

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**İMMUN TROMBOSİTOPENİK PURPURALI
ÇOCUKLARDA KISA SÜRELİ YÜKSEK DOZ
STEROİD TEDAVİSİNİN OKSİDAN,
ANTİOKSİDAN SİSTEM, SERUM
PARAOKSANAZ VE ARİLESTERAZ
ENZİMLERİNİN AKTİVİTELERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Musa CURA

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet KOÇ

ŞANLIURFA
2009

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**İMMUN TROMBOSİTOPENİK PURPURALI
ÇOCUKLARDA KISA SÜRELİ YÜKSEK DOZ
STEROİD TEDAVİSİNİN OKSİDAN,
ANTIOKSİDAN SİSTEM, SERUM
PARAOKSANAZ VE ARİL ESTERAZ
ENZİMLERİNİN AKTİVİTELERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Musa CURA

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet KOÇ

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 892 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2009

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime ve tez hazırlamama sonsuz katkıda bulunan değerli hocam Prof. Dr. Ahmet KOÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince her türlü konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli hocalarım; eski A.D Başkanım Prof. Dr. A. Himmet KARAZEYBEK, Prof. Dr. Akın İŞCAN, Prof. Dr. Murat SÖKER, Doç. Dr. Mustafa KÖSECİK, Doç. Dr. Kabil ŞERMATOV, Doç. Dr. Mansur TATLI, Doç. Dr. Dost ZEYREK, Yrd. Doç. Dr. Mustafa SORAN, Yrd. Doç. Dr. Ali AYÇİÇEK, Yrd. Doç. Dr. Ali ATAŞ ve Yrd. Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda emeği bulunan Prof. Dr. Nurten AKSOY, Öğretim Görevlisi Hakim ÇELİK, Biy. Abdullah TAŞKIN ve Biyokimya A.D. personeline gönülden teşekkür ederim.

Klinikteki çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli arkadaşlarım Çocuk Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimim boyunca her türlü destek ve katkılarını esirgemeyen, sevgili eşim Fatma'ya, canım oğlum Berke'ye, desteklerini ve dualarını esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Musa CURA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II-III
TABLolar DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
SİMGE VE KISALTMALAR	VI
ÖZET	VII-VIII
ABSTRACT	VIII-IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1-2
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. İdiyopatik (immun) trombositopenik purpura	3
2. 1. 1. Tanım	3-7
2. 1. 2. Patogenez	7-9
2. 1. 3. Genetik	9
2. 1. 4. Klinik bulgular	9-11
2. 1. 5. Tanı	11-12
2. 1. 6. Laboratuvar	12-14
2. 1. 7. Ayırıcı tanı	14-16
2. 1. 8. Tedavi	16
2. 1. 8. 1. Destek tedavisi	16
2. 1. 8. 2. Spesifik tedavi	17-18
2. 1. 8. 2. 1. Kortikosteroidler	18-19
2. 1. 8. 2. 2. İntravenöz immunglobulin (İVİG)	19-20
2. 1. 8. 2. 3. Anti-D	20-21
2. 1. 8. 2. 4. Splenektomi	21-22
2. 1. 8. 2. 5. Diğer Tedavi Seçenekleri	23
2. 1. 8. 2. 6. Hayatı tehdit edici kanama ile gelen hastalarda tedavi	23
2. 1. 9. Komplikasyonlar	23-24
2. 1. 10. Relaps	24
2. 1. 11. Prognoz	24
2. 2. Serbest Oksijen Radikalleri	25
2. 2. 1. Tanım	25

2. 2. 2. Serbest Radikaller Nasıl Oluşur.	25-26
2. 2. 3. Süperoksit Radikali	27
2. 2. 4. Hidrojen Peroksit	27
2. 2. 5. Hidroksil Radikali	27-28
2. 2. 6. Singlet Oksijen	28
2. 2. 7. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	28-29
2. 2. 7. 1. Membranların lipid peroksidasyonu	29-30
2. 2. 7. 2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu	30
2. 2. 7. 3. DNA Lezyonları	30-31
2. 2. 7. 4. Karbonhidratlara Etkileri	31
2. 2. 8. İnsan Vücudunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları	31
2. 3. Serbest oksijen radikallerine karşı savunma mekanizmaları	32
2. 3. 1. Antioksidan etki tipleri	32
2. 3. 2. Antioksidan Sistemler	32-33
2. 3. 3. Enzimatik Antioksidanlar	33-35
2. 3. 4. Non enzimatik antioksidanlar	35-37
2. 3. 5. Total Antioksidan Kapasite (TAK)	37-38
2. 4. Paraoksonaz / Arilesteraz (PON1)	39
2. 4. 1. PON1 Enziminin Yapısı ve Aktivitesi	39-40
2. 4. 2. PON1 Enziminin Fonksiyonu	40
3. MATERYAL VE METOD	41-44
3. 1. Hasta grubu ve çalışma protokolü	41-42
3. 2. Yöntem	43-44
3. 2. 1. Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktivitelerinin Tayini	42
3. 2. 2. Total Antioksidan Kapasite (TAK)	43
3. 2. 3. Total Oksidan Seviye (TOS)	43
3. 2. 4. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	44
3. 3. Yapılan İstatistiksel Analizler	44
4. BULGULAR	45-53
5. TARTIŞMA	55-62
6. SONUÇ	63
7. KAYNAKLAR	64-81

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. Çocuklarda trombositopeninin patofizyolojik sınıflandırılması	4-5
Tablo 2. Sekonder İTP'nin nedenleri	6
Tablo 3. İTP'den şüphelenilen çocuklarda periferik yayma	11
Tablo 4. İmmun trombositopeni yapan ilaçlar	16
Tablo 5. İTP'de steroid, İVİG ve Anti-D'nin etki mekanizmalarının karşılaştırılması	21
Tablo 6. Reaktif oksijen radikallerin kaynakları	26
Tablo 7. Artmış reaktif oksijen türlerinin vücuttaki zararlı etkileri	29
Tablo 8. İTP ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet değerlerinin dağılımı	45
Tablo 9. Çalışma grubunun steroid tedavisi öncesi ve sonrası değerleri ile kontrol grubunun değerleri	46
Tablo 10. Çalışma grubunun tedavi öncesi değerleri ile kontrol grubunun değerlerinin karşılaştırılması	47
Tablo 11. Çalışma grubunun tedavi öncesi değerleri ile tedavi sonrası değerlerinin karşılaştırılması	48
Tablo 12. Çalışma grubunun tedavi sonrası değerleri ile kontrol grubunun değerlerinin karşılaştırılması	49
Tablo 13. Tedaviye yanıtı göre çalışma grubunun tedavi öncesi ortalama kan değerleri	53
Tablo 14. Tedaviye yanıtı göre çalışma grubunun tedavi sonrası ortalama kan değerleri	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

		Sayfa No
Şekil 1.	Çalışma grubunda ortalama trombosit sayısının steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi	49
Şekil 2.	Çalışma grubunda ortalama paraoksonaz aktivitesinin steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi	50
Şekil 3.	Çalışma grubunda ortalama arilesteraz aktivitesinin steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi	50
Şekil 4.	Çalışma grubunda ortalama beyaz küre sayısının steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi	51
Şekil 5.	Çalışma grubunda ortalama TAK seviyesinin steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi	51
Şekil 6.	Çalışma grubunda ortalama TOS seviyesinin steroid tedavisi sonrası azalmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi	52
Şekil 7.	Çalışma grubunda ortalama OSİ seviyesinin steroid tedavisi sonrası azalmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi	52

SİMGE VE KISALTMALAR

ASH:	Amerikan Hematoloji Birliği
AU:	Arbitrary Unit
CAT:	Katalaz
DNA:	Deoksiribonükleik asit
EDTA:	Etilen diamin tetraasetik asit
FcR:	Fc Reseptör
Fe:	Demir
GSH:	Glutasyon
Gpx:	Glutasyon Peroksidaz
Gp:	Glikoprotein
H ₂ O ₂ :	Hidrojen Peroksit
HIV:	Human Immundeficiency Virus
HDL:	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HLA:	İnsan lökosit antijenleri
IG:	İmmünglobulin
İTP:	İmmün Trombositopenik Purpura
İVİG:	İntravenöz İmmünglobulin
LDL:	Düşük Dansiteli Lipoprotein
MDA:	Malondialdehit
O ₂ ⁻ :	Süperoksit Radikali
OH ⁻ :	Hidroksil Radikali
OSİ:	Oksidatif Stres İndeksi
PON1:	Paraoksonaz-1
RES:	Retiküloendotelyal Sistem
RNA:	Ribonükleik asit
SLE:	Sistemik Lupus Eritematozus
SOD:	Süperoksit Dismutaz
TAK:	Total Antioksidan Kapasite
TOS:	Total Oksidan Seviye

ÖZET

İMMÜN TROMBOSİTOPENİK PURPURALI ÇOCUKLARDA KISA SÜRELİ YÜKSEK DOZ STEROİD TEDAVİSİNİN OKSİDAN, ANTIOKSİDAN SİSTEM, SERUM PARAOKSONAZ VE ARİLESTERAZ ENZİMLERİNİN AKTİVİTELERİNE ETKİSİ

İmmün trombositopenik purpura (İTP); dolaşımdaki trombositlerin immün nedenli yıkımının artması ile karakterize, benign seyirli, kendi kendini sınırlayan, çocukluk çağının en sık karşılaşılan edinsel trombositopeni nedenidir. Oksidatif stres; kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve enfeksiyöz hastalıklarda olduğu gibi İTP gibi hematolojik hastalıklarda da rol oynayabilir. Oksidatif stres, pro-oksidanların yapımı ve nötralizasyonu arasındaki dengesizlik sonucu oluşur. Pro-oksidan / antioksidan dengede bozulma hücre sel yapılarında oksidatif strese neden olabilir. Serum paraoksonaz ve arilesteraz enzimleri HDL ile ilişkili, anti-oksidan ve anti-aterojenik fonksiyona sahip olduğu kabul edilen enzimlerdir.

Bu çalışmada İTP'li çocuklarda oksidan / antioksidan sistem, serum paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin durumu ve yüksek doz metil prednizolon (MP) tedavisinin bu sistemler üzerine etkileri araştırıldı. Hasta grubu olarak yaş ortalaması $4,95 \pm 2,77$ yıl olan 30 İTP'li vaka ve kontrol grubu olarak benzer yaş ve cinsiyette 30 sağlıklı çocuk çalışmaya alındı. Total oksidan seviye (TOS), total antioksidan kapasite (TAK), paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri Erel yöntemi ile çalışıldı.

Hasta grubunda kontrol grubuna göre ortalama TAK düzeyi, paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin daha düşük; TOS ve OSİ düzeylerinin ise daha yüksek olduğu saptandı (sırasıyla $0,85 \pm 0,11$ mmol TroloxEqv./L, $105,46 \pm 59,65$ U/L, $190,97 \pm 39,34$ U/L, $11,13 \pm 2,59$ μ mol H₂O₂ Eqv./L, $1,30 \pm 0,34$ U/L e karşılık $1,02 \pm 0,13$ mmol TroloxEqv./L, $185,26 \pm 76,12$ U/L, $226,07 \pm 40,09$ U/L, $11,13 \pm 2,59$ μ mol H₂O₂ Eqv./L, $0,92 \pm 0,19$ U/L). 7 günlük MP tedavisi sonrasında TAK düzeyi, paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin arttığı; TOS ve OSİ düzeylerinin azaldığı (normal düzeye yaklaşma) saptandı (sırasıyla $0,93 \pm 0,13$ mmol TroloxEqv./L, $141,40 \pm 79,28$ U/L, $235,85 \pm 54,77$ U/L, $9,85 \pm 1,90$ μ mol H₂O₂ Eqv./L, $1,08 \pm 0,23$ U/L).

Sonuç olarak; çalışmamız akut İTP'de oksidan strete artış, antioksidan kapasite, paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinde azalma olduğu, steroid tedavisinin bu değişiklikleri düzelttiğini göstermektedir. Fakat İTP hastalarında oksidan stres artışının ve antioksidan

enzimlerin seviyesinin düşmesinin bir neden mi yoksa bir sonuç mu olduğunun anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. İTP hastalarında doğal veya sentetik antioksidanların kullanımının oksidatif stresin azaltılması, paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin artması yoluyla iyileşmeyi hızlandıracığı ve komplikasyonları azaltmaya yardımcı olabileceği düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: İmmün Trombositopenik Purpura, Oksidan-Antioksidan Sistem, Paraoksonaz, Arilesteraz

ABSTRACT

SHORT-TERM HIGH-DOSE STEROID TREATMENT IN CHILDHOOD WITH IMMUNE THROMBOCYTOPENIC PURPURA EFFECT OF OXIDANT, ANTIOXIDANT SYSTEM, ACTIVITIES OF ENZYMES IN SERUM PEROXIDASE AND ARYLESTERASE

Immune thrombocytopenic purpura (ITP) is the most common cause of acquired childhood thrombocytopenia which is self-limiting, benign course and characterized by an increase in the immune destruction of thrombocytes in circulation. Oxidative stress may play a role in children with hematological diseases such as ITP as well as in cardiovascular diseases, cancer and infectious diseases. Oxidative stress develops as a result of imbalance between formation and neutralisation of pro-oxidants. Pro-oxidants / antioxidant equilibrium disorders may cause oxidative stress in cellular structures. Serum peroxidase and arylesterase are enzymes associated with HDL, anti-oxidant and anti-atherogenic function.

In this study, oxidant / antioxidant system, serum peroxidase and arylesterase activities in children with immune thrombocytopenic purpura and high-dose methyl prednisolone (MP) treatment effects on these systems were investigated. The patient group was constituted from 30 patients with ITP whose mean age was $4,95 \pm 2,77$ years and control group was 30 healthy children of similar age and gender. Total oxidant status (TOS), total antioxidant capacity (TAC), peroxidase and arylesterase activities were measured by using Erel's methods.

In the patient group the average level of TAC, peroxidase and arylesterase activities were lower than control group; TOS and OSI levels were higher (0.85 ± 0.11 mmol TroloxEqv./L, 105.46 ± 59.65 U/L, 190.97 ± 39.34 U/L, 11.13 ± 2.59 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L, 1.30 ± 0.34 U/L against 1.02 ± 0.13 mmol TroloxEqv./L, $185.26 \pm 76,12$ U/L, $226.07 \pm 40,09$ U/L, 11.13 ± 2.59 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L, 0.92 ± 0.19 U/L respectively). The level of TAC, peroxidase and arylesterase activities were increased after 7 days MP treatment; TOS and OSI levels were decreased (Approaching normal value) (0.93 ± 0.13 mmol TroloxEqv./L, 141.40 ± 79.28 U/L, 235.85 ± 54.77 U/L, 9.85 ± 1.90 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L, 1.08 ± 0.23 U/L respectively).

In conclusion; Our study shows increasing in oxidant stress, reduction in antioxidant capacity, peroxidase and arylesterase activities in acute ITP; these changes are corrected by steroid treatment. Further studies are needed for patients with ITP to clarify if increasing of oxidant stress and decreasing of antioxidant enzyme levels are reason or result. We think that

use of natural or synthetic antioxidants can be very helpful by decreasing antioxidant stress and increasing of paraoxonase and arylesterase activities and so can accelerate healing and reduce complications of patients with ITP.

Key words: Immune Thrombocytopenic Purpura, Oxidant-Antioxidant System, Paraoxonase, Arylesterase

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Trombositopeni, trombosit sayısının 150.000/mm³'ün altında olmasıdır. Sağlıklı bir çocukta akut başlayan trombositopeninin en sık nedeni akut immün trombositopenik purpura (İTP)'dir (1). İTP erişkin ve çocukluk yaş grubunda görülen; kanamaya yatkınlık, peteşi ve purpura ile karakterize, trombositopeni ile seyreden, diğer trombositopeni nedenlerinin ekarte edilmesiyle tanı konabilen bir hastalıktır (2).

İTP retiküloendotelial sistemde (RES) immün aracılı trombosit yıkımı ile karakterize otoimmün bir hastalıktır (3). Tüm İTP olguların %50-65'inden otoimmün mekanizma sorumludur (1). Viral enfeksiyonlardan 1-4 hafta sonra çocukların bir kısmında trombosit yüzeyine karşı antikorlar gelişir. Bu antikorların trombosit yüzeyine bağlanmasından sonra, dolaşımdaki antikorlarla kaplı trombositler splenik makrofajlardaki Fc reseptörleri ile tanınır ve fagosite edilir (4,5). İTP'de trombositopeninin bilinen sebebi trombositlerin erken yıkılmasıdır. Yapılan çalışmalarda İTP hastalarının çoğunda plazmalarında ve trombositleri üzerinde glikoprotein (Gp)IIb/IIIa, GpIb/IX, GpIa/IIa, GpV, GpIV ve diğer spesifik trombosit glikoproteinlerine karşı IgG ve/veya IgM tipinde otoantikorlar tanımlanmıştır (1,6,7,8,9). Ancak son yıllarda geliştirilen yeni tekniklerle bile İTP'li hastaların en az %20'sinde halen antitrombosit antikorlar tespit edilememektedir (10). Bu durum fizyopatolojide başka mekanizmalar da olduğunu düşündürmekte ve muhtemel mekanizmaları aydınlatmak için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Ayrıca İTP patofizyolojisinde suçlanan anti-trombosit antikorların İTP için spesifik olmadığı, trombositopeni ile giden aplastik anemi ve lösemi gibi çok sayıda hastalıkta da bulunduğu bilinmektedir (11,12,13). Bu nedenle İTP'nin kesin tanısında trombosit antikor düzeylerinin kullanılmaması uygun görülmektedir.

İTP'de sorumlu olabilecek diğer mekanizmalar arasında antikora bağımlı olarak oluşan bir oksidan ürün olan hidrojen peroksidin hücresel hasara neden olması ileri sürülmüştür (14). Oksidatif hasar otoimmün hastalıkların patogenezi ile ilgili olabilir. Literatürde İTP'li hastalarda görülen oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizması hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Membran lipidlerine bağlanan antikorlar ve trombositlerin yıkımı İTP'de lipid peroksidasyonunda bir rol oynayabilir. Bu amaçla erişkin İTP'li hastalarda lipid peroksidasyonu ve antioksidanların rolünü araştırmak için yapılan çalışmada plazma ve eritrosit malondialdehit (MDA), eritrosit glutatyon ve askorbik asit

seviyeleri analiz edilmiş ve İTP'li hastalarda eritrosit ve plazma MDA seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek, eritrosit glutatyon ve askorbik asit seviyesi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (15). Oksidatif hasar İTP'nin patogenezi ile ilişkili olabilir. İTP'li hastalarda trombosit yıkımı ve kanama; lipid peroksidasyonunun artması, antioksidan kapasitenin azalması ile ilişkili olabilir.

Serum paraoksonaz (PON1) enzimi karaciğerde sentezlenen, arildialkilfosfataz olarak da adlandırılan kalsiyum bağımlı, antioksidan fonksiyona sahip olduğu düşünülen bir enzimdir (16). PON1 enzimi paraoksonaz, arilesteraz ve diazoksonaz aktiviteleri olan bir enzimdir. Serum PON1 enziminin aromatik karboksilik asid esterleri ve paraokson, diazokson, sarin, soman gibi organofosfat türevlerini detoksifiye ettiği önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Arilesterazın PON1'e benzer etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (17,18).

Kortikosteroidler İTP'de trombosit sayısını arttırdığı gösterilen ve tedavide kullanılan ilk ilaçtır (19). Kortikosteroidlerin etki mekanizmaları; antikorla kaplı trombositlerin dalakta fagositozunu inhibe ederek trombosit yaşam süresinin uzamasını sağlamak, antitrombosit antikorların yapımını inhibe etmek, kapiller stabiliteyi artırarak trombositopeniye bağlı endotelial bozukluğu düzeltmek ve kanamayı azaltmak şeklindedir (20,21,22,23,24).

Steroid tedavisi alan immun trombositopenik purpuralı 1 yaş ile 10 yaş çocuk grubunda; serum paraoksanaz ve arilesteraz aktivitesinin etkilenip etkilenmediğine ve total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan seviye (TOS) ile aralarında herhangi bir ilişkinin olup olmadığına dair herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada İTP'li çocuklarda kısa süreli yüksek doz steroid tedavisinin oksidan ve antioksidan sistemleri, serum paraoksanaz ve arilesteraz enzimlerini nasıl etkilediği; steroidin bilinen etki mekanizmaları dışında bu sistemler üzerine olan etkilerininin araştırılacağı bir çalışma olacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İdiyopatik (immün) Trombositopenik Purpura

2.1.1. Tanım

Purpura, ilk kez Hipokrat ve Galen tarafından kırmızı kabarıklıklar ya da ateşe bağlı lekeler, plaklar şeklinde tanımlanmıştır (25). 1735’de Paul Gottlieb Werlhof erişkin bir kadında ani burun kanaması ve kanlı kusma sonrası boyun ve kollarda oluşan mor lekeleri “morbus maculosus hemorrhagicus” olarak tarif ederek Werlhof hastalığı olarak bilinen İTP’nin ilk klinik tanımını yapmıştır (21,25).

1883’te Georges Hayem trombositleri ve fonksiyonlarını tanımlayarak kanda ölçümlerini sağlayan bir metod geliştirdikten kısa bir süre sonra, purpuranın düşük trombosit sayısına bağlı olduğunu saptadı (25). 1951’de ilk kez William J Harrington trombositopenik hastaların plazmasını sağlıklı kişilere transfüze ederek bu kişilerde hızlı trombosit düşüşünü gösterdi ve “trombositopenik faktör”ün varlığını kanıtladı (26,27). Böylece İTP’nin ilk kez immün mekanizması tanımlanmış oldu. Aynı yıl Evans bu plazma faktörünün antitrombosit antikör olduğunu saptadı. Shulman ve ark. (28,29) serolojik yöntemlerle bu faktörün Ig G olduğunu gösterdi. 1982’de Leeuwen ve ark. (30) kronik İTP’li hastalardan elde edilen antikörlerin, trombositlerinde GpIIb/IIIa bulunmayan hastalara verildiğinde bu hastaların trombositlerine bağlanmadığını göstererek ilk kez İTP’de oluşan antikörlerin trombosit yüzeyindeki Gp IIb/IIIa kompleksine karşı oluştuğunu saptamışlardır (31).

İTP, trombosit membranları üzerindeki otoantikör veya immün kompleks birikimlerin neden olduğu, dolaşımdaki trombositlerin aşırı yıkımıyla ortaya çıkan ve çocuklardaki edinsel trombositopeninin en sık nedeni olan otoimmün bir hastalıktır. İTP; trombositopeni, trombosit yaşam süresinin kısalması, plazmada anti trombosit faktörlerin varlığı ve kemik iliğinde normal yada artmış megakaryosit artışı ile belirlenir (32).

Trombositler kanamanın kontrolünde önemli role sahiptirler. Tüm yaş gruplarında normal trombosit sayısı 150.000-400.000/mm³ olarak kabul edilir. Tüm trombositlerin 1/3’ü dalakta, 2/3’ü kan dolaşımında bulunur (20,21). Yaşam süreleri ortalama 7-10 gündür. Kemik iliğindeki megakaryositlerin sitoplazmalarından ayrılan trombositler normalde 1-4 µm çapındadır. Ortalama trombosit volümü (MPV) ise 8,9 ± 1,5 µm³ değerindedir. Ancak trombositler yaşlandıkça parçalanmaya ya da granül içeriklerini ve membran proteinlerini

kaybetmelerine bağlı küçülürler. Trombolitik durumlarda ise strese bağlı eritropoeze benzer şekilde megakaryositler büyük trombositler üretirler (21).

Trombosit sayısının $150.000/\text{mm}^3$ 'den düşük olması durumuna trombositopeni denir. Trombositopeni; trombositlerin yetersiz yapımına, aşırı yıkımına ya da anormal dağılımına (dalakta göllenme) bağlı olabilir. Çocukluk çağında görülen trombositopenilerin etyolojik sınıflandırılması Tablo1'de gösterilmiştir (20). Çocuklarda trombositopeninin ayırıcı tanısı seçilecek tedaviyi etkileyeceğinden önemlidir (21).

