

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ahmet Muzaffer DEMİR

İMMÜN TROMBOSİTOPENİDE MONOSİT KEMOATRAKTAN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Hasan GÖZE

EDİRNE – 2017

TEŞEKKÜR

Tez konusu seçiminde ve oluşturulmasında büyük katkıları olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet Muzaffer Demir'e, tezimin hazırlanmasında emeği geçen Sayın Yard. Doç. Dr. Elif Gülsüm Ümit'e, uzmanlık eğitimime katkılarından dolayı İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hüseyin Ahmet TEZEL'e ve tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim üyelerine, tüm çalışma arkadaşlarıma, her koşulda yanımda olan ve bugünlere gelmemde büyük emekleri olan aileme en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım. Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: TÜBAP 2017/59).

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
İMMÜN TROMBOSİTOPENİ.....	3
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	15
ÇALIŞMA DETAYLARI.....	15
BULGULAR	17
TARTIŞMA	21
SONUÇLAR.....	24
ÖZET	27
SUMMARY	29
KAYNAKLAR.....	31
EKLER	38

KISALTMALAR

AMR	: Ashwell-Morrell reseptörü
CMV	: Sitomegalovirüs
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
GP	: Glikoprotein
HbsAg	: Hepatit B Yüzey Antijeni
HCV	: Hepatit C virüsü
HKH	: Hematopoietik kök hücre
IL	: İnterlökin
İTP	: İmmun trombositopeni
IVIG	: İntravenöz immunglobulin
MK	: Megakaryosit
MP	: Metilprednizolon
MPV	: Ortalama trombosit hacmi
mRNA	: Messenger ribonukeikası
PCR	: Polimerase zincir reaksiyonu
Rh	: Rhesus
rhTPO	: Rekombinant insan trombopoietin
TCR	: T Hücre Reseptörü
TPO	: Trombopoietin
TRA	: Trombopoietin reseptör agonistleri

GİRİŞ VE AMAÇ

İmmün trombositopeni (İTP) antikor aracılı trombosit yıkımı ve megakaryositlerden trombosit üretim bozukluğunun patogeneizde rol aldığı otoimmün kaynaklı edinsel kanama bozukluğudur (1,2). Primer İTP trombositopeni yapacak başka nedenlerin dışlandırdığı ve trombosit sayısının $<100 \times 10^9/L$ olduğu durum olarak tanımlanmıştır. İTP hastanın yaşına göre (erişkin ve çocukluk çağı), hastalığın süresine göre (akut ve kronik) ve beraberinde başka hastalıkların olmasına göre (primer ve sekonder) sınıflandırılır.

Yetişkinlerde, primer İTP insidansı yılda 3,3/100.000 kişi, prevelansı 9,5/100.000 kişi ve genç erişkinlerde kadın hastalarda daha sık iken yaşlılarda (>65 yaş) görülme sıklığı her iki cinsten de eşit olarak saptanmıştır (3-5).

Son yıllarda, İTP patofizyolojisini anlama ile ilgili önemli gelişmeler gerçekleşmiştir. Bugün trombositopeni mekanizmasında patolojik antitrombosit antikorları (6), bozulmuş megakaryositopoez (7) ve T-hücre aracılı trombosit yıkımının (8) her İTP hastasında farklı oranda rol aldığı bilinmektedir. İTP'li hastaların %60-70'inde trombositlere özgü immünoglobülin G antikorları saptanmıştır (9).

İmmün trombositopenili birçok hasta asemptomatiktir. Hastalık genellikle sinsi başlangıçlıdır. Belirtileri olanlarda ise tüm belirtiler trombositopeni ve/veya kanama ile ilgilidir. Kanama şiddeti hayatı tehdit etmeyen peteşi, purpura, epistaksis, hemorajik bül gibi kanamalardan nadir de olsa hayatı tehdit eden aşikar gastrointestinal, genitoüriner ve intrakranial kanamaya kadar değişkenlik gösterir.

İmmün trombositopeni tanısı koyduracak bir laboratuvar bulgusu yoktur. Öykü, fizik muayene ve laboratuvar tetkikleri ile trombositopeniye neden olacak başka potansiyel etiyolojilerin dışlanmasıyla tanı konur. Ateş yüksekliği, kilo kaybı, terleme, belirgin

lenfadenomegali, hepatomegali, splenomegali gibi semptomlar beklenmez. Bunların varlığında tanı yeniden gözden geçirilmeli ve lenfoproliferatif hastalıklarla ilişkili immün trombosit yıkımı gibi alternatif tanılar ön planda düşünülmelidir.

İmmün trombositopeni tedavisi, trombosit sayısı ve kanama varlığı olmak üzere iki değişkenle belirlenir. Genellikle trombosit sayısı $50 \times 10^9/L$ 'den yüksek olan hastalarda kanama beklenmez. Kanama bulgusu mevcut trombositopenik hastalar veya trombosit sayısı $30 \times 10^9/L$ den az olan hastalara kanama olmaksızın tedavi başlanmalıdır (10). Trombosit sayısı $50 \times 10^9/L$ üzerinde olan hastalar tedavisiz takip edilmelidir.

Yeni tanı konmuş İTP hastalarında birinci basamak tedavide ilk tercih kortikosteroidlerdir. İTP tedavisinde hızlı etki gösterdikleri için, cerrahi veya doğum gibi invaziv prosedürlerden önce intravenöz immunglobulin (IVIG) ve IV Anti-Rh sıklıkla kullanılmaktadır (11). Tekrarlayan veya ısrarcı İTP'li hastalar için tercih edilen tedavi ile ilgili kanıt düzeyi yüksek bir öneri bulunmamaktadır (2,12). Örneğin genel yaklaşım; splenektomi iken otoimmün hastalık yükü mevcut hastalar için rituksimab ile immünsupresif tedavi tercih edilebilir. Ayrıca, trombomimetikler yakın zamanda ikinci basamak tedavide kullanılmaktadır. Birinci ve ikinci basamak tedavilere refrakter yetişkin İTP hastalarında azathiopurin, siklosporin A, siklofosfamid, danazol, dapson, mikofenolat mofetil ve çoklu kemoterapötik ilaçlar, kanıt düzeyi yüksek olmamakla birlikte kullanılmaktadır.

Kemokinler lökosit fonksiyonlarının kontrol edilmesi ve transmembran reseptör aktivasyonları aracılığı ile lökosit hareketliliğini ve trafiğini kontrol eden polipeptid moleküllerdir. Kemokinlerin reseptörleri aktive etmesi ile birlikte hücre içinde ilişkili yollar harekete geçer. Bunun sonucunda ilişkili gen ekspresyonu yolu ile hedef bir protein sentezi olabilir iken, inflamatuvar sürecin aktivasyonunda antijenin sunulması, inflamatuvar hücrelerin ilgili bölgeye toplanması sağlanır.

Çalışmamızda, 2016-2017 yılları arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji polikliniğine ve acil servise ayaktan başvuran, İTP tanısı alan hastaların serum kemoatraktan düzeylerinin aynı yaş ve cinsiyet dağılımına sahip sağlıklı erişkinlerle karşılaştırılması amaçlandı. Elde ettiğimiz sonuçlar, İTP'de gelecekte tanı yaklaşımlarımıza ve hastaları yönetimine katkı sağlayacaktır.

GENEL BİLGİLER

İMMÜN TROMBOSİTOPENİ

Trombositler, çapı 1 ila 3 μm arasında kendine özgü diskoid şekilleri olan küçük nükleussuz hücrelerdir. Önceleri hücresel toz olarak adlandırılan trombositlerin daha sonradan hemostaz, yara iyileşmesi, anjiyogenez, inflamasyon ve doğuştan gelen bağışıklık gibi süreçler için vazgeçilmez oldukları anlaşılmıştır. Trombosit boyutu trombosit aktivitesi ile ilişkili; yani daha büyük trombositlerin işlevsel (protrombotik gibi) gücü daha yüksektir. Ortalama trombosit hacmi (MPV) $8,9 \pm 1,5$ fl değerindedir. MPV artışı trombosit agregasyonu, adezyon moleküllerinin artmış ifadesi sonucunda kardiyovasküler ve periferik arter hastalığı riskinde artışı doğurur. Kanama tablolarında ise trombosit sayısından bağımsız kanamayı önleyici işlevleri de vardır. Trombositlerin öncü hücreleri kemik iliğinde bulunan megakaryositlerdir (MK). Kemik iliği sinüzoidlerine direkt sitoplazmik dökülme yoluyla üretilirler. MK'ler erken gelişim sırasında yolk kesesi, fetal karaciğer ve dalakta ileri dönemde esas olarak kemik iliğinde bulunan hematopoietik kök hücrelerden (HKH) gelişir. MK'ler kemik iliğinin en büyük (50-100 μm) ve yaklaşık % 0,01'i kadar görülen nadir hücrelerinden biridir. Karaciğer kaynaklı trombopoietin (TPO) tarafından uyarılan bir MK sitoplazmasından endomiositoz ile önce yaklaşık 10-20 protrombosit, daha sonra bu protrombositlerden yaklaşık 1000-1500 adet trombosit meydana gelir. İnsanlarda MK'lerden trombosit oluşumuna kadar geçen süre ortalama 5 gün, kan dolaşımına salınan trombositin ömrü ise 7-10 gündür (13).

Trombositlerin yaklaşık 2/3'ü kan dolaşımında 1/3'ü de dalakta bulunmaktadır. Yetişkinlerde trombosit sayısı 150.000-450.000/ μL ; kadınlar ve erkekler için sırasıyla ortalama 266.000 ve 237.000/ μL (14). Trombosit sayısı $100-150 \times 10^9/\text{L}$ arasında olan erişkinlerde herhangi bir klinik bulgu beklenmemesi, ağır trombositopeni gelişme riski düşük olması, tedavi

endikasyonu olmaması ve gebeliğe bağlı trombositopeni dışlanması gibi nedenlerden ötürü trombositopeni sınırı için eşik değeri $100 \times 10^9/L$ olarak kabul edilmiştir (15). Trombositopenilerin patofizyolojik olarak sınıflandırılması Tablo-1’de verilmiştir.

Tablo-1. Trombositopeninin patofizyolojik sınıflandırılması

• Yalancı trombositopeni
• I.Artefakt trombositopenisi ○ Trombosit satelitizmi (trombositlerin lökosit membranına yapışması) ○ İri trombositler
• II.Arılmış trombosit yıkımı (kemik iliğinde normal ya da artmış megakaryositler olduğu için megakaryositik trombositopeni olarak isimlendirilir) A. İmmün trombositopeniler ▪ İdiyopatik ○ a.İmmün (idiyopatik) trombositopenik purpura ○ Sekonder ▪ a.İnfeksiyonlar (örn; HIV,CMV, EBV, suçiçeği, kızamık, kızamıkçık, kabakulak, boğmaca, hepatit, parvovirüs B19, bakteriyel, tüberküloz, tifo) ▪ b. İlaçlar ▪ c. Transfüzyon sonrası purpura ▪ d. Otoimmün hemolitik anemi (Evans sendromu) ▪ e. Sistemik lupus eritematozus ▪ f. Hipertiroidizm ▪ g. Lenfoproliferatif hastalıklar ▪ Neonatal immün trombositopeniler - B.İmmün olmayan trombositopeniler • 1.Trombotik mikroanjyopatiler • Yaygın damar içi pıhtılaşması • Trombotik trombositopenik purpura • Hemolitik üremik sendrom • 2. Anormal damar yüzeyine bağlı trombosit yıkımı
• III.Azalmış trombosit üretimi ○ Konstitüsyonel ▪ Konjenital amegakaryositik trombositopeni ▪ TAR sendromu ▪ Bernard-Soulier sendromu ▪ Gri platelet sendromu ▪ Wiskott Aldrich sendromu ▪ X linked trombositopeni ▪ Mediterranean trombositopeni ▪ MYH-9 geni ile ilişkili hastalıklar ▪ Ailesel trombositopeniler ▪ Paris-Trousseau sendromu ▪ Amegakaryositik trombositopeni ile radial sinostozis ○ Kazanılmış ▪ Kemik iliği infiltrasyonu ▪ İnfeksiyon hastalıkları (HIV,Parvovirüs,CMV ve diğerleri) ▪ Radyoterapi ve kemoterapi sonrası ▪ Folat ve B12 vitamin eksikliği ▪ Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri ▪ Myelodisplastik sendromlar
• IV. Trombosit dağılım bozuklukları ○ Hipotermi ○ Hipersplenizm(neoplazi,konjestif,enfeksiyon,metabolik,portal hipertansiyon) ○ Aşırı depo kanı transfüzyonu (Dilüsyonel)

Terminoloji

İmmün trombositopeni (İTP) antikor aracılıklı trombosit yıkımı ve megakaryositlerden trombosit üretim bozukluğunun patogeneizde rol aldığı otoimmün kaynaklı sık görülen edinsel kanama bozukluğudur (1,2).

Daha önce “İmmün trombositopenik purpura” ya da “İdiyopatik trombositopenik purpura” olarak tanımlanan hastalığın adı literatür araştırmalarındaki yararı göz önüne alınarak İTP kısaltması korundu. Hastaların büyük bir kısmında purpura olmaması ve hastalığın bağışıklık aracılı mekanizmasını vurgulamak amacıyla 2009 yılında uluslararası uzlaşma raporu hazırlanarak “İmmün trombositopeni” (İTP) olarak adlandırılmıştır. Basit purpurik lezyonlar dışında organ kanama bulguları, hemorajik büller ve anlamlı mukozal kanamaları olan hastalar “ağır İTP” olarak tanımlanmasına karar verilmiştir (16).

