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

İMMUN TROMBOSİTOPENİ TANILI HASTALARDA AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALIĞI İLE İLİŞKİLİ MEFV GENİ MUTASYONLARI SIKLIĞININ VE HASTALIĞIN KLİNİK SEYRİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Dr. Çağlayan KEKLİKKIRAN

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Işık Atagündüz

İSTANBUL - 2016

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

İMMUN TROMBOSİTOPENİ TANILI HASTALARDA AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALIĞI İLE İLİŞKİLİ MEFV GENİ MUTASYONLARI SIKLIĞININ VE HASTALIĞIN KLİNİK SEYRİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Dr. Çağlayan KEKLİKKIRAN

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Işık Atagündüz

İSTANBUL - 2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tıp fakültesi öğrenciliğim boyunca kendisini örnek aldığım, bizlerin eğitimi için canla başla çabalayan, hekimliğin ince sırlarını bizimle paylaşan, bizlerin sorunlarını dinlemekten ve çözüm bulmaktan hiçbir zaman kaçınmayan Prof. Dr. İ. Çetin Özener'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tezin konusunun saptanmasından ürün haline geldiği bu süreçte emeklerini hiçbir zaman esirgemeyen Doç. Dr. Işık Atagündüz'e teşekkür ederim

Tezin istatistiği başta olmak üzere bir çok alanda üzerimde çok emeği olan Yrd. Doç. Dr. Tayfur Toptaş'a, verilerin toplanması sürecinde ve motivasyonumun toparlanması sürecinde emekleri olan Uzm. Dr. Osman Kara, Yandal asistanları Aslıhan Sezgin ve Fatma Geçgel'e teşekkürlerimi iletirim

Dört yıllık asistanlık eğitimim boyunca sürekli bir arada olduğumuz bilimsel bakış açısı ve analitik düşüncelerinden yararlandığım Dr. Uluğ Mutlu Günaydın'a, olayların dramatik ve trajikomik yönlerini gören ve bizlere de gösteren Dr. Salim Serdar Eriş'e, kibarlığı, zekasıyla Dr. Emre Başgöze'ye teşekkürlerimi sunarım.

İsmini burada sayamadığım beni destekleyen tüm arkadaşlarıma, meslektaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında olduğu gibi tez süresince benden maddi-manevi desteğini esirgemeyen, gecemde gündüzümde yanımda olan hayat arkadaşım Zehra Zeynep'e ve her anında desteklerini hissettiğim aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET **11**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **15**

2. GENEL BİLGİLER **17**

2.1. Tarihçe **17**

2.1.1. Hastalığın Tarihçesi 17

2.1.2. İsimlendirmenin Tarihçesi ve Ortak bir isimlendirmenin oluşumu 18

2.2. Epidemiyoloji **20**

2.3. Patofizyoloji **21**

2.3.1. Humoral İmmunite 21

2.3.2. FcγR Reseptörleri ve RES 22

2.3.3. Kompleman Sisteminin Rölü 22

2.3.4. T Lenfositlerinin Yeri 23

2.3.5. Antijen Sunan Hücrelerin Rolü 25

2.3.6. Dismegakaryositopoez 25

2.3.7. İmmun hücreler olarak Trombositler 26

2.3.8. Rölatif trombopoietin (TPO) eksikliği 26

2.3.9. Genetik Sendromlar 26

2.4. Tanı ve Klinik Özellikler **27**

2.4.1. Kanama 27

2.4.2. Bitkinlik 28

2.4.3. Tromboz 28

2.5. Fizik Muayene ve Laboratuvar İncelemeleri **29**

2.5.1. Fizik Muayene 29

2.5.2. Periferik Kan Sayımı 29

2.5.3. Periferik Yayma 29

2.5.4. Kemik iliği incelemesi 29

2.5.5. Helikobakter Pilori 29

2.5.6. HİV ve HCV testleri 30

2.5.7. Diğer Testler 30

2.6. Sekonder İmmun Trombositopeni **30**

2.7. Tedavi **31**

2.7.1. Birinci Basamak Tedavi 32

2.7.2. İkinci Basamak Tedaviler 33

2.8. MEFV Gen Mutasyonları **37**

2.9. Pyrin ve MEFV Patogenezi **38**

2.10. MEFV ve Diğer Hastalıklar **40**

2.11.1. MEFV ve Sistemik Lupus Eritematozus 40

2.11.2. MEFV ve Romatoid Artrit 41

2.11.3. MEFV ve Ankilozan Spondilit 41

2.11.4. MEFV ve İnflamtuvar Bağırsak Hastalıkları 42

2.11.5. MEFV ve Behçet Hastalığı 42

2.11.6. MEFV ve Multipl Skleroz 43

3. GEREÇ VE YÖNTEM **44**

3.1. Araştırma örnekleminin tanımlanması **44**

3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) **45**

3.2.1. Amplification Refractory Mutation System (ARMS) PCR 47

3.2.2. PCR-Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri (Restriction Fragment Length Polymorphisms-PCR-RFLP) 49