Tablo 1. Çocuklarda Trombositopeninin Patofizyolojik Sınıflandırılması (20)

I. Trombosit yıkım artışı olan durumlar: Megakaryositik trombositopeniler (kemik iliğinde megakaryositler normal veya artmıştır)

A. İmmun trombositopeniler: İmmun nedenlere bağlı trombosit yıkımıyla oluşur.

1. İdiopatik trombositopenik purpura
2. Sekonder trombositopeniler
 - a. İnfeksiyonların indüklediği trombositopeniler (viral, bakteriyel)
 - b. İlaçların indüklediği trombositopeniler
 - c. Posttransfüzyon purpura
 - d. Otoimmün hemolitik anemi (Evans sendromu)
 - e. Sistemik lupus eritematozus
 - f. Hipertiroidizm
 - g. Lenfoproliferatif bozukluklar
 - h. Allerji, anaflaksi
3. Neonatal immün trombositopeniler
 - a. Neonatal immün trombositopeni (annedeki immün trombositopeniye bağlı)
 - b. Neonatal alloimmün trombositopeni
 - c. Eritroblastozis fetalis (Rh uyumsuzluğu)

B. Nonimmün trombositopeniler: İmmün olmayan nedenlerle trombosit yıkımına bağlıdır.

1. Trombosit tüketimine bağlı trombositopeniler
 - a. Mikroanjyopatik hemolitik anemi
 - b. Dissemine intravasküler koagülasyon
 - c. Hemolitik üremik sendrom
 - d. Trombotik trombositopenik purpura
 - e. Kasabach-Merritt sendromu (dev hemanjiyom)
 - f. Siyanotik kalp hastalığı
 2. Trombosit yıkımına bağlı trombositopeniler
 - a. İlaçlar (ristosetin, protamin sülfat, bleomycin)
 - b. Sol ventrikül çıkış yolu obstrüksiyonu
 - c. İnfeksiyonlar
 - d. Kardiyak nedenler (prostetik kalp kapağı, intrakardiyak defekt tamiri)
 - e. Malign hipertansiyon
-

II. Trombosit dağılım bozuklukları

1. Hipersplenizm: Dalak büyüklüğü ve fonksiyon artışı nedeniyle dalakta göllenen ve yıkılan trombosit miktarı artmıştır.
2. Hipotermi

III. Trombosit üretim azlığına bağlı trombositopeniler (kemik iliğinde megakaryosit azlığı veya yokluğuna bağlı: amegakaryositik trombositopeniler)

A. Megakaryositlerin hipoplazi veya supresyonu

1. Konstitusyonel trombositopeniler
 - a. Trombositopenia absent radii (TAR) sendromu
 - b. Anomali olmaksızın konjenital megakaryositik hipoplazi
 - c. Mikrosefali ile birlikte konjenital hipoplastik trombositopeni
 - d. Rubella sendromu
 - e. Trizomi 13, 18
 - f. Fanconi anemisi
2. İnefektif trombopoez
 - a. Megaloblastik anemiler (B 12 vitamini eksikliği, folat eksikliği)
 - b. Ağır demir eksikliği anemisi
 - c. Ailesel trombositopeniler
 - d. Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri
3. Kontrol mekanizması bozuklukları
 - a. Trombopoietin eksikliği
 - b. Siklik trombositopeni
4. Metabolik hastalıklar
5. İlaçlara (klortiyazid, östrojenler, tolbutamid) bağlı megakaryosit baskılanması
6. Herediter trombosit bozuklukları
 - a. Bernard-Soulier sendromu
 - b. May-Hegglin anomalisi
 - c. Wiskott-Aldrich sendromu
 - d. Pure seks linked trombositopeni
7. Edinsel aplastik hastalıklar
 - a. İdiopatik
 - b. İlaçlara bağlı
 - c. Radyasyona bağlı
 - d. Viral infeksiyonlara bağlı (hepatitler, HIV, EBV)

B. Kemik iliği infiltrasyonu

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

Klinik olarak akut İTP ve kronik İTP olmak üzere iki ana formda görülür. Akut İTP'de tanıdan sonra trombosit sayısı 6 ay içinde normale ($150.000/\text{mm}^3$) döner ve relaps görülmez. Kronik İTP'de ise trombosit sayısı 6 aydan sonra da düşük seyreder. Çocuklarda İTP vakalarının % 85-90'ı akut tiptedir (32). Vakaların %15-20'si ise kronikleşir (1,21,33). Trombosit sayısı normale döndükten sonra trombositopeni atakları ile seyreden rekürren İTP,

kronik İTP'nin bir formu olarak kabul edilir (20) ve çocuklarda %1-4 oranında görülmektedir (31). İTP, altta yatan hastalığın olup olmamasına göre primer ve sekonder İTP olarak da sınıflandırılabilir (34). Çocuklarda sekonder İTP nadirdir; en sık Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) ve Human Immundeficiency Virus (HIV) enfeksiyonu sonucu görülür (Tablo 2).

Tablo 2. Sekonder İTP'nin nedenleri (34)

-
1. HIV enfeksiyonu
 2. Sistemik lupus eritematozus
 3. Lenfoproliferatif hastalıklar
 4. Myelodisplazi
 5. Agammaglobulinemi/hipogammaglobulinemi
 6. İlaça bağlı trombositopeni
 7. Alloimmun trombositopeni
 8. Konjenital/herediter immun olmayan trombositopeni
-

İki yaşından küçük çocuklarda görülen İTP'ye infantil İTP denilmektedir. Infantil İTP, çocukluk çağında görülen İTP'den farklı olarak erkeklerde daha sık görülür (20,35,36,37), enfeksiyon öyküsü ve kronikleşme oranı daha azdır (20). Klinik seyir daha ağırdır ve tedaviye yanıt daha azdır (20). Solunum yolu enfeksiyonları özellikle küçük çocuklarda kızlara oranla erkeklerde daha sık görülmektedir, ancak infantil İTP'nin erkeklerde daha sık görülmesinde başka faktörlerin de rol aldığı düşünülmektedir (38).

Çocukluk çağında asemptomatik trombositopenilerin sık olduğu düşünülmektedir. Akut İTP'nin gerçek sıklığı bilinmemekle birlikte her yıl için 10.000 çocukta bir görüldüğü kabul edilmektedir (20,21). Akut İTP tanısı konan ortalama 10 vakadan birinin kronikleştiği, bu vakaların da çoğunun spontan remisyona girdiği ya da asemptomatik orta derecede trombositopeni ile seyrettiği bilinmekte ve geriye kalan kronik semptomatik İTP vakalarının sıklığının 1/250.0000 olduğu bildirilmektedir (39).

Çocuklarda en sık 2–8 yaşlar arasında görülür. Beş yaş civarında pik yapar (35,40,41). Her iki cinsiyette eşit sıklıkta görülür (20,21). Yapılan bazı çalışmalarda özellikle iki yaşın altında, erkeklerde daha sık görüldüğü ve yaş arttıkça sıklığın azaldığı bildirilmiştir (35,42). Kronik İTP, çoğunlukla 10 yaşından büyüklerde ve daha sıklıkla kızlarda görülmektedir (21,34). Mevsimlere göre sıklık, çalışmalar arasında farklılık göstermektedir; bir kısmında

bahar aylarında (41), bir kısmında ise kış aylarında (35,40) daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Mevsimsel farklılığın viral infeksiyon sıklığı ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Vakaların %50-80'inde İTP gelişiminden önce geçirilmiş viral infeksiyon öyküsü bulunmaktadır. İnfeksiyon sonrası latent dönem ortalama iki haftadır, ancak birkaç gün ile altı hafta kadar olabilir (20). En sık görülen nedenler nonspesifik üst solunum yolu infeksiyonlarıdır. Hastaların sadece %20'sinde spesifik bir etken (kızamık, suçiçeği, kabakulak, hepatit A-B-C, enfeksiyöz mononükleoz [EMN], sitomegalovirüs [CMV], parvovirüs infeksiyonları ve bakteriyel infeksiyonlar gibi) saptanabilmiştir (20). İTP ayrıca kızamık, kabakulak, kızamıkçık aşısı sonrası, genellikle 6 ay içerisinde meydana gelebilmektedir. Riskin 1/24000 doz olduğu bildirilmiştir (43).

2.1.2. Patogenez

Harrington'un 1951'de trombositopenik faktörün varlığını göstermesi, daha sonra bu faktörün IgG olduğunun kanıtlanmasının (28) ardından İTP'li hastaların plazmasını sağlıklı alıcılara infüze ederek Fc reseptör blokajını gösteren çalışmalar yapılmıştır (10,44,45). Bu çalışmalar İTP'nin kemik iliğinde trombosit üretiminde bir defekte bağlı olmayıp, antikorlarla kaplı trombositlerin RES'de yıkım hızının artışı sonucu meydana geldiğini göstermiştir.

Trombositlerin ve kemik iliğinde megakaryositlerin yüzeyinde yer alan membran glikoproteinlerine karşı oluşan otoantikorlar trombositlerin artan yıkımından sorumlu tutulmaktadır (21). Bu otoantikorlar için antijenik hedefler arasında en sık rastlanılan Gp IIb/IIIa kompleksidir (21,46,47,48). Daha sonraki çalışmalarda İTP hastalarının plazmasında ve trombositleri üzerinde GpIb/IX, GpIa/IIb, GpV, GpIV ve diğer spesifik glikoproteinlere karşı IgG, IgA, IgM tipinde otoantikorlar saptanmıştır (47,49,51). Genellikle hastalarda birden fazla glikoproteine karşı antikorlar saptanmaktadır. Hastaların %50-85'inde IgG tipi otoantikorlar, %50'sinde diğer tip antikorlar tanımlanmıştır (IgA,IgM) (51). Önceleri otoantikorların poliklonal olduğu düşünülürken, son yıllarda yapılan çalışmalarda bu otoantikorların klonal olduğu gösterilmiştir (46). Bu geliştirilen yöntemlerle bile İTP'li hastaların en az %20'sinde halen antitrombosit antikorlar tespit edilememektedir (52). Bu durum İTP fizyopatolojisinde başka mekanizmalar olabileceğini düşündürmektedir. İTP'de antitrombosit antikorlarının ölçümünün sensitivitesi %49-66, spesifitesi %78-92, pozitif prediktif değeri %80-83 olarak bulunmuş ve negatif değerın İTP tanısından uzaklaştırması

gerektiği bildirilmiştir. Ayrıca bu antikorların İTP için spesifik olmadığı, trombositopeni ile giden lösemi ve aplastik anemi gibi çok sayıda hastalıkta bulunduğu bilinmektedir (11,12,13,53).

İTP’li hastalarda oldukça düşük trombosit sayısına rağmen ciddi kanamaların sık görülmemesi, antikorların trombositlerin yıkımına neden olduğu, ancak trombosit fonksiyonlarını bozmadığını düşündürmektedir. Antikorla kaplı trombositler dalağa geldiklerinde Fc reseptör (FcR) aracılığıyla mononükleer fagositler tarafından dolaşımdan uzaklaştırılırlar (54).

Otoantikor üretimini başlatan faktörler bilinmemektedir (23). İTP’li hastaların 2/3’ünde viral infeksiyon öyküsü bulunmaktadır. Bir kısmında spesifik bir ajan (Epstein-barr virus [EBV] , human immunodeficiency virus [HIV], varicella, parvovirüs B19 gibi) saptanabilmektedir. Viral ya da bakteriyel antijenler ile hastanın trombosit antijenleri arasında moleküler benzerliğin otoantikor üretimini başlattığı düşünülmektedir (23,54,55,56). İnfeksiyon ya da aşılama ile immun yanıtın başlatılması ile ilgili başka bir hipotez ise virüsün trombositler tarafından alınmasını ve trombositlerin membranı üzerinde virüs içeren immun komplekslerin birikmesini, ya da trombosit yüzeyinde kriptik neoantijenlerin oluşmasını içerir (21,57). Erişkinlerde Helicobacter pylori enfeksiyonu ile İTP ilişkisini bildiren yayınlar bulunmakla birlikte, çocuklarda infeksiyon sık görülmesine rağmen sadece birkaç kronik İTP’li çocukta bildirilmiştir (58).

İTP’nin oluşumunda self-antijen tanımada ve toleransta bozukluk, anormal hücre yüzey moleküllerinin bulunması, Th1/Th2 sitokin profilinin değişmesi, hücresel sitotoksitede ve megakaryositopoezde bozukluk gibi multidisfonksiyonel mekanizmaların rolü üzerinde durulmaktadır (59). Bu mekanizmalardan biri olan “moleküler benzerlik”, farklı genler tarafından üretilen, benzer yapıyı paylaşan molekülleri tanımlamak için kullanılmaktadır (59). Bakteriler ya da virüsler hücresel hasar oluşturarak kendi antijenlerini salarlar. Bu antijenler benzer ancak genetik olarak farklı olan konak antijenleri ile çapraz reaksiyona girerek immun yanıt oluştururlar (60). Örnek olarak çocuklarda görülen su çiçeğine bağlı İTP’de normal trombosit antijenleri ile virüse spesifik antikorlar arasındaki çapraz reaksiyona bağlı trombosit yıkımı verilebilir (61). Bazen çapraz reaksiyon indüksiyonu, sebat eden bir ajana ihtiyaç duymaz ve immun hasar immunojen kaybolduktan sonra da devam eder (59). Bu belki de akut İTP’li çocukların neden sadece az bir kısmında kronikleşmeye gidildiğini açıklayabilir. Kronik İTP’de de viral infeksiyon tetikleyici faktör

olabilir ancak viral infeksiyon asemptomatiktir ya da tanınmamıştır (59).

2.1.3. Genetik

İTP, monozigotik ikizlerde (62) ve bazı ailelerde (63) daha sık bildirilmiş ve aile bireylerinde otoantikör üretimine eğilim saptanmıştır (64).

Genetik polimorfizmler immunoglobulin bağlayan reseptörlerin affinitelerini değiştirmektedir. Fc γ RIIIA polimorfizmleri ile tedaviye yanıtın ilişkili olduğu öne sürülmüştür (65).

İTP’de hangi faktörlerin hastalarda akut veya kronik İTP gelişmesinde rol oynayabileceği, ya da tedaviye vereceği yanıtın göstergesi olabilecek çalışmalar yeni araştırma konularını oluşturmaktadır. Bir çok otoimmün hastalık ile HLA antijenleri arasındaki ilişki bilinmektedir. Kronik İTP’de otoimmunitenin nedeni tam olarak anlaşılacakla birlikte, HLA antijenleri ile antijenik peptitlerin bağlanmasında anormallik de sorumlu tutulmaktadır. Ancak HLA klas I veya DR antijenleri ile kronik İTP arasındaki ilişki ile ilgili çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (66,67,68). Belli etnik gruplarda HLA-Drw2 ve DRB1*0410 allelleri sıklığı İTP’li hastalarda yüksek bulunmuştur (40). Anti-GpIIb/IIIa antikörleri ile DRB1*0410 alleli arasında korelasyon bulunmamış, ancak steroide iyi yanıt veren hastalarda HLA-DR4 ve DRB1*0410 belirgin olarak az saptanmıştır (69). Benzer bulgular Hong Kong’lu Çin’lilerde gösterilememiştir (70). HLA-DRB1*1501 in ise splenektomiye kötü yanıt ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (40). Bu bulgular İTP’de genetik faktörlerin rolünü vurgulamaktadır; ancak etnik farklılıklar da göz önünde bulundurulmalıdır.

İnsan trombosit antijenleri (HPA) sistemleri ile ilgili polimorfizmler ile İTP’li hastalar arasında ilişki araştırılmış ve HPA-5b alleli taşıyanların akut İTP için artmış risk taşıdıkları bildirilmiştir (64,71). Diğer bir çalışmada da kronik refrakter İTP ile HPA-2 arasında ilişki bildirilmiştir (64,72). Ancak bu polimorfizmlerin rolü farklı etnik gruplarda değişkenlik göstermektedir. Bundan dolayı her etnik grubun hastalık için kendi popülasyon çalışmalarını yapmaları gerekir.

2.1.4. Klinik Bulgular

İTP’de klinik görünüm sağlıklı bir çocukta aniden gelişen peteşi ve ekimozlar ile

karakterizedir. Ekimozlar, cildin her yerinde oluşabilir. Büyük ve yüzeysel olanlar özellikle sırt ve kalçada görülürler. Kan alınan yerlerin etrafında, kan travma oluşturmadan alınmış bile olsa dairesel ekimozlar görülebilir; ancak dışarıya genellikle kan sızmaz. Ağız içinde veya diğer mukozalarda hemorajik vezikül veya büller oluşabilir. Diş eti ve burun kanamaları sıktır. Diğer sistem kanamaları, mikroskopik ve makroskopik hematüri, hematemez ve melena gibi gastrointestinal sistem kanamaları, ender olarak orta kulak ve retina kanamaları, ergenlik dönemindeki kız çocuklarında ise menoraji görülebilir. Hastalığın en korkulan komplikasyonu ise kafa içine kanamadır. Vakaların %1'den daha azında serebral kanama ölüm nedenidir (20).

İTP'de kanama bulguları dışında fizik muayene normaldir. Ağır kanama yoksa solukluk görülmez. %10 vakada dalak palpe edilebilir (20,21). Eğer belirgin splenomegali saptanırsa lösemi, SLE, enfeksiyöz mononükleoz, hipersplenizm gibi diğer tanılar düşünülmelidir. Hepatomegali ve lenfadenopati saptanmaz. Ancak enfeksiyona bağlı servikal lenfadenopati görülebilir. Yaygın lenfadenopati varsa öncelikle lösemi tanısı dışlanmalıdır.

Hastaların %50-75'i hafif kanama bulguları ile başvurur. İTP'de çok düşük trombosit sayılarına rağmen, lösemi, aplastik anemi gibi kemik iliğini tutan durumlara, ya da kemoterapi alan hastalara kıyasla daha hafif kanamaların görülmesi İTP'de trombositlerin daha genç, büyük ve hemostatik olarak daha etkili olmasına ve kemik iliği rezervinin mükemmel olmasına bağlanmıştır (21,73,74).

Hastalarda purpurik tip belirtiler görülür. Trombosit sayısı $50.000/mm^3$ 'ün üzerindeyse hafif travmalarda sonra kanama, $10.000-50.000/mm^3$ arasında ise spontan hemoraji, $10.000/mm^3$ 'in altında ise kontrol edilemeyen hemorajiler görülebilir. İTP'de peteşi şeklinde cilt altı spontan kanamaları karakteristiktir. Kırmızı-mor renkte, toplu iğne ucu ile toplu iğne başı büyüklükte, üzeri düz olup, basmakla solmayan peteşiler, en çok vasküler staz olan yerlerde, örneğin turnike yapılan yerin altında, çorap veya kuşak lastiğinin sıktığı yerlerde ayrıca dirsek gibi kemik çıkıntıları üzerindeki cilt bölgelerinde belirgindir. Yüz ve boyunda peteşi genellikle öksürük nedeniyle oluşur.

İTP'li çocuklarda olası kanama riski belirleyicileri arasında trombosit sayısı ($<20.000/mm^3$), fizik aktivite düzeyi, travma, vasküler frajilite, ilaç kullanımı, eşlik eden diğer hastalıklar (von Willebrand hastalığı, vaskülitler, AV malformasyonlar, ateş ve anemi gibi) sayılmaktadır (74). Boyun üzerindeki peteşiler, fundal hemorajiler ve kanamanın aniden başlaması hayatı tehdit eden kanamaların uyarıcı bulgularıdır (74).

Çocuk ve erişkinde İTP'nin klinik bulguları kısmen farklılık göstermektedir. Tipik olarak İTP'li çocuk sağlıklı, iyi görünümlü olup, ani başlayan peteşi ve ekimoz ile hastaneye başvururlar. Sıklıkla tanı sırasında trombosit sayısı $10.000/mm^3$ 'in altındadır. Erişkinlerde ise genellikle sinsi seyretmektedir ve sıklıkla asemptomatik olup tam kan sayımı incelemesi sırasında tesadüfen saptanır (40,75).

2.1.5. Tanı

Çocuk ve erişkinlerde İTP tanısı için öykü, fizik muayene ve periferik kan bulguları ile trombositopeni yapan diğer nedenlerin mutlaka ekarte edilmesi gerekir. İTP tanısında öykü, fizik muayene ve periferik kan yayması incelemesi önemlidir. Periferik kan yaymasında Tablo 3' de belirtilen özelliklerin dikkatle değerlendirilmesi gerekir (76).

İTP tanısı için ölçütler aşağıda sıralanmıştır;

1. Purpura dışında fizik muayene bulgularının normal oluşu, dikkate değer splenomegali ve lenfadenopati bulunmayışı,
2. Trombositopeni dışında periferik kan tablosunun normal olması,
3. Megakaryoblast ve megakaryositlerdeki artış dışında kemik iliği eritroid ve miyeloid seri hücrelerinin normal oluşu,
4. Hipersplenizm, mikroanjiopatik hemolitik anemi, yaygın damar içi pıhtılaşması, ilaca bağlı trombositopeni, sistemik lupus eritematozus gibi durumların bulunmaması.

Tablo 3. İTP'den süphelenilen çocuklarda periferik yayma (76)

İTP tanısı ile uyumlu olan bulgular

1. Trombositopeni (trombositler normal veya normalden biraz büyük hacimde olabilir, ancak eritrosit büyüklüğünde dev trombositler olmamalıdır).
2. Eritrosit morfolojisi normal olmalıdır.
3. Lökositoz veya lökopeni olmamalı, lökosit morfolojisi normal olmalıdır.
4. Akut kanama nedeniyle nötrofili olabilir.
5. Eozinofili ve nadiren lenfositoz olabilir.

İTP tanısı ile uyumlu olmayan bulgular

1. Dev trombositlerin çoğunlukta olması
 2. Eritrositlerde poikilositoz varlığı, şistozitler, polikromazi, makrositler, normoblastlar izlenmesi.
 3. Lökositoz, lökopeni, immatur veya atipik hücreler.
-

Trombositopenisi olan hastaya yaklaşımda özellikle öykü ve fizik muayene primer hemostaz defektini düşündürmüyorsa, öncelikli olarak düşük trombosit sayısının laboratuvar artefaktına bağlı olup olmadığı saptanmalıdır (20,21). Trombositler lökositlere yapışarak trombosit satellitleri denilen kümeler oluşturabilirler.

Kan alınırken trombositlerin aktivasyonuna (20,21), enjektör ya da tüpte trombositlerin agregasyonuna (21), EDTA'ya (etilendiamintetraasetik asid) bağlı trombositlerin in vitro aglütinasyonuna (20,21,77), megatrombositlerin sayılamamasına (20,21,77) ya da trombosit glikoprotein reseptörlerine bağlanan abciximab, eptifibatide, tirofiban gibi monoklonal antikorlara (20,21) bağlı psödotrombositopeni görülebilir.

EDTA'ya bağlı psödotrombositopenide etken, sadece bu antikoagülanın varlığında kriptik trombosit antijenine karşı gelişen IgG ya da IgM yapısındaki antikorlardır (21,77). Sitrat, oxalat ya da heparin gibi farklı antikoagülanlar kullanılarak ya da parmak ve topuktan alınan örneğin periferik yayması incelenerek EDTA'ya bağlı psödotrombositopeni kanıtlanabilir (21).

Psödotrombositopeni görülme sıklığı erişkin hastalarda % 0,9-2'dir ve çocuklarda daha az sıklıkta görülmektedir (21,78). İleri tetkik ve tedavi gerekli değildir. Gerçek trombositopeni gibi kabul edilmesi gereksiz tetkik, tedavi ve maliyete neden olur.

2.1.6. Laboratuvar

Trombosit sayısı $50.000/\text{mm}^3$ 'ün altında, ağır kanama bulguları olanlarda sıklıkla $20.000/\text{mm}^3$ 'ün altında saptanır. MPV ($8,9 \pm 1,5$) normal ya da artmıştır. Flow sitometri ile dolaşımdaki RNA içeriği yüksek genç ve immatür trombositlerin (reticulated platelet) artışının saptanması İTP tanısını destekleyen artmış trombosit üretimini yansıtır (79,80). Ancak rutinde kullanılmamaktadır. Kan sayımında ağır kanama olmadıkça Hb değeri normal saptanır. Enfeksiyon varsa lökositoz, lenfositoz ve atipik hücreler saptanabilir. % 25 vakada hafif eozinofili saptanır.

Tam kan sayımında saptanan trombositopeni, psödotrombositopeniyi megatrombositleri ve diğer hematolojik bozuklukları ayırtetmek için periferik yayma ile doğrulanmalıdır (20). İTP'de trombositopeni dışında anormal bulgu saptanmaz.

Kemik iliği aspirasyonu tanısaldır. Kemik iliğinde megakaryositler sayıca artmış veya

normaldir. Megakaryositler immatur görünümlüdür, nükleer lobulasyon yoktur ve koyu bazofilik sitoplazmaları dağınık görünümlüdür. Miyeloid ve eritroid seriler normaldir. Eozinofili kemik iliğinde de dikkati çekebilir. Ancak bu bulgular mutlaka İTP tanısı için tanısız ve prognostik sayılmamalıdır.

Tanı sırasında kemik iliği aspirasyonu veya biyopsisinin yapılması gerekliliği en çok tartışılan konulardan biridir. Tipik İTP öyküsü, fizik muayene ve kan bulguları olan hastalarda İTP tanısı için kemik iliği incelemesine gerek olmadığı genel olarak kabul edilmektedir (81). Ahmad Z ve ark.'nın 52 yeni tanı almış İTP'li çocuk üzerinde yaptıkları bir çalışmada, hastalara İTP tanısı trombositopeni saptanması, periferik yayma incelemesi, fizik muayene bulguları ve trombositopeni yapan diğer nedenlerin dışlanması ile konmuş, hastalar İTP olarak kabul edildikten sonra kemik iliği aspirasyonu yapılmış, kemik iliği aspirasyonu sonrasında hiçbir hastanın tanısı değişmemiştir (82). Kemik iliği aspirasyon bulguları sadece klinik ile uyumlu ise ve diğer trombositopeni nedenleri dışlandığında İTP tanısı koydurur. Asıl amaç lösemi gibi diğer hematolojik hastalıkların ayırıcı tanısını yapmaktır (20). Tanı konmadan önce verilen steroid tedavisinden önce lösemi tanısını atlamamak için yapılması gerektiğini savunanlar bulunmaktadır (35). Steroid tedavisi lösemi tanısını geciktirir ve prognozu kötü yönde etkiler. Akut lösemnin izole trombositopeni ile prezantasyonu çok nadirdir (<%1). Ancak eğer hastada organomegali, lenfadenopati, kemik ve eklem ağrısı gibi atipik bulgular mevcut ise, ya da tedaviye yanıt yoksa kemik iliği aspirasyonu yapılması gerekmektedir (20,21). Down sendromu olan çocuklarda megakaryoblastik lösemi kendisini trombositopeni ile gösterebileceğinden kemik iliği aspirasyonu yapılması önerilmektedir (83).

Genel olarak İTP'de kemik iliği incelemesinin açıklanamayan anemi, anormal lökosit sayısı veya periferik yayma bulguları varlığında, öykü ve fizik muayenede kemik iliğini tutan hastalıklar düşünüldüğünde, steroid tedavisi verilmeden önce, İVİG tedavisine yanıt alınamamışsa, kronik İTP tanısı almış hastalarda ve splenektomi öncesinde yapılması uygun görülmektedir (40,81,84). Genel olarak tipik İTP öyküsü, fizik muayene ve kan bulguları olan hastalarda İTP tanısı için kemik iliği incelemesine gerek olmadığı kabul edilmektedir (81).