Primer İTP trombositopeni yapacak başka nedenlerin dışlandı ve trombosit sayısının $<100 \times 10^9/L$ olduğu durum olarak tanımlanmıştır. İTP hastanın yaşına göre (erişkin ve çocukluk çağı), hastalığın süresine göre (akut ve kronik) ve beraberinde başka hastalıkların olmasına göre (primer ve sekonder) sınıflandırılır. Buna göre yeni tanı konmuş (akut) İTP fazı tanıdan itibaren ilk 3 aylık dönemi, tanıdan itibaren 3-12 aylarda olup spontan remisyona girmeyen veya tedavi kesildiğinde remisyonda kalamayan olgular ısrarcı (persistan) İTP, 12 ay veya daha fazla süren olgular kronik İTP olarak tanımlanmıştır (Tablo-2) (16).

Tablo-2. Uluslararası uzlaşma raporu İTP tanımlamaları

Yeni tanı	<3 ay
İsrarcı	3-12 ay
Kronik	>12 ay
Ağır	İlaç dozunu arttıracak, ek tedavi veya müdahale gerektirecek derecede klinik bulgu veren kanama
Direçli	Splenektomi sonrası ağır İTP varlığı
Yanıtsız	Trombosit sayısının başlangıç değerinin iki katından düşük veya $<30 \times 10^9/L$ olması
Yanıt	7 gün araya ölçülen 2 ayrı trombosit değerinin başlangıç değerinin iki katından yüksek ve $>30 \times 10^9/L$ olması
Tam yanıt	7 gün araya ölçülen 2 ayrı trombosit değerinin $>100 \times 10^9/L$ olması

İnsidans

İmmün trombositopeni sık rastlanılan bir hastalık olmakla birlikte yapılan çalışmaların farklı toplumlarda farklı yaş gruplarında ve trombosit sayısı için farklı sınır değerler baz alınması nedeniyle geniş bir insidans aralığı verisi mevcuttur. Kapsamlı bir çalışmada ortalama tanı yaşı 56, kadın/erkek oranı 1.7 ve yıllık insidansı 3.2/100.000 kişi olarak saptanmıştır (17).

Bölgemizdeki verilere baktığımız zaman; Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Hematoloji poliklinik ve servisinde 1991-2012 yılları arasında immün trombositopeni tanısı ile takip edilen 216 hasta incelendiğinde, hastalarda tanı anında ortalama yaş 42.3, kadın/erkek oranı 2.7/1 olarak saptanmıştır (18).

Patofizyoloji

1951'de Harrington ve Hollingsworth'un İTP'li anneden doğan bir bebekte 3 hafta süren ve sonra kendiliğinden geçen purpura tablosu gözlemlenmeleri anneden bebeğe geçebilen antikorların varlığı fikrini ortaya atmalarına neden olmuştur. Harrington refrakter İTP'li hastaların kanını kendine ve gönüllülere injekte ederek geçici bir süre trombositopeni gelişebildiğini göstermiştir. Bu araştırmalar İTP hastalarının dolaşımında herkesin trombositlerinin yüzeyinde bulunan genel antijenlere karşı gelişmiş otoantikorlar olduğunu düşündüren bir hipotez geliştirilmesine yol açmıştır (19). 1965'de bu faktörün IgG grubu antikorlar olduğu bulunmuş, ardından bu antikorların başlıca glikoprotein IIb-IIIa ve glikoprotein Ib-IX-V kompleksine bağlandığı gösterilmiştir (20). Bugün trombositopeni mekanizmasında patolojik antitrombosit antikorları (6), bozulmuş megakaryositopoez (7) ve T-hücre aracılı trombosit yıkımının (8) her İTP hastasında farklı oranda rol aldığı bilinmektedir. İTP'li hastaların % 60-70'inde trombositlere özgü immünoglobülin G antikorları saptanmıştır (9).

Bu antikorlar tarafından hedeflenen epitop türünün hastalık seyrini etkilediği düşünülmektedir. Yapılan araştırmalarda bu antikor tiplerinin klirensi farklı şekilde değiştirebileceği (21), megakaryopoezi inhibe edebileceği (22) ve trombosit/megakaryosit apoptozunu indükleyebileceği (23) gösterilmiştir. Buna ek olarak, anti-trombosit antikorların varlığı artmış tromboz riski ile de ilişkilendirilmiştir (24,25). Anti-trombosit antikorları bulunmayan bazı hastalarda trombosit yıkımına neden olan anormal T hücre popülasyonu bulunabilmektedir (26). Buna karşılık bazı hastalarda otoantikor üretimi ile sonuçlanan T-hücre disregülasyonu mevcuttur (27). İTP hastalarının bir kısmında kemik iliğinde potansiyel olarak trombositleri direk lizise uğratabilen, trombosit üretimini engelleyebilen sitotoksik CD8+ T hücreleri bulunmuştur (28,29). Bunlara ek olarak aktif hastalığı olan İTP hastalarında regülatör T hücre popülasyonunda azalma, anormal sitokin profilleri ve T-helper1/T-helper2 dengesinin değişmesi gibi veriler immünitinin altını çizmekte ve yeni tedaviler için olası hedefleri ortaya koymaktadır (30-33).

Elimizdeki kanıtlar birçok İTP hastasında trombosit üretiminin bozulduğunu göstermektedir. İTP'li hastaların plazmaları ile yapılan megakaryosit kültürleri elektron

mikroskopisiyle incelendiğinde büyümenin engellendiği ve anormal apoptozis meydana geldiği saptanmıştır (34,35). Dahası, İTP'li hastaların serum TPO düzeyleri hiç değilse minimal yüksek saptanmıştır. TPO reseptör agonistlerinin trombosit sayısını arttırmadaki başarısı bu gözlemleri doğrulamaktadır (36). Yapılan yeni çalışmalarda karaciğerde bulunan Ashwell-Morrell reseptörü (AMR) sistemi denilen ek bir mekanizma tarafından trombosit klirensi yönlendirilip trombosit sayısının düzenlendiği konusuna odaklanılmıştır (37).

Patolojik olmayan durumlarda trombositler dolaşımda daha uzun sürede yüzeylerinde bulunan sialik asidi kaybedecek (38), bu trombositler AMR tarafından tanınıp temizleneceklerdir. AMR tarafından trombositlerin dolaşımdan temizlenilmesi, TPO messenger ribonukleik asit (mRNA) üretimine neden olur (39). Yüzeyel sialik asit ekspresyonu intrinsik sialidazlar tarafından düzenlenir (40). İnfluenza gibi viral enfeksiyonları tedavi amacıyla kullanılan oseltamivir fosfat (sialidaz inhibitörü) tarafından hedef moleküllerdir. Potansiyel bir tedavi seçeneği olarak küçük olgu sunumlarında denenmiştir (41-43).

Tanı

İmmün trombositopeni tanısı koyduracak bir laboratuvar bulgusu yoktur. Öykü, fizik muayene ve laboratuvar tetkikleri ile trombositopeniye neden olacak başka potansiyel etiyolojilerin dışlanmasıyla tanı konur.

Klinik Özellikler

İmmün trombositopenili birçok hasta asemptomatiktir. Hastalık genellikle sinsi başlangıçlıdır. Belirtileri olanlarda ise tüm belirtiler trombositopeni ve/veya kanama ile ilgilidir. Tipik olarak mor renkli cilt ve mukozalarda ortaya çıkan trombosit-tipi kanama olarak adlandırılan kanama saptanır.

Tedavi

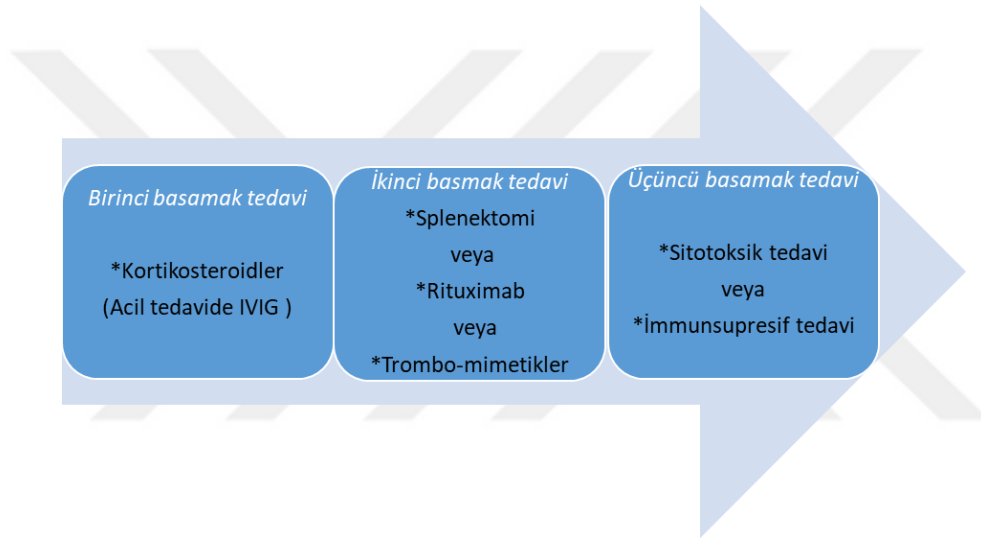
Hastaların İTP tedavisi trombosit sayısı ve kanama varlığı olmak üzere iki değişkenle belirlenir. Trombosit sayısı $10 \times 10^9/L$ den az iken ciddi kutanöz kanamalar, uzun süren burun kanaması, diş eti kanaması, aşıkâr hematüri, menoraji, intrakranial kanama ve diğer iç organ kanamaları meydana gelebilir.

Kanama bulgusu mevcut trombositopenik hastalara veya trombosit sayısı $30 \times 10^9/L$ den az olan hastalara tedavi başlanmalıdır (10). Trombosit sayısı $50 \times 10^9/L$ üzerinde olan hastalar tedavisiz takip edilmelidir. Trombosit sayısı $20-50 \times 10^9/L$ olup kanaması olmayan ve kontrolsüz hipertansiyon, aktif peptik ülser, antikoagülan kullanımı, geçirilmiş cerrahi veya kafa travması

gibi kanamaya yatkınlık yaratan bir durum olmaması halinde genel olarak acil tedavi başlanmaz (12).

Birinci basamak tedavi

Yeni tanı konmuş İTP hastalarında birinci basamak tedavide ilk tercih edilen ilaç kortikosteroidlerdir. İTP tedavisinde hızlı etki gösterdikleri için, cerrahi veya doğum gibi invaziv prosedürlerden önce intravenöz immunglobülin (IVIG) ve intravenöz Anti-Rh sıklıkla kullanılmaktadır (11). Kortikosteroid kullanımı için kontrendikasyon olması halinde hasta Rh pozitif ise Anti-Rh kullanılabilir. Uluslar arası uzlaşma raporu ve Türk Hematoloji Derneği rehberlerine göre İTP tedavi yaklaşımı Şekil-1’de özetlenmiştir.



Şekil-1. Uluslar arası uzlaşma raporu ve Türk Hematoloji Derneği kılavuzlarına göre İTP tedavi yaklaşımı

İkinci Basamak Tedavi

Birinci basamak tedaviye yanıt alınamayan hastalarda öncelikle tanıyı tekrar gözden geçirmek myelodisplastik sendrom (MDS) ve myelofibroz gibi trombositopeni yapabilecek hastalıkları dışlamak akıllıca olacaktır.

Splenektomi cerrahi bir işlem olduğundan, kanama, tromboz ve enfeksiyon gibi riskler söz konusudur. İmmün trombositopeni tedavisinde splenektomi dışında Rituximab (Anti-CD20 monoklonal antikoru) 375 mg/m² veya haftalık 100 mg/4 hafta kür sağlayabilecek tedavi seçeneğidir (44). Hastaların %60’ı tedaviye yanıt verir, bunların %40’ı tam yanıt cevabı şeklindedir. Başlangıçta yanıtı olguların beşte birinde beş yıldan daha fazla süre yanıt devam eder (45).

Trombomimetikler

İmmun trombositopeni’de trombositopeni sadece trombosit yıkımından değil aynı zamanda antikor aracılı megakaryosit hasarı nedeniyle de gelişmektedir. Bu nedenle trombosit üretimindeki defekt trombositopeni idamesine katkı sunmaktadır (46).

Kronik İTP tedavisinde romiplostim ve eltrombopag ruhsat alan iki TRA’dır. TRA'ların trombopoietin reseptörüne bağlanması, trombosit üretiminin artmasına yol açan JAK-STAT ve mitojen-aktifleştirilmiş protein kinaz (MAPK) gibi hücreiçi sinyal yollarının aktivasyonu ile sonuçlanır.

Romiplostim, trombopoietin reseptörü için dört bağlanma yeri içeren bir peptid alanına bağlı iki IgG1 sabit bölgesinden (Fc fragmanları) oluşan bir rekombinant füzyon proteini peptit antikorudur (47). İTP li erişkinlerde romiplostim kullanımı trombosit sayısını artırarak kanamayı azaltmaktadır (48-51).

Eltrombopag, trombopoietin reseptörüne bağlanıp trombosit üretimini artırmak için JAK-STAT ve MAPK hücre içi yollarını aktive eden küçük bir peptid-dışı moleküldür (52-54).

