



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PSÖDOTROMBOSİTOPENİNİN
HİPERKOAGÜLABİLİTE VE OTOİMMÜNİTE İLE
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. FATİH KURNAZ

KAYSERİ – 2007



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PSÖDOTROMBOSİTOPENİNİN
HİPERKOAGÜLABİLİTE VE OTOİMMÜNİTE İLE
İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. FATİH KURNAZ

**Danışman
DOÇ. DR. BÜLENT ESER**

KAYSERİ – 2007

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	III
TABLO LİSTESİ	IV
ÖZET	V
İNGİLİZCE ÖZET	VII
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
PSÖDOTROMBOSİTOPENİ	3
Tanım	3
İnsidans	3
Mekanizma	3
EDTA-ilişkili PST	4
EDTA-bağımsız PST	4
Moleküler Mekanizma/ Yapısal Değişiklikler	5
EDTA-PST Gelişmesinde Muhtemel Nedenler	5
PST Gelişminde İlaçların Rolü	6
PST'nin Tespit Edilmesine Ait Metodlar	6
HİPERKOAGÜLABİLİTE	7
APC Rezistansı/ FV Leiden Mutasyonu	7
Protrombin Gen Mutasyonu	8
Antitrombin Eksikliği	9
Protein C Eksikliği	9
Protein S Eksikliği	9
Antifosfolipid Sendrom/Antikorları	10
Antifosfolipid Antikorlarının Trombositler Üzerine Etkisi	11

Tromboz Mekanizması.....	12
Lupus Antikoagülanı.....	12
OTOİMMÜNİTE	12
Otoimmün Hastalıklarda İmmünopatojenik Mekanizma.....	15
HASTALAR VE YÖNTEM.....	16
BULGULAR.....	18
TARTIŞMA	23
SONUÇLAR.....	28
KAYNAKLAR	29
TEZ ONAY SAYFASI.....	37

KISALTMALAR

PST	: Psödötrombositopeni
EDTA	: Etilendiaminotetraasetikasit
ACA	: antikardiolipin antikor
AFA	: antifosfolipid antikor
AT	: antitrombin
PC	: protein C aktivitesi
PS	: protein S aktivitesi
APC	: aktive protein C
LA	: Lupus antikoagülanı
OKS	: Oral kontraseptif
MTHFR	: metilentetrahidrofolat redüktaz
ANA	: anti-nükleer antikor
İTP	: immün trombositopenik purpura
EMN	: enfeksiyöz mononükleozis
Gp	: glikoprotein
AFS	: Antifosfolipid Sendromu
APC	: aktive protein C
APS	: aktive protein S
C4BP	: C4 bağlayıcı protein

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo-1 : Otoimmünite Nedenleri.....	14
Tablo-2 : FV Leiden gen mutasyonunun hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı	19
Tablo-3 : MTHFR gen mutasyonunun hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı	19
Tablo-4 : Protrombin G20210A gen mutasyonunun hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı	20
Tablo-5 : AKA'nın hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı.....	20
Tablo-6 : AFA'nın hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı	21
Tablo-7 : ANA'nın hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı.....	21

ÖZET

Amaç: Trombosit kümelenmesi sonrası görülen psödotrombositopeni (PST); kandaki antikoagülan bağımlı antitrombosit otoantikörlerinin in vitro trombosit kümelenmesine neden olduğu bir durumdur. Antifosfolipid antikörleri negatif yüklü membran fosfolipidlerine karşı oluşmuş otoantikör grubudur. Antifosfolipid antikörlerinin varlığı tekrarlayan venöz veya arteriyal tromboz, gebelik kaybı, trombositopeni, hiperkoagülabilité ve otoimmünite ile ilişkilidir. PST’de otoantikörlerin in vitro trombosit kümelenmesine sebep olması nedeniyle in vivo tromboza eğilim araştırılmış ve bu hastalarda koagülasyon parametrelerine, otoantikörlere trombozla ilişkili genetik faktörlere ve birbiriyle olan ilişkisine bakılmıştır.

Gereçler ve Yöntem: Trombositopeni tespit edilen olgular PST açısından değerlendirildi. Otomatik cihaz (XT 2000i) sayımında düşük trombosit sayımı tespit edilmesine rağmen periferik yaymada trombositlerin yeterli veya kümeli olduğu durum PST olarak kabul edildi. Hastalar ilaç kullanımı, yakın zamana ait infeksiyon hikayesi, altta yatan hastalık ve tromboz açısından sorgulandı. Fizik muayene yapıldı.

Çalışmamızda PST tespit edilen 29 hastada ve 20 kontrol fibrinojen, D-Dimer, lupus antikoagülan antikörleri, protein C aktivitesi, protein S aktivitesi, antitrombin ve aktive protein C rezistansı çalışıldı. Periferik kan örneğinden otoimmün markırlar (antinükleer antikör, anti-dsDNA, antifosfolipid antikör, antikardiolipin antikör) çalışıldı.

Ayrıca tromboz riskini artıran en önemli genetik faktörler; Faktör V Leiden (G1691A), protrombin (G20210A) ve metilentetrahidrofolatredüktaz (C677T) gen mutasyonları çalışıldı.

Bulgular: PST tespit edilen hastalar ve kontrol grubu arasında antifosfolipid antikör, antikardiolipin antikör, fibrinojen, D-Dimer, lupus antikoagülan antikörleri, protein C, protein S, antitrombin ve aktive protein C rezistansı, antitrombin, fibrinojen ve faktör V Leiden (G1691A), protrombin (G20210A) ve metilentetrahidrofolatredüktaz (C677T) gen mutasyonları açısından fark yoktu.

Sonuç: Sonuç olarak; psödotrombositopeni vakalarının otoimmünite ve hiperkoagülabilite ile ilişkisi gösterilememiştir. Bu hastalarda kanama diyatezi ve tromboz tespit edilemedi.

Anahtar Kelimeler: Psödotrombositopeni, hiperkoagülabilite, otoimmünite

SUMMARY

Aim: Pseudothrombocytopenia caused by trombosit clumping is an in vitro phenomenon that occurs in anticoagulated blood due to the presence of antitrombosit autoantibodies. Antiphospholipid antibodies are a heterogeneous group of circulating autoantibodies directed against negatively charged phospholipid components of cell membranes. Their presence is associated with repeated episodes of venous or arterial thrombosis, recurrent fetal loss, and thrombocytopenia. Antiphospholipid antibodies are associated with hypercoagulability and autoimmunity. Due to in vitro trombosit clumping in pseudothrombocytopenia, tendency to in vivo thrombosis is searched. In this study coagulation parameters, autoantibodies, genetic parameters related to thrombosis were studied and investigated whether there is a relationship between them.

Material and Methods: 29 patients were included in this study and all of them were informed. All the patients who have thrombocytopenia were evaluated if they had pseudothrombocytopenia. Although the automatic analyzers detected thrombocytopenia, the blood smears showed trombosit clumping were accepted as pseudothrombocytopenia. The patients were questioned about the recent history of drug use, infection, underlying disease and recent thrombosis history. Physical examination was performed to all patients. Coagulation parameters (Lupus anticoagulant, protein C, protein S, activated protein C resistance, fibrinogen, D-Dimer, antithrombin-3), genetic mutations (Factor V Leiden, methylenetetrahydrofolate reductase, prothrombin G20210A) about thrombophilia and antinuclear antibody, anti-dsDNA, anticardiolipin antibody, antiphospholipid antibody were studied.

Results: When the patients group compared with controls group there were not difference between lupus anticoagulant, protein C, protein S, activated protein C resistance, fibrinogen, D-Dimer, antithrombin-3, factor V Leiden, methylenetetrahydrofolate reductase, prothrombin G20210A, antinuclear antibody, anti-DsDNA, anticardiolipin antibody, antiphospholipid antibody.

Conclusion: It was shown that there was no relationship of pseudothrombocytopenia with autoimmunity and hypercoagulability.

Key Words: Pseudothrombocytopenia, hypercoagulability, autoimmunity.

GİRİŞ VE AMAÇ

Psödötrombositopeni (PST) otomatik cihaz sayımında yanlış düşük trombosit sayımıdır. Genellikle herhangi bir kanama eğilimi olmadan rastlantısal olarak tespit edilen bir durumdur (1). Çalışmalarda 'Etilendiaminotetraasetik asit (EDTA) bağımlı PST'nin; antitrombosit aktiviteye sahip, doğal otoantikörlerle ilişkili bir fenomen olduğu gösterilmiştir. Yanlış sayımı önlemede en iyi yöntem; EDTA'lı kanların 37 °C'de çalışılmasıdır. Bununla birlikte sıcak bağımsız antikörler de vardır (2). Antikoagülan olarak sitrat kullanılarak kan sayımı yapılan PST vakalarında da %20 oranında trombosit kümelenmesi gözlenmektedir (3). Heparinizasyon ile kümelenmede azalma tespit edilmiştir (4). PST olan hastalarda antikardiolipin antikör (AKA) pozitifliği anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir. Kardiyolipin absorpsiyonu sonrası PST tespit edilen hastaların çoğunda serum antitrombosit aktivitesi negatif bulunmuş ve normal kan ile inkübe edildiğinde trombosit kümelenmesi olmadığı gösterilmiştir (5). EDTA-bağımlı PST'nin sistemik lupus eritematozis (SLE) aktivasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (6). Ayrıca PST'nin ilaçlarla da ilişkisi gösterilmiştir; koroner invaziv işlem uygulanan hastalarda abciximab kullanımı sonrası gelişen trombositopeni vakalarının yaklaşık üçte birinde PST tespit edilmiştir. PST'nin antibiyotik kullanımı ile ilişkili olabileceği bildirilmişse de kanıtlanamamıştır (4,7,8,9). Tüm bu verilere rağmen PST'nin etyolojisi ve ilişkili olduğu durumlar net değildir. Bu klinik durum gereksiz tanı ve tedavi yaklaşımlarının önlenmesi açısından önemlidir (1,3). PST'nin sepsis, kalp cerrahisi ve çeşitli ilaçlarla ilişkili olabileceğinin bildirilmesi de bu konunun önemini göstermektedir (10).