Pıhtılaşma testlerinde kanama zamanı uzamış bulunur. Protrombin zamanı, parsiyel tromboplastin zamanı ve fibrinojen düzeyleri normaldir. Bazı klinisyenler trombositlerin azaldığı, PT ve PTT'nin uzadığı tek klinik durum olan yaygın damariçi pıhtılaşmasını dışlamak için bu testlere başvururlar (85). Ancak klinik olarak bu çocuklar alta yatan hastalığa bağlı olarak hasta görünümlü olduklarından İTP'de bu testlere gerek yoktur.

Cr 51 ile işaretlenmiş trombositlerin yaşam sürelerinin 1-4 saate kadar kısaldığı gösterilmiştir (20). ANA, anti-ds-DNA, Coombs testi, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, monospot ve/veya EBV, HIV, parvovirüs titreleri klinik olarak gerekli ise yapılmalıdır. Atipik bulgular yoksa tanı için minimal laboratuvar değerlendirme önerilmektedir.

Antitrombosit antikoru saptayan testler geliştirildikleri döneme göre 3 gruba ayrılırlar (86). Faz I Testler: 1950–1970 yılları arasında geliştirilmişlerdir. Hasta serumu ile normal trombositlerin inkübe edilmesinin ardından trombosit değişikliklerinin ölçülmesine dayanan testlerdir. Düşük sensitivite ve spesifiteleri nedeniyle günümüzde kullanılmamaktadırlar (87). Faz II Testler: 1970’lerde geliştirilen testlerdir (88,89). Trombosit spesifik IgG ya da trombositlerin membranına yapışık nonspesifik IgG olup olmamasından bağımsız olarak trombositlerin yüzeylerindeki total IgG’yi PAIgG (Platelet-associated Ig) ölçmektedirler. 1980’lerde PAIgG’nin, İTP dışında immun olmayan trombositopenilerde de arttığına gösterilmesi neticesinde sensitif (%90) olmasına rağmen spesifik olmaması (<%30) nedeni ile tanısız önemlerini yitirmişlerdir (21,22,46,87,90,91). Faz III Testler: 1980’lerin ortalarında geliştirilen testlerdir (93,94). Trombosit glikoproteinlerine spesifik antikoru ölçerler. İmmunoblot analizi, immunopresipitasyon ve glikoprotein immobilizasyon olmak üzere üç gruba ayrılırlar (87). Sensitiviteleri %47-60, spesifiteleri ise % 78-92’dir (92,95). Yeni gelişen tekniklere rağmen hastaların %20’sinde antikor saptanamaz (20). Yüksek sensitiviteye sahip güvenilir testler olmadığı için antitrombosit antikoru rutinde kullanılması önerilmemektedir (20,21,81).

2.1.7. Ayırıcı Tanı

İTP’ de trombositopeni yapan diğer bütün nedenler ayırt edilmelidir. Dalağın çok fazla büyümüş olması primer karaciğer hastalığına bağlı konjestif splenomegaliyi, lipidozları veya retikuloendotelyozları düşündürmelidir. Anemi, lökositoz, lökopeni veya anormal lökosit morfolojisi varlığında akut lösemi, lenfoma, aplastik anemi, miyelodisplazi ve metastatik hastalıkların ayırımı için kemik iliği aspirasyonunun değerlendirilmesi gerekir. Hemoliz varlığında periferik yaymada mikroanjiopatik değişiklikler (trombotik trombositopenik purpura, hemolitik üremik sendrom, yaygın damar içi pıhtılaşması, protez kalp kapakları) ve ilave olarak klinik, biyokimyasal, koagülasyon testleri (PT, PTT, kanama zamanı, fibrinojen, fibrin yıkım ürünleri vb.) anormallikleri tespit edilebilir (2,10,32,81,95).

Detaylı bir aile öyküsü ile kalıtsal nonimmün trombositopeni nedenleri elimine edilmelidir. Öyküde küçük yaştan itibaren mukokütanoz kanama öyküsü alınıyorsa ailesel trombositopeniler (May-Hegglin, Sebastian sendromu vb), tip2 vonWillebrand hastalığı ve Wiskott-Aldrich sendromu ayırıcı tanıda hatırlanmalıdır. Üç aydan küçük çocuklarda pasif kazanılmış otoimmün ve alloimmün trombositopeniler akılda tutulmalıdır (32,96,97).

Diğer birçok ateşli bakteriyel enfeksiyonlara bağlı olarak da trombositopenin gelişebileceği akıldan çıkarılmamalıdır. Dikkatli öykü ve fizik muayene ile ve şüphelenilen enfeksiyona yönelik laboratuvar çalışmalarıyla ayırıcı tanıya gidilmelidir. HIV enfeksiyonu olan hastaların %5-10'unda trombositopeni virusun ilk bulgusu olabilir. HIV ilişkili trombositopenide antikorların çoğu İTP'de olduğu gibi GpIIb/IIIa'ya karşı gelişir. Tedavi İTP'li çocuklarda olduğu gibidir. Zidovudin antiviral tedavisi ile %40-60 hastada kalıcı trombosit yüksekliği elde edilir. Steroid, İVİG veya splenektomiye cevap alınabilir, ayrıca spontan remisyon olasılığı da mevcuttur (98). Trombositopeniye sebep olan çok sayıdaki faktörleri ekarte etmek zahmetli ve zordur. Klasik İTP ile uyumlu olmayan bulguların varlığında ve dirençli kronik İTP olgularında uygun laboratuvar çalışmalarıyla ayırıcı tanıya gidilmelidir. İTP'nin ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken hastalıklar Tablo1'de belirtilmiştir.

Trombositopeni ile nutrisyonel anemiler arasında da ilişkiler mevcuttur. Demir eksikliği anemisinde ve B12 vitamini ile folat eksikliğine bağlı megaloblastik anemide trombositler seride belirgin etkilenmeye bağlı olarak trombositopeni gelişebilir (52,99).

Trombositopeni etyolojisinde hastanın ilaç alımı iyi sorgulanmalıdır. İlaça bağlı trombositopeniler, trombositler üzerine ilacın direkt toksik etkisiyle veya ilacın megakaryositlere zarar vererek trombosit yapımını azaltmasıyla ortaya çıkar. İlaça bağlı trombositopenideki immün mekanizma ilacın veya metabolitlerinin bir makromoleküle veya trombosit zarına absorbe olmasıyla ortaya çıkar. Bu bileşim antijenik bir kompleks gibi etki göstererek antikor yapımını uyarır. Böylece oluşan immün-kompleks trombosit yüzeyini bozarak veya doğrudan trombositte hasar yaparak, bu trombositlerin RES tarafından parçalanmasına yol açar (32,81). Daha çok erişkinlerde rastlanılan bir durumdur. Bununla birlikte çocuklarda kullanılan bazı ilaçlar da trombositopeniye neden olabilir (Tablo 4) (20).

Tablo 4. İmmun trombositopeni yapan ilaçlar (20)

-
1. Analjezik ve antiinflamatuvar ilaçlar: Asetaminofen, ibuprofen, indometasin, asetil salisilik asit, sulfasalazin, diklofenak, meklofenat, mefenamik asit, fenilbutazon, naproksen.
 2. Antibiyotikler: Antitüberküloz ilaçlar (etambutol, isoniazid, rifampisin, streptomisin) Penisilinler (ampisilin, metisilin, piperasilin vb.), sefalosporinler (seftazidim, sefalotin) sülfonamidler, amfoterisin B, klaritromisin, sodyum stiboglukonat, gentamisin, flukonazol, vankomisin, siprofloksasin, pentamidin, novobiosin.
 3. Antineoplastik ilaçlar: Aktinomisin D, aminoglutetimid.
 4. Antikonvülzanlar, sedatif ilaçlar ve antidepresanlar: Fenitoin, valproik asit, lityum, diazepam, karbamazepin, mianserin, haloperidol.
 5. Antihipertansifler ve kardiyak ilaçlar: Asetazolamid, amiodaron, kaptopril, metil dopa, hidroklorotiazid, klorotiazid, digoksin, digitoksin, furosemid, klortalidon, prokainamid, spiranolakton.
 6. H₂ reseptör antagonistleri: Simetidin, ranitidin.
 7. Diğer: Kinin, kinidin, danazol, desferrioksamin, minoksidil, heparin, etretinat, interferon- α , klorfeniramin, antazolin, klorpropamid, iyotlu kontrast ajanlar, altın tuzları, levamisol, lidokain, morfin, papaverin, tiklopidin, glibenklamid, isotretinoin.
-

2.1.8. Tedavi

2.1.8.1. Destek Tedavisi

Hastalığın aktif olduğu dönemde hem hasta yakını hem de doktoru en çok endişelendiren, düşük olasılık olsa da başta kafa içi kanama olmak üzere, hayatı tehdit eden şiddetli kanama riskinin varlığıdır. Bu nedenle hastaların istirahat etmesi, gereksiz travma oluşturacak aktivitelerden uzak durması, nonsteroid antiinflamatuvar ve antiagregan ilaçlardan, intramüsküler enjeksiyonlardan kaçınılması gerekmektedir. Aşırı kanama durumlarında ise taze tam kan veya eritrosit süspansiyonu ve gerektiğinde spesifik tedavi ile birlikte ciddi trombosit süspansiyonu verilmelidir (32,81,83,98).

2.1.8.2. Spesifik Tedavi

Son 20 yılda, birçok çalışma çocukluk çağı otoimmün ya da idiopatik trombositopenik purpurada çeşitli geniş tedavi yöntemlerinin etkinliği arttırdığını göstermiştir. Birçok hematolog trombosit sayısına bakmaksızın hayatı tehdit edici kafa içi kanama veya gastrointestinal kanaması olan akut İTP'li hastalarda hızlı tedavi yapılması konusunda fikir birliği etmiştir. Hematologların şüphede kaldığı hastalar peteşi, küçük purpura veya trombosit sayısının $10.000/\text{mm}^3$ 'ün altında olduğu gruptur (81). Ancak çocuklarda akut İTP'nin tanı sırasındaki ilk tedavisi halen tartışmalıdır. Bir çok doktor düşük trombosit sayısından endişe eder, fakat çocukların çoğu 6-8 hafta içinde spontan olarak remisyona girer ve sadece kütanoz ya da hafif kanamaları vardır. Trombosit sayısını yükseltmek için tedavi vermek, derin trombositopeninin olduğu zamanlarda bile ($<10.000/\text{mm}^3$) her zaman gerekli değildir. Az miktarda trombosit oldukça etkili fonksiyon gösterebilir. Kemik iliği yetmezliklerinin neden olduğu ağır trombositopeninin tersine, İTP' de ciddi kanama nadirdir (36,83). Yine de kafa içi kanama ve fiziksel aktiviteye bağlı beklenmedik kanama korkusu tedavi kararını etkilemektedir. Literatürde bildirilen bir çalışmada 20 kafa içi kanama olgusu incelendiğinde hepsinin trombosit sayısının $20.000/\text{mm}^3$ 'ün altında olup, %80'inde $10.000/\text{mm}^3$ 'ün altında olduğu, sekizinde travma, arteriovenoz malformasyon (AVM) ve aspirin alımı gibi risk faktörlerinin bulunduğu saptanmıştır (81)

Kıtalar arası pediatrik İTP çalışma grubunun yaptığı bir araştırmada Haziran 1997-Mayıs 2000 yılları arasında 38 ülkeden 136 merkeze başvuran 1496 hastanın değerlendirilmesi sonucunda sadece 2 hastada kafa içi kanama ortaya çıktığı, hastaların %31'nin sadece izlendiği, %29'unun İVİG, %33'ünün kortikosteroid ve %7'sinin İVİG + kortikosteroid tedavisi aldığı görülmüştür (36).

Söker ve ark. yaptığı bir çalışmada ise 1991-1998 yılları arasında 104 akut İTP'li çocuk hastanın izleminde 41 hastada (%39) spontan remisyon geliştiği bildirilmiş, 29'una (%28) İVİG, 21'ine (%20) standart doz oral prednizolon, 12'sine (%11) yüksek doz metilprednizolon tedavisi uygulanmışken, 1 hasta başvuru esnasında kafa içi kanama nedeniyle hayatını kaybetmiştir (100). Bu nedenle trombosit sayısı $20.000/\text{mm}^3$ 'ün altında ve kanamayı kolaylaştırıcı faktör (kanamaya eğilim, travma, ilaç kullanımı, hiperaktivite) varsa hayatı tehdit eden kanamaların ortaya çıkabileceği düşünülmektedir.

Amerikan Hematoloji Birliği (ASH) tarafından 1996'da yayınlanan kılavuza göre

tedavi kararı semptomlardan ziyade trombosit sayısına dayandırılmıştır. Trombosit sayısı 30.000/mm³ üzerinde ve minör purpurası olan hastalarda tedavi verilmesinin gereksiz olduğu belirtilmiş, trombosit sayısı 20.000/mm³'ün altında ve yaygın mukozal kanaması olan hastalar ile trombosit sayısı 10.000/mm³ ve minör purpurası olan hastaların steroid, IVIG ya da anti-D ile tedavi edilmeleri önerilmiştir (81).

İngiliz Hematoloji Birliği (BSH) tarafından yayınlanan kılavuzda ise tedavi kararının sadece trombosit sayısına göre değil klinik bulgular dikkate alınarak verilmesi gerektiği savunulmuştur (101). BSH tedavide ilk seçenek olarak steroidlerin tercih edilmesini, İVİG tedavisini daha ciddi kanama bulguları olan hastaların acil tedavilerine saklamayı önermektedir. Sutor ve ark.(35) tarafından Almanya'da yapılan çalışmada da BSH'nin önerileri desteklenmiştir.

İlk tanıda steroid tedavisine yanıt alınamayan ya da trombositopenisi tekrarlayan hastalarda uygulanabilecek diğer tedavi protokolleri Rh(+) ve splenektomi uygulanmamış hastalarda anti-D, splenektomi ve son seçenek olarak da kemoterapidir. Splenektomiye yanıt %80'den fazla hastada alınmakta ve bunların %50-75'inde ek bir tedaviye gerek duyulmamaktadır (96,102,103).

2.1.8.2.1 Kortikosteroidler

Kortikosteroidler İTP'de trombosit sayısını arttırdığı gösterilen ve tedavide kullanılan ilk ilaçtır (20-24).

Steroidlerin aşağıdaki mekanizmalarla etkili olduğu kabul edilmektedir (19).

1. Antikor kaplı trombositlerin dalakta fagositozunu inhibe ederek trombosit yaşam süresinin uzamasını sağlamak,
2. Antitrombosit antikorların yapımını inhibe etmek,
3. Kapiller stabiliteyi arttırarak trombositopeniye bağlı endotelial bozukluğu düzeltmek ve kanamayı azaltmak (kanama belirtileri daha erken kaybolur).

Kortikosteroidlerin İTP'nin süresi üzerine etkisi olmamakla birlikte trombosit sayısının daha hızlı biçimde, daha emniyetli bir düzeye yükseltebildiği bilinmektedir. Steroidler düşük dozda (prednizolon 0.1 mg/kg/gün) verildiğinde vasküler stabiliteyi arttırır. Tam dozda verildiğinde ise (2 mg/kg/gün, maksimum 60-80 mg/gün) yukarıda belirtilen etkileri gösterir ve bu etkileri 12. günde en yüksek düzeye ulaşır.

Kortikosteroidler ile farklı doz ve tedavi süresi öneren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (100,104,105,106).

1. Prednizolon 2 mg/kg/gün, 14-21 gün ve son 7 günde azaltılarak kesilir (ağız yolundan).
2. Prednizolon 60 mg/m²/gün maksimum doz 80 mg/gün, 21 gün ve son 7 günde azaltılarak kesilir (ağız yolundan).
3. Prednizolon 4 mg/kg/gün 7gün (maksimum 180 mg/gün), 2 mg/kg/gün 7 gün, sonraki 7 günde azaltılır (ağız yolundan).
4. Metilprednizolon 10-30 mg/kg/gün (maksimum 1gr/gün ağız yolundan veya iv infüzyon) (Birçok klinikte ilk üç gün 30 mg/kg/gün ve sonraki dört gün 20 mg/kg/gün).
5. Deksametazon 20 mg/m²/gün veya 40 mg/gün, ayda bir kez dört gün, 6 ay boyunca (ağız yolundan).
6. Deksametazon 4 mg/kg/gün, dört gün boyunca (bu tedavinin trombosit sayısını İVİG kadar hızlı arttırdığı gösterilmiştir) (106).

Steroidlerle ilgili son çalışmalarda, özellikle orta veya yüksek dozlarda ve kısa süreli tedavilerle, hem steroidlerin toksik etkilerinden sakınmak, hem de güvenli trombosit sayısına daha hızlı bir şekilde ulaşmak hedeflenmektedir ve yapılan son klinik çalışmalar da bunu desteklemektedir (106,107,108). Söker ve ark. çalışmasında akut İTP'li 104 çocuk hastada verdikleri tedaviye cevap oranları standart doz oral steroid için (%76), yüksek doz metilprednizolon için (%91) ve İVİG için (%86) bulunmuştur ve yüksek doz steroidin ilk seçenek olabileceği ifade edilmiştir (100).

Steroidlerin uzun süreli (1 aydan uzun) ve tekrarlayan dozlarda kullanımında istenmeyen yan etkileri ortaya çıkar. Steroidler hiperglisemi, büyüme geriliği, osteoporoz, kilo alımı, sıvı retansiyonu, hipertansiyon, katarakt, akne, kuşingoid yüz gelişmesi, davranış değişiklikleri ve uykusuzluğa yol açabilir (20,22).

2.1.8.2.2. İntravenöz immunglobulin (İVİG)

İlk kez İmbach 1981'de disgamaglobulinemi için tedavi alan erkek çocuklarda infüzyondan sonra trombosit sayısının arttığını gözlemlemiştir (109). Bu çocuklarda ve yetişkinlerde İVİG tedavisinin yaygınlaşmasına ön ayak olmuştur. İmbach'ın makalesi yayınlandıktan sonra, tedavide önce kemik iliği aspirasyonu gerekmediğinden ve doktorlar steroidin yan etkilerinden çekindiğinden İVİG tedavisi hızla yayıldı.

Etki mekanizması:

1. Genelde retiküloendotelial hücrelerdeki Fc reseptörlerini bloke ederek trombositlerin fagositozla yıkımını inhibe eder.
2. İTP'de IL-4, IL-2, IL-10, TNF ve IFN- γ 'nın arttığı ve İVİG'in FcR taşıyan monosit ve lenfositlerden sitokin serbestleşmesini etkilediği gösterilmiştir (54, 110-112).
3. Anti-idiotipik antikor içermesi nedeni ile dolaşımdaki anti-GpIIb/IIIa antikorları bağlayarak da etki gösterir.
4. Ayrıca otoantikorları yapan B hücrelerinin supresyonunu yapar çünkü B hücreleri yüzeylerinde aynı idiyotipleri eksprese ederler. Anti-idiotipik antikor sekresyonunun supresyonu İVİG'in uzun dönem etkisidir ve İTP'nin uzun vadede düzelmesine neden olmaktadır (110-113).

İVİG tedavisinde de farklı rejimler kullanılmıştır; 400 mg/kg/gün beş gün ve 1 gr/kg /gün iki gün olmak üzere toplam 2 gr/kg dozda kullanıldığı gibi, daha düşük dozlarda da (800 mg/kg tek doz ya da 250 mg/kg/gün 2 gün) başarılı bir şekilde kullanılabilir (20,21,81). İVİG tedavisi ile vakaların %95'inde 48 saat içinde trombosit sayısında belirgin artış saptanır. Etki süresi yaklaşık 2-4 hafta kadardır (21).

Yapılan çalışmalara göre standart doz steroidlere ve anti-D tedavisine göre trombosit sayısını daha hızlı yükselttiği gösterilmiştir. Ancak etkisinin yüksek doz steroid tedavisinden hızlı olmadığı bildirilmiştir (81,105).

İVİG tedavisinin geçici ancak sık görülen yan etkileri baş ağrısı, bulantı, ateş, aseptik menenjit, anaflaksi, hemolitik anemi, viral enfeksiyon bulaşma riskidir (22,54,83,96).

2.1.8.2.3. Anti-D

Anti-D immunglobulin, spesifik olarak eritrositlerdeki D antijenlerine bağlanan poliklonal bir immunglobulindir. İTP'de antikorla kaplı eritrositlerin dalak tarafından öncelikle tutulması, trombositlerin klirensini azaltmakta ve trombosit sayısının yükselmesine neden olmaktadır. Anti-D Rh(+) ve splenektomi yapılmamış hastalarda kullanılabilir. Antikor bağlı eritrositlerin dalakta yıkılması, anti-D tedavisinin splenektomili hastalarda başarılı olmamasını açıklayabilir (96,114,115). Anti-D ile trombosit sayısında artış İVİG kadar hızlı değildir. Trombosit sayısında artış genellikle 48 saat sonra başladığından acil tedavide yeri yoktur (20). Splenektomi yapılmamış İTP hastalarında 25-75 μ g/kg arasında değişen

anti-D dozları tek doz halinde veya 4-5 gün içinde uygulanabilir. Etkisi 1-5 hafta kadar sürer. Anti-D tedavisi ile hastaların %79-90'ında trombosit sayısında artış sağlanmıştır. İTP'li çocuk hasta grubunda oral steroid, İVİG ve anti-D tedavilerinde trombosit yanıtlarının oluşma süreleri karşılaştırıldığında, trombosit sayısında ilk 72 saat içindeki 20.000/mm³'ün üzerindeki artışlar, İVİG kullanan hastalarda %97, anti-D kullanan hastalarda %82, steroid kullanan hastalarda %79 oranında gözlenmiştir (105,114). Bu klinik çalışmalarla anti-D'nin İTP'li çocuklarda etkin olduğu, ancak etkisinin İVİG kadar hızlı olmadığı, özellikle kronik İTP'li çocuklarda splenektomiye geciktirebileceği bildirilmiştir (114-116).

Anti-D tedavisine bağlı yan etkiler: ateş, baş ağrısı, bulantı gibi hafif olanlarla, direkt Coomb's testinin pozitifleştiği ekstravasküler hemolize bağlı anemi, ciddi hemoglobulinüri ve renal yetmezlik bildirilmiştir (117). Genellikle hemoliz ekstravaskülerdir. İnvasküler hemolize bağlı böbrek yetersizliği de bildirilmiştir.

Akut İTP'li çocuklarda kullanılan steroid, İVİG ve Anti-D'nin etki mekanizmalarının karşılaştırılması tablo 5'de sunulmuştur (20).

Tablo 5. İTP'de steroid, İVİG ve Anti-D'nin etki mekanizmalarının karşılaştırılması (20)

Etki	Steroid	İVİG	Anti-D
1. Kapiller rezistansın sağlanması	+	-	-
2. Retiküloendoteliyal blokaj	+/-	+	+
3. Trombosit antikorların bağlanması	+	+/-	-
4. Fc reseptör bağlanmasının azalması	+	+	+/-
5. T hücre baskılanması	+	+	-
6. İmmunoglobulin sentezi	↓	↓	N/ ↓
7. Sitokin üretimi	↓	↓	N

2.1.8.2.4. Splenektomi

RES'in önemli bir parçası olan dalak, hem antikor sentez yeridir, hem de antikorla bağlanmış trombositlerin fagositozla uzaklaştırılmasında İTP patogenezinde önemli bir role sahiptir. Dolayısıyla splenektomi sonucunda hem antikor sentezi, hem de trombosit fagositozu

azalmakta ve trombosit sayısında artış görülmektedir (34,81). İTP tedavisinde steroidler kullanıma girmeden önce uygulanan ilk tedavi yöntemi splenektomiydi. Tedaviye yanıt vermeyen erişkin hastalarda sıklıkla uygulanmasına karşın, çocuklarda daha az sıklıkla uygulanmaktadır. Özellikle 5 yaşın altında splenektomi sonrası fulminan sepsis riski (5 yaş altındaki çocuklarda mortalite %3-11), kafa içi kanama (mortalite %0.2-1.2) riskinden fazladır. Aynı zamanda, kanama, anesteziye bağlı komplikasyonlar, erken dönem postoperatif enfeksiyon gibi riskleri de mevcuttur (34,54). Bu nedenle çocuklarda splenektominin mümkün olan en geç dönemde yapılması önerilmektedir. Bir yıldan uzun süren kronik İTP'li hastalarda kanama şikayeti varsa, trombosit sayısı 10.000/mm³'ün altında olan 3-10 yaşları arasındaki çocuklara ve trombosit sayısı 10.000-30.000/mm³ olan 8-12 yaşları arasındaki çocuklara splenektomi önerilmektedir (81). Ayrıca primer tedaviye (kortikosteroid, İVİG, anti-D) sadece geçici olarak yanıt veren, kontrol edilemeyen kanamaları olan ve cerrahi kontrendikasyonu olmayan hastalarda splenektomi endikasyonları mevcuttur. Yaşamı tehdit eden kanamalar haricinde elektif şartlarda splenektomi yapılmalıdır (2,81). Elektif şartlarda kanama riskini azaltmak için operasyon öncesi trombosit sayısının yükseltilmesi gereklidir. Bunun için trombosit sayısı 10.000/mm³'ün altındaysa İVİG, intravenöz kortikosteroid, anti D kombine tedavisi; trombosit sayısı 10.000-30.000/mm³ arasında ise İVİG tavsiye edilmektedir. Bu hastalara operasyondan en az iki hafta önce polivalan Pnömonokok, Hemofilus influenza tip B ve quadrivalan Meningokok aşılı uygulanmalı ve splenektomi sonrası penisilin profilaksisi verilmelidir. Tedavinin başarısı açısından operasyon öncesi abdominal ultrasonografi ile aksesuar dalak ekarte edilmelidir (1,72,81,96).

