

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KARACİĞER SİROZLU HASTALARDA
TROMBOSİTOPENİ VE TROMBOPOETİN
DÜZEYLERİNİN KARACİĞER HARABİYETİNİN
DERECESİ İLE İLİŞKİSİ**

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI
DOKÜMANTASYON BİRLİĞİ

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet YÜCESOY

738516

Dr. AlperATA
UZMANLIK TEZİ

KAYSERİ - 2003

138516

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TABLO, GRAFİK VE ŞEKİL LİSTESİ	3
KISALTMALAR	5
TEŞEKKÜR	7
GİRİŞ VE AMAÇ	8
GENEL BİLGİLER	10
1. KARACİĞER SİROZU	10
1.1. Karaciğer sirozunda klinik evreleme ve prognoz	13
1.2. Karaciğer sirozunun komplikasyonları	15
1.3. Karaciğer sirozunda hematolojik komplikasyonlar	16
1.4. Karaciğer sirozunda trombosit bozuklukları	19
2. SPLENOMEGALİ VE HİPERSPLENİZM	21
3. TROMBOSİTLERİN YAPI VE GÖREVLERİ	23
4. TROMBOPOETİN	27
4.1. TPO üretiminin düzenlenmesi	30
4.2. TPO yapısı	32
4.3. Akut faz reaktanı olarak TPO	35
4.4. TPO' in farmakolojik özellikleri	35
4.5. TPO ve karaciğer	37
MATERYAL VE METOD	39
İSTATİSTİK	43
BULGULAR	44
TARTIŞMA	60
ÖZET	75
SUMMARY	78
KAYNAKLAR	81

TABLO, GRAFİK VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablolar

Tablo 1. Sirozun etiyojisi

Tablo 2. Çeşitli ülkelerdeki kronik karaciğer hastalığı ve siroza bağlı ölüm oranları

Tablo 3. Child-Turcotte sınıflama sistemi

Tablo 4. Child-Pugh skorlama sistemi

Tablo 5. Portal hipertansiyon sebepleri

Tablo 6. Perisinüzoidal fibroziste karaciğer ve ilgili organlarda olan değişiklikler

Tablo 7. Karaciğer hastalıklarında gelişen hematolojik bozukluklar

Tablo 8. Splenomegali sebepleri

Tablo 9. Grupların yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Tablo 10. Hepatit B ve Hepatit C' ye bağlı karaciğer sirozu gelişen olguların serum TPO düzeylerinin analizi

Tablo 11. Hepatit B ve Hepatit C' ye bağlı karaciğer sirozu gelişen olguların trombosit sayılarının analizi

Tablo 12. Hepatit B ve Hepatit C' ye bağlı karaciğer sirozu gelişen olguların Child-Pugh skorlarının analizi

Tablo 13. Olguların gruplara göre biyokimyasal değerlerinin analizi

Tablo 14. Olguların gruplara göre tam kan sayımı parametrelerinin analizi

Tablo 15. Olguların gruplara göre serum TPO ve GGT düzeylerinin analizi

Grafikler

Grafik 1. Karaciğer sirozlu hastaların etiyojisiye göre dağılımı

Grafik 2. Siroz etiyojisine göre serum TPO düzeylerinin dağılımı

Grafik 3. Siroz etiyojisine göre trombosit sayılarının dağılımı

Grafik 4. Siroz etiyojisine göre Child-Pugh skorlarının dağılımı

Grafik 5. Tüm gruplar birlikte incelendiğinde dalak boyutları ile serum TPO düzeyleri arasındaki ilişki

Grafik 6. Tüm gruplar birlikte incelendiğinde dalak boyutları ile trombosit sayısı arasındaki ilişki

Grafik 7. Trombosit sayılarının gruplara göre dağılımı

Grafik 8. Tüm gruplar birlikte incelendiğinde serum TPO düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki

Grafik 9. Grup 1' deki olguların serum TPO düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki

Grafik 10. Grup 2' deki olguların serum TPO düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki

Grafik 11. Grup 3' deki olguların serum TPO düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki

Grafik 12. Grup 4' deki olguların serum TPO düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki

Grafik 13. Karaciğer sirozlu olguların Child-Pugh skorlama sistemine göre klinik evrelerinin dağılımı

Grafik 14. Child-Pugh skorları ile serum TPO düzeyleri arasındaki ilişki

Grafik 15. Child-Pugh skorları ile trombosit sayıları arasındaki ilişki

Grafik 16. Serum TPO düzeylerinin gruplara göre dağılımı

Şekiller

Şekil 1. Pluripotent kök hücreden periferik kan elemanlarının oluşum aşamaları

Şekil 2. Endomitoz ile poliploid nükleuslu hücrelerin ortaya çıkışı

Şekil 3. Trombopoeze etki eden faktörler

Şekil 4. TPO' in yaşam döngüsü

Şekil 5. TPO tarafından trombosit yapımının düzenlenmesini gösteren model

Şekil 6. İnsan c-Mpl gen ve protein yapısının şematik gösterimi

Şekil 7. İnsan TPO gen ve protein yapısının şematik gösterimi

KISALTMALAR

- ABD: Amerika Birleşik Devletleri
ADP: Adenozin difosfat
ALP: Alkalen fosfataz
ALT: Alanin aminotransferaz
AML: Akut miyeloid lösemi
AST: Aspartat aminotransferaz
BUN: Kan üre azotu
DM: Diabetes Mellitus
ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay
EPO: Eritropoetin
ESR: Eritrosit sedimantasyon hızı
GGT: Gama glutamil transpeptidaz
GH: Growth hormon (büyüme hormonu)
GPIIb/IIIa: Glikoprotein IIb/IIIa
HbsAg: Hepatit B virusu yüzey antijeni
HBV: Hepatit B virusu
HCV: Hepatit C virusu
HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein
HDV: Hepatit D virusu
HGF/SF: Hepatosit büyüme faktörü/Steel faktör
İTP: İmmün trombositopenik purpura
KML: Kronik miyeloid lösemi
KLL: Kronik lenfoid lösemi
LDH: Laktat dehidrogenaz
LIF: Lösemi inhibitör faktör
NO: Nitrik oksit
Oİ: Otoimmün
PBS: Primer biliyer siroz
PEG: Polietilen glikol
PTZ: Protrombin zamanı

SHIP: 5' lipid fosfataz

SOCS: Sitokin sinyal baskılayıcısı

TIPS: Transjuguler intrahepatik portosistemik şant

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

TPO: Trombopoetin

TxA₂: Tromboksan A₂

vWF: von Willebrand faktör

WHO: Dünya Sağlık Örgütü



TEŞEKKÜR

Trombopoetin ölçümleri sırasında laboratuvar imkanlarından yararlanmamızı sağlayan ELISA laboratuvar sorumlusu Prof. Dr. Nedret KOÇ' a, ultrasonografik incelemelerdeki katkılarından dolayı Dr. Faruk ATABEY' e teşekkür ederim.

GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer sirozu ölüm sebepleri arasında üst basamaklarda yer alır ve pek çok kronik karaciğer hastalığının son evresidir. Ölümler daha çok karaciğer sirozunun neden olduğu komplikasyonlar sebebiyle olmaktadır. Özefagus varis kanamaları, sepsis ve hepatorenal sendrom en önemli ölüm sebepleridir.

Karaciğer sirozlu hastalarda gelişen trombositopeni sık görülen bir bulgudur ve ilk akla gelen neden hipersplenizmdir. Son yıllarda trombopoezden sorumlu en potent sitokin olduğu bulunan ve esas üretim yeri karaciğer olan trombopoetinin (TPO) karaciğer hücre hasarına bağlı olarak üretiminin azalması muhtemel trombositopeni mekanizmalardan birisi olarak düşünölmeye başlanmıştır. Ancak sirozlu hastalarda klinik bulgu veren TPO eksikliğinin oluşup oluşmadığı, oluşuyorsa sirozun hangi aşamasında oluştuğu bilinmemektedir.

Karaciğer sirozlu hastalarda son yıllarda karaciğer nakli imkanlarının gelişmesi ile hasta seçimi ve prognozlarının tayini önem kazanmıştır. Prognozu tahmin etmede kullanılan en yaygın ve en güvenilir yöntem Child-Pugh skorlama sistemidir. Karaciğer dışında üretimi sınırlı olan TPO seviyesi ile parankim harabiyeti arasında doğru orantılı

bir ilişki tespit edildiği takdirde TPO seviyesi karaciğer hasarının derecesini ve hastalığın prognozunu belirlemede kullanılabilir.

Bu alışma karaciğer sirozunun evresi ile trombositopeni ve serum TPO düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemek amacı ile yapıldı.



GENEL BİLGİLER

1. KARACİĞER SİROZU

Siroz terimi Yunanca portakal anlamına gelen scirrhus kelimesinden türetilmiş ve ilk defa Laennec tarafından kullanılmıştır. Sirozlu hastaların otopsilerinde karaciğerin aldığı portakala benzer sarı-yeşil renk sebebiyle bu benzetme yapılmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü' nün (WHO) 1978' de yaptığı ve hala kullanıldığı üzere karaciğer sirozu karaciğerin difüz fibrozisi ve normal karaciğer dokusunun anormal nodüller yapıya dönüşmesi olarak tanımlanmıştır (1, 2). Fibrozis yeni fibrin oluşumu ile giden artmış kollajen üretiminin sonucudur (1). Nodüller içinde karaciğer normal lobuler yapısını kaybetmiştir. Bu sebeple bu nodüller rejeneratif ya da hiperplastik nodüller adını alırlar. Nodülarite tüm karaciğeri tutar. Karaciğerde fibrozis olmadan nodüller (örneğin; rejeneratif nodüler hiperplazi) veya nodüller olmadan fibrozis (örneğin; hepatportal skleroz) izlenebilir ancak bu hastalıklar karaciğer sirozundan farklıdır.

Karaciğer sirozu morfolojisi, etiyolojisi, aktivasyon derecesi veya komplikasyonları esas alınarak sınıflandırılabilir. Nodüllerin boyutları esas alınarak makronodüler, mikronodüler ve karışık tip siroz olarak sınıflandırılmıştır. Nodül çapının

5 mm' den küçük olduğu alkolik siroz mikronodüler siroza örnek olarak verilebilir. Nodüllerin boyutları değişken olmakla birlikte hepatit sonrası gelişen siroz genellikle 5 mm' den büyüktür ve makronodüler siroz (postnekrotik siroz) olarak tanımlanır. Hastalığın ileri aşamasında etyoloji ne olursa olsun mikro ve makronodüllerden oluşan karışık tip siroz ortaya çıkar. Bu nedenlerden dolayı nodül boyutları yerine etiyojiye yönelik sınıflandırma en sık kullanılan sınıflandırma yöntemidir.

Karaciğer sirozu pekçok kronik aktif karaciğer hastalığının son evresidir. Etiyolojide pekçok sebep yer alır. Toksik madde alımları (alkolik hepatit, ilaca bağlı hepatit) gelişmiş ülkelerde en sık izlenen sebeplerdir. Viral hepatitler ise gelişmekte olan ülkelerde en sık sebeptir. Ayrıca immünolojik sebepler (otoimmün hepatitler), parazit hastalığı (şistozomiazis) ve nadir görülen bazı metabolik hastalıklar (hemokromatozis, hepatolentiküler dejenerasyon, α_1 -antitripsin eksikliği, Byler hastalığı (ilerleyici karaciğer hücre hasarı ile giden intrahepatik kolestaz), herediter fruktoz intoleransı, galaktozemi) karaciğer sirozu yapabilirler. Karaciğer sirozuna yol açan sebepler Tablo 1' de özetlenmiştir. Konjenital hepatik fibrozis, trombotik trombositopenik purpura, miyeloid metaplazi, diabetes mellitus, böbrek nakli sonrası gibi durumlarda karaciğer sirozu olmadan da karaciğer fibrozisi gelişebilir (3).

Kriptojenik siroz sebebi bilinmeyen bir siroz türüdür. Otoimmün ya da viral kökenli olabileceği söylenmektedir (4).

Kronik hepatitlerde ve siroz gelişiminde otoimmünitenin önemli bir rolü olduğu bilinmektedir. Diğer sebepler yokken serumda bazı antikorların izlenmesi ve diğer otoimmün hastalıkların artmış oranda eşzamanlı görülmesi bu varsayımı desteklemektedir.

Karaciğer sirozu uzun süreli morbiditesi sebebiyle sosyal-ekonomik yükü oldukça ağır olan bir sendromdur. ABD' de 65 yaş altı grupta ölümlerin en sık 4. sebebidir ve yıllık tedavi maliyeti yaklaşık 4 milyar dolardır (5). Tablo 2' de görüldüğü gibi WHO' nun farklı ülkelerde yaptığı yaşa göre ölüm oranları araştırmasında siroza bağlı ölüm oranları ülkeden ülkeye değişiklik göstermektedir (6). Türkiye' de hastalığın

Tablo 1. Sirozun etiyojisi

1. Sık izlenen sebepler
Alkol
Viral hepatitler (B, B+D, C)
Otoimmün hepatitler
Metabolik Bozukluklar
Hemokromatozis
Wilson hastalığı
α_1 -antitripsin eksikliği
Kistik fibrozis
Glikojen depo hastalıkları
Galaktozemi
Hereditör tirozinemi
Hereditör fruktoz intoleransı
Hereditör hemorajik telenjektazi
Byler hastalığı
Abetalipoproteinemi
Porfiri
Biliyer Hastalıklar
Ekstrahepatik biliyer obstrüksiyon
İntrahepatik biliyer obstrüksiyon
Primer biliyer siroz
Primer sklerozan kolanjit
Venöz Çıkış Hastalıkları
Venookluzif hastalık
Budd-Chiari sendromu
Kalp yetmezliği
İlaçlar ve toksinler
Obezite sebebiyle intestinal by-pass yapılması
Sarkoidoz
Sifiliz
2. Kanıtlanamayan sebepler
Viral hepatitler, tip G
Mikotoksinler
Şistozomiazis
Malnutrisyon
Obezite
Diabetes Mellitus
3. Bilinmeyen sebepler
Kızılderili çocukluk çağı sirozu
Kriptojenik siroz

sıklığı ve etiyojisi hakkında yapılmış tüm ülkeyi kapsayan bir çalışma henüz yoktur. 1995 yılında hastanemiz gastroenteroloji bölümünce yapılan çalışmada incelenen karaciğer sirozlu hastalarda etiyojistik sebepler; HCV enfeksiyonu (% 33.3), kriptojenik siroz (% 25.3), HBV + HDV enfeksiyonu (% 24.0) ve HBV enfeksiyonu (%17.4) olarak bildirilmiştir. Gelişmiş ülkelerdeki verilerin aksine o dönemde alkole bağlı siroz gelişimi hiçbir hastada izlenmemiştir (7).

*Neye göre ölüm oranı?
100 000?
1000 000?*

Tablo.2 Çeşitli ülkelerdeki kronik karaciğer hastalığı ve siroza bağlı ölüm oranları.
(World Health Statistics Annual 1997-1999, Age-standardised death rates)

Ülke	Yıl	Ölüm oranı
Arjantin	1996	8.8
Avustralya	1995	4.6
Belçika	1994	8.8
Bulgaristan	1998	14.2
Kanada	1997	5.3
Küba	1996	8
Danimarka	1996	10.4
Fransa	1996	12.1
Almanya	1997	15.4
Yunanistan	1997	3.4
Macaristan	1998	54.9
İzlanda	1995	1.3
İtalya	1995	13.9
Japonya	1997	7.2
Malta	1997	4.5
Hollanda	1997	4
Romanya	1998	42.7
İsveç	1996	3.7
İngiltere	1997	6.4
A.B.D.	1997	7.7

1.1. Karaciğer sirozunda klinik evreleme ve prognoz

Karaciğer sirozunda prognoz etiyolojik sebebe, klinik ve laboratuvar bulgulara, histolojik lezyonların derecesine ve tedaviye verilen cevaba bağlı olarak değişmektedir. Hastalığın klinik evresi ve prognozunu belirleyecek kriterlerin tespiti için pek çok çalışma yapılmıştır. Örneğin alkolik karaciğer sirozu olanlarda yapılan bir çalışmada alkol kesilmişse, asit, sarılık, gastrointestinal kanama yoksa 5 yıllık hayatta kalma oranı %90 civarında bulunmuştur (8). Eğer ensefalopati varsa bu oran neredeyse sıfıra yakındır. İtalya'da oldukça fazla sayıda hasta ile yapılan bir başka çalışmada hastalığın kompanze fazdan dekompanze faza geçiş hızı yılda %10 olarak bulunmuştur (9). Bu çalışmada asit gelişimi karaciğer sirozunda en sık izlenen bulgudur. 6 yıllık hayatta kalım ise yaklaşık %54' tür. Ölüm riskini artıran sebepler ileri yaş, erkek cinsiyet, ensefalopati ve kanama öyküsü, varis gelişimi, uzamış protrombin zamanı, HBsAg pozitifliği ve hepatoselüler karsinom gelişimi olarak belirtilmiştir.

Sirozlu hastalarda karaciğer naklinin bir tedavi seçeneği olarak ortaya çıkmasından sonra hastalığın klinik evresi ve prognozuna dair çalışmalar önem kazanmıştır. Bu konuda henüz ideal bir skorlama sistemi oluşturulabilmiş değildir. İlk çalışmaları Child ve Turcotte yapmıştır. Çalışmaya aldıkları hastaların serum albumin düzeyleri, serum bilirubin düzeyleri, asit varlığı ve derecesi, ensefalopati varlığı ve derecesi ve beslenme durumlarına bakmışlar ve portakaval şant operasyonu için tercihlerini bu kriterlere göre yapmışlardır (10). Bu kriterlere göre hastaları A, B ve C diye prognozları giderek bozulan üç gruba ayırmışlardır (Tablo 3). Zamanla bu sınıflamanın çeşitli modifikasyonları yapılmıştır. Bunlar içinde en sık kullanılanı Pugh tarafından yapılandır (11). Pugh farklı olarak bazı rakamsal değişiklikler yapmış ayrıca beslenme durumunu değerlendirmeden çıkararak protrombin zamanındaki uzamayı kriterler içine dahil etmiştir (Tablo 4). Artık Child-Pugh skorlama sistemi olarak anılan bu metoda göre tabloda gösterildiği gibi her bir klinik ve laboratuvar özelliğe puan verilerek puanlar toplanır ve toplam skor hesaplanır. Evreleme yapılırken toplam skor 5-6 ise Evre A, toplam skor 7-9 ise Evre B, toplam skor 10-15 ise Evre C olarak değerlendirilir. Pugh skorlama sisteminin basit, kolay uygulanabilir, ucuz ve kısa dönem hayatta kalım tahmini için oldukça iyi bir gösterge olması kullanımını yaygınlaştırmıştır. Sensitivitesi % 80' e varmaktadır (12).

Tablo 3. Child-Turcotte sınıflama sistemi

	A	B	C
Serum bilirubin (mg/dl)	<2.0	2.0-3.0	>3.0
Serum albumin (g/dl)	>3.5	3.0-3.5	<3.0
Asit	Yok	Orta	Fazla
Nörolojik bozukluklar	Yok	Minimal	Belirgin
Beslenme	Çok iyi	İyi	Yetersiz

Sirozlu hastalarda kötü prognoz göstergeleri şunlardır; protrombin zamanında uzama olması, belirgin asit varlığı, gastrointestinal kanama varlığı, ileri yaş, günlük fazla miktarda alkol alımı, yüksek serum bilirubin ve alkale fosfataz aktivitesi, düşük albumin düzeyi, bağı dokusunda varolan inflamasyon, kötü beslenme, ensefalopati varlığı, hepatit B virusuna bağlı siroz. Bu kriterleri esas alan elektronik sistem destekli, daha kompleks yapıda pekçok skorlama sistemi geliştirilmiştir (13). Ancak Child-Pugh

Tablo 4. Child-Pugh skorumlama sistemi

	1	2	3
Serum bilirubin (mg/dl)	<2.0	2.0-3.0	>3.0
Serum albumin (g/dl)	>3.5	2.8-3.5	<2.8
Protrombin zamanı (uzama miktarı saniye olarak)	1-4	4-6	>6
Ensefalopati derecesi	Yok	1-2	3-4
Asit miktarı	Yok	Hafif	Belirgin
<i>Primer bilier sirozlu hastalar için</i>			
Bilirubin (mg/dl)	1-4	4-10	>10
Bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	17-68	68-170	>170

skorumlama sistemine üstünlükleri gösterilememiştir ve halen hepatoloji ünitelerinde en yaygın kullanılan skorumlama sistemi Child-Pugh skorumlama sistemidir.

1.2. Karaciğer sirozunun komplikasyonları

Klinik olarak siroz semptom vermeden ilerleyebilir. Lezyonlar ilerledikçe iki major durum ortaya çıkar; karaciğer yetmezliği ve portal hipertansiyon. Bu iki durum sarılık, ensefalopati, asit oluşumu ve kanamalar gibi sirotik komplikasyonların altında yatan sebebidirler. Bahsedilen bu komplikasyonlardan en az herhangi birinin varlığı halinde dekompanze sirozdan bahsedilir. Sirozla birlikte olmayan portal hipertansiyon sebepleri Tablo 5' de gösterilmiştir.

Sirozda belli başlı komplikasyonlar asit, sarılık, hepatik ensefalopati ve gastrointestinal sistem kanamalarıdır. Ayrıca genel durum düşüklüğü (kilo kaybı, halsizlik, anoreksi gibi), ateş, endokrinolojik komplikasyonlar (feminizasyon, hipogonadizm, diabetes mellitus, hipoglisemi gibi), pulmoner komplikasyonlar (hepatopulmoner sendrom, pulmoner hipertansiyon gibi), kardiyolojik komplikasyonlar, safra kesesi taşları, peptik ülser gelişimi ve hepatoselüler karsinom gelişimi gibi komplikasyonlar da izlenebilir. Presinüzoidal fibrozisin karaciğer ve ilgili organlarda yaptığı değişiklikler Tablo 6' da görülmektedir.

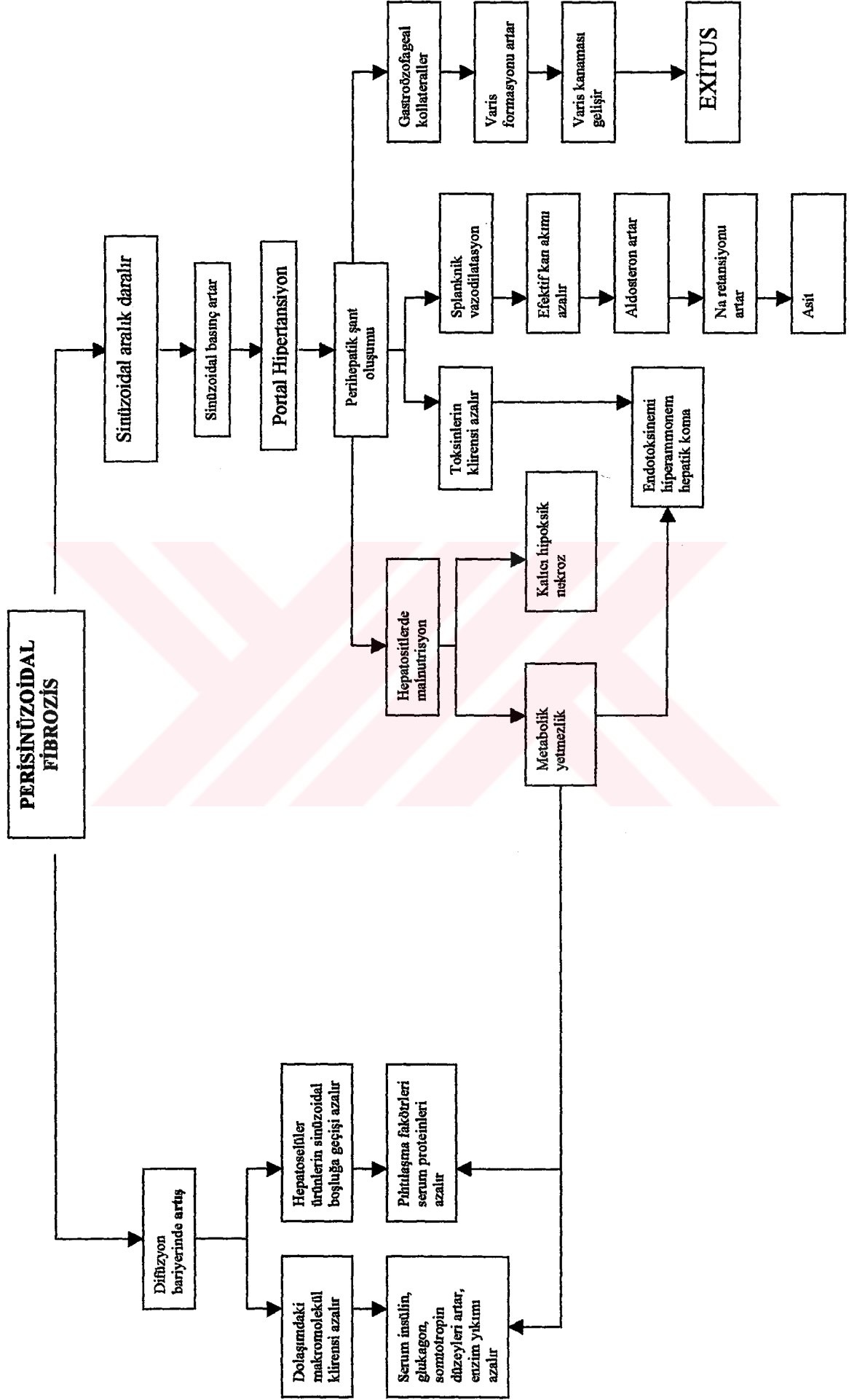
Tablo.5 Portal hipertansiyon sebepleri

Artmış Kan Akımına Bağlı
Arteriovenöz fistüller
İntrahepatik
İntrasplenik
Splanknik
Splenik kapiller hemanjiomatozis
Artmış Damar Direncine Bağlı
Prehepatik
Tromboz/portal venin kavernöz transformasyonu
Splenic ven trombozu
İntrahepatik
Presinüzoidal
Şistozomiazis
Sarkoidozis
Miyeloproliferatif hastalıklar
Konjenital hepatik fibrozis
İdiopatik portal hipertansiyon
Kronik arsenik toksisitesi
Azatioprin hepatotoksitesisi
Vinilklorid hepatotoksitesisi
Erken primer bilier siroz
Erken primer sklerozan kolanjit
Sinüzoidal
Kronik hepatite sekonder siroz
Alkolik siroz
Kriptojenik siroz
Metotreksat
Alkolik hepatit
Vitamin A toksisitesi
Septal fibrozis
Nodüler rejeneratif hiperplazi
Postsinüzoidal
Veno-oklusif hastalık
Hepatik ven trombozu (Budd-Chiari Sendromu)
Posthepatik
Vena cava inferiorunda perde
Konstriktif perikardit
Triküspid yetmezliği
Ciddi sağ kalp yetmezliği

1.3. Karaciğer sirozunda hematolojik komplikasyonlar

Karaciğer hastalığı sonucu pekçok hematolojik değişiklik ortaya çıkabilir (Tablo 7). Karaciğer fetal hayattta önemli bir hematopoetik organdır. İlk hematopoetik organ Yolk Sac'tır ancak 6. haftadan itibaren karaciğerde eritropoez başlar (14). Kemik iliği bu görevi devralana kadar karaciğerde eritropoez devam eder. Normal şartlarda karaciğerin bu görevi doğumla birlikte biter. Karaciğer transplantasyonundan sonra

Tablo 6. Perisinüzoidal fibroziste karaciğer ve ilgili organlarda olan değişiklikler



Tablo 7. Karaciğer hastalıklarında gelişen hematolojik bozukluklar**Kırmızı küreler**

Anomali	Hematolojik belirteçler	Primer karaciğer hastalığı	Diğer sistem hastalıkları
Anemi	Artmış MCV Düşük MCV/MCHC Normokrom normositer Artmış retikülosit sayısı Düşük retikülosit sayısı	Pekçok karaciğer hast Demir eksikliği ile Dilüsyonel anemi ile Hipersplenizm ile Kemik iliği aplazisi ile	Alkolizm VitB ₁₂ -Folat eksikliği Hemoliz Talasemi Kronik hast. anemisi Hemoliz PNH
Normal hemoglobin	Artmış MCV Düşük MCV	Orta karaciğer hasarı Demir eksikliği ile	Alkolizm Talasemi trait
Eritrositoz		Hepatosellüler karsinoma Viral hepatitler	

Beyaz küreler

Anomali	Hematolojik belirteçler	Primer karaciğer hastalığı	Diğer sistem hastalıkları
	Artmış Nötrofil artmış Lenfosit artmış Eozinofiller artmış	Enfeksiyon, neoplazi, İnflamasyon Bakteriyel enf, steroid ted Viral enfeksiyonlar, Parazitik enfeksiyonlar, ilaç hepatitleri, kr. aktif hepatit	Miyeloproliferatif bozuk. Lösemi, lenfoma, ilaçlar Bağ dokusu hastalıkları
	Monositler artmış Bazofiller artmış		Tuberküloz, lösemi Miyeloproliferatif hast., Mastositoz
	Azalmış	Enfeksiyon, kemik iliği aplazisi, hipersplenizm	Enfeksiyonlar (tifo, SBE, tüberküloz, sepsis), lösemi
	Lenfositler azalmış	Karaciğer hastalığı	Viral enfeksiyonlar

Pulcuklar (trombositler)

Anomali	Hematolojik belirteçler	Primer karaciğer hastalığı	Diğer sistem hastalıkları
	Artmış	Hemoraji, neoplazi, en- feksiyon, inflamasyon	Miyeloproliferatif hastalık

izlenen geçici eritropoez ve lökosit transmisyonu gibi durumlar nadir izlenen durumlardır (15, 16). Karaciğerde ekstramedüller hematopoez miyelofibrozis gibi hastalıklarda izlenebilir.