Üçüncü Basamak Tedavi

Daha önce bahsedilen tedavilere refrakter yetişkin İTP hastalarında azathiopurin, siklosporin A, siklofosfamid, danazol, dapson, mikofenolat mofetil ve çoklu kemoterapötik ilaçla tedavi rejimleri bulunmakla birlikte literatürde bu tedavilerle ilgili farklı merkezlerin az sayıda hasta ile ilgili klinik deneyimleri mevcuttur, randomize ve kontrollü çalışmalar bulunmamaktadır.

Trombosit Fizyolojisi ve Kemokinlerin Trombosit Üzerindeki Rolü

Megakaryositler, trombosit üretiminden sorumlu hematopoietik kök hücrelerdir. Bu ilişkiye dair kanıtlar 1906’da James Homer Wright tarafından dolaşımdaki trombositlerin ve kemik iliğinde bulunan dev hücrelerin megakaryosit olarak adlandırılması ve modifiye Romanofsky boyası ile ortak boyanma özellikleri göstermeleri ile ortaya atılmıştır (55). Wright, sonrasında megakaryositlerin kemik iliği sinuzoidlerine uzattıkları psödopodlar aracılığı ile trombositleri adeta döktüklerini göstermiştir (56). Wright bu bulgulara ek olarak trombosit sayısındaki normal ve anormal değişikliklerin megakaryosit sayısı ile ilişkili olduğunu belirtmiş ve bu gözlemler günümüze dek biriken trombosit fizyolojisi bilgisinin temelini teşkil etmiştir.

Megakaryositler çekirdekli tüm kemik iliği hücrelerinin yaklaşık % 0.05 ila 0.1’ini oluşturmaktadır. Trombosit ihtiyacı arttığında bu sayı artabilmektedir. Eritrositlerin aksine megakaryositlerin ortalama çapı 20-25 mikron arasında ve hacmi 4700 ± 100 fL’dir. Bazı büyük

megakaryositler 50-60 mikron çap ile 65.000-100.000 fL'ye ulaşabilmektedir. Her megakaryosit 1000-3000 arası trombosit üretir. Megakaryosit boyutu ile trombosit üretim miktarı arasında bir ilişki gösterilmemiştir. Olgun megakaryositler hemen daima polipoid yapıdadır ve 2(4N)-32(64N) kat fazla normal diploid DNA bulundurur ki bu değer insanlarda 16 N'dir (57,58). Bu polipoidi fonksiyonel gen amplifikasyonundan kaynaklanmakta ve protein sentezi arttıkça megakaryositin de büyümesine yol açmaktadır. Poliploid yapıda az sayıda başka hücrelere örnek de bazı hepatositlerin ve makrofajların 4N ya da 8N DNA içermesi sayılabilir. Ancak bu hücrelerde DNA birçok ayrı nukleusta bulunur iken megakaryositte tek bir büyük nukleer zarf içinde bulunmaktadır. Bu sürece endomitoz adı verilmektedir (59). Megakaryositer seriye farklılaşmanın ilk göstergelerinden biri megakaryosit yüzeyinde trombosit glikoprotein (GP) reseptör IIb/IIIa'nın ve sonra da GPIb ve kollajen reseptörlerinin bulunmasıdır (60,61). Megakaryositin yüzey membranı oldukça katlantılı bir yapıda olması nedeni ile trombositlerin salınımı sırasında yüzey membranlarını megakaryositten almaktadırlar (62-65).

Trombositler az miktarda protein sentezi gerçekleştirirler. Sitoplazmik özellikleri de kaynaklandıkları megakaryositlerce belirlenmektedir. Trombositlerin alfa granülleri sayısız trombosit proteini ve büyüme faktörü içerir. Granül cisminin kendisi erken dönemde megakaryosit tarafından henüz membran demarkasyon aşamasında oluşturulur. Alfa granül içindeki trombosit-derive büyüme faktörü (PDGF), transforme edici faktör-beta, trombosit faktor-4 (PF4) ve von Willebrand faktörü megakaryositte sentezlenir ve alfa granüle aktarılır (66). Diğer proteinler ise alfa granüle hem megakaryosit hem de trombosit plazmadan IIb/IIIa reseptör aracılı endositoz (örneğin fibrinojen) ya da pinositoz ile (albumin ve IgG) giriş yapar.

Tüm kemik iliği hücreleri gibi megakaryositler de multipotent kök hücreden köken alır. Kök hücre erken bilineage progenitörlere (megakaryosit-eritroid progenitörler, BEP) ilerleme gösterir iken bir sonraki alama eritrosit ya da megakaryosit farklılaşmasıdır. Bu sürecin sonunda yalnızca megakaryositer farklılaşmaya ilerleyebilecek olan öncül hücre, megakaryosit koloni oluşturan ünite (Meg-CFC) gözlenir. Bu hücre interlökin (IL-3) ve trombopoietin ile uyarılarak megakaryosit oluşumuna yönelir, GP IIb/IIIa eksprese eder ve mitozla ilerler.

Trombopoietin megakaryosit farklılaşması ve olgunlaşmasının tüm basamaklarında etkindir. Meg-CFC'nin büyümesini uyarıp apoptozu inhibe eder ve olgunlaşmayı uyarır. GATA-1 ve NF-E2 gibi transkripsiyon faktörleri megakaryosit gelişiminde oldukça önemlidir. GATA-1 eritroid, megakaryosit, eozinofil ve mast hücrelerinde eksprese edilen bir transkripsiyon faktörü olmak ile birlikte GATA-1'in JAK2 ve STAT-1 genleri ile ilişkili olduğu

ve IF-gamma/STAT1 sinyalizasyonu ile megakaryopoiezi uyardığı ve bu nedenle bir çok inflamatuvar hastalıkta trombositoz görüldüğü düşünülmektedir (67).

Erken elektron mikroskopik çalışmalar ile megakaryosit sitoplazmasının bir demarkasyon sistemi ile bölündüğü ve trombosit “bölgesi” oluşturduğu gösterilmiştir. Bundan sonraki aşamada iki farklı model öne sürülmektedir. Birincisinde megakaryositler kemik iliği sinüzoidlerine psödopodlar göndererek membran demarkasyon sistemine ilerler. Muhtemel bölgesel bir kaspaz aktivasyonu ile trombositler ve proplateletler tomurcuklanır. Megakaryosit psödopodları endotel hücresinin içinden geçer ve bu da süreci düzenleyen roller üstlenir (68). Stromal derive faktör 1 (SDF1 ya da CXCL12) gibi kemoatraktanlar megakaryositlerden metalloproteinaz üretimini indükler ve bu da transendotelial migrasyon ve trombosit üretimi için önemlidir (69,70). Hayvan çalışmalarında TPO’nun öncül hücre genişlemesini desteklemesi yanında kemik iliği vasküler niş içindeki bu hücrelerin kemokin aracılı iletişiminin de megakaryosit olgunlaşması ve trombopoieze izin veren bir mikroçevre gelişimine yol açtığı düşünülmektedir. Megakaryositler ya da proplateletler kemik iliğinden salınır ve akciğere ilerler, burada trombositlere transforme olurlar. Megakaryositler ya da megakaryositlerin büyük fragmanları dolaşımda yıkılarak trombositleri oluşturur düşüncesi de ortaya atılmış, buna ilişkin olarak da megakaryositlerin kemik iliği endotel hücre bariyerini geçebilmesi ve pulmoner damarlarda ve dolaşımda megakaryosit ve megakaryosit nukleuslarının tespit edilmesi ispat olarak gösterilmiştir. 2017’de Cre-Lox rekombinasyonu ile megakaryositler fluorasın ile işaretlenmiş ve hareketleri gözlenmiştir. Megakaryositler akciğerlere göç etmekte, burada proplatelet sürecinden geçerek trombosit salınımını gerçekleştirmektedir (71). İn vivo ortamda yapılan çalışmalarda normal trombosit üretiminin yaklaşık yarısının akciğerlerde gerçekleştiği düşünülmektedir. Akciğerler ayrıca multipotent hematopoietik kök hücreleri barındırdığı için artık bir hematopoietik organ olarak değerlendirilmektedir.

Trombopoetin karaciğerden hemen daima sabit bir hızda üretilir ve dolaşıma salınır. Trombositlerin yüzeyinde ve bazı kemik iliği megakaryositlerinde bulunan avid TPO (c-mpl) reseptörlerince uzaklaştırılır. Rezidüel olarak kalan TPO (50-150 pg/mL) megakaryositlerin bazal uyarısını teşkil eder. Murin hepatositlerin üzerinde bulunan Ashwell-Morell reseptörleri (AMR) yüzeyinde siyalik asidini kaybetmiş trombositleri bağlayabilir. AMR ile bir kez bağlandıktan sonra JAK-STAT yolu aktive olarak hepatik TPO mRNA’yı artırır ve TPO üretimi artar. Bu bulgu ile JAK2 mutasyonu olan myeloproliferatif hastalıklardaki trombositoz bileşeni anlaşılabilir. TPO klirensini dolaşımdaki trombosit c-mpl reseptör sayısı belirlediğinden dolaşımdaki normal trombosit kütlesi göreceli olarak sabit kalmaktadır.

Trombosit üretimi azaldığında, örneğin kemoterapi sonrası, trombosit sayısı ve c-mpl reseptör miktarı azalır, böylece TPO klirensi düşer ve TPO konsantrasyonu artar, megakaryosit üretimi uyarılır. Deneysel olarak dışarıdan fazla trombosit transfüzyonunda total trombosit kütlesi ve c-mpl reseptör miktarı artar ve TPO klirensi artacağından TPO konsantrasyonu düşer ve megakaryosit üretimi azalır.

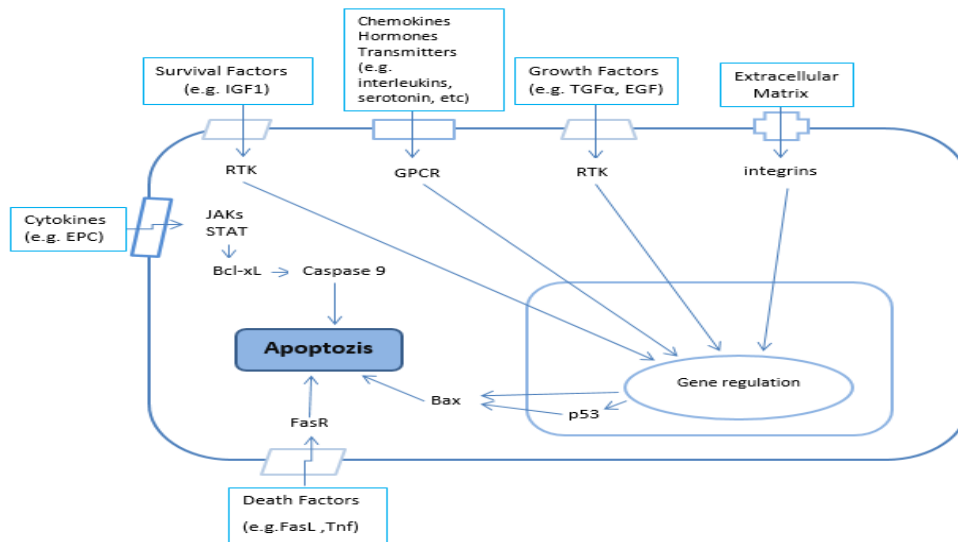
Akut infeksiyon ve inflamasyon hallerinde trombosit sayısının artışı interlökin 6 (IL-6) ve IL-11 sinyalizasyonu ile ilişkilidir. IL-11 megakaryosit üretimini ve trombosit yapımını TPO sinyalizasyonundan bağımsız olarak uyarır.

Klinik Etkileri ile Kemokinlere Ayrıntılı Bakış

Kemokinler lökosit fonksiyonlarının kontrol edilmesi ve transmembran reseptör aktivasyonları aracılığı ile lökosit hareketliliğini ve trafiğini kontrol eden polipeptid moleküllerdir. Molekülün NH₂ ucuna yakın bir bölgede sistein rezidülerinin varlığına göre 4 subfamilyaya sınıflandırılırlar. Tek bir C ya da 2 C nin bir amino asit ile (CXC) ya da 3 aminoasit ile birlikteliği (CXXXC) olması ile biyolojik aktiviteleri değişkenlik gösterir.

Tablo-3'te kemokinlerin sınıflanması ve reseptörleri ile eşleşmesi görülmektedir.

Kemokinlerin reseptörleri sonucunda ilişkili gen ekspresyonu yolu ile hedef bir protein sentezi olabilir iken, inflamatuvar sürecin aktivasyonunda antijenin sunulması, inflamatuvar hücrelerin ilgili bölgeye toplanması sağlanır. Şekil-2 ile hücre yolakları ve uyarı mekanizmaları özetlenmiştir.