Hastaların %70-80'inde splenektomi ile trombositopeni düzelmektedir (81). Splenektomiden sonraki 1-2 haftada trombosit sayısı maksimuma ulaşır ve 1-2 ayda normale iner. Splenektomi sonrası pik trombosit sayısının 500.000/mm³'ün üzerinde olması hastada remisyon olabileceğini düşündürür. Splenektomiye yanıt alınmayan vakalarda %40 oranında görülebilen aksesuar dalak varlığı araştırılmalıdır. Howell-Jolly cisimciği (nükleer kromatin artıkları) varlığı, aksesuar dalak olasılığın ortadan kaldırmayacağı için radyonüklid incelemeler yapılmalıdır (21,22).

Kliniğimizde 10 yıllık takip süresinde sadece bir İTP hastamıza splenektomi yapılmıştır.

2.1.8.2.5 Diğer Tedavi Seçenekleri

Diğer immunolojik hastalıklarda olduğu gibi İTP fizyopatolojisi ile ilgili yapılan çalışmalar ve bunun üzerine kurulan tedavi modelleri son çeyrek asırda çok sayıda tedavi ajanlarının kullanımına veya denenmesine yol açmıştır (40,96,118,119,120). Vinka alkaloidleri (vinkristin, vinblastin), danazol, siklofosamid, azatiopürin, siklosporin, α -interferon 2b, dapson, kolşisin, epsilon-aminokaproik asit, rekombinant faktör VIIa, rituximab çocuklarda nadiren kullanılması gereken tedavi seçenekleridir. Bu ilaçlar steroidler ve İVİG tedavisine, ya da splenektomiye yanıt alınmayan, splenektominin kontrendike olduğu ve kanama semptomlarının eşlik ettiği refrakter trombositopenili hastalara saklanmalıdır (21).

Antitrombosit antikolar transfüzyonla verilen trombositlerin kısa sürede yıkımına neden olacağından trombosit transfüzyonu sadece hayatı tehdit eden ağır kanamalarda ve acil splenektomiden önce kullanılmaktadır.

2.1.8.2.6 Hayatı tehdit edici kanama ile gelen hastalarda tedavi

1. Trombosit transfüzyonu: Normalin 2-3 katı dozda verilir. Ağır, persistan kanamalarda sürekli infüzyon (1 ünite/saat) şeklinde de verilebilir (40,121).
2. Metilprednizolon 500 mg/m²/gün ya da 30 mg/kg/gün iv 20-30 dakikada 3 gün
3. İVİG 2 gr/kg: Trombosit transfüzyonu ve metilprednizolon ile birlikte ya da takiben başlanmalıdır. Bu tedavi seçenekleri tedaviye yanıt ve klinik duruma göre tekrarlanabilir. Dirençli vakalarda Vincristin 2 mg/m² iv kullanılabilir (20).
4. Acil splenektomi: Medikal tedaviye yanıt yoksa ya da kafa içi kanamada kraniyotomi yapılacaksa, birlikte splenektomi de yapılır.

2.1.9. Komplikasyonlar

Kafa içi kanama İTP'nin en çok korkulan komplikasyonudur. Görülme sıklığı %0,1-0,5 arasındadır (20,21,122). Eski literatürlerde daha sık görüldüğü bildirilmekle beraber, bunun yaygın damar içi pıhtılaşması (DIC), hemolitik üremik sendrom, vaskülitler, hemorajik ensefalit gibi daha ciddi hastalıkların yanlılıkla İTP tanısı almış olmasına (122,123) ve sık aspirin kullanımına (122) bağlı olduğu düşünülmektedir. Eski veriler tekrar incelendiğinde bu

vakaların İTP tanı kriterlerine uymadığı saptanmıştır (124).

Kafa içi kanaması olan hastaların % 73'ünde trombosit sayısı 10000/mm³'ün altında ve %25'inde 10.000-20.000/mm³ arasında olduğu saptanmıştır (20). Vakaların çoğunluğunda (%51) tanıdan sonraki ilk 4 hafta içinde meydana geldiği görülmüştür (20,85,123). İlk hafta görülme sıklığı % 0,1-0,2 iken daha sonra sıklığın %1'e yükseldiği bildirilmiştir (39). Kanama, vakaların %77'sinde intraserebral (%87 supratentorial, %13 posterior fossada) kanama şeklindedir. %23'ünde ise subdural hematoma görülür (20). İTP'de tedavinin kafa içi kanamayı önlediğine dair kanıt bulunmamaktadır (21,40,54,123). Hastaların %50'sinde tedavi sonrasında kanama görülür (20). Kafa içi kanama gelişimi için 20.000/mm³'ün altında trombosit sayısı yanında, vakaların çoğunluğunda kafa travması (%29), aspirin tedavisi (%5) ve arteriyovenöz malformasyon (%17) gibi eşlik eden risk faktörlerinin bulunduğu saptanmıştır (20,21) .

2.1.10.Relaps

Çocukların yaklaşık % 25'inde ilk tedavinin ardından, birkaç hafta sonra trombosit sayısında tekrar düşme (relaps) gelişmektedir (21,40,105,125). Trombosit sayısını güvenli düzeyde tutabilmek amacıyla steroidler, İVİG ya da anti-D tedavilerinden biri tekrar verilir.

2.1.11.Prognoz

İTP tanısı alan hastaların %50'si bir ay içinde, %70-80'i altı ayda düzelir (20). Tanıdan sonraki 15 yıl içinde spontan remisyon gelişme olasılığının kronik İTP'de %61 olduğu bildirilmiştir (126). Kronikleşmeyi belirleyici faktörler sinsi başlangıç (semptomların ≥ 2 hafta olması), kız cinsiyet ve 10 yaşından büyük olmadır (20,21). Ayrıca yapılan çalışmalarda başlangıç trombosit sayısının daha yüksek olmasının (127,128), öncesinde enfeksiyon öyküsünün olmamasının da (126,128) bu faktörler arasında olduğu bildirilmiştir. Kronik vakaların bile %50-60'ı tedavisiz stabil seyretmektedir (20).

2.2. Serbest Oksijen Radikalleri

2.2.1. Tanım

Serbest radikaller dış orbitallerinde tek sayıda ortaklanmamış elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisi ile de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeni ile çok aktif yapıları olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir (129).

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikal oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir. Fakat organizmada oksijen türevi serbest radikaller dışında karbon ve kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır (130,131).

Oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3'ü tam olarak suya dönüşmez, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali oluşur (132).

2.2.2. Serbest Radikaller Nasıl Oluşur

Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir (133,134). Bu işlemde oksijen, elektron transport zincirinde direkt basamaklar halinde suya indirgenmektedir. İndirgenme sonucunda her bir basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır. Kontrollü enflamatuar reaksiyonun bir parçası olan fagositler tarafından oluşturulabilmekte, bazen iyonize radyasyon, ultraviyole ışığı, hava kirliliği, sigara dumanı, hiperoksi, fazla egzersiz ve iskemi nedeniyle de serbest radikaller meydana gelebilmektedir (133,135,136).

Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşmaktadır (137).

1. Kovalent bağlı radikal olmayan bir molekülün bağlarının koparılması sonucu iki ayrı radikal oluşumu ile.
2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün bölünmesi ile.
3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile.

Serbest radikallerin en dış yörüngesindeki çiftleşmemiş elektron, sonuç olarak oluşan serbest radikalın yükünü değiştirmez. Elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü, nötral, organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler.

En önemli serbest oksijen radikalleri O_2^- (süperoksit) radikali, H_2O_2 (hidrojen peroksit), OH^- (hidroksil radikali) ve singlet oksijendir. Bunların dışında $HOCl$ (hipoklorid), ROO (peroksil radikali), $RCOO$ (organik peroksit radikali), HO_2^- (perhidroksil radikali), RO (alfoksil radikali) gibi reaktif oksijen türevleri sayılabilir.

Sonuçta serbest radikaller erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın etyopatogenezinde suçlanmaktadır (138-140).

Reaktif oksijen radikallerinin kaynakları tablo 6'da sunulmuştur.

Tablo 6. Reaktif Oksijen radikallerin kaynakları (141)

Endojen Kaynaklar

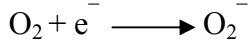
1. Otoksidasyon: Aerobik metabolizmadan kaynaklanırlar, süperoksit primer oluşan radikaldir.
2. Enzimatik oksidasyon: Birçok enzim sisteminin ürünü olarak oluşabilirler.
3. Subsellüler organeller: Mitokondri, mikrozomlar, peroksizom ve çekirdek gibi organeller oksijen oluşturabilirler. Mitokondri hücrelerdeki esas indirgenmiş oksijen kaynağıdır.
4. Respiratuar patlama: Fagositik hücrelerin, fagositoz esnasında fazla miktarda oksijen tüketmesidir.
5. İskemi reperfüzyon hasarı.
6. Geçiş elementlerin iyonları: Bakır ve demir, serbest radikal hasarının oluşumunda ve lipid peroksidasyonunu kolaylaştırmada rol oynar.

Ekzojen Kaynaklar

1. İlaçlar (Bleomisin, antrasiklinler, metotreksat, nitrofurantoin, penisilamin, sülfasalazin vb.)
 2. Radyasyon: Elektromanyetik veya partiküler radyasyon, kendi enerjilerini su gibi hücresel komponentlere transfer ederek radikal oluştururlar.
 3. Sigara: Aldehitler, epoksitler, peroksitler gibi gaz yapısında çok sayıda oksidan madde içerir.
 4. Gazlar: Ozon güçlü bir oksidan maddedir. İn vitro lipid peroksidasyonuna yol açar.
 5. İnorganik partiküller: Asbest, slika gibi tozların inhalasyonu serbest radikal oluşumuna yol açabilir.
-

2.2.3. Süperoksit Radikali (O_2^-)

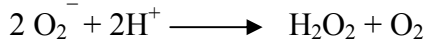
Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile kararsız bir yapı olan O_2^- radikali oluşur.



H_2O_2 kaynağı olup canlılarda oluştuğu ilk gösterilen serbest radikal türevidir. Hücre dışı ortamda endotel hücreler, lenfositler, trombositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından normal hücre sel reaksiyonlar sonrası ortaya çıkan zayıf bir oksidan olan O_2^- 'nin kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir (142). Ancak süperoksit, radikalleri oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkileri ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilebilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatabilmektedir (133,134,138,143).

2.2.4. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Oksijenin dismutasyonu ya da oksijenin doğrudan indirgenmesiyle oluşur.



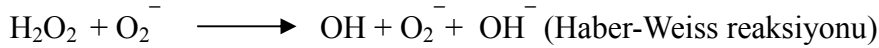
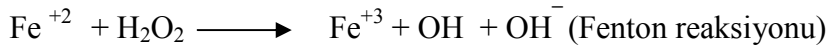
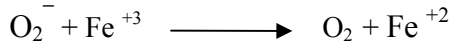
Yağda çözünebilir, böylece membranlardan kolaylıkla geçebilir. En güçlü yükseltgeyicilerdendir. Su ortamında birçok inorganik iyonu yükseltgeyebilir ya da indirgeyebilir (144).

Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden dolayı radikal özelliği taşımaz, reaktif bir tür değildir. Fakat geçiş metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin ana kaynağı olması nedeniyle önem taşımaktadır (137).

2.2.5. Hidroksil Radikali (OH^-)

En tehlikeli reaktif oksijen radikali. Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılmaktadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir (133,134,145). Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorbe

edilmekte ve radyasyon, oksijen ile hidrojen arasında kovalent bağa neden olmaktadır. H₂O₂'nin UV ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir. Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle hücum ederek hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmektedir (146). Özellikle, araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, "lipit peroksidasyonu" olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (133,134).



2.2.6. Singlet Oksijen (O₂^{↑↓})

Oksijenin uyarılmış şekline 'singlet oksijen' denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (134). Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (133,134,147,148).

2.2.7. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu enflamasyon, radyasyona maruz kalma ve yaşlanma gibi durumlarda artar. Normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı (PO₂) ve ozon, azot dioksit gibi kimyasal maddeler ya da bazı ilaçların etkisiyle de artar.

Yüksek konsantrasyonlardaki ROS'nin proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi hücre yapıları üzerine zararlı etkileri olabilir (149,150).

Artmış reaktif oksijen türlerinin vücuttaki zararlı etkileri Tablo 7'de özetlenmiştir.

Tablo 7. Artmış reaktif oksijen türlerinin vücuttaki zararlı etkileri (149,150)

1. Hücre organelleri ve membranında bulunan lipid ve proteinlerin yapısını bozmak
2. Hücre içi yararlı enzimleri etkisizleştirmek
3. DNA'yı tahrip etmek
4. Mitokondride aerobik solunumu bozmak
5. Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidaz, indolamin dioksigenaz, triptofan dioksigenaz ve galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktive etmek
6. Hücrenin potasyum kaybını arttırmak
7. Trombosit agregasyonunu arttırmak
8. Dokularda makrofajların toplanmasını kolaylaştırmak
9. Hücre dışındaki kollagen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkmak

2.2.7.1. Membranların lipid peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonuna yol açan serbest radikaller bir ya da daha çok sayıda eşleşmemiş elektronları içeren moleküllerdir (151,152).

Serbest radikaller patolojik durumlarda üretildikleri kadar fizyolojik olaylarda da bir miktar üretilirler. Potansiyel olarak toksik etkiye sahiptirler ve lipid peroksidaz formasyonu ile sonuçlanırlar. Lipid peroksidasyon ürünleri biyolojik membranların fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirirler ve makromoleküllere olduğu kadar membran bağımlı enzimlere de zarar verirler. Bunun sonucunda zarın lipid yapısı, hücre yapı ve fonksiyonları bozulur. (153).

Biyomembranlar, membran fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerine sahip olmaları nedeniyle lipid peroksidasyon hasarının en çok olduğu yerdir. Çoklu doymamış yağ asitleri yapılarında bir ya da daha fazla karbon çift bağı taşırlar. Bu biyokimyasal özellikleri onları serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasara daha duyarlı kılar. Hidroksil radikali çoklu doymamış yağ asitlerini, tekli doymamış ya da doymuş yağ asitlerinden daha hızlı hasara uğratar. Çift bağı sayısı ne kadar fazlaysa hidrojen atomunun yer değiştirmesi de o ölçüde kolaydır (154,155).

Serbest radikallerin etkisiyle çoklu doymamış yağ asitleri zincirinden hidrojen atomu uzaklaşır ve lipid radikalleri ortaya çıkar. Oluşan lipid radikali (L.) dayanıksız bir yapıya

sahiptir ve bir dizi spontan değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle molekül çift bağ aktarımıyla konjuge dienler meydana gelir. Konjuge dienler moleküler oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksid radikali (LOO.) oluşur. Bu radikaller de hidrojen atomu alarak, lipid hidroperoksidlerine (LOOH) dönüşmektedirler. Bu otokatalitik reaksiyonlar sonucunda aldehid, etan ve pentan gibi ürünler oluşur (156-158). Aldehidler bilinen en toksik ürünlerdir. Lipid peroksidasyonu ile oluşan ürünlerin tiobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmeleri sonucu MDA oluşur. Mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşik olan MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. MDA proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidlere veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini göstermektedir. MDA doku, kan ve vücut sıvılarında ölçülerek lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (158).

İnsanlarda birçok hastalığın etyopatogenezinde serbest oksijen radikallerinin neden olduğu lipid peroksidasyonuna bağlı olarak organ ve dokularda açığa çıkan hücre membranı hasarı suçlanmaktadır (159).

2.2.7.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu

Serbest radikallerin proteinlere etkisi, proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Proteinler serbest radikal etkisine karşı çoklu doymamış yağ asitlerinden daha az hassastır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi aminoasitlere sahip olan proteinler serbest radikallerden daha kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkisine bağlı proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler bu proteinlerin fonksiyonlarını etkilerler. Proteinin temel yapısındaki değişiklikler, antijenitesinde değişmeye ve proteolize karşı hassasiyete yol açabilir. Serbest radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girerek enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler (160,161).

2.2.7.3. DNA Lezyonları

Serbest oksijen radikalleri DNA'nın ana yapı taşı olan pürin ve pirimidin bazlarına etki ederek DNA'ya zarar vermektedirler. Hidroksil radikali, hücre membranını kolayca geçebileceğinden dolayı her türlü DNA bileşeni ile tepkimeye girebilir; pürinler, primidinler

ve deoksiriboz omurgasına zarar verebilir. Farklı memeli hücrelerinde ve bakterilerde oksidatif stres sonucu gelişen DNA hasarının mutajenik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Diğer bir hasar mekanizması ise bozulmuş DNA replikasyonuna bağlı azalmış hücre proliferasyonu ve bozulmuş protein sentezidir (134,162,163).

2.2.7.4. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. İnflamatuar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstrasellüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2^- buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunmasının oksidatif hasar yoluyla katarakt oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir (134,164).

2.2.8. İnsan Vücutunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları

Yüzden fazla hastalık, serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir. Serbest radikaller, sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi ve travmatik beyin hasarı ve beyin tümörleri etyopatogenezinde rol oynamaktadır. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuar distress sendromu, kronik obstrüktif akciğer hastalığına; böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Gastrointestinal sistemde nekrotizan enterokolit ve crohn hastalığı patogenezinde rol oynamakta; ayrıca hemoglobin ve immun sistem defektleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmun hastalıklar ve enflamatuar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır (134,139,140,165-167).

2.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları

2.3.1. Antioksidan etki tipleri

Antioksidan savunma sistemleri etkilerini 4 şekilde gösterir (168).

1. Toplayıcı Etki: Serbest oksijen radikallerini daha zayıf bir moleküle çevirme ya da tutma etkisi.
2. Bastırıcı Etki: Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen iyonu vererek inaktif hale getirme veya etkisini azaltma.
3. Tamir Edici Etki: Bu etki ile okside proteinler proteolitik enzimler tarafından; membran lipidleri ise lipazlar, acil transferazlar ve peroksidazlar tarafından ortadan kaldırırlar.
4. Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak reaksiyon zincirini kırarlar.

2.3.2. Antioksidan Sistemler

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları vardır (165,169). Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek yada reaktif O₂ türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (134,169).

Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, SOD, glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial sitokrom oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α-tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (134,169,170).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antienflamatuar

ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (134,169).

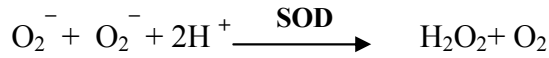
Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal oluşumunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GPx, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir. Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler (171).

Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, β-karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan α-tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır (172). Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimler bu grupta yer almaktadır.

2.3.3. Enzimatik Antioksidanlar

2.3.3.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

“Oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak adlandırılan ve süperoksit, hidrojen peroksit, moleküler oksijen oluşumunu katalize eden enzimdir.



Serbest radikallerin oluştuğu zincir tepkimelerinin başlaması ve tepkimeler boyunca süperoksitten çok daha reaktif ve toksik etkili radikallerin yapımı SOD tarafından engellenir. Süperoksit dismutaz enzimi, vücutta substrat olarak serbest radikalleri kullanan tek enzimdir. Ayrıca, fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler öldürülmesinde de önemli rol oynamaktadır (173,174).

2.3.3.2. Katalaz (CAT)

İki H₂O₂ molekülünden birini elektron alıcısı, diğerini ise elektron vericisi olarak

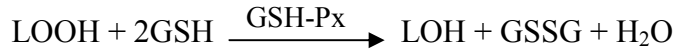
kullanıp suya çevrilmesini sağlar. Hidroksil radikali gibi bazı toksik metabolitlerin oluşumunu önler.



Bu reaksiyon H_2O_2 miktarının yüksek olduğu durumlarda gerçekleşir. Peroksidazlar hidrojen peroksitin düşük seviyelerinde bu molekülleri alkol ve suya çevirirler (175).

2.3.3.3 Glutatyon Peroksidaz (Gpx)

Büyük moleküllü lipit hidroperoksitlerin ve hidrojen peroksitin indirgenmesinden sorumlu sitozolik bir enzimdir. Tetramerik yapıdadır ve dört adet selenyum atomu ihtiva eder. Lipit peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini engelleyici özelliğe sahiptir. Karaciğerde yüksek düzeyde, kalp, akciğer ve beyinde orta düzeyde, kasta ise düşük düzeyde aktivitelere sahiptir (176,177).



E vitamininin yetersiz olduğu durumlarda hücre membranının peroksidasyona karşı korunmasında, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesinin engellenmesinde, eritrositlerin oksidatif strese karşı korunmasında önemli yerleri vardır (160).

2.3.3.4. Glutatyon-S-Transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı glutatyon-S-transferazlar “Selenyum” bağımsız aktivite göstermektedirler (134).

Antioksidan aktivitelere ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup, bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (134).

2.3.3.5. Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyonun oksitlenmiş formu glutasyon disülfittir (GSSG). Glutasyon sitozolde, çekirdekte ve mitokondride bol miktarlarda bulunur. Bu antioksidan hücre kompartmanlarındaki çözünen başlıca antioksidandır (178).

Glutasyon redüktaz, glutasyon peroksidaz aracılığıyla, hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatona (GSH) dönüşümünü katalize eder. Okside glutasyonun ileride kullanılmak üzere tekrar redükte glutatona dönüştürülmesi gerekmektedir. Organizmanın yaşamı için redükte glutasyonun yüksek konsantrasyonlarda ve okside glutasyonun düşük düzeylerde olması gereklidir. Yüksek bir okside glutasyon konsantrasyonu birçok enzimi oksidatif hasara uğratabilir (179).



Oksitlenmiş glutasyon hücrelerde depolanır. NADPH (nikotinamid adenin dinükleotit fosfat)/NADP⁺ ve GSH/GSSG oranları bir organizmanın oksidatif stres düzeyini gösteren iyi ölçütlerdir (180).

2.3.3.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (134).

2.3.4. Non enzimatik antioksidanlar

2.3.4.1. Glutasyon (GSH)

Önemli bir hücre içi antioksidandır ve hücre dışı mesafede çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. GSH'ya antioksidan özelliğini sisteinin tiyol grubu kazandırır. Glutasyon, OH, O₂⁻ gibi reaktif oksijen türevlerinin temizleyicisidir. Serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. N-asetil sistein hücre membranını geçip hücre içinde sisteine dönüşerek GSH üretimini artırır (134).

2.3.4.2. C Vitamini (Askorbik Asit)

Suda eriyen vitaminlerdendir. C vitaminin esas rolü indirgeyici etkisinin olmasından kaynaklanır. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olup organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici olarak görev yapar, sulu fazlarda zincir kırıcı antioksidan olarak süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, hipoklorik asit, aköz peroksil radikalleri ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler (176).

Lipit peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek lipitleri oksidasyona karşı korumak, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engellemek, E vitaminin rejenerasyonunda görev alarak tokoferoksil radikalının α -tokoferole indirgenmesini sağlamak gibi etkilerin yanında, fagositoz ve immun sistemde de önemli etkilerinin olduğu gösterilmiştir (181,182).

2.3.4.3. E Vitamini (Tokoferol)

Alfa tokoferol yağda çözünen, lipit zincirini kıran bir antioksidandır. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında E vitamini konsantrasyonu artmıştır. Çok güçlü bir antioksidan olan alfa tokoferol hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal ataklarına karşı korur, oluşan radikalleri temizler, lipit peroksidasyonunu inhibe eder. Askorbik asit E vitaminin etkisini arttırır. E vitamini ve GPx serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini, sentezlerini engeller iken GPx, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır (183).

2.3.4.4. A Vitamini (Beta Karoten)

Lipitlerde çözünebilir bir antioksidandır. Membranlarda ve lipoproteinlerde 20 farklı karoten tipi mevcut olup, bunlardan en önemlisi β -karotendir. β -Karoten güçlü bir singlet oksijen temizleyicisi olmanın yanında, zincir kıran bir antioksidan olarak da etki ederek peroksit radikalleri oluşumunu engeller. Bunun yanında üreme ve görme fonksiyonları, büyüme ve epitel hücre sağlamlığı üzerinde de önemli etkileri vardır (184).

2.3.4.5. Seruloplazmin

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanır. Seruloplazmin oksijen radikal ara ürünleri salınmaksızın ferooksidaz aktivitesi göstererek demiri okside eder. Böylece Fenton reaksiyonunu ve serbest radikal oluşumunu inhibe eder (142).

2.3.4.6.Melatonin (MLT)

Pineal bezden salgılanan melatonin, indol yapısında bir nöro-hormon olup, güçlü bir endojen serbest radikal toplayıcısıdır. Bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Hidroksil serbest radikallerini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Lipofilik olması nedeniyle hücrenin neredeyse bütün organellerine ve hücrenin çekirdeğine ulaşabilir, böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Hücre çekirdeğine girebilmesi nedeniyle DNA'yı serbest radikallerin etkisinden korur. Melatonin, klinik açıdan antikanserojen ve antioksidan etkileri olan bir ajandır (185).

2.3.4.7.Ferritin, Transferrin ve Laktoferrin

Bu üç molekül de demiri bağlayarak serbest radikal oluşumunu engeller. Ferritin dokulardaki demiri, transferrin dolaşımdaki demiri ve laktoferrin de lökositlerdeki demiri bağlar (174,186).

Bunlardan başka hemoglobin, miyoglobin, ürik asit, sistein ve metiyonin, albumin, bilirubin, seruloplazmin, kreatinin ve östrojenler de enzimatik olmayan endojen antioksidanlardan olup, serbest radikallere karşı koruyucu rol oynamaktadırlar (186).

2.3.5. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine

taşımasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir (187).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında, serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır (188,189).

Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasıdır. Yenidoğanlarda ise bu sistemin en önemli bileşenlerini bilirubin ve ürik asit oluşturmaktadır. Bağ kıran antioksidanlar (bilirubin, sülfhidril grupları, C vitamini, E vitamini) özellikle yenidoğanlarda total antioksidan sisteme önemli katkıda bulunmaktadır (187,189,190).