Granülosit prekürsörleri ve megakaryositler fetal karaciğerde yer alırlar ancak hematopoez kemik iliğinde başladığı andan itibaren karaciğerde bu hücrelerin üretimi gözlenmez (17).

Erişkinde eritropoetin (EPO) üretiminin esas kaynağı böbreklerdir. Karaciğer ise yıkımından sorumludur. Bununla birlikte üremik hastalarda karaciğer EPO üretebilir (18). Ayrıca hepatoselüler karsinomalı hastalarda da serum EPO düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (19). Karaciğer aynı zamanda demir, vitamin B₁₂, folik asit ve inflamatuvar sitokinlerin metabolizmasında rol oynar. Kemik iliğinde trombosit üretiminin primer regülatörü olan TPO de karaciğerde üretilir.

Kronik karaciğer hastalığında anemi %75 oranında izlenir. Anemi genellikle normokrom-normositer özelliktedir. Kronik karaciğer hastalığında aneminin sebepleri hemoraji, hemoliz, hemodilüsyon, eritrosit yaşam süresinin kısalması ve kemik iliğinin anemiye yetersiz cevap vermesidir.

Kronik karaciğer hastalığındaki granülosit anomalileri altta yatan hastalığa ve tedaviye bağlı olarak değişimler gösterebilir. Bu hastalarda nötropeni, nötrofili ve lenfopeni izlenebilir.

1.4. Karaciğer sirozunda trombosit bozuklukları

Kronik karaciğer hastalarındaki trombosit sayı ve fonksiyon anomalileri eskiden beri bilinmektedir. Alkolik karaciğer hastalığında karaciğer hasarının dışında alkolün trombosit yapımı ve fonksiyonları üzerine direk toksik etkisinin olduğu gösterilmiştir (20). ¹¹¹In ve ⁵¹Cr ile işaretli trombositler ile yapılan kinetik çalışmalarda karaciğer hastalığı olan kişilerde ortalama trombosit yaşam süresinin kıaldığı, büyümüş dalakta trombosit göllenmesinin arttığı ve trombositopeniye kemik iliğinin yetersiz yanıt verdiği gösterilmiştir (21, 22). Karaciğer hastalıklarında TPO üretimi de azalmaktadır. Karaciğer hasarının şiddeti ile trombosit kinetiği arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar hem az sayıda hem de tartışmalıdır.

Kronik karaciğer hastalığı olanlarda trombositlerin sayısında olduğu kadar görev yeteneklerinde de bozulmalar izlenir. Trombositlerin özellikle agregasyon yetenekleri

bozular. Trombositlerin fonksiyon bozukluklarına yol açan sebepler ile sayı bozukluklarına yol açan sebepler genellikle aynıdır.

Kolesterolden zengin trombositler normalde agregasyon yeteneği artmış trombositlerdir. Ancak karaciğer hastalığı olan kişilerdeki trombositler kolesterolden zengin olmalarına rağmen agregasyon yetenekleri sınırlıdır. Bunun sebebi muhtemelen trombosit fosfolipidlerinin azalmış olmasıdır (23). Bu durumda proagratuar tromboksan A₂ (Tx A₂) üretimi azalmaktadır (24).

Kronik karaciğer hastalığında trombosit agregasyonunun azalmasından sorumlu olan inhibitör maddelerin dolaşımında arttığı görülmüştür (25). Bu maddelerden bazıları fibrin yıkım ürünleridir ve bu maddelerin dolaşımında artması ancak ciddi karaciğer bozukluğunda olmaktadır (26). Sirozlu hastalardaki yüksek apolipoprotein E'ye sahip HDL'den zengin trombositlerin ADP'ye bağlı trombosit agregasyonunu engellediği gösterilmiştir (27). Son yıllarda apolipoprotein E'nin antitrombosit etkisinin endojen nitrik oksit (NO) sentezini ve dolayısıyla trombosit NO sentaz enzim etkisini artırmakla ilgili olduğu bulunmuştur (28). Yine son yıllarda normal kontrol grubuna göre sirozlu hastalarda trombositlerdeki bazal sitozolik kalsiyum içeriğinin daha az olduğu bulunmuştur (29).

Sirozu olan kişilerde von Willebrand faktör (vWF) bağlanma alanında defekt olduğu izlenmiştir (30). Sonuçta vWF üzerinden olan trombosit-subendotel yapışması olmamakta ve hemorajik komplikasyon riski bu hastalarda artmaktadır.

Bazı sirozlu hastalarda trombosit ilişkili immünglobulin bulunmuş ve trombosit ömrünün kısalmasından immünolojik yıkım mekanizmaları sorumlu tutulmuştur (31). Bu durum primer biliyer sirozlu (PBS), alkolik karaciğer sirozlu ve kronik aktif hepatitli hastalarda diğer karaciğer hastalarına göre daha sık izlenir ve %40 civarındadır (32, 33).

Başka bir çalışmada sirozlu hastaların %60' indan fazlasında trombosit ilişkili immünglobulin tespit edilmiş ve bu antikorların trombositlerin glikoprotein IIb/IIIa ve

Ib/IX bölgelerine daha çok afinite duydukları gösterilmiştir (34). Bu antikorlar immün trombositopenik purpurada (İTP) görülen antikorlar ile benzer özellikler gösterirler (35). Bu bilgiler sirozlu hastalarda trombositopeni sebeplerinden bir tanesinin İTP' dakine benzer immün mekanizmalar olduğunu düşündürmektedir. Ancak antikorların düzeyi ile trombositopeninin şiddeti arasında bir korelasyon gösterilememiştir dolayısı ile trombositopeni yapabilecek diğer sebepler akılda tutulmalıdır.

Akut İTP normal popülasyona göre kronik karaciğer hastalarında daha sık izlenir. Hepatit A, Hepatit B, primer hepatik lenfoma ve PBS' lu hastalarda akut İTP izlenebilir (36, 37) ancak kronik hepatit C enfeksiyonunda akut İTP gelişimi diğerlerinden daha sık izlenir (38).

Hemen hemen tüm sirozlu hastalarda trombositopeni izlenir ancak bazen enfeksiyon, inflamasyon, neoplazi, kanama, demir eksikliği gibi sekonder sebeplere bağlı olarak trombositoz gelişebilir.

Karaciğer sirozlu hastalarda trombositopeniye yol açtığı düşünülen önemli sebeplerden bir tanesi de hipersplenizmdir.

2. SPLENOMEGALİ VE HİPERSPLENİZM

Dalak büyümesi (splenomegali) Tablo 8' de görüldüğü gibi oldukça geniş bir hastalık grubunda görülür. Hipersplenizm ise splenomegalisi olan hastaların bir bölümünde ortaya çıkar.

Dalağın bağışıklık ile ilgili işlevinin yanısıra depolama ve süzme gibi işlevleri de vardır. Normal erişkinde ağırlığı 150 gr civarındadır. Karaciğer hastalıklarına genellikle splenomegali eşlik eder. Karaciğer sirozuna bağlı portal hipertansiyon gelişimi, şistozomiazis, ekstrahepatik portal ven tıkanıklığı gibi hastalıklarda splenomegali izlenir. Konjestif splenomegali portal hipertansiyon veya splenik ven tıkanıklığına bağlı

Tablo.8 Splenomegali sebepleri**Konjestif splenomegali**

- Siroz
- Şistozomiazis
- Portal ya da splenik ven trombozu
- Hepatik ven tıkanıklığı (Budd-Chiari Sendromu, veno-oklusif hastalık, vs.)
- İdiopatik portal hipertansiyon
- Nodüler rejeneratif hiperplazi

Karaciğer ve dalağı tutan enfeksiyon hastalıkları

- Viral enfeksiyonlar (Hepatit A, B, C, D, CMV, vs)
- Bakteriyel enfeksiyonlar (Tifo, Brucella, Tüberküloz, vs)
- Fungal enfeksiyonlar (Sistemik kandidiazis, histoplazmozis)
- Protozoal hastalıklar (Malaria, Viseral Leishmaniasis)

Karaciğer ve dalağı tutan infiltratif hastalıklar

- Depo hastalıkları (Gaucher, Hurler, Nieman-Pick Hastalığı)
- Selüler infiltrasyon (Lenfoma, sarkoidoz, ekstramedüller hematopoez)
- Diğer (Amiloidoz)

Çocuklarda daha sık izlenen splenomegali sebepleri

- Bilier atrezi
- Orak hücreli anemi
- Kistik fibrozis
- Dev hücreli hepatit
- α_1 -Antitripsin eksikliği
- Depo hastalıkları (Gaucher Hastalığı, Hurler Sendromu, Nieman-Pick Hastalığı, mukopolisakkaridozlar, Wolman Hastalığı, galaktozemi)

olarak gelişen splenomegali durumudur. Konjestif splenomegalide dalak kapsülü incelik, pulpa hiperplazisi ve fibrozis gelişir. Non-alkolik karaciğer sirozunda alkolik karaciğer sirozuna göre dalak daha fazla büyür (39), PBS' daki dalak büyüklüğü ise diğer kronik karaciğer hastalıklarından daha fazladır (40).

Portal hipertansiyona bağlı splenomegali gelişmesinin sebeplerinden bir tanesi karaciğer Kupffer hücrelerine uğramadan dolaşıma geçebilen artmış intestinal antijenlerdir (41). Splenomegalisi olan portal hipertansiyonlu hastalarda dalak kan akımının arttığı gösterilmiştir (42). Artmış dalak kan akımı splenik arter dilatasyonuna ve anevrizmalara sebep olur (43). Sonuç olarak kronik karaciğer hastalığında portal basınç artışı ile birlikte dalakta venöz konjesyon, artmış dalak kan akımı ve immün stimülasyona bağlı olarak splenomegali gelişir.

Hipersplenizm terimi ilk olarak 1907 yılında Chaufford tarafından kullanılmış ve splenomegali, bir ya da daha fazla kan elemanının sayısında azalma, hiperselüler kemik

iliği ve splenektomi ile kan bulgularının düzelmesi olarak tanımlanmıştır (44). Portal hipertansiyonu olan hastaların %11-55'inde hipersplenizm gelişir (45). Hipersplenizmde dalakta artmış kan göllenmesine, kan elemanlarının artmış yıkımına ve plazma volüm artışına sekonder gelişen hemodilüsyona bağlı olarak anemi, granülositopeni ve trombositopeni gelişebilir.

Normalde dolaşımdaki trombositlerin %30-45' i dalakta göllenmiş halde bulunur, eğer splenomegali varsa bu oran %90' a kadar çıkabilir. Trombositlerin dalakta göllenmeleri periferik trombosit sayısını düşürür (45). Dalak boyutları ile trombosit sayısı arasında ters orantı mevcuttur (46). Sirozlu hastalarda trombositlere karşı oluşan antikorlar da trombositopeniden sorumlu olabilirler (34). Dalağı büyük kişilerde trombosit sayısı adrenalin infüzyonu ile artabilir ancak normal seviyesine çıkamaz (47). Dalakta daha çok genç trombositler (megatrombositler) göllenir (46). Böylece hemostazda primer görevi olan trombosit sayısı azalmış olur. Sirozlu hastalarda trombositopeniye bağlı olarak kanama zamanı uzamış bulunur ancak varis kanamalarında trombositopeninin rolü yeterince açık değildir (48). Trombositopeni akut kanama kontrolünü bozar ama bu durum mortalite oranlarında bir değişikliğe yol açacak boyutta değildir (49). Bu hastalarda trombosit infüzyonu genellikle beklenen faydayı sağlamaz, bunun nedeni verilen trombositlerin de hızla göllenmesi ve yıkılmasıdır.

3. TROMBOSİTLERİN YAPI VE GÖREVLERİ

Trombositler kanamanın durdurulmasında, tromboz ve pıhtılaşmada rol oynayan kan elemanlarıdır. Bu oldukça küçük hücreler kanamayı önlemede önemli biyokimyasal ve moleküler özelliklere sahiptir. Dolaşımdaki trombositler çekideksiz, ovoid, gri-mavi renkli sitoplazmaya sahip, $7.06 \pm 4.85 \mu\text{m}^3$ hacminde, $3.6 \pm 0.7 \mu\text{m}$ çapında hücrelerdir. Trombositlerin elektron mikroskopik incelemelerinde herbiri farklı görevlere sahip glikokaliks, plazma membranı, yüzeye açılan kanaliküler sistem, tubuler sistem, hücre iskelet yapısı, çeşitli granüller, mikroperoksizomlar, kaplı veziküller, mitokondri ve glikojen gibi organellere sahip olduğu izlenmiştir. Trombosit yapısındaki lipidlerin %80' ini fosfolipidler oluşturur. Membranda yer alan glikoproteinler pekçok adeziv görevden sorumludurlar. Bunların en bilinenleri plazma membranının esas reseptörü

olan glikoprotein IIb/IIIa ve von Willebrand faktörü ile ilişkiden sorumlu olan glikoprotein Ib-IX' dur.

Megakaryositler dolaşımdaki trombositleri oluşturan büyük hematopoetik hücrelerdir. Bir megakaryositin parçalanması ile binlerce trombosit oluşur. Kemik iliğinde az sayıda bulunan megakaryositlerin normal insanda sayısı $6.1 \times 10^6 / \text{kg}$ ' dır. Olgunlaşmamış megakaryositler büyük, bazofilik ve çekirdek/sitoplazma oranı yüksek hücrelerdir. Bu hücrelerin olgunlaşması ile çekirdek/sitoplazma oranı ve bazofili azalır, sitoplazma hacmi ve nükleer lobülasyon artar.

Trombositlerin yapım yeri halen tartışmalıdır. Bir teoriye göre megakaryositler olgunlaştıktan sonra dolaşıma çıkmakta ve pulmoner mikrovasküler yatakta sitoplazmaları parçalara ayrılarak trombositlere dönüşmektedir. Başka araştırmacılara göre ise trombositler kemik iliğinde üretilmekte ve dolaşıma salınmaktadır.

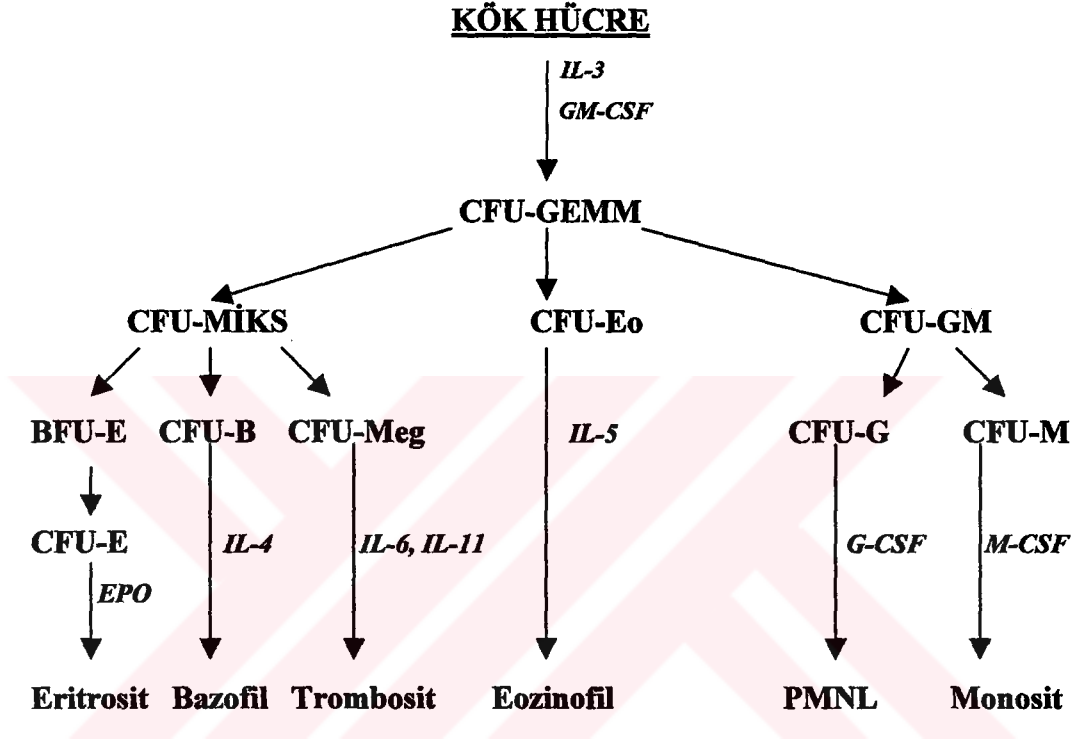
Trombopoezis dolaşımdaki trombositlerin sayı veya kütesine bağlı olarak humoral mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir. Akut, ciddi trombositopeni hallerinde, immünolojik periferik yıkım varlığında ya da tromboferez yapıldığında kemik iliğindeki megakaryositlerin boyutlarında, sayılarında, çekirdeklenmelerinde ve olgulaşma oranlarında artış izlenmiştir. Bu parametrelerdeki artış megakaryosit progenitörlerindeki proliferasyonu ve farklılaşmayı işaret eder, sonuçta trombosit yapımı artar. Trombosit sayısı arttığında ise ters yönde değişiklikler izlenir. Şu ana kadarki kanıtlar bu düzenlemeden bir humoral mekanizmanın sorumlu olduğunu göstermektedir.

Eğer trombosit yapımı hızlanırsa megakaryositlerin hacim ve sayılarında artış izlenir. Bazı trombositopeni durumlarında, miyelofibrotik hastalıklarda, kan kaybında, bazı neoplastik hastalıklarda megakaryositlerin sayı ve şekilleri farklılıklar gösterebilir.

Trombopoez, megakaryositopoez, hematopoetik progenitör hücrelerin proliferasyonu ve maturasyonunu takiben trombositlerin ortaya çıkması

basamaklarından oluşur. Bütün hematopoetik hücreler pluripotent kök hücrelerden gelişirler. Bu hücrelerin kendilerini yenileme ve tüm kan serilerine dönüşebilme yetenekleri vardır (Şekil 1).

Şekil 1. Pluripotent kök hütreden periferik kan elemanlarının oluşum aşamaları.



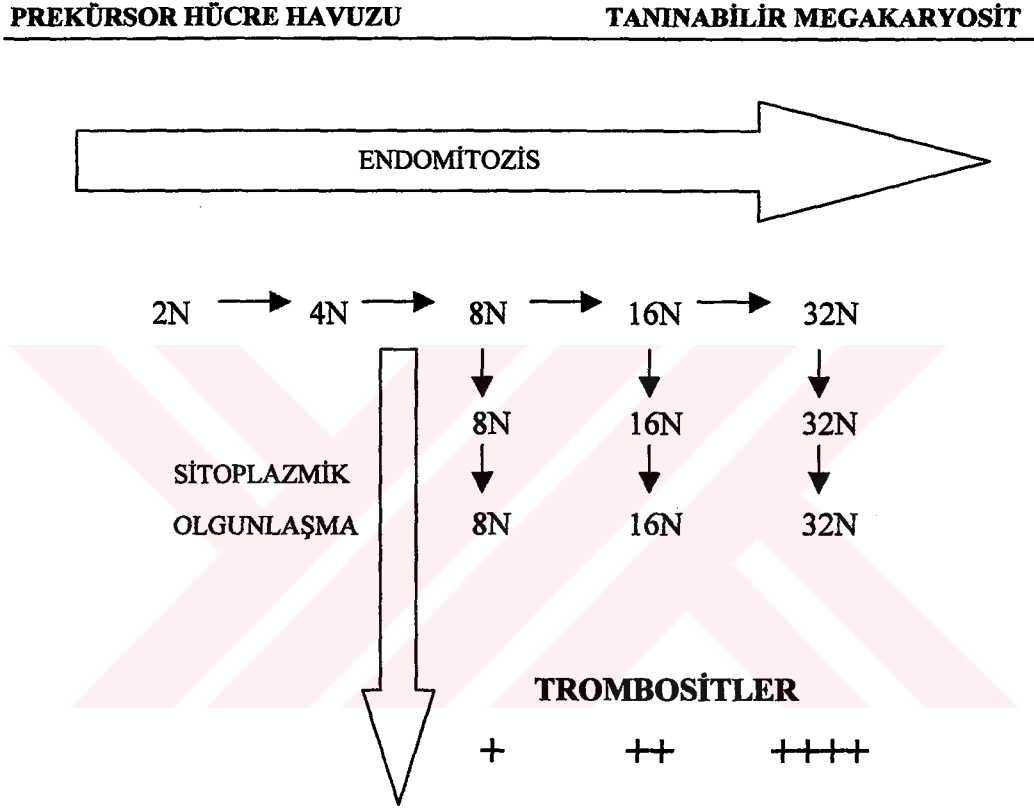
(CFU-GEMM; granülosit, eritrosit, makrofaj ve megakaryosit öncü hütresi, CFU-GM; granülosit makrofaj öncü hütresi, CFU-Eo; eozinofil öncüsü, CFU-B; bazofil öncü hütresi, CFU-Meg; trombosit öncü hütresi, BFU-E ve CFU-E; eritrosit öncü hütreleri, EPO; eritropoetin, G-CSF; granülosit stimüle edici faktör, M-CSF; monosit stimüle edici faktör, IL-4, -5, -6, -11; interlökin-4, -5, -6, -11.)

İn vitro olarak uygun koşullar sağlanamazsa kök hücrelerden hematopoetik koloniler gelişmez. Kolonilerin gelişmesi için bulunması gereken glikoprotein yapısındaki maddelere "Hematopoetik Büyüme Faktörleri" denir. Şekil 1' de büyüme faktörlerinin etki yerleri görülmektedir. Kemik iliğinde daha düşük oranda megakaryosit öncüsü bulunur (50). Kemik iliğindeki megakaryosit öncülerinden ilki sitoplazmasında asetilkolinesteraz bulunan GPIIb/IIIa yüzey belirleyicisi taşıyan, küçük, mononükleer bir hütredir. Kemik iliğinde, değişik trombosit proteinleri içeren çok sayıda hücre bulunmasına rağmen morfolojik olarak megakaryosit öncülü oldukları saptanamaz. Bunlar CFU-Meg ile megakaryoblast arasındaki ara formlardır ve

promegakaryoblast olarak adlandırılırlar. Morfolojik olarak ayrıştırılabilen ilk hücre megakaryoblasttır. 15-50 µm çapındadır, geniş, oval veya atnalı şeklinde nükleusu vardır, birkaç nükleolusu vardır. Sitoplazması dardır, bazofiliktir, sıklıkla uzantıları vardır, mitoz görülebilir. Megakaryoblast giderek büyür, sitoplazması genişler, granüller görülmeye başlar ve promegakaryosit oluşur. Bu hücre 20-80 µm çapındadır, oval veya düzensiz kenarlı nükleusu vardır. Sitoplazması kırmızı veya polikromatofiliktir. Bu hücreden matür megakaryositler oluşur. Trombositler megakaryositler içinde oluşur. Buna rağmen megakaryositler ve trombositler aynı antijenik yapıyı taşımazlar ve değişik uyarılara yanıtları farklıdır. Örneğin İTP' da trombositlere karşı oluşan antikorlar trombositleri yıkarken yanıt olarak megakaryositler artar. IL-6 verilmesi megakaryositlerde belirgin yapısal değişiklikler yaparken normal trombositlerin salınımı geçici olarak artar (50). Trombositler, "demarkasyon membran sistemi" denilen, megakaryosit sitoplazması içindeki adalarda oluşurlar. Bu sistem, golgi ve endoplazmik retikulum membran yapılarının kendiliğinden birleşmesiyle oluşmaktadır. Bu nedenle trombosit membranı ile megakaryosit membranı aynı yapıda değildir. Megakaryositler kemik iliğinde sinüzoidal membrana yakın yerleşmiştir. Megakaryositlerdeki sitoplazmik uzantılar sinüzoid membranındaki endotel hücrelerini yırtarak venöz sinüslerin içine uzanır. Sitoplazmadaki granüller segmentlerde demarkasyon olur ve plateletler bu uzantıların parçalanmasıyla oluşur. Geride kalan nükleus da fagosite edilir. Bir megakaryositten 2000-4000 adet trombosit oluşur. Normal trombositler protein sentezleyemediğinden trombosit granülleri içindeki proteinler megakaryositler içinde sentezlenir. Trombosit oluşumunu uyaran bir faktör bir yandan demarkasyon membran sisteminin oluşumunu ve trombosit fragmentasyonunu uyarırken bir yandan da alfa granüller içindeki proteinlerin oluşumu ve paketlenmesini de uyarmalıdır (50). Megakaryosit öncüleri morfolojik olarak belirlenebilir hale geldiklerinde kendi kendine üreme yetenekleri yoktur. Promegakaryoblasttan sonra olgunlaşma aşamaları başlamaktadır. Nükleus maturasyonu için çekirdek materyali DNA senteziyle iki katına çıkar ancak bölünme gerçekleşmez. Bu olaya "endomitoz" denir. Sonuçta 8N, 16N, 32N ve 64N kromozom içeren poliploid nükleuslu hücreler ortaya çıkar. Sitoplazma ise giderek büyür, bazofilikliği kaybolur ve granülleri artar. Böylece çok büyük boyutlarda ve nükleer materyali fazla hücreler meydana gelir. Bu olgunlaşma insanda 5 günde olmaktadır (Şekil 2). DNA sentezi megakaryoblast aşaması ve önceki aşamalarda olmaktadır. Daha sonra ise nüklesta

morfolojik olarak lobulasyon olur. Mikroskopideki morfolojik görünüm ploidiyi tam yansıtmaz. Megakaryositin ploidi ne kadar fazla ve sitoplazması ne kadar genişse yapılan trombosit sayısı da o kadar fazla olur (50, 51).