Şekil-2. Hücre yolakları ve uyarı mekanizmaları

Tablo-3. Kemokin ailesi

	Sistemik adı	Reseptörü
CC kemokin / reseptör ailesi	CCL1(I-309) CCL2 (MCP-1, MCAF) CCL3 (MIP-1 α /LD78 α) CCL3L1 (LD78 β) CCL4 (MIP-1 β) CCL4L1 CCL4L2 CCL5 (RANTES) CCL6 (C-10) CCL7 (MCP-3) CCL8 (MCP-2) CCL9 (MRP-2/MIP-1 γ) CCL10 (MRP-2/MIP-1 γ) CCL11 (Eotaxin) CCL12 (MCP-5) CCL13 (MCP-4) CCL14 (HCC-1) CCL15 (HCC-2, Lkn-1) CCL16 (HCC-4, LEC) CCL17 (TARC) CCL18 (DC-CK1, PARC) CCL19 (MIP-3 β , ELC) CCL20 (MIP-3 α , LARC) CCL21 (6Ckine, SLC) CCL22 (MDC, STCP-1) CCL23 (MPIF-1) CCL24 (MPIF-2, Eotaxin-2) CCL25 (TECK) CCL26 (Eotaxin-3) CCL27 (CTACK, ILC) CCL28 (MEC)	CCR8, R11 CCR2 CCR1, R5 CCR5 CCR5 CCR5 CCR1, R3, R4, R5 CCR1, R2, R3 CCR1, R2, R3 CCR1, R2, R5, R11 CCR1 CCR1 CCR3 CCR2 CCR1, R2, R3, R11 CCR1 CCR1, R3 CCR1 CCR4 Bilinmiyor CCR7, R11 CCR6 CCR7, R11 CCR4 CCR1 CCR3 CCR9, R11 CCR3 CCR2, R3, R10 CCR3, R10
C kemokin / reseptör ailesi	XCL1 (Lymphotactin) XCL2 (SCM1-b)	XCR1 XCR1
CXC kemokin / reseptör ailesi	CXCL1 (GRO α , MGSA- α) CXCL2 (GRO β , MGSA β) CXCL3 (GRO γ , MGSA γ) CXCL4 (PF4) CXCL4L1 (PF4V1) CXCL5 (ENA-78) CXCL6 (GCP-2) CXCL7 (NAP-2) CXCL8 (IL-8) CXCL9 (Mig) CXCL10 (IP-10) CXCL11 (I-TAC) CXCL12 (SDF-1 α/β) CXCL13 (BLC, BCA-1) CXCL14 (BRAK, bolekin) CXCL15 CXCL16 (SR-PSOX) CXCL17 (VCC1, DMC)	CXCR2N R1 CXCR2 CXCR2 CXCR3 CXCR3 CXCR1, R2 CXCR1, R2 CXCR2 CXCR1, R2 CXCR3 CXCR3 CXCR3 CXCR4, R7 CXCR3, R5 Bilinmiyor Bilinmiyor CXCR6 Bilinmiyor
CX3C kemokin/reseptör ailesi	CX3CL1 (Fractalkine)	CX3CR1

T hücrelerinin toplanması hücre göçünün (migrasyon) makrofajlar ve epiteliyal hücrelerce üretilen kemokinler aracılığı ile yönetilmesi ile gerçekleştirilir. CXC kemokinlerinin dışında makrofaj inflamatuvar protein 1 alfa (CCL3) ve makrofaj inflamatuvar protein 1 beta (CCL4) bu süreç için önemli kemokinlerdir. Her ikisi de CCR5 reseptörünü kullanmaktadır. CCL4'ün CD8 lenfositlerden ziyade CD4 lenfositler için daha potent bir kemoatraktan olduğu bilinir iken, CCL3 CD8 hücrelerin atraksiyonunda daha ön plandadır (72). CCL 3 ve 4 bunun dışında CCR reseptörlerinin aktive Th1 hücre yüzeyinde bulunması nedeniyle indirekt olarak inflamatuvar yanıtı Th1 hücre toplanmasını sağlayarak da düzenler (73,74).

CCL1/I-309 kemokini CCR8 reseptörü ile etkileşir. Bir G protein-eşleşme reseptörü olan CCR8 immün yanıt için oldukça özel bir yere sahiptir. Th2 hücrelerince ifade edilir ve inflamasyon bölgesine Th2 toplanmasını uyarır. Bu birincil etkinin dışında T hücre homingi, dendritik hücrelerin lenf nodlarına migrasyonu ve timik gelişimden sorumludur. T hücrelerinin dokulara toplanması ile birlikte subkutan lenfatik ve vasküler yatakta ekspresyonu özellikle gösterilmiştir. İnflamatuvar sitokinler ve mikrobiyal ürünler ile ekspresyonu artırılır. In vitro ortamda lenfoma ve t hücre lösemi hücrelerinin apoptozdan kaçışında önemli bulunmuş ve T hücre transformasyonunda etkisi gösterilmiştir (75,76).

CCL16'nin diğer isimleri karaciğer-ilişkili eksprese olan kemokin, NCC-4, lenfosit ve monosit kemoatraktanı ya da HCC-4'tür. Bu spesifik olarak lenfosit, dendritik hücre ve monosit atraksiyonundan sorumludur (77). CCL16'nın karaciğer dokusu dışında plazmada bulunuyor olması nedeni ile etkisinin karaciğer dışı dokularda görüldüğü düşünülmektedir. CCR1, CCR2, CCR5 ve CCR8 bu kemokinin fonksiyonel reseptörleridir. CCL16'nın tümör hücrelerince de salınıyor olması tümör spesifik immün yanıt ve T lenfositler ile antijen sunan hücreler tarafından yürütülen diyalogun tümör aleyhine artırılması yönünde etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Hem CC hem de CXC yapıdaki kemokinlerin doğrudan proanjiojenik özellikleri olduğu ve endotel hücrelerinde anjiostatik özellikleri olduğu gösterilmiştir. CCL1, CCL2 ve CCL11'in de benzer lekilde anjiogenik reseptör uyarılarına yol açtığı gösterilmiştir. Özellikle CCL16'nın endotel hücre motilitesini CCR1 reseptörü aracılığı ile hem in vitro hem de in vivo ortamda arttırdığı gösterilmiştir (78). CCL16'nın ülseratif kolitte lamina propriayı infiltre eden makrofajlardan salındığı ve immün reaktif hücrelerin toplanmasını arttırdığı gösterilmiştir (79). İTP patogenezinde T hücre etkisinin artık biliniyor olması nedeni ile, T hücre uyarısını arttıran CCL16'nın (80) ve diğer T lenfosit kemoatraktanları olan CCL1, CCL3 ve CCL4'ün İTP patogenezindeki etkisi olabileceği düşüncesi ile çalışmamıza seçilmişlerdir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza bölgesel etik kuruldan alınan onayın ardından (Ek1) 2016-2017 tarihleri arasında 84 İTP tanısı konulan hasta ve 84 bilinen hastalığı olmayan ve ilaç tedavisi kullanmayan benzer yaş ve cinsiyetteki gönüllüler dahil edildi.

Hasta dahil edilme ve dışlama kriterleri:

1. Primer immün trombositopeni tanısı almış olmak. Sekonder olduğu gözlenen immün trombositopeniler (Örneğin romatolojik hastalıklar seyrinde gelişen trombositopeniler) çalışma dışında bırakılmıştır.
2. Akut immün trombositopeni tanısı almış olmak, kronik takipteki hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Bunun nedeni, kronik İTP tanılı hastaların kortikosteroid gibi immün düzenleyici ilaçları takip sürecinde kullanmış olmaları ve bunların kemokin düzeylerine etki edeceği düşüncesidir.
3. Gelişinde eritrosit sedimentasyon hızı ve akut faz reaktanlarından rutinde bakılan C-reaktif protein düzeyleri yüksek olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Bunun nedeni, çalışmamızda kemokin düzeyleri değerlerini yükseltebilecek diğer nedenlerin dışlanması hedeflenmiştir.

ÇALIŞMA DETAYLARI

Hastaların çalışmaya dahil edilmesi ardından kan sayımları içerisindeki parametreler kayıt edildi. Eritrosit sedimentasyon hızı ve C-reaktif protein düzeyleri not edildi. Fizik muayene bulgularından splenomegali, lenfadenomegali var ise not edildi.

Kanama değerlendirmesinde son güncellemesi 19/07/2011 tarihinde yapılan Uluslararası Tromboz Hemostaz Birliği (ISTH) tarafından belirlenen kanama değerlendirme ölçeği ile majör ve minör kanama belirlendi (81).

Hasta ve sağlıklı gönüllülerden antikoagulan madde içermeyen kuru tüpe kan alındı. 10.000 devirde 15 dakikalık soğuk santrifüj ardından ayrılan serum -86 derecede çalışma gününe dek saklandı. Kanların toplanması ardından ELISA yöntemi ile hedef moleküller olan CCL1, CCL3, CCL4 ve CCL16 düzeyleri kitler içerisindeki çalışma prensiplerine göre ölçüldü.

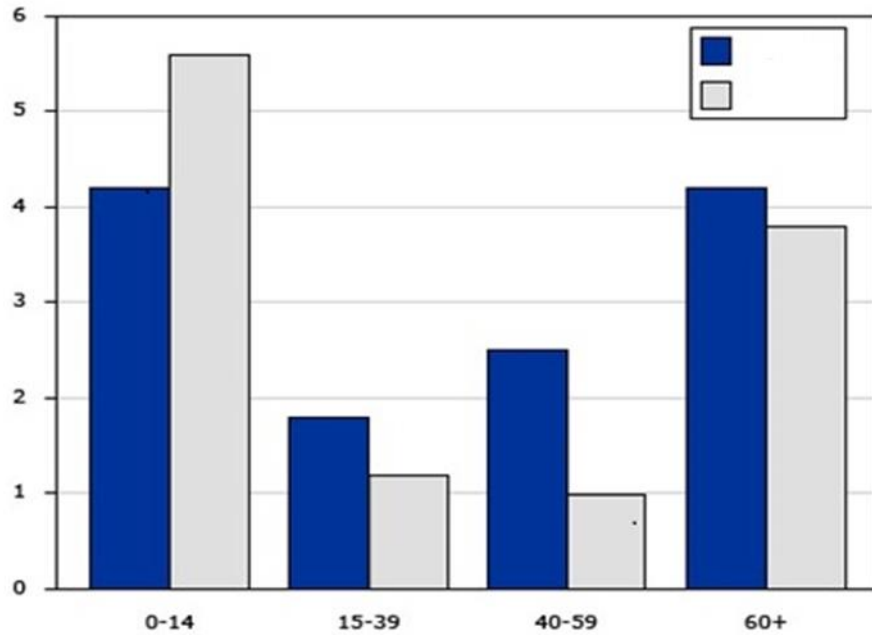
(Human MicroElisa kitleri. Marka: Sunred Bio Yöntem: Double Antibody sandwich enzyme-linked immunosorbet. Elisa Okuyucu: Radim marka Alisei model cihazın okuyucusu Elisa Yıkayıcı: Radim marka Alisei model cihazın yıkayıcısı)

İstatistiksel Çalışma

Veriler IBM SPSS programı Versiyon 20 kullanılarak değerlendirildi. Yaş, cinsiyet ve genel özellikler için tanımsal istatistik yapıldı. Sıklık ve ortanca değerlendirmeleri yapıldı. Kemokin düzeyleri yapılan Kolmogorov-Smirnov testi ile normal dağılıma uyup uymadıkları incelendi. Normal dağılıma uymadıkları tespit edildiklerinden Mann-Whitney analizi yapıldı. Pearson korelasyon ve nonparametrikler için Spearman rho kullanıldı. Anlamlılık ve korelasyon katsayıları değerlendirildi. Trombosit sayılarının alt grupları için Anova ve çoklu Post hoc analizler kullanıldı. Bunlar arasında Tukey HSD, LSD ve Bonferroni analizleri kullanıldı. Homojen alt gruplar için Tukey HSD yapıldı.

BULGULAR

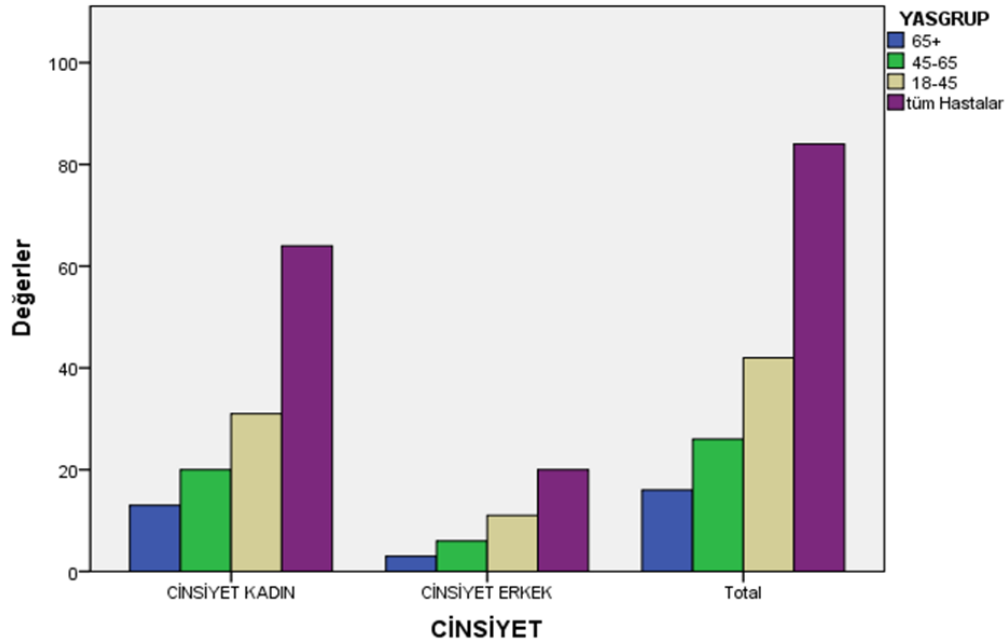
İmmün trombositopeninin epidemiyolojik değerlendirilmesinde 0-14 yaş grubunda erkek cinsiyet ağırlığı gözlenir iken, 15 -60 yaş arasında kadın cinsiyetin belirgin ağırlığı gözlenmekte, 60 yaş sonrasında halen kadın cinsiyet ön planda iken erkek cinsiyette de belirgin bir artış olduğu gözlenmektedir (Şekil-3).