3.3. İstatistiksel Analiz 49
3.3.1. Güç analizi 49
3.3.2. İstatistik yöntem 49
4. BULGULAR 50
5. TARTIŞMA 57
6. KAYNAKLAR 62

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri ve MEFV mutasyon sıklıkları 50
Tablo 2. İTP tanılı hastalarda MEFV mutasyonunun demografik ve klinik değişkenlerle ilişkisi..... 53

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. PCR reaksiyonuna ait denatürasyon, primerlerin bağlanması ve DNA sentez aşamaları 46
Şekil 2. PCR tekniği ile DNA'nın çoğaltılması 47
Şekil 3. İTP grubunda MEFV mutasyonları 51
Şekil 4. Sağlıklı katılımcılarda MEFV mutasyonları 52
Şekil 5. Panel A'da İTP'de MEFV mutasyonu varlığının steroid sonrası yanıt süresi üzerine etkisi, panel B'de tedavi sonrası kümülatif yanıt kaybı hazard oranı üzerine etkisi 54
Şekil 6. Mutasyon varlığının splenektomi gereksinimi üzerine etkisi 55
Şekil 7. Mutasyon varlığının splenektomi sonrası yanıt kaybı üzerine etkisi 56

KISALTMALAR LİSTESİ

AAA: Ailevi Akdeniz Ateşi

AHC: Amerikan Hematoloji Cemiyeti

APC: Antigen Presenting Cell (antijen sunan hücreler)

AS: Ankilozan Spondilit

BH: Behçet Hastalığı

CCL: Kemokin C-C Ligandı

CD: Cluster of Differentiation

CH: Crohn Hastalığı

CMV: Sitomegalovirus

CRP: C Reaktif Protein

CVİD: Yaygın Değişken İmmun Yetmezlik

CXCL: Kemokin C-X-C Ligandı

DİK: Dissemine İntravasküler Koagülasyon

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

FcgR : Fc gamma Reseptörleri

FDA: Amerikan İlaç Ajansı

Gp: Glikoprotein

HCV: Hepatit C Virüsü

HİV: İnsan İmmun Yetmezlik Virüsü

IFN: interferon

İg: İmmunglobulin

İL: İnterlökin

IWG: Uluslararası Çalışma Grubu

İKK: İntrakraniyal Kanama

İTP: İmmun Trombositopeni

İVİg: İntavenöz İmmunglobulin

Kb: kilobaz

KIR: Killer Cell Immunglobulin-Like Reseptor

KLL: Kronik Lenfositik Lösemi

LGL: Geniş Granülositik Lösemi

LPS: Lipopolisakkarit

MDS: Myelodisplastik Sendrom

MEFV: Mediterrenean Fever geni

MHC: Majör Histokompatibilite Kompleksi

MMR: Kızamık-Kabakulak-Kızamıkçık

MS: Multipl Skleroz

NLRP: NOD benzeri reseptör proteini

RA: Romatoid Artrit

RES: Retiküloendotelyal Sistem

SLE: Sistemik Lupus Eritematozus

STL: Sitotoksik T lenfosit

T reg: T regülatuvar lenfosit

Th: T yardımcı lenfosit

TPO/TPO-RA: Trombopoietin ,Trombopoietin Reseptör Agonisti

TRAIL: TNFa - ilişkili apopitozu uyaran ligand

ÜK: Ülseratif Kolit

VZV: Varisella Zoster Virüs

ÖZET

Amaç: İmmun trombositopeni çocuklarda ve erişkinlerde geçici veya kalıcı trombositopeni ile seyreden akkiz otoimmun bir hastalıktır. MEFV mutasyonları ataklar ile seyreden Ailesel Akdeniz Ateşi hastalığı ile ilişkilendirilmiş ve patogenetik mekanizmalarının aydınlatılması ile birçok otoimmun hastalıkta incelenmiştir. Bu çalışmada amacımız İTP hastalarında MEFV mutasyon sıklığını saptamak ve klinik özelliklere etkisini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: 81 erişkin İTP hastası, 186 sağlıklı kontrol ile ekzon 2 ve 10'da yer alan (E148Q, M694V, M694I, M680I, V726A, A744S ve R761H) mutasyon varlığı açısından karşılaştırıldı. İTP grubu kendi içerisinde mutasyon olup olmamasına göre sınıflandırılarak mutasyon varlığının hastalığın klinik şiddeti üzerine etkileri incelendi.