Antioksidan savunma sistemleri, özgül etkiler dışında bir ortak etkiler ve ilişkiler ağı oluşturur (191). Örneğin; vitamin C ve glutatyon, vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlayarak; ürik asit, vitamin C'nin otooksidasyonunu engelleyerek sinerjistik etki gösterirler. Böylece antioksidan durumu göstermede tek tek antioksidan ölçümü yanında, değişik antioksidanları ortak etkilerinin ölçümüne yani 'total antioksidan kapasite' nin bilinmesine ihtiyaç doğar. Sonuçta plazmanın total antioksidan kapasitesinin her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlı olduğu söylenebilir (191).

Hasta yenidoğanlarda, plazma antioksidan kapasitesi hastalıktan veya tedavi yöntemlerinden etkilenebilmektedir. Örneğin hemoliz ile plazma bilirubin düzeyinin yükselmesi veya fototerapi ile azalması, anüri ile ürik asit seviyesinin artması ve diüretiklerle düşmesi gibi nedenlerle antioksidan kapasitede değişiklikler oluşabilmektedir (190).

Beslenme şekli de antioksidan kapasiteyi etkileyebilmektedir. Örneğin anne sütü ile beslenen bebeklerde, antioksidan birer madde olan bilirubin ve karotenoidler, formüle mama ile beslenen bebeklerden daha yüksek olarak saptanmaktadır (190,192).

Bilirubin, fizyolojik sarılıkta plazmada önemli bir antioksidan role sahiptir. Sarılıklı yenidoğanlarda plazma total antioksidan kapasitenin, esas olarak bilirubinle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bilirubinin değişik fizyolojik ve patolojik durumlarda yükselmesinin organizmayı koruyucu bir reaksiyon olduğu öne sürülmektedir (189,190).

2.4. Paraoksonaz/Arilesteraz (PON1)

Paraoksonaz-1 (PON1), 354 aminoasitli glikoprotein yapısında ve üç aktiviteli bir enzimdir. Bunlar paraoksonaz, arilesteraz ve diazoksonazdır (193). İnsan serum PON1 enzimi HDL ile ilişkili, antioksidan fonksiyona sahip olduğu kabul edilen bir enzimdir. Deneysel çalışmalarda PON1 enziminin HDL-kolesterol'un apo-A1 ve apo-J (Clustrein) proteinleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (194,195). PON1'i kodlayan gen, 7. kromozomun q 21-22 bölgesine yerleşmiştir. Paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyesi vardır. PON2 ve PON3 105. pozisyonda lizin rezidüsü bulunmadığından paraoksonu hidroliz edemez ve plazmada bulunmazlar (17).

Paraoksonaz ve arilesteraz her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılanırsa da, yapılan çalışmalar ve araştırmalar göstermiştir ki insan serumunda tek gen ürünü olan paraoksonaz enzimi hem arilesteraz, hem de paraoksonaz aktivitesine sahiptir (196). PON1'den bahsederken aslında PON1'in paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinden bahsedeceğiz. PON1'de 2 aminoasit polimorfizmi vardır. PON1 promotör bölgesinde bu polimorfizmlerden başka bilinen beş tane daha polimorfizm bulunur. Populasyonlardaki polimorfik dağılım bireyler arasında farklılığa neden olur. Polimorfizm arilesteraz aktivitesini etkilemez, arilesteraz aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız, esas olarak protein konsantrasyonunun göstergesi olarak kabul edilebilir. Yani PON1 aktivite polimorfizmi göstermeyen arilesteraz aktivitesine de sahiptir (197).

PON1 enzim aktivitesinin miyokard enfarktüsü, ailesel hiperkolesterolemi, diyabet ve kronik renal bozukluklarda azaldığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir (194,198,199).

2.4.1. PON1 Enziminin Yapısı ve Aktivitesi

İnsan serum PON1 enzimi; karaciğerde sentezlenen, arildialkilfosfataz olarak da adlandırılan, kalsiyum (Ca) bağımlı ve 43-45 kDa molekül ağırlıklı bir ester hidrolazdır. Ca, enzimin hem aktivitesi hem de stabilitesi için gerekmektedir ve katalitik mekanizmada da rol oynamaktadır. Aktif bölgeden dietil-fosfatın uzaklaştırılması bu bölgenin uygun konformasyonel yapı kazanmasını sağlar (17,200). PON1'in yapısında bulunan N-terminal hidrofobik sinyal peptidi, HDL ile etkileşim için gerekmektedir. PON1 enzimi N-terminal hidrofobik sinyal peptidi aracılığı ile fosfolipitlere ve lipoproteinlere bağlanır (201,202).

PON1 enzimi, karaciğer, böbrek, ince bağırsak başta olmak üzere birçok dokuda ve serumda bulunur. Yenidoğanlarda ve prematüre bebeklerde PON1 aktivitesinin yetişkindeki aktivitenin yaklaşık yarısı kadar olduğu bildirilmiş ve doğumdan yaklaşık bir yıl sonra erişkindeki düzeyine ulaştığı kaydedilmiştir (201). Serum PON1 aktivitesi, beslenme, akut faz proteinleri, gebelik, hormonlar, sigara kullanımı, simvastatin tedavisi ve apo A1 metabolizmasını etkileyen durumlardan etkilenmektedir (199). Ayrıca yapılan bir başka çalışmada ise, yaş ile PON1 enzim aktivitesi arasındaki ilişki incelenmiş ve PON1 enzim aktivitesinin yaşın artışıyla ilişkili olarak azaldığına dikkat çekilmiştir (203). PON1 enzim aktivitesi, genellikle paraoksonun substrat olarak kullanıldığı yöntemler ile ölçülür. Enzimin aktivitesi genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir (199,204).

2.4.2. PON1 Enziminin Fonksiyonu

Serum PON1 enzimi, paraoksondaki organofosfat ester bağının hidrolizinden sorumlu olan esterazdır (205). HDL, LDL'yi oksidasyondan koruyabilme yeteneğine sahiptir. Çeşitli mekanizmalar bu koruyucu rolün açıklanmasında önem kazanmaktadır. HDL ile ilişkili enzimlerin (PON1, Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz) oksidatif modifikasyonlara karşı lipoproteinleri koruduğuna inanılmaktadır (17,206). HDL kolesterol yapısında bulunan PON1 enzimi, minimal modifiye LDL'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde enflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterebilir (207).

PON1, okside LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitleri ve spesifik okside fosfolipidleri hidroliz eder. Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil hücrenin yapısındaki lipidler de lipit peroksidasyonuna uğramaktadır. PON1 lipit peroksitlerinin aterosjenik etkilerini nötralize eder, hücre membranlarını koruyucu etki gösterir (198). En belirgin etkisini, ileri düzeyde değişikliğe uğramış LDL-K'deki kolesteril linoleat hidroperoksitleri hidroliz ederek gösterir. Ateroskleroz gelişiminde, oksidatif stres altında oluşan hidrojen peroksiti %25 oranında hidroliz eder. Bu özellik PON1'in peroksidaz aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir (208). Bazı çalışmalarda LDL oksidasyonu esnasında PON1'in inaktive olduğuna ilişkin görüşler desteklenmiştir (206,208).

PON1, HDL'yi oksidasyondan koruyarak HDL kolesterol'ün ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimi yavaşlatmaktadır (205,209).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Hasta Grubu ve Çalışma Protokolü

Bu çalışmaya 1 Eylül 2008 ile 31 Ağustos 2009 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Çocuk Polikliniğine başvuran, 1-10 yaşları arasında, akut immun trombositopenik purpura tanısı konulmuş 30 hasta alındı. Kontrol grubu ise hasta grubuyla benzer yaş ve cinsiyette, serum analizlerini etkileyebilecek diyet uygulaması ve ilaç kullanımı olmayan 30 sağlıklı çocuktan oluşturuldu. Çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulunun onayı ve çalışmaya alınan her çocuk için yasal velilerinden “bilgilendirilmiş olur formu” alındı. Klinik olarak tüm hastalar ve kontrol grubundaki çocuklar detaylı bir şekilde genel fizik muayeneden geçirildi.

Çalışma grubuna alınan çocuklar için başlıca aşağıdaki tanı kriterleri kullanıldı:

1. Trombositopeni (trombosit sayısı $< 30.000/mm^3$),
2. Kemik iliğinde megakaryositler normal veya artmış, diğer kemik iliği serilerinin normal olması,
3. Trombositopeni yapabilecek başka bir hastalığın olmaması,
4. Akut enfeksiyonun olmaması.

Yeni tanı konmuş her İTP’li hastada trombositopeni nedeni olabilecek bir enfeksiyon fizik muayene bulguları, C-Reaktif Protein düzeyi ve sedimantasyon hızına bakılarak dışlandı. Periferik yayma ve kemik iliği aspirasyonu yapılarak da diğer hematolojik hastalıklar ve malignensi tanısı dışlandı. Planlanan tetkikler için çalışma grubundaki çocuklardan tedavi öncesinde ve tedavinin etkinliğinin değerlendirileceği 7 günlük tedavi sonrası olmak üzere iki kez; kontrol grubundaki çocuklardan bir kez periferik venöz kan alındı. Tam kan sayımı için EDTA’lı tüp kullanıldı ve otomatik kan sayım cihazında (Abbott aeroset, cell dyne 3700, USA) çalışıldı. Sedimantasyon hızı için sıratlı sedimantasyon tüpü kullanıldı ve Becton Dickinson marka cihazda çalışıldı. C-Reaktif Protein için jelli biyokimya tüpü kullanıldı ve Roche marka ticari kitler kullanılarak Cobas İntegra analizöründe çalışıldı. Paraoksanaz, arilesteraz, total oksidan seviye (TOS), total antioksidan kapasite (TAK) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) analizleri için jelli tüp kullanıldı. Ayrılan periferik venöz kan örnekleri 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra, serum örnekleri $-80^{\circ}C$ de derin dondurucuda saklandı. Çalışma günü hasta ve kontrol grubu örnekleri derin dondurucudan alınarak adı

geçen testler toplu olarak bir defada laboratuarda çalışıldı. Çalışma yöntemleri aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

Akut İTP tanısı alan hastalara yüksek doz steroid tedavisi olarak, metilprednizolon (PREDNOL-L 250 mg ampül) ilk 3 gün 30 mg/kg/gün, takip eden 4 gün 20 mg/kg/gün dozunda, ağız yolu ile, sabahları saat 07-08 arasında verildi. Yedi günlük tedavi sonrası tedavinin etkinliği ve sonuçları klinik ve laboratuvar (tam kan sayımı, paraoksanaz ve arilesteraz aktiviteleri, total oksidan seviye, total antioksidan kapasite, oksidatif stres indeksi, sedimentasyon hızı ve CRP) olarak değerlendirildi.

Tedavi ile alınan cevaba göre çalışma grubu kendi içinde tedaviye tam cevaplı ve kısmi cevaplı grup olarak iki alt gruba ayrılarak yeniden değerlendirildi. Çalışma grubunun tedavi sonrası trombosit sayısı $150.000/mm^3$ 'ün üzerinde ise tam yanıt, $150.000/mm^3$ 'ün altında ise kısmi yanıt olarak değerlendirildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Paraoksanaz ve Arilesteraz Aktivitelerinin Tayini

Paraoksanaz ve arilesteraz aktiviteleri Rel Assay[®] ticari kitleri kullanılarak ölçüldü.

Paraoksanaz aktivitesi ölçümleri tuzla uyarılmış aktivite için NaCl mevcudiyetinde ve bazal aktivite için NaCl yokluğunda spektrofotometrik olarak yapıldı. Paraoksanaz'ın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenol'ün $37^{\circ}C$ 'de ve 412 nm deki oluşumu ölçülerek, paraoksanaz aktiviteleri incelenmiştir. P-nitrofenolün meydana geliş miktarı $18290 M^{-1} cm^{-1}$ ve Ph 8,5 da molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı. Paraoksanaz aktivitesi için 1 ünite = 1 mikromol p-nitrofenol/ml serum/dk olarak tanımlandı (210).

Birim:U/L

Arilesteraz aktivitesinin ölçümünde substrat olarak fenil asetat kullanıldı. Enzimatik aktivite $1310 M^{-1} cm^{-1}$ de fenol üretiminin molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı. Arilesteraz aktivitesinin bir ünitesi yukarıda sözü geçen koşullar altında dakikada 1 ünite = 1 mikromol fenol/ml serum/dk olarak tanımlandı (211). **Birim: U/L**

3.2.2. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Total Antioksidan Kapasite Erel tarafından geliştirilen Rel Assay Diagnostics® kiti ile çalışıldı. Bu yöntem tam otomatik olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur. Çalışma prensipleri;

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponu (pH=1,8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 µmol (NH₄)₂ Fe(SO₄)₂·6H₂O çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: 7,5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark tamponu (pH=1,8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır.

Prensip: Fe²⁺-o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluşturur. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadır. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir (212). **Birim:** µmol Trolox Eqv./L

3.2.3. Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen Rel Assay Diagnostics® kiti ile çalışıldı. Bu yöntem tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir. Çalışma prensipleri;

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisinde 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-Dianisidine dihidrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip: Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (213). **Birim:** µmol H₂O₂ Eqv. / L

3.2.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total Oksidatif Seviye (TOS) /Total Anatioksidan Kapasite (TAK) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı (212-214). **Birim: AU**

3. 3. Yapılan İstatistiksel Analizler

Veriler Windows ile uyumlu SPSS 11.5 programı kullanılarak değerlendirildi. Verilerin dağılımını her bir gruptaki değişkenler için ayrı ayrı olmak üzere Leven's analizi ile değerlendirildi. Çalışma grubu ve kontrol grubunun değerlerinin karşılaştırılmasında bağımsız gruplar için t testi (t test for independent samples), çalışma grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerlerinin karşılaştırılmasında ise eş gruplar için t testi (t test for paired samples) kullanıldı. Çalışmamızdaki parametrelerin birbirleri ile ilişkilerine bakmak için Pearson korelasyon analizi kullanıldı. Çalışma grubunun kendi içinde tedaviye alınan cevaba göre ikiye bölünmesiyle ortaya çıkan grupların ortalama değerlerini karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi, bu grupların tedavi öncesi ve sonrası değerlerini karşılaştırmak için ise Wilcoxon testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SD) olarak belirtildi ve $P>0,05$ anlamsız, $P<0,05$ değeri anlamlı, $P<0,01$ çok anlamlı, $P<0,001$ ileri düzeyde anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma grubundaki çocukların 11'i erkek (%37), 19'u kız (%63) idi. Kontrol grubunu da 11'i erkek, 19'u kız toplam 30 çocuk oluşturdu. Çalışmaya alınan çocukların yaş ortalaması $4,95\pm 2,77$ yaş, kontrol grubunun yaş ortalaması ise $4,98\pm 2,69$ yaş olarak bulundu. Gruplar yaş ve cinsiyet olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($P>0.05$), (Tablo 8).

Tablo 8. İTP ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet değerlerinin dağılımı

	İTP Vakaları (n:30)	Kontrol (n:30)	İstatistiksel Analiz
Yaş (Yıl)	$4,95\pm 2,77$	$4,98\pm 2,69$	P=0,96
Cinsiyet (E/K)	11/19	11/19	P=1

Ortalama \pm SD olarak verilmiştir.

Çalışma grubundaki hastaların hepsinde tedavi öncesi ve sonrasında CRP değerleri normal sınırlardaydı. Sedimantasyon değerlerine bakılabilen 19 hastanın 2 tanesinde fizyolojik sınırın üzerinde olduğu saptandı ancak bu hastaların muayene bulguları ve CRP değerleri normaldi.

Çalışma grubundaki hastaların 27'sinde tedavi öncesi trombosit sayısı $20.000/\text{mm}^3$ 'ün altında iken, 3 hastada trombosit sayısının $20.000-30.000/\text{mm}^3$ arasında olduğu saptandı. Tedavi sonrasında ise trombosit sayısı 2 hastada $20000/\text{mm}^3$ 'ün altında (yanıtsız), 6 hastada $20.000-50.000/\text{mm}^3$ arasında, 6 hastada $50.000-150.000/\text{mm}^3$ arasında, 16 hastada $150.000/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde (tam yanıt) bulundu.

Çalışma grubundaki hastaların steroid tedavisi öncesi ve steroid tedavisi sonrası ile kontrol grubunun ortalama tam kan sayımı, total oksidan-antioksidan parametreleri, sedimantasyon ve CRP değerleri toplu şekilde tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Çalışma grubunun steroid tedavisi öncesi ve sonrası değerleri ile kontrol grubunun değerleri

	Çalışma grubu (Tedavi öncesi)	Çalışma grubu (Tedavi sonrası)	Kontrol grubu
TAK ($\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$)	0,85 \pm 0,11	0,93 \pm 0,13	1,02 \pm 0,13
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv./L}$)	11,13 \pm 2,59	9,85 \pm 1,90	9,41 \pm 1,59
OSİ (U/L)	1,30 \pm 0,34	1,08 \pm 0,23	0,92 \pm 0,19
Paraoksonaz (U/L)	105,46 \pm 59,65	141,40 \pm 79,28	185,26 \pm 76,12
Arilesteraz (U/L)	190,97 \pm 39,34	235,85 \pm 54,77	226,07 \pm 40,09
Beyaz küre sayısı (mm^3/ml)	10500 \pm 3444	16221 \pm 7072	9777 \pm 2842
Hemoglobin (g/dl)	11,87 \pm 1,32	12,56 \pm 1,68	12,58 \pm 1,25
Trombosit sayısı (mm^3/ml)	9425 \pm 6000	282256 \pm 34727	375316 \pm 116538
C-Reaktif Protein (mg/dl)	0,34 \pm 0,47	0,18 \pm 0,67	—
Sedimentasyon (mm/saat)	36,38 \pm 16,68	23,33 \pm 23,01	—

TAK: Total antioksidan kapasite, TOS: Total oksidan seviye, OSİ: Oksidatif stres indeksi

Çalışma grubunun tedavi öncesi değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama TAK düzeyi, paraoksanaz ve arilesteraz aktiviteleri, hemoglobin düzeyi ve trombosit sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük (sırayla $P<0.001$, $P<0.001$, $P<0.001$, $P=0.035$, $P<0.001$); ortalama TOS ve OSİ değerleri ise istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek (sırayla $P=0.003$, $P<0.001$) bulundu (Tablo 10, Şekil 1-7).

Tablo 10. Çalışma grubunun tedavi öncesi değerleri ile kontrol grubunun değerlerinin karşılaştırılması

	Çalışma Grubu (Tedavi öncesi)	Kontrol Grubu	P değeri
TAK ($\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$)	0,85 \pm 0,11	1,02 \pm 0,13	P<0,001
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L)	11,13 \pm 2,59	9,41 \pm 1,59	P=0,003
OSİ (U/L)	1,30 \pm 0,34	0,92 \pm 0,19	P<0,001
Paraoksonaz (U/L)	105,46 \pm 59,65	185,26 \pm 76,12	P<0,001
Ariesteraz (U/L)	190,97 \pm 39,34	226,07 \pm 40,09	P=0,001
Beyaz küre sayısı (mm^3/ml)	10500 \pm 3444	9777 \pm 2842	P=0,379
Hemoglobin (g/dl)	11,87 \pm 1,32	12,58 \pm 1,25	P=0,035
Trombosit sayısı (mm^3/ml)	9425 \pm 6000	375316 \pm 116538	P<0,001

TAK: Total antioksidan kapasite, TOS: Total oksidan seviye, OSİ: Oksidatif stres indeksi

Çalışma grubunun tedavi öncesi değerleri ile tedavi sonrası değerleri karşılaştırıldığında, bir haftalık metil prednizolon tedavisi sonrasında ortalama TAK, paraoksonaz ve ariesteraz aktiviteleri, hemoglobin düzeyi, beyaz küre ve trombosit sayılarında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış (sırayla P=0.007, P=0.001, P<0.001, P<0.001, P=0.011, P<0.001); ortalama TOS, OSİ ve sedimentasyon hızında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüş (sırayla P=0.042, P=0.008, P=0.043) bulundu (Tablo 11, Şekil 1-7).

Tablo 11. Çalışma grubunun tedavi öncesi değerleri ile tedavi sonrası değerlerinin karşılaştırılması

	Çalışma grubu (Tedavi öncesi)	Çalışma Grubu (Tedavi sonrası)	P değeri
TAK ($\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$)	0,85 \pm 0,11	0,93 \pm 0,13	P=0,007
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv./L}$)	11,13 \pm 2,59	9,85 \pm 1,90	P=0,042
OSİ (U/L)	1,30 \pm 0,34	1,08 \pm 0,23	P=0,008
Paraoksonaz (U/L)	105,46 \pm 59,65	141,40 \pm 79,28	P=0,001
Ariesteraz (U/L)	190,97 \pm 39,34	235,85 \pm 54,77	P<0,001
Beyaz küre sayısı (mm^3/ml)	10500 \pm 3444	16221 \pm 7072	P<0,001
Hemoglobin (g/dl)	11,87 \pm 1,32	12,56 \pm 1,68	P=0,011
Trombosit sayısı (mm^3/ml)	9425 \pm 6000	282256 \pm 34727	P<0,001
Sedimentasyon (mm/saat)	36,38 \pm 16,68	23,33 \pm 23,01	P=0,043

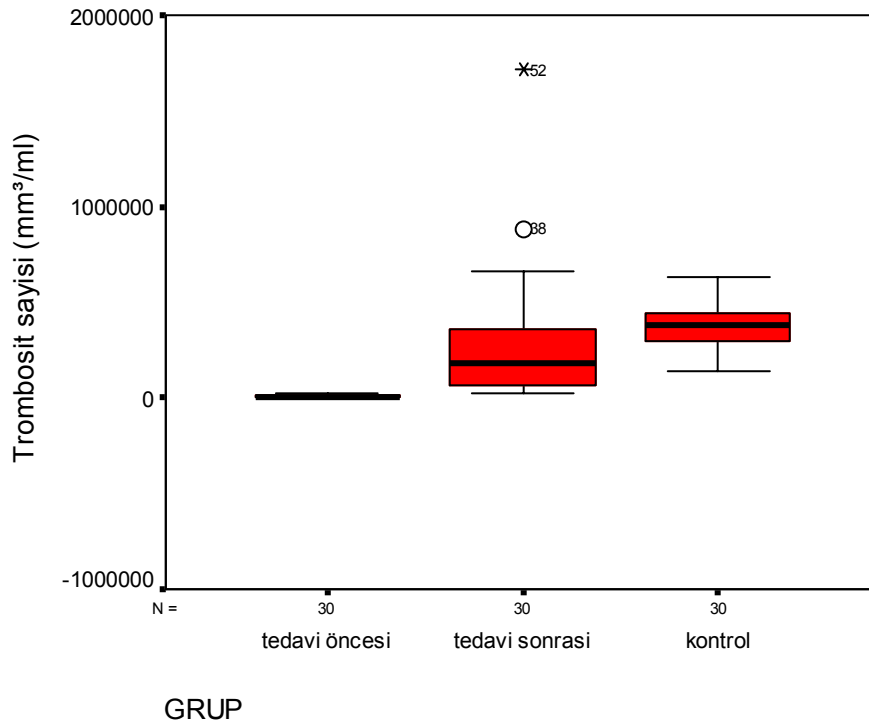
TAK: Total antioksidan kapasite, TOS: Total oksidan seviye, OSİ: Oksidatif stres indeksi

Çalışma grubunun tedavi sonrası değerleri ile kontrol grubu değerleri karşılaştırıldığında, bir haftalık metil prednizolon tedavisi sonrasında ortalama TAK ve paraoksanaz aktivitesinde düzelme olmakla birlikte, kontrol grubuna göre halen istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük kaldığı görüldü (sırayla P=0.006, P=0.033); OSİ ve beyaz küre sayısı ise istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (P=0.008, P<0.001). TOS ve ariesteraz aktivitesinde ise kontrol grubuna göre anlamlı fark olmayacak düzeyde düzelme sağlandığı görüldü (sırayla P=0.329, P=0.424), (Tablo 12, Şekil 1-7).