Şekil-3. Literatürdeki yaş ve cinsiyet dağılımı (mavi: kadın, gri: erkek)

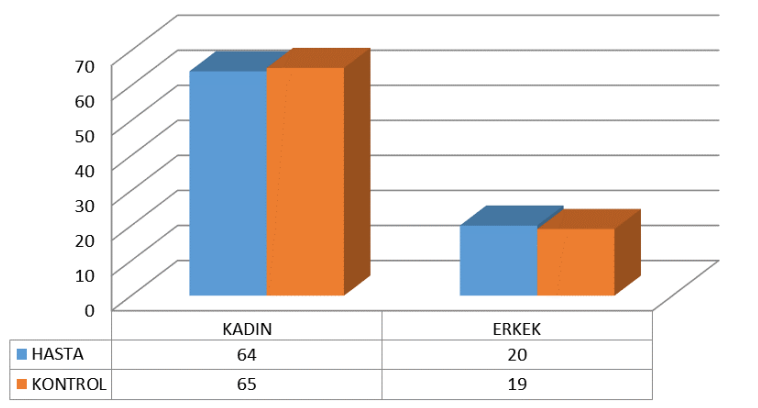
70 yaş sonrasında erkek cinsiyet ağırlığı izlenmek ile birlikte coğrafik, mevsimsel ve etniksel farklılıkların etkisi de olduğu öne sürülmektedir. Çalışmamızda hasta grubunda %50 hasta 18-45 yaş arası iken %31 hasta 45-65 yaş arasında, %19 hasta ise 65 yaş üzeri iken, kontrol grubunda %46,4 denek 18-45 yaş arasında, %39,3'u 45-65 yaş arasında, %14,3'ü 65

yaş üzeridir. Cinsiyet faktörü devreye alındığında tüm yaş gruplarında, ileri yaş grubu dahil olmak üzere kadın cinsiyet ağırlığı gözlemlenmiştir (Şekil-4).



Şekil-4. Çalışmamızda hastalarda cinsiyet ve yaş dağılımı

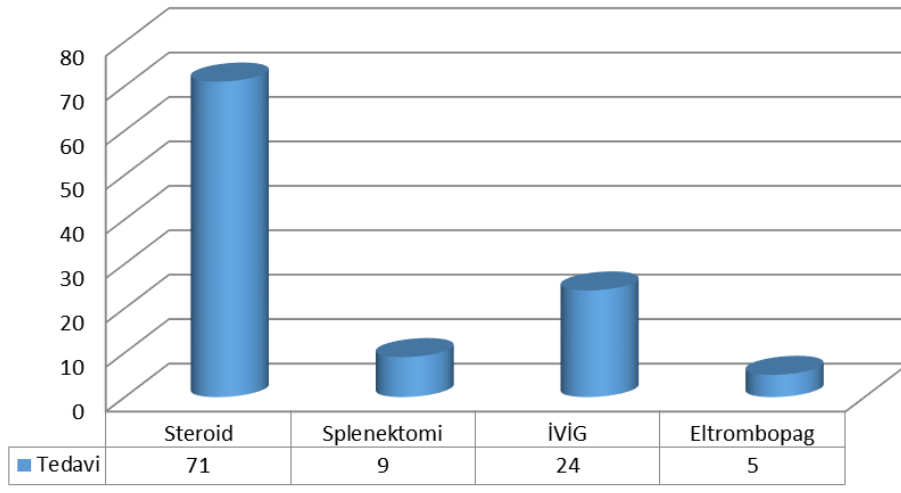
Çalışmamızda 84 hasta ve 84 yaş ve cinsiyeti benzer bilinen bir kronik hastalığı olmayan ve ilaç kullanmayan sağlıklı kontroller dahil edilmiştir. Cinsiyet olarak hasta grubunda 64 kadın 20 erkek hasta var iken, kontrol grubunda 65 kadın 19 erkek bulunmakta idi (Şekil-5). Yaş ortalaması hasta grubunda 47,31 (22-87) yıl, kontrol grubunda 46,56 (19-72) idi.



Şekil-5. Cinsiyet dağılımları

Klinik özellikleri ele alındığında hasta grubunda 4 hastada splenomegali izlenir iken kontrol grubunda bu fizik muayene bulgusuna rastlanmadı. Hasta grubunda 13 hasta trombosit değeri tedavi ihtiyacı sınırının üzerinde olduğundan ilaçsız takibe alınmıştır. Bunun yanında 61 hastada minör ve majör dahil kanama izlenmiş, bunun 24 tanesi mukozal kanama olduğundan intravenöz immünglobulin ile tedavi edilmiştir (Şekil-6). 6 hasta majör kanama olarak

değerlendirilmiştir. 15 hastada antinükleer antikor pozitif bulunmuştur. 2 hastada lupus antikoagulanı pozitif bulunmuştur. İViG yanıt günü ortanca 3. gün olarak gözlenmiştir. Yanıt, trombosit sayısının 50 bin üzerine çıkması olarak ele alınmış, 1 hasta ilk gün, 6 hasta 2.gün, 10 hasta 3.gün, 4 hasta 4.gün ve 3 hasta da 5.günde yanıt göstermiştir.



Şekil-6. Tedavi seçenekleri

Geliş trombosit değeri hastalarda 30 bin ve altı (tedavi ihtiyacı doğurması açısından) ve 30-100 bin arası olmak üzere iki grup ve sağlıklı kontroller de 3 grup olarak ele alınmıştır. Hasta grubunda ortalama geliş trombosit sayısı $19310/\text{mm}^3$ (1000-92000), geliş MPV 10.75 fL (6.7-36) olarak gözlenmiştir. Hasta grubunda CCL1 ortalama düzeyi 388.21 ng/mL (86.24-1280), CCL3 düzeyi 830.22 (256.96-2554.96), CCL4 düzeyi 48.06 (7.77-114.6) ve CCL16 düzeyi ise 536.96 ng/mL (222.7-1323.55) olarak tespit edilmiştir (Tablo-4).

Kontrol grubunda ortalama geliş trombosit sayısı $258345/\text{mm}^3$ (143000-424000), MPV 9.03 fL (7.3-12.4) olarak gözlenmiştir. Kontrol grubunda CCL1 düzeyi ortalama 332.21 ng/mL (0.41-883.61), CCL3 düzeyi 755.54 ng/mL (4.36-2296.6), CCL4 düzeyi 35.46 ng/mL (14.9-69.8), CCL16 düzeyi ise 482.02 ng/mL (102.5-980.6) olarak gözlenmiştir.

Hasta grubu ve sağlıklı gruptaki kemokin düzeyleri istatistiksel olarak Kolmogorov-Smirnov testi ile normal dağılıma uymadığından ANOVA analizi yapılmıştır. Bu analiz sonucunda CCL4 düzeyi istatistiksel anlamlı olarak hasta ve kontrol grubunda farklı izlenmiştir. CCL4 düzeyi ile ilgili TUKEY analizi ile geliş trombosit değeri 30 bin altında olan gruptaki düzeyler sağlıklı kontroller ile anlamlı derecede farklı izlenmiştir. Ancak trombosit düzeyi 30-100 bin arası olan grup ile ilişkili bulunmamıştır. Bonferroni analizi ile yine CCL4 düzeyi trombosit değeri 30 bin altı olan hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlılık izlenmiştir.

Kemokin düzeyleri kendi içerisinde birbiri ile ilişkili olabilir mi düşüncesi ile yapılan korelasyon analizinde oldukça yüksek korelasyon katsayısı ile incelemeye alınan 4 kemokin de birbiri arasında ilişkili bulunmuştur. İncelemeye alınan diğer değişkenler olarak yaş, geliş hemoglobin düzeyi, geliş lökosit düzeyi, splenomegali varlığı ele alındığında kemokin düzeylerinin bu değişkenlerden etkilenmediği gözlemlendi.

Hasta grubunda trombosit değerlerine göre 0-25, 26-50, 51-75 ve 76-100 bin/mm³ olarak yapılan dördümlü grupta ile kemokin düzeyleri arasında yapılan analizde trombosit sayısı düştükçe CCL4 düzeyinde anlamlı bir yükseklik gözlemlenmiş, bu yükseklik en şiddetli olarak trombosit sayısı tedavi ihtiyacı doğuran grup olan 0-25 bin/mm³ arası olan grupta izlenmiştir.

Tablo-4. Hasta grubu ve kontrol grubunda kemokin düzeyleri

	Ortalama (ng/mL)	
HASTA (n=84)	CCL1	388,21
	CCL3	830,22
	CCL4	48,06
	CCL16	536,96
KONTROL (n=84)	CCL1	332,21
	CCL3	755,54
	CCL4	35,46
	CCL16	482,02

TARTIŞMA

İmmün trombositopeni patogenezi tam olarak aydınlanmamış olmak ile birlikte antikor aracılı bir yıkımın söz konusu olduğu bilinmektedir. Bu immün yanıtın genetik ya da edinsel faktörler ile uyarıldığı düşünülmektedir. Uyarıcı etkenlerden genellikle viral olmak üzere infeksiyonlar ve immün homeostazın bozulduğu otoimmün hastalıklar ve lenfoid maliniteler yine başlatıcı etmenler olarak öne çıkmaktadır. Viral infeksiyonların normal trombosit antijenleri ile çapraz reaksiyon gösterme ile (bir çeşit moleküler benzerlik ile) İTP'ye yol açabileceği, bunun yanında lipopolisakkaritler gibi bakteriyel ürünlerin trombosit yüzeyine yapışarak trombosit fagositozunu arttırdığı düşünülmektedir. Helikobakter pilori infeksiyonunun da tam olarak bilinmemek ile birlikte moleküler benzerlik, immün değişiklikler ya da CagA gibi bakteriyel ürünlerin aktive edici rol üstlenmesi ile İTP'ye yol açtığı düşünülmektedir.

İmmün homeostazdaki değişiklikler periferik toleransı azaltarak ve self-reaktif antikorların gelişimine yol açarak İTP patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Buna örnekler arasında antifosfolipid antikor sendromu, sistemik lupus eritematozus, kronik lenfositik lösemi ve diğer düşük dereceli lenfoproliferatif hastalıklar ve otoimmün lenfoproliferatif sendrom sayılabilir. Bu genel yaklaşımlara ek olarak daha özgün immünolojik çalışmalarda T hücrelerinin İTP patogenezindeki rolü artık gündeme gelmektedir. T hücre aracılı sitotoksikite ve düzenleyici T hücrelerinin (Treg) gerek sayı gerekse de fonksiyonundaki sorunlar nedeni ile supresif özellikteki Treg hücrelerinin sağlıklı kontrollere kıyasla İTP hastalarında daha az sayıda olduğunun bulunması ve rituksimab gibi tedaviler sonrasında klinik yanıt alınan hastalarda sayılarının normale dönmesi, bu yolu destekleyen bulgular olmuştur (82). Trombosit yüzey glikoproteinlerine karşı CD4+ helper T hücrelerince yönetilen bir

antikor üretimi ve dalak makrofajlarının majör antijen sunan hücreler olduğu düşünülmektedir. Bu açıklamanın kuvvetle muhtemel olmasına karşın İTPli hastaların hepsinde anti-trombositer antikorlar gösterilememektedir ve rutinde de kullanımları yer bulmamıştır (83).

Daha önce de söz edildiği gibi, kemokin sinyalleri yedi transmembran G-protein eşleşmiş reseptör aracılığı ile iletilir. Bunun yanında kemokinlerin başka efektör yollarla da rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bunu düşündüren bulgular, hücrelerde kemokin reseptör ekspresyonundaki heterojenlik ve kemokinlerin heterodimerize olabilmesidir. Bunun yanında, G proteini ile eşleşmiş olmayan duffy antijen reseptörü (DARC), D6 ve CCX-CKR gibi dekoym reseptörleri bulunmaktadır. Dekoy kemokin reseptörleri immün yanıtların hafifletilmesi ve inflamasyonun toparlanması gibi süreçlerde rol oynadığı düşünülmektedir. Kemokinler kemotaksis dışında T helper hücre farklılaşması ve fonksiyonu ve anjiogenez gibi birçok rol üstlenir. Kemokinlerin T hücre farklılaşmasında gelişmekte olan hücreye direkt interaksyonda bulunmaya da antijen sunan hücre trafiğini yönetmek üzerinden indirekt etki gösterme gibi rolleri de bulunur. Anjiogenez üzerindeki etkiler CXC kemokin alt grubuna ait olduğu bilinmektedir (84).