Bulgular: Çalışmaya alınan 81 hastadan 61'i kadın (%75.3), kontrol grubunda ise 186 hastadan 98 tanesi kadındı (%52.7). İTP grubunda hastaların ortanca yaşı 50 (21-79), kontrol grubunda ise 56 (24-76) saptandı. MEFV mutasyon varlığı ise İTP grubunda 21 (%25.9) ve kontrol grubunda 46 (%24.7) hastada saptandı (**p=0.963**). İTP grubu kendi içerisinde mutasyon varlığına göre sınıflanmış ve mutasyon varlığının yaş, cinsiyet, tanı anında trombosit sayısı, uygulanan tedavi sayısı, splenektomize hasta oranı, steroide primer direnç açısından analiz edilmiştir. Sonuçlar her iki grupta benzer olarak saptanmıştır (**p>0.05**). Bununla birlikte mutasyon taşıyan grubun steroid tedavisine yanıt oranları %94.7 iken taşımayan grupta %82.8 (**p>0.05**) saptanmış, steroid tedavisi sonrası yanıt kaybına kadar geçen süre mutant grupta ortanca 60 (0-124.3) iken normal grupta ortanca 42 (19.2-64.8) ay olarak saptanmıştır (**p=0.64**). Splenektomiye geçen süre mutasyon olan grupta ortanca 101 ay (42.5-159.5) iken mutasyon olmayan grupta ortanca 51(46-56) ay arasında saptanmıştır (**p=0.48**). Splenektomi sonrası yanıt kaybına kadar geçen süre ise mutasyon grubunda ortanca 38 (0-90.9) ay iken mutasyon negatif grupta ortanca 54 (14.9-93.1) ay olarak saptanmıştır (**p=0.42**)

Sonuçlar: Çalışmamız İTP ve MEFV ilişkisi açısından literatürde bildirilen ilk çalışmadır. MEFV mutasyon varlığının İTP seyrinde istatistiki olarak anlamlı bir etkisi olmasa da mutasyon taşıyan hastalar steroid tedavisine daha iyi yanıt vermekte,

daha uzun süre remisyonda kalmakta, splenektomiye daha geç gitmekte ve splenektomi sonrası daha erken relaps yapmaktadırlar.

- **Anahtar Sözcükler:** otoimmün trombositopeni, MEFV, İTP, splenektomi

ABSTRACT

Aim: Immune thrombocytopenic purpura is an immune-mediated acquired disease of children and adults characterized by transient or persistent decrease of the platelet count. MEFV mutations associated with FMF is investigated in many autoimmune disease after its' pathogenetic mechanisms has been discovered. Our aim is to detect frequency of MEFV mutations and its effect on clinical features of ITP patients

Methods: 81 adult ITP patients were controlled with 186 healthy subject in terms of presence mutation in exon 2 and 10 (E148Q in exon 2, M694V, M694I, M680I, V726A, A744S and R761H in exon 10). ITP patients is grouped into two groups if mutation is present or not and both groups were compared according to sociodemographic and clinical aspects.

Results: In ITP group, 61 (75.3%) patients was female and in healthy control group 98 (52.7%) of them was female. Median age in ITP and control group were 50(21-79) and 56 (24-76) respectively. MEFV mutation presence were similar in both groups (25.9% in ITP and 24.7% in control group, p=0.963). ITP patients were divided into two groups as mutation presence and analysed for age, sex, platelet count at diagnosis, number of treatment requirement, splenectomy ratios and primary resistance to steroid therapy. Results were similar in two groups (p>0.05). However response rates to steroid therapy of patients carrying MEFV gene mutation were 94.7% and in patients with no mutation were 82.8% (p>0.05) and time to relaps after steroid therapy was median 60 (0-124.3) months in mutant group and median 42 (19.2-64.8) months in wild type MEFV gene carrying group (p=0.64). Median time from diagnosis to splenectomy was 101 (42.5-159.5) months in mutant group and was 51 (46-56) months in no mutated group (p=0.48). Relaps time after splenectomy was median 38 (0-90.9) month in mutation carrying group and median 54 (14.9-93.1) months in nonmutant group.

Conclusion: This study is the first study in literature that questions frequencies and clinical effects of MEFV mutations in ITP patients. Presence of MEFV mutation has no statistically significant effect on course of ITP but patients carrying mutant allele of MEFV gene have better response rates to steroid therapy, longer remission time after steroid therapy, longer time to splenectomy and shorter time to relaps after splenectomy.

Keywords: autoimmune thrombocytopenia, MEFV, ITP, splenectomy

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Primer immün trombositopeni (İTP) edinilmiş ve trombositlere karşı otoantikor gelişimi sonucu izole trombositopeni ile seyreden otoimmun bir hastalıktır. İTP tanısı için periferik kanda trombosit sayısının 100 x 10^9/L'den daha az olması ve trombositopeni için herhangi başlatan veya altta yatan sebebin olmaması gerekir. Bu açıdan primer İTP bir ekartasyon tanısıdır (1). Literatürde yakın zamana kadar İTP kısaltması idiopatik trombositopenik purpura terimi için kullanılmaktaydı. Hastalığın oluşum mekanizmasında immün sistemin merkezde olduğunun öğrenilmesi ve vakaların büyük çoğunluğunda purpuranın minimal olması veya hiç olmaması terminolojinin revize edilmesiyle sonuçlandı (2).

Hastalığın yıllık insidansı için trombosit seviyesi alt sınırı 50 x 10^9/L olarak alınırsa 1.6-3.2/100.000 vaka/yıl olarak bulunmaktadır. Hastalık tanısı için ortalama yaş 56 olarak bildirilmekte ve 60 yaş öncesi dönemde kadınlarda daha sık görüldüğü, 60 yaş sonrası dönemde ise cinsiyet farkının ortadan kalktığı görülmektedir. (3, 4)

Erişkinlerde hastalık semptomatolojisi herhangi bir şikayeti olmayan insidental olarak tanı konulan bireylerden, peteşi, purpura ve ekimoz varlığına nadiren de olsa majör kanamalara kadar değişebilmektedir. En ciddi ve sonuçları itibari ile korkulan kanama komplikasyonu ise intrakraniyal kanamadır. (5)

İmmün trompositopeninin mekanizması ile ilgili görüşler basitçe trombositlere karşı oluşan otoantikorların neticesinde artmış trombosit yıkımı noktasından kemik iliğinde megakaryositlerin trombosit üretimlerinin bozulmasına ve T lenfositlerinin de bu süreçte yer aldığı noktasına kadar gelmiştir. (6-10). Patogenezinde trombositlere karşı antikor oluşumunu başlatan mekanizma bilinmese de bir şekilde trombositlere karşı oluşan antikorlarla kaplı trombositlerin Retiküloendotelial sistem (RES) elemanları olarak bilinen makrofajlar ve dendritik hücrelerce fagosite edilmesi, bu hücrelerde oluşan süreçler sonucunda trombositlerin T hücrelerine yabancı cisim olarak sunulması, T hücrelerinin B lenfositlerini aktive etmesi ve B lenfositlerinin trombositlerde ki yüzey glikoproteinleri olan Gp IIb/IIIa ve Gp Ib/IX'lere karşı antikorların sunulması şeklinde bir süreçten bahsedilebilir. Ancak kompleman sisteminin de devrede olduğu, Th1/Th2, Th17 ve Treg gibi hücresel immunite elemanlarının da immun sistem toleransını etkileyerek patogenezde katkısı olduğu saptanmıştır. (11-19)