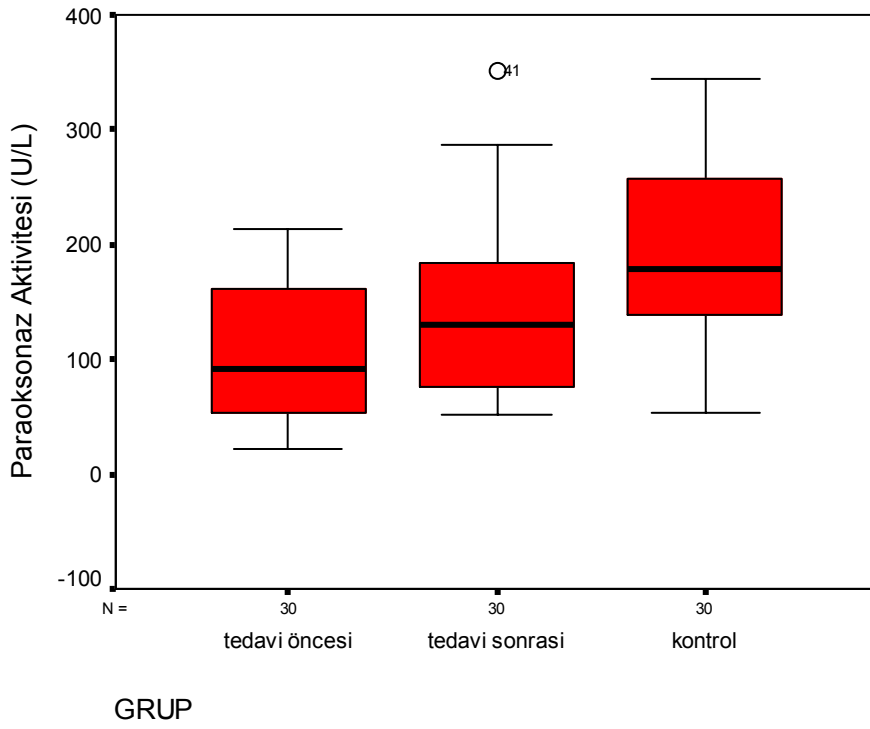
Tablo 12. Çalışma grubunun tedavi sonrası değerleri ile kontrol grubunun değerlerinin karşılaştırılması

	Çalışma Grubu (Tedavi sonrası)	Kontrol Grubu	P değeri
TAK ($\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$)	0,93 \pm 0,13	1,02 \pm 0,13	=0,006
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L)	9,85 \pm 1,90	9,41 \pm 1,59	=0,329
OSİ (U/L)	1,08 \pm 0,23	0,92 \pm 0,19	=0,008
Paraoksonaz (U/L)	141,40 \pm 79,28	185,26 \pm 76,12	=0,033
Arilesteraz (U/L)	235,85 \pm 54,77	226,07 \pm 40,09	=0,434
Beyaz küre sayısı (mm^3/ml)	16221 \pm 7072	9777 \pm 2842	<0,001
Hemoglobin (g/dl)	12,56 \pm 1,68	12,58 \pm 1,25	=0,952
Trombosit sayısı (mm^3/ml)	282256 \pm 34727	375316 \pm 116538	=0,167

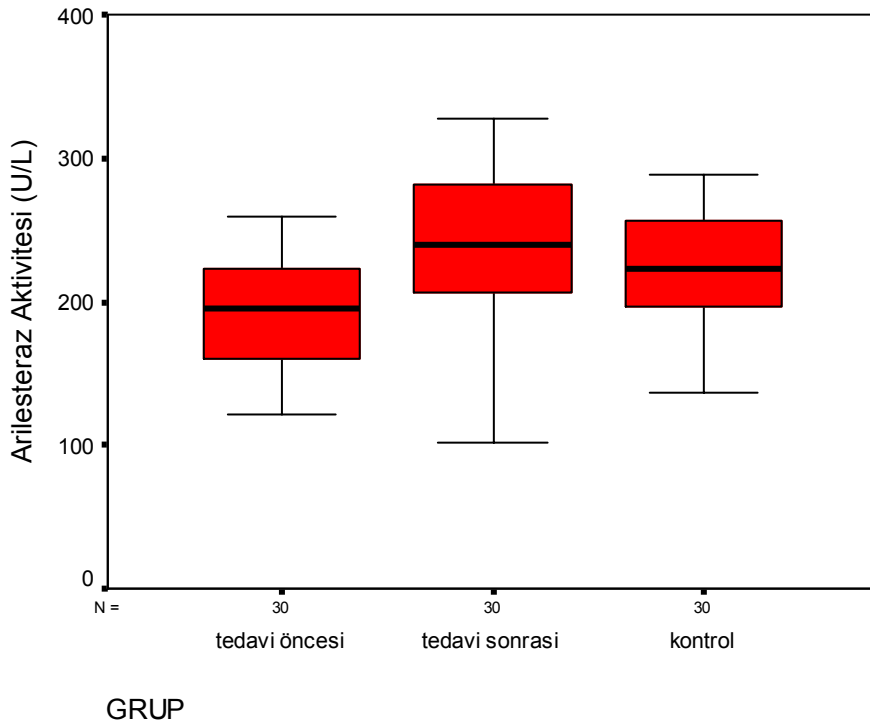
TAK: Total antioksidan kapasite, TOS: Total oksidan seviye, OSİ: Oksidatif stres indeksi



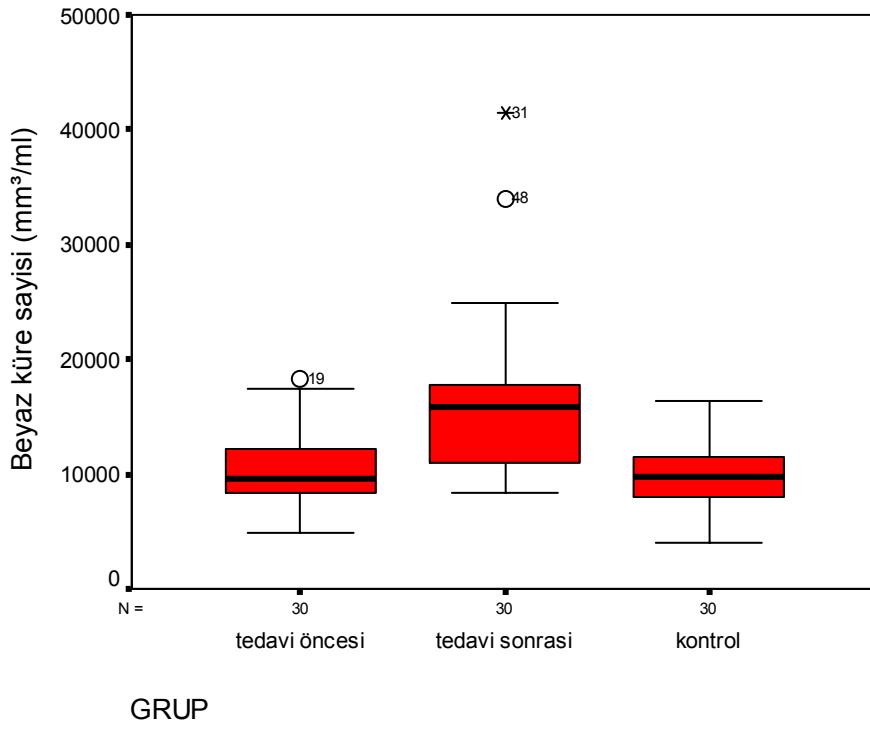
Şekil 1. Çalışma grubunda ortalama trombosit sayısının steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi



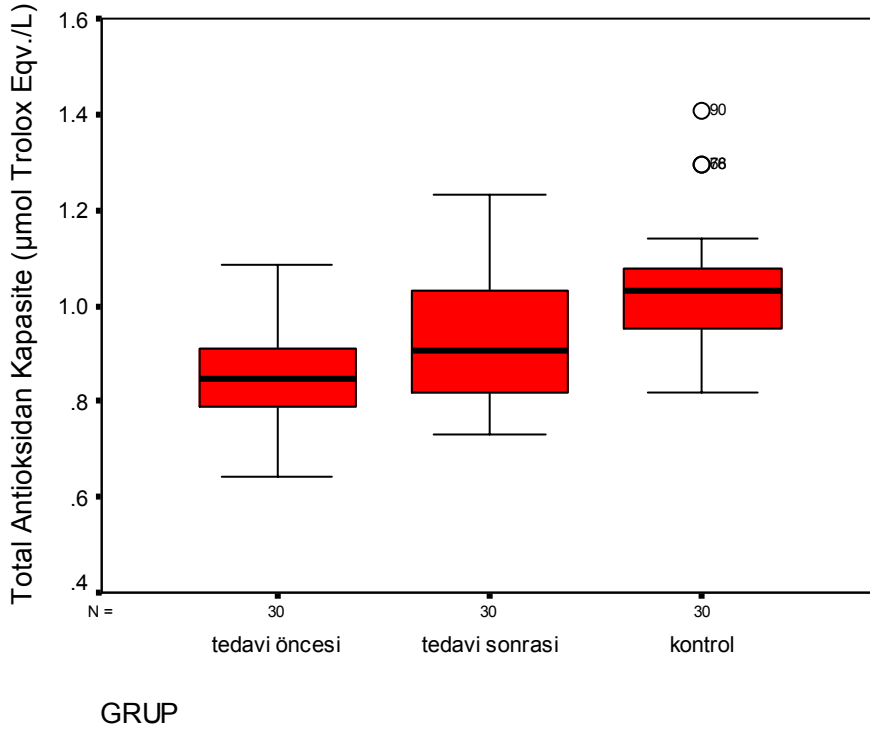
Şekil 2. Çalışma grubunda ortalama paraoksonaz aktivitesinin steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi



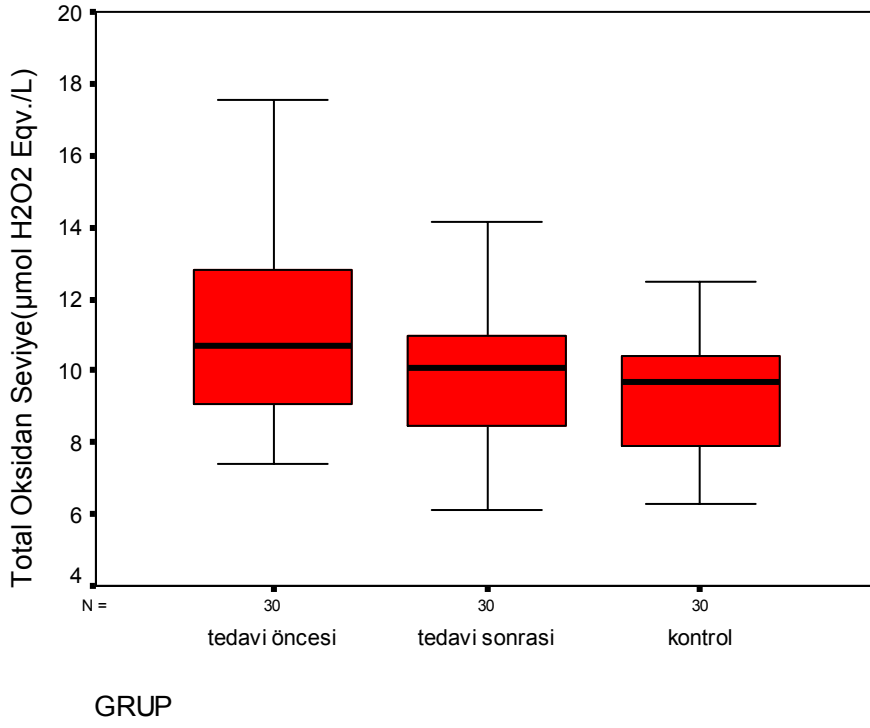
Şekil 3. Çalışma grubunda ortalama arilesteraz aktivitesinin steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi



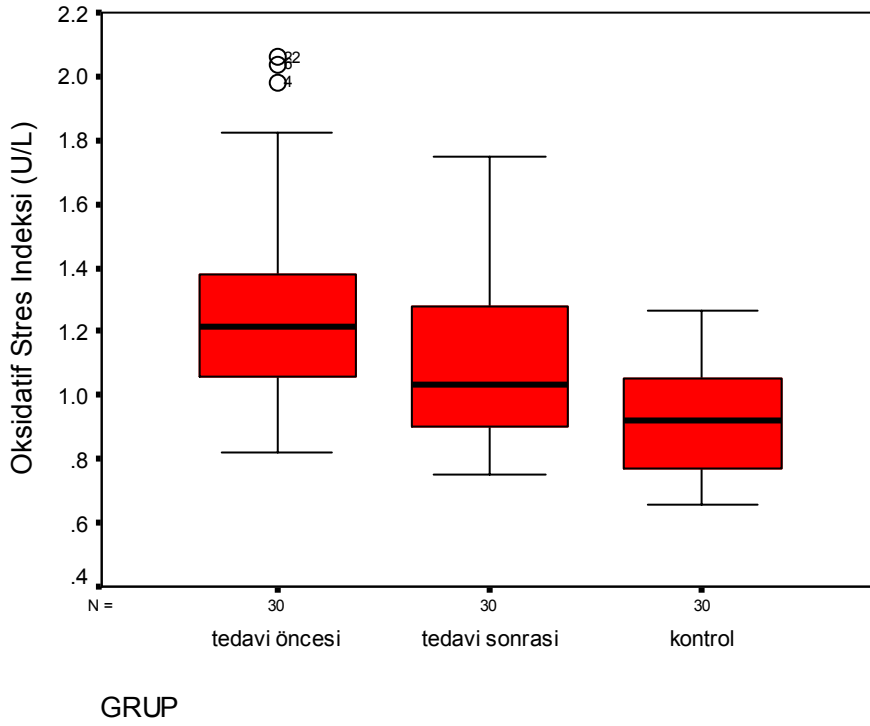
Şekil 4. Çalışma grubunda ortalama beyaz küre sayısının steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi



Şekil 5. Çalışma grubunda ortalama TAK seviyesinin steroid tedavisi sonrası artmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi



Şekil 6. Çalışma grubunda ortalama TOS seviyesinin steroid tedavisi sonrası azalmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi



Şekil 7. Çalışma grubunda ortalama OSİ seviyesinin steroid tedavisi sonrası azalmasının kontrol grubu ile kıyaslanarak gösterilmesi

Çalışma grubundaki tam cevaplı ve kısmi cevaplı hastalar yeniden gruplandırılıp, birbirleriyle karşılaştırıldığında; hem tedavi öncesinde, hem de tedavi sonrasında TAK, TOS, OSİ düzeylerinde, paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri açısından istatistiksel olarak önemli farklılıklar olmadığı görüldü.

Tedaviye cevaba göre çalışma grubundaki tam yanıtlı ve kısmi yanıtlı hastaların tedavi öncesi ve sonrası ortalama kan değerleri tablo 13 ve tablo 14 de verilmiştir.

Tablo 13. Tedaviye yanıtı göre çalışma grubunun tedavi öncesi ortalama kan değerleri

	Tam Yanıt	Kısmi Yanıt	P değeri
TAK ($\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$)	0,81 \pm 0,99	0,90 \pm 0,11	P=0,088
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv./L}$)	11,58 \pm 3,06	10,61 \pm 1,89	P=0,454
OSİ (U/L)	1,42 \pm 0,41	1,17 \pm 0,18	P=0,135
Paraoksonaz (U/L)	109,43 \pm 56,11	100,92 \pm 65,30	P=0,693
Arilesteraz (U/L)	180,50 \pm 32,60	202,93 \pm 44,02	P=0,114

Tablo 14. Tedaviye yanıtı göre çalışma grubunun tedavi sonrası ortalama kan değerleri

	Tam Yanıt	Kısmi Yanıt	P değeri
TAK ($\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$)	0,98 \pm 0,11	0,97 \pm 0,13	P=0,061
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv./L}$)	9,41 \pm 2,05	10,36 \pm 1,66	P=0,299
OSİ (U/L)	1,08 \pm 0,241	1,08 \pm 0,247	P=0,967
Paraoksonaz (U/L)	127,31 \pm 55,93	157,50 \pm 99,44	P=0,618
Arilesteraz (U/L)	220,96 \pm 51,51	252,87 \pm 55,18	P=0,124

Çalışma grubundaki çocuklar tedaviye alınan cevaba göre yeniden değerlendirildiğinde tam yanıtlı hasta grubunda TOS ve OSİ seviyelerinde kısmi yanıtlı hasta grubuna göre daha iyi azalma görülmüşken; kısmi cevaplı hasta grubunda tam yanıtlı hasta grubuna göre paraoksonaz aktivitesinde daha iyi yükselme saptandı. Ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi (tablo 13, tablo 14).

Hem çalışma grubunda, hem de kontrol grubunda erkekler ve kızlar arasında TAK, TOS, OSİ seviyeleri, paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla P=0.912, P=0.796, P=0.904, P=0.26, P=0.698; P=0.88, P=0.378, P=0.327, P=0.714, P=0.848).

Korelasyon analizinde trombosit sayısı ile ortalama TAK seviyesi arasında pozitif korelasyon, TOS ve OSİ seviyeleri arasında negatif korelasyon saptandı (sırasıyla $r=0.279$, $P=0.008$; $r=-0.264$, $P=0.012$; $r=-0,346$, $P=0,001$). Beyaz küre sayısı ile arilesteraz aktivitesi arasında pozitif korelasyon saptandı ($r=0.208$, $p=0.049$).

5. TARTIŞMA

Sağlıklı bir çocukta akut başlayan trombositopeninin en sık nedeni İTP'dir. Tüm İTP olguların %50-65'inden otoimmün mekanizma sorumludur. Sorumlu olabilecek diğer mekanizmalar arasında antikora bağımlı olarak oluşan bir oksidan ürün olan hidrojen peroksidin hücresel hasara neden olması da ileri sürülmüştür. Oksidatif hasar otoimmün hastalıkların patogeneziyle ilgili olabilir. Membran lipidlerine bağlanan antikolar ve trombositlerin yıkımı İTP'de lipid peroksidasyonunda rol oynayabilir. Literatürde İTP'li hastalarda görülen oksidatif stres ve antioksidan defans mekanizması hakkında çok az bilgi bulunmaktadır.

İTP'li çocuk yaş grubunda oksidan ve antioksidan durum, serum paraoksanaz ve arilesteraz aktivitesinin etkileriyle ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile İTP'de oksidan ve antioksidan durum, serum paraoksanaz ve arilesteraz aktiviteleri, steroidin bu sistemler üzerine etkileri ortaya konmaya çalışılmıştır.

Serbest radikaller insan vücudunda doğal yollarla üretilen, bir veya birden çok çiftleşmiş elektron taşıyan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin atom veya moleküllerdir (129). Serbest radikaller biyolojik sistemlerde sürekli olarak üretilmektedir. Vücutta immün sistemdeki gibi pozitif etkiler veya lipid, protein ya da DNA oksidasyonu gibi negatif etkiler yapabilirler. Bu zararlı etkileri sınırlamak için organizmada güçlü bir antioksidan sisteme ihtiyaç vardır. Oksidanlar belirli düzeyin üzerinde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olursa oksidatif stres denilen tablo oluşur. Oksidatif stresin de moleküler ve hücresel doku hasarında rol oynayarak erişkinlerde ateroskleroz, karsinogenezis, astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, romatoid artrit ve psöriyazis gibi kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezinde yer aldığı bilinmektedir (130,131,138-140). Çocuklarda ise yeni doğan döneminde kronik akciğer hastalığı, prematür retinopatisi, nekrotizan enterokolit ve neonatal hemokromatozis; daha büyük çocuklarda ise astım, kistik fibrozis, juvenil romatoid artrit, kolestatik karaciğer hastalıkları, kwasiorkor ve diğer bazı hastalıkların oksidatif stresle ilişkili olduğu yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur (215).

Antioksidan tedavi de oksidatif stresi azaltmaktadır. Bu yüzden antioksidan tedavi pek çok hastalık için potansiyel tedavi yöntemidir. Oksidatif stresin İTP'nin patogenezi ve komplikasyonlarının oluşumunda oynadığı rol göz önüne alınırsa tedavi için farklı yaklaşımlar geliştirilebilir.

Serbest oksijen radikallerinin tahrip edici etkilerine karşı, organizmada geliştirilmiş olan güçlü savunma sistemleri, peroksidasyon denilen ve hücre hasarı ile sonuçlanan reaksiyonları önlemektedir. Dokularda ve makro moleküllerde gelişen oksidatif hasarı önlemek amacıyla bütün canlı organizmalarda kompleks özellikleri olan enzimatik ve non enzimatik antioksidan sistemler geliştirilmiştir. Vücutta antioksidan enzimlerin en önemlileri SOD, GPx ve CAT'dır. Non enzimatik sistemin en önemli maddelerini ise E vitamini, C vitamini ve β -karoten gibi maddeler oluşturmaktadır. Son yıllarda ürik asit ve taurin gibi maddelerin de antioksidan özelliklerinin olduğu saptanmıştır (133,134).

Antioksidan sistemler normalde bir bütünlük içinde çalışarak, hücreyi serbest oksijen radikallerinin toksik hasarına karşı korumaktadırlar. Bunu, organizmadaki oksidan ve antioksidan sistemleri denge halinde tutarak sağlamaktadırlar. Bir antioksidandaki azalma diğerindeki artma ile kompanse edilebilmektedir. Bu dengenin prooksidanlar ve oksidanlar lehine bozulduğu durumlarda, lökositler tarafından enflamatuar mediatörler ve serbest oksijen radikalleri üretilmektedir. Bunlar da hücre membranlarında lipid peroksidasyonu oluşturarak hücre hasarına ve hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, özellikle eritrositlerde olmak üzere, hücre membranları serbest oksijen radikallerine karşı çok hassastır. (130,131).

Pek çok hastalıkta, oksidatif stresin bir sebep mi, yoksa primer hastalık sürecinin bir sonucu mu olduğu açık değildir.

Erişkinlerde İTP hastalığı ile oksidan-antioksidan kapasite arasındaki ilişkiyi araştıran tek çalışma Polat ve ark. (15)'nin yapmış olduğu çalışmadır. Erişkin İTP'li hastalarda lipid peroksidasyonu ve antioksidanların rolünü araştırmak için yapılan bu çalışmada plazma ve eritrosit malondialdehit (MDA), eritrosit glutatyon ve askorbik asit seviyeleri analiz edilmiş ve İTP'li hastalarda eritrosit ve plazma MDA seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek, eritrosit glutatyon ve askorbik asit seviyesi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur.

İTP dışında, litaretürde etyolojide otoimmüitenin rol aldığı bir çok hastalık mevcuttur. Henoch-Schönlein purpurası (HSP), Sistemik lupus erimatozus (SLE), Behçet hastalığı, romatoid artrit, hemolitik anemiler, tip 1 diabetes mellitus gibi otoimmun hastalıklarda artmış oksidatif stres bulunmuştur (138-140).

Ece ve ark. (216)'nin çocuk yaş grubunda HSP vaskülitinin patogenezinde oksidatif stresin rolünün değerlendirildiği bir çalışmada, hastalığın aktif olduğu dönemde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA seviyeleri özellikle yüksek; TAK, paraoksanaz, arilesteraz,

CAT aktiviteleri ise düşük bulunmuştur.

Ayçiçek ve ark. (217)'nin çocuk yaş grubunda bakteriyel menenjitte total oksidan-antioksidan durumu değerlendirdikleri çalışmalarında menenjitli çocuklarda kontrol grubuna göre TAK seviyelerinin daha düşük, serum lipid hidroperoksit, TOS ve OSİ'nin daha yüksek olduğu ve uygulanan tedavi ile bu durumun düzeldiği bulunmuştur.

Işık ve ark. (218)'nin kronik sistemik inflamatuvar bir hastalık olan Behçet hastalığında yaptığı bir çalışmada hasta grubunda TAK, sülfidril grubu, seruloplazmin değerleri ile paraoksanaz ve arilesteraz aktiviteleri kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulunmuş; buna karşılık total peroksit, lipid hidroperoksit ve OSİ değerleri belirgin derecede yüksek bulunmuştur.

Kurien ve ark. (219)'nin erişkin yaş grubunda Sistemik lupus eritematozis (SLE) üzerinde yaptıkları bir çalışmada, SLE'nin patogenezinde lipid peroksidasyonunun önemli rol oynadığını belirtmişler ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasta grubunda süperoksit ve hidroksi radikalleri ve özellikle de malondialdehid seviyesini yüksek; katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim seviyelerini de düşük bulmuşlardır.

Sarban ve ark. (220)'nin erişkin yaş grubunda yaptıkları bir çalışmada Romatoid Artrit (RA) grubunda, Osteo Artrit (OA) grubu ve kontrol grubuna göre plazma TAK seviyesi, eritrosit GSH-Px ve CAT aktivitesi düşük; plazma MDA konsantrasyonu yüksek bulunmuştur.

Çocukluk çağında görülen akut İTP'nin her iki cinsiyette eşit sıklıkta görüldüğü bilinmektedir (20.21). Çalışmamızdaki çocukların %37'si erkek, % 63'ü kız idi. SLE gibi otoimmün hastalıklar kızlarda daha sık görülmektedir. Ancak çalışmamızdaki hastaların takibi süresince hiçbirinde otoimmün hastalık saptanmadı.

Kortikosteroidler birçok sistem üzerine etki ederler. Hücrel immün yanıt üzerine baskılayıcı etkileri nedeniyle otoimmün hastalıkların tedavisinde ve organ transplantasyonu yapılanlara transplantın reddini önlemek için yüksek dozda uygulanır (221-223). Kortikosteroidlerin immünsüpresif etkileri monosit, makrofaj ve endotel hücrelerinin aktive edilmesi ve sitokin salgılanmasının inhibisyonuna dayanır. Esas olarak T lenfositlerin rol aldığı hücrel immün yanıtı baskırlar. Kanda dolaşan T lenfositlerin sayısını azaltır.

Kortikosteroidler antienflamatuvar etkisini endotelial lökosit adezyon molekülü (ELAM-1) ve intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1)'in sentezini inhibe ederek iltihap hücrelerinin damar dışına migrasyonunu engelleyerek gösterir. Akut faz reaktanlarının, iltihap yapıcı interlökinlerin (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6), trombosit aktive edici faktörün (PAF),

interferon-gama ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-alfa) gibi sitokinlerin sentezini ve salınmasını inhibe ederler. Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) sentezini ve salınımını uyarırlar. Kortikostreoidler nötrofiller tarafından doku plazminojen aktivatörü salgılanmasını inhibe ederek fibrinolizisi azaltırlar; ayrıca fosfolipaz A2 enzimini inhibe ederek bütün eikozanoidlerin oluşumunu azaltırlar (221,222). Böylece birkaç saat-birkaç gün içinde inflamasyon baskılanır.

İTP'de standart tedavi steroid tedavisidir. Kortikosteroidler İTP'de trombosit sayısını arttırdığı gösterilen ve tedavide kullanılan ilk ilaçtır. Kortikosteroidler antikör kaplı trombositlerin dalakta fagositozunun inhibisyonuyla trombosit yaşam süresinin uzamasını sağlayarak, antitrombosit antikörlerin yapımını inhibe ederek, kapiller stabiliteyi artırarak ve trombositopeniye bağlı endotelial bozukluğu düzelterek etki etmektedir. Bu durum İTP' de steroid tedavisi ile trombosit sayısında artma olmadan da kanama eğilimi azalmaktadır. Bu durum damar stabilitesinde artışla izah edilmektedir. Ancak steroidlerin damar stabilitesini arttırmadaki etki mekanizması yeterince açık değildir.