Şekil 2. Endomitoz ile poliploid nükleuslu hücrelerin ortaya çıkışı.

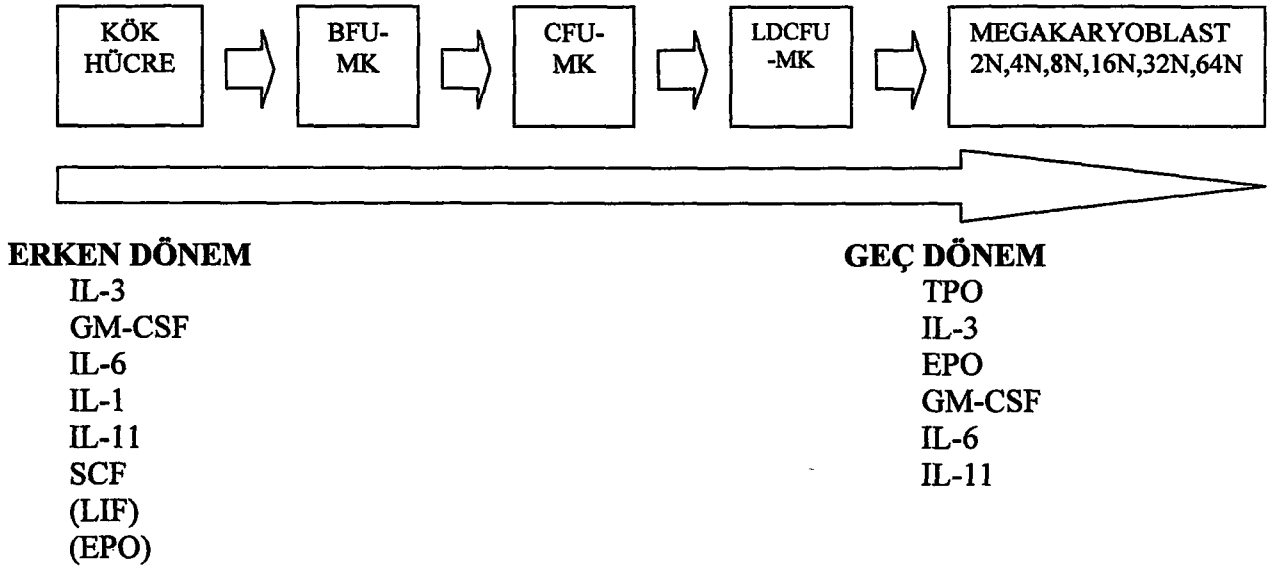


Hematopoezin erken aşamalarında IL-3, SCF, GM-CSF, IL-6, IL-11 ve IL-1 etki etmektedir. CFU-Meg oluşuktan sonra ise bu faktörlerin bir kısmı etkilerine devam etmekte ancak esas etkiyi trombopoetin göstermektedir. Şekil 3' de trombopoeze etki eden faktörler görülmektedir.

4. TROMBOPOETİN

İn vivo şartlarda trombosit üretimi ve trombositlerin dolaşımdaki yarı ömürleri

Şekil 3. Trombopoeze etki eden faktörler.



kan konsantrasyonlarına bakılarak öğrenilebilir. Erişkin bir insan günde ortalama 1×10^{11} trombosit üretir. Sağlıklı insanlarda trombosit sayısı değişimler göstermekle birlikte normal şartlarda belli sınırlar içinde sabit kalır. Örneğin artmış yıkıma bağlı artmış ihtiyaç halinde trombosit yapımı 10 kat artabilir.

Trombosit üretiminden sorumlu bir humoral madde olan TPO varlığı son 40 yıldır bilinmekle beraber klonlanması ve özelliklerinin bilinmesi son yıllarda olmuştur. Rekombinant tekniklerle TPO üretilebilmesi ve protoonkogen olan *c-mpl* ile kodlanan hücre yüzey reseptörlerinin tanımlanması sayesinde trombosit üretimi ve trombopoez hakkında son yıllarda pek çok bilgi elde edilmiştir.

1980' li yıllarda TPO hakkında pek çok çalışma yapılmış olsa da TPO' nun klonlanabilmesi ancak 1994 yılında mümkün olmuştur. 1980' li yılların ortalarında Wendling ve arkadaşları murin miyeloproliferatif lösemiden sorumlu olan bir retrovirüsü tanımlamışlardır (52). 1990 ve 1992 yıllarında ise bu viral onkogen klonlanmış ve homoloğu üretilmiştir (53, 54). Bu çalışmalarda elde edilen ve *Cys* rezidüsü ile birlikte *Trp-Ser-Xaa-Trp-Ser* zinciri içeren *c-Mpl* geninin bir sitokin reseptörü kodladığı görülmüştür. Bu reseptörü kullanarak yapılan protein purifikasyon

çalışmalarında hematopoetik hücrelerin büyümesinden sorumlu olan benzer bir protein yapısı kodlanmıştır (55, 56). Eş zamanlı olarak beş ayrı çalışma grubu aynı molekülü kodladıklarını belirtmişlerdir. Rekombinant *Mpl* ligandın kullanımı ile yarı-katı besiyerlerinde üretilen megakaryositik progenitor hücrelerin deney hayvanlarına verilmesiyle trombositoz geliştiği görülmüştür (57, 58). *Mpl* ligandının ya da reseptörünün genetik eliminasyonu ile trombositopeni gelişmiştir (59). Bu çalışmalar *Mpl* ligandının TPO ile aynı olduğunu desteklemektedir.

İn vivo ve in vitro yapılan çalışmalar ile TPO molekülünün pek çok özelliği tanımlanmıştır. Başlangıçta TPO'nun megakaryositopoezi etkileyerek trombosit üretimini artırdığı düşünülmekteydi. TPO' nun trombosit üretiminin son aşamasında her biri yüzlerce trombositte parçalanacak olan megakaryositlerin üretiminden sorumlu olduğu ancak megakaryositer protrombosit üretiminde görevli olmadığı bilinmektedir (60). TPO megakaryosit farklılaşması için güçlü bir sitokin olmasına rağmen büyük ve poliploid özellikte olan megakaryositlerin yapımını da artırır (61). TPO ayrıca megakaryosit yüzeyinde yer alan trombosit özgü proteinlerin ekspresyonundan sorumludur (fibrinofen reseptörü olan integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$, von Willebrand faktör reseptörü olan glikoprotein Ib/IX, kollajen ve fibronektin integrin reseptörleri $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$ gibi). Böylece plateletlerin bağlanma kapasitesini artırmış olur (62).

Önceleri TPO' nun megakaryositik öncü hücreleri etkilediği düşünülmekteydi. Bu etkinin megakaryosit koloni stimule edici faktörlerin (IL-3, GMCSF, steel factor gibi) toplam etkilerinin bir parçası olduğu düşünülmekteydi. Şimdi ise TPO'nun bilinen sitokinler içinde en etkili megakaryosit stimule edici faktör olduğu bilinmektedir. Tek başına kullanıldığında hücre kültüründe kemik iliğinden elde edilen megakaryositlerin yaklaşık %75' inin proliferasyonundan sorumlu olduğu görülmüştür. TPO'nun etkileri sadece megakaryositik hücreler ile sınırlı değildir aynı zamanda sinerjistik etkisi de vardır. Eritropoetin ile birlikte kullanıldığında TPO' nun eritroid koloni yapıcı hücrelerin sayısını artırdığı görülmüştür (63). Ayrıca miyelosuprese hayvanlarda kullanıldığında miyeloid seri elemanlarında artışa yol açmıştır (64).

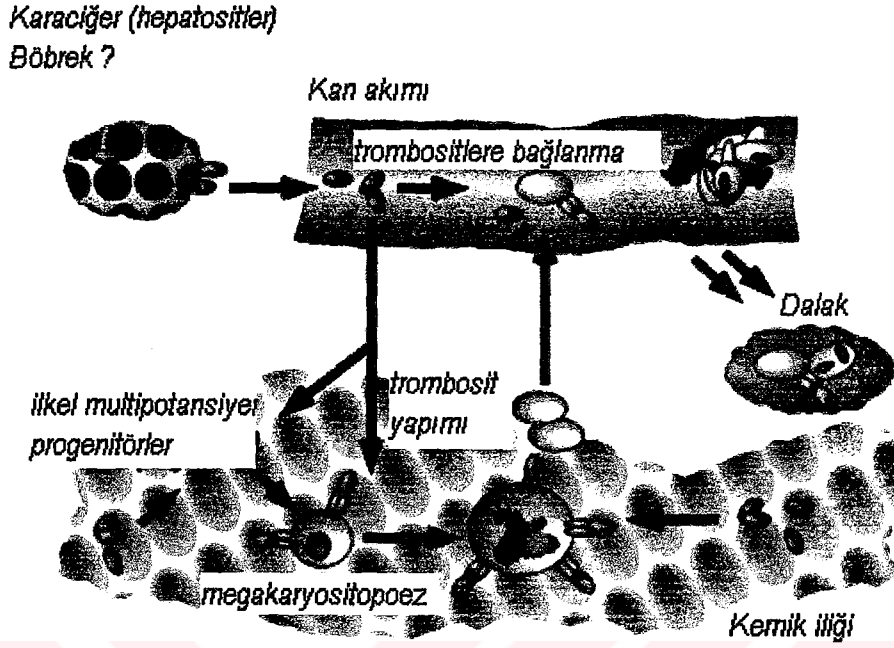
Mpl reseptörleri genetik olarak tahrip edilmiş ratlarda bütün hematopoetik seri elemanlarının azaldığı görülmüştür (65, 66). Sonuç olarak TPO hemapoetik kök hücreden olgun megakaryosite kadar pek çok hücrede yaşam süreleri, çoğalma ve farklılaşma yetenekleri üzerine etkilere sahiptir.

4.1. TPO üretiminin düzenlenmesi

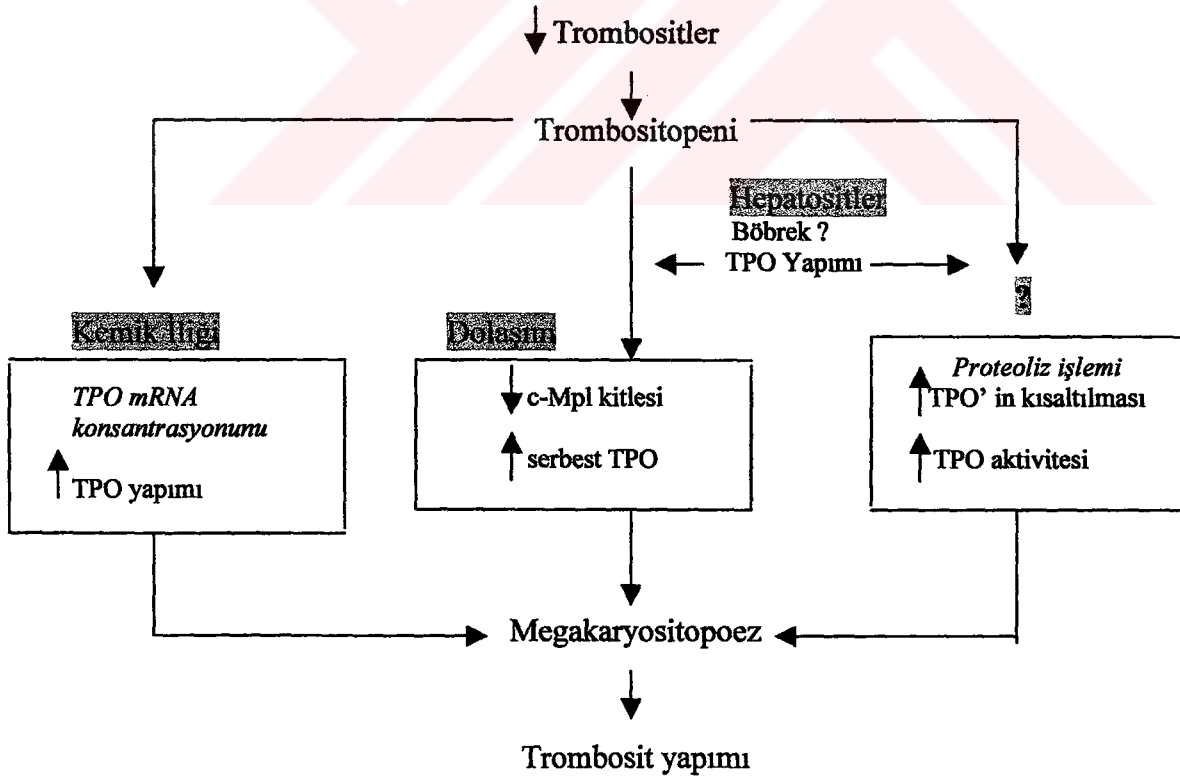
TPO salınımının düzenlenmesi esas olarak bu molekülün üretimindeki transkripsiyon, translasyon, posttranslasyonel modifikasyon fazlarında olur. Ayrıca bu molekülün kullanım ve yıkım fazlarında da düzenlemeler olabilir (Şekil 4).

Plazma TPO düzeyi düştüğünde karaciğer, böbrek, düz kas ve kemik iliğinde TPO kodlanmasından sorumlu olan mRNA düzeyleri artar (67). İlginç olarak trombositopeni halinde TPO mRNA düzeyinin karaciğer ve böbrekte artmadığını belirten çalışmalar vardır (67). Bu bulgu bu organlardan TPO salınımının sabit olduğu sonucunu doğurmuştur. TPO salınımından sorumlu allel genlerin yarısının genetik olarak tahrip edildiği ratlarda trombosit sayısının yarıya düştüğü buna karşılık geride kalan sağlam allellerde kompanzatuvar bir artış olmadığı görülmüştür (59). Eğer TPO transkripsiyonu sabit ise o zaman trombosit yüzeyinde yer alan *Mpl* reseptörleri ile salınımın düzenlendiği akla gelmektedir. Yani trombosit sayısı yüksek ise dolaşımdaki serbest TPO miktarı azalmakta, tersine trombosit sayısı düşük ise dolaşımdaki TPO'yu bağlayan *Mpl* reseptör sayısı azalmakta ve serbest TPO düzeyi artmaktadır (Şekil 5). Artmış TPO sayesinde megakaryosit gelişimi ve normal trombosit yapımı hızlanmaktadır. Pek çok çalışmada fonksiyonel *Mpl* reseptörü olan trombositlerin dolaşımdaki serbest TPO'yu bağladığı ve hücre yüzey komplekslerinin bu şekilde kararlı hale geldiği gösterilmiştir (68, 69). Folman ve arkadaşları trombositopenik hastalardaki artmış TPO düzeylerinin trombosit transfüzyonu ile düştüğünü, trombosit sayısının zamanla düşmesi ile TPO düzeylerinin yeniden yükseldiğini göstermişlerdir (70). Yine kemik iliği yetmezliği veya kemoterapiye sekonder gelişmiş trombositopeni hallerinde TPO'nun yükseldiği ve trombosit sayısının yükselmesi ile yeniden normale döndüğü görülmüştür (71, 72).

Şekil 4. TPO' in yaşam döngüsü



Şekil 5. TPO tarafından trombosit yapımını düzenlenmesini gösteren model.



İTP hastalarında trombositopeniye rağmen TPO düzeylerinin normal olması ise ilginç bir bulgudur. Bu kişilerde kemik iliği yetersizliği olan kişilerin aksine megakaryositler hiperplazi mevcuttur. Megakaryositler üzerinde de trombositlerdeki gibi *Mpl* reseptörleri mevcuttur. Dolayısı ile trombosit artışı ile TPO azalması arasındaki ilişki megakaryosit artışı ile de kurulabilir (73).

Son çalışmalar TPO regülasyonunun *Mpl* reseptörleri üzerinden olan regülasyonuna ilave olarak daha kompleks başka mekanizmalar ile olduğunu göstermektedir. Örneğin reaktif trombositozu olan kişilerde TPO düzeyleri trombosit kütlesi ile orantılı değildir, bu kişilerde değişik düzeylerde artmış TPO düzeyleri görülmüştür (74). Esansiyel trombositozun nadir görülen bir ailevi formunda TPO regülasyonu için yeni mekanizmalar keşfedilmiştir (75). Bu kişilerde kalıtım otozomal dominantdır. TPO düzeyleri bu kişilerde yüksektir ve TPO geninin 5' kolunda genetik anormallik tespit edilmiştir. Bu anormallik TPO mRNA' sının inefektif kullanımına yol açmakta ve bu sayede TPO' nun artmış translasyonu ve ekspresyonu gerçekleşmektedir.

4.2. TPO yapısı

TPO bir ucunda amino terminal reseptör bağlama bölgesi diğer ucunda karboksit terminal bölgesi (TPO glikan domain) olan protein yapısındadır (Şekil 6). Eritropoetin, Growth Hormon (GH) ve diğer hematopoetik büyüme faktörleri gibi TPO'nun amino terminal ucunda sola doğru rotasyon yapmış dört protein dizisi helikal simetride sıralanmıştır. Bu helikal sıralanma antiparalel yapıdadır. TPO'nun bu yapısı eritropoetin (EPO) ile benzerlik göstermektedir (56). Amino terminal ucu reseptör bağlama, sinyal üretimi ve selüler proliferasyondan sorumludur (76).

Dörtlü helikal amino terminal ucuna ilaveten TPO geni diğer hematopoetik sitokinlerde bulunmayan karboksit terminal polipeptid ucunu kodlar (Şekil 7). Bu uç serin ve prolin aminoasitlerinden zengindir. TPO bu uçtan glikozillenir. Glikozile olmuş bu uç sekresyon artışından sorumludur. Ayrıca proteinin dolaşım ömrünü uzatır (58).

heliksler ile 1. ve 2. heliksler arasındaki kavşak yapısının biyolojik aktivitede önemli olduğu gösterilmiştir (77).

Yapı ve görev arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda diğer hematopoetik büyüme faktörlerinin growth hormon/GH reseptör modeline uygun olduğu gösterilmiştir (78). Bu sitokinlerin iki reseptör bağlama alanı mevcuttur. O alanlardan bir tanesi 1. ve 4. heliksler arasında yer alır, diğeri ise 1. ve 3. heliksler arasında yer alır (79). GM-CSF ve IL-3' de bu alanlar farklı reseptör subunitelerine bağlanır. Growth hormonda ise bir molekül iki reseptöre bağlanarak dimerizasyon ve aktivasyonu sağlar. EPO da growth hormon gibi davranır. Bugüne kadarki kanıtlar TPO'in de EPO ve GH gibi davrandığını göstermiştir (80).

Hematopoetik büyüme faktörleri içerisinde glikozilasyon ile GM-CSF üzerine etki gösteren yoktur. Glikozilasyon büyüme faktörünün ömrünü etkilemez ancak TPO' de durum tersidir, protein stabilizasyonunu ve amino terminal uç aktivitesinin inhibisyonunu sağlar. Glikozile olmuş karboksi terminal ucun TPO salınımını ve aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (81).

TPO' in etkisini gösterebilmesi için *c-mpl* reseptörünün aktivasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır. *Mpl* reseptörü hematopoetik sitokin reseptör ailesinin bir üyesidir (82). Bu reseptörlerin karakteristik özellikleri bir ya da daha fazla, yaklaşık 200 aminoasitten oluşan ekstraselüler parçalarının olmasıdır. Diğer sitokin reseptörlerinde olduğu gibi *Mpl* için de tirozin fosforilasyonu sinyal başlangıcı ve iletimi için hayati öneme sahiptir (83). Bazı büyüme faktörlerinin aksine *Mpl*' in intrinsik tirozin kinaz aktivitesi yoktur. Tirozin fosforilasyonu *Mpl* dimerlerinin oluşumu ile gerçekleşir. Reseptörün aktivasyonu bu yolla olurken inhibisyonu kinazlar aracılığı ile fosfatazların aktivasyonu, bir 5' lipid fosfatazı olan SHIP aracılığı, SOCS (suppressors of cytokine signaling) proteinlerinin inhibitör etkileri ve reseptörün internalizasyonu mekanizmaları ile gerçekleşir (84). TPO' in çalışma mekanizmaları ile ilgili bilgiler henüz çok yenidir ve tartışmalıdır.

4.3. Akut faz reaktanı olarak TPO

TPO aynı zamanda bir akut faz reaktanıdır. Akut inflamasyon durumunda ve yenidoğan çocuklarda enfeksiyon varlığında serum TPO düzeyleri artmaktadır (85, 86). Bu artışın sebebi olarak IL-6' daki yükselme gösterilmiştir. Enfeksiyon halinde başlangıç fazında TPO düzeyleri artmakta ve daha sonra trombositoz gelişmektedir (87). Schiødt sepsisin erken döneminde belirgin TPO artışı tespit etmiştir (88). Hepatik koma gibi durumlarda serum TPO düzeylerinin değişmediği görülmüştür (88). Ciddi travma ve fulminant meningokokal menenjitte serum TPO düzeyleri ilk bir hafta içinde en üst değere ulaşmaktadır (89, 90). İlginç olarak trombositopeninin geliştiği her iki durumda da trombosit sayısı ile TPO düzeyleri arasında travmalı hastalar için bir ters korelasyon mevcutken meningokokal sepsiste bu ilişki izlenmemiştir.

4.4. Trombopoetinin farmakolojik özellikleri

TPO' in dolaşımdaki yarı ömrü diğer tüm hematopoetik büyüme faktörlerinden daha uzundur ve yaklaşık 30 saattir. Molekülün bu özelliğinden karboksi terminal ucu sorumludur. Eğer moleküle PEG (polietilenglikol) ilave edilirse plazma yarı ömrünün 10 kat arttığı gösterilmiştir.

Dışarıdan TPO verilmesinin trombosit düzeylerini değiştirdiğini gösteren pekçok çalışma vardır. TPO verildikten 3 ya da 5 gün sonra platelet sayısı artmaktadır (91, 92). Bu sonuç TPO' in megakaryositlerden ani trombosit oluşumunu sağlamadığını göstermiştir. TPO megakaryositlerin üretim ve olgunlaşmasını hızlandırmaktadır. Megakaryositlerin sayı ve boyutları yeterli düzeye geldikten sonra trombosit sayısı artmaya başlar ve uygulanan doza bağlı olarak belli bir kararlı düzeye ulaşır (92). TPO' in hem ilkel hem olgun hematopoetik hücrelere etki etmesi ve plazma yarı ömrünün uzun olması sebebiyle biyolojik etkisi nispeten uzundur. 7-10 gün boyunca TPO verilirse artmış trombosit üretimi 6-16. günler arasında izlenir (92). Örneğin kemoterapi öncesi TPO verilmesi ile trombosit sayısının arttığı ve artışın sürekli olduğu gösterilmiştir. TPO verilmeden önce farmakokinetik özellikleri iyi bilinmeli ve trombositoz yapıcı uygulamalardan kaçınılmalıdır.

TPO insanlardan önce fareler, köpekler ve primatlarda kullanılmıştır ve güvenli olduğu bildirilmiştir. Karaciğer, böbrek veya akciğer toksisitesi, kapiller kaçak, pıhtılaşma bozukluğu veya hematopoetik toksisite rapor edilmemiştir. Bazı sitokinlere karşı geliştiği bilinen akut faz reaksiyonu gelişmemiştir. Kemoterapi, radyoterapi veya her ikisini birden kullanan kişilerde trombosit sayısının daha fazla olduğu ve bu yüksek değeri 7-14 gün boyunca korudukları görülmüştür (93). Trombositlerin yanısıra bu hayvanlarda granülosit ve eritrosit sayılarında da artış izlenmiştir (94).

Miyelosupresif tedavi sonrası gelişen trombositopenilerde hatta pansitopenilerde TPO' in tedavi edici etkisinin miyeloablatif tedavi uygulananlardan daha fazla olduğu görülmüştür. Bir milyon kemik iliği hücresi verilen farelerde TPO verilmesi ile 2-4 günde trombosit sayısının arttığı gösterilmiştir. Ancak bir milyondan daha az sayıda hücre verilmesi ile bu başarı elde edilememiştir (95). Periferik kök hücre nakli yapılan ve TPO alan ratlar TPO almayanlarla kıyaslandığında trombosit sayısında artış için geçen sürenin 1-2 gün kısaldığı izlenmiştir (96). Ayrıca otolog kemik iliği nakli veya periferik kan kök hücre nakli yapılan primatlar ile yapılan deneylerde TPO verilmesinin hematopoetik hücreler üzerine belirgin olumlu etkisi görülmemiştir (97).

TPO' in olası kullanım yerlerinden birisi de kemik iliği nakli öncesinde verilecek kemik iliğinin kalitesini artırmaktır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada nakil öncesi TPO verilen donör grubunda nakil sonrasında platelet ve kırmızı kök hücre sayısının artışının daha kısa zaman aldığı bulunmuştur (96).

TPO verilmesine dair bir yan etki henüz bildirilmemiştir. Ancak bir çalışmada TPO ile tedavi edilmiş maymunlarının arter duvarlarında trombosit depositlerinin biriktiği tespit edilmiştir (98). Bu sebeple arteriyel trombozise meyilli olduğu bilinen kişilerde TPO' in kullanımında dikkatli olunmalıdır.