Kemokinler ile ilgili bu genel bilgiler ışığında inflamatuvar hastalıklarda sitokinler ve kemokinlerin rolü tahmin edilebilir olmak ile birlikte, bu rolün ortaya konmasına ilişkin bir çok hastalıkta gerek aberran ekspresyonları ile gerek ise aşırı üretimleri ile kemokinlerin varlığı ve fonksiyonları ortaya konmaktadır. Örneğin, tip 1 diyabet, romatoid artrit, lupus nefriti, psöriyazis ve sistemik skleroz gibi birçok kronik, inflamatuvar ve otoimmün hastalıkta IL-1 ve IL-6'nın upregulasyonu gösterilmiş durumdadır. TNF alfa'nın da bir çok inflamatuvar hastalıkta gerek hastalık patogenezi gerek ise bölgesel hastalık bulgularındaki rolü bilinmektedir. TNF alfa inflamatuvar yanıtın yürütülmesinde sistemik ya da lokalize olarak etkindir. Tablo-5'de bazı kemokinlerin rol oynadığı gösterilmiş inflamatuvar hastalıklar özetlenmiştir (85). CC kemokinlerden CCL2, CCL3 ve CCL5 romatoid artritli hastaların sinovial sıvılarında yüksek düzeylerde bulunmuş ve sinoviyal dokuya T hücrelerin ve monositlerin toplanmasında rolü olduğu gösterilmiştir (86). Biz de sistemik bir inflamatuvar tablo olan İTP'de patogeneze trombositlerin otoimmün bir doğa içinde yıkıldığının, trombosit üretiminde esasen bir patoloji olmadığının bilinmesi ışığında kemokin düzeylerinin patogeneze rol oynayacağı hipotezi üzerinde durduk. Çalışmamızda CCL1, CCL3, CCL4, CCL16 kemokinleri incelendi ve belirgin etkinin CCL4 te olduğu gözlemlendi. CCL4, özellikle trombosit sayısı 30 bin/mm³ altında olan hastalarda, trombosit sayısı 30-100 bin/mm³ olan hastalar ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel anlamlılık göstermiştir (p=0,000).

Tablo-5. İnflamatuvar hastalıklarda rolü gösterilmiş kemokinler

Kemokin/Kemokin reseptörü	Hastalık
CXCR4 CX3CR1, CX3CL1, CXCL1, CXCL8, CXCR2, CCL2 CCL2, CCL5, CCL7, CCL11, CXCL8 CCR5, CXCR3	WHIM sendromu Aterosklerozis Astm, alerjik hastalıklar Romatoid artit

Önceki çalışmalarda B hücre reseptörü (BCR) uyarısı ile normal ve malign B hücrelerinden CCL3 ve CCL4 salınarak T hücrelerinin toplanması ve doku mikro çevresinde interaksiyonları düzenlenmesi sağlanmaktadır. Daha önceden makrofaj inflamatuvar protein 1 alfa (MIP1alfa) ve MIP 1 beta olarak adlandırılmış olan CCL3 ve CCL4 adaptif bağışık yanıtta özellikle önemlidir. CCL3'ün BCR sinyalizasyonu ile up regule olan B hücre yanıtı için anahtar rol üstlendiği ve BCL6 ile baskılandığı gösterilmiştir. Yine, KLL hastalarında CCL3 ve CCL4 plazma düzeylerinin yüksek olması ile multivariate analiz sonucunda CCL3'ün KLL'de bağımsız bir prognostik gösterge olduğu gösterilmiştir (87). KLL hastalarında yüksek bulunan CCL3 ve CCL4 düzeyleri BCR sinyalizasyonunun idelalisib ya da ibrutinib ile hızla normale dönmesi bir terapötik hedef olabileceklerini düşündürmektedir. Diffüz büyük B hücreli lenfomada CCL3 kodlayan gen aktive B hücre alt gubu için imza geni olarak adlandırılmaktadır ve sürvi için en güçlü altı prognostik prediktörden biridir. Gen ekspresyon profil çalışmaları ile elde edilen bu bilgilerin yanında CCL3 ve CCL4 protein konsantrasyonları lenfomada bir prognostik biomarker olarak çalışılmış değildir. Gen ekspresyonu her zaman protein sentezi ile sonuçlanmayabileceğinden, düzey ve prognoza ilişkin çalışmalara ihtiyaç vardır. Biz de çalışmamızda tedavi ihtiyacı olan düzeyde trombositopenisi olan İTP hastalarında CCL3 ve CCL4 düzeylerinin yüksek olması bilgisi ile ileride İTP tedavisinde KLL tedavisinde kullanılan fosfoinositid 3 inhibitörü idelalisib ya da Bruton kinaz inhibitörü ibrutinib gibi BCR sinyalizasyonu inhibisyonu yapan farmakolojik ajanların kullanılabileceği görüşündeyiz.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji polikliniğine ve acil servise 2016-2017 yılları arasında ayaktan başvuran, İTP tanısı alan hastaların serum kemoatraktan düzeylerinin aynı yaş ve cinsiyet dağılımına sahip sağlıklı erişkinlerle karşılaştırılması amaçladığımız çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar şu şekildedir;

1. 84 hasta ve 84 sağlıklı kontrol örnekleri kullanılmıştır
2. Cinsiyetler, hasta grubunda 64 kadın 20 erkek, kontrol grubunda ise 65 kadın 19 erkek olmak üzere benzerdir.
3. Yaş ortalaması hasta grubunda ortalama 47,31 (22-87) yıl, kontrol grubunda 46,56 (19-72) yıl idi.
4. Klinik özellikler arasında hastaların 4'ünde splenomegali izlenir iken, kontrol grubunda bu fizik muayene bulgusuna rastlanmamıştır.
5. Hasta grubunda 13 hasta ilaçsız takip edilmiştir.
6. İntravenöz immünglobulin 24 hastaya uygulanmıştır.
7. Eltrombopag 5 hastaya uygulanmıştır.
8. 61 hastada minör ve major dahil olmak ile birlikte kanama gözlenmiş, bunların 24 tanesi mukozal kanama, 6 tanesi majör kanama olarak değerlendirilmiştir.
9. 15 hastada antinükleer antikor (FANA) pozitif bulunmuştur.
10. 2 hastada lupus antikoagulanı (DRVVT ve LA ile) pozitif bulunmuştur.
11. İVİG yanıt günü ortalama 3.gün olarak gözlenmiştir. Yanıt, trombosit sayısının 50bin/mm³ üzerine çıkması olarak ele alınmış 1 hasta ilk gün, 6 hasta 2.gün, 10 hasta 3.gün, 4 hasta 4.gün ve 3 hasta da 5.günde yanıt göstermiştir.

12. Geliş trombosit değeri hastalarda $30.000/\text{mm}^3$ ve altı (tedavi ihtiyacı doğurması açısından) ve $30-100.000/\text{mm}^3$ arası olmak üzere iki grup, ve sağlıklı kontroller de 3.grup olarak ele alınmıştır.
13. Hasta grubunda ortalama geliş trombosit sayısı $19.310/\text{mm}^3$ ($1000-92.000$), geliş MPV $10,75 \text{ fL}$ ($6,7-36$) olarak gözlenmiştir.
14. Hasta grubunda CCL1 ortalama düzeyi $388,21 \text{ ng/mL}$ ($86,24-1280$), CCL3 düzeyi $830,22$ ($256,96-2554,96$), CCL4 düzeyi $48,06$ ($7,77-114,6$) ve CCL16 düzeyi ise $536,96 \text{ ng/mL}$ ($222,7-1323,55$) olarak saptanmıştır (Tablo-4).
15. Kontrol grubunda ortalama geliş trombosit sayısı $258.345/\text{mm}^3$ ($143.000-424.000$), MPV $9,037 \text{ fL}$ ($7,3-12,4$) olarak gözlenmiştir.
16. Kontrol grubunda CCL1 düzeyi ortalama $332,21 \text{ ng/mL}$ ($0,41-883,61$), CCL3 düzeyi $755,54 \text{ ng/mL}$ ($4,36-2296,6$), CCL4 düzeyi $35,46 \text{ ng/mL}$ ($14,9-69,8$), CCL16 düzeyi ise $482,02 \text{ ng/mL}$ ($102,5-980,6$) olarak bulunmuştur.
17. Hasta grubu ve sağlıklı gruptaki kemokin düzeyleri istatistiksel olarak Kolmogorov-Smirnov testi ile normal dağılıma uymadığından ANOVA analizi yapılmıştır. Bu analiz sonucunda CCL4 düzeyi istatistiksel anlamlı olarak hasta ve kontrol grubunda farklı izlenmiştir. CCL4 düzeyi ile ilgili TUKEY analizi ile geliş trombosit değeri $30 \text{ bin}/\text{mm}^3$ altında olan gruptaki düzeyler sağlıklı kontroller ile anlamlı derecede farklı izlenmiştir. Ancak trombosit düzeyi $30-100 \text{ bin}/\text{mm}^3$ arası olan grup ile ilişkili bulunmamıştır. Bonferroni analizi ile yine CCL4 düzeyi trombosit değeri $30 \text{ bin}/\text{mm}^3$ altı olan hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlılık izlenmiştir.
18. Kemokin düzeyleri kendi içerisinde birbiri ile ilişkili olabilir mi düşüncesi ile yapılan korelasyon analizinde oldukça yüksek korelasyon katsayısı ile incelemeye alınan 4 kemokin de birbiri arasında ilişkili bulundu.
19. İncelemeye alınan diğer değişkenler olarak yaş, geliş hemoglobin düzeyi, geliş lökosit düzeyi, splenomegali varlığı ele alındığında kemokin düzeylerinin bu değişkenlerden etkilenmediği gözlemlendi.
20. İmmün trombositopeni patogeneğinde monosit kemoatraktanlarının rolüne ilişkin yaptığımız çalışmamızda kemoatraktanlardan CCL4 düzeyinin yükselmesi ile trombosit sayısının düşüşü arasında anlamlı bir ilişki gözlemlendi. Bu ilişkiye ilişkin korelasyon katsayısı oldukça yüksek bulundu (-0.23). Diğer kemokinlerin düzeylerindeki artış ile trombosit sayısında düşüş izlenir iken bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

21. B hücreli neoplazmların patogeneğinde de rolleri güncel çalışmalarda vurgulanan bu kemokinlerin tedavi ile ilişkili değişiklikleri gözlenmiş olduğundan İTP tedavisinde bu kemokinlerin benzer immün düzenleyiciler ile (bruton kinaz inhibitörleri, fosfoinositid 3 inhibitörleri gibi) tedavi edilebileceği görüşündeyiz.

Tedavi seçeneklerinde trombopoetin mimetiklerin kontrendike olabileceği ya da ciddi istenmeyen etkilerin izlendiği durumlarda alternatif tedavi yöntemleri olarak immün düzenleyicilerin kullanılabileceği ve bu kemokinlerden özellikle CCL4'ün metodolojik olarak kolay tespiti nedeni ile bir biomarker olarak kullanılabileceği görüşündeyiz.



ÖZET

Giriş ve Amaç: İmmün trombositopeni (İTP) antikor aracılı trombosit yıkımı ve megakaryositlerden trombosit üretim bozukluğunun patogeneizde rol aldığı otoimmün kaynaklı edinsel kanama bozukluğudur. Kemokinler, lökosit fonksiyonlarının kontrol edilmesi ve transmembran reseptör aktivasyonları aracılığı ile lökosit hareketliliğini ve trafiğini kontrol eden polipeptid moleküllerdir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 84 İTP tanısı konulan hasta ve 84 bilinen hastalığı olmayan ve ilaç tedavisi kullanmayan benzer yaş ve cinsiyetteki gönüllüler dahil edildi. Sekonder İTP tanısı olması, kronik İTP tanısı olması, başvuru anında yüksek ESR ve CRP düzeylerinin olması dışlama kriterleri olarak kabul edildi. Hasta ve sağlıklı gönüllülerden alınan kan örneklerinden, ELISA yöntemi ile hedef moleküller olan CCL1, CCL3, CCL4 ve CCL16 düzeyleri kitler içerisindeki çalışma prensiplerine göre ölçüldü.

Bulgular: Hastaların yaş ortalaması 47,31 (22-87) olup, erkek/kadın oranı 0.31 (20/64) idi. Hastaların 61'inde majör veya minör kanama mevcut iken, 23 hasta asemptomatik idi. Hayatı tehdit eden ciddi kanama ise sadece 6 hastada gözlemlendi. Hasta grubunda CCL1 ortalama düzeyi 388,21 ng/mL, CCL3 düzeyi 830,22 ng/mL, CCL4 düzeyi 48,06 ng/mL ve CCL16 düzeyi ise 536,96 ng/mL, kontrol grubunda CCL1 düzeyi ortalama 332,21 ng/mL, CCL3 düzeyi 755,54 ng/mL, CCL4 düzeyi 35,46 ng/mL, CCL16 düzeyi ise 482,02 ng/mL olarak ölçüldü.

Tartışma ve Sonuç: CCL4, özellikle trombosit sayısı 30 bin/mm³ altında olan hastalarda, trombosit sayısı 30-100 bin/mm³ olan hastalar ile sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık göstermiştir (p=0,000). CCL4 düzeyinin yükselmesi ile trombosit sayısının düşüşü arasında anlamlı bir ilişki gözlemlendi. Bu ilişkiye ilişkin korelasyon katsayısı oldukça yüksek bulundu (-0.23). İTP hastalarında CCL-4 düzeyinin

trombosit sayısı ve hastalık seyrine etkisini gösteren daha geniş populasyonlu, çok merkezli, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. İncelemeye alınan diğer değişkenler olarak yaş, geliş hemoglobin düzeyi, geliş lökosit düzeyi, splenomegali varlığı ele alındığında kemokin düzeylerinin bu değişkenlerden etkilenmediği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: CCL-4, İTP, Monosit kemoatraktanları



EVALUATION OF MONOSITE CHEMOATTRACTANT LEVELS IN IMMUNE THROMBOCYTOPENIA

SUMMARY

Introduction and Target: Immune thrombocytopenia (ITP) is acquired autoimmune hemorrhage due to antibody-mediated thrombocyte disruption and platelet production defects from megakaryocytes involved in the pathogenesis. Chemokines are polypeptide molecules that control leukocyte motility and trafficking through the control of leukocyte functions and transmembrane receptor activations.