Yıldırım ve ark. (224)'nin adrenaektomili fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, adrenaektomi sonrasında farelerin serumlarında ve mide dokularında peroksidaz ve süperoksid dismutaz gibi antioksidan enzimlerin seviyelerinin azaldığını, daha sonra uygulanan prednizolon infüzyonunu takiben bu enzim seviyelerinde anlamlı derecede yükselme olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar metilprednisolonun antioksidan etkisini doğrudan değil de, membran lipid peroksidasyonunu ve dolayısı ile hidroksi radikal oluşumunu engelleyerek gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

Bizim çalışmamızda da İTP tanısı alan hastalarda ortalama TAK seviyesinin, paraoksonaz ve arilesteraz ativitelerinin azaldığı, TOS ve OSİ'nin arttığı; bir haftalık metil prednizolon tedavisi sonrasında ortalama TAK seviyesinin, paraoksonaz ve arilesteraz ativitelerinin arttığı, TOS ve OSİ'nin azaldığı tespit edildi. Bu sonuçlar, diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi, İTP'li hastalarda da TAK seviyesinin düştüğünü, oksidatif stresin arttığını, yüksek doz MP tedavisinin TAK ve OSİ seviyelerinin düzeltmede önemli katkısının olduğunu göstermiştir. Damar stabilitesinin artırılmasında endotel üzerindeki oksidan hasarın azaltılması, antioksidan etkinin artırılması ve endoteli koruyucu diğer enzimlerin rollerinin de olabileceğini düşünmekteyiz.

Birçok hastalıkta serum paraoksonaz seviyeleri değişmektedir. Serum PON1 seviyesinin azaldığı bu hasta gruplarında oksidatif stres artmaktadır (225). Bu çalışmalar

serbest radikallerin patogeneizde rol oynadığı hastalıklarda PON1 enziminin önemini ortaya çıkarmıştır (225). Literatürdeki çeşitli çalışmalarda, bazı hastalık durumlarında paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinin azaldığı ve bu hastalıkların ateroskleroz için risk faktörü olduğu bildirilmiştir.

Packard CJ ve ark. (226)'nın koroner arter hastalıklı olgularda PON1 düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Selek ve ark. (227)'nin yaptığı bir çalışmada beta-talasemi minor olan erişkin hastalarda oksidatif stresin artarak PON1 enzim aktivitesini azalttığını, bununla beraber LOOH seviyelerinin ise arttığını rapor etmişlerdir.

Altındağ ve ark. (228)'nin erişkin yaş grubunda Romatoid Artritli (RA)'li hastalarda yaptığı ve LOOH, SH, seruloplazmin seviyesi, paraoksanaz ve arilesteraz aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmada RA'li hasta grubunda kontrol grubuna göre LOOH seviyesi yüksek; SH, seruloplazmin seviyesi, paraoksanaz ve arilesteraz aktiviteleri düşük bulunmuştur. Hasta grubunda paraoksanaz aktivitesi ile LOOH seviyesi arasında negatif korelasyon bildirilmiştir. Paraoksanaz ve arilesteraz aktivitelerinin antiaterosklerotik etkilerinin yanında, antioksidan özelliklerinin olduğu, bu antioksidanların azalmasının RA'li hastalarda artmış oksidatif strese neden olarak doku hasarından başka ateroskleroz gelişimini tetikleyebileceğini bildirmişlerdir.

Çakmak ve ark. (229)'nin beta talasemi majörlü (BTM) çocuk hastalarda yaptığı çalışmada kontrol grubuna göre serum paraoksanaz aktivitesi azalırken, oksidatif stresin arttığı saptanmıştır. Paraoksanaz aktivitesindeki azalmanın hem oksidatif stresin derecesi ile, hem de anemi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. BTM'li hastaların düşük serum paraoksanaz ve arilesteraz aktivitelerinden dolayı aterogeneze gelişimine yatkın olabileceği belirtilmiştir.

Çalışmamızda İTP tanısı alan hastalarda ortalama paraoksanaz ve arilesteraz aktivitelerinin azaldığı saptandı. Bu durum İTP'li hastalarda trombositopeni yanında, damar endotel fonksiyonlarının da etkilenebildiğini göstermektedir. Ancak serum paraoksanaz ve arilesteraz aktivitelerindeki kısa süreli azalmanın, ileri yaşlarda ateroskleroz gelişimine katkıda bulunup bulunamayacağını söyleyemeyiz.

Amer J. ve ark. (230)'nin beta talasemili hastalarda yaptığı bir çalışmada trombositlerinde artmış reaktif oksijen radikalleri ve azalmış glutatyon seviyeleri gösterilmiştir. Alfa talasemi, orak hücreli anemi ve glukoz 6 fosfat dehidrogenaz enzim eksikliği olan hastalarda da oksidatif stresin arttığı ve antioksidan kapasitenin düştüğü

gösterilmiştir (231-233). Beta talasemili hastaların vitamin E ve vitamin C preparatları ile desteklenmesi sonrasında plazma glutasyon seviyelerinin artışı bildirilmiştir (234).

Jarvik ve ark. (235)'nin yaptığı bir çalışmada hasta grubunun diyetlerine doğal antioksidan yapılar olan C vitamini ve folik asit eklenmesinin paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesini arttırdığını rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada Jesup ve ark. (236) LDL oksidasyonunun endojen lipofilik antioksidan yapıları bileşiklerin (E vitamini, beta-karoten ve likopen vb.) azalmasından sonra başladığını bildirmektedirler.

Çalışmamızda İTP tanısı alan çocuk hastalarda yüksek doz steroid tedavisi sonrasında tedavi öncesiyle kıyaslandığında paraoksonaz, arilesteraz aktivitelerinin artışı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu durum tedavi amacıyla verilen steroidin etkisiyle olabileceği gibi antioksidan özelliği olduğu bilinen trombosit sayısındaki artıştan da kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca İTP hastalarında serbest radikal üretiminin azaltılması hastalarındaki klinik durumun düzelmesine katkıda bulunabilir. Bu amaçla İTP hastalarında antioksidan kapasiteyi arttırmak için doğal veya sentetik antioksidanların kullanımı önerilebilir.

Fıçıcılar ve ark. (237)'nin yaptığı invitro bir çalışmada oksidan-antioksidan durumdan trombosit fonksiyonlarının etkilendiği ve oksidan strese karşı antioksidan kapasiteyi arttırmada trombositlerin sekresyonunu azaltarak katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Yang ve ark. (238)'nin yaptığı bir başka invitro çalışmada oksidatif hasar oluşturulan hücrelerde, trombositlerden salınan Transforming growth factor-1 eklenmesinden sonra apoptozis oranında anlamlı azalma ve antioksidan etki tespit edilmiştir.

Mınnet ve ark. (138)'nin çocukluk çağında B₁₂ vitamin eksikliğinin oksidan-antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisini incelediği bir çalışmada, trombositopenik çocuklarda tedavi öncesinde ortalama TOS değerlerinin trombositopenik olmayanlardan yüksek olduğu, ortalama TAK değerlerinin ise düşük olduğu saptanmış, ancak tedavi sonrasında bu farkın ortadan kalktığı bulunmuştur. Ayrıca tedaviden sonra trombosit sayısı ile TAK arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Ağır B₁₂ vitamin eksikliği olan çocuklarda tedavi sonrasında, hafif B₁₂ vitamin eksikliği olan çocuklarda ise tedavi öncesi TOS ile trombosit sayısı arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Trombositlerin antioksidan kapasiteyi arttırmada ve oksidan stresi azaltmada önemli rolünün olabileceği bildirmişlerdir.

Çalışmamızda trombosit sayısı ile ortalama TAK seviyesi arasında pozitif korelasyon, TOS ve OSİ seviyeleri ile negatif korelasyon saptandı. Tedaviye cevaba göre çalışma grubu

tam yanıtli ve kısmi yanıtli olarak değerlendirildi. Bunu yapmamızdaki amaç trombosit sayısı ile oksidan-antioksidan sistem seviyelerin ne Şekilde etkileneceğini göstermekti. Tam yanıtli hasta grubunda TOS ve OSI seviyelerinde daha iyi azalma görülmüşken, kısmi cevaplı hasta grubunda paraoksanaz aktivitesinde daha iyi yükselme saptandı. Bu sonuçlar trombositlerin antioksidan kapasiteyi attırmada ve oksidan stresi azaltmada önemli katkılarının olduğunu düşündürmektedir. Ancak TAK'taki artıŐın trombosit sayısındaki artıŐın etkisi ile mi oluştuğu yoksa steroidin etkisiyle mi oluştuğunu açık değildir.

Bu sonuçlara göre oksidatif hasar İTP'nin patogenezi ile yakından ilgilidir. Bulgularımız trombositlerdeki sayısal ve yapısal değişikliklerden sadece antijen-antikör kompleksinin sorumlu olmadığını; serbest oksijen radikallerinin trombositlerin yapısal, fonksiyonel hasarında ve trombositopeninin oluŐ mekanizmasında önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. İTP'li hastalarda trombosit yıkımı ve kanamanın lipid peroksidasyonunun artması, antioksidan kapasitenin azalması ile de ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Nötrofillerin immun ve fagositik özellikleri yanında, içerdikleri birçok enzim nedeniyle oksidan-antioksidan sisteme etkileri olmaktadır. Aktive edildiklerinde reaktif oksijen molekülleri oluŐturmanın yanında, özellikle C vitamininin de etkisiyle glutasyon peroksidaz, süperoksid dismutaz ve katalaz gibi enzimlerle antioksidan etki oluşturabilirler.

Ayrıca son yapılan çalışmalarda oksidan strese karşı nötrofillerin NADPH-oksidaz kompleks ve protein kinaz-C maddelerini salgılayarak antioksidan etki oluŐturdukları gösterilmiştir (239,240).

Fagositer hücrelerdeki glutasyon peroksidaz, diğer antioksidanlarla birlikte, solunum patlaması sırasında oluşan serbest radikal peroksidasyonuna bağlı fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. GPx eritrositlerde de oksidan strese karşı en etkili antioksidandır (134,241). Damar endotel hücrelerinde ve trombositlerdeki GPx, NO inaktivasyonunu önleyerek ve yapımını artırarak LOOH düzeyinde azalma yapmaktadır. Ayrıca glutasyon peroksidaz üzerinden trombosit agregasyon fonksiyonlarını da azaltmaktadır. Oksidatif zedelenme durumunda trombositler aktive olmakta, araşidonik asit metabolizması uyarılmakta, bu da lipoksijenaz yolunu uyararak agregasyon oluşmaktadır. Agregasyon durumunda NO inhibe olmaktadır. Bu esnada oluşan LOOH, NO yokluğunda trombositlerdeki glutasyon peroksidaz tarafından azaltılabilmektedir (242).

Çalışmamızda İTP tanısı alan hastalarda ortalama WBC sayısının bir haftalık metilprednizolon tedavisi sonrasında belirgin Şekilde arttığı tespit edildi. Kortikosteroidler

hematopoetik sisteme etki ederek kemik iliğinde eritrosit, polimorfonükleer lökosit ve trombosit yapımını artırır. Kanda eozinofil, bazofil, monositlerin ve lenfositlerin sayısını azaltır. Çalışmamızda akut İTP tanısı alan çocuklarda lökosit sayısı ile arilesteraz arasında pozitif korelasyon bulunuyordu. Sonuçta MP tedavisi sonrası beyaz kürelerin sayılarındaki artış ve/veya fonksiyonlarındaki değişikliklerin de antioksidan kapasitenin artışına katkı sağladığı düşünülebilir.

Demir iyonu lipid peroksidasyonunda önemli bir iyondur ve yüksek hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açar. Lipid peroksidasyonu sonucu bu serbest radikallerin fazla üretimi ile malondialdehid seviyelerinde artış meydana gelir. Buna karşın antioksidan olan glutatyon ve askorbik asit, serbest radikallerin seviyesini azaltıcı etki ederler. Hastalarda glutatyon seviyesindeki düşüklük, artan serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidasyona bağlı olabilir (15).

Çalışmamızda İTP tanısı alan hastalarda ortalama hemoglobin değerinin azaldığı, steroid tedavisi sonrasında hemoglobin değerinin arttığı saptandı. Tedavi öncesi hemoglobin değerlerinin kontrol grubuna göre düşük saptanmasının bu vakalarda tedavi öncesi trombositopeni nedeniyle oluşan hematoma, gingival kanama vb. gibi nedenlerle oluşmuş olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak hastalarımızın hiç birinde eritrosit süspansiyonu transfüzyonu yapılacak kadar hemoglobinde düşme saptanmadı. İTP hastalarında hastalığın seyrinde görülen kanamalar ve kanama sonrasında dokularda artan demir iyonunun oksidan-antioksidan sistemde oksidatif stresin artmasına neden olabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Çalışmamız:

1. İTP tanısı alan hastalarda ortalama TAK seviyesinin, paraoksonaz ve arilesteraz ativitelerinin azaldığını; TOS ve OSİ seviyelerinin arttığını,
2. Bir haftalık metil prednizolon tedavisi sonrasında ortalama TAK seviyesinin, paraoksonaz ve arilesteraz ativitelerinin arttığını; TOS ve OSİ seviyelerinin azaldığını,
3. Ortalama WBC ve trombosit sayılarının bir haftalık metilprednizolon tedavisi sonrasında belirgin şekilde arttığını göstermiştir.

Bu sonuçlara göre;

Akut İTP'nin patogeneğinde oksidan-antioksidan dengesinin oksidatif stresin artması yönünde bozulması da rol oynayabilir. Oksidatif stres üzerine kortikosteroid tedavisinin direk etkisi yanında, trombosit ve beyaz küre sayılarını artırması ile oksidan-antioksidan sistemi etkilediği düşünülebilir.

Çalışmamız çocukluk çağı akut İTP hastalarında TAK, TOS, OSİ seviyeleri ile paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin birlikte yorumlanması yönünden literatürde ilk olması nedeniyle önemli olduğunu düşünmekteyiz. Bu konunun daha iyi anlaşılması açısından yeni çalışmalara öncülük edeceğini düşünüyoruz.

7. KAYNAKLAR

1. Montgomery RR, Scott JP. Platelet and Blood Vessel Diseases. Behram RE, Kliegman, Jenson HB (editors). Nelson Textbook of Pediatrics. 17th Edition, Philadelphia; Saunders, 2004; 1670-71.
2. Imbach P. Immune thrombocytopenic purpura. In: Lilleyman J, Hann I, Blanchette V, eds. Pediatric Hematology, second ed. London: Churchill Livingstone Harcourt Publishers Ltd.1999; 437-53.
3. Lowe EJ, Buchanan GR. Idiopathic thrombocytopenic purpura diagnosed during the second decade of life. J Pediatr, 2002; 141: 253-58.
4. Dilber C. İdiopatik Trombositopenik Purpura. Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler Pediatrik Hematoloji Özel sayısı 2005; 1: 48-51.
5. Taub JW, Warrier I, Holtkamp C, Beardsley DS, Lusher JM. Characterization of autoantibodies against the platelet glycoprotein antigens IIb/IIIa in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. Am J Hematol, 1995; 48: 104-7.
6. Fujisawa K, McMillan R. Platelet associated antibody to glycoprotein IIa/IIIb from chronic immune thrombocytopenic purpura patients often binds to divalent cationdependent antigens. Blood, 1993; 81: 1284-7.
7. Kunicki TJ, Newman PJ. The molecular immunology of human platelet proteins. Blood 1992; 80: 1386.
8. Kiefel V, Santoso S, Kaufmann E, et al. Antibodies against glykoprotein Ib/IX: a frequent finding in autoimmune thrombocytopenic purpura. Br J Hematol, 1991; 79: 256.
9. Berchold P, Wenger M. Antibodies against platelet glycoproteins in autoimmune thrombocytopenic purpura: their clinical significance response to treatment. Blood, 1993; 8: 1246
10. Bussel J, Cines D. İmmune Trombocytopenic purpura, Neonatal alloimmune trombocytopenia, and posttransfusion purpura. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil Philadelphia: Churchill livingstone, 2000; 2086-114.
11. George JN. The origin and significance of platelet IgG. In: Kunicki TJ, George JN editors. Platelet immunobiology, molecular and clirical aspects. Philadelphia, PA Lippincott, 1989; 305-36

12. Kelton JG, Murphy WG, Lucarelli A, et al. A retrospective comparison of four techniques for measuring platelet-associated IgG. *Br J Hematol*, 1989; 97: 105-8.
13. Mueller-Eckhardt C, Kayser C, Mersch-Baumert K, et al. The clinical significance of platelet-associated IgG: A study of 298 patients with various disorders. *Br J Hematol*, 1980; 46: 123-31.
14. Wentworth PJ, Jones LH, Wentworth AD, et al. Antibody catalysis of oxidation of water. *Science* 2001; 293: 1806-11.
15. Polat G, Tamer L, Tanrıverdi K, et al. Levels of malondialdehyde, glutathione and ascorbic acid in idiopathic thrombocytopenic purpura. *East Afr Med J* 2002;79:446-9.
16. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum Paraoxonase. *Gen Pharm*, 1998; 3: 329-36.
17. Suchocka Z, Swatowska J, Pachecka J, et al. RP-HPLC determination of Paraoxonase activity in human blood serum. *J of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2006; 42: 113-9.
18. Cathcart MK, McNally AK, Chisolm GM. Lipoxygenase-mediated transformation of human low density lipoprotein to oxidized and cytotoxic complex. *J Lipid Res*, 1991; 32: 63-70.
19. Dameshek W, Rubio Jr, F Mahoney JP, et al. Treatment of ITP with prednisone. *JAMA*, 1958; 166: 1805-15.
20. Disorders of Platelets. Lanzkowsky P. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*, Fourth Edition. Elsevier Inc, 2005; 250-63.
21. Acquired Platelet Defects. Nathan and Oski (eds) *Haematology of Infancy and Childhood*, Sixth Edition. Saunders Company, Philadelphia, 2003; 1597-609.
22. Aslan D, Yetgin S. İmmun Trombositopeni. *Katkı Pediatri Dergisi*, 2002; 23: 343-57.
23. Aziza T, Corina E. Treatment of Immune Thrombocytopenic Purpura in Children. *Pediatr Drugs*, 2005; 7: 325-36.
24. Cines DB, McKenzie SE, Siegel DL. Mechanisms of action of therapeutics in idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Pediatr Hematol/Oncol*, 2003; 25: 52-6.
25. Freedman J: ITP: An overview of the Conference and Future Directions With an Abbreviated ITP History. *J Pediatr Hematol/Oncol*, 2003; 25: 77-84.
26. Harrington W, Minnich V. Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. *J Lab Clin Med*, 1951; 38: 1-10.

27. Harrington W, Sprague C, Minnich V, et al. Immunologic mechanisms in idiopathic and neonatal thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med* 1953; 38: 453-65.
28. Shulman NR, Marder VJ, Weinrach RS. Similarities between known antiplatelet antibodies and the factor responsible for thrombocytopenia in idiopathic purpura: physiologic, serologic and isotopic studies. *Ann NY Acad Sci* 1965; 124: 499-542.
29. Shulman NR, Weinrach RS, Libre EP, et al. The role of the reticuloendothelial system in the pathogenesis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Trans Assoc Am Physicians*, 1965; 78: 374-90.
30. van Leeuwen EF, van der Von JTH, Engelfriet CP, et al. Specificity of autoantibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Blood*, 1982; 59: 23-6.
31. Atabay B. Immune Thrombocytopenic Purpura: Pathophysiology, Diagnosis and Treatment . SSK Tepecik Hast Dergisi, 2003; 13: 63-74.
32. Neyzi O, Ertuğrul T. Anemiler, idiyatik trombositopenik purpura. *Pediatrici 3. baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul*, 2002;2:1042-54, 1078-84.
33. Quantative Abnormalities of Platelets. Caroline A. Hastings, Bertram H. Lubin In: Rudolph's Fundamentals of Pediatrics, Third Edition. McGraw-Hill Companies Inc.1998; 553-76.
34. Blanchette V, Carcao M. Approach to the Investigation and Management of Immune Thrombocytopenic Purpura in Children . *Semin Hematol*, 2000; 37: 2991-3006.
35. Sutor AH, Harms A, Kaufmehl K. Acute Immune Thrombocytopenia (ITP) in Childhood:Retrospective and Prospective Survey in Germany. *Semin Thromb Hemost*, 2001; 27: 253-67.
36. Kühne T, Imbach P, Bolton-Maggs PHB, et al. Newly diagnosed idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood: an observational study. *Lancet*, 2001; 358: 2122-25.
37. Lee SM, Choi EJ, Lee KS, et al. Childhood acute immune thrombocytopenic multicenter study of Korean Pediatric Hematology and Oncology Study Group. *Int J Hematol*, 2002; 76: 5.
38. Monto AS. Epidemiology of viral respiratory infections. *Am J Med*, 2002; 112: 4-12.
39. Lilleyman JS: Management of childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 1999; 105: 871-5.
40. Douglas B, Blanchette VS: Immune Thrombocytopenic Purpura. *N Engl J Med*, 2002;

- 346: 995-1008.
41. Panepinto JA, Brousse DC: Acute idiopathic thrombocytopenic purpura of childhood-diagnosis and therapy. *Pediatric Emergency Care*, 2005; 10: 691-5.
 42. Kose M, Ozdemir M, Gumus H, Karakukcu M, Akcokus M: Serum leptin levels in patients with childhood ITP. *J Pediatr Hematol Onco*, 2007; 29: 23-6.
 43. Farrington P, Pugh S, Colville A: A new method for acute surveillance of adverse events from diphtheria/tetanus/pertussis and measles/mumps. *Lancet*, 1995; 345: 567-9.
 44. Burdach SEG, Guersen RG: Mechanisms of intravenous immunoglobulin treatment in childhood acute idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Res*, 1985; 19: 259.
 45. Bussel J. Fc Receptor Blockade and Immune Thrombocytopenic Purpura. *Seminars in Hematology*, 2000; 37: 261-6.
 46. McMillan R: Autoantibodies and autoantigens in chronic immune thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol*, 2000; 37: 239-48.
 47. Berchtold P, McMillan R, Tani P, et al. Autoantibodies against platelet membran glycoproteins in children with acute and chronic immune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 1989; 74: 1600.
 48. Taub JW, Warrier I, Holtkamp C, et al. Characterization of autoantibodies against the platelet glycoprotein antigens IIb/IIIa in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol*, 1995; 48: 104.
 49. Nielsen HE, Andersen EA, Carlsen N, et al. Presence of platelet antibodies idiopathic thrombocytopenic purpura may discriminate acute from chronic disease. *Acta pediatr*, 2003; 92: 1208-10.
 50. Mc Millan R: Antiplatelet antibodies in chronic adult immune thrombocytopenic purpura: assay and epitopes. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2003; 1: 857-61.
 51. Koerner TAW, Wienfeld HM, Bullard LSB, et al. Antibodies against platelet glycosphingolipids: detection in serum by quantitative HPTLC-autoradiography and association with autoimmune and alloimmune processes. *Blood* 1989; 74: 274-84.
 52. Ünal S, Yetgin S. Demir eksikliği anemisi. *Katkı Pediatri Dergisi*, 2003; 25: 327-45.
 53. Emilia G, Longo G, Luppi M, et al. Helicobacter pylori eradication can induce platelet recovery in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 2001; 97: 812-4
 54. Di Paola JA, Buchanan GR. Immune thrombocytopenic purpura. *Pediatr Clin N Am*, 2002; 49: 911-28.