4.5. Trombopoetin ve karaciğer

Karaciğer sirozu olan kişilerde karaciğer hastalığına ve portal hipertansiyona bağlı trombositopeni gelişimi sıklığı %15-70 olarak bildirilmiştir (97, 99). Bu hastalarda biyopsi alınması veya küçük cerrahi işlemler kanama açısından risklidir. Trombositopeninin karaciğer sirozlu hastalarda bir kötü prognoz kriteri olduğu bilinmektedir (100).

Son zamanlara kadar karaciğer sirozlu hastalarda trombositopeninin hipersplenizme, büyümüş dalak içinde trombositlerin göllenmesinin ve yıkımının artmasına bağlı geliştiği düşünülmekteydi. Ancak bu hastalarda trombosit yarı ömürlerinin çok az azaldığı ve kemik iliğinde trombosit yapımının azaldığının bulunması ile başka teoriler üzerinde durulmaya başlanmıştır (100). Nitekim portal hipertansiyonun cerrahi tedavisinden sonra dalak boyutlarındaki küçülmenin trombosit sayısında artış sağlamadığı görülmüştür (101). Trombopoetinin anahtar düzenleyici maddesi olan TPO' in klonlanabilmesi ve esas kaynağının karaciğer olduğunun bulunması ile karaciğer hastalığında gelişen trombositopeninin nedenleri arasında TPO eksikliğinin de önemli bir etken olabileceği düşünülmüştür (55).

Hastalıklı karaciğerin fonksiyonel karaciğer ile değiştirildiği ortotopik karaciğer nakillerinden sonra trombositopeninin düzeldiği görülmüştür. Karaciğerde TPO mRNA ekspresyonunun azalmış olduğu gösterilen sirozlu hastalarda karaciğer naklinden sonra TPO düzeylerinde belirgin artış ve 14 gün sonra trombosit sayısında belirgin düzelme izlenmiştir. Sadece transjuguler intrahepatik portosistemik şant (TIPS) yapılan hastalar 12. aya kadar takip edilmelerine rağmen trombositopenide düzelme izlenmemiştir (102, 103, 104). Ortotopik karaciğer nakli yapılan hastaların dalak boyutlarında bir değişme görülmemiş, küçülmenin olduğu birkaç hastada ise bu küçülmenin trombosit sayıları ile korelasyon göstermediği tespit edilmiştir (105). Retiküler trombositler, protrombin yıkım ürünü F1+2, trombosit α -granül proteinleri, β -tromboglobulin ve trombosit faktör-4 gibi trombosit üretimi, trombin oluşumu ve trombosit aktivasyonunu gösteren parametrelerde karaciğer naklinden sonra artışlar tespit edilmiştir (106). Bu olumlu sonuçlar nakledilen sağlıklı karaciğerden yeterli düzeyde salınan TPO' e bağlanmıştır.

Çocuklarda yapılan çalışmalarda akut veya kronik karaciğer yetmezliği olan hastalarda karaciğer TPO mRNA düzeylerinin azaldığı görülmüştür. Dekompanze sirozu olan çocuklardaki TPO azalması kompanze sirozu olan çocuklardan daha fazladır. Bu durum trombositopeninin ve azalmış TPO üretiminin karaciğer hasarının derecesi ile ilgili olduğu sonucunu akla getirmiştir (107).

TPO gen ekspresyonunun karaciğerde hangi mekanizma ile düzenlendiği bilinmemektedir. Pek çok büyüme faktörü ve sitokin bu konuda araştırılmıştır. Hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) isimli büyüme faktörünün TPO mRNA ekspresyonunu artırdığı görülmüştür. Periferik trombosit sayısının ve TPO mRNA ekspresyonunun azaldığı gösterilen karaciğer sirozu geliştirilmiş ratlara HGF/SF'nin verilmesiyle hem periferik trombosit sayısında hem de TPO mRNA ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiştir (108).

Hepatitli hastalar ile yapılan çalışmalarda kronik viral hepatitin erken dönemlerinde artan TPO üretiminin, hastalığın ilerlemesi ve fibrosis gelişimi ile azaldığı görülmüştür (109). Bir başka çalışmada kronik hepatit C enfeksiyonu olanlarda serum TPO düzeyleri normal bulunurken sirotik hastalarda düşük bulunmuştur (12). Kronik hepatit C enfeksiyonu olan bu hastalara interferon tedavisi verildikten sonra serum TPO düzeylerinin arttığı ama platelet sayısının azaldığı rapor edilmiştir (98). Ancak yukarıda anlatılanların aksine karaciğerden TPO salınımının sabit olduğu ve karaciğer yetmezliği ile değişmediğini bildiren yayınlar da mevcuttur (110, 111).

HASTALAR, MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Ekim 2001 ve Nisan 2002 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Gastroenteroloji Kliniği'nde tanısı konulan, takip ve tedavisi yapılan toplam 42 karaciğer sirozlu olguda prospektif olarak yapıldı. Çalışmaya sirozlu olguların yanısıra (Grup 1), kontrol grupları olarak; karaciğer fonksiyon testleri (transaminazlar, gama glutamil transferaz, alkalen fosfataz, laktat dehidrogenaz enzimlerinin en az üç tanesinde en az 10 gündür iki kat veya daha fazla yükselme tespit edilen) bozuk olan ama trombosit sayısı normal olan 14 kişi (Grup 2), karaciğer fonksiyon testleri normal olan ama en az 10 gündür trombositopenisi olan (trombosit sayısı $< 10 \times 10^4/\mu\text{l}$) 12 kişi (Grup 3) ve hem karaciğer fonksiyon testleri hem de trombosit sayısı normal olan 15 kişi (Grup 4) dahil edildi.

Grup 1' de yer alan 42 karaciğer sirozlu olgunun 28' i erkek (%66.7), 14' ü kadındı (%33.3). Erkek olguların yaş ortalaması 54.7 ± 13.6 , kadın olguların yaş ortalaması 53.8 ± 10.2 idi. Olguların tümü Kayseri ve çevre illerden başvurmuştu. Alt hastalıklar değerlendirildiğinde olguların 17' si (% 40.5) HCV, 16' sı (%38.1) HBV ile enfekte hastalardı, 5 olguda (%11.9) sirozun etyolojisi bilinmiyordu, 2 olguda (%4.8) alkolik karaciğer hastalığı, bir olguda (%2.4) otoimmün hepatit hikayesi, bir olguda (%2.4) ise primer bilier siroz vardı. Bu olguların 9' unda (%21.4) histopatolojik tanı mevcuttu. Histopatolojik tanısı konulan olguların 8' inde (%19.0) aktif siroz, bir olguda

ise (%2.4) primer biliyer siroz tanısı konuldu. Hastalık sürelerinin ortalaması 13.5 (1-132) ay idi. Olguların hastaneye son yatış sebepleri sırasıyla; bakteriyel peritonit (n=11, %26.2), kanama (n=10, %23.8), ensefalopati (n=9, %21.4), yoğun asit birikimi (n=5, %11.9) ve üriner sistem enfeksiyonu, umbilikal herni, anemi gibi diğer (n=7, %16.7) sebeplerdi. Olguların ortalama yatış süreleri 11.3±6.0 gündü. Olguların 12' sinde (%28.6) Diabetes Mellitus mevcuttu. Fizik incelemelerde 31 olguda (%73.8) az, 3 olguda (%7.2) grade I-II, 8 olguda (%19.0) grade III-IV ensefalopati tespit edilirken 14 olguda (%33.3) az, 5 olguda (%11.9) orta derecede ve 23 olguda (%54.8) belirgin asit varlığı tespit edildi. Bu olgulara Child-Pugh sınıflama sistemine göre klinik evreleme yapıldı, olguların 6' sı (%14.3) Evre A, 16' sı (%38.1) Evre B ve 20' si (%47.6) Evre C olarak sınıflandırıldı (11). Sirozlu olguların hiçbiri interferon tedavisi almıyordu.

Grup 2' de yer alan olgular seçilirken en az son 10 gündür karaciğer fonksiyonlarında bozukluk olmasına ve birlikte trombositopeninin olmamasına dikkat edildi. Tüm olguların ultrasonografik olarak karaciğer, dalak ve portal ven boyutları normaldi. Bu grupta yer alan 14 olgunun yedisi erkek (%50.0), yedisi kadın (%50.0) olgu idi. Erkek olguların yaş ortalaması 54±13.0, kadın olguların yaş ortalaması ise 44±8.5 idi. Olguların alt hastalıkları belirgin farklılık gösteriyordu; ikisi ülseratif kolit (%14.2), biri (%7.1) pankreatit, biri (%7.1) mide kanseri, biri (%7.1) pilor obstrüksiyonu, biri (%7.1) Diabetes Mellitus, ikisi (%14.2) organik fosfor biri (%7.1) amitriptilin intoksikasyonu, beş (%36.1) olgu ise karın ağrısı etyolojisi araştırılan ve altta yatan belirgin bir sebebin tespit edilemediği olgulardı.

Grup 3' te yer alan olguların en az son 10 gündür trombositopenilerinin olmasına ancak eş zamanlı karaciğer fonksiyon testlerinin normal olmasına dikkat edildi. Tüm olguların ultrasonografide karaciğer, dalak ve portal ven boyutları normaldi. Bu grupta yer alan 12 olgunun 6' sı erkek (%50.0), 6' sı kadındı (%50.0). Erkek olguların yaş ortalaması 48±11, kadın olguların yaş ortalaması ise 42±10 idi. Olguların 5' inde İTP (%41.7), 2' sinde (%16.7) AML, 2' sinde (%16.7) demir eksikliği anemisi ve bir olguda (%8.3) akciğer kanseri, bir olguda (%8.3) KLL ve bir olguda da (%8.3) Hodgkin hastalığı mevcuttu.

Grup 4' de yer alan olguların hem karaciğer fonksiyonları hem de trombosit sayısında bozukluk olmamasına dikkat edildi. Bu 15 kişinin 6' sı (%40.0) erkek, 9' u (%60.0) kadındı. Erkeklerin yaş ortalaması 25 ± 2 , kadınların yaş ortalaması 26 ± 5 idi. Bu kişiler klinik olarak tamamen sağlıklı, laboratuvar bulguları normal bireylerdi.

Tüm gruplarda yer alan kişilerde hemoglobinin, hematokrit, beyaz küre, trombosit, açlık kan şekeri, kan üre azotu (BUN), kreatinin, sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz, total protein, albumin, transaminazlar (AST, ALT), bilirubinler, laktat dehidrogenaz (LDH), gama glutamil transferaz (GGT) ve protrombin zamanı çalışıldı. Biyokimyasal ölçümler Konelab System 60i Thermolab System (Finland) otoanalizörü kullanılarak yapıldı. Trombositler de dahil tam kan sayımı Coultergen-S (USA) marka cihaz kullanılarak yapıldı. Bu cihazda trombosit için normal değerler $15-45 \times 10^4 /\mu\text{l}$ idi.

Protrombin zamanının ölçümü Quick metodu ile (112) otomatik hematoloji analizörleri (Dade Behring, BCS, Germany) kullanılarak yapıldı. Bu analizörde protrombin zamanı için referans aralığı 12-16 saniye idi.

Dalak boyutları Matsutani metodu ile ultrasonografik olarak değerlendirildi (113). Sol interkostal alana ultrasonografi probu konularak splenik hilum görüntüledi. Önce hiler kıvrım ile anterior kranial uç arasındaki mesafe ölçüldü (A). Dalağın en geniş gözüktüğü yerden bu çizgiye dik bir hat çizilerek bu hattın uzunluğu ölçüldü (B). Boyutlar cm cinsinden kaydedildi. Daha sonra $A \times B$ çarpımı hesaplandı ve bu değer dalak volüm indeksi (cm^2) olarak kaydedildi.

Çalışmaya alınan tüm bireylerin serum TPO konsantrasyonları ölçüldü. Olgulardan alınan kan örnekleri sentrifüj cihazında 1000 devirde 10 dakika boyunca çevrilerek serumları ayrıştırıldı ve ayrıştırılan serum örnekleri $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de ELISA analizinin yapılacağı güne kadar bekletildi. Serum TPO konsantrasyonları ticari ELISA kitleri (Quantikine™ Human TPO Immunoassay; R & D Systems, Minneapolis, MN, USA) kullanılarak ölçüldü. Önce 200 μL rekombinant insan TPO standardı, serum örnekleri veya kontroller anti-TPO monoklonal antikolar ile yüzeyleri kaplanmış

yuvacıklara (plate) ilave edildi. Bu yuvacıklar 4 °C'de 3 saat boyunca inkübe edildi. Yıkama sonrasında anti-TPO antikoruna ile konjüge edilmiş 200 µL peroksidaz enzimi her bir yuvaciğına ilave edilerek 4 °C' de bir saat daha inkübasyon yapıldı. Peroksidaz substratı gibi kullanılan tetrametilbenzidin ile renk elde edilmesi sağlandı. Herbir yuvaciğına 50 µL asit solüsyonu ilave edilerek reaksiyon sona erdirildi ve absorbanslar 450 nm dalga boyunda okunarak kaydedildi. Serum örneklerinin TPO konsantrasyonları elde edilen standart grafik eğrisi esas alınarak ölçüldü. Bu yöntem ile TPO konsantrasyonları 31.2 pg/ml seviyesinden itibaren ölçülebildi. Bu testte test içi varyasyon değeri %3.3-7.5 ve testler arası varyasyon değeri %8.2-11.8 idi.



İSTATİSTİK

Değişkenlerin parametrik koşulları sağlayıp sağlamadığını test etmek için Kolmogrov Smirnov testi yapıldı. Parametrik koşullara uygun olan parametrelerde değişkenler ortalama \pm standart sapma ($x \pm SD$) olarak tanımlandı ve dört grup arasındaki farklılık Oneway ANOVA testi ile değerlendirildi. Hangi grubun farklı olduğunun tespitinde ise Scheffe prosedürü kullanıldı. Nonparametrik koşulları sağlayan parametrelerde değişkenler median (minimum-maksimum) olarak tanımlandı ve dört grup arasındaki farklılık Kruskal Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Hangi grubun farklı olduğu ise Banferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile yapıldı. Parametreler arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla parametrik koşulları sağlayanlar için Pearson, nonparametrik koşulları sağlayanlar için ise Spearman korelasyon analizleri yapıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alındı. Tüm verilerin analizlerinde biyoistatistik bilgisayar programı olan SPSS 10.0 kullanıldı.

BULGULAR

Sirozlu olgular (Grup 1), sirozsuz karaciğer fonksiyon bozukluğu olan olgular (Grup 2), trombositopeni grubu (Grup 3) ve normal kontrol grupları (Grup 4) birbirleri ile yaşları bakımından Oneway ANOVA testi ile karşılaştırıldığında Grup 4 ile diğer üç grup arasında ile farklılık vardı ve daha genç yaş ortalamasına sahip oldukları (Tablo 15) görüldü ($p<0.05$). Pearson korelasyon testi kullanılarak yaş ile serum TPO düzeyleri ve Child-Pugh skorları arasında bir ilişki tespit edilemezken ($p>0.05$), yaş ile trombosit sayısı arasında orta derecede negatif korelasyon izlendi ($p<0.01$).

Olgular cinsiyetlerine göre değerlendirildiğinde Kruskal Wallis varyans analizi ile gruplar arasında fark olmadığı görüldü (Tablo 9). Pearson korelasyon testi kullanılarak cinsiyet ile trombosit sayıları ve Child-Pugh skorları arasında ($p>0.05$) ve Spearman nonparametrik korelasyon testi kullanılarak cinsiyet ile serum TPO düzeyleri arasında bir ilişki olmadığı görüldü ($p>0.05$).

Karaciğer sirozu olan olguların 9' unde (%21.4) histopatolojik tanı mevcuttu. Histopatolojik tanısı konulan olguların 8' inde (%19.0) aktif siroz, bir olguda ise (%2.4) primer biliyer siroz tanısı konuldu.

Tablo 9. Grupların yaş ve cinsiyete göre dağılımı.

Grup	Cinsiyet	Yaş (Median, Min-Maks)
1 (n=42)	erkek (n=28)	54 (23-73)
	kadın (n=14)	56 (30-65)
2 (n=14)	erkek (n=7)	62 (38-70)
	kadın (n=7)	42 (32-57)
3 (n=12)	erkek (n=6)	50 (32-62)
	kadın (n=6)	45 (26-55)
4 (n=15)	erkek (n=6)	25 (23-38)
	kadın (n=9)	24 (23-38)

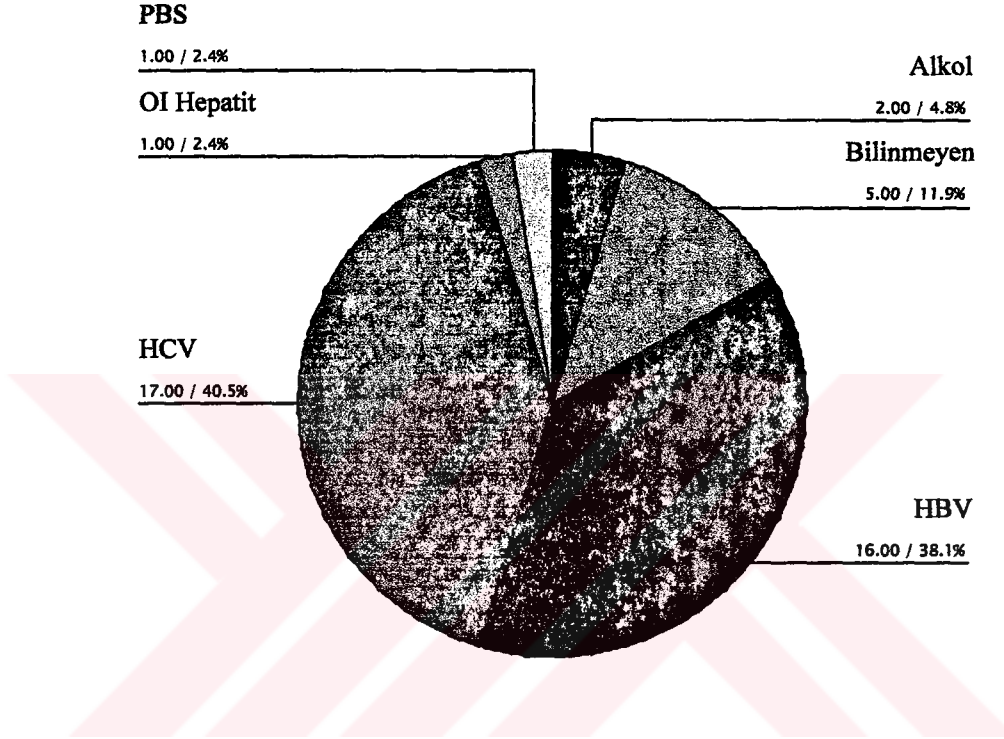
Karaciğer sirozu olan Grup 1' deki olguların median hastalık süreleri 13.5 (1-132) aydı. Spearman korelasyon analizi yapılarak hastalık süreleri ile serum TPO düzeyleri, trombosit sayıları ve Child-Pugh skorları arasında ilişki olup olmadığı incelendi. Hastalık süresi ile Child-Pugh skoru arasında zayıf bir pozitif korelasyon izlenirken ($p=0.042$) serum TPO ve trombosit sayıları arasında bir ilişki gözlenmedi ($p>0.05$).

Karaciğer sirozlu olgularda etiyolojiye göre dağılım Grafik 1' de görülmektedir. Özellikle iki büyük grup, HBV ve HCV' ye bağlı karaciğer sirozu gelişen olgularda Oneway ANOVA ve Mann Whitney U testi kullanılarak serum TPO düzeyleri, trombosit sayıları ve Child-Pugh skorları arasında fark olup olmadığı incelendi. Sonuçlar Tablo 10, 11, 12 ve Grafik 2, 3 ve 4' de özetlenmiştir. Hepatit B ve Hepatit C'ye bağlı siroz grupları arasında serum trombopoetin değerlerinde belirgin farklılık gözlenmezken ($p >0.05$) her iki grubun trombosit sayılarının kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük olduğu görüldü ($p<0.05$). Her iki siroz grubunun Child-Pugh skorları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$).

Erişkin Türk insanı üzerinde yapılmış ve normal dalak boyutlarını gösteren bir çalışmayı literatürde tespit edemedik. Ancak sağlıklı kontrol grubumuzda (Grup 4)

Matsutani' nin literatürde tarif ettiği gibi (113) yapılan ultrasonografik ölçümlerde bu değer $12.0 \pm 3.7 \text{ cm}^2$ olduğunu tespit ettik ve dalak boyutlarının karşılaştırmalarını bu

Grafik 1. Karaciğer sirozlu olguların etiyojolojiye göre dağılımı.



Tablo 10. Hepatit B ve Hepatit C' ye bağlı karaciğer sirozu gelişen olguların serum trombopoetin düzeylerinin analizi.

Değişken	HCV n=17 med (min-maks)	HBV n=16 med (min-maks)	KONTROL n=15 med (min-maks)	P
TPO	65.0 (31.2-285)	40.0 (31.2-450)	33.0 (31.2-325)	0.279

a: HCV grubuna göre farklı olan grubu gösterir
b: HBV grubuna göre farklı olan grubu gösterir
c: Kontrol grubuna göre farklı olan grubu gösterir

Tablo 11. Hepatit B ve Hepatit C' ye bağlı karaciğer sirozu gelişen olguların trombosit sayımının analizi.

Değişken	HCV n=17 (x ± SD)	HBV n=16 (x ± SD)	KONTROL n=15 (x ± SD)	F	P
Trombosit sayısı	136000±111000 ^c	115000±80.000 ^c	277000±84000 ^{ab}	24,92	0,000

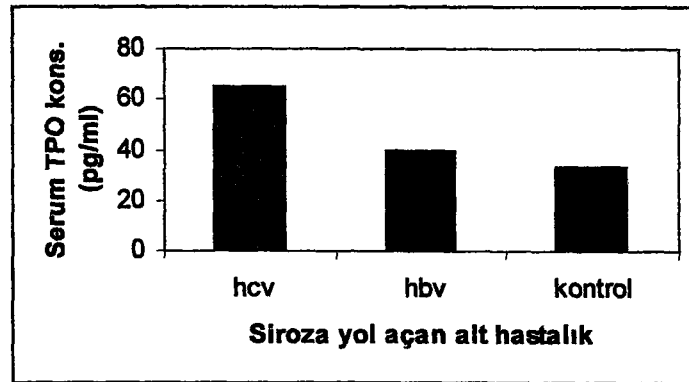
a: HCV grubuna göre farklı olan grubu gösterir
b: HBV grubuna göre farklı olan grubu gösterir
c: Kontrol grubuna göre farklı olan grubu gösterir

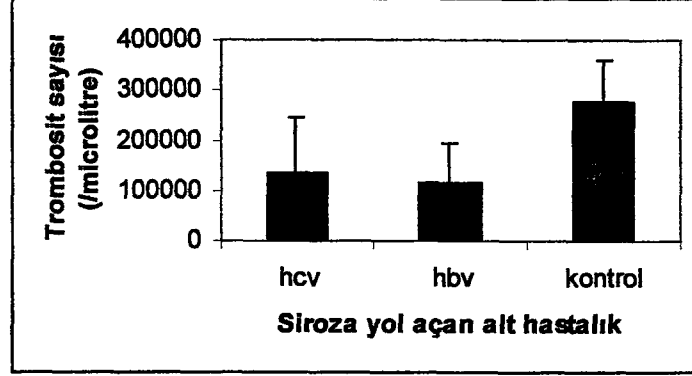
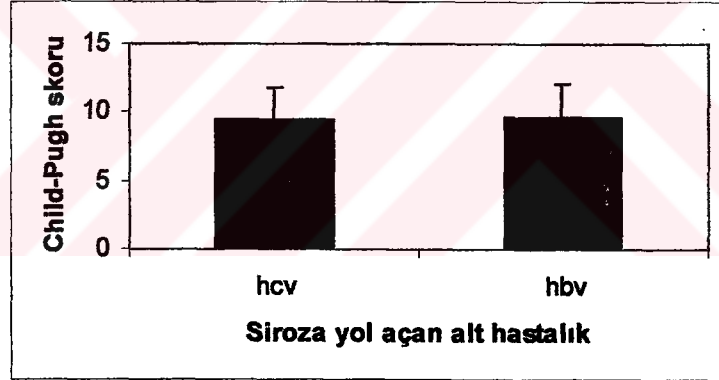
Tablo 12. Hepatit B ve Hepatit C' ye bağlı karaciğer sirozu gelişen olguların Child-Pugh skorlarının analizi.

Değişken	HCV n=17 (x ± SD)	HBV n=16 (x ± SD)	F	P
Child-Pugh Skoru	9,5±2,3	9,6±2,5	0,973	0,447

a: HCV grubuna göre farklı olan grubu gösterir
b: HBV grubuna göre farklı olan grubu gösterir

Grafik 2. Siroz etiyolojisine göre serum TPO düzeylerinin dağılımı



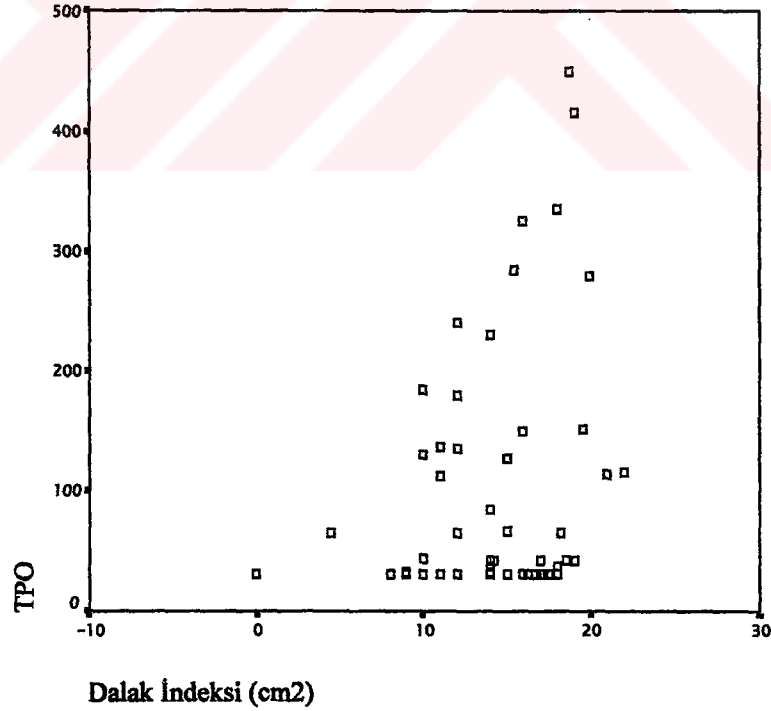
Grafik 3. Siroz etiyojisine göre trombosit sayılarının dağılımı**Grafik 4.** Siroz etiyojisine göre Child-Pugh skorlarının dağılımı

değere göre yaptık. Klinik evreleme amacıyla Child-Pugh skorlama sistemine göre üç gruba ayırdığımız (A, B ve C) olgularda dalak boyutlarını karşılaştırdık. Her üç grupta da dalak boyutları kontrol grubuna göre büyük bulundu ($p < 0.05$). Ancak Evre A' da dalak boyutları Evre B ve C' ye göre daha az artmış bulundu, (Evre A' da 20.2 ± 4.5 , Evre B' de 25.5 ± 4.0 , Evre C' de 24.0 ± 4.28 cm²). Dalak boyutları ile trombosit sayısı arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla Pearson korelasyon testi yapıldı, Evre B' de izlenen güçlü negatif korelasyon dışında ($p = 0.013$, $r = -0.571$) Evre A ve C' de dalak boyutları ve trombosit sayısı arasında bir ilişki gösterilemedi. Dalak boyutları ile serum TPO düzeyleri arasındaki ilişki Spearman korelasyon testi ile araştırıldı ancak istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı ($p > 0.05$). Değerlendirmeye alınan

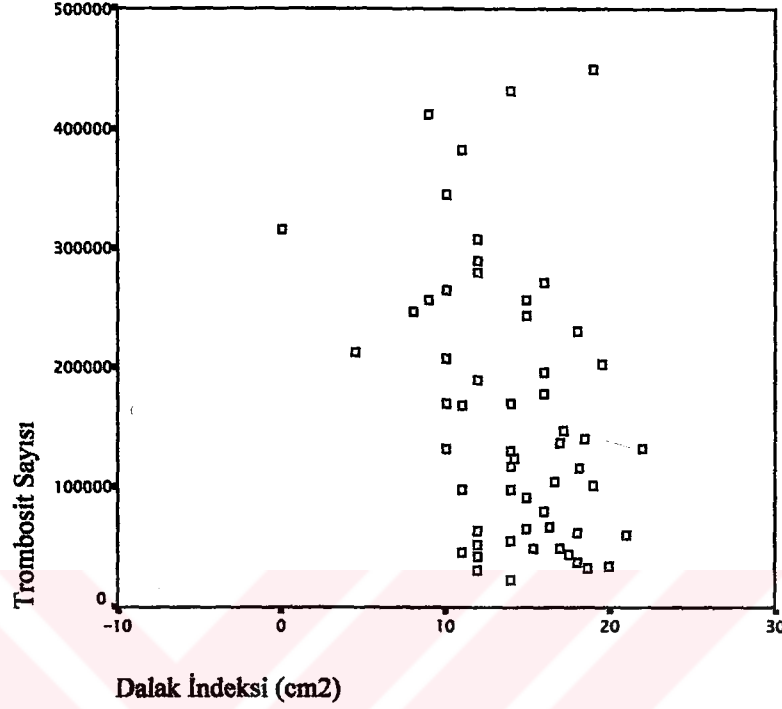
hastalardan bir tanesine splenektomi yapılmıştı. Bu hastada karaciğer sirozlu hastalar içindeki en yüksek trombosit sayısı ($31.6 \times 10^4 /\mu\text{l}$) ve en düşük serum TPO düzeyi (31.2 pg/ml) ölçüldü. Tüm olgu grupları birlikte ele alınarak yapılan analizlerde dalak indeksleri ile serum TPO düzeyleri ve trombosit sayıları arasındaki ilişkiler Grafik 5 ve 6' da görülmektedir.

Biyokimyasal parametrelerin gruplara göre dağılımı Tablo 13' de görülmektedir. Oneway ANOVA testi kullanarak AST, ALT, ALP, bilirubin, LDH ve albumin değerlerinin gruplar arasında farklılık gösterdiği izlenmektedir ($p>0.05$). Transaminazlar (AST, ALT) dikkate alındığında sirozsuz karaciğer hastalığı olan Grup 2' deki değerlerin diğer üç gruptan da belirgin yüksek olduğu ($p < 0.05$), sirozlu Grup 1' deki değerlerin ise Grup 3 ve 4' ten yüksek olduğu görüldü. ALP düzeyleri dikkate

Grafik 5. Tüm gruplar birlikte incelendiğinde dalak boyutları ile serum TPO düzeyleri arasındaki ilişki.



Grafik 6. Tüm gruplar birlikte incelendiğinde dalak boyutları ile trombosit sayısı arasındaki ilişki.



alındığında diğer üç grup arasında fark yokken Grup 2' deki olgularda ALP değerlerinin diğer gruplardan belirgin olarak yüksek olduğu görüldü ($p < 0.05$). LDH değerleri trombositopenik Grup 3' de Grup 1 ve Grup 2' den belirgin olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$) ancak Grup 2 ile istatistiksel olarak belirgin bir farklılık görülmedi. Total bilirubin değerleri Grup 1' de Grup 3 ve Grup 4' e göre belirgin olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$). Albumin değeri Grup 3' de Grup 1' e göre belirgin olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$). Parametrik koşulları sağlamayan GGT değerlerinin Mann Whitney U testi ile analizinde (Tablo 15) Grup 2' de GGT değerlerinin belirgin yüksek, Grup 4' de ise belirgin düşük olduğu tespit edildi. Diğer biyokimyasal parametreler gruplar arasında belirgin bir farklılık göstermiyordu ($p > 0.05$).

Grup 1, 3 ve 4' de transaminazlar (AST, ALT), ALP, total bilirubin, LDH ve albumin değerleri ile serum TPO düzeyleri ve trombosit sayıları arasında bir ilişki gösterilemedi ($p > 0.05$). Child-Pugh skorlaması yapılan tek grup olan Grup 1' de transaminazlar, ALP ve LDH değerleri ile Child-Pugh skoru arasında bir ilişki

gösterilemedi ($p>0.05$). Grup 2' de transaminazlar (AST, ALT), ALP, total bilirubin, LDH ve albumin değerleri ile serum trombopoetin arasında bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$). ALP değeri ile trombosit sayısı arasındaki güçlü pozitif korelasyon ($p<0.05$) dışında yukarıdaki diğer parametreler ile trombosit sayıları arasında bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$).

Grup 1' de GGT değerleri ile trombosit sayısı arasında zayıf pozitif korelasyon izlense de ($p=0.035$) serum TPO ve Child-Pugh skorları arasında bir ilişki izlenmedi. Grup 2, 3 ve 4' de GGT değerleri ile serum TPO ve trombosit sayıları arasında bir ilişki görülmedi.

Kan parametrelerinin gruplara göre dağılımı Tablo 14' de görülmektedir. Hemoglobin değerleri Grup 4' de Grup 3 ve 1' e göre belirgin oranda yüksek bulundu. Grup 1' de hemoglobin değerleri ile serum TPO düzeyleri, trombosit sayıları ve Child-

Tablo 13. Olguların gruplara göre biyokimyasal değerlerinin analizi

Değişken	Grup 1 n=42 (x ± SD)	Grup 2 n=14 (x ± SD)	Grup 3 n=12 (x ± SD)	Grup 4 n=15 (x ± SD)	F	P
Glukoz	142,2±75	114,8±37,4	109,8±23,8	105,4±18,5	2,44	0,069
BUN	26,3±18,2	20,4±4,3	21,5±7,5	21,7±5,0	1,03	0,384
Kre	,97±0,3	0,9±0,2	1,0±0,3	0,9±0,1	0,67	0,573
Na	139,2±5,7	138,3±5,3	137,3±7,5	138,2±6,8	0,37	0,772
K	5,2±5,9	4,0±0,6	4,0±0,8	4,4±0,5	0,49	0,686
Ca	8,6±0,8	8,7±0,8	8,9±0,8	8,9±0,6	1,39	0,249
P	3,0±0,9	3,3±0,6	3,8±0,6	4,1±0,7	7,92	0,000
AST	69,4±46,8 ^{bcd}	146,8±61,4 ^{acd}	25,8±12,8 ^{ab}	27,6±6,7 ^{ab}	26,26	0,000
ALT	48,1±40,8 ^b	217,3±169,3 ^{acd}	24,3±13,3 ^b	24,7±6,2 ^b	24,61	0,000
ALP	281,8±170,6 ^b	878,1±705,4 ^{acd}	314,4±263,5 ^b	212,5±62,6 ^b	14,47	0,000
T.Bil	2,7±1,8 ^{cd}	2,5±2,9	1,1±0,4 ^a	1,0±0,2 ^a	5,57	0,002
LDH	477±168 ^c	568,3±187	782,5±804,4 ^{ad}	399,8±161,7 ^c	3,56	0,018
Alb	2,9±0,6 ^c	3,4±0,8	3,7±0,3 ^a	3,4±0,3	6,35	0,001

(BUN:Kan üre azotu mg/dl, Kre:Kreatinin mg/dl, Na:Sodyum mmol/L, K:Potasyum mmol/L, Ca:Kalsiyum mg/dl, P:Fosfor mg/dl, AST:Aspartataminotransferaz U/L, ALT:Alaninaminotransferaz U/L, ALP:Alkalenfosfataz U/L, TBİL:Total bilirubin mg/dl, LDH:Laktatdehidrogenaz U/L, Alb:Albumin g/dl)

a: 1. gruba göre farklı olan grubu gösterir

b: 2. gruba göre farklı olan grubu gösterir

c: 3. gruba göre farklı olan grubu gösterir

d: 4. gruba göre farklı olan grubu gösterir

Pugh skorları arasında bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$). Grup 2, 3 ve 4'de de hemoglobin değerleri ile serum TPO düzeyleri ve trombosit sayıları arasında bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$).

Grup 3' deki beyaz küre değerinin düşük bulunması dışında gruplar arasında beyaz küre sayıları açısından belirgin bir fark izlenmedi ($p>0.05$). Ayrıca beyaz küre sayıları ile serum TPO düzeyleri ve trombosit sayıları arasında bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$). Grup 1' de beyaz küre sayıları ile Child-Pugh skorları arasında bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$).

Her dört grupta da ESR değerleri homojen dağılmıştı ve gruplar arasında fark yoktu. ESR değerleri ile serum TPO düzeyleri ve trombosit sayıları arasında bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$). Grup 1' de ESR değerleri ile Child-Pugh skorları arasında bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$). TPO' in bir akut faz reaktanı olduğu düşünülerek özellikle peritonit sebebiyle yatırılan olgular incelendi. Son yatış sebebi bakteriyel peritonit olan (ateş, karın ağrısı, asit varlığı ve peritoneal sıvı analizinde mikrolitrede 300' den fazla polimorfonükleer lökosit olan) olguların analizinde trombosit sayıları ve serum TPO değerleri sağlıklı kontrol grubundan farklılık göstermedi ($p>0.05$).

Grup 1' deki olgularda PTZ değeri yüksek olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.070$). Diğer üç grupta da PTZ değerleri homojen dağılmıştı ve gruplar arasında fark yoktu. Tüm gruplarda PTZ değerleri ile serum TPO düzeyleri ve trombosit sayıları arasında bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$).

Trombosit sayılarının dağılımı Grafik 7' de görülmektedir. Trombosit sayıları Grup 1' de Grup 2 ve 3' den belirgin olarak düşük Grup 2' den ise belirgin olarak yüksekti ($p<0.05$). Grafik 7' de görüldüğü gibi tüm gruplar birlikte ele alındığında trombosit sayısı ile serum TPO düzeyleri arasında Spearman korelasyon testi ile güçlü bir negatif korelasyon izlendi ($p<0.01$). Ancak Grup 1, 3 ve 4 tek tek incelendiğinde trombosit sayıları ile serum TPO düzeyleri arasında belirgin bir ilişki yoktu ($p>0.05$). Sadece Grup 2' de trombosit sayıları ile serum TPO düzeyleri arasında belirgin bir negatif korelasyon mevcuttu ($p=0.012$). Ancak trombosit sayıları ile serum TPO

düzeyleri arasındaki ilişkiyi göstermek için çizilen Grafik 8, 9, 10, 11 incelendiğinde Grup 1 ve 2' de trombosit sayıları ile serum TPO düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu, Grup 4' deki vakalarda ise bir kişideki aşırı serum TPO düzeyi yüksekliği dışında serum TPO düzeylerinin sabit olduğu görüldü.

Tablo 14. Olguların gruplara göre tam kan sayımı parametrelerinin analizi.

Değişken	Grup 1 n=42 (x ± SD)	Grup 2 n=14 (x ± SD)	Grup 3 n=12 (x ± SD)	Grup 4 n=15 (x ± SD)	F	P
Hb	10,8±2,5 ^{cd}	12,3±2,0 ^c	9,0±1,3 ^{abd}	13,9±1,2 ^{ac}	15,6	0,000
Beyaz küre	7600±4400	9200±4200 ^c	4500,0±5200 ^b	6500±1200	3,37	0,022
Trombosit	120000±90000 ^{bcd}	276000±153000 ^{ac}	36000±32000 ^{abd}	277000±84000 ^{ac}	27,24	0,000
ESR	35,5±29,2	25,6±9,3	21,2±11,4	19,7±3,2	3,0	0,033
PTZ	17,0±7,9	13,6±1,6	13,6±1,3	14,0±1,0	2,43	0,070

(Hb:Hemoglobin g/dl, ESR:Eritrosit sedimentasyon hızı mm/h, PTZ:Protrombin zamanı sn, beyaz küre hcr/ μ L, trombosit / μ L.)

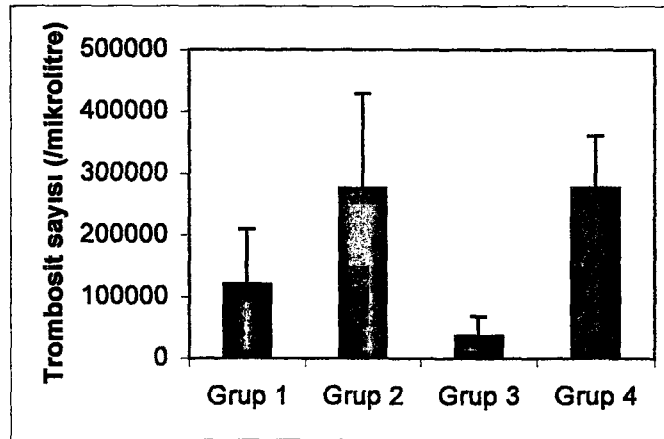
a: 1. gruba göre farklı olan grubu gösterir

b: 2. gruba göre farklı olan grubu gösterir

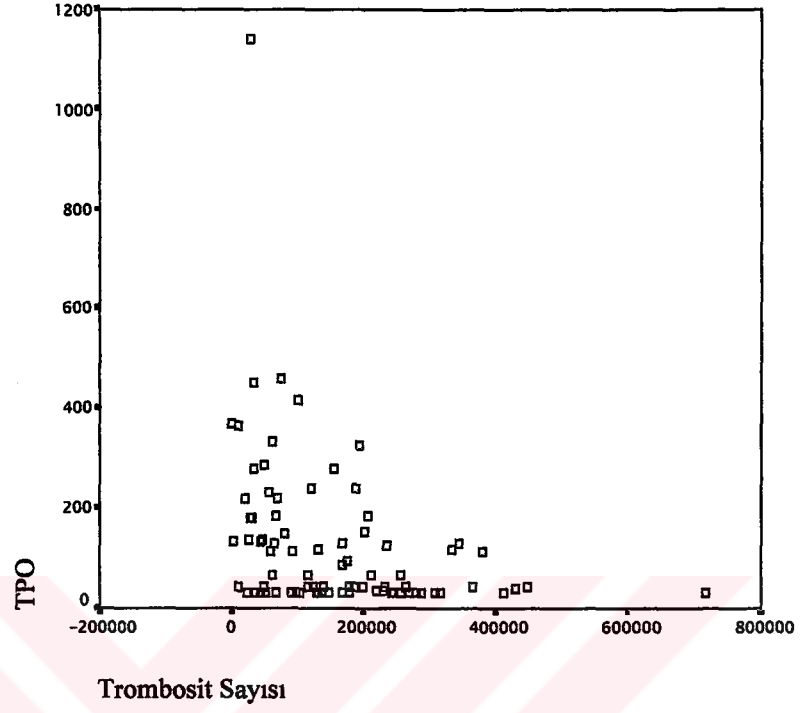
c: 3. gruba göre farklı olan grubu gösterir

d: 4. gruba göre farklı olan grubu gösterir

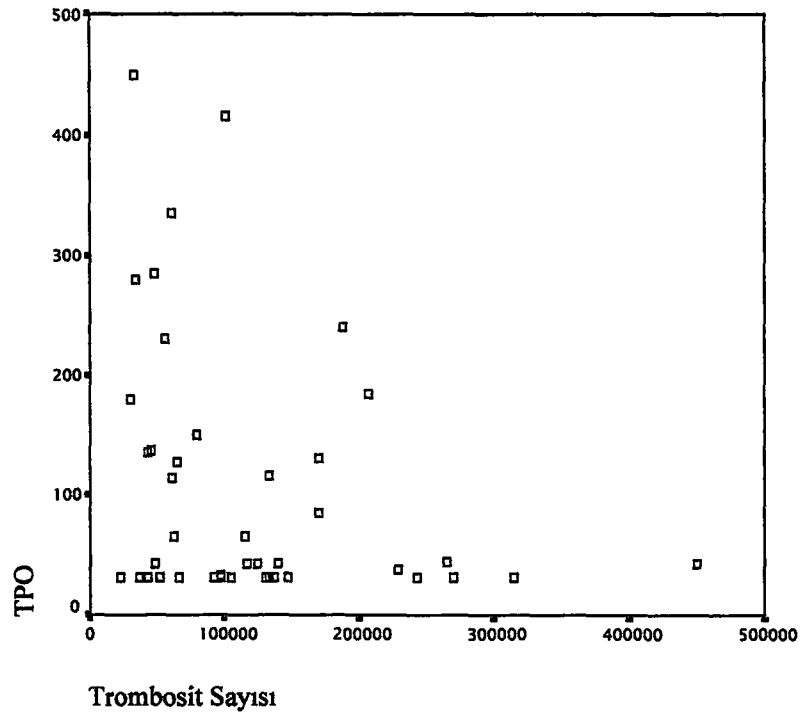
Grafik 7. Trombosit sayılarının gruplara göre dağılımı.



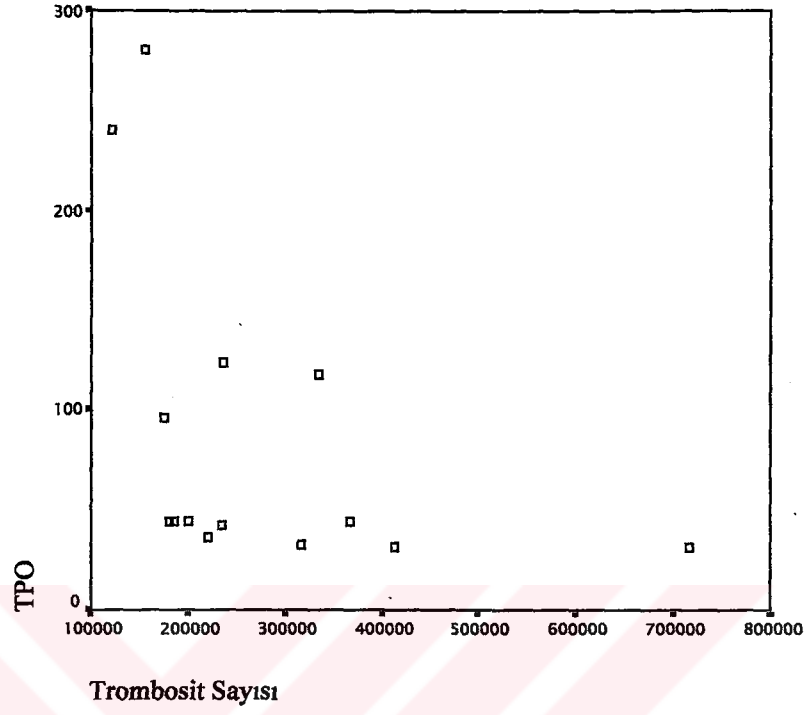
Grafik 8. Tüm gruplar birlikte ele alındığında serum trombopoetin düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki.



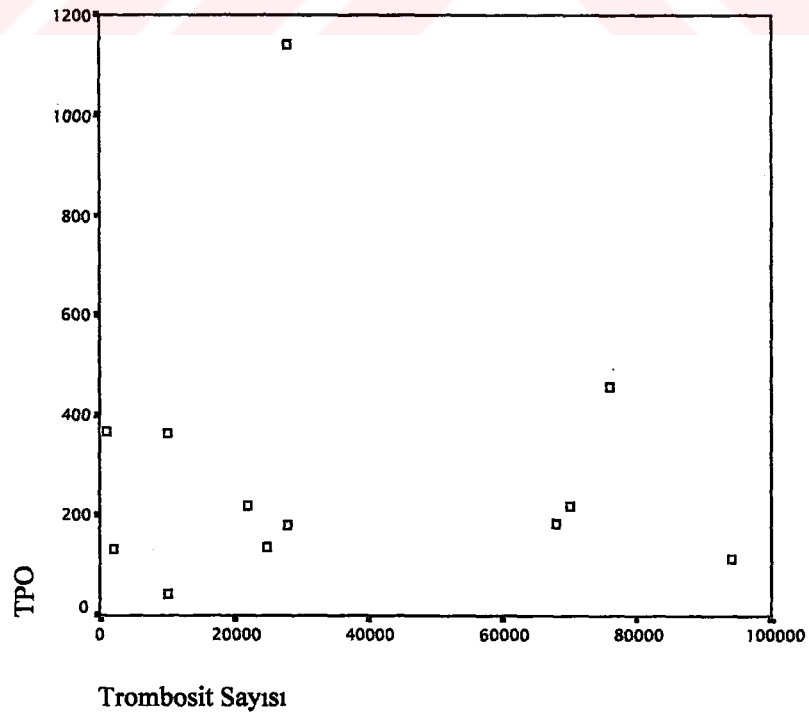
Grafik 9. Grup 1' deki olguların serum trombopoetin düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki.



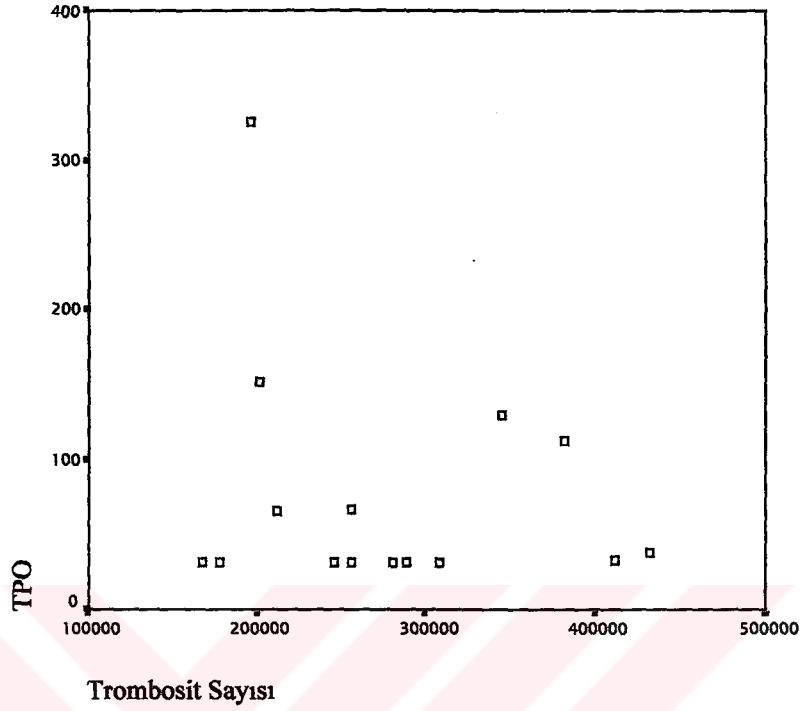
Grafik 10. Grup 2' deki olguların serum trombopoetin düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki.



Grafik 11. Grup 3' deki olguların serum trombopoetin düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki.



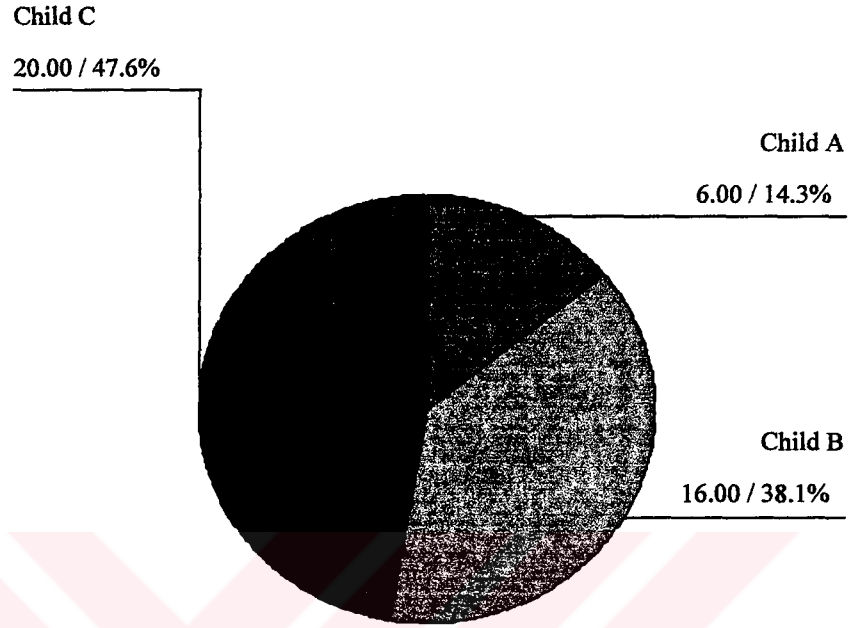
Grafik 12. Grup 4' deki olguların serum trombopoetin düzeyleri ile trombosit sayıları arasındaki ilişki.



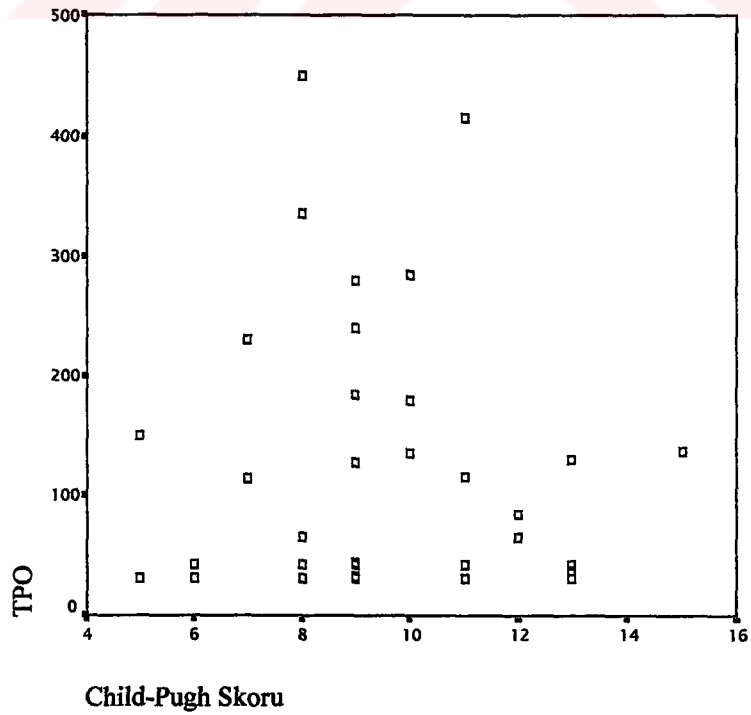
Olguların alt hastalıkları incelendiğinde özellikle Grup 1' deki olgular arasında fazla sayıda Diabetes Mellitus hastası olduğu dikkat çekti (n=12, % 28.6). Bu sebeple bu olgular için ayrı bir değerlendirme yapıldı. Kruskal Wallis varyans analizi testi uygulanan bu kişilerde diabetik olmayanlara göre serum TPO, trombosit sayısı ve Child-Pugh skorları arasında bir farklılık olmadığı görüldü ($p>0.05$).

Grup 1' de yer alan tüm olgulara Child-Pugh skorlama sistemine uyularak klinik evreleme yapıldı. Ortalama Child-Pugh skoru 9.3 ± 2.4 olarak hesaplandı. Grafik 12' de görüldüğü gibi hastaların 6 tanesi (%14.3) Evre A, 16 tanesi (%38.1) Evre B ve 20 tanesi (%47.6) Evre C olarak sınıflandırıldı. Child-Pugh skorları ile serum TPO düzeyleri ve trombosit sayıları arasındaki ilişkiler ise Grafik 13 ve 14' de görülmektedir. Trombosit sayısı için Pearson, serum TPO düzeyleri için Spearman ile yapılan korelasyon analizlerinde Child-Pugh skorları ile her iki parametre arasında da bir ilişki gösterilemedi ($p>0.05$).

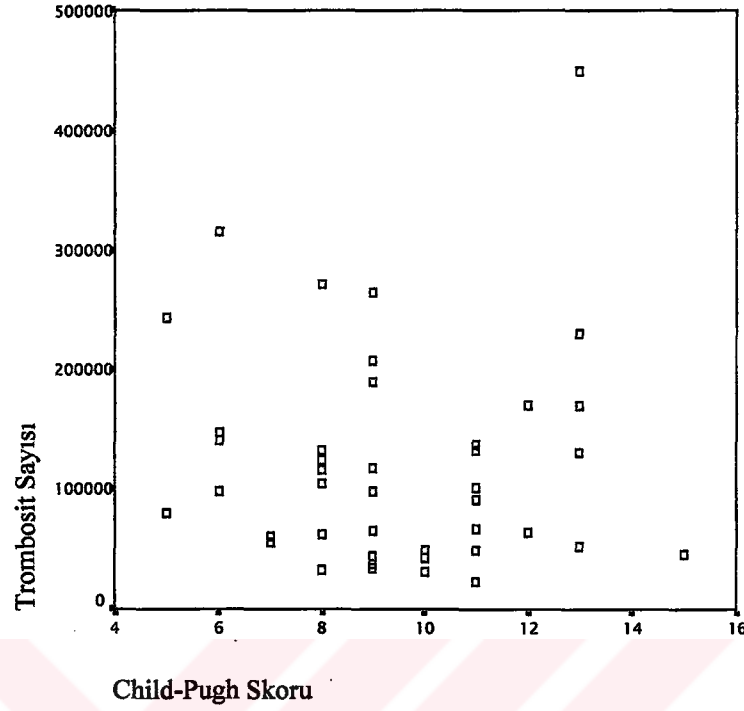
Grafik 13. Karaciğer sirozlu olguların Child-Pugh skorlama sistemine göre klinik evrelerinin dağılımı



Grafik 14. Child-Pugh skorları ile serum trombopoetin düzeyleri arasındaki ilişki.



Grafik 15. Child-Pugh skorları ile trombosit sayıları arasındaki ilişki.



Serum TPO düzeylerinin gruplara göre dağılımı Tablo 14 ve Grafik 15’ de görülmektedir. Trombositopenili Grup 3’ de serum TPO düzeylerinin diğer üç gruptan da belirgin olarak yüksek olduğu tespit edildi. Sirozlu ve akut karaciğer hasarlı gruplarda (Grup 1 ve Grup 2) sağlıklı kontrol grubuna göre serum TPO düzeyleri yüksek bulunsa da sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.070$). Serum TPO düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki ilişkilerden daha önce bahsedilmiştir.

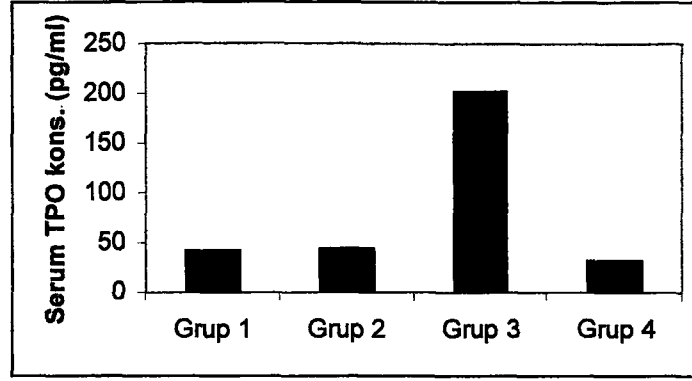
Tablo 15. Olguların gruplara göre serum TPO ve GGT düzeylerinin dağılımı.

Değişken	Grup 1 n=42 med (min-maks)	Grup 2 n=14 med (min-maks)	Grup 3 n=12 med (min-maks)	Grup 4 n=15 med (min-maks)	P
TPO	43.0 (31,2-450) ^{cd}	44.0(31,2-280) ^c	202.5 (44-1140) ^{abd}	33.0 (31,2-325) ^{ac}	0,000
GGT	38.0 (16-756) ^b	175.5 (63-486) ^{acd}	45.0 (23-180) ^{bd}	24 (16-34) ^{bc}	0,000

(TPO:Trombopoetin, pg/ml olarak, GGT:Gama glutamil transferaz)

- a: 1. gruba göre farklı olan grubu gösterir
- b: 2. gruba göre farklı olan grubu gösterir
- c: 3. gruba göre farklı olan grubu gösterir
- d: 4. gruba göre farklı olan grubu gösterir

Grafik 16. Serum TPO düzeylerinin gruplara göre dağılımı



TARTIŞMA

Trombositopeni kronik karaciğer hastalarında özellikle sirozlu hastalarda sık izlenen bir komplikasyondur (114). Bu hastalarda son yıllara kadar trombositopeni sebebi olarak portal hipertansiyona bağlı gelişen konjestif splenomegali ve büyümüş olan dalakta trombositlerin artmış göllenmesi ve yıkımı sorumlu tutulmuştur (115, 116). Trombositopeniye yol açacak olası sebepler arasında kemik iliğinde trombosit yapımının azalması, ortalama trombosit ömrünün azalmış olması, trombosit yapımını engelleyen inhibitör maddelerin yapımının artması gibi başka mekanizmalar üzerinde de durulmuştur (117, 118).

Trombopoetin (TPO) sözcüğü ilk kez yaklaşık 40 yıl önce telaffuz edilmesine rağmen molekülün tanımlanması çok yenidir. Kanda ve diğer vücut sıvılarında düzeylerinin çok düşük olması, ayrıştırılabilmesi için tekniklerin yeterli olmaması nedeniyle molekülün tanımlanması gecikmiştir. TPO yapısı tam olarak bilinmeden önce, megakaryosit dizinine özgül olduğu, trombosit kitlesi ile serum düzeylerinin ters orantılı olduğu, megakaryositleri uyarmaktan çok olgunlaştırdığı ve trombositlere parçalanmasını sağladığı düşünülüyordu. Megakaryosit ve trombosit gelişiminde değişik sitokinlerin (IL-1, IL-3, IL-6, IL-11, LIF, GM-CSF, EPO) rol aldığı yıllardır bilinmektedir. Ancak bunların hiçbirisi megakaryosit sistemine özgül değildir.

Son yıllarda değişik çalışma gruplarınca aynı günlerde izole edilen ve klonlanan TPO' in trombopoezde esas düzenleyici sitokin olduğu kabul edilmektedir (48, 119, 120-122). TPO ölçümlerinde kullanılan duyarlı ELISA metodlarının geliştirilmesi ile TPO düzeyleri ile trombosit sayısı, dalak boyutları ve karaciğer hasarının derecesi ile ilişkileri konusunda pek çok çalışma yapılmıştır.

Trombosit sayısı ve TPO ilişkisi

Yaptığımız çalışmada karaciğer bozukluğu olmayan ancak trombositopenisi olan olgularda serum TPO düzeyleri diğer olgu gruplarından yüksek bulundu. Tüm olgu grupları birlikte ele alındığında dolaşımdaki trombosit sayısı azaldıkça serum TPO düzeyi artmaktaydı ($p<0.01$). Daha önceki pek çok çalışmada gösterildiği gibi trombosit sayısı ile serum TPO düzeyleri arasında bir ters korelasyon mevcuttur, trombosit sayısı azaldıkça serum TPO düzeyi artmaktadır (123).

TPO salınımının nasıl düzenlendiği henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Trombositopenik ve serum TPO düzeyleri yüksek hayvanlarda yapılan çalışmalarda karaciğerde TPO mRNA' sının artmadığı görülmüştür (124). Bu nedenle trombosit sayısının doğrudan TPO katabolizmasını etkilediği, trombosit sayısı düşükse TPO katabolizması azalacağından düzeyinin yükseleceği, trombosit sayısı fazla ise tam tersinin olacağı düşünülmüştür (125). Daha sonra yapılan çalışmalarda kemik iliğinde TPO mRNA' sının trombositopenik hayvanlarda arttığı bulunmuştur. Sonuç olarak trombosit kitlesi en azından belli bir düzeyde TPO gen ekspresyonunu etkilemektedir (124, 125).

Trombositopeninin majör komplikasyonlardan biri olduğu karaciğer sirozlu olgu grubunda ise serum TPO düzeylerinde sağlıklı kontrol grubuna göre bir artış izlenmemiştir ($p>0.05$). Bu durumu literatürdeki bilgilerin ışığında karaciğerde TPO mRNA düzeylerinin azalmış olmasına bağlı olabilir (126, 127). Karaciğer sirozlu olgularda Ishikawa ve ark' nın iki çalışmasında da gösterildiği gibi karaciğer TPO mRNA düzeyleri trombositopeniye rağmen düşük seviyelerdedir (126, 127). Bu olgularda

trombositopeninin sebeplerinden birisi yetersiz TPO üretimi olabilir. Bizim çalışmamızda trombositopenisi olan ancak karaciğer bozukluğu olmayan grupta serum TPO düzeylerinin artmış olması ($p=0.00$) bu varsayımı desteklemektedir. Karaciğeri korunmuş olan bu olgularda karaciğer TPO mRNA düzeylerinin artmış olması muhtemeldir.

Çalışmamızda karaciğer bozukluğu olmasına rağmen trombosit sayı bozukluğu olmayan grupta da serum TPO düzeyleri artmamıştı. Trombosit sayısı yeterli olduğu için bu trombositlere reseptörleri aracılığı ile bağlanan TPO miktarı artmış dolayısı ile ölçülebilen serbest TPO düzeyi normal sınırlarda kalmış olabilir.

TPO ve *c-Mpl* gen ekspresyonu dolaşımdaki trombositlerden olduğu kadar kemik iliğinde üretilen megakaryositlerden de etkilenmektedir. Matsumuro ve Horikawa bu konuyu esansiyel trombositemisi (ET) olan olgularda çalışmışlar ve serum TPO düzeylerini hafifçe artmış ya da normal sınırlar içinde bulmuşlardır. Ayrıca serum TPO düzeyleri ile trombosit sayıları arasında ters korelasyon olduğu gözlenmiştir (128, 129). Bu olgularda trombositler üzerindeki *c-Mpl* gen ekspresyonunun azaldığı görülmüş, dolayısıyla artmış serum TPO düzeylerinden serbest TPO'yu bağlamakla görevli *c-Mpl* ekspresyonunun azalmış olması sorumlu tutulmuştur. Moliterno ve ark. benzer durumun polisitemia vera (PSV) olgularında da izlendiğini bildirmektedir (130). Kaban ve ark. kronik miyeloid lösemi (KML) olgularında hastalığın ilerleyişi ile TPO ve *c-Mpl* ekspresyonunda herhangi bir değişiklik gözlememişlerdir (131). Bu hematolojik hastalıkların hepsinde TPO ve *c-Mpl* regülasyonundan sadece dolaşımdaki trombositlerin değil kemik iliğinde üretilen megakaryositlerin de sorumlu olduğu bilinmektedir (126). Yani trombosit kitlesi yanında trombosit öncülü hücrelerin kitlesinin de önemi vardır. Bu konuda en iyi örneklerden birisi von den Borne' nin İTP'li olgularda yaptığı ve TPO düzeyleri ile trombosit sayıları arasında ilişki kurmadığı çalışmadır (132). Bu araştırmacı da bu durumdan İTP'li olgularda artmış bulunan megakaryosit sayısını sorumlu tutmuştur. Megakaryositlerin TPO dışı sitokinlerle artırılması bu durumun nedeni olabilir. Bu bilgiler ışığında trombosit sayısının dolaşımda azaldığı durumlarda megakaryosit sayısının arttığı ve ölçülebilen serbest serum TPO düzeylerinin normal sınırlar içinde kalmış olmasının artmış megakaryosit

sayısına bağlı olduğu dūřunūlebilir. Karacięer dışı kaynaklardan salınan ve megakaryosit üretimini artıran TPO dışı sitokinlerin karaciğer sirozlu olgularda artmış olması muhtemeldir. Bizim olgularımızda da bu durum söz konusu olabilir. Yani trombositopeniye rağmen serum TPO düzeylerinin beklendiği kadar yükselmemesi diğer sitokinlerin salınımına bağlı olarak megakaryosit sayısının artması ve TPO' ya bağlanması ile izah edilebilir.

Akut karaciğer bozukluğu olan hastalarda serum TPO düzeyleri

Çalışmamızda akut ve kronik karaciğer hasarı olan olgular arasında serum TPO düzeyleri açasından anlamlı farklılık izlenmedi ($p>0.05$). Ayrıca her iki grubun serum TPO düzeyleri sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Bu sonuç literatürde yer alan iki çalışma ile çelişmektedir. Schiødt ve ark. yaptıkları çalışmada akut karaciğer yetmezliği olan olgularda serum TPO düzeylerinin arttığını ancak bu artışın trombositopeni gelişmesini engellemediğini bildirmişlerdir (88). Bu çalışmada artmış TPO üretiminin kaynağı izah edilememiştir, zira bu olgularda hepatositlerde masif nekroz gelişmekte ve ciddi karaciğer bozukluğu izlenmektedir. Bu olgularda esas üretim yeri karaciğer (hepatositler) olan TPO düzeyinin azalmış olması beklenebilir. Araştırmacılar iki teori üzerinde durmaktadır; birincisi nekrotik hepatositlerden dolaşıma geçen TPO miktarının artmış olması, ikincisi ise karaciğer dışı kaynaklardan TPO üretiminin artmış olmasıdır. Wolber ve ark. akut karaciğer yetmezliği olan çocuklar ile karaciğer sirozlu çocukları karşılaştırmışlar ve karaciğer TPO mRNA düzeylerinin akut karaciğer yetmezliği olan çocuklarda daha düşük bulunduğunu bildirilmişlerdir (107).

Bizim çalışmamız ile bu iki çalışma karşılaştırıldığında çalışmalara dahil edilen olgu gruplarının homojen olmaması sağlıklı sonuçlar çıkarmamızı engellemektedir. Zira bizim çalışmamıza daha çok başka sebeplere bağlı karaciğer bozukluğu olan hastalar dahil edilmişken bahsedilen iki çalışmada da akut viral hepatitli olgular üzerinde çalışılmıştır. Akut karaciğer hasarına bağlı olarak trombositopeni gelişen olgular bizim çalışmamızda yer almazken diğer iki çalışmadaki olgularda trombositopeni mevcuttur. Ayrıca diğer iki çalışmaya alınan olguların karaciğer fonksiyon bozuklukları bizim olgularımızdan daha fazladır.

Kronik karaciğer hastalığı olan olgularda serum TPO düzeyleri

Trombositopeni karaciğer sirozunun önemli komplikasyonlarından birisidir. Karaciğer hastalığı ve portal hipertansiyona sekonder gelişen trombositopeni bu olguların %15-70' inde izlenir (97). Trombositopeni bu olgularda biyopsi alınması ya da cerrahi işlemler yapılması sırasında problemler çıkarabilir. Çok merkezli bir çalışmada kompanzatuvar sirozu olan hastalarda trombositopeninin yaşam süresi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (98). Koagülasyon sistemindeki diğer bileşenlerin eksikliği ile birlikte trombositopeni varlığı kanama atakları sırasında hemostazda gecikmeye yol açabilir. Uzamış varis kanamaları ya da karaciğer nakli sırasında aşırı kanama gibi komplikasyonlar bu hastaların % 47' sinde izlenebilir (133).

Son zamanlara kadar trombositopeninin sebebi olarak trombositlerin dalakta artmış göllenmesi ve yıkımı sorumlu tutulmuştur (41). Ancak bu teori uzun zamandır tartışmalıdır ve trombosit yaşam döngüsü ile ilgili çalışmalar yeni ufuklar açmıştır. Bu olgularda çeşitli mekanizmalar ile trombosit ömrü azalmaktadır ama daha önemlisi kemik iliğinde trombosit yapımı da azalmaktadır (99, 133). Zira bu olgularda portal hipertansiyonun cerrahi tedavisinden sonra dalak boyutlarındaki küçülmenin trombosit sayısında artış sağlamadığı görülmüştür (99).

Son yıllarda keşfedilen TPO' nun ölçülebilir hale gelmesi ile karaciğer sirozlu olgularda trombositopeni sebebinin yetersiz TPO üretimi olabileceği öne sürülmüştür. Çünkü TPO' nun esas üretim yeri karaciğerdir (47).

Ayrıca TPO sadece trombosit ve megakaryositler üzerine etkili değildir. Karaciğer endotel hücrelerini uyarak hematopoetik sistemde rolü olan diğer sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, TNF- α gibi) salınımını artırdığı gibi bu sitokinlerle olan sinerjistik etkileri de gösterilmiştir (134).

Çalışmamızda farklı olgu gruplarında serum TPO düzeyleri ile trombosit sayısı arasındaki ilişkiyi araştırdık. Karaciğer sirozlu olguları içeren (hem karaciğer bozukluğu olan hem de trombositopenisi olan) grupta TPO konsantrasyonları sağlıklı kontrol grubu

ile karşılaştırıldığında artmış olarak bulundu, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.070$). Bu sonuç iki şekilde yorumlanabilir; birincisi trombositopeni sebebiyle ölçülebilen serbest serum TPO miktarının -karaciğerden yetersiz TPO sentezine rağmen- beklenenden fazla olması, ikincisi ise karaciğer sentez yeteneğinin korunmasına bağlı olarak beklenenden daha fazla TPO düzeyi ölçülmesi. Bu iki varsayımın hangisinin doğru olduğu ancak karaciğer TPO mRNA düzeylerinin ölçülmesi ile anlaşılabilirdi. Ancak çalışmamız bu yönde planlanmadığı için bu konuda yorum yapamadık.

Karaciğeri normal olan ancak ciddi trombositopenisi olan olgularda serum TPO düzeylerinin 20 kata kadar arttığını gösteren çalışmalar vardır (135). Biz de çalışmamıza böyle bir gruba dahil ettik. Bu olguların karaciğer bozukluğu yoktu ancak değişik sebeplere bağlı olarak ciddi trombositopenileri vardı. Bu olguların serum TPO düzeyleri sağlıklı kontrol grubundan belirgin olarak yüksekti ve yaklaşık yedi kat artmıştı (sağlıklı grupta median TPO değeri=33.0 pg/ml, karaciğeri normal trombositopenisi olan grupta median TPO değeri=202.5 pg/ml). Bu veriler literatür ile uyumludur. Bu durumda da iki sonuç çıkarılabilir; birincisi trombositopeni sebebiyle ölçülebilen serbest serum TPO miktarının artmış olması, ikincisi ise karaciğer sentez yeteneğinin korunmasına bağlı olarak sentezlenen karaciğer TPO düzeyinin artması. Eğer birinci varsayım doğru olsaydı, yani karaciğerden artmış TPO üretiminden bağımsız bir serum TPO artışı söz konusu olsaydı aynı düzeyde artışı karaciğer sirozlu olgu grubunda da görmeliydik. Oysa bu olgularda ki serum TPO düzeyleri karaciğeri korunmuş olan olgulardaki kadar artmamıştı ($p=0.080$). Yani azalmış trombosit kitlesi kadar, korunmuş olan karaciğer sentez yeteneği de artmış serum TPO düzeyinden sorumludur.

Akut karaciğer bozukluğu olan ancak trombositopenisi olmayan diğer bir olgu grubunda ise serum TPO düzeylerini sağlıklı kontrol grubuna yakın değerlerde bulduk. Eğer karaciğer fonksiyonları bozulmuş olan bu olgularda karaciğer TPO üretimi dolaşımdaki trombosit kitlesinden bağımsız olsaydı serum TPO düzeylerinin daha düşük olması gerekirdi. Bir başka deyişle trombosit sayısının normal olduğu bu grupta yetersiz karaciğer TPO sentezi olsaydı dolaşımdaki trombositlere bağlanan TPO miktarı

sabit kalacağı için ölçülebilen serbest TPO düzeylerinin düşük olmasını beklerdik. Normal sınırlarda trombosit sayısı ve serum TPO düzeylerinin olması bu olgularda karaciğer hasarına rağmen sabit bir TPO sentezi olabildiğini düşündürmüştür. En azından karaciğer hasarı çok ileri boyutlara ulaşmadıkça serum TPO ve trombosit sayısını normal sınırlarda muhafaza edebilecek kadar TPO sentezini sürdürebilmektedir.. Ancak karaciğerin akut hasarına bağlı olarak nekroze olan hepatositlerden dolaşıma TPO' nun geçebileceğini ve serum TPO düzeylerinin en azından bir süre daha yüksek kalabileceğini de unutmamak gerekir. Literatürdeki akut karaciğer bozukluğu olan olgu gruplarında serum TPO düzeyleri yüksek bulunmuştur ve araştırmacılar tarafından benzer yorumlar yapılmıştır (88). Ancak bu olgular aynı zamanda trombositopenisi olan olgulardır. Dolayısıyla bizim çalışmamızla paralellik göstermemektedirler.

Kronik karaciğer hastalığı olan kişilerde serum TPO düzeyleri ve trombosit sayısı arasındaki ilişki halen tartışmalıdır. Wolber, Fielder ve Stoffel (107, 123, 136) gibi araştırmacılar karaciğerden salınan eritropoetin (EPO), insülin benzeri büyüme hormonu (IGF-1) gibi hormonların hipoksi ya da serum büyüme hormonu düzeyi gibi sebeplere bağlı olarak salınımlarının değişebildiğini ancak TPO salınımının sabit olduğunu ve trombosit sayısından etkilenmediğini öne sürmüşlerdir. Bu teoriyi destekleyen diğer araştırmalarda trombositopenik olgularda karaciğer hastalığı olsa bile serum TPO düzeyleri artmış bulunmuştur (137). Bu araştırmacılara göre serum TPO düzeyini belirleyen faktör karaciğer ya da diğer kaynaklardan salınan TPO miktarı değil dolaşımdaki trombosit ve megakaryosit kitlesidir. Trombosit sayısı azaldıkça trombositlere bağlanan TPO miktarı azalmakta ve ölçülebilen serbest TPO düzeyi artmaktadır. Dolayısıyla trombosit sayısı ile serum TPO düzeyleri arasında bir ters korelasyon mevcuttur.

Karaciğer sirozlu olgularda yapılan ve trombosit sayıları ile serum TPO düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen sınırlı sayıdaki çalışmada farklı ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Martin ve ark. çalışmalarına dahil ettiği 44 karaciğer sirozlu olgunun 39 tanesinde serum TPO düzeylerinin ölçülemeyecek kadar düşük olduğunu tespit etmiş ve bu olgulardaki trombositopeniden yetersiz TPO sentezini

sorumlu tutmuştur (103). Benzer sonuçlar Peck-Radosavljevic tarafından da rapor edilmiştir (102). Ancak yukarıda bahsedilen iki çalışmada da seçilen olgular karaciğer nakli planlanan son dönem karaciğer yetmezliği gelişmiş olgulardı. Peck-Radosavljevic' in olgu sayısı sadece 18 kişiydi. Üstelik her iki çalışmada kullanılan serum TPO ölçüm yöntemleri ve bu yöntemlerin duyarlılıkları farklıydı. Dolayısıyla her iki çalışmanın sonuçları ile kendi çalışmamızın sonuçlarını karşılaştırmanın bizi yanıltabileceğini düşünüyoruz. Nitekim bizim sonuçlarımıza paralel olarak Shimodaira ve ark. değişik klinik evrelerden 44 karaciğer sirozlu ve 41 sağlıklı olguda yaptığı çalışmada yukarıdaki araştırmacıların aksine serum TPO düzeyleri ile trombosit sayısı arasında bir ilişki tespit etmemiştir (111). Dolayısıyla yetersiz TPO salınımının trombositopeniden sorumlu olmadığını iddia etmiştir.

Trombosit sayısının TPO' ya bağımlı olduğunu gösteren pekçok çalışma vardır (102, 103, 105, 106, 109). Bu çalışmaların hepsinde karaciğer nakli yapılan sirozlu olgular incelenmiştir. Peck-Radosavljevic ve ark. sağlıklı karaciğerin naklinden sonra serum TPO düzeylerinin postoperatif 2. günden başlayarak belirgin olarak arttığını ve 5. gün en üst seviyeye ulaştığını göstermişlerdir (102). Trombosit sayısının ise postoperatif 6. gün artmaya başladığı ve 14. gün normal sınırlara geldiği görülmüştür. Yani TPO üretimi ve salınımının artışı ile birlikte trombosit sayısı da artmıştır. Bir başka çalışmada Kato ve ark. sirozu ve trombositopenisi olan olguları sağlıklı olgularla karşılaştırmış ve bu kişilerde karaciğer TPO mRNA düzeylerinde %30-40 oranında azalma izlemişlerdir (138). Deneysel bir çalışmada TPO mRNA miktarındaki %50' lik bir azalmanın dolaşımdaki trombosit sayısında %67' lik bir azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir (139). Karaciğer sirozlu hastalardaki bu sentez yetersizliği sağlıklı karaciğerin nakli ile düzelmekte ve trombosit sayısı artmaktadır. Ancak bu çalışmalara dahil edilen olguların hepsinin ileri dönem (Child C) karaciğer hastalıklarının olduğu bizim olgularımızın ise sadece %47.6' sının bu evrede olduğu dikkate alınmalıdır. Çünkü karaciğerden TPO salınımının son dönem karaciğer hasarına kadar korunduğunu iddia eden çalışmalar mevcuttur (105, 127).

Sağlıklı karaciğerin naklinin dışında medikal tedavi ile de serum TPO düzeylerinin artabildiğine dair yayınlar mevcuttur. Shiota ve ark. nın yaptığı bir

çalışmada interferon tedavisi verilen kronik hepatit C olgularında tedavi öncesi ve sonrasında trombosit sayıları ve serum TPO düzeyleri incelenmiştir (140). Bu olgularda tedavi öncesi trombosit sayısı interferon tedavisine bağlı olarak 1 hafta sonra azalmış ama serum TPO düzeyleri artmaya başlamıştır. Shiota bu sonucu sirozlu hastalarda serum TPO düzeylerinin düştüğü şeklindeki çalışmaların aksine yorumlamıştır. İnterferon tedavisi ile serum TPO düzeylerinin karaciğer bozukluğu olan kronik hepatit C' li olgularda yükselebildiğini bildirmiştir. Ancak Shiota' nın sonuçları sentez yeteneği korunmuş olan karaciğerde İnterferon tedavisi sonrası reaktif olarak TPO yükselmesi şeklinde de yorumlanabilir. Zira İnterferon tedavisi ile protrombin zamanı ve albumin düzeyleri de normale dönmektedir.

Çalışmamıza dahil edilen olguların hastalık süreleri ile trombosit sayıları ve serum TPO düzeyleri arasında bir ilişki gözlenmedi ($p>0.05$). Literatürde de bu konuda bir bilgiye rastlamadık. Hastalığın süresinden ziyade progresyonunun yani klinik evresinin serum TPO düzeyleri ile ilgisi olabileceğini düşünerek sirozlu olgulara Child-Pugh skorumu esas alarak klinik evreleme yaptık. Kawasaki, Shimodaira, Okubo ve Koruk' un (109, 111, 141, 142) yaptığı benzer çalışmalarda hastalığın klinik progresyonu ile serum TPO düzeylerinin düştüğü gösterilse de bizim çalışmamızda hastalığın klinik evresi ile serum TPO düzeyleri arasında bir ilişki bulunamamıştır. Kawasaki ve ark. karaciğerde fibrozisin ilerleyişi ile serum TPO düzeylerinin giderek düştüğünü ve çok düşük trombosit konsantrasyonlarına rağmen bu olgularda serum TPO düzeylerinin düşük seyrettiğini bulmuşlardır (109). Bu olgularda serum TPO düzeylerinin az da olsa artmış olması gerekirdi. Shimodaira ise sirozlu hasta grubunda protrombin zamanının uzamış olduğunu, albumin düzeyinin düşmüş olduğunu, dolayısı ile fonksiyonel karaciğer kitlesinin azalmış olduğunu, azalmış karaciğer sentez yeteneğine bağlı olarak TPO sentezinin de azalmış olduğunu iddia etmiştir (111). Ancak bu çalışmada serum TPO düzeyleri ile trombosit sayısı arasında bir ilişki tespit edilemediği için Shimodaira karaciğer sirozlu hastalarda trombositopeni sebebi olarak yetersiz karaciğer TPO üretimini sorumlu tutmamıştır. Aynı araştırmacıya göre karaciğer sirozunda klinik bozuldukça serum TPO düzeyleri giderek azalmaktadır. Emmons ve ark. da Shimodaira ile benzer sonuçlar elde ederek karaciğer sirozunda trombositopeniden yetersiz trombosit yapımının sorumlu olmadığını bildirmişlerdir (72). Okubo ve ark. serum TPO düzeylerinin protrombin zamanı, albumin ve Pugh

skoru gibi karaciğer fonksiyonunu gösteren parametreler ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (141). Okubo' ya göre serum TPO düzeyleri bir nebze de olsa karaciğerin TPO üretim kapasitesi ile sınırlıdır. Türkiye' den Koruk ve ark. nın yaptığı bir başka çalışmada karaciğer sirozlu hastalarda hastalığın klinik progresyonu ile serum TPO düzeylerinin azaldığı ve bu durumun trombositopeniden sorumlu mekanizmalardan birisi olduğu öne sürülmüştür (142).

Karaciğer sirozunda hastalığın progresyonu ile serum TPO düzeyleri arasında bir ilişki olmadığını iddia eden araştırmacılar da vardır. Freni ve ark. trombositopenik karaciğer sirozlu olgularda serum TPO düzeylerinin artmış olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada karaciğer hastalığının klinik evresi ile serum TPO düzeylerinin değişmediği görülmüştür. Freni' ye göre karaciğer ileri derecede hasarlanmış olsa dahi TPO sentezini devam ettirebilmektedir (143). Ishikawa ve ark. sirozlu hastalarda trombosit sayısı ve serum TPO düzeyleri ile Child-Pugh skorları arasında bir ilişki olmadığını göstermişlerdir (127). Aynı çalışmada periferik dolaşımdaki trombositlerde yer alan *c-Mpl* düzeylerinin hastalığın progresyonu ile azaldığı ama serum TPO düzeyinin değişmediği gösterilmiştir. Bilindiği gibi *c-Mpl* reseptörleri aracılığı ile TPO trombositlere bağlanmakta ve yıkılmaktadır. Ishikawa serum TPO düzeylerinin karaciğer sirozlu olgularda azalmamasını giderek azalan *c-Mpl* düzeylerine ve azalan TPO yıkımına bağlamıştır. Aynı araştırmacı sirozlu olgularda trombositlerin kendileri tarafından TPO sentezi yapıldığını ve *c-Mpl* düzeylerinin TPO' ya bağlanmadaki artış sebebiyle azaldığını iddia etmiştir. Çalışmamızın sonuçları Freni ve Ishikawa' nın sonuçları ile paralellik göstermektedir. İleri derecede karaciğer hasarında dahi TPO sentezinin devam ettiğini düşünüyoruz.

Dikkate alınması gereken konulardan birisi ise karaciğer dışı TPO üretiminin kronik karaciğer hastalığı olan kişilerde artmış olma ihtimalidir. Bu konuda literatürde herhangi bir yayına rastlamadık. Başta böbrekler ve kemik iliği olmak üzere karaciğer dışı TPO üretim kaynaklarının karaciğer sirozlu olgularda incelendiği yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Alt hastalık ve serum TPO düzeyleri arasındaki ilişki

Karaciğer sirozlu olguların alt hastalıklarına göre trombosit sayılarını ya da serum TPO düzeylerini inceleyen bir araştırmaya literatürde rastlamadık. Kronik hepatitli olgularda serum TPO düzeyleri ölçülmüş olsa da karaciğer sirozuna yol açan alt hastalık olarak değerlendirme ve karşılaştırma yapılmamıştır. Bizim çalışmamızda karaciğer sirozuna yol açan en büyük iki sebebin hepatit B ve hepatit C enfeksiyonları olduğu görüldü. Gelişmiş ülke verilerinin aksine alkolik karaciğer sirozu oldukça az sayıda idi. Olgular alt hastalıklarına göre incelendiklerinde trombosit sayıları veya serum TPO düzeyleri arasında bir fark olmadığı görüldü. Hastalığın klinik ilerleyiş hızı da alt hastalıklardan bağımsızdı. Olguların ortalama Child-Pugh skorları birbirlerine eşitti. Ancak bizim çalışma grubumuzda sadece iki olguda siroz alkole bağlıydı ve hepatit enfeksiyonlu gruplar ile karşılaştırma yapılamadı. Alt hastalık gruplarındaki olgu sayılarının daha fazla ve birbirine eşit olduğu yeni karşılaştırmalı çalışmaların faydalı olacağını düşünüyoruz.

Dalak boyutları ile serum TPO düzeylerinin ilişkisi

Kronik karaciğer hastalarında trombositopeninin en önemli nedenlerinden birisi portal hipertansiyonla birlikte gelişen splenomegali ve büyümüş olan dalaktaki artmış trombosit birikimi ve yıkımıdır (41, 117).

Çalışmamızda literatürde en yaygın şekilde kullanılan Matsutani metodunu (113) kullanarak dalak indeksi ölçümlerini yaptık. Türk olgularda yapılmış benzer bir çalışma olmadığı için sirozlu olgulardaki dalak boyutlarını kendi sağlıklı kontrol grubumuzdaki dalak boyutları ile karşılaştırdık.

Sirozlu olguların dalak indeksleri kontrol grubuna göre belirgin olarak büyüktür (144). Bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar olmakla birlikte klinik evrelere göre değerlendirme yapıldığında dalak indeksi Child A olgularda daha az artmaktaydı.

Ancak hastalığın ilerleyişi ile dalak indeksi arasında bir korelasyon yoktu, Evre B ve Evre C' de dalak boyutları arasında farklılık yoktu ($p>0.05$). Bu sonuçlar benzer ölçüm metoduyla dalak boyutlarını değerlendiren Kawasaki ve ark. nın sonuçları ile paraleldir (109).

Çalışmamızda literatürdeki bilgilerin aksine trombosit sayısı ile dalak indeksi arasında korelasyon izlenmemiştir. Kawasaki, Okubo ve Freni trombosit sayısının dalak boyutları büyüdükçe azaldığını göstermişlerdir (109, 141, 143). Freni ve Okubo dalak boyutlarını farklı ölçüm metodları ile hesaplamış olsalar da bu araştırmacıların sonuçları sirozlu olgularda trombositopeninin önemli sebeplerinden birisinin hipersplenizm olduğunu desteklemektedir. Ancak Okubo ve Kawasaki de serum TPO düzeyleri ile dalak boyutları arasında bir ilişki olmadığını göstermişlerdir. Okubo bu sonuçları karaciğer sirozlu olgularda trombositopeniden sorumlu esas sebebin hipersplenizm olduğu şeklinde yorumlamıştır (141). Kawasaki ise karaciğerde fibrozis seviyesi arttıkça serum TPO, trombosit sayısı ve protrombin zamanlarının değiştiğini ancak bu değişimin dalak boyutlarındaki değişiklik ile korele olmadığını göstermiştir (109). Kawasaki karaciğerde fibrozisin ilerlemesine bağlı olarak TPO ve trombosit sayısının düşmesini dalak boyutlarından bağımsız bir değişiklik olarak yorumlamış ve fibrozisin ilerleyişini trombositopeniden sorumlu esas sebep olarak izah etmiştir. Freni ve arkadaşlarının çalışmasında ise serum TPO konsantrasyonları karaciğer sirozlu olgularda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (143). Ancak serum TPO düzeyleri ile dalak boyutları arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç dalak boyutlarının artışı ile dalakta trombositler ve bu trombositlere bağlanmış olan TPO yıkımının arttığı ve ölçülebilen serum TPO düzeylerinin azaldığı şeklinde yorumlanmıştır.

Koruk ve ark. nın yaptığı çalışmada bizim sonuçlarımıza paralel olarak trombosit sayısı, serum TPO düzeyleri ve dalak boyutları arasında bir ilişki kurulamamıştır (142). Koruk karaciğer sirozlu olgularda serum TPO ve trombosit sayılarının düştüğünü ve hastalığın ilerleyişi ile bu azalmanın belirginleştiğini belirtmiştir. Sonuçta Koruk da Kawasaki gibi karaciğer hasarının artışı ve yetersiz

TPO sentezini bu olgulardaki trombositopeni gelişiminin esas nedeni olarak değerlendirmiştir.

Mevcut bulgular ile karaciğer sirozunda trombositopeninin esas nedenini tespit etmenin zor olduğuna inanıyoruz. Hipersplenizm, kemik iliğinden yetersiz trombosit üretimi, trombosit ömrünün kısalması, trombosit fonksiyonlarının azalmış olması gibi pek çok trombosit bozukluğu karaciğer sirozlu olgularda gösterilmiştir. Çalışmamızda TPO üretiminin karaciğer sirozlu olgularda normal sınırlar içinde olması, trombosit sayısı ve serum TPO düzeyleri ile dalak boyutları arasında bir ilişkinin tespit edilememesi sebebiyle trombositopeni için altta yatan sebep konusunda kesin bir yorum yapamadık. Ancak diğer çalışmalar ışığında sirozlu olgularda trombositopeninin birden çok sebebi olduğuna ve hangi sebebin daha fazla öne çıktığının tespiti konusunda gerekirse her hasta için ayrı değerlendirme yapılması gerektiğine inanmaktayız.

Akut faz reaktanı olarak TPO

Çalışmamıza dahil edilen sirozlu olguların bir kısmında hastaneye yatış sebebi peritonit gelişmeseydi. Bu olguları serum TPO değerleri ile sağlıklı kontrol grubu arasında bir fark tespit edilemedi. Bununla birlikte karaciğeri bozulmuş olan trombosit sayısı normal olan grupta yer alan bir akut pankreatitli hastada o grubun en yüksek serum TPO değeri izlendi.

Trombopoetinin aynı zamanda bir akut faz reaktanı olduğu ve bazı özel durumlarda yükseldiğini gösteren yayınlar vardır. Wolber tarafından akut inflamasyon durumunda karaciğerde TPO mRNA miktarlarının arttığı gösterilmiştir (85). Colarizi ise yenidoğan çocuklarda enfeksiyon varlığında serum TPO düzeylerinin arttığını göstermiştir (86). Colarizi bu artışa sebep olarak IL-6 düzeyindeki yükselmeyi göstermiştir. Enfeksiyon halinde başlangıç fazında TPO düzeyleri artmakta ve daha sonra trombositoz gelişmektedir (87). Schiødt ve ark. nın çalışmasında ise iki olguda sepsisin erken döneminde belirgin TPO artışı tespit edilmiştir, bunun dışında hepatik koma gibi durumlarda serum TPO düzeylerinin değişmediği görülmüştür (88). Ciddi travma ve fulminant meningokokal menenjitte serum TPO düzeylerinin ilk bir hafta

içinde en üst değere ulaştığı görülmüştür (89, 90). İlginç olarak trombositopeninin geliştiği her iki durumda da trombosit sayısı ile TPO düzeyleri arasında travmalı olgular için bir ters korelasyon mevcutken meningokokal sepsiste bu ilişki izlenmemiştir.

Olgu sayımız yetersiz olduğu için enfeksiyonlar ile serum TPO düzeylerinin arttığını söyleyebilmemiz zor ancak ciddi peritonite rağmen karaciğer sirozlu olgularda serum TPO değerlerinin yükselmemesi yetersiz karaciğer sentez yeteneğine bağlanabilir. Enfeksiyonlara yanıt açısından karaciğer sirozlu olgularla sirozu olmayan olguları karşılaştıran yeni çalışmaların faydalı olacağına inanıyoruz.

Serum TPO ölçüm farklılıkları

Karaciğer hastalığı olan kişiler üzerinde serum TPO düzeylerini esas alınarak yapılan çalışmalarda farklı sonuçların elde edilmesi kullanılan ölçüm yöntemlerinin sensitivite ve ölçüm sınırlarının farklılıkları ile açıklanabilir. Örneğin Martin ve Peck-Radosavljevic' in çalışmalarında kullandıkları serum TPO ölçüm metodunda ölçüm sınırları 40-160 pg/mL' dir. TPO düzeylerinin ölçümü hem bioassay hem de immunoassay yöntemleri ile yapılabilir. ELISA yöntemi kullanarak TPO düzeylerini ölçebilen pekçok ticari kit üretilmektedir. Bizim çalışmamızda kullandığımız Quantikine markalı TPO ELISA kitlerinin bazı avantajları vardır. Örneğin ölçüm aralığı < 15 pg/ml' dir. Bu değer diğer iki araştırıcının ölçüm yönteminden daha sensitif ve hassas olduğumuzu gösterir.

Gelecekte değişik hasta gruplarında yapılması planlanan TPO ölçümlerinin hem bioassay hem de immunoassay metodlarını kullanarak yapılmasının faydalı olacağına inanıyoruz. Böylece antijen düzeyleri ve TPO' nun biyolojik aktivitesi hakkında da bilgi sahibi olabiliriz.

Sonuç olarak, karaciğer sirozlu olgularda serum TPO düzeyleri ile karaciğer parankim hasarının derecesi ve trombositopeni arasında bir ilişki gösterilememiştir. Karaciğerden TPO sentezinin karaciğer hasarının son dönemine kadar devam ettiğini düşünüyoruz. Ayrıca karaciğer sirozlu olgularda karaciğer dışı kaynaklardan TPO

retiminin kompensatuar olarak artmış olması mümkündür. Bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu olgularda gelişen trombositopeniden sorumlu olan tek neden karaciğerden yetersiz TPO salınımı değildir. Başta hipersplenizm olmak üzere diğer sebepler akılda tutulmalıdır. Literatür bilgileri ile olan çelişkili sonuçlar hasta seçimindeki farklılıklara ve TPO lm tekniğindeki farklılıklara bağlanmıştır.



ÖZET

Karaciğer sirozlu olgularda gelişen trombositopeni sık görülen bir komplikasyondur ve ilk akla gelen neden hipersplenizmdir. Trombopoiezden sorumlu en güçlü sitokin olan trombopoetin (TPO) esas üretim yerinin karaciğer olduğunun bulunması ile karaciğer sirozlu hastalarda trombositopeniden yetersiz karaciğer TPO üretimi sorumlu tutulmaya başlanmıştır.

Karaciğer sirozlu olgularda prognozu tahmin etmede kullanılan en yaygın ve en güvenilir yöntem Child-Pugh skoru sistemidir. Serum trombopoetin düzeyi ile karaciğer parankim hasarı arasında bir ilişki tespit edildiği takdirde serum trombopoetin düzeylerine bakılarak karaciğer hasarının derecesi ve hastalığın prognozu hakkında fikir sahibi olunabilir. Bu çalışma karaciğer sirozlu olgularda sirozun evresi ile trombositopeni ve serum TPO düzeyleri arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemek amacıyla yapıldı.

Çalışmaya karaciğer sirozlu 42 olgu (Grup 1), karaciğer fonksiyon testleri bozulmuş olan ama trombosit sayısı normal olan 14 olgu (Grup 2), karaciğer fonksiyon testleri normal olan ama trombositopenisi olan 12 olgu (Grup 3) ve hem karaciğer fonksiyon testleri hem de trombosit sayısı normal olan 15 kişi (Grup 4) dahil edildi. Grup 1' de yer alan olguların 17'si (% 40.5) HCV, 16'sı (%38.1) HBV ile

enfekte olgulardı, 5 olguda (%11.9) sirozun etyolojisi bilinmiyordu, 2 olguda (%4.8) alkolik karaciğer hastalığı, bir olguda (%2.4) otoimmün hepatit hikayesi, bir olguda (%2.4) ise primer biliyer siroz vardı. Hastalık sürelerinin ortalaması 13.5 (1-132) ay idi. Bu olgulara Child-Pugh sınıflama sistemine göre klinik evreleme yapıldı, olguların 6' sı (%14.3) Evre A, 16' sı (%38.1) Evre B ve 20' si (%47.6) Evre C olarak sınıflandırıldı. Tüm olgu gruplarında karaciğer fonksiyon testleri, tam kan sayımı, dalak indeksi, protrombin zamanı ve ELISA yöntemi kullanılarak (Quantikine Human TPO Immunoassay) serum TPO düzeyleri ölçüldü.

Grup 1' de yer alan olgular incelendiğinde yaş ve cinsiyet ile serum TPO düzeyleri ve Child-Pugh skorları arasında bir ilişki tespit edilemezken ($p>0.05$) yaş ile trombosit sayısı arasında orta derecede negatif korelasyon izlendi ($p<0.01$). Hastalık süresi ile Child-Pugh skoru arasında zayıf bir korelasyon izlenirken ($p=0.042$) serum TPO ve trombosit sayıları arasında bir ilişki gözlenmedi ($p>0.05$). Sirozun etiyolojisine göre parametreler incelendiğinde Hepatit B ve Hepatit C' ye bağlı siroz grupları arasında serum TPO, trombosit sayıları ve Child-Pugh skorları arasında bir fark olmadığı görüldü ($p>0.05$). Dalak boyutları karaciğer sirozlu olgularda sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin olarak artmış olmakla birlikte dalak boyutları ile serum TPO düzeyleri, trombosit sayıları ve Child-Pugh skorları arasında bir ilişki olmadığı görüldü ($p>0.05$). Her dört grupta da hemoglobin, beyaz küre ve eritrosit sedimentasyon değerleri arasında bir farklılık yoktu ve bu parametreler ile serum TPO düzeyleri, trombosit sayıları ve Child-Pugh skorları arasında bir ilişki olmadığı görüldü ($p>0.05$). Tüm gruplar birlikte ele alındığında serum TPO düzeyi ile trombosit sayısı arasında güçlü bir negatif korelasyon olduğu görüldü ($p<0.01$). Gruplar tek tek incelendiğinde karaciğer fonksiyon testleri bozuk olan ama trombositopeninin olmadığı Grup 2' de serum TPO düzeyleri ile trombosit sayıları arasında belirgin bir negatif korelasyon mevcutken diğer olgu gruplarında bu durum izlenmedi. Grup 1' de yer alan hastalar Child-Pugh skorlarına göre incelendiğinde serum TPO ve trombosit sayıları ile bir ilişki olmadığı görüldü ($p>0.05$). Karaciğer fonksiyon testleri normal olan ancak trombositopenisi olan olgulardan oluşan Grup 3' de serum TPO değerleri diğer üç gruba göre yüksek bulundu (Serum TPO değerleri; Grup 1: 43.0 pg/ml, Grup 2: 44.0 pg/ml, Grup 3: 202.5 pg/ml, Grup 4: 33.0 pg/ml).

Çalışmamızda trombosit sayısı ile serum TPO düzeyleri arasında negatif korelasyon tespit edildi. Ancak serum TPO değerleri ile dalak boyutları ve karaciğer parankim hasarının göstergesi olan Child-Pugh skorları arasında bir korelasyon gösterilemedi.

Sonuç olarak TPO karaciğer sirozlu olgularda prognoz ve klinik evre hakkında bilgi veren bir parametre olarak kullanılamaz. Karaciğer sirozlu olgularda trombositopeniden sorumlu tek neden yetersiz karaciğer TPO üretimi değildir. Hipersplenizm başta olmak üzere diğer sebepler trombositopeni gelişimine katkıda bulunurlar.

Anahtar kelimeler; Siroz, Child-Pugh skoru, trombopoetin, trombositopeni.



SUMMARY

RELATIONSHIPS BETWEEN PROGRESSION OF DISEASE, THROMBOCYTE COUNT AND SERUM THROMBOPOIETIN LEVELS IN LIVER CIRRHOSIS.

Thrombocytopenia secondary to liver cirrhosis is a well-known phenomenon and was believed to be due to hypersplenism. The cloning of the key regulator of thrombopoiesis, thrombopoietin (TPO), and the identification of the liver as its main source, could now shed new light on the pathogenesis of thrombocytopenia in liver cirrhosis.

Child-Pugh classification system is still the most sensitive scoring system that help to define degree of liver parenchymal damage and prognosis of the cirrhotic patients. If a correlation find between serum TPO levels and degree of liver parenchymal damage, serum TPO levels could aid to project the prognosis of the cirrhotic patients. The aim of this study was to define possible relationships between Child-Pugh scores, peripheral thrombocyte count and serum TPO levels in patients with liver cirrhosis.

To address this issue, liver function tests, complete blood counting, spleen volumes, prothrombin time and serum TPO levels using ELISA technique were performed in four different groups. Group 1 were included 42 liver cirrhotics, Group 2 were included 14 cases with liver dysfunction and normal thrombocyte count, Group 3 were included 12 cases with thrombocytopenia and normal liver functions and Group 4 were included 15 healthy volunteers. Of the 42 cases, 17 cases (% 40.5) were infected with HCV and 16 cases (%38.1) with HBV, etiology was not known in 5 patients (%11.9), 2 cases were alcoholic (%4.8), 1 case (%2.4) had primary biliary cirrhosis and 1 case (%2.4) had story of autoimmune hepatitis in Group 1. Median duration time of the disease was 13.5 (1-132) months. The patients were classified into three groups (Child A, B or C), according to the Child-Pugh classification. Six patients (%14.3) were grade A, 16 were (%38.1) grade B, and 20 were (%47.6) grade C.

Neither age nor sex were correlated with Child-Pugh scores and serum TPO levels ($p>0.05$). A mild negative correlation was found between age and thrombocyte count ($p<0.01$). Duration time of disease was correlated with Child-Pugh scores ($p=0.042$) but not with thrombocyte count and serum TPO levels. Etiologic differences were not correlated with Child-Pugh scores, thrombocyte counts and serum TPO levels ($p>0.05$). Spleen volumes were found increased in cirrhotic patients compared with healthy controls but no correlation were found with Child-Pugh scores, thrombocyte counts and serum TPO levels ($p>0.05$). Haemoglobin and white blood cell counts and erythrocyte sedimentation rates were not statistically different in each groups and there was not any correlation with Child-Pugh scores, thrombocyte counts and serum TPO levels ($p>0.05$). There was a strong negative correlation between thrombocyte count and serum TPO levels when all groups evaluated together ($p<0.01$). But only in Group 2 thrombocyte count and serum TPO levels were correlated negatively if each groups were considered separately. Progression of the disease according to Child-Pugh scores were not correlated with thrombocyte count and serum TPO levels in Group 1 ($p>0.05$). Serum TPO levels were found higher than the other three groups in Group 3. (Serum TPO levels; Group 1: 43.0 pg/ml, Group 2: 44.0 pg/ml, Group 3: 202.5 pg/ml, Group 4: 33.0 pg/ml).

A strong negative correlation between thrombocyte count and serum TPO levels were found in our study. There were not any correlation between Child-Pugh scores, thrombocyte count and serum TPO levels.

In conclusion, TPO is not a parameter that signs prognosis and clinical stage of liver cirrhosis. Inadequate synthesis of TPO in liver is not the main cause of thrombocytopenia in liver cirrhosis. Hypersplenism and the other causes have additive effects on thrombocytopenia. Key words; Cirrhosis, Child-Pugh scores, thrombopoietin, thrombocytopenia.

Key words; cirrhosis, Child-Pugh scores, thrombopoietin, thrombocytopenia.



KAYNAKLAR

1. Erlinger S, Benhamou JP. Cirrhosis: Clinical aspects. Oxford Textbook of Clinical Hepatology, 2. Edition, 1999, Vol:1, p:629-41.
2. Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, Poulsen HE, Scheuer PJ, Sobin LH. The morphology of cirrhosis. Recommendations on definition, nomenclature, and classification by a working group sponsored by the World Health Organization. J Clin Pathol. 1978;31:395-414.
3. Gressner AM. Liver fibrosis: perspectives in pathobiochemical research and clinical outlook. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1991;29:293-311.
4. Greeve M, Ferrell L, Kim M, Combs C, Roberts J, Ascher N, Wright TL. Cirrhosis of undefined pathogenesis: absence of evidence for unknown viruses or autoimmune processes. Hepatol 1993;17:593-7.
5. Boyer JL and Bianchi L. Liver cirrhosis. Lancaster: MTP Press Ltd, 1987, p:57-72.
6. WHO. World Health Statistics Annual. Geneva:WHO, 1999.
7. Güven K, Özbakır Ö, Göktaş Z. Karaciğer sirozu (210 vaka analizi). Ulusal gastroenteroloji kongresi 1995, Supl (p355).
8. Powell VJ and Klatskin G. Duration of survival in patients with Laennec's cirrhosis. Am J Med 1968;44:406-20.
9. D'Amico G, Morabito A, Pagliaro L, Marubini E. Survival and prognostic indicators in compensated and decompensated cirrhosis. Dig Dis Sci 1986;31:468-75.
10. Child III CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. In Child III CG, ed. The liver and portal hypertension. Philadelphia: Saunders, 1964:50-62.
11. Pugh RNH, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transections of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. Br J Surg 1973;60:646-9.

12. Edvard C, Esnaola S, and Villeneuve JP. Clinical and statistical value of conventional prognostic factors in predicting short-term survival among cirrhotics. *Hepatology* 1987;7:660-4.
13. Realdi G, Fattovich G, Hadziyannis S, Schalm SW, Almasio P, Sanchez-Tapias J, et al. and The Investigators of the European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP): Survival and prognostic factors in 336 patients with compensated cirrhosis type B: a multicenter study. *J Hepatol* 1994;21:656-66.
14. Bethlenfalvai NC, Block M. Fetal erythropoiesis. Maturation in megaloblastic (yolk sac) erythropoiesis in the 557 B1-6J mouse. *Acta Haematol* 1970;44:240-5.
15. Schlitt HJ, Schafers S, Deiwick A, Eckardt KU, Pietsch T, Ebell W, Nashan B, Ringe B, Wonigeit K, Pichlmayr R. Extramedullary erythropoiesis in human liver grafts. *Hepatology* 1995;21:689-96.
16. Schlitt HJ. Clinical and immunological aspects of liver allograft rejection. *Transplant Proc* 1996;28:70-2.
17. Hesseldahl H, Falck Larsen J. Hemopoiesis and blood vessels in human yolk sac. An electron microscopic study. *Acta Anat (Basel)* 1971;78:274-94.
18. Tan CC, Eckardt KU, Ratcliffe PJ. Organ distribution of erythropoietin messenger RNA in normal and uremic rats. *Kidney Int* 1991;40:69-76.
19. Kew MC, Fisher JW. Serum erythropoietin concentrations in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1986;58:2485-8.
20. Hillbom M, Muuronen A, Neiman J. Liver disease and platelet function in alcoholics. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1987;295:581-6.
21. Schmidt KG, Rasmussen JW, Rasmussen AD, et al. Comparative studies of the in vivo kinetics of simultaneously injected ¹¹¹In and ⁵¹Cr labelled human platelets. *Scan Haematol* 1983;30:465-71.
22. Noguchi H, Hirai K, Aoki Y, Sakata K, Tanikawa K. Changes in platelet kinetics after a partial splenic arterial embolization in cirrhotic patients with hypersplenism. *Hepatology* 1995;22:1682-8.
23. Owen JS, Hutton RA, Day RC, Bruckdorfer KR, McIntyre N. Platelet lipid composition and platelet aggregation in human liver disease. *J Lipid Res* 1981;22:423-30.
24. Laffi G, La Villa G, Pinzani M, Ciabattini G, Patrignani P, Mannelli M, Cominelli F, Gentilini P. Altered renal and platelet arachidonic acid metabolism in cirrhosis. *Gastroenterology* 1986;90:274-82.
25. Ballard HS, Marcus AJ. Platelet aggregation in portal cirrhosis. *Arch Intern Med* 1976;136:316-9.
26. Rubin MH, Weston MJ, Langley PG, White Y, Williams R. Platelet function in chronic liver disease: relationship to disease severity. *Dig Dis Sci* 1979;24:197-202.
27. Desai K, Mistry P, Bagget C, Burroughs AK, Bellamy MF, Owen JS. Inhibition of platelet aggregation by abnormal high density lipoprotein particles in plasma from patients with hepatic cirrhosis. *Lancet* 1989;1(8640):693-5.

28. Riddel RD, Graham A, Owen J. Apolipoprotein E inhibits platelet aggregation through the L-arginine:nitric oxide pathway. *JBC* 1997;272:89-95.
29. Forrest EH, Dillon JF, Campbell JC, Newsome PNG, Hayes PC. Platelet basal cytosolic calcium:the influence of plasma factors in cirrhosis. *J Hepatol* 1996;25:312-315.
30. Jaschonek K, Faul C. Platelets from patients with liver cirrhosis exhibit a defect in the von Willebrand factor-binding domain. *Z Gastroenterol* 1993;31:8-10.
31. Barrison IG, Knight ID, Viola L, Boots MA, Murray-Lion IM, Mitchell TR. *Br J Haemat* 1981;48:347-350.
32. Bassendine MF, Collins JD, Stephenson J, Saunders P, James FW. Platelet associated immunoglobulins in primary biliary cirrhosis: a cause of thrombocytopenia? *Gut* 1985;26:1074-1079.
33. Landolfi R, Leone G, Fedeli G, Storti S, Laghi f, Bizzi B. Platelet-associated IgG in acute and chronic hepatic diseases. *Scand J Haematol* 1980;25:417-22.
34. Pereira J, Accatino L, Alfaro J, Brahm J, Hidalgo P, Mezzano D. Platelet antibodies in patients with chronic liver disease. *Am J Haematol*, 1995;50:173-78.
35. He R, Reid DM, Jones CE, Shulman NR. Spectrum of Ig classes, specificities, and titers of serum antiglycoproteins in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1994;83:1024-32.
36. Kleinman Y, Friedman G. Transient autoimmune thrombocytopenia associated with acute infectious hepatitis. *Hepato-gastroenterology* 1982;29:144-5.
37. Chalmers EA, Lam DC, Holden RJ, Fitzimons EJ. Familial primary biliary cirrhosis and autoimmune thrombocytopenia. *Scot Med J* 1987;32:152.
38. Lebrech D, Giuily N, Hadengue A, Vilgrain V, Moreau R, Poynard T, Gadano A, Lassen C, Benhamou JP, Erlinger S and a French group of clinicians and a group of biologist. *J Hepatol* 1996;25:135-144.
39. Soper MJ and Rickers LF. Effects of operations for variceal haemorrhage on hypersplenism. *Am J Surg* 1982;144:700-3.
40. Terayama N, Makimoto KP, Kobayashi S, Nakanuma Y, Sasaki M, Saito K, Katayanagi K. Pathology of the spleen in primary biliary cirrhosis: an autopsy study. *Pathol Int* 1994;44:753-8.
41. Rozga J, Jeppson B, Hagerstrand I, Bengmark S. Acute portal vein stenosis. *Acta Chir Scand* 1985;151:125-131.
42. Williams R, Condon RE, Williams HS, Blendis LM, Kreel L. Splenic blood flow in cirrhosis and portal hypertension. *Clin Sci* 1968;34:441-452.
43. Blendis L, Kreel L, Williams R. The coeliac axis and its branches in splenomegaly and liver disease. *Gut* 1969;10:85-90.
44. Chauffourd M. A propos de la communication de M Vaques. *Bulletins et memories de la Societe Mediale des Hopitaux de Paris*. 1907;24:1201-3.
45. Toghil PS. The syndromes of splenic dysfunction. In Bowdler AJ, ed. *The spleen, structure, function and clinical significance*. London: Chapman and Hall, 1990;209-32

46. El-Kishen MA, Henderson JM, Millian WJ, Kutner MH and Warren WD. Splenectomy is contraindicated for thrombocytopenia secondary to portal hypertension. *Surgery, Gynecology Obstetrics* 1985;160:233-8
47. Aster RH. Pooling of platelets in the spleen: role in the pathogenesis of hypersplenic thrombocytopenia. *J Clin Invest*,1966;45:645-51.
48. Blake JC, Sprengers D, Grech P, *et al.* Bleeding time in patients with hepatic cirrhosis. *BMJ* 1990;301:12-15
49. Burroughs AK. Pharmacological treatment of acute variceal bleeding. *Digestion* 1998;59 Suppl 2, 28-36.
50. Zucker-Franklin D. Megakaryocyte and their progeny: Current insights and perspectives. In lectures book of 13. meeting of the international society of haematology. Ed Ulutin O. İstanbul, Türkiye, 1995:212-217.
51. Bithell TC. Platelets and megakaryocytes. In Wintrobe's Clinical Hematology. Ninth Edition. Eds Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JV, Lukens JN. Lea&Febiger 1993:511-539.
52. Wendling F. MPLV, a retrovirus complex inducing an acute myeloproliferative leukemic disorder in adult mice. *Virology* 1986;149:242-6
53. Souyri M. A putative truncated cytokine receptor gene transduced by the myeloproliferative leukemia virus immortalizes hematopoietic progenitors. *Cell* 1990;63:1137-47.
54. Vigon I, Mornon JP, Cocault L, *et al.* Molecular cloning and characterisation of MPL the human homolog of the v-mpl oncogene: identification of a member of the hematopoietic growth factor receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:5640-4.
55. de Sauvage FJ, Hass PE, Spencer SD, *et al.* Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. *Nature* 1994;369(6481):533-8.
56. Lok S, Kaushansky K, Holly RD, *et al.* Cloning and expression of murine thrombopoietin cDNA and stimulation of platelet production in vivo. *Nature* 1994;369(6481):565-8.
57. Kaushansky K, Lok S, Holly RD, *et al.* Promotion of megakaryocyte progenitor expansion and differentiation by the c-Mpl ligand thrombopoietin. *Nature* 1994;369(6481):568-71.
58. Harker LA, Marzec UM, Hunt P, *et al.* Dose-response effects of pegylated human megakaryocyte growth and development factor on platelet production and function in nonhuman primates. *Blood* 1996;88:511-21.
59. de Sauvage FJ, Carver-Moore K, Luoh SM, *et al.* Physiological regulation of early and late stages of megakaryocytopoiesis by thrombopoietin. *J Exp Med* 1996;183:651-6.
60. Choi ES, Hokom M, Bartley T, *et al.* Recombinant human megakaryocyte growth and development factor (rHuMGDF), a ligand for c-mpl produces functional human platelets in vitro. *Stem Cells* 1995;13:317-22.
61. Vitrat N, Cohen-Solal K, Pique C, *et al.* Endomitosis of human megakaryocytes are due to abortive mitosis. *Blood* 1998;91:3711-23.
62. Zauli G, Bassini A, Vitale M, *et al.* Thrombopoietin enhances the alpha IIb beta 3-dependent adhesion of megakaryocytic cells to fibrinogen or fibronectin through PI 3 kinase. *Blood* 1997;89:883-95.

63. Kobayashi M, Laver JH, Kato T, et al. Recombinant human thrombopoietin (Mpl ligand) enhances proliferation of erythroid progenitor. *Blood* 1995;86:2494-9.
64. Neelis KJ, Dubbelman VD, Qingliang L, et al. Simultaneous administration of TPO and G-SCF after cytoreductive treatment of *Rhesus monkeys* prevents thrombocytopenia, accelerates platelet and red cell reconstitution, alleviates neutropenia, and promotes the recovery of immature bone marrow cells. *Exp Hematol* 1997;25:1084-93.
65. Alexander WS, Roberts AW, Nicola NA, et al. Deficiencies in progenitor cells of multiple hematopoietic lineages and defective megakaryocytopoiesis in mice lacking the thrombopoietic receptor c-Mpl. *Blood* 1996;87:2162-70.
66. Ballmaier M, Germeshausen M, Schulze H, et al. *c-mpl* mutations are the cause of congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *Blood* 2001;97:139-46.
67. McCarthy JM, Sprugel KH, Fox NE, et al. Murine thrombopoietin mRNA levels are modulated by platelet count. *Blood* 1995;86:3668-75.
68. Fielder PJ, Hass P, Nagel M, et al. Human platelets as a model for the binding and degradation of thrombopoietin. *Blood* 1997;89:2782-8.
69. Li J, Xia Y, Kuter DJ. Interaction of thrombopoietin with the platelet c-mpl receptor in plasma binding, internalization, stability and pharmacokinetics. *Br J Haematol* 1999;106:345-56.
70. Folman CC, et al. Analysis of the kinetics of TPO uptake during platelet transfusion. *Transfusion* 2001;41:517-21.
71. Kuter DJ, Rosenberg RD. The reciprocal relationship of thrombopoietin (*c-mpl* ligand) to changes in the platelet mass during busulfan-induced thrombocytopenia in the rabbit. *Blood* 1995;85:2720-30.
72. Emmons RV, Reid DM, Cohen RL, et al. Human thrombopoietin levels are high when thrombocytopenia is due to megakaryocyte deficiency and low when due to increased platelet destruction. *Blood* 1996;87:4068-71.
73. Debili N, Wendling F, Katz A, et al. The Mpl ligand or thrombopoietin or megakaryocyte growth and differentiating factor has both direct proliferative and differentiating activities on human megakaryocyte progenitors. *Blood* 1995;86:2516-25.
74. Kawasaki H, Nakano T, Kohdera U, et al. Serum thrombopoietin concentrations and peripheral platelet counts in essential thrombocythemia. *Ann Hematol* 2001;80:62-3.
75. Jorgensen MJ, McCarthy J, Fox N, et al. Familial thrombocytosis associated with overproduction of thrombopoietin due to a novel splice donor site mutation abstract #834. *Blood Suppl* 1 1998;92:205a.
76. Linden HM, Kaushansky K. The glycan domain of thrombopoietin enhances its secretion. *Biochemistry* 2000;39:3044-51.
77. Pearce Jr KH, Potts BJ, Presta LG, et al. Mutational analysis of thrombopoietin for identification of receptor and neutralising antibody sites. *J Biol Chem* 1997;272:20595-602.
78. Bazan JF. Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:6934-8.

79. Hercus TR, Cambareri B, Dottore M, et al. Identification of residues in the first and fourth helices of human granulocytic-macrophage colony-stimulating factor involved in biologic activity and in binding to the alpha- and beta- chains of its receptor. *Blood* 1994;83:3500-8.
80. Youssoufian H, Kongmore G, Neuman D, et al. Structure, function and activation of the erythropoietin receptor. *Blood* 1993;81:2223-36.
81. Muto T, Feese MD, Shimada Y, et al. Functional analysis of the C-terminal region of recombinant human thrombopoietin. C-terminal region of thrombopoietin is a "shuttle" peptide to help secretion. *J Biol Chem* 2000;275:12090-4.
82. Drachman JG, Kaushansky K. Structure and the function of the cytokine receptor superfamily. *Curr Opin Hematol* 1995;2:22-8.
83. Ihle JN, Thierfelder W, Teglund S, et al. Signaling by the cytokine receptor superfamily. *Ann N Y Acad Sci* 1998;865:1-9.
84. Yee NS, Hsiao CW, Serve H, et al. Mechanism of down-regulation of c-kit receptor. Roles of receptor tyrosine kinase, phosphatidylinositol 3'-kinase, and protein kinase C. *J Biol Chem* 1994;269:31991-8.
85. Wolber EM, Fandrey J, Frackowski U, et al. Hepatic thrombopoietin mRNA is increased in acute inflammation. *Thromb Haemost* 2001;86:1421-24.
86. Colarizi P, Fiorucci P, Caradonna A, et al. Circulating thrombopoietin levels in neonates with infection. *Acta Paediatr* 1999;88:332-37.
87. Ishiguro A, Suzuki Y, Mito M, et al. Elevation of serum thrombopoietin precedes thrombocytosis in acute infections. *Br J Haematol* 2002;116:612-18.
88. Schiodt FW, Balko J, Schilsky M, et al. Thrombopoietin in acute liver failure. *Hepatology* 2003;37:558-561.
89. Hobicsh-Hagen P, Jelkman W, Mayr A, et al. Low platelet count and elevated serum thrombopoietin after severe trauma. *Eur J Haematol* 2000;64:157-63.
90. Bjerre A, Ovstebo R, Kierulf P, et al. Fulminant meningococcal septicemia: dissociation between plasma thrombopoietin levels and platelet counts. *Clin Infect Dis* 2000;30:643-47.
91. Harker LA, Hunt P, Marzec UM, et al. Regulation of platelet production and function by megakaryocyte growth and development factor in nonhuman primates. *Blood* 1996;87:1833-44.
92. Ulich TR, del Castillo J, Senaldi G, et al. Systemic hematologic effects of PEG-rHuMGDF-induced megakaryocytes hyperplasia in mice. *Blood* 1996;87:5006-15.
93. Baser RI, Rasko JR, Clarke K, et al. Thrombopoietic effects of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHuMGDF) in patients with advanced cancer. *Lancet* 1996;348:1279-81.
94. Neelis KJ, Qingliang L, Thomas GR, Cohen BL, Eaton DL, Wagemaker G. Prevention of thrombocytopenia by thombopoietin in myelosuppressed rhesus monkeys accompanied erythropoietic stimulation and iron depletion. *Blood* 1997;90:58-63.
95. Fibbe WE, Heemskerk DP, Laterveer L, et al. Accelerated reconstitution of platelets and erythrocytes following syngeneic transplantation of bone marrow cells derived from thrombopoietin pretreated donor mice. *Blood* 1995;86:3308-13.

96. Molineux G, Hartley C, McElroy P, McCrea C, McNiece IK. Megakaryocyte growth and development factor accelerates platelet recovery in peripheral blood progenitor cell transplant recipients. *Blood* 1996;88:366-76.
97. Neelis KJ, Dubbelman YD, Wagnum AW, et al. Lack of efficacy of thrombopoietin and granulocyte colony-stimulating factor after high dose total body irradiation and autologous stem cell or bone marrow transplantation in rhesus monkeys. *Exp Hematol* 1997;25:1094-103.
98. Chen J, Hecceg-Harjacek L, Groopman JE, Grabarek J. Regulation of platelet activation in vitro by the c-Mpl ligand, thrombopoietin. *Blood* 1995;86:4054-62.
99. Yanaga K, Tzakis AG, Shimada M, Campbell WE, Marsh JW, Stieber AC, et al. Reversal of hypersplenism following orthotopic liver transplantation. *Ann Surg* 1989;210:180-3.
100. Harker LA, Finch CA. Thrombokinetics in man. *J Clin Invest* 1969;48:963-74.
101. Mutchnick MG, Lerner E, Conn HO. Effect of portacaval anastomosis on hypersplenism. *Dig Dis Sci* 1980;25:929-38.
102. Peck-Radosavljevic M, Zacherl J, Meng YG, et al. Is inadequate thrombopoietin production a major cause of thrombocytopenia in cirrhosis of the liver? *J Hepatol* 1997;27:127-31.
103. Martin III TG, Somberg KA, Meng YG, et al. Thrombopoietin levels in patients with cirrhosis before and after orthotopic liver transplantation. *Ann Intern Med* 1997;127:285-88.
104. Gouli J, Chau TN, Jordan S, Mehta AB, Watkinson A, Rolles K, Burroughs AK. Thrombopoietin concentrations are low in patients with cirrhosis and thrombocytopenia and are restored after orthotopic liver transplantation. *Gut* 1999;44:754-58.
105. Stiegler G, Sthlawetz P, Peck-Radosavljevic M, Jilma B, Pidlich J, Wichlas M, Höcker P, Panzer S. Direct evidence for an increase in thrombopoiesis after liver transplantation. *Eur J Clin Invest* 1998;28:755-759.
106. Peck-Radosavljevic M, Wichlas M, Zacherl J, et al. Thrombopoietin induces rapid resolution of thrombocytopenia after orthotopic liver transplantation through increased platelet production. *Blood* 2000;95:795-801.
107. Wolber EM, Ganschow R, Burdelski M, Jelkman W. Hepatic thrombopoietin mRNA levels in acute and chronic liver failure of childhood. *Hepatol* 1999;29:1739-42.
108. Yamashita K, Matsuoka H, Ochiai T, et al. Hepatocyte growth factor/scatter factor enhances the thrombopoietin mRNA expression in rat hepatocytes and cirrhotic rat livers. *J Gastro Hepatol* 2000;15:83-90.
109. Kawasaki T, Takeshida A, Souda K, et al. Serum thrombopoietin levels in patients with chronic hepatitis and cirrhosis. *Am J Gastro* 1999;94:1918-22.
110. Espanol I, Gallego A, Enriquez J, et al. Thrombocytopenia associated with liver cirrhosis and hepatitis C viral infection: role of thrombopoietin. *Hepato Gastroent* 2000;47:1404-6.
111. Shimodaira S, Ishida F, Ichikawa N, Tahara T, Kato T, Kodaira H, et al. Serum thrombopoietin (c-Mpl) levels in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemost* 1996;76:545-48.
112. Quick AJ. Hemostasis and blood coagulation. *Science* 1973;182:87-93.

113. Matsutani S, Kimura K, Ohto M, et al. Ultrasonography in the diagnosis of portal hypertension. In: Okuda K, ed. Portal hypertension clinical and physiological aspects. Tokyo: Springer-Verlag, 1991, p:97-206.
114. Hallen A, Nilson IM. Coagulation studies in liver disease. *Thromb Diath Haemorrh* 1964;11:51-63.
115. Aster RH. Pooling of platelets in the spleen: Role in the pathogenesis of hypersplenic thrombocytopenia. *J Clin Invest* 1966;45:645-57.
116. Aoki Y, Hirai K, Tanikawa K. Mechanism of thrombocytopenia in liver cirrhosis: Kinetics of indium-111 tropolone labelled platelets. *Eur J Nucl Med* 1993;20:123-9.
117. Mayer M, Herrman I, Kempgens U, et al. In vivo labeling of platelets with Se-selenomethionine in patients with hepatic cirrhosis and thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1977;37:47-52.
118. Dameshek W. Hypersplenism. *Bull NY Acad Med* 1955;31:113-36.
119. Bartley TD, Bogenberger J, Hunt P, et al. Identification and cloning of a megakaryocyte growth and development factor that is a ligand for the cytokine receptor Mpl. *Cell* 1994;77:1117-24.
120. Sohma Y, Akahori H, Seki N, et al. Molecular cloning and chromosomal localization of the human thrombopoietin gene. *FEBS Lett* 1994;353:57-61
121. Kato T, Ogami K, Shimada Y, et al. Purification and characterisation of thrombopoietin. *J Biochem* 1995;118:229-36.
122. de Sauvage FJ, Hass PE, Spencer SD, et al. Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. *Nature* 1994;369:533-8.
123. Fielder PJ, Gurney AL, Stefanich E, et al. Regulation of thrombopoietin levels by c-mpl-mediated binding to platelets. *Blood* 1996;87:2154-61.
124. Cohen-Solal K, Villeval JL, Titeux M, et al. Constitutive expression of mpl ligand during thrombocytopenia or thrombocytosis. *Br J Haematol*, 93(supl 2), 1996;174.
125. McCarthy JM, Sprugel KH, Fox NE, et al. Murine thrombopoietin mRNA levels are modulated by platelet count. *Blood* 1995;86:3668-75.
126. Ishikawa T, Ichida T, Sugahara S, et al. Thrombopoietin receptor (c-Mpl) is constitutively expressed on platelets of patients with liver cirrhosis, and correlates with its disease progression. *Hepatology Research* 2002;23:115-121.
127. Ishikawa T, Ichida T, Matsuda Y, et al. Reduced expression of thrombopoietin is involved in thrombocytopenia in human and rat liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998;13:907-13.
128. Matsumuro I, Horikawa Y, Kanakura Y. Functional roles of thrombopoietin-c-Mpl system in essential thrombocytopenia. *Leuk Lymphoma* 1999;32:351-8.
129. Horikawa Y, Matsumura I, Hashimoto K, et al. Markedly reduced expression of platelet c-Mpl receptor in essential thrombocythemia. *Blood* 1997;90:4031-8.
130. Moliterno AR, Hankins WD, Spivak JL. Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med* 1998;338:572-80.
131. Kaban K, Kantarjian H, Talpaz M, et al. Expression of thrombopoietin and its receptor (c-Mpl) in chronic myelogenous leukemia. Correlation with disease progression and response to therapy. *Cancer* 2000;88:570-6.

- 132.von den Borne A, Folman C, van den Qudenijn S, et al. The potential role of thrombopoietin in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood Rev* 2002;16:57-9.
- 133.Cohen P, Gardner FH, Barnett GO. Reclassification of the thrombocytopenias by the Cr51-labeling method for measuring platelet life span. *N Engl J Med* 1961;264:1294-9.
- 134.Cardier JE. Effects of megakaryocyte growth and development factor (thrombopoietin) on liver endothelial cells in vitro. *Microvascular Research* 1999;58:108-113.
- 135.Meng YG, Martin TG, Peterson ML, et al. Circulating thrombopoietin concentrations in thrombocytopenic patients including cancer patients following chemotherapy with or without peripheral blood progenitor cell transplantation. *Br J Haematol* 1996;95:535-41.
- 136.Stoffel R, Wiestner A, Skoda RC. Thrombopoietin in thrombocytopenic mice: evidence against regulation at the mRNA level and for a direct regulatory role of platelets. *Blood* 1996;87:567-73.
- 137.Eaton DL, de Sauvage FJ. Thrombopoietin. The primary regulator of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis. *Exp Hematol* 1997;25:1-7.
- 138.Kato N, Nita S, Imamura M, et al. Expression of thrombopoietin mRNA in the liver of patients with chronic liver disease. *Gastroenterology* 1996;110:A1967.
- 139.de Sauvage FJ, Luoh S.-M, Carver-Moore K, et al. Deficiencies in early and late stages megakaryocytopoiesis in TPO-Ko mice. *J Exp Med* 183:651-56.
- 140.Shiota G, Okubo M, Kawasaki H, Tahara T. Interferon increases serum thrombopoietin in patients with chronic hepatitis C. *Br J Haematol* 1997;97:340-42.
- 141.Okubo M, Shiota G, Kawasaki H. Thrombopoietin levels in serum and liver tissue in patients with chronic viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Clin Sci* 2000;99:207-14.
- 142.Koruk M, Onuk MD, Akçay F, Savaş MC. Serum thrombopoietin levels in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis, and its relationship with circulating thrombocyte counts. *Hepatogastroenterology* 2002;49:1645-8.
- 143.Freni MA, Spadaro A, Ajello A, et al. Serum thrombopoietin in chronic liver disease. Relation to severity of the disease and spleen size. *Hepatogastroenterology* 2002;49:1382-5.
- 144.Koga T, Monikawa Y. Ultrasonographic determination of the splenic size and its clinical usefulness in various liver diseases. *Radiology* 1975;11:157-61.