Materials and Methods: The study included 84 patients with ITP diagnosis and 84 subjects with similar age and gender who did not use medication. Exclusion criteria were the presence of sequelae of ITP, the presence of chronic ITP, and the presence of high levels of ESR and CRP at the time of admission. From the blood samples taken from patients and healthy volunteers, the target molecules CCL1, CCL3, CCL4 and CCL16 levels were measured by ELISA according to the working principles in the kit.

Findings: The mean age of the patients was 47.31 (22-87) and the male/female ratio was 0.31 (20/64). While 61 patients had major or minor hemorrhage, 23 patients were asymptomatic. Life-threatening severe bleeding was observed in only 6 patients. In the patient group, mean CCL1 level was 388,21 ng/mL, CCL3 level 830,22 ng/mL, CCL4 level 48,06 and CCL16 level 536,96 ng/mL, CCL1 level in the control group was 332,21 ng/mL, CCL3 level 755,54 ng/mL, CCL4 level 35,46 ng/mL and CCL16 level 482,02 ng/mL.

Discussion and Result: CCL4 showed statistically significant differences ($p=0,000$) between patients with thrombocyte counts of 30-100 thousand/ mm^3 and healthy controls, especially in patients with platelet count below 30 thousand/ mm^3 . There was a significant correlation between elevation of CCL4 level and decrease of platelet count. The correlation coefficient for this association was found to be high (-0.23). In patients with ITP, the CCL-4 level requires a broad population, multicenter, prospective studies showing the platelet count and disease course effects. When the age, arrival hemoglobin level, incident leukocyte level, splenomegaly were considered as the other variables to be examined, it was observed that the chemokine levels were not affected by these variables.

Key Words: CCL4, ITP, Monocyte chemoattractants

KAYNAKLAR

1. Barsam SJ, Psaila B, Forestier M, Page LK, Sloane PA, Geyer JT, et al. Platelet production and platelet destruction: assessing mechanisms of treatment effect in immune thrombocytopenia. *Blood*. 2011;117(21):5723-32.
2. Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*. 2002;2002(346):995-1008.
3. Fogarty PF. Chronic immune thrombocytopenia in adults: epidemiology and clinical presentation. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009;23(6):1213-21.
4. Marieke Schoonen W, Kucera G, Coalson J, Li L, Rutstein M, Mowat F, et al. Epidemiology of immune thrombocytopenic purpura in the General Practice Research Database. *Br J Haematol*. 2009;145(2):235-44.
5. Moulis G, Palmaro A, Montastruc J-L, Godeau B, Lapeyre-Mestre M, Sailer L. Epidemiology of incident immune thrombocytopenia: a nationwide population-based study in France. *Blood*. 2014;124(22):3308-15.
6. 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 N Y Acad Sci*. 1965;124(2):499-542.
7. Khodadi E, Asnafi AA, Shahrabi S, Shahjahani M, Saki N. Bone marrow niche in immune thrombocytopenia: a focus on megakaryopoiesis. *Ann Hematol*. 2016;95(11):1765-76.
8. Olsson B, Andersson P-O, Jernås M, Jacobsson S, Carlsson B, Carlsson LM, et al. T-cell-mediated cytotoxicity toward platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nat Med*. 2003;9(9):1123.
9. Zhang H, Hou M, Zhang X, Guan X, Sun G. The diagnostic value of platelet glycoprotein-specific autoantibody detection in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2004;12(2):204-6.

10. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L. Clinical guideline update on "Immune thrombocytopenia: an evidence based practice guideline developed by the American Society of Hematology". *Blood*. 2011;blood-2010-08-302984.
11. Cooper N. Intravenous immunoglobulin and anti-RhD therapy in the management of immune thrombocytopenia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009;23(6):1317-27.
12. George JN, Woolf SH, Raskob GE, Wasser J, Aledort L, Ballem P, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood*. 1996;88(1):3-40.
13. Machlus KR, Italiano JE, Jr. The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. *J Cell Biol*. 2013;201(6):785-96.
14. Buckley MF, James JW, Brown DE, Whyte GS, Dean MG, Chesterman CN, et al. A novel approach to the assessment of variations in the human platelet count. *Thromb Haemost*. 2000;83(3):480-4.
15. Stasi R, Amadori S, Osborn J, Newland AC, Provan D. Long-term outcome of otherwise healthy individuals with incidentally discovered borderline thrombocytopenia. *PLoS Medicine*. 2006;3(3):e24.
16. Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, Michel M, Provan D, Arnold DM, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood*. 2009;113(11):2386-93.
17. Terrell DR, Beebe LA, Vesely SK, Neas BR, Segal JB, George JN. The incidence of immune thrombocytopenic purpura in children and adults: a critical review of published reports. *Am J Hematol*. 2010;85(3):174-80.
18. Koylu A, Pamuk GE, Uyanik MS, Demir M, Pamuk ON. Immune thrombocytopenia: epidemiological and clinical features of 216 patients in northwestern Turkey. *Ann Hematol*. 2015;94(3):459-66.
19. Harrington WJ, Minnich V, Hollingsworth JW, Moore CV. Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. *J Lab Clin Med*. 1951;38(1):1-10.
20. Stasi R, Newland AC. ITP: a historical perspective. *Br J Haematol*. 2011;153(4):437-50.
21. Nieswandt B, Bergmeier W, Rackebrandt K, Gessner JE, Zirngibl H. Identification of critical antigen-specific mechanisms in the development of immune thrombocytopenic purpura in mice. *Blood*. 2000;96(7):2520-7.
22. Chang M, Nakagawa PA, Williams SA, Schwartz MR, Imfeld KL, Buzby JS, et al. Immune thrombocytopenic purpura (ITP) plasma and purified ITP monoclonal autoantibodies inhibit megakaryocytopoiesis in vitro. *Blood*. 2003;102(3):887-95.
23. Leytin V, Mykhaylov S, Starkey AF, Allen DJ, Lau H, Ni H, et al. Intravenous immunoglobulin inhibits anti- glycoprotein IIb- induced platelet apoptosis in a murine model of immune thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 2006;133(1):78-82.

24. Sarpatwari A, Bennett D, Logie JW, Shukla A, Beach KJ, Newland AC, et al. Thromboembolic events among adult patients with primary immune thrombocytopenia in the United Kingdom General Practice Research Database. *Haematologica*. 2010;95(7):1167-75.
25. Severinsen MT, Engebjerg MC, Farkas DK, Jensen AØ, Nørgaard M, Zhao S, et al. Risk of venous thromboembolism in patients with primary chronic immune thrombocytopenia: a Danish population- based cohort study. *Br J Haematol*. 2011;152(3):360-2.
26. Kuwana M, Kaburaki J, Ikeda Y. Autoreactive T cells to platelet GPIIb-IIIa in immune thrombocytopenic purpura. Role in production of anti-platelet autoantibody. *J Clin Invest*. 1998;102(7):1393.
27. Nishimoto T, Kuwana M, editors. CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells in the pathophysiology of immune thrombocytopenia. *Semin Hematol*. 2013: Elsevier.
28. Qiu J, Liu X, Li X, Zhang X, Han P, Zhou H, et al. CD8⁺ T cells induce platelet clearance in the liver via platelet desialylation in immune thrombocytopenia. *Sci Rep*. 2016;6.
29. Zhao C, Li X, Zhang F, Wang L, Peng J, Hou M. Increased cytotoxic T-lymphocyte-mediated cytotoxicity predominant in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura without platelet autoantibodies. *Haematologica*. 2008;93(9):1428-30.
30. Baeten DL, Kuchroo VK. How Cytokine networks fuel inflammation: Interleukin-17 and a tale of two autoimmune diseases. *Nat Med*. 2013;19(7):824-5.
31. Ma D, Zhu X, Zhao P, Zhao C, Li X, Zhu Y, et al. Profile of Th17 cytokines (IL-17, TGF- β , IL-6) and Th1 cytokine (IFN- γ) in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol*. 2008;87(11):899-904.
32. Rocha AMC, Souza C, Rocha GA, de Melo FF, Clementino NCD, Marino MCA, et al. The levels of IL-17A and of the cytokines involved in Th17 cell commitment are increased in patients with chronic immune thrombocytopenia. *Haematologica*. 2011;96(10):1560-4.
33. Ware RE, Howard TA. Phenotypic and clonal analysis of T lymphocytes in childhood immune thrombocytopenic purpura. *Blood*. 1993;82(7):2137-42.
34. Nugent D, McMillan R, Nichol JL, Slichter SJ. Pathogenesis of chronic immune thrombocytopenia: increased platelet destruction and/or decreased platelet production. *Br J Haematol*. 2009;146(6):585-96.
35. Malara A, Abbonante V, Di Buduo CA, Tozzi L, Currao M, Balduini A. The secret life of a megakaryocyte: emerging roles in bone marrow homeostasis control. *Cell Mol Life Sci*. 2015;72(8):1517-36.
36. Makar RS, Zhukov OS, Sahud MA, Kuter DJ. Thrombopoietin levels in patients with disorders of platelet production: diagnostic potential and utility in predicting response to TPO receptor agonists. *Am J Hematol*. 2013;88(12):1041-4.
37. Hoffmeister KM. The role of lectins and glycans in platelet clearance. *J Thromb Haemost*. 2011;9(s1):35-43.

38. Rumjantseva V, Hoffmeister KM. Novel and unexpected clearance mechanisms for cold platelets. *Transfus Apher Sci.* 2010;42(1):63-70.
39. Hoffmeister KM, Falet H. Platelet clearance by the hepatic Ashwell-Morrell receptor: mechanisms and biological significance. *Thromb Res.* 2016;141:S68-S72.
40. Jansen AG, Josefsson EC, Rumjantseva V, Liu QP, Falet H, Bergmeier W, et al. Desialylation accelerates platelet clearance after refrigeration and initiates GPIIb/IIIa metalloproteinase-mediated cleavage in mice. *Blood.* 2012;119(5):1263-73.
41. Jansen AJG, Peng J, Zhao HG, Hou M, Ni H. Sialidase inhibition to increase platelet counts: a new treatment option for thrombocytopenia. *Am J Hematol.* 2015;90(5).
42. Alioglu B, Tasar A, Ozen C, Selver B, Dallar Y. An experience of oseltamivir phosphate (tamiflu™) in a pediatric patient with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: a case report. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2010;37(2-4):55-8.
43. Shao L, Wu Y, Zhou H, Qin P, Ni H, Peng J, et al. Successful treatment with oseltamivir phosphate in a patient with chronic immune thrombocytopenia positive for anti-GPIIb/IX autoantibody. *Platelets.* 2015;26(5):495-7.
44. Provan D, Butler T, Evangelista ML, Amadori S, Newland AC, Stasi R. Activity and safety profile of low-dose rituximab for the treatment of autoimmune cytopenias in adults. *Haematologica.* 2007;92(12):1695-8.
45. Stasi R, Stipa E, Forte V, Meo P, Amadori S. Variable patterns of response to rituximab treatment in adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2002;99(10):3872-3.
46. Stasi R. Pathophysiology and therapeutic options in primary immune thrombocytopenia. *Blood Transfus.* 2011;9(3):262.
47. Wang B, Nichol JL, Sullivan JT. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of AMG 531, a novel thrombopoietin receptor ligand. *Clin Pharmacol Ther.* 2004;76(6):628-38.
48. Bussel JB, Kuter DJ, George JN, McMillan R, Aledort LM, Conklin GT, et al. AMG 531, a thrombopoiesis-stimulating protein, for chronic ITP. *N Engl J Med.* 2006;355(16):1672-81.
49. George JN, Mathias SD, Go RS, Guo M, Henry DH, Lyons R, et al. Improved quality of life for romiplostim- treated patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: results from two randomized, placebo- controlled trials. *Br J Haematol.* 2009;144(3):409-15.
50. Khellaf M, Michel M, Quittet P, Viallard J-F, Alexis M, Roudot-Thoraval F, et al. Romiplostim safety and efficacy for immune thrombocytopenia in clinical practice: 2-year results of 72 adults in a romiplostim compassionate-use program. *Blood.* 2011;118(16):4338-45.
51. Kuter DJ, Bussel JB, Newland A, Baker RI, Lyons RM, Wasser J, et al. Long- term treatment with romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenia: safety and efficacy. *Br J Haematol.* 2013;161(3):411-23.