55. Gianani R, Sarvetnick N. Viruses, cytokines, antigens and autoimmunity. *Natl Acad Sci*, 1996; 93: 2257-9.
56. Barnaba V. Viruses, hidden self-epitopes and autoimmunity. *Immunol Rev* 1996; 152: 47-66.
57. Kanatchkine MD, Lambre CR, Kieffer N, et al. Membrane-bound hemagglutinin mediates antibody and complement-dependent lysis of influenza virus-treated human platelets in autologous serum. *J Clin Invest*, 1984; 74: 976.
58. Hayashi H, Okuda M, Aoyagi N, et al. Helicobacteri pylori infection in children with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Int*, 2005; 47: 292-5.
59. Zhou B, Zhao H, Yang R, et al. Multi-dysfunctional pathophysiology in ITP. *Critical Rev in Oncol/Hematol*, 2005; 54: 107-16.
60. Oldstone MB. Molecular mimicry and immune-mediated diseases. *FASEB J*, 1998; 12: 1255-65.
61. Wright JF, Blanchette VS, Semple JW, et al. Characterization of platelet reactive antibodies in children with varicella-associated acute immune thrombocytopenic purpura (ITP). *Br J Haematol*, 1996; 95: 145-52.
62. Laster AJ, Conley CL, Kickler TS, et al. Chronic immune thrombocytopenic purpura in monozygotic twins: genetic factors predisposing to immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*, 1982; 307: 1495-8.
63. Karpatkin S, Fotino M, Winchester R. Hereditary autoimmune thrombocytopenic purpura: an immunologic and genetic study. *Ann Med*, 1981; 94: 781-2.
64. Lippman SM, Arnett FC, Conley CL, et al. Genetic factors predisposing to autoimmune diseases: autoimmune hemolytic anemia, chronic thrombocytopenic purpura and systemic lupus erythematosus. *Am J Med*, 1982; 73: 827-40.
65. Fujimoto TT, Inoue M, Shimomura T, et al. Involvement of Fc receptor polymorphism in the therapeutic response of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 2001; 115: 125-30.
66. Karpatkin S, Fotino M, Gibofsky A, et al. Association of HLA-DRW2 with autoimmune thrombocytopenic purpura. *J Clin Invest*, 1979; 63: 1085-8.
67. Helmerhost FM, Nijenhuis LE, De Lange GG, et al. HLA antigens in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Tissue Antigens*, 1982; 20: 372-6.
68. Moller E. Mechanisms for induction of autoimmunity in humans. *Acta Pediatr Suppl*,

- 1998; 424: 16-20.
69. Nomura S, Matsuzaki T, Ozaki Y, et al. Clinical significance of HLA-DRB1*0410 in Japanese patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 1998;91:3616-22.
 70. Chang YW, Hawkins BR. HLA class I and class II frequencies of a Hong-Kong Chinese population based on marrow donor registry data. *Hum Immunol*, 1997;56:125-35.
 71. Kim TT, Inova M, Shimomura T, et al. Involvement of Fcg receptor polymorphism in the therapeutic response of idiopathic thrombocytopenic purpura. *B J Haematol*, 1984;56: 287.
 72. Kim BS, Song KS. Genetic polymorphism of human platelet specific antigen (HPA) in patients with immune thrombocytopenia. *Thromb Haemost*, 1997; Suppl:1037.
 73. Kühne T, Buchanan GR, Zimmerman S: A prospective comparative study of 2540 infants and children with newly diagnosed ITP from The Intercontinental Childhood ITP Study Group. *J Pediatr*, 2003; 143: 605-8.
 74. Buchanan GR, Adix L: Outcome measures and treatment endpoints other than platelet count in childhood ITP. *Semin Thromb Hemost*, 2001; 27(3): 277-85.
 75. George JN, Raskolo GE. Idiopathic thrombocytopenic purpura: A concise summary of the pathophysiology diagnosis in children and adults. *Semin Hematol*, 1998; 35: 58.
 76. Kühne T: Idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood: controversies and solutions. *Pediatr Blood Cancer*, 2006; 47: 50-2.
 77. Schrezenmeier H, Muller H, Gunsilius E, et al. Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia and pseudoleucocytosis. *Thromb Haemost*, 1995; 73: 506.
 78. Vicari A, Banfi G, Bonini PA: EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: 12-month epidemiological study. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48:537.
 79. Saxon BR, Blanchette VS. Reticulated platelet counts in the diagnosis of acute immune thrombocytopenic purpura. *J Pediatr Hematol/Oncol*, 1998; 20(1): 44-8.
 80. Saxon BR, Mody M, Blanchette VS, et al. Reticulated platelet counts in the assessment of thrombocytopenic disorders. *Acta Paediatrica Suppl*, 1998; 424: 65-70.
 81. George JN, Woolf SH, Raskolo GE, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood*, 1996; 88: 3-40.
 82. Ahmad Z, Durrani NU, Hazir T: Bone marrow examination in ITP in children: is it

- mandatory? *J Coll Physicians Surg Pak* 2007; 17(6): 347–9.
83. Bolton-Maggs PHB. Current topic: Idiopathic thrombocytopenic purpura. *Arch Dis Child*, 2000; 83: 220-2.
 84. Calpin C, Dick P, Foon A, et al. Is bone marrow aspiration needed in acute childhood idiopathic thrombocytopenic purpura to rule out leukemia? *Arch Pediatr Adolesc Med*, 1998; 152: 345-7.
 85. Buchanan GR. ITP: How much treatment is enough? *Contemporary Pediatric*, 2000; 4: 112.
 86. Warner M, Kelton JG. Laboratory investigation of immune thrombocytopenic purpura. *J Clin Pathol*, 1997; 50: 5-12.
 87. Chong BH, Keng TB. Advances in the diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Seminars in Hematology*, 2000; 37: 249-60.
 88. McMillan R, Smith RS, Longmire RL, et al. Immunoglobulin associated with human platelets. *Blood*, 1971; 37: 316-22.
 89. Dixon R, Rosse W, Ebbert L. Quantitative determination of antibody in idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*, 1975; 292: 230-6.
 90. Kelton JG, Powers PJ, Carter CJ. A prospective study of the usefulness of the measurement of platelet associated Ig G for the diagnosis of the idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 1982; 60: 1050-3.
 91. Mueller-Eckhardt C, Mueller-Eckhardt G, Kayser W, et al. Platelet-associated Ig G, platelet survival and platelet sequestration in thrombocytopenic states. *Br J Haematol*, 1982; 52: 49-58.
 92. Brighton T, Evans S, Castaldi CN, et al. Prospective evaluation of clinical usefulness of an antigen-specific assay (MAIPA) in idiopathic thrombocytopenic purpura and other immune thrombocytopenias. *Blood*, 1996; 88: 194-201.
 93. Beardsley DS. Platelet autoantigens: identification and characterization using immunoblotting. *Blut*, 1989; 59: 47-51.
 94. Beardsly DS, Spiegel JE, Jacobs MM, et al. Platelet membrane glycoprotein IIIa contains target antigens that bind antiplatelet antibodies in immune thrombocytopenias. *J Clin Invest*, 1984; 74: 1701-7.
 95. Warner MN, Moore JC, Warkentin TE, et al. A prospective study of protein specific assays used to investigate idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*,

- 1999;104:442-7.
96. Provan D, Newland A, Norfolk D, et al. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and pregnancy. *Br J Haematol*, 2003; 120: 574-96.
 97. Rudolph CD, Rudolph AM, Hostetter MK, et al. Disorders of platelets. *Rudolph's Pediatrics* 21st edition, 2003;1555-9.
 98. Çetin M. Kanama diyatezi düşünülen hastaya yaklaşım. *Katkı Pediatri Dergisi*. 1995;6: 795-822.
 99. Perlman MK, Schwab JG, Nachman JB, et al. Thrombocytopenia in children with severe iron deficiency. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2002; 24(5): 380-4.
 100. Söker M, Devocioğlu C, Haspolat K, et al. Çocukluk çağı akut immun trombositopenik purpurada tedavi protokollerinin irdelenmesi. *Haseki Tıp Bülteni*, 1999; 37(1): 27-31.
 101. Bolton-Maggs PHB, Moon I. Assesment of UK practice for management of acute childhood idiopathic thrombocytopenic purpura against published guidelines. *Lancet*, 1997; 350: 620-3.
 102. Rosse WF. Clinical management of adult ITP prior to splenectomy: a perspective. *Blood Rev*, 2002; 16: 1647-9.
 103. Kumars, Diehn FE, Gertz MA, et al. Splenectomy for immune thrombocytopenic purpura: long-term results and treatment of postsplenectomy relapses. *Ann Hematol*, 2002; 81: 312-9.
 104. Buchanan GR, Holtcamp CA. Prednisone therapy for children with newly diagnosed idiopathic thrombocytopenic purpura. A randomized clinical trial. *Am J Pediatr Hematol Oncol*, 1984; 6: 355-61.
 105. Blanchette V, Imbach P, Andrew M, et al. Randomised trial of intravenous immunoglobulin G, intravenous anti-D, and oral prednisone in childhood acute immune thrombocytopenic purpura. *Lancet*, 1994; 344: 703-7.
 106. Carcao MD, Zipursky A, Butchard S, et al. Short course oral prednisone therapy in children presenting with acute immune thrombocytopenic purpura (ITP). *Acta Pediatr*, 1998; 424: 71-4.
 107. Bolaman Z, Camcı C, Sönmez H.M, et al. High dose methylprednisolone therapy before splenectomy for chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haema*,

- 2000; 3(3): 180-4.
108. Andersen JC. Response of resistant idiopathic thrombocytopenic purpura to pulsed highdose dexamethasone therapy. 1994; 330: 1560-4.
 109. Imbach P, Barandun S, Appuzo V, et al. High dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. *Lancet*, 1981; 1: 1228-31.
 110. Rossi F, Kazatchkine MD. Anti-idiotypes against autoantibodies in pooled normal polyspecific Ig. *J Immunol*, 1989; 143: 4104-9.
 111. Van Hoff J, Ritchey AK. Pulse methylprednisolone therapy for acute childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*, 1989; 42: 431-5.
 112. Lechner K, Rintelen C, Weltermann A, et al. The risk of bleeding and the risk over treatment in immune thrombocytopenic purpura. *Hematol J*, 2002; 162-5.
 113. Berchtold P, Dale GL, Toni P, et al. Inhibition of autoantibody binding to platelet glycoprotein IIb/IIIa by anti-idiotypic antibodies in intravenous gammaglobulin. *Blood*, 1989; 74: 2414-7.
 114. Freiberg A, Mauger D. Efficacy, safety and dose response of intravenous anti-D immune globulin (WinRho SDF) for treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *Semin Hematol*, 1998; 35(1): 23-7.
 115. Sandler SG, Mallory D, Nance ST, et al. Intravenous anti-D treatment for immune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 1998; 91(7): 2624-5.
 116. Andrew M, Blanchette VS, Adams M, et al. A multicenter study of the treatment of childhood chronic idiopathic thrombocytopenic purpura with anti-D. *J Pediatr*, 1992; 120: 522-7.
 117. Gaines AR. Acute onset hemoglobinemia and/or hemoglobinuria and sequele following Rh(o)(D) immune globulin intravenous administration in immune thrombocytopenic purpura patients. *Blood*, 2000; 95: 2523-9.
 118. McCrae KR, Bussel JB, Mannucci PM, et al. Platelets: An update on diagnosis and management of thrombocytopenic disorders. *Hematology* 2001: 282-305.
 119. Kuwana M, Kawakami Y, Ikeda Y. Suppression of autoreactive T-cell response to glycoprotein IIb/IIIa by blockade of CD40/CD154 interaction: implication for treatment of immune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 2003; 101(2): 621-3.
 120. Arzoo K, Sadeghi S, Liebman HA. Treatment of refractory antibody mediated autoimmune disorders with an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab). *Ann*

- Rheumatic Dis, 2002; 61: 922-4.
121. Blanchette V. Childhood chronic immune thrombocytopenic purpura: unresolved issues. *J Pediatr Hematol/Oncol*, 2003; 25(1): 28-33.
 122. Lilleyman JS. Intracranial hemorrhage in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Arch Dis Child*, 1994; 71: 251-3.
 123. Medeiros D, Buchanan GR. Current controversies in the management of idiopathic thrombocytopenic purpura during childhood. *Pediatric Clin N Am* 1996; 43(3):757-72.
 124. Lusher JM, Emami A, Tavindtanath Y, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura in children the cause for management without corticosteroids. *Am J Pediatr Hematol/Oncol*, 1984; 6: 149-57.
 125. Kumar M, Terry AV, Johnson CS, et al. Treatment, outcome, and cost of care in children with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol*, 2005; 78: 181-7.
 126. Reid MM. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: incidence, treatment and outcome. *Arch Dis Child*, 1995; 72: 125-8.
 127. Raymond GW. Idiopathic thrombocytopenic purpura: A 10-year natural history study at the Childrens Hospital of Alabama. *Clin Pediatr*, 2004; 43: 691-702.
 128. Ballin A, Kenet G, Tamary H, et al. Infantil idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Hematol/Oncol*, 1990; 7: 323-8.
 129. Kehrer JP, Smith CV. Free radicals in biology: Sources Reactivities and Roles in the Etiology of Human Diseases. *Natural Antioxidants in Human and Disease*, 1994:25-62
 130. Halliwell B. Oxidative stres, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioksidant intake in humans. *Free radicals Res*, 1996; 25: 57-74.
 131. Southorn PA. Free radicals in medicine. Chemical nature and biological reactions. *Mayo Clin. Proc*, 1998; 63: 381-9.
 132. Nakazawa H. Pathological aspects of active oxygen/free radicals. *Japan J. Physiol*, 1996; 46: 15-32.
 133. Kılınç, K. and A. Kılınç, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*, 2002; 33(2): 110-8.
 134. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, ed.1.1995, Konya: Mimoza yayınları.
 135. Dore, S., M. Takahashi, C.D. Ferris, et al. Bilirubin, formed by activation of heme

- oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999; 96(5): 2445-50.
136. Kremer, T. and M.R. et al. Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase. *Respiratory Research*, 2004; 5: 16.
137. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull*, 1993; 49: 479–480.
138. Minnet C. Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık tezi, 2006.
139. Bayir H, Kagan VE, Tyurina YY et al. Assessment of antioxidant reserves and oxidative stress in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children. *Pediatric Research*, 2002; 51: 571-8.
140. Cırak B, İnci S, Palaoglu S et al. Lipid peroxidation in cerebral tumors. *Clinica Chimica Acta*, 2003; 327: 103-7.
141. Uysal M: Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada peroksidan-antioksidan dengesi etkileyen koşullar. *Klinik gelişim*, 1998; 11: 336-41.
142. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T, Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon dergisi*, 1997; 3: 92-5.
143. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *Journal of Dermatological Science*, 2000; 27: 1-4.
144. Genestra M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cell Signal*, 2007; 19: 1807-19.
145. Yiğit A, Yurdakök M. Yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 1997; 39: 749-65.
146. Baykal Y, Gök F, Erikçi S. Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. *Sendrom*, 2002; 14(1): 94-100.
147. Asad, S.F., S. Singh, A. Ahmad, et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study, *Chem Biol Interact*, 2001; 137: 59-74.
148. Hegyi, T., E. Goldie, and M. Hiatt. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. *J. Perinatol*, 1994; 14: 296-300.
149. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 2006; 160: 1-40.

150. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci*, 1991; 48: 301-9.
151. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. *Chem Phys Lipids*, 1987; 45: 337-51.
152. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci*, 1990; 15: 129-35.
153. Henderson LM, Chappell, Jones TG. Internal pH changes associated with the activity of NADPH oxidase of human neutrophils. *Biochem J*, 1988; 251: 563-7.
154. Marubayashi S, Dohi K, Ochi K et al. Role of free radicals in ischemic rat liver cell injury: Prevention of damage by alpha-tocopherol administration. *Surgery*, 1986; 99: 184-91.
155. Dormandy TL. In praise of peroxidation. *The Lancet*, 1988; 12: 1126-8.
156. Cadenas E. Biochemistry oxygen toxicity. *Annu. Rev. Biochem*, 1989; 58: 79-110.
157. Clemens MR, Waller HD. Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem Phys Lipids*, 1987; 45: 251-68.
158. Van Bebber IPT, Boekholz WKF, Goris RJA et al. Neutrophil function and lipid peroxidation in a rat model of multiple organ failure. *J Surg Res*, 1989; 47: 471-5.
159. Caraceni P, Rosenblum ER, Van Thiel DH et al. Reoxygenation injury in isolated rat hepatocytes: Relation to oxygen free radicals and lipid peroxidation. *Am J Physiol*, 1994; 266: 799-806.
160. Kılınç K. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokimya Dergisi* 1986; 11: 59-76.
161. Repine JE, Bast A. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997; 156: 341-57.
162. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed. Oxford, UK: Oxford University Press, 1999.
163. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J*, 1987; 1: 441-5.
164. Bowry VW, Mohr D, Cleary J et al. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 1995; 270: 5663-96.
165. Yesilkaya, A., R. Altınayak, and D.K. Korgun, The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *Gen Pharmacol*, 2000; 35: 17-20.
166. Crissinger, K., Understanding necrotizing enterocolitis-promising directions.

- Pathophysiology, 1999;5:4,247-56.
167. Huertas, J. and N.P.e. al. Lipid peroxidation and antioxidants in erythrocyte membranes of full term and preterm newborns. *Biofactors*, 1998; 8: 133-7.
 168. Marzatico M, Cafe C. Oxygen radicals and other toxic metabolites as key mediators of the central nervous system tissue injury. *Funct Neurol*, 1993; 8: 51-66.
 169. Scandalios, J.G., The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences*, 2002; 27: 483-6.
 170. Gupta, P., M. Narang, B.D. Banerjee, et al. Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mothers: a case control study. *BMC Pediatr*, 2004; 4: 1-14.
 171. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*, 1990; 280: 1-8.
 172. Tomaro ML and Batlle A M, Bilirubin: its role in cytoprotection against oxidative stress. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2002; 34: 216-20.
 173. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J*, 1984; 222: 1-15.
 174. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants and mammalian thioredoxin system. *Free radical Biol Med*, 2001; 31: 1287-1312.
 175. Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM et al. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Anal Biochem*, 1990; 184(2): 193-9.
 176. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, 2001; 54: 176-86.
 177. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Jmed*, 1996;27:41-50
 178. Shen D, Dalton TP, Nebert DW, et al. Glutathione redox state regulates mitochondrial reactive oxygen production. *J Biol Chem*, 2005; 280: 25305-12.
 179. Reiter R, Tang L, Garcia JJ, et al. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci*, 1997; 60: 2255-71.
 180. Nogueira CW, Zeni G, Rocha JB. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. *Chem Rev*, 2004; 104: 6255-85.
 181. Brent JA, Rumack BH. Role of free radicals in toxic hepatic injury. Are free radicals the cause of toxin-induced liver injury? *J Toxicol Clin Toxicol*, 1993; 31: 173-96.
 182. Anderson ME, Meister A. Glutathione monoesters. *Anal Biochem*, 1989; 183: 16-20.
 183. Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant

- effect of vitamins and flavonoids. *Vopr Pitan*, 2005; 74: 10-3.
184. Smith EL, Hill RL, Lehman LR, et al. *Principles of Biochemistry*, 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1983: 382-3.
185. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological actions of melatonin in acute and chronic inflammation. *Curr Top Med Chem*, 2002; 2: 153-65.
186. Mayes PA. Biologic oxidantion. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (eds). *Harper's Biochemistry*, 25th ed. London: Appleton-Lange, 2000: 130-7.
187. Qanungo, S., A. Sen, and M. Mukherjea, Antioxidant status and lipid peroxidation in human fetoplacental unit. *Clin Chim Acta*, 1999; 285: 1-12.
188. Stocker, R., Y. Yamamoto, A.F. McDonagh, et al. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 1987; 235: 1043-6.
189. Kiely, M., P.A. Morrissey, P.F. Cogan, et al. Low molecular weight plasma antioxidants and lipid peroxidation in maternal and cord blood. *Eur J Clin Nutr*, 1999; 53: 861-4.
190. Korkmaz, A., M. Yurdakök, and Y.e. al, hiperbilirubinemili yenidoğan bebeklerde serum bilirubin ve ürik asit düzeyleri arasındaki denge. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*: 2001; 44: 338-41
191. Polidori MC, Stahl W, Eichler O, et al. Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med*, 2001; 30(5): 456-62.
192. Sommerburg, O., K. Meissner, M. Nülle, et al. Carotenoid supply in breast-fed and formula-fed neonates. *Eur J Pediatr*, 2000; 159: 86-90.
193. Canales A, Sanchez-Muniz FJ. Paraoxonase, something more than an enzyme? *Med Clin (Barc)*, 2003; 121: 537-48.
194. Heijmans BT, Westendorp RGJ, Lagaay AM, et al. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis*, 2000; 149: 91-7.
195. Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, et al. Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry*, 1994; 33: 832-9.
196. Aslan M, Kosecik M, Horoz M, et al. Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. *J.atherosclerosis*, 2007; 191(2): 397-402
197. Gülcü F, Gürsu F; The standardization of paraoxonase and arylesterase Activity

- Measurements; Turkish Journal Biochemistry, 2003; 28(2): 45-9.
198. Aviram M, Hardak E, Vaya J, et al. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. *Circulation*, 2000; 101: 2510-7.
 199. Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, et al. A. Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. *ASAIO J*, 2003; 49: 295-9.
 200. Lee J, Prohaska JR, Thiele DJ. Essential role for mammalian copper transporter Ctr 1 in copper homeostasis and embryonic development. *Proc Natl Acad Sci*, 2001; 98: 6842-7.
 201. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, et al. Human serum paraoxonase/arylesterase retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999; 19: 2214-8.
 202. Sönmez H. Lipid metabolizmasının ana hatları, primer ve sekonder hiperlipidemiler. *Türkiye Klinikleri*, 2000; 13: 1-8.
 203. Seres I, Paragh G, Deschene E, et al. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exp Gerontol*, 2004; 39: 59-66.
 204. James RW, Garin MCB, Calabresi L, et al. Modulated serum activities and concentrations of paraoxonase in high density lipoprotein deficiency states. *Atherosclerosis*, 1998; 139: 77-82.
 205. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions: a possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*, 1998; 101: 1581-90.
 206. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis*, 1999; 145: 227-38.
 207. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*, 1997; 272: 63-6.
 208. Aviram M, Rosenblat M, Scott B, et al. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Rad Biol Med*, 1999; 26: 892-904.
 209. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, et al. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis*, 1993; 104: 129-35.

210. Eckerson HW, Wyte MC, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet*, 1983; 35: 1126-38.
211. Haagen L, Brock A. A new automated method for phenotyping arylesterase (E.C.3.1.1.2.) based upon inhibition of enzymatic hydrolysis of 4-nitrophenyl acetate by phenyl acetate. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 1992; 30: 391-5.
212. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J. Clinical Biochemistry*, 2004; 37: 112-9.
213. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *J. Clinical Biochemistry*, 2005; 47: 119-29.
214. Harma M, Harma M, Kocyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *J. Mutation Research*, 2005; 583: 49-54.
215. Esther Granota, Ron Kohen. Oxidative stress in childhood-in health and disease states. *Clinical Nutrition*, 2004; 23: 3-11
216. Ece A, Kelekçi S, Kocamaz H, et al. Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and total antioxidant status in children with Henoch-Schönlein purpura. *Clin Rheumatol*. 2008; 27(2): 163-9.
217. Aycicek A, Iscan A, Erel O, et al. Total antioxidant/oxidant status in meningism and meningitis. *Pediatr Neurol*. 2006; 35(6): 382-6.
218. Isik A, Koca SS, Ustundag B, et al. Decreased total antioxidant response and increased oxidative stress in Behcet's disease. *Tohoku J Exp Med*. 2007; 212(2): 133-41.
219. Kurien BT, Scofield RH. Lipid peroxidation in systemic lupus erythematosus. *Indian J Exp Biol*. 2006; 44(5): 349-56.
220. Sarban S, Kocyigit A, Yazar M, et al. Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clinical Biochemistry*, 2005; 38: 981-6.
221. Kayaalp SO. Kortikosteroidler, kortikosteroid antagonistleri ve ACTH. *Tıbbi farmakoloji Hacettepe Taş*. 2002: 1221-51.
222. Gravanis A, Margioris AN. Pharmacology of glucocorticoids: an overview. In: Margioris AN, Chrousos GP (eds). *Adrenal Disorders*. Humana Press, 2001: 59-70.
223. Coyne DW, Nickols M, Bertrand W, et al. Regulation of mesangial cell cyclooxygenase synthesis by cytokines and glucocorticoids. *Am J Physiol*, 1992; 263: 97-102.

224. Yıldırım A, Sahin YN, Suleyman H, et al. The role of prednisolone and epinephrine on gastric tissue and erythrocyte antioxidant status in adrenalectomized rats. *J Physiol Pharmacol*, 2007; 58(1): 105-16.
225. Kaplan M, Aviram M. Oxidized low density lipoprotein: atherogenic and proinflammatory characteristics during macrophage foam cell formation. An inhibitory role for nutritional antioxidants and serum paraoxonase. *Clin Chem Lab Med*, 1999; 37(8): 777-87.
226. Packard Cj, Shepherd J: Triglyceridler ile koroner kalp hastalığı arasındaki bağlantının metabolik temeli. Born GVR, Schwartz CJ (Eds.) *Koroner Kalp Hastalığında Yeni Ufuklar*'da. İstanbul: Turgut Yayıncılık Tic. A.Ş. 1995;4: 1-2.
227. Selek S, Aslan M, Horoz M, et al. Oxidative status and serum PON1 activity in beta-thalassemia minor. *Clinical Biochemistry*, 2007; 40: 287-91.
228. Altindag O, Karakoc M, Kocyigit A, et al. Increased DNA damage and oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Biochem*. 2007; 40: 167-71.
229. Cakmak A, Soker M, Koc A, Erel O. Paraoxonase and arylesterase activity with oxidative status in children with thalassemia major. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2009; 31(8): 583-7.
230. Amer J, Fibach E: Oxidative status of platelets in normal and thalassemic blood. *Throb Haemost*, 2004; 92(5): 1052.
231. Cheng ML, Ho HY, Tseng HC, et al. Antioxidant deficit and enhanced susceptibility to oxidative damage in individuals with different forms of alpha-thalassemia. *Br J Haematol*, 2005; 128: 119-27.
232. Jain SK, Williams DM. Reduced levels of plasma ascorbic acid in sickle cell disease patients: its possible role in the oxidant damage to sickle cells in vivo. *Clin Chim Acta* 1985; 149(2): 257-61.
233. Wood KC, Granger DN. Sickle cell disease: role of reactive oxygen and nitrogen metabolites. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007; 34(9): 926-32.
234. Dissayabutra T, Tosukhowong P, Seksan P. The benefits of vitamin C and Vitamin E in children with beta thalassemia with high oxidative stres. *J Med Assoc Thai*, 2005; 88(4): 317-21.
235. Jarvik GP, Tsai NT, McKintry LA, et al. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arteioscler Thromb Vasc Biol*, 2002; 22: 1329-33.

236. Jessup W, Rankin SM, De Whalley CV, et al. Alpha-tocopherol consumption during low density lipoprotein oxidation. *Biochem J*, 1990; 265: 399.
237. Fıçıcılar H, Zengeroglu AM, Tekin D, et al. The effects of acute exercise on plasma antioxidant status and platelet response. *Thromb Res*, 2003;111:267-327.
238. Yang BC, Zander DS and Mehta JL. Hypoxia-reoxygenation-induced apoptosis in cultured adult rat myocytes and the protective effect of platelets and transforming growth factor-B1. *JPET*, 1999; 291: 733-8.
239. Karima M, Kantarcı A, Ohira T, et al. Enhanced superoxide release and elevated protein kinase C activity in neutrophils from diabetic patients: association with periodontitis. *J Leukoc Biol*, 2005; 78: 862-70.
240. Sheppard FR, Marguerite RK, Moore EE, et al. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *Journal of Leukocyte Biology*, 2005; 78: 1025-42.
241. Raha S and Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *TIBS*, 2000; 25: 502-7.
242. Freedman JE, Frei B, Welch GN, et al. Glutathione peroxidase potentiates the inhibition of platelet function by S-nitrosothiols. *J Clin Invest*, 1995; 96: 394-400.