Antikardiolipin antikor, antifosfolipid antikor (AFA) pozitifliği hiperkoagölabilite ve otoimmünite ile ilişkili bir durumdur (11). Bu durum PST'nin hiperkoagölabil ve diğer otoimmün durumlarla ilişkili olabileceği sorusunu gündeme getirmektedir. Bu çalışmada PST'li hastalarda hiperkoagölabilite ile ilişkili parametrelere (antitrombin (AT), protein C aktivitesi (PC), protein S aktivitesi (PS), aktive protein C (APC) rezistansı, lupus antikoagölanı (LA), D-Dimer, fibrinojen, trombofili gen mutasyonları [Faktör V Leiden (G1691A), protrombin (G20210A) ve metilentetrahidrofolatredüktaz (MTHFR) (C677T)] ve otoantikörlara (anti-nökleer antikor (ANA), anti-dsDNA, AFA, AKA) bakıldı ve birbiriyle ilişkisi araştırıldı.

GENEL BİLGİLER

PSÖDOTROMBOSİTOPENİ

Tanım

PST; kandaki antikoagülan bağımlı antitrombosit otoantikörlerinin in vitro trombosit kümelenmesine neden olması sonucu otomatik cihaz sayımında trombosit sayısının düşük tespit edilmesidir (3, 12). Bazı vakalarda otomatik cihazların kümelenmiş trombositleri beyaz küre olarak saymaları psödolökositoza da neden olabilir (13).

İnsidans

Literatüre göre hastaneye yatan hastaların % 0.03 ile %1.9'u arasında PST görülmektedir (14,15). Başka bir kaynakta ise; sağlıklı kişilerde %0.2 hastaneye yatanlarda ise %1.9 oranında PST görüldüğü tespit edilmiştir (16, 17). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise PST insidansı %0.9 ile %2.1 arasında değişmektedir (10). Her ne kadar PST çok sık görülmese de, daha ileri araştırmalar için hematoloğa sevk edilen trombositopenili hastaların önemli bir kısmını (%7.5–%15.3) oluşturmaktadır (18).

Mekanizma

PST'nin EDTA'ya spesifik olmadığı; sitrat, oksalat ve heparinin de in vitro trombosit kümelenmesine neden olduğu belirtilmiştir (19). PST'ye en sık neden olan antikoagülan EDTA'dır (20).

Klasik formunda PST; trombositlerin serumda mevcut olan IgG veya IgM tipi antitrombosit antikorlarla in vitro olarak etkileşim sonrası kümelenme göstermesidir

(12, 20). Bu antikorlar genellikle oda ısısında aktive olan, 37°C'de aktivasyon göstermeyen soğuk aglütininlerdir (3, 13, 19). Bununla birlikte PST oluşumunda; 1) Soğukta aktive olan ve EDTA bağımsız IgG tipi antikorlarla ilişkili, 2) EDTA bağımlı ve sıcaklık bağımsız IgG tipi antikorlarla ilişkili, 3) EDTA ve sıcaklık bağımlı Ig M tipi antikorlarla ilişkili olmak üzere üç mekanizma bildirilmiştir (2, 21–25).

EDTA–ilişkili PST

Belirli bazı antikoagülanların varlığında (özellikle EDTA), düşük sıcaklıkta ve kan örneğinin alınması ile çalışılması arasında geçen sürenin uzun olması durumunda PST'nin ortaya çıkma ihtimali artmaktadır (3, 5, 26, 27). EDTA ilişkili PST ilk kez Gowland ve ark tarafından 1969'da tanımlanmıştır ve EDTA ilişkili PST'nin IgG, IgM veya IgA grubundan olan antitrombosit antikorlarının trombosit yüzey antijenleri ile reaksiyona girmesi sonucu indüklendiği öne sürülmüştür (12, 19, 28). Bu antijenler EDTA ilişkilidir; normal donör trombositleri antikorlarla reaksiyona girerken Glanzman hastalığı olanlarda bu reaksiyon görülmemektedir (12). Bu durum antikor reaksiyonunda Gp IIb/IIIa'nın rol aldığını ve EDTA ile modifiye olduğunu düşündürmektedir (29–31).

EDTA–bağımsız PST

EDTA ilişkili PST sık görülmesine rağmen, EDTA–bağımsız trombosit aglütinasyonu daha az sıklıkta görülen bir durumdur; EDTA–bağımsız trombosit aglütinasyonu ile ilgili sadece birkaç vaka tanımlanmıştır (32, 33). Oda ısısında otomatik cihazlarla çalışıldığında trombosit soğuk aglütininleri EDTA–bağımsız PST'ye neden olabilirler (22). Sıcaklık bağımlı IgM antikorları 37°C'nin altında trombositleri aglütine ederler. Daha önceki çalışmalar soğuk aglütininlerle malign hastalıklar, otoimmün süreçler veya ilaçlar arasında ilişki olduğunu bildirmiştir (32). PST; genellikle EDTA–bağımlı antikorlarla ilişkili iken, bazen antikoagülan bağımsız ve trombosit soğuk aglütininleri ile ilişkili olabilir (21). Yapılan çalışmalarda trombosit soğuk aglütininlerinin IgM tipinde olduğu ve GPIIb/IIIa kompleksinden GPIIb komponentine bağlandığı gösterilmiştir (34). Akimsitometride yarışmalı blok kullanılarak yapılan analizde; EDTA–bağımsız trombosit aglütinasyonunun GPIIb/IIIa'a karşı oluşan monoklonal antikorların eklenmesi ile

bloke olabileceği gösterilmiştir. GPIIb kompleksi trombosit soğuk aglütinineri için bağlanma bölgesi oluşturmaktadır (35).

Moleküler Mekanizma/ Yapısal Değişiklikler

Otoantikolar genellikle IgG veya IgM tipindedir ve antijenik hedef ise; her ne kadar başka fosfolipid ihtiva eden antijenler tanımlanmış olsa da (5) , glikoprotein (Gp) IIb'dir (26). Gp IIb/IIIa'nın heterodimerik yapısını koruması için Ca^{+2} 'un varlığı gereklidir (36). EDTA'ya ait kalsiyum şelasyon aktivitesinin kalsiyumu Gp IIb veya Gp IIIa bağlanma bölgesinden uzaklaştırdığı düşünülmektedir, bu durum molekülün yapısında değişikliğe neden olarak daha önceki kriptik antijenin otoantikolarla etkileşimine yol açmaktadır (3). Normal donörlerde EDTA'nın, trombosit yüzey etkileşimini artırarak trombositlerin agregasyonunu engellediği gösterilmiştir. Bu nedenle EDTA-ilişkili PST'e neden olan antitrombosit antikoları trombositlerin yüzey yükünü azaltarak EDTA'nın antikoagülan etkisini ortadan kaldıracaklardır (29).

EDTA–ilişkili PST Gelişmesinde Muhtemel Nedenler

EDTA bağımlı antitrombosit antikolarının kaynağı ve ilişkisi halen bilinmemektedir. EDTA–ilişkili PST'de rol oynayan otoantikolar, yaşlanmış veya hasarlanmış trombositlerde ortaya çıkan kriptik antijenleri tanıyarak bu trombositlerin dolaşımdan kaldırılmasında rol oynayabilir (37). Bu nedenle EDTA-ilişkili PST'si olanlarda antitrombosit otoantikolarının trombosit döngüsünü artırdığı öne sürülmüştür (26). Berkman ve ark.ları EDTA-ilişkili PST'nin hastaneye yatış süresi ve hastalığın ciddiyeti ile ilişkili olduğunu ve bu nedenle de EDTA-ilişkili PST'nin kazanılmış bir durum olduğunu bildirmiştir (38). Her ne kadar EDTA-ilişkili PST tespit edilenlerde alt hastalık olarak otoimmün hastalıklar, neoplastik hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve viral enfeksiyonlar rapor edilmişse de antitrombosit antikolarının oluşumu ile ilgili tetikleyici mekanizmaya ait yayınlanmış veri yoktur (2, 38–40). Bununla birlikte van der Lelie ve ark. sepsisli hastalarda ve normal kimselerde antitrombosit antikolarının trombositlere bağlanmasının tamamen veya kısmi olarak EDTA ile ilişkili olduğunu göstermiştir (41). Sepsisli hastada parçalanmış trombositlerin kriptik antijen sunabileceğini ve böylelikle antitrombosit antikor sentezini tetikleyebileceğini öne sürmüşlerdir. Her ne kadar antitrombosit antikoların tetiklenme mekanizması bilinmese de bunlar ilgisiz bir antijene karşı gelişebilirler ve trombositlerle çapraz reaksiyon verebilirler (9). Diğer bir muhtemel

neden de mikrobiyal antijenlere veya mikrobiyal yıkım ürünü kaynaklı antijenlere karşı cevap olarak meydana gelmiş antikörlerin EDTA varlığında trombositlerde bulunan kriptik antijenlerle çapraz reaksiyon göstermesidir. Bununla ilişkili olarak mikroorganizmaların veya ilişkili ürünlerin yok edilmesi EDTA–ilişkili PST’nin kaybolması ile sonuçlanmıştır (36).

PST Gelişiminde İlaçların Rolü

Abciximab kullanımında artmış PST prevalansının nedeni net değildir. Yapılan çalışmada abciximab ile indüklenen PST’li iki hastanın trombositlerinde trombosit yüzey IgG’nin akimsitometrik analizinde, zaman ve oda ısısına bağlı yüzey IgG’de artış tespit edilmiştir ki bu durum abciximab infüzyonu yapılmadan önce alınmış EDTA’lı örneklerde veya infüzyon esnasında alınan sitrat ile antikoagüle edilen örneklerde görülmemiştir (42). Bu bulgu, bu durumun trombositlerin aglütinasyon göstermesine yol açabilecek, doğal olarak oluşan anti-Fab antikörlerine bağlı olabileceğini düşündürmüştür. Diğer bir ihtimal de; Fab parçasının fibrinojen reseptörünün beta3 komponentine bağlanmasıyla oluşan moleküldeki yapısal değişikliğin ve antikoagülanın indüklediği değişikliklerin, otoantikörlerin Gp IIb veya diğer trombosit antijenlerine karşı afinitesini artırmasıdır. Abciximabın fibrinojen reseptörlerinde yapısal değişiklikleri indüklediği bilinmektedir. Abciximabın fibrinojen reseptörlerinde yapısal değişikliği indüklemeye potansiyeli ve bazı otoantikörlerin 37°C’de yeniden aktive olması da PST mekanizmasıyla ilişkili olabilir. Bu yüzden antikoagülan olmadan da tek başına abciximab, immün ilişkili trombosit yıkımı ve trombositopeni ile neticelenen; kriptik epitoplara karşı gelişen sıcaklık bağımlı trombosit otoantikörlerinin ortaya çıkmasına neden olabilir (43, 44).