52. Imbach P, Crowther M. Thrombopoietin-receptor agonists for primary immune thrombocytopenia. *N Eng J Med*. 2011;365(8):734-41.
53. Erickson-Miller CL, DeLorme E, Tian S-S, Hopson CB, Stark K, Giampa L, et al. Discovery and characterization of a selective, nonpeptidyl thrombopoietin receptor agonist. *Exp Hematol*. 2005;33(1):85-93.
54. Erickson- Miller CL, Delorme E, Tian SS, Hopson CB, Landis AJ, Valoret EI, et al. Preclinical Activity of Eltrombopag (SB- 497115), an Oral, Nonpeptide Thrombopoietin Receptor Agonist. *Stem cells*. 2009;27(2):424-30.
55. Wright JH. The origin and nature of the blood plates. *Boston Med Surg J*. 1906;154(23):643-5.
56. Wright JH. The histogenesis of the blood platelets, 1910.
57. Kuter DJ, Greenberg SM, Rosenberg RD. Analysis of megakaryocyte ploidy in rat bone marrow cultures. *Blood*. 1989;74(6):1952-62.
58. Jackson CW, Brown LK, Somerville BC, Lyles SA, Look AT. Two-color flow cytometric measurement of DNA distributions of rat megakaryocytes in unfixed, unfractionated marrow cell suspensions. *Blood*. 1984;63(4):768-78.
59. Machlus KR, Thon JN, Italiano JE. Interpreting the developmental dance of the megakaryocyte: a review of the cellular and molecular processes mediating platelet formation. *Br J Haematol*. 2014;165(2):227-36.
60. Berridge M, Ralph S, Tan A. Cell-lineage antigens of the stem cell-megakaryocyte-platelet lineage are associated with the platelet IIb-IIIa glycoprotein complex. *Blood*. 1985;66(1):76-85.
61. Tomer A. Human marrow megakaryocyte differentiation: multiparameter correlative analysis identifies von Willebrand factor as a sensitive and distinctive marker for early (2N and 4N) megakaryocytes. *Blood*. 2004;104(9):2722-7.
62. Radley J, Haller C. The demarcation membrane system of the megakaryocyte: a misnomer? *Blood*. 1982;60(1):213-9.
63. Behnke O. An electron microscope study of the megakaryocyte of the rat bone marrow: I. The development of the demarcation membrane system and the platelet surface coat. *J Ultrastruct Res*. 1968;24(5-6):412-33.
64. MacPherson G. Changes in megakaryocyte development following thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 1974;26(1):105-15.
65. Schulze H, Korpai M, Hurov J, Kim S-W, Zhang J, Cantley LC, et al. Characterization of the megakaryocyte demarcation membrane system and its role in thrombopoiesis. *Blood*. 2006;107(10):3868-75.
66. Greenberg SM, Kuter DJ, Rosenberg RD. In vitro stimulation of megakaryocyte maturation by megakaryocyte stimulatory factor. *J Biol Chem*. 1987;262(7):3269-77.

67. Huang Z, Richmond TD, Muntean AG, Barber DL, Weiss MJ, Crispino JD. STAT1 promotes megakaryopoiesis downstream of GATA-1 in mice. *J Clin Invest.* 2007;117(12):3890.
68. Becker RP, De Bruyn PP. The transmural passage of blood cells into myeloid sinusoids and the entry of platelets into the sinusoidal circulation; a scanning electron microscopic investigation. *Am J Anat.* 1976;145(2):183-205.
69. Majka M, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak J, Kowalska MA, Vilaire G, Pan ZK, et al. Stromal-derived factor 1 and thrombopoietin regulate distinct aspects of human megakaryopoiesis. *Blood.* 2000;96(13):4142-51.
70. Lane WJ, Dias S, Hattori K, Heissig B, Choy M, Rabbany SY, et al. Stromal-derived factor 1-induced megakaryocyte migration and platelet production is dependent on matrix metalloproteinases. *Blood.* 2000;96(13):4152-9.
71. Lefrançois E, Ortiz-Muñoz G, Caudrillier A, Mallavia B, Liu F, Sayah DM, et al. The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. *Nature.* 2017;544(7648):105-9.
72. Taub DD, Conlon K, Lloyd AR, Oppenheim JJ, Kelvin DJ. Preferential Migration of Activated CD4⁺ and CD8⁺ T Cells in Response to MIP-1 α and MIP-1 β . *Science.* 1993;355-8.
73. Maurer M, Von Stebut E. Macrophage inflammatory protein-1. *Int J Bioch Biol.* 2004;36(10):1882-6.
74. Barczyk A, Pierzchała E, Caramori G, Sozańska E. Increased expression of CCL4/MIP-1 β in CD8⁺ cells and CD4⁺ cells in sarcoidosis. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2014;27(2):185-93.
75. Ruckes T, Saul D, Van Snick J, Hermine O, Grassmann R. Autocrine antiapoptotic stimulation of cultured adult T-cell leukemia cells by overexpression of the chemokine I-309. *Blood.* 2001;98(4):1150-9.
76. Tamgüney G, Van Snick J, Fickenscher H. Autocrine stimulation of rhadinovirus-transformed T cells by the chemokine CCL1/I-309. *Oncogene.* 2004;23(52):8475.
77. Hedrick JA, Morales J, Zlotnik A. Recent advances in chemokines and chemokine receptors. *Crit Rev Immunol.* 1999;19(1):1-47.
78. Strasly M, Doronzo G, Capello P, Valdembri D, Arese M, Mitola S, et al. CCL16 activates an angiogenic program in vascular endothelial cells. *Blood.* 2004;103(1):40-9.
79. Pannellini T, Iezzi M, Di Carlo E, Eleuterio E, Coletti A, Modesti A, et al. The expression of LEC/CCL16, a powerful inflammatory chemokine, is upregulated in ulcerative colitis. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2004;17(2):171-80.
80. Cappello P, Fraone T, Barberis L, Costa C, Hirsch E, Elia AR, et al. CC-chemokine ligand 16 induces a novel maturation program in human immature monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol.* 2006;177(9):6143-51.

81. Rodeghiero F, Tosetto A, Abshire T, Arnold D, Collier B, James P, et al. ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *J Thromb Haemost*. 2010;8(9):2063-5.
82. Stasi R, Cooper N, Del Poeta G, Stipa E, Evangelista ML, Abruzzese E, et al. Analysis of regulatory T-cell changes in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura receiving B cell-depleting therapy with rituximab. *Blood*. 2008;112(4):1147-50.
83. Fabris F, Scandellari R, Ruzzon E, Randi ML, Luzzatto G, Girolami A. Platelet-associated autoantibodies as detected by a solid-phase modified antigen capture ELISA test (MACE) are a useful prognostic factor in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2004;103(12):4562-4.
84. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*. 2000;12(2):121-7.
85. Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1843(11):2563-82.
86. Campbell JJ, Butcher EC. Chemokines in tissue-specific and microenvironment-specific lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol*. 2000;12(3):336-41.
87. Burger JA, Quiroga MP, Hartmann E, Bürkle A, Wierda WG, Keating MJ, et al. High-level expression of the T-cell chemokines CCL3 and CCL4 by chronic lymphocytic leukemia B cells in nurselike cell cocultures and after BCR stimulation. *Blood*. 2009;113(13):3050-8.

EKLER



EK 1: ETİK KURUL ONAY FORMU

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2017/46	
	PROTOKOL ADI	İmmün Trombositopenide Monosit Kemoatraktan Düzeylerinin Değerlendirilmesi	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Prof. Dr. Ahmet Muzaffer DEMİR	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 03/18		Tarih: 15.02.2017
	Fakültemiz İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ahmet Muzaffer DEMİR'in sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Araş. Gör. Dr. Hasan GÖZE'nin tez çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI		Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi	

ÜYELER

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ülfet VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Başkan Yardımcısı	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Ruhan Deniz TOPUZ Üye	Tıbbi Farmakoloji	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	K	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. F. Nesrin TURAN Üye	Biyoistatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistik A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Hasan ÜMIT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E H	E H	
Öğretim. Gör. Uzm. Dr. Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E H	E H	
Doç. Dr. Cafer Sadık ZORKUN Üye	Kardiyoloji	T.Ü.T.F. Kardiyoloji A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİÖCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Niyazi Cenk SAYIN Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E H	E H	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	T.Ü.T.F. Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Doç. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Avukat Baki KURNAZ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E H	E H	
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet TEZEL
Dekan a.
Dekan Yrd.

EK 2: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun Mart 2017 tarih ve 2017/59 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir.

Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır.

Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz.

Araştırma kapsamında yapılan işlemlerin mali giderleri araştırmacılar ya da destekleyici tarafından karşılanacak olup size ya da sosyal güvenlik kurumunuza hiçbir mali yük getirmeyecektir.

Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun ve araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

- **Araştırmanın bilimsel adı:** İmmün trombositopenide monosit kemoatraktan düzeylerinin değerlendirilmesi
- **Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Kan pulcukları eksik/düşük saptanan hastalarda bazı hücre protein düzeylerinin değerlendirilmesi
- **Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Prof Dr Ahmet Muzaffer Demir İç Hastalıkları ABD Hematoloji BD, Dr Hasan Göze İç Hastalıkları ABD
- **Araştırmanın amacı:** İmmün Trombositopeni hastalarında tedaviye yönelik, tedavi etkinliğinde yenilik sağlayacak moleküller tespit etmek
- **Araştırmanın niteliği (klinik, laboratuvar, epidemiyolojik, tez çalışması vb.):** Tez Çalışması
- **Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** Mart 2017, 6 ay
- **Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 85 kişi

- **Araştırma sırasında uygulanacak olan invaziv yöntemler dahil olmak üzere gönüllüye uygulanacak yöntem, girişim ve tedavilerin tümü:** Gönüllülere herhangi bir girişim uygulanmayacaktır
- **Araştırmanın deneysel kısımları:** Laboratuvar ortamında hasta ve gönüllü kanlarında belirli protein düzeylerine bakılacaktır.
- **Farklı uygulama ve girişimler için gönüllülerin araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığı:** Yok
- **Katılımcının araştırmaya dahil edilme nedeni:** Otoimmün hastalık ve kanser tanılı olmaması ve çalışma için gönüllü olmaları
- **Araştırmadan doğrudan gönüllü için beklenen yarar:** Bulunmamaktadır
- **Gönüllünün sorumlulukları:** Bulunmamaktadır
- **Gönüllünün (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacaksa ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da) maruz kalabilecekleri riskler veya rahatsızlıklar:** Hayır gebeler çalışmaya dahil edilmeyecektir.
- **Risklere karşı alınan önlemler:** Herhangi bir risk bulunmamaktadır
- **Gönüllüye alternatif olarak uygulanabilecek olan diğer yöntemler ve bunların olası yarar ve zararları:** Herhangi bir zarar bulunmamaktadır
- **Araştırmaya bağlı olarak bir zarar oluştuğunda verilecek tazminat ve sağlanacak tedaviler:** Herhangi bir invaziv girişim yapılmayacağından zarar beklenmemektedir
- **Gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler:** Gönüllü kişilerin rutin hastaneye olan kontrollerinde rutin tahliller için alınan kanlar kullanılacak olup gönüllü kişilere herhangi bir mali külfet yüklenmeyecek veya ekstra bir ödeme, yemek yardımı, vs yapılmayacaktır.
- **Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:** Çalışmaya katılmayı istememesi halinde çalışmaya alınmayacaktır.
- **Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi?:** Yapılan çalışma bir tez çalışması olup gönüllülere yönelik herhangi bir laboratuvar tetkiki/araştırma yapılmayacak olduğundan sonuç verilmeyecektir.
- **Gönüllülerin araştırma hakkında, kendileri hakkında ya da araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmedik olay hakkında daha fazla bilgi edinebilmesi için temasa geçebileceği kişi ve kendisine günün 24 saatinde erişebileceği telefon numarası:** Gönüllülerin rutin kontrollerinde alınmış laboratuvar çalışılmış olup çöpe atılacak olan kanları çalışmada kullanılacaktır. Herhangi bir beklenmedik olay beklenmemektedir
- **Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyallerin hangi amaçlarla kullanılacağı:** Çöpe atılacak kan numuneleri söz konusu tezde kullanılacak olup artan miktarlar çöpe atılacaktır.
- **Gönüllülerden elde edilecek biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için onay:** Herhangi bir genetik çalışma yapılmayacaktır.

“İmmün Trombositopenide Monosit Kemoatraktan Düzeylerinin Değerlendirilmesi ” araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan);

☐ Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.

☐ İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı.

Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı.

Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı.

Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı.

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi.

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı.

Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.

Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.

Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim.

Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediyimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.

Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı / hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabileceğini biliyorum.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'nun gerekli gördüğünde, gizliliğimin korunması ilkesine uygun olarak, araştırma konusuyla ilişkili orijinal tıbbi kayıtlarıma doğrudan erişimde bulunabileceğini biliyorum

İlgili yasal düzenlemeler gereğince kimliğimi ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanmayacağı; araştırma sonuçlarının bilimsel toplantılarda sunulabileceği ya da yayınlanabileceği, ancak, bu tür durumlarda kimliğimin kesin olarak gizli tutulacağı bana açıklandı.

Araştırma konusuyla ilgili olarak, çalışmaya devam etme isteğimi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde bana ya da yasal temsilcime zamanında bilgilendirme yapılacağı bana açıklandı.

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım.

Yukarıda konusu belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı.

Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nun tam imzalı bir kopyasını aldım.

- **Gönüllünün; (El yazısı ile)**

Adı- Soyadı:

İmzası:

Adresi (varsa telefon ve/veya faks numarası):

Tarih:

- **Açıklamaları yapan araştırmacının**

Unvanı, Adı- Soyadı: (El yazısı ile)

Görev yaptığı bölüm:

İmzası:

Tarih: