştır. Pek çok otoimmün hastalıkta periferik kan bellek B lenfosit değişiklikleri ile ilgili farklı bulgular olmasına rağmen literatürde ITP'li hastalarda periferik kan bellek B lenfosit değişikliklerini araştıran sadece bir çalışmaya rastlanmıştır. Martinez-Gamboa ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada splenektomi yapılan ITP'li hastalarda bellek B hücre subgrubunda azalma saptanmıştır. Bellek B lenfositlerin dalak marjinal zonda yerleştiği düşünüldüğünde bu beklenen bir bulgudur. Sınırlı sayıda hasta ve kontrol grubunun bulunduğu bu çalışmada istatistik yapılmamış olmakla birlikte splenektomi öncesi ITP hastaları ve kontrol grubu incelendiğinde periferik kan bellek B lenfosit oranlarının bizim bulgularımıza benzer şekilde hasta grubunda daha düşük olduğu dikkati çekmektedir. Bellek B lenfositlerin otoimmünitede rol oynadığı halde ITP hastalarında periferik kanda azalmış olarak bulunmasının, Romatoid artrit ve Sjögren

sendromlu hastalarda olduğu gibi, dalak, karaciğer veya kemik iliği gibi trombosit yıkımı için hedef dokular olan retikuloendotelyal sistem içinde birikmiş olmalarına bağlı olabileceğini dűřündürmektedir.

OİHA 2 hastada hastalığın aktif evresinde ITP hastalarına benzer şekilde T regulatuar lenfosit ve bellek B lenfosit oranlarının dűřük olduğu gürmektedir. Fakat vaka sayısının az olması nedeniyle istatistiksel analiz yapılamamıştır.

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen bulgular regulatuar T lenfositlerin azalmasının ITP patogenezinde sorumlu olabileceği ve T regulatuar hücre oranlarının tedavi cevabı ve prognoz hakkında fikir verebileceğini dűřündürmektedir. Diđer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi ITP patogenezinde de rolü olduğu dűřünülen bellek B lenfositlerin ITP hastalarında azalmış olmaları dalak başta olmak retikuloendotelyal sistemde birikmelerine bağlı olabilir. Periferik kan T regulatuar lenfositlerde ve bellek B lenfositlerdeki değişikliklerin biyolojik temelleri, bu değişikliklerin ITP patogenezi ve tedavisi üzerine etkilerini analiz eden daha geniş hasta serili çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada ITP'li hastaların T lenfosit, T helper lenfosit, T regultuar lenfosit ve bellek B lenfosit oranları kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulundu.

Bellek B lenfosit oranları tanı anında 1.ay sonununa göre anlamlı düzeyde düşüktü.

T lenfosit, T regultuar lenfosit ve T hepler lenfosit oranları ITP hastalarının 1.ay sonu verileri sağlıklı gönüllülerden oluşan kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşüktü.

Tedavi ile ya da kendiliğinden remisyona giren hastalarda 1.ay sonunda T regultuar lenfosit ve bellek B lenfosit oranlarında artış olmuştur. Bu artış T regultuar lenfositlerde kontrol grubunda ki oranlara ulaşmamamakla birlikte bellek B lenfosit oranındaki artışın ise kontrol grubundaki oranlara ulaştığı gözlemlendi.

Kısıtlılıkları şu şekilde özetleyebiliriz;

- 1- Vaka sayısı azlığı nedeniyle anlamlı farklılık olasılığı olan parametrelerde istatistiksel anlam verecek düzeye ulaşmamıştır.
- 2- Planlanan sayıda OİHA hastası çalışmaya dahil edilememiştir.
- 3- Çalışma kaynaklarının sınırlı olması nedeniyle takip süresi kısa tutulmuştur.

Öneriler:

T regultuar ve bellek B lenfositler ITP'nin patogenezinde rol oynayabilir. Özellikle T regultuar lenfosit oranının düşüklüğünün tedavi ile normal düzeylere yaklaşması tedavi cevabı açısından erken bir gösterge olabilir. ITP ve OİHA patogenezi, tedavi cevabı ve prognoz tahmini için T regultuar ve bellek B lenfositleride içeren periferik kan lenfosit alt grup değişiklikleri için daha geniş hasta serileri ile prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. TÜRKÇE ÖZET

Otoimmün Hemolitik Anemi ve İdtopatik Trombositopenik Purpuralı Hastalarda Periferik Kan T Regulator Hücre ve B Lenfosit Alt Grup Değişiklikleri.

Erişkinlerde ITP öncelikli olarak artmış trombosit yıkımı ile karakterize, kronik, edinsel ve organ spesifik bir otoimmün hastalıktır. Trombositlere karşı otoantikor gelişimi ve otoantikorlarla kaplı trombositlerin retikuloendotelial sistemde yıkımı sonucu trombositopeni ortaya çıkmaktadır. Otoimmün hemolitik anemiler otolog eritrosit antijenlerine karşı antikor yapımı ile karakterize bir anemi grubudur. Bu çalışmada idyopatik trombositopenik purpura ve otoimmün hemolitik anemili hastalar da periferik kan T regulator lenfositler başta olmak üzere T lenfosit ve B lenfosit alt grup analizlerinin yapılması ve varsa mevcut değişikliklerin tanı, tedavi ve prognozla ilişkisinin aydınlatılması amaçlandı.

ITP'li hasta grubunda tanı anında periferik kan T regulator lenfosit, T lenfosit, T hepler lenfosit ve bellek B lenfosit oranlarının kontrol grubuna göre azaldığı saptandı (sırası ile; 0.25 ± 0.17 , 67.6 ± 7.7 , 40.9 ± 8.8 , 1.57 ± 1.24 - 1.14 ± 0.77 , 73.5 ± 4.4 , 49.5 ± 4.4 , 4.38 ± 2.41). Sitotoksik T lenfosit ve B lenfosit oranlarında ise anlamlı farklılık izlenmedi. Tedavi ile başlangıca göre 1. ayın sonunda T regulator lenfosit ve bellek B lenfosit oranlarında artış gözlemlendi (sırası ile; 0.50 ± 0.66 , 3.0 ± 1.7).

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen bulgular regulator T lenfositlerin azalmasının ITP patogenezinin sorumlu olabileceği ve T regulator hücre oranlarının tedavi cevabı ve prognoz hakkında fikir verebileceğini düşündürmektedir. Diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi ITP patogenezinde de rolü olduğu düşünülen bellek B lenfositlerin ITP hastalarında azalmış olmaları dalak başta olmak üzere retikuloendotelial sistemde birikmelerine bağlı olabilir. Periferik kan T regulator lenfositlerde ve bellek B lenfositlerdeki değişikliklerin biyolojik temelleri, bu değişikliklerin ITP patogenezi ve tedavisi üzerine etkilerini analiz eden daha geniş hasta serili çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

8.SUMMARY

The change of peripheral blood T regulatory cell and B lymphocyte subgroups in patients with autoimmune hemolytic anemia and idiopathic thrombocytopenic purpura.

In adults ITP is primarily characterized by increased platelet destruction, it is chronic, acquired and organ specific autoimmune disorder. As a result of autoantibody development against to platelets and destruction of autoantibody covered platelet in reticuloendothelial system leads to thrombocytopenia occurs. Autoimmune hemolytic anemias a group of anemia that characterized by antibody production against autologous erythrocyte antigens. In this study we aim to perform analyses in patients with ITP and autoimmune hemolytic anemia on T lymphocyte and B lymphocyte subgroups especially for peripheral T lymphocytes and explain if current alteration relate to diagnosis, treatment and prognosis.

At the time of diagnosis in patients with ITP it was determined that peripheral blood T lymphocyte, T lymphocyte and memory B lymphocyte ratios was lower than control group (respectively; 0.25 ± 0.17 , 67.6 ± 7.7 , 40.9 ± 8.8 , 1.57 ± 1.24 - 1.14 ± 0.77 , 73.5 ± 4.4 , 49.5 ± 4.4 , 4.38 ± 2.41). For cytotoxic T and B lymphocytes ratios significant difference was not seen. Comparison of beginning and after the first month of treatment increase of T regulatory lymphocyte and memory B lymphocyte ratios was seen (respectively; 0.50 ± 0.66 , 3.0 ± 1.7).

Finally in this study acquired findings suggested that decreasing of T regulatory lymphocytes can be responsible of pathogenesis and response of T regulatory cell ratios on treatment can give an idea for prognosis. like the other autoimmun disorders, memory B lymphocytes thought have a role in pathogenesis in ITP. Patients with ITP decreasing of this cells can be depend to accumulation in reticuloendothelial system especially spleen. It is thought that more wide comprehensive studies analyses biological basis of alternations of peripheral blood T lymphocytes and memory B lymphocytes and effect of this changes to pathogenesis and treatment is needed.

9. KAYNAKLAR

1. Cools N, Ponsaerts P, Van Tendeloo VF and Berneman ZN: Regulatory T Cells and Human Disease. *Clinical and Developmental Immunology*, 89:195, 2007.
2. Costantino CM, Baecher-Allan CM, and Hafler DA: Human regulatory T cells and autoimmunity. *Eur J Immunol*, 38: 921–924, 2008.
3. Dörner T, Jacobi AM and Lipsky PE: B cells in autoimmunity. *Arthritis Res Ther*. Oct 14;1: 247, 2009.
4. Cortelazzo S, Finazzi G, Buelli M, et al: High risk of severe bleeding in aged patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 77: 31-33, 1991.
5. Gernsheimer T, Stratton J, Ballem PJ, Slichter SJ: Mechanisms of response to treatment in autoimmune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*, 320:974-980, 1989.
6. Kernoff LM: Influence of the amount of platelet-bound IgG on platelet survival and site of sequestration in autoimmune thrombocytopenia. *Blood*, 55:730-733, 1980.
7. Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, Means RT: *Wintrobe's Clinical Hematology*. Twelfth ed, Wolters Kluwer / Lipincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2009, pp. 1292-1313.
8. Kuwana M, Kaburaki J, Kitasato H, Kato M: Immunodominant epitopes on glycoprotein IIb-IIIa recognized by autoreactive T cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 98:130-139, 2001.
9. Ware RE, Howard TA: Phenotypic and clonal analysis of T lymphocytes in childhood immune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 82:2137-2142, 1993.

10. Semple JW, Milev Y, Cosgrave D, et al: Differences in serum cytokine levels in acute and chronic autoimmune thrombocytopenic purpura: relationship to platelet phenotype and antiplatelet T-cell reactivity. *Blood*, 87:4245-4254, 1996.
11. Branchog I, Kutti J, Ridell B, et al: The relation of thrombokinetis to bone marrow megakaryocytes in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Blood*, 45:551-562, 1975.
12. Heyns A du P, Badenhorst PN, Lotter MG, et al: Platelet turnover and kinetics in immune thrombocytopenic purpura: results with autologous ¹¹¹In-labeled platelets and homologous ⁵¹Cr-labeled platelets differ. *Blood*, 67:86-92, 1986.
13. Nelson RB, Kehl D: Electronically determined platelet indices in thrombocytopenic patients. *Cancer*, 48:954-956, 1981.
14. Pegels JG, Helmerhorst FM, Van leeuwen EF, et al: The Evans syndrome: characterization of the responsible autoantibodies. *Br J Haematol*, 51:445-450, 1982.
15. Harker LA: Magakaryocyte quantitation. *J Clin Invest*, 47:452-457, 1968.
16. Queisser U, Queisser W, Spiertz B: Polyploidization of megakaryocytes in normal humans, in patients with idiopathic thrombocytopenia and with pernicious anaemia. *Br J Haematol*, 20:489-501, 1971.
17. Roberto S, Drew P: Management of Immune Thrombocytopenic Purpura in Adults *Mayo Clin Proc*. 79:504-522, 2004.
18. Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, Means RT: *Wintrobe's Clinical Hematology*. Twelfth ed. Wollters Kluwer / Lipincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2009, pp. 956-973.
19. De Angelis, De Matteis MC, Cozzi MR, et al: Abnormalities of membrane protein composition in patients with autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol*, 95:273-277, 1996.
20. Shen CR, Youssef AR, Devine A: Peptides containing a dominant T-cell epitope from red cell band 3 have in vivo immunomodulatory properties in NZB mice with autoimmune hemolytic anemia. *Blood*, 102:3800-3806, 2003.