PST’nin Tespit Edilmesine Ait Metodlar

PST’nin EDTA ile sıklığının fazla olması nedeniyle bu fenomeni tespit etmek için önerilen metod; eş zamanlı olarak EDTA ve sodyum–sitrat ile antikoagüle edilmiş kandan trombosit sayımıdır. Bununla birlikte bazı araştırmacılar tarafından, antikoagülan olarak sitrat kullanımında ve hatta hirudin ve D–fenilalanin–prolin–arjinin–klormetil keton gibi şelasyon yapmayan antikoagülan kullanımında da PST görülmesi nedeniyle, EDTA–ilişkili PST terimi reddedilmektedir (27). PST’yi indükleyen otoantikörlerin daha çok 4–20°C’de zaman bağımlı olarak aktive olması nedeniyle, en güvenilir trombosit sayımının 37°C’deki kandan yapılabileceği öne

sürülmüştür. Bununla birlikte otoantikörlerin yaklaşık %17'sinin 37°C'de yeniden aktive olması nedeniyle bu metot bazı vakaların atlanmasına neden olacaktır (3). PST'yi trombositopeniden ayırt etmek için altın standart, parmak ucundan alınan ve antikoagüle edilmemiş kandan yapılan periferik yaymanın incelenmesiyle yapılan trombosit sayımıdır. PST'den şüphelenilen durumda diğer antikoagülanlar kullanılabilir ancak bunlarda da trombosit kümelenmesi görülebilir (19, 27). Sakurai ve arkadaşları, hastanede yatan hastalarda gelişen PST öncesi bu hastaların 4–10 gün kadar antibiyotik tedavisi aldığını bildirmiştir. Otoantikörlerin önce antibiyotiklere karşı oluştuğunu daha sonra trombosit membranları ile çapraz reaksiyona girdiği hipotezini öne sürdüler. EDTA'lı tüplere aminoglikozit eklenmesinin PST'yi önlediğini ve trombosit kümelenmesi sonrası aminoglikozit eklenmesinin agregasyonu çözdüğünü gösterdiler (9).

HİPERKOAGÜLABİLİTE

Hemostazis; kanın dolaşımında akışkan halde kalmasını sağlayan fizyolojik bir mekanizmadır. Koagülasyon çözünebilir plazma proteinleri ve hücresel komponentlerle sağlanmaktadır (45). Antikoagülan ve protrombotik aktiviteler arasındaki denge koagülasyon yönünde bozulursa hiperkoagülabil durum ortaya çıkar (46). Hiperkoagülabil durumlar tromboza eğilim ile karakterizedir ve trombofili olarak adlandırılırlar (47, 48).

APC Rezistansı/ FV Leiden Mutasyonu

Trombin (FIIa); fibrinojenin fibrine dönüşümünü sağlar ve trombositleri aktive eder (49). Damar endoteli üzerindeki trombomoduline bağlanarak aktive olan trombin; protein C'nin aktif formuna dönüşmesini sağlar. Aktive protein C (APC) kofaktörü olan protein S varlığında etki gösterir. Protein S'nin % 40 kadarı serbest halde bulunur ve bu serbest kısım APC için kofaktör olarak rol alır (50). Trombin ile başlayan koagülasyon kaskadının ilerleyen bölümünde serbest protein S ve fosfolipid varlığında APC, faktör Va ve VIIIa'yı inaktive eder; bu şekilde trombin oluşumu inhibe edilir (51).

APC/aktive protein S (APS) kompleksi FVa ve FVIIIa yıkımında rol alır. FVa ve FVIIIa'nın azalması ise fibrin oluşumunda azalma ile sonuçlanır ve bu şekilde pıhtı oluşumu önlenmiş olur. FV aynı zamanda kendisi de APC ve APS aracılıklı FVIIIa yıkımında rol alır (50).

APC rezistansı olan kimselerde mutant FV vardır, bunlar APC'nin proteolitik etkisine karşı dirençlidirler. Faktör V Leiden'de Arg506Gln değişikliği faktör Va'nın protein C ile parçalanması için tutar. Vakaların %95'inden fazlasında 1. ve 3. arjinin bölgelerinde mutasyon vardır, bu FV Leiden mutasyonu olarak bilinir. Bu mutasyon faktör Va'nın proteolitik inaktivasyonunu yavaşlatır ve trombin oluşumunu artırır, aynı zamanda APC ile faktör VIIIa inaktivasyonunu da bozar (52–54).

FV Leiden mutasyonu beyaz ırkta %3–5 oranında heterozigot formda görülmektedir. Diğer ırklarda ve etnik gruplarda, özellikle Afrika ve Asya kökenlilerde, çok nadirdir. FV Leiden mutasyonu varlığı primer olarak venöz tromboz olmak üzere, tromboz oluşumu için genetik risk oluşturmaktadır. FV Leiden heterozigot olanlarda venöz tromboz riski 3–10 kat artarken homozigot olanlarda bu risk 80 kata kadar çıkmaktadır (55, 56).

Protrombin Gen Mutasyonu

FV Leiden'in bulunmasından birkaç yıl sonra tromboz için risk faktörü oluşturan diğer bir gen mutasyonu tespit edildi. 1996'da Poort ve ark.'ları, protrombin geninde 20210 pozisyonunda arjinin yerine glisin geçtiğini ve bu mutasyonda tromboz riskinin 3 kat arttığını göstermiştir. Leiden Trombofili Çalışması'nda bu risk artışı 2.8 kat olarak belirtilmiştir. Yapılan çalışmada tromboz açısından güçlü aile hikayesi olan hastaların %18'inde mutasyon tespit edilirken, sağlıklı kontrol grubunda bu oran %1 idi. Takip eden çalışmalarda genel populasyonda protrombin gen mutasyon prevalansının %2–5 olduğu gösterilmiştir (57).

Protrombin gen mutasyonunun neden artmış tromboz riski oluşturduğuna dair mekanizma açık değildir. Mutasyon olan çoğu olguda hiperprotrombinemi görülmektedir, bu da daha fazla trombin aktivitesine neden olur. Protrombin gen 20210A mutasyonu karaciğerde protrombin sentezinde artışa neden olur, bu durum hiperprotrombinemiyi açıklayabilir (58).

FV Leiden mutasyonu gibi protrombin gen mutasyonu da beyaz ırkta fazla görülmektedir. Heterozigotlarda tromboz riski yaklaşık 3 kat fazla iken, homozigot durum çok nadir tanımlanmıştır ve tromboz riski hem protrombin gen mutasyonu olan ve hem de başka bir kalıtsal trombofilisi olanlarda yüksektir (57, 58).

Antitrombin Eksikliği

1918’li yıllarda heparinin etkinlik gösterebilmesi için bir kofaktöre ihtiyaç duyduğu fark edilmiştir. Yapılan çalışmalar ile eksikliği tromboz için risk oluşturan bu kofaktörün antitrombin olduğu tespit edilmiştir (57).

Antitrombin; trombin, aktive faktörler IX, X, XI, XII’ye bağlanarak bunları inaktive eden doğal bir antikoagülandır. Antitrombin trombinin hem oluşumunu hem de yarı ömrünü azaltır. Heparinin antitrombine bağlanmasıyla antitrombinin inaktivasyon özelliği artar. Antitrombini azaltan veya antitrombinin aktive faktörler veya heparin ile etkileşimini engelleyen her türlü olay tromboz riskini artırmaktadır (48, 57).

Genellikle 2.–3. dekatta olmak üzere tekrarlayan venöz tromboemboliler görülmektedir. Arterial tromboz ve heparin rezistansı sık görülmez. Antitrombin eksikliği kalıtsal trombofililerin en ciddilerindedir ki tromboz riski mutasyon olmayanlara göre 20 kat artmıştır. Bu durum ömür boyu antikoagülasyon gerekçesi olabilir. Venöz trombozu olanlarda prevalans %1–3 tespit edilmiştir. (48, 57, 58).

Protein C Eksikliği

Protein C, K vitaminine bağlı olarak karaciğerde sentezlenen bir glikoproteindir. Trombin-trombomodulin kompleksi ile aktive olduktan sonra FVa ve FVIIIa yıkımında rol alır. Protein C eksikliğine neden olan herhangi bir mutasyon tromboz riskini artırır (48, 57).

Antitrombin eksikliği gibi protein C eksikliği de otozomal dominant geçiş gösterir. Hastalarda genellikle 45 yaşından önce tromboz hikayesi vardır. FV Leiden ile birlikteliği nadir değildir. Heterozigotlarda risk 10 kat artmıştır. Normal popülasyondaki oranı %0,2–0,4 iken venöz trombozu olanlarda prevalans %3–5’e kadar çıkmaktadır (57, 59). K vitaminine bağlı olmasından dolayı K vitamini eksikliğinde de protein C seviyesi düşüş gösterebilir (57, 58).

Protein S Eksikliği

Protein S; K vitaminine bağımlı olarak vasküler endotelde, karaciğerde ve diğer dokularda sentezlenen bir glikoproteindir. Faktör Va ve FVIIIa’nın APC tarafından yıkımında kofaktör olarak rol alır. Protein S aynı zamanda doğrudan F Va ve Xa yıkımında da rol alır. Mutasyonlar sonucu protein S seviyesinde veya aktivite

düzeyinde veya her ikisinde birden azalma olmakta, bu da tromboz riskini artırmaktadır (48, 57, 58).

Protein S seviyesi akut tromboz sonrası ve warfarin ile antikoagülasyon sonrası düşebilir (60). Bu nedenle antikoagülasyon tedavisi tamamlandıktan en az 2 hafta sonra ölçüm yapılmalıdır (58). Protein S'in yaklaşık yarısı C4 bağlayıcı protein'e (C4BP) bağlı olarak bulunur. Protein S'in serbest kısmı etkilidir; C4BP seviyesinde artış protein S aktivitesinde azalma ile ilişkilidir. C4BP seviyesi hamilelikte, OKS kullanımında, SLE ve inflamatuvar barsak hastalıkları gibi inflamatuvar durumlarda artabilir (57, 58).

Antifosfolipid Sendromu/Antikorları

Antifosfolipid antikorları; hedefe olan 'özgüllükleri ve ilgileri' değişkenlik gösteren, fosfolipidleri, fosfolipid-bağlayan-proteinleri veya her ikisini tanıyan otoantikor ailesidir. Antifosfolipid sendromu (AFS), antifosfolipid antikorları ve hiperkoagülabilité arasındaki klinik ilişkiyi göstermek için kullanılmıştır. İlk tespit edilen antifosfolipid antikorları mitokondrial bir fosfolipid olan kardiolipine karşı gelişen anti-kardiolipin antikorları olmuştur. Antikardiolipin antikorları sadece sifilize veya diğer bazı infeksiyon hastalıklarına özgü değildir, SLE'de veya antifosfolipid sendromunda da görülür (11, 61).

Genellikle antifosfolipid sendromu için lupus antikoagülan antikorları daha spesifik iken antikardiolipin antikorları daha sensitiftir. Antifosfolipid sendromu için antikardiolipin antikorlarının spesifitesi titre artışı ile birlikte artar ve IgG için IgM'ye göre daha yüksektir (11, 61).

Lupus antikoagülan antikorları klinik olarak kanamadan ziyade tromboembolik olaylarla ilişkilidir. Antifosfolipid antikorları hem antikoagülan hem de prokoagülan yolu etkiler. Birçok in vitro koagülasyon tetkiklerinde kullanılan fosfolipid yüzey, prokoagülan yolların inhibisyonuna ve böylece pıhtılaşma zamanının uzamasına neden olurken, in vivo olarak hücre membranlarının mikroyapısı antikoagülan yolun inhibisyonuna ve böylelikle tromboza neden olur (62).

Gerçekte bazı antifosfolipid antikorları, hücre yüzeyinde anyonik fosfolipid sunan normal asimetrik membran fosfolipid dağılımını kaybetmiş aktive trombositlerle ve apoptotik hücrelerle reaksiyona girerler (63).

Antifosfolipid antikorları aynı zamanda enfeksiyon, kanser, ilaç kullanımı veya hemodiyaliz gibi durumlarda da görülebilir; bunlar genellikle düşük titrededir ve IgM tipindedir, trombotik olaylarla ilişkili değildir (11).

Antifosfolipid antikorları genç erişkinlerde görülebilir. Hem antikardiolipin antikor hem de lupus antikoagülan antikorlarının sağlıklı kontrol grubunda prevalansı %1–5'tir. Diğer antikorlar gibi antifosfolipid antikorların prevalansı da, özellikle kronik hastalığı olanlarda olmak üzere, yaş ile birlikte artmaktadır. SLE hastalarında antifosfolipid antikorları prevalansı daha yüksektir; bu oran antikardiolipin antikorları için %12–30'a ulaşırken, lupus antikoagülan antikorları için %15–34'tür (46, 48).

Birçok hastada klinik olmadan laboratuvar olarak antifosfolipid antikorları tespit edilmiştir. Sağlıklı kontrol grubunda antifosfolipid sendromu ile ilişkili olarak antifosfolipid antikorları pozitif olanlarda gelecekte hangi oranda trombotik olayın gelişeceğine veya gebelikle ilgili problem çıkıp-çıkmayacağına dair veri yetersizdir. Aksine 20 yıllık takipte SLE tanısı ve antifosfolipid antikor pozitifliği olanlarda %50–70 oranında antifosfolipid sendromu gelişmektedir (46). Ne var ki SLE tanısı ve antikardiolipin antikor pozitifliği olanların yaklaşık %30'unda 7 yıllık takipte antifosfolipid sendromuna ait herhangi bir klinik ortaya çıkmamıştır (11, 61).

Antifosfolipid antikor tespit edilen hastalardan kimlerin trombotik olay için artmış risk altında olduğunun tespiti önemli bir konudur. Tromboz hikayesi olması, lupus antikoagülan varlığı ve artmış antikardiolipin antikor IgG varlığı önemli risk faktörleridir, her birisi için tromboz riski beş kat artmaktadır. Antifosfolipid antikorlarının süreklilik göstermesi de tromboz riskini artırmaktadır. Daha öncesine ait tromboz hikayesi dışında hiçbir tedavi için risk faktörü olarak kabul edilmez (11, 61).

AFA'nın trombin oluşumunu engelleyerek trombomodulin-protein C–protein S sistemini etkilediği gösterilmiştir. Protein C, AKA'nın hedefi olabilir (61).

Antifosfolipid Antikorlarının Trombositler Üzerine Etkisi

Antifosfolipid antikorları aynı zamanda trombositleri aktive etmekte ve trombosit agregasyonunu uyarmaktadır. Primer AFS'da ve SLE'de artmış trombosit aktivasyonu vardır (61).

Tromboz Mekanizması

Antifosfolipid antikorlar; trombosit aktivitesinde, prokoagulan veya antikoagulan yollarda ve endotel fonksiyonunda değişiklik sonucu tromboza neden olabilir. Trombosit aktivasyonunun antifosfolipid antikorlar ile ilişkili trombozda rol oynadığına dair çeşitli olasılıklar göz önünde bulundurulmaktadır. Bunlardan birisi, antifosfolipid antikorlar ile ilişkili trombozların birçoğunda trombositopeni tespit edilmesidir ki bunun daha çok immün kökenli olabileceği düşünülmektedir. İkinci olarak antifosfolipid antikorlar ile antitrombosit antikorları arasında bir ilişkinin olmasıdır. Üçüncüsü de arterial veya venöz trombotik olayların varlığıdır. Bununla birlikte, bahsedilenin aksine diğer bir çalışmada AFA antikorlarının dolaşan trombositlere bağlanmasına rağmen, tespit edilen trombosit aktivasyonu olmadığı görülmüştür (61).

Lupus Antikoagulanı

Lupus antikoagulanı (LA), fosfolipid–bağımlı koagülasyonu in vitro olarak uzatan bir antikordur. SLE’de görülmekle birlikte lupus harici durumlarda da sıklıkla görülmektedir. Lupus antikoagulan ve AKA’ların sadece fosfolipidlerle reaksiyona giren immünglobülinler olduğu düşünülürken; yeni çalışmalarla bu antikorların doğrudan beta2–glikoprotein1 üzerindeki antijenik yapıyla veya protrombin ile reaksiyona girdiği ve oluşan antijen-antikor kompleksinin anyonik fosfolipide bağlandığı gösterilmiştir. Beta2-glikoprotein 1 üzerindeki antijenik yapılar poliklonal reaktivite göstermektedir ki bu durum neden bazı AKA’ların antikoagulan aktivite gösterirken bazılarının göstermediğini kısmen açıklar. Bazı hastalarda AKA’ları kardiolipinlerle in vitro reaksiyon gösterirken fosfolipid bağımlı koagülasyon testlerinde uzamaya neden olmaz (61).

OTOİMMÜNİTE

İmmün sistemin özelliklerinden birisi de kişiye ait olanla olmayanı ayırt edebilme kapasitesidir. Kişiyeye ait immün sistem birçok yabancı maddeyi tanıma ve onlara karşı reaksiyon geliştirebilmesine rağmen -normal şartlarda- kişiyeye ait antijene karşı immün cevap oluşturmaz ve bunlara karşı tolerandır. Kişiyeye ait olanın tanınmasında bellek T ve B hücreleri önemli rol oynar, böylelikle kendi antijenlerine immün cevap sonucu ortaya çıkabilecek T hücre aracılıklı yıkıcı mekanizma engellenmiş olur. Bu

yüzden otoimmünite; immün toleransda rol oynayan mekanizmalardan birinde veya daha fazlasında olan aksamayı göstermektedir (64, 65).

Otoimmün hastalıktaki temel özellik, kişinin kendi dokusuna karşı immünolojik reaksiyon sonucu doku hasarının meydana gelmesidir (64).

Otoimmünite yaşlılarda artan oranda olmak üzere normal insanlarda da görülebilir. Ayrıca birçok enfeksiyon durumunda otoreaktivite meydana gelebilir. Otoimmünite geçici –enfeksiyöz durumlarda olduğu gibi– veya kalıcı olabilir. Otoimmünite, enfeksiyon, travma ve infarkt sonucu meydana gelen doku hasarı sonrası ortaya çıkabilir. Organ patolojisi durumunda bile bunun otoreaktiviteye bağlı olup olmadığını tespit etmek zordur (64).

Halihazırda otoantijenlere karşı cevap oluşmamasında 3 temel mekanizma vardır: 1) kişiye ait antijenlerin birikimi (immün sistemin etki etmesini engeller); 2) ilgili T ve B hücrelerinin spesifik cevapsızlığı; 3) potansiyel reaktivasyonun düzenleyici mekanizmalarla sınırlandırılması. Bu normal süreçteki aksama otoimmünite gelişimine öncülük edebilir. Bu durumda otoimmünite, genellikle bakteriyel veya viral ajanlar gibi eksojen ajanların stimülasyonu veya immün sistem hücrelerindeki anormallikler gibi endojen olaylarla ilgilidir. Otoantijene karşı reaktif olan T ve/veya B hücresi, ilgili reseptör ile etkileşirse otoimmünite gelişebilir. Alternatif olarak; mikrobiyal ürün ve kişiye özgü antijen arasındaki çapraz reaksiyon veya moleküler benzerlik otoreaktif lenfositlerin aktivasyonu ile sonuçlanabilir. Bu konudaki en güzel örnek romatizmal ateşte moleküler benzerlikten kaynaklanan immün cevaptır. Streptokok M antijenleri myozin, laminin ve diğer matriks proteinleri ile çapraz reaksiyon gösterir. Tip 1 diabetes mellitusda, romatoid artrit, multiple sklerozda mikrobiyal proteinler ve konakçı dokusu arasında moleküler benzerlikler rapor edilmiştir. Otoantijenler yardımcı (enfeksiyon gibi) bir durum varlığında daha immünojenik hale gelmektedir. Enfeksiyöz ajanların molekül yapısını değiştirerek kişiye özgü toleransı bozduğu tahmin edilmektedir (64, 65).

İmmün sistemin endojen olarak bozulması kişiye özgü antijenlere karşı toleransın kaybolması ve otoimmünite gelişimi ile ilgili olabilir. (Tablo1). Birçok otoantijen immünolojik olarak korunmuş bölgelerde bulunurlar (beyin, gözün ön kamarası gibi). Lenfoid hücreler; immünolojik olarak korunmuş bölgeden sunulan proteinlere karşı immünolojik olarak cevapsızlık halinde bulunurlar. Bu korunmuş bölgede

travma veya inflamasyon nedeniyle doku harabiyeti oluştuğunda veya T hücresi herhangi bir şekilde aktive olduğunda bu proteinlere karşı saldırı meydana gelir (64).

Tablo–1. Otoimmünite Nedenleri

I. Eksojen Nedenler

- A. Moleküler benzerlik
- B. Süperantijenik stimülasyon
- C. Mikrobiyal yardım-adjuvanlar

II. Endojen Nedenler

- A. Antijen sunumunda değişiklik
 - 1. İmmünolojik korunmuşluğun kaybı
 - 2. Yeni veya gizli epitoplara ortaya çıkması
 - 3. Self-antijenlerde değişiklik
 - 4. Antijen sunucu hücrelerin artmış fonksiyonu
 - a. Ko-stimülatör molekül ekspresyonu
 - b. Sitokin üretimi
- B. Artmış T hücre yardımı
 - 1. Sitokin üretimi
 - 2. Kostimülatuar moleküller
- C. Artmış B hücre fonksiyonu
- D. Apoptotik defektler
- E. Sitokin dengesizliği
- F. Değişmiş immünregülasyon

Antijen sunumundaki değişiklikler de aynı zamanda otoimmünite ile ilişkili olabilir. İnfamasyon, ilaç alımı veya normal hücre yaşlanması; proteinlerde normal kişiye özğü proteinlerle çapraz reaksiyon veren ve immün cevap oluşumu ile sonuçlanan, kimyasal değişikliğe neden olur. Otoantijenlerin sunumu ve tanınmasındaki bu

değişiklik, bazı organ spesifik otoimmün hastalık modellerindeki immünreaktivitenin önemli bir bileşeni olabilir. Ayrıca bu faktörler ilaç ile tetiklenmiş otoimmün durumların patogenezinin anlaşılmasında yardımcı olabilir (64, 65).

Deneysel modellerle yapılan çalışmalar; yoğun T lenfosit uyarılmasının çok sayıda otoantikor oluşumuyla birlikte olan poliklonal B hücre aktivasyonuna neden olduğunu göstermiştir (Antinükleer antikor, antieritrosit antikor, antilenfosit antikor gibi). T hücrelerinin yaygın olarak uyarılması otoimmüniteye neden olur, B hücrelerinin spesifik olmayan uyarılması da otoantikor oluşumu ile sonuçlanabilir (64, 65).

T ve/veya B hücre aktivitelerindeki primer değişiklik, sitokin dengesizliği veya defektif immünoregulator döngü de otoimmünitenin ortaya çıkmasında rol oynayabilir (64, 65).

Otoimmün Hastalıklarda İmmünopatojenik Mekanizma

Otoimmün hastalıklarda doku hasarı antikor aracılı ve hücre aracılı olmak üzere iki farklı mekanizma ile meydana gelir (64).

Otoantikorların patojenitesi çeşitli mekanizmalarla ortaya çıkar; 1) çözünebilen faktörlerin veya hücrelerin opsonizasyonu ile, 2) inflamatuvar kaskadın kompleman sistemi ile aktivasyonu sonucu ve 3) çözünebilen moleküllerin ve hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarının engellenmesi ile meydana gelebilir (64).

İmmün trombositopenik purpurada (İTP) trombositlerin opsonizasyonu trombositleri fagositler için hedef haline getirir. Burada Gp IIb/IIIa üzerinden etki gösterirler. Benzer şekilde, otoimmün hemolitik anemide de immünglobülinlerin eritrosit membranına bağlanması opsonize hücrelerin fagositozuna ve lizisine neden olur (64).

Otoantikorlar aynı zamanda hücrelerin veya çözünebilen faktörlerin normal fizyolojik fonksiyonunu engellerler. Antijenlerin gerçek lokalizasyonu, antikorun afinitesi ve birleşme özelliği ve belki de diğer karakteristikleri antikor bağlanmasının aktivasyon veya blokaj yönünde olan sonucunu etkileyecektir (64).

HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışmaya Aralık 2004–Nisan 2006 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji ünitesine başvuran 29 hasta alındı. Trombositopeni görülen her hasta PST açısından değerlendirildi. Otomatik cihaz sayımında düşük trombosit sayımı tespit edilmesine rağmen periferik yaymada trombositlerin yeterli veya kümeli olduğu durum PST olarak kabul edildi (4, 8, 10). Yaş ve cinsiyet uyumu olan 20 kontrol grubu alındı. Çalışma için EÜTF etik kurul onamı alındı.

Hastalar yakın zamana kadar kullandıkları ilaçlar, altta yatan hastalık hikayesi, yakın zamana ait enfeksiyon hikayesi açısından sorgulandı. Çalışmaya alınan hastalarda yakın zamanda geçirilmiş enfeksiyon ve antibiyotik kullanım öyküsü yoktu.

Hastaların tam kan sayımı otomatik XT 2000i cihazında oda ısısında yapıldı. Trombosit sayısı $150 \times 10^9/L$ 'nin altında olması durumunda periferik yayma trombosit kümelenmesi açısından incelendi. Trombosit kümelenmesi olan veya trombosit sayısı cihaz sayımına göre daha yüksek tespit edilen hastalar çalışmaya alındı. Çalışmanın başlangıcında, trombositopeni tespit edilen ve periferik yayması PST ile uyumlu olan vakaların kan sayımları heparin ile antikoagüle edilerek tekrarlandı ve kontrol trombosit sayımının yüksek olduğu tespit edildi. Yapılan çalışmalarda çeşitli antikoagülan kullanımında da PST görülebileceğinin gösterilmesi nedeniyle vakaların çalışmaya alınmasında periferik yaymada trombosit kümelenmesi veya trombosit sayısının cihaz sayımına göre yüksek olması esas tutuldu (25).

PST tespit edilen hastalarda; 6 cc sitratlı periferik kan örneğinden MDA-2 koagülometre cihazında fibrinojen, D-Dimer, lupus antikoagulan antikorları, Protein C, Protein S, antitrombin ve aktive protein C (APC) rezistansına bakıldı. Periferik kan örneğinden otoimmün markırlar (antinükleer antikor, anti-dsDNA, AFA, AKA) çalışıldı.

Trombofili ile ilgili genetik parametrelerden FV Leiden mutasyonu, protrombin gen mutasyonu ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) gen mutasyonu için 6 cc periferik kan sitrat ile antikoagüle edilerek oda ısısında genetik laboratuvarına ulaştırıldı. Standart fenol-kloroform yöntemiyle periferik kan lenfositlerinden genomik DNA eldesi yapıldı. 10*PCR buffer (Promega) , 1 ünite Taq polimeraz, 1.5 mmol/L MgCl₂, 200µmol/L her bir dNTP, 5 µl genomik DNA ve her bir primerden 50pmol içeren 50 µl reaksiyonda 94⁰C'de 5 dakika, takiben 35 siklus 1 dakika 94⁰C'de, 1 dakika 56⁰C'de, 1 dakika 72⁰C'de ve son siklus 72⁰C'de 5 dakika olmak üzere PCR amplifikasyonu yapıldı. Amplifikasyon sonrası FII ve FV polimorfizmini tespit etmek için Hind III (Promega), MnlI [MBI] ve MspI [Promega] enzimleri ile sınırlayıcı işlem uygulandı. Bu işlem ürünleri ve PCR ürünleri %2'lik agaroz jel veya %10 poliakrilamid jel kullanılarak ayrıldı. Etidiyum bromid ile boyandıktan sonra UV ışığı altında incelendi. DNA eldesi sonrası benzer işlemler MTHFR için de uygulandı.

İstatistik

Sonuçların değerlendirilmesinde her iki grubun da kesikli değişkenler olması durumunda Chi-Square testi, kesikli ve sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında normal dağılıma uymaması durumunda (nonparametrik) Mann-Whitney U, kesikli ve sürekli değişkenlerin normal dağılımına uyması durumunda (parametrik) Student T testi uygulandı. İki'den fazla değer olduğu kesikli değişkenlerle sürekli olan değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis H testi uygulandı. P<0.05 olması durumunda sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

DEMOGRAFİK VERİLER

Çalışmaya alınan hastaların 14'ü (%48.3) kadın iken, 15'i (%51.7) erkek idi. Kontrol grubunda ise 10 kadın (%50) ve 10 erkek (%50) vardı. Kadınların yaşları ortanca 28(21,67) iken, erkeklerde ise 55(17,72) idi. Hastaların 15'inde (%51.7) anemi tespit edilirken, 7'sinde (% 24.1) hipertansiyon (HT), 7'sinde de (%24.1) malignite mevcut idi. 4 hastada (%13.8) renal fonksiyon bozukluğu varken, 3 hastada (%10.3) tekrarlayan gebelik kaybı hikayesi tespit edildi. Oral kontraseptif (OKS) kullananların sayısı 2 (%6.8) idi.

KLİNİK SONUÇLAR

PST tespit edilen hastaların 19'unda (%86.4) FV Leiden mutasyonu negatif iken hastaların 1'inde (%4.5) FV Leiden mutasyonu heterozigot; ikisinde (%9.1) ise homozigot idi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

PST tespit edilen 29 hastanın 22'sinde trombofili gen mutasyonları çalışılabilmiştir (Tablo-2).

Tablo–2. FV Leiden gen mutasyonunun hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı

		Hasta		Kontrol		Toplam	
		S	%	S	%	S	%
FV	Negatif	19	86.4	15	88.2	34	87.2
	Heterozigot	1	4.5	2	11.8	3	7.7
	Homozigot	2	9.1	0	0	2	5.1
Toplam		22	100	17	100	39	100

P: 0.23

PST tespit edilen hastaların 8'inde (%36.4) MTHFR mutasyonu negatif iken hastaların 11'inde (%50) MTHFR mutasyonu heterozigot; üçünde (%13.6) ise homozigot idi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo–3)

Tablo–3. MTHFR gen mutasyonunun hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı

		Hasta		Kontrol		Toplam	
		S	%	S	%	S	%
MTHFR	Negatif	8	36.4	7	41.2	15	38.5
	Heterozigot	11	50	9	52.9	20	51.3
	Homozigot	3	13.6	1	5.9	4	10.3
Toplam		22	100	17	100	39	100

p: 0,751

PST tespit edilen hastaların 21'inde (%95.4) Protombin G20210A gen mutasyonu negatif iken hastaların 1'inde (%4.6) Protombin G20210A gen mutasyonu heterozigot idi; hastaların hiçbirinde homozigot gen mutasyonu tespit edilmedi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo-4)

Çalışmaya alınan hastaların hiçbirinde tromboz hikayesi yoktu.

Tablo-4. Protrombin G20210A gen mutasyonunun hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı

		Hasta		Kontrol		Toplam	
		S	%	S	%	S	%
Protrombin	Negatif	21	95.4	17	100	38	97.4
	Heterozigot	1	4.6	0	0	1	2.6
Toplam		22	100	17	100	39	100

p:0,553

PST tespit edilen hastaların 2'sinde (%6,9) antikardiolipin antikoru pozitif tespit edilirken 27'sinde (%93.1) antikardiolipin antikoru negatif idi. . Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$) (Tablo-5).

Tablo-5. AKA'nın hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı

		Hasta		Kontrol		Toplam	
		S	%	S	%	S	%
AKA	Pozitif	2	6.9	0	0	2	4.1
	Negatif	27	93.1	20	100	47	5.9
Toplam		29	100	20	100	49	100

p:0.350

PST tespit edilen hastaların birinde (%3.4) antifosfolipid antikoru pozitif tespit edilirken 28'inde (%96.6) antikardiolipin antikoru negatif idi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo-6)

Tablo-6. AFA'nın hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı

		Hasta		Kontrol		Toplam	
		S	%	S	%	S	%
AFA	Pozitif	1	3.4	0	0	1	2
	Negatif	28	96.6	20	100	48	98
Toplam		29	100	20	100	49	100

p:0.596

PST tespit edilen hastaların 3'ünde (%10.3) ANA pozitif tespit edilirken 26'sında (%89.7) ANA negatif idi. . Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). PST tespit edilen hastaların hiçbirinde anti-dsDNA antikoru pozitif değildi. (Tablo-7)

Tablo-7. ANA'nın hasta grubu ve kontrol grubu arasında dağılımı

		Hasta		Kontrol		Toplam	
		S	%	S	%	S	%
ANA	Pozitif	3	10.3	0	0	3	6.1
	Negatif	26	89.7	20	100	46	93.9
Toplam		29	100	20	100	49	100

p: 0.26

AFA tespit edilen hastalarda aynı zamanda AKA pozitifliği mevcut idi. Hasta grubu ve kontrol grubu arasında PS, PC, fibrinojen, D-Dimer, LA antikorları, AT ve APC rezistansı açısından fark yoktu.

TARTIŞMA

EDTA ile ilişkili PST; EDTA ile yapısal değişikliğe uğramış trombosit antijenlerinin, otoantikörler tarafından tanınması sonucu in vitro olarak trombosit kümelenmesidir. Bu durum sağlıklı bireylerde görülebildiği gibi çeşitli hastalıklarda da görülebilir. İnsidansı %0.09 ila %0.21 arasında değişmektedir (66). PST genellikle antikoagölan olarak EDTA veya diğer antikoagölanlar ile ilişkili olarak ortaya çıkar (27).

PST'nin sepsis, kanser, kardiyak cerrahi, ilaçlar ve yanık ile ilişkili olabileceğine dair vakalar bildirilmişse de bununla ilgili geniş çalışmalar yoktur (10). Bizzaro N ve ark. yaptığı çalışmada 112 vakanın 54'ü rutin kontrol esnasında tespit edilirken 49 vakada otoimmün olmayan çeşitli hastalıklar mevcuttu. Hastaların dokuzunda otoimmün hastalık veya lenfoproliferatif hastalık; ikisinde immün trombositopenik purpura (İTP), 2 hastada hipertroidi, bir hastada Hashimoto tiroiditi, bir hastada Waldenström makroglobulinemisi, bir hastada önemi bilinmeyen monoklonal gamopati, bir hastada timoma ve bir hastada da SLE mevcuttu (3). Berkman N. ve ark.larının yaptığı çalışmada ise altta yatan hastalığın en sık neoplastik hastalıklar (%22) ve aterosklerotik hastalıklar (%22) olduğu tespit edilmiştir (38). Bizim çalışmamızda %51.7 ile anemi ilk sırada iken malignite ve HT %24.1 oranında tespit edilmiştir. Gebelik ve gebelik kaybı %13.8 oranında iken renal fonksiyon bozukluğu da aynı oranda bulunmuştur. Gerek Bizzaro N ve gerekse Berkman N'nin yaptığı çalışmalarda ilginç olarak İTP vakalarında da PST tespit edilmiştir ki bizim

çalışmamızda da 2 İTP vakası mevcuttu. Çalışmamıza alınan hastaların 8'inde rutin tetkikler sırasında PST tespit edilmiştir.

Akut bronşit nedeniyle levofloksasin ve seftriakson alan hastada PST geliştiğine ve bu hastada IgG tipi antitrombosit antikorda artış tespit edildiğine dair bir vaka rapor edilmiştir (8). Sakurai S ve ark.'nın yaptığı 27 vakalık çalışmada; PST gelişen yatan hastaların PST gelişmeden önceki 4–10 gün içerisinde antibiyotik aldığı tespit edilmiş ve trombositlere karşı oluşan antitrombosit antikorlarının EDTA-ilişkili PST'de rol oynadığı düşünülmüştür (9). Bizim çalışmamızda çalışmaya katılan hastaların hiçbirisinde antibiyotik kullanım hikayesi yoktu.

Enfeksiyon (bakteriyel ve viral ajanlar), ilaç kullanımı (antibiyotik), travma gibi eksojen nedenler otoantikor üretimini uyarabilir, antijenin yapısal özelliklerini değiştirerek antikor ile reaksiyona uyumlu hale getirebilir veya antijene benzer moleküler özellik gösterebilir (64, 67, 68). Vakalarımızda enfeksiyona ait bulgu ve hikaye yoktu.

SLE tanısı olan bir hastanın tam kan sayımında, antikoagülan olarak EDTA kullanıldığında trombositlerde agregasyon ve trombosit sayısında düşüklük tespit edilirken antikoagülan olarak heparin-teofilin kullanıldığında ise agregasyon gözlenmemiş paltelet sayımı normal bulunmuştur. Bu gözlem sonrası EDTA ilişkili PST tanısı konmuş ve yapılan flowsitometrik çalışmada Ig M tipi EDTA ilişkili antitrombosit antikorlar gösterilmiştir. Steroid tedavisi ile semptomlarda ve EDTA ilişkili PST'de düzelme izlenmiş, EDTA ilişkili antitrombosit antikorları kaybolmuştur. Hastanın klinik durumu EDTA ilişkili PST'nin SLE aktivasyonu ile ilişkili olabileceğini gündeme getirmiştir (6). AFA antikorlarının sık görüldüğü SLE'de PST daha sık beklenirken çalışmamızda hastalardan sadece birinde SLE tanısı mevcuttu bu vakada AKA, AFA ve lupus antikoagülanı negatif idi. Bizzaro N ve ark.larının yaptığı çalışmada da sadece bir vakada SLE tespit edilmiştir (3)

AKA'lar sadece sifilize veya diğer bazı enfeksiyon hastalıklarına özgü değildir SLE'de veya antifosfolipid sendromunda, kanser hastalarında, hemodiyaliz hastalarında da görülür (11). AFS; antifosfolipid antikorları (LA, AKA gibi) ve venöz veya arterial tromboz veya obstetrik komplikasyonlarla ilişkili otoimmün bir tablodur (69, 73). AFS, SLE ile ilişkilidir (11,70). PST'nin AFA'ları ve antitrombosit antikorları ile ilişkisinin araştırıldığı 88 hastanın katıldığı bir çalışmada; EDTA

ilişkili PST olan hastaların 72'sinde (%81.8) EDTA ilişkili antitrombosit antikorları (44 IgM, 25 IgG, 3 IgA) görülmüştür. Aynı serumda antikardiolipin antikorları da çalışılmış 56 hastada (%63.6) reaktif tespit edilirken (33 IgM, 21 IgG, 2 IgA), antitrombosit antikorları negatif olan 16 hastada AKA'ları da negatif tespit edilmiştir. Antitrombosit ve antikardiolipin antikorları arasındaki uyumluluk %82.9 bulunmuştur. Kardiyolipin absorpsiyonu sonrası çoğu PST'li hasta serumunda antitrombosit aktivitesi negatif tespit edilmiştir ve normal kan ile inkübe edildiğinde trombosit kümelenmesi izlenmemiştir. Bu bulgu antitrombosit antikorlarının negatif yüklü fosfolipidlerle çapraz reaksiyon verdiğini göstermiştir. Bulgular negatif yüklü fosfolipidlere karşı oluşan antikor alt gruplarının EDTA ile modifiye olmuş trombosit membran antijenlerine bağlanabileceği hipotezini desteklemektedir ki bu durum PST oluşumundan sorumlu olabilir (5). Bizzaro N ve ark.'larının aksine çalışmamızda sadece 2 hastada AKA pozitif iken bir hastada da AFA pozitif idi. Bu durum AKA'larının ve lupus antikoagülanın dalgalı seyir göstermesi ile açıklanabilir. Yapılan çalışmalarda vakaların %2'sinde lupus-antikoagülanının ve anti-kardiolipin antikorunun tekrarlayan ölçümlerde kalıcı olduğu gösterilmiştir (58). Önceki çalışmalar göz önüne alındığında PST vakalarında yüksek oranda AKA pozitifliği tespit edilmesi nedeniyle çalışmamızda antifosfolipid antikorlarından en sık tespit edilen lupus antikoagülan antikorları, antikardiolipin antikorları ve antifosfolipid antikorlarına bakıldı. Ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı. Antifosfolipid antikorlarının sık görüldüğü durumlardan AFS ve SLE ile olan ilişkisine bakıldı ancak 3 hastada tekrarlayan gebelik kaybı olmasına rağmen hiçbir hastada tromboz hikayesi yoktu ve yalnızca bir hastada SLE tanısı vardı. Gebelik kaybı olanların hiçbirisinde AKA ve AFA pozitifliği yoktu. Birçok hastada klinik bulgu olmadan laboratuvar olarak antifosfolipid antikorları tespit edilmiştir. Sağlıklı kontrol grubunda antifosfolipid sendromu ile ilişkili olarak antifosfolipid antikorları pozitif olanlarda gelecekte hangi oranda trombotik olayın gelişeceğine veya gebelikle ilgili problem çıkıp çıkmayacağına dair veri yetersizdir. Aksine 20 yıllık takipte SLE tanısı ve antifosfolipid antikor pozitifliği olanlarda %50-70 oranında antifosfolipid sendromu gelişmektedir (71). Ne var ki SLE tanısı ve antikardiolipin antikor pozitifliği olanların yaklaşık %30'unda 7 yıllık takipte antifosfolipid sendromuna ait herhangi bir klinik ortaya çıkmamıştır (11).

Bizzaro N ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada (5) PST'nin tespit edildiği anda hastaların hiç birisinde tromboz ve fetal kayıp hikayesi yok iken çalışmamızda 3 hastanın fetal kayıp hikayesi vardı ve hastaların hiç birinde tromboz hikayesi yoktu. Bizzaro N ve ark.'ları (5) hastaların 7'de ANA pozitifliği tespit ederken vakaların sadece birinde anti-dsDNA pozitif idi; bu anti-dsDNA pozitifliği ise SLE vakasına aitti. Bizim çalışmamızda ise sadece 3 hastada ANA pozitif iken hiçbir hastada anti-dsDNA pozitif değildi.

AFA ve AKA'ları trombosit agregasyonu ve tromboz ile ilişkili bir durumdur (11). Antifosfolipid antikorlarının hiperkoagülabilité ile olan ilişkisi tam olarak anlaşılammıştır. Trombositleri aktive eden olayın antifosfolipid antikorlarının bağlanmasında da rol oynadığı düşünülmektedir. Trombosit aktivasyonu ile normalde hücre içine lokalize olmuş anyonik fosfolipidler hücre zarına çıkmaktadır. Böylelikle antifosfolipid antikorlarının trombositte bağlanmasıyla agregasyon ve tromboz oluşumu başlamaktadır (72). Bu nedenle, in vitro ortamda trombosit agregasyonunun görüldüğü PST hastalarında hiperkoagülabilité araştırıldı. Çalışmaya alınan hastaların ikisinde FV leiden, üçünde MTHFR homozigot tespit edilirken, kontrol grubunda sadece bir vakada MTHFR homozigot idi ve hiçbirisinde tromboz hikayesi tespit edilmedi. Bununla birlikte herediter defekt olanlarda hayat boyu tromboz gelişme riski vardır. Bu risk gebelik, östrojen kullanımı ve cerrahi ile artmaktadır. Derin ven trombozu ve pulmoner tromboemboli görülen hastaların da dahil olduğu trombozlu hasta popülasyonunda FV Leiden mutasyon prevalansı yaklaşık %20 olarak tespit edilmiştir (73).

Çalışmamızda hiperkoagülabilité açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

EDTA bağımsız soğuk aglütininlerin 30⁰C'nin üzerinde çok az aktivite gösterdiği tespit edilmiştir ve bu nedenle hastaların soğuk aglütininlere bağılı komplikasyonlara maruz kalma ihtimali azdır. Bu durum hipotermik kardiyak cerrahide problem teşkil edebilir (35).

Abciximab ile tedavi edilen koroner arter hastalarında görülen düşük trombosit sayımının yaklaşık üçte bir (%36.3) nedeni PST'dir. Abciximab ilişkili PST; mevcut doğal otoantikorların, abciximab sonrası Gp IIb/IIIa reseptörlerinde meydana gelen yapısal değişiklik sonucu ortaya çıkan antijenik yapı ile reaksiyona girmesiyle

açıklanabilir. Abciximab tedavisi esnasında trombositopeni gelişmesi durumunda trombositopenin nedeninin araştırılması abciximabın AMI'deki olumlu sonuçları açısından çok önemlidir. Böylelikle tedavinin erken sonlandırılması önlenmiş olur (20). Abciximab tedavisi alanların yaklaşık %3.7'sinde trombositopeni görülmekle birlikte, çalışmaya alınan hastaların hiç birisinde abciximab infüzyon hikayesi yoktu.

PST ile ilgili yapılmış geniş çalışma sayısı azdır. Vaka raporu şeklinde yayınlar vardır. Yanıklı bir hastada, valproik asit, olanzapin kullanan hastalarda, non-myeloablatif kök hücre transplantasyonu sonrası ve açık kalp ameliyatı sonrası ani gelişen EDTA ilişkili PST ile ilgili vaka takdimleri mevcuttur. Çalışmamızda benzer durumlar izlenmemiştir (10,68,74–76).

EDTA ilişkili PST klinik öneme sahiptir, bu klinik antitenin tanınmaması endikasyonu olmadan kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisi yapılmasıyla, trombosit transfüzyonu, steroid tedavisi ve splenektomi gibi gereksiz tedavilerle sonuçlanmaktadır (38). PST bulunan kişi alarm halinde olmakta, trombositopeniye bağlı kanama korkusuyla yaşamakta; özellikle gençler spor aktivitelerinden uzak dururken, yaşlılar kanamaya katkısı olur endişesiyle özellikle aspirin gibi antitrombosit ilaçlar alamamaktadırlar. PST tespit edilen hastalarda trombosit disfonksiyonu ve kanama diyatezi yoktur (3). Bu yüzden düşük trombosit sayımında PST'yi dışlamak önemlidir.

Sonuç olarak; PST vakalarının otoimmünite ve hiperkoagülabilité ile ilişkisi gösterilememiştir. Bu hastalarda kanama diyatezi ve tromboz açısından normal populasyon ile fark yoktur.

SONUÇLAR

1. Psödotrombositopeni tespit edilen hastaların hiç birinde tromboz hikayesi yoktu
2. PST tespit edilen hastalar normal populasyon ile karşılaştırıldığında FV Leiden gen mutasyonu açısından fark yoktu.
3. PST tespit edilen hastalar normal populasyon ile karşılaştırıldığında MTHFR gen mutasyonu açısından fark yoktu.
4. PST tespit edilen hastalar normal populasyon ile karşılaştırıldığında protrombin gen mutasyonu açısından fark yoktu.
5. PST tespit edilen hastalar AKA ve AFA açısından normal populasyon ile karşılaştırıldığında anlamlı fark tespit edilemedi.
6. PST tespit edilen hastaların hiç birisinde anti-ds DNA pozitif değildi.
7. PST tespit edilen hastalarda enfeksiyon hikayesi ve antibiyotik kullanım hikayesi yoktu.
8. PST tespit edilen hastalarda koagülasyon parametreleri açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fark tespit edilmedi

KAYNAKLAR

1. Huss B, Kretschmer V, Schnabel M, et al. Pseudothrombocytopenia: case reports and review of the literature *Infusionsther Transfusionsmed* 1995;22:303–9.
2. Schreiner DP, Bell WR. Pseudothrombocytopenia, manifestations of a new type of platelet agglutinin. *Blood* 1973;42:541–549.
3. Bizzaro N. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up. *Am J Hematol* 1995;50:103–9.
4. Schell DA, Ganti AK, Levitt R, et al. Thrombocytopenia associated with c7E3 Fab (abciximab). *Ann Hematol* 2002;81:76–9.
5. Bizzaro N, Brandalise M. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. Association with antiplatelet and antiphospholipid antibodies. *Am J Clin Pathol* 1995;103(1):103–7
6. Irisawa A, Kaise S, Kumada Y, et al. A case of late-onset SLE complicated with EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Ryumachi* 1992;32:468–74.
7. Van den Bemt PM, Meyboom RH, Egberts AC. Drug-Induced Immune Thrombocytopenia. *Drug Saf* 2004;27:1243–1252.
8. Kinoshita Y, Yamane T, Kamimoto A, et al. A case of pseudothrombocytopenia during antibiotic administration *Rinsho Byori* 2004;52:120–3.

9. Sakurai S, Shiojima I, tanigawa T, et al. Aminoglycosides prevent and dissociate the aggregation of platelets in patients with EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Br J Haematol* 1997;99:817–823.
10. Carrillo-Esper R, Contreras-Dominguez V. Pseudothrombocytopenia induced by ethylenediaminetetraacetic acid in burn patients. *Cir Cir* 2004;72:335–8.
11. Levine JS, Branch W, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2002;346:752–763.
12. Pegels JG, Bruynes ECE, Engelfriet CP, et al. Pseudothrombocytopenia. An immunological study on platelet antibodies on ethylene diamine tetraacetate. *Blood* 1982;59:157–161.
13. Savage RA. Pseudoleukocytosis due to EDTA-induced platelet clumping. *Am J Clin Pathol* 1984;81:317–322.
14. Fujii H, Watada M, Yamomato K, et al. Seventeen cases of pseudothrombocytopenia, with special reference to the clinical problems, its pathogenesis and significance. *Acta Haematologica Japonica* 1978;41:523–532.
15. Payne BA, Pierre RV. Pseudothrombocytopenia: a laboratory artifact with potentially serious consequences. *Mayo Clinic Proceedings* 1984;59:123–125.
16. Sweeney JD, Holme S, Heaton WA, et al. Pseudothrombocytopenia in plateletpheresis donors. *Transfusion* 1995;35:46–49.
17. Vicari A, Banfi G, Bonini PA. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a 12-month epidemiological study. *Scand J Clin Lab Invest* 1988;48:537–542.
18. Silverti F, Virgolini L, Savignano C, et al. Incidence and diagnosis of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a consecutive outpatient population referred for isolated thrombocytopenia. *Vox Sangiunis* 1995;68:35–39.
19. Casonato A, Bertomoro A, Pontara, et al. EDTA dependent pseudothrombocytopenia caused by antibodies against the cytoadhesive receptor of platelet gpIIB-IIIa. *J Clin Pathol* 1994;47:625–630.
20. Sane DC, Damaraju LV, Topol EJ, et al. Occurrence and clinical significance of pseudothrombocytopenia during abciximab therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:75–83.

21. Watkins SP, Shulman NR. Platelet cold agglutinins. *Blood* 1970;36:153–158.
22. Cunningham VL, Brandt JT. Spurious thrombocytopenia due to EDTA-independent cold-reactive agglutinins. *Am J Clin Pathol* 1992;97:359–362.
23. Veenhoven WA, van der Shans G, Huiges W, et al. Pseudothrombocytopenia due to agglutinins. *Am J Clin Pathol* 1979;72:1005–1008.
24. De Caterina M, Fratellanza G, Grimaldo E. Evidence of cold immunoglobulin M autoantibody against 78 kD platelet glycoprotein in a case of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. *Am J Clin Pathol* 1993;99:163–167.
25. Van Der Meer W, Allebes W, Simon A, et al. Pseudothrombocytopenia: a report of a new method to count platelets in a patient with EDTA- and temperature-independent antibodies of the IgM type. *Eur J Haematol* 2002;69:243–7.
26. Fiorin F, Steffan A, Pradella P, et al. IgG platelet antibodies in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia bind to platelet membrane glycoprotein IIb. *Am J Clin Pathol* 1998;110:178–183.
27. Schrezenmeier H, Muller H, Gungsilius E, et al. Anticoagulant induced pseudothrombocytopenia and pseudoleucocytosis. *Thromb Haemo* 1995;73:506–513.
28. Onder O, Weinstein A, Hoyer LW. Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood* 1980;56:177–182.
29. Grant RA, Zucker MB. EDTA-induced increase in platelet surface charge associated with the loss of aggregability: assesment by pertition in aqueous two-phase polymer systems and electrophoretic mobility. *Blood* 1978;52:515–523.
30. Kunucki TJ, Pidard D, Rosa JP, et al. The formation of C^{++} dependent complexes of platelet membrane glycoproteins IIb and IIIa in solution as determined by crossed immunoelectrophoresis. *Blood* 1981;58:268–278.

31. Ginsberg MH, Lightsey A, Kunucki TJ, et al. Divalent cation regulation of the surface orientation of membrane glycoproteins IIb: correlation with fibrinogen binding function and definition of a novel variant of Glanzmann's thrombasthenia. *Journal of Clinical Investigation* 1986;78:1103–1111.
32. Muniz Diaz E, Mandoz P, Pujol-Moix N, et al. Characterization of antibodies directed against platelet cryptantigens detected during the immunological study of 356 consecutive patients with presumed autoimmune thrombocytopenia (AITP). *Transfusion Med* 1995;5:185–191.
33. Cunningham V, Brandt J. Spurious thrombocytopenia due to EDTA-independent cold reactive agglutinins. *Am J Clin Pathol* 1992;97:359–362.
34. Van Vielt HH, Kappers-Klunne MC, Abels J. Pseudothrombocytopenia: a cold autoantibody against platelet glycoprotein GP IIb. *Br J Haematol* 1986;62:501–511.
35. Schimmer A, Mody M, Garvey M.B, et al. Platelet cold agglutinins: A flow cytometric analysis. *Transfus Sci* 1998;19:217–24.
36. Mori M, Kudo H, Yoshitake S, et al. Transient EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a patient with sepsis. *Intensive Care Medicine* 2000;26:218–220.
37. Kunucki TJ, Newman PJ Molecular immunology of human platelet proteins. *Blood* 1992;80:1386–1404.
38. Berkman N, Michaeli Y, Or R, et al. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and a review of the literature. *Am J Hematol* 1991;36:195–201.
39. Tomonari A, Hirai K, Aoki H, et al. Pure red cell aplasia and pseudothrombocytopenia associated with hepatitis A. *Risho Ketsueki* 1991;32:147–151.
40. Sawazaki A, Nakamura N, Jyokaji H, et al. Gullain Barre syndrome and EDTA dependent pseudothrombocytopenia associated with mumps. *Intern Med* 1996;35:996–999.

41. Van der Lelie J, van der Plas-Van Daen CM, von dem Borne, et al. Platelet autoantibodies in septicaemia. *Br J Haematol* 1984;58:755–760.
42. Chiristopoulos CG, Machin SJ. A new type of platelets bearing Fab fragments of a chimeric antibody. *Br J Haematol* 1994;87:650–652.
43. Gawaz M, Ruf A, Neuman FJ, et al. Effect of glycoprotein IIb-IIIa receptor antagonism on platelet membrane glycoprotein after coronary stent replacement. *Thromb Haemostas* 1998;80:994–1001.
44. Peter K, Schwarz M, Ylanne J, et al. Induction of fibrinogen binding and platelet aggregation as a potential intrinsic property of various glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. *Blood* 1998;92:3240–3249.
45. Rosenberg R, Aird W. Vascular bed specific hemostasis and hypercoagulable states. *N Engl J Med* 1999;340:1555–1564.
46. Greaves M, Preston FE. The hypercoagulable state in clinical practice. *Br J Haematol*. 1991;79:148–151.
47. Nachman RL, Silverstein R. Hypercoagulable states. *Ann Intern Med* 1993;119:819–827.
48. de Stefano V, Finazzi G, Mannucci PM. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes, and management. *Blood* 1996;87:3531–3544.
49. Van Cott EM, Laposata M. Laboratory evaluation of hypercoagulable states. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998;12:1141–1166.
50. Thorelli E, Kaufman RJ, Dahlback B. Cleavage of factor V at Arg 506 by activated protein C and the expression of anticoagulant activity of factor V. *Blood* 1999;93:2552–2558.
51. Seligsohn U, Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis. *N Engl J Med* 2001;344:1222–1231.
52. Dahlback B. Factor V gene mutation causing inherited resistance to activated protein C as a basis for venous thromboembolism. *J Intern Med* 1995;237:221–227.
53. Zivelin A, Gitel S, Griffin JH, et al. Extensive venous and arterial thrombosis associated with an inhibitor to activated protein C. *Blood* 1999;94:895–901.

54. Shen L, He X, Dahlback B. Synergistic cofactor function of factor V and protein S to activated protein C in the inactivation of the factor VIIIa–factor IXa complex–species specific interactions of components of the protein C anticoagulant system. *Throm Haemost* 1997;78:1030–1036.
55. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 1995;346:1133–1134.
56. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, et al. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood* 1995;85:1504–1508.
57. Buchanan GS, Rodgers GM, Branch DW. The inherited thrombophilias: genetics, epidemiology, and laboratory evaluation. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2003;17:397–411.
58. Bauer KA. Hypercoagulable States. In: Hoffman R, Benz Jr EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P, editors. *Hematology Basic Principles and Practice* (fourth edition). Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone 2005. p. 2197–2234.
59. Koeleman BP, Reitsma PH, Allaart CF, et al. Activated protein C resistance as an additional risk factor for thrombosis in protein C-deficient families. *Blood* 1994; 84: 1031–1035.
60. Heeb MJ, Mosher D, Griffin JH. Activation and complexation of protein C and cleavage and decrease of protein S in plasma of patients with intravascular coagulation. *Blood* 1989; 73: 455–461.
61. Feinstein DI. Inhibitors of Blood Coagulation. In: Hoffman R, Benz Jr EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P, editors. *Hematology Basic Principles and Practice* (fourth edition). Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone 2005. p. 2143–2167.
62. Esmon NL, Safa O, Smirnov MD, et al. Antiphospholipid antibodies and the protein C pathway. *J Autoimmun* 2000;15:221–225.
63. Shi W, Chong BH, Chesterman CN. β 2–Glycoprotein I is a requirement for anticardiolipin antibodies binding to activated platelets: differences with lupus anticoagulants. *Blood* 1993;81:155–1262.

64. Lipsky PE Autoimmunity and Autoimmune Disease. In Kasper DL, Hauser SL, Braunwald E, Longo DL, Fauci AS, Jameson JL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine* (sixteen edition). The McGraw-Hill 2005. p. 1956–1960.
65. Shlomchik MJ. Tolerance and Autoimmunity. . In: Hoffman R., Benz Jr EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P, editors. *Hematology Basic Principles and Practice*(fourth edition). Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone 2005. p. 187–197.
66. Yoneyama A, Nakahara K. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia differentiation from true thrombocytopenia. *Nippon Rinsho* 2003;61:569–74.
67. Hsieh AT, Chao TY, Chen YC. Pseudothrombocytopenia associated with infectious mononucleosis. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:e17–8.
68. Gillis S, Eisenberg ME, Shapira MY, et al. Pseudothrombocytopenia after allogeneic non-myeloablative stem cell transplantation. *Isr Med Assoc J* 2003;5:671–3.
69. Franchini M. The antiphospholipid syndrome: an update. *Clin Lab*. 2006;52:11–7.
70. Krause I, Blank M, Fraser A, et al. The association of thrombocytopenia with systemic manifestations in the antiphospholipid syndrome. *Immunobiology* 2005;210:749–54.
71. Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000;15:145–151.
72. Pedra CL, Buendia P, Barbarroja N, et al. Antiphospholipid-mediated thrombosis: Interplay between anticardiolipin antibodies and vascular cells. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis* 2006;12:41–45.
73. Cott MV, Sodenberg BL, Laposta M. Activated protein C resistance, the factor V Leiden mutation and a laboratory testing algorithm. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:577–582.
74. Yoshikawa H. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia induced by valproic acid. *Neurology* 2003;61:579–80.

75. Tu CH, Yang S. Olanzapine-induced EDTA dependent pseudothrombocytopenia. *Psychosomatics* 2002;43:421–3.
76. Satoh M, Hirose Y, Gamo M, et al. Sudden onset of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a patient scheduled for open heart surgery. *Masui* 2003;52:402–5.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA


Dr. Fatih Kurnaz'a ait "Psödötrombositopeninin Hiperkoagülabilité Ve Otoimmünite İle İlişkinin Araştırılması" adlı çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 16.5.07

İmza : 

Başkan : Prof. Dr. Muhammet Güver..... İmza 

Üye : Doç. Dr. Bülent Eser..... İmza 

Üye : Prof. Dr. Abdurrahman Ögütler..... İmza 

Üye : Doç. Dr. Ali Kemal Ünlüoğlu..... İmza 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat Sipahioglu..... İmza 