21. Hall AM, Ward FJ, Vickers MA, et al: Interleukin-10-mediated regulatory T-cell responses to epitopes on a human red blood cell autoantigen. *Blood*, 100:4529-4536, 2002.
22. Kern WF: PDQ Hematoloji(Çev.B. Ferhanoglu). İstanbul Medikal Yayıncılık, 1. Baskı, 2005, s 124-125.
23. Sokol R, Hewitt S, Stamps BK: Autoimmune haemolysis: an 18-year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. *Br Med J Clin Res Educ*, 282:2023-2027, 1981.
24. Hauke G, Fauser AA, Weber S, et al: Reticulocytopenia in severe autoimmune hemolytic anemia (AIHA) of the warm antibody type. *Blut*, 46:321-327, 1983.
25. Van der Meulen FW, de Bruin HG, Goosen PC, et al: Quantitative aspects of the destruction of red cells sensitized with IgG1 autoantibodies: an application of flow cytometry *Br J Haematol*, 46: 47-56, 1980.
26. Abbas AK, Lichtman AH: Temel immünoloji (Çev. Y. Camcıoğlu, G. Deniz). İstanbul Medikal Yayıncılık, 1. Baskı, 2007, s 1-176.
27. Zhu, J, Paul, WE: CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 112:1557, 2008.
28. Ware RE and Howard T: Phenotypic and clonal analysis of T lymphocytes in childhood immune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 82: 2137-2142, 1993.
29. Liu B, Zhao H, Poon MC, Han Z, Gu D, Xu M, Jia H, YangR, Han ZC: Abnormality of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura: *Eur J Haematol*, 78:139-43, 2007.
30. Sakakura M, Wada H, Tawara I, Nobori T, Sugiyama T, Sagaw N and Shiku H: Reduced Cd4⁺Cd25⁺ T cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res*, 120:187-93; 2007
31. Ling Y, Cao XS, Yu ZQ, Luo GH, Bai X, Su J, Dai L, Ruan CG: Alterations of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 28:184-8, 2007.

32. Shu MM, Cao XM, Zhang WG: Role of CD4(+) CD25(high) T cells in the pathogenesis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 16:875-7, 2008.
33. Semple JW, Freedman J: Increased antiplatelet T helper lymphocyte reactivity in patients with autoimmune thrombocytopenia. *Blood*, 78: 2619–25, 1991.
34. 85. Jacobi AM, Reiter K, Mackay M, Aranow C, Hiepe F, Radbruch A, Hansen A, Burmester GR, Diamond B, Lipsky PE and Dörner T: Activated memory B cell subsets correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus: delineation by expression of CD27, IgD and CD95: *Arthritis Rheum*, 58:1762-73, 2008.
35. Hansen A, Odendahl M, Reiter K, Jacobi AM, Feist E, Scholze J, Burmester GR, Lipsky PE, Dörner T: Diminished peripheral blood memory B cells and accumulation of memory B cells in the salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*, 46:2160-71, 2002 Aug.
36. Souto-carneiro MM, Mahadevan V, Takada K, Fritsch-stork R, Nanki T, Brown M, Fleisher TA, Wilson M, Goldbach-Mansky R, Lipsky PE: Alterations in peripheral blood memory B cells in patients with active rheumatoid arthritis are dependent on the action of tumour necrosis factor. *Arthritis Res Ther*, 11:128, 2009.
37. Niino M, Hirotani M, Miyazaki Y, Sasaki H: Memory and naive B-cell subsets in patients with multiple sclerosis. *Neurosci Lett*, 16;464:74-8. Epub 2009 Aug 8.