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) ilk defa 1945 yılında tanımlanan otozomal resesif geçiş karakteri gösteren bir hastalıktır. Hastalık sıklıkla Kuzey Afrika Yahudileri, Ermeniler, Araplar, Iraklı Yahudiler (Sefardik Yahudiler) ve Türk'leri etkilemekte ancak İtalyanlar, İspanyollar, Portekizliler, Fransızlar ve Yunanlılar gibi diğer akdeniz popülasyonunda da nadir değildir (20-22). Hastalığa sebep olan mutasyon ilk defa 1992 yılında 16. Kromozomda saptanmıştır (23). 1997 yılında 16. Kromozomun kısa kolunda yer alan 16p13.3 lokusunda tespit edilen genin AAA ile ilişkisi saptanmış ve bu gene Akdeniz Ateşi anlamına gelen MEFV (MEditerranean FeVer) ismi verilmiştir. 16p13.3 bölgesinde gende 10 ekzon saptanmış, bu bölgenin DNA uzunluğu 15 kb olarak bulunmuş ve 781 aminoasit uzunluğunda bir proteini kodladığı tespit edilmiştir (20, 24). Bu genin kodladığı proteine uluslararası konsorsiyum "pyrin", Fransız konsorsiyumu ise Latince'de Akdeniz anlamına gelen "marenostrin" ismini vermiştir (20, 24) MEFV geninde bugüne kadar bir çok mutasyon gösterilmekte ve en sık mutasyonlar ekzon 10'da yer almaktadır. Altmıştan fazla AAA ilişkili mutasyon içerisinden beş mutasyon (M694V, V726A, M680I, M694I ve E148Q) vakaların %74 - 85 gibi bir oranından sorumludur (25, 26). Ülkemizde sağlıklı bireylerde genetik taşıyıcılık oranı %20 olarak tespit edilmiş, çeşitli toplumlarda bu oranın % 5 – 40 arasında bulunduğu literatürde bildirilmiştir (27, 28). Pyrin/Marenostrin proteini özetle kaspaz-1 üzerinden aktif IL-1β sentezlenmesinde etkinlik basamaklarını kontrol etmektedir, bu gendeki mutasyon sonucu kontrolsüz aktif IL-1β üretimi olmakta ve sürekli bir inflamasyon durumu devam etmektedir (29). MEFV geni otoinflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilse de literatürde otoimmun hastalıklarla ilişkisine dair bir çok çalışma bulunmaktadır. MEFV mutasyonunun Romatoid Artrit, Sistemik Lupus Eritematozus, Behçet Hastalığı, Multipl Skleroz ve Crohn Hastalığında klinik gidişat üzerine etkileri gösterilmiştir (30-34). Yakın zamanlı literatürde yayınlanan çalışmalarda MEFV mutasyonunun Th1, Th2 dengesini değiştirdiği, Th17 sayısını arttırdığı tespit edilmiştir. Th17 hücrelerinin nötrofil aktivasyonunda ve otoimmun hastalıklarda anahtar role sahip olduğu saptanmıştır (35, 36)

Bu çalışmadaki amacımız, otoimmun bir hastalık olan İTP ile MEFV mutasyonlarının ilişkisini saptamak, hastalığın klinik seyri üzerine etkilerinin olup olmadığını belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

2.1.1. Hastalığın Tarihçesi

Hastalık tarihçesine bakıldığında hastalığın Hipokrat zamanından beri var olduğu görülmektedir. Hastalığın ilk kez Hipokrat ve Galen gibi hekimler tarafından tanımlandığı bilinmektedir. 1025 yılına gelindiğinde İbn-i Sina El-Kanun fi't-Tıb adlı eserinde İTP tanısına uyan kronik purpura tanımlamasını yapmıştır. Portekizli doktor Amatus Lusitanus 1556 yılında ateşi olmayan erkek bir hastasının vücudunda koyu maküller oluştuğundan ve kanlı idrar ve dışkılama yaptığından ve hastanın kendiliğinden düzeldiğinden bahsetmiştir. 1658 yılına gelindiğinde Riverius İtalyan hekimlerin "peteşi" olarak adlandırdığı purpuranın kanın incelmesinden kaynaklanan sistemik kanama bozukluğu olduğunu söylemiştir. İTP'nin klasik klinik tanımlaması 1735 yılında Werlhof tarafından 16 yaşındaki bir kız hastada postinfeksiyoz görülen epistaksis ve hematemez üzerine yapılmıştır ve literatürde "Werlhoff Hastalığı" İTP'nin diğer bir ismi olarak geçmektedir. 1808 yılında Willan "purpura simplex" tanımlamasını yapmış; çoğunlukla kadınlarda ve çocuklarda görülen ve sistemik bir hastalığın bu tabloya eşlik etmediği özellikle kollarda, bacaklarda, göğüs ve abdomende diffüz peteşiler şeklinde tariflemiştir. Bizzozzoro 1882 yılında kan elemanlarından trombositleri tariflemiş, 1883 yılında Brohm "purpura simpleks" ile "trombositopeni" arasındaki bağı kurmuştur.1899 yılında Henoch purpura simpleks tanımını kuru ve yaş purpura olarak ikiye ayırmıştır (37).

Hastalığın immun mekanizmasından ilk defa 1905 yılında Marino tarafından bahsedilmiştir. Marino tavşan trombositlerini kobay farelerine (Gine domuzu olarak da bilinmektedir) enjekte ederek ilk defa antitrombosit antikorlarını oluşturmuştur. Bir tıp öğrencisi olan Kaznelson İTP'nin dalakta trombositlerin yıkılması sonucu oluştuğu hipotezini kurmuş ve hocası olan Schloffer'i 1916 yılında uzun süredir kolay morarma, sık burun kanaması, menometrorajisi olan 36 yaşındaki kadın hastada İTP tedavisi için splenektomi yapmaya ikna etmiştir. Hastanın preoperatif 2 x 10^9/L olan trombosit sayısı postoperatif 500 x 10^9/L seviyelerine çıkmıştır (37).

Troland&Lee 1938 yılında "trombositopen" adını verdikleri maddeyi, takip ettikleri kronik İTP hastalarının dalaklarından elde etmişler ve bunları tavşanlara vererek hızlı ancak geçici bir trombositopeni olduğunu göstermişlerdir. 1946 yılında

Dameshek ve Miller İTP'de trombositopeni hakkında oldukça önemli bir bulgu yayınladılar. Lösemi, pernisiyöz anemi gibi trombosit sayıları düşük olan hastalıkları incelemişler, bu hastalıklarda megakaryositlerin de sayısal açıdan düşük olduğunu görmüşlerdi. İTP'de ise trombosit düşüklüğüne karşı kemik iliğinde megakaryositlerin sayısı normal veya artmış bir şekildeydi. Ancak bunların az bir kısmının trombosit oluşumuna katıldığının, büyük bir kısmının intermediate megakaryosit ve promegakaryosit olduğunu saptamışlardı. Bu gözlemlerini dalaktaki önemli bir anomalinin kemik iliğinde megakaryositlerden trombosit üretimi üzerine olumsuz bir etkisi olduğu şeklinde yayımladılar (37, 38).

Harrington ve Hollingsworth 1951 yılında İTP'nin trombositlerin periferik yıkımından mı yoksa bozulmuş trombosit üretiminden mi kaynaklandığı konusunda ki tartışmalara bir deney ile katılmışlar. Harrington İTP'li bir anneden doğan çocukta da benzer bulguların olduğunu ancak bunun 3 hafta içerisinde kendiliğinden düzeldiğini görmüş ve buna humoral antitrombosit faktörün sebep olduğunu düşünerek bir deney yapmaya karar vermiş. Splenektomi sonrası trombositopenisi persiste eden orta yaşlı bir kadın kanaması olması üzerine servise interne edilmiş. Harrington kendi kan grubuyla aynı grubu paylaşan kadından kendine yarım litre kan transfüzyonu yapmış. Deney öncesinde kendi trombosit seviyesi 250 x 10^9/L olarak, hastanın ki ise 5 x 10^9/L olarak ölçülmüş, ayrıca kemik iliği aspirasyonu transfüzyon öncesinde normal megakaryopoezi göstermek üzere yapılmış. Harrington'un işlem sonrası trombosit seviyesi 10 x 10^9/L seviyelerine kadar düşmüş. Harrington ve Hollingsworth bu deneyimlerini İTP'nin bir humoral faktör kaynaklı azalmış trombosit yaşamı ile ilişkili bir tablo olduğu şeklinde yayınlamışlardır(37).

2.1.2. İsimlendirmenin Tarihçesi ve Ortak bir isimlendirmenin oluşumu

İmmun trombositopeni (İTP) yüzyıllardır tanınan bir hastalık olmasına rağmen son zamanlara kadar hastalığın isimlendirilmesindeki uyumsuzluklar sıklıkla göze çarpmaktadır (39). İTP tek bir hastalığı düşündürse de primer immun trombositopeni veya geniş çaplı başka hastalıklara sekonder bir komplikasyon olarak oluşabilmektedir. (40)

Hastalığın sınıflandırılmasında ki çeşitlilik nedeniyle literatür bilgilerinin toplanmasında ve sentezlenmesinde çeşitli engellerle karşılaşılmıştır. Ruggeri ve ark.

2000 ile 2005 yılları arasında yayınlanan literatürü taramışlar ve trombositopeninin alt sınırı, tedaviye başlama kriterleri, tedavi yanıt kriterleri ve refrakter hastalığın tanımı ile farklılıkları göstermişlerdir (41). Hastalığın bu belli belirsiz tanımları bu konu üzerine yayınlanan kılavuzları da etkilemiştir. 1996 yılında yayınlanan Amerikan Hematoloji Cemiyeti'nin kılavuzunda İTP klinik olarak eşlik eden bir durumun veya bilinen diğer trombositopeni sebeplerinin olmadığı izole trombositopeni durumu olarak tanımlanmış ve tanı için herhangi bir spesifik kriter önerisinde bulunulmamıştır (42). Hastalığın daha net bir tanımı 2003 yılında İngiliz Hematoloji Cemiyeti tarafından yapılmıştır. Bu tanımda İTP' nin otoimmun bir hastalık olduğu ve periferik kanda persistan trombositopeninin (plt < 150 x 10^9/L) sebebinin bu otoantikorların trombositlere bağlanarak trombositlerin RES ve dalak tarafından erken yıkımına sebep olduğundan bahsedilmiştir (43).

2009 yılında İTP için kurulan uluslararası çalışma grubu standart terminoloji önerisinde bulunmuştur. Tanımın içerisinde ki purpura kelimesi İTP'li hastaların büyük çoğunluğunda kutanöz kanama olmadığı için kaldırılmış, İTP için immun trombositopeni tanımı önerilmiştir (2).

İTP tanısı için trombosit alt sınırı 100 x 10^9/L seviyesine çekilmiş, İTP tanısına primer İTP ve sekonder İTP olarak alt sınıflama yapılmıştır. Hastalığın fazına göre sınıflandırılması; yeni tanı İTP (0-3 ay), persistan İTP (3-12 ay) ve kronik İTP (>12 ay) şeklinde yapılmış, ciddi hastalık tanımından trombosit sayısı çıkartılmış ve kanamanın ciddiyetine göre tanımı düzenlenmiştir. Refrakter hastalık splenektomi sonrası nüks veya splenektomiye yanıtsızlık durumu için tanımlanmıştır. (2) 2011 yılında AHC tarafından yayınlanan İTP kılavuzunda, 2009 yılında yayınlanan Avrupa kılavuzunda önerilen değerler benimsenmiş ancak bu değerlerin sekonder sebepler için validite olmadığı, bu nedenle bu kısımda sıkıntılara yol açabileceği belirtilerek ortak dil konusunda destekleyici olmuşlardır (44).

Hastalığa yanıt kriterleri şu şekilde sınıflandırılmıştır (44)

- Tam Yanıt (CR – Complete Response)
    - En az 7 gün arayla ölçülen trombosit sayımının ikisinde de plt ≥ 100 x 10^9/L olması ve kanama bulgusunun olmayışı
- Yanıt (R – Response)

    - Trombosit sayısının ≥ 30 x 10^9/L olması, tedavi öncesi ölçülen değerden 7 gün arayla yapılan iki ölçümde de 2 kattan fazla artış olması ve kanama bulgusunun olmaması
- Yanıtsızlık (NR – No Response)
    - Trombosit sayısının ≤ 30 x 10^9/L olması veya bazal ölçümden 2 kattan daha az artış olması veya kanamanın olması
    - Trombosit ölçümleri gün aşırı yapılmalı
- Tam Yanıt Kaybı (Loss of CR)
    - Trombosit sayısının gün aşırı yapılan en az 2 ölçümde ≤ 100 x 10^9/L olması ve/veya kanamanın olması
- Yanıt Kaybı
    - Trombosit sayısının ≤ 30 x 10^9/L olması veya bazal ölçümden 2 kattan daha az artış olması veya kanamanın olması
    - Trombosit ölçümleri gün aşırı yapılmalı

Aynı kılavuzda Sekonder İTP sebepleri şu şekilde sıralanmıştır (44)

- Antifosfolipid Sendromu
- Otoimmun Trombositopeni (ör. Evans Sendromu)
- Yaygın Değişken İmmun Yetmezlik
- İlaç ilişkili trombositopeni
- CMV, H. Pylori, HCV, HIV, VZV infeksiyonları
- Lenfoproliferatif Hastalıklar
- Kemik İliği nakli sonrası – yan etki olarak
- Aşılamanın yan etkisi olarak
- Sistemik Lupus Eritematozus

2.2. Epidemiyoloji

Erişkinlerde İTP insidansı 1.6 – 3.9/100.000 olarak verilmektedir. Retrospektif bir analizde erkek grupta İTP bimodal dağılım göstermektedir. Pik insidans yaşları <18 yaş ve 75 – 84 yaş arası saptanmıştır. Kadınlarda ise 60 yaşına

kadar insidans verisi hemen hemen hep aynı kalmaktadır. 60 yaşından sonra İTP insidansının ikiye katlandığı bilinmektedir.

Erişkinlerde İTP prevalansı 9.5/100.000 olarak verilmektedir. Bu rakam 19-24 yaş arası gençlerde 4.1/100.000 iken 55-64 yaş arası grupta 16/100.000 civarına çıkmaktadır. 65 yaş öncesi dönemde hastalık kadınlarda erkeklere göre neredeyse 2 kat daha fazla görülmekteyken, 65 yaş üstü grupta erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmektedir. Yaşlı erkeklerde İTP prevalansı 38.3/100.000 seviyelerine kadar çıkabilmektedir. (45). Ülkemizde Trakya bölgesinde erişkin İTP hastalarına yönelik yapılan epidemiyolojik çalışmada insidans 2.92/100.000 olarak saptanırken, prevalans ise 35/100.000 olarak saptanmıştır (46)

2.3. Patofizyoloji

İTP patogenezinde tetiği çeken sebep tam olarak bilinmemesine rağmen trombositlere karşı gelişen otoankitorların neticesinde trombositlerin makrofajlarca dolaşımdan kaldırılarak yaşam sürelerinin kısaldığı iyi bilinmektedir. Bununla beraber kemik iliğinde megakaryopoezin etkilendiği ve trombosit üretiminin azaldığı da bilinmektedir. Ayrıca İTP'de hipoplastik trombositopenik hastalıkların aksine trombopoietin seviyeleri ya normal ya da artmış olarak saptanmaktadır. Hücresel düzeyde yapılan çalışmalarda İTP hastalarının megakaryositlerinde hasar ve artmış apopitoz gösterilmiştir. Anti-trombosit antikorlarının çoğu hastada saptanamaması, bazı hastaların antikor-kaplı trombositlerin temizlenmesine ya da B lenfosit supresyonuna yönelik farmakolojik tedavi veya splenektomiye dirençli olması antijen yapımı ve T lenfosit aracılı trombosit yıkımını ve kemik iliği supresyonunu göstermektedir (47).

2.3.1. Humoral İmmunite

Hastalığı başlatıp trombositlere karşı antikor oluşumuna yol açan sebep bilinmese de, tanı anında anti-trombosit antikorları sıklıkla mevcuttur. RES elemanları olan makrofajlar ve dendritik hücreler antikor bağlı trombositleri fagosite ederek dolaşımdan uzaklaştırırlar. Antikor-trombosit komplekslerinin bu şekilde antijen sunan hücrelerce opsonize edilmesi trombositlerin intraselüler işleme tabi tutulmasına yol açmaktadır. İşlem sonrası antikor kaplı trombosit parçaları yabancı madde gibi algılanmakta ve T lenfositlerine MHC Sınıf II aracılı sunulmaktadır. T

hücrelerine bu şekilde pozitif uyarıcı şekilde antijen sunumu T lenfositleri aktive etmekte ve trombositlere karşı immun yanıtı kuvvetlendirmektedir. (11)

Harrington tarafından kendine İTP'li bir hastadan kan transfüzyonu neticesinde saptanan humoral faktörün daha sonraki süreçte trombosit membranındaki yüzey glikoproteinlerinden olan Gp Ib/IX ve Gp IIb/IIIa'ya karşı oluşan antikorlar olduğu saptanmıştır (12, 37). Anti-trombosit antikorların bazı hastalarda tanı esnasında saptanamamış olması ise laboratuvar test metodolojilerinin kısıtlılıklarından ve İTP'nin patogenetik süreçlerinden kaynaklanmaktadır (13).

Bu durum dört sebep ile açıklanabilir (48):

1- Bazı Antikor – trombosit komplekslerinin immun sistem tarafından hızla temizlenmesinin sonucunda anti-trombosit antikor titresinin laboratuvarda tespit edilebilecek seviyelerin altına gelmesi
2- Sıkı bağlı antijen-antikor yapısının laboratuvar çalışması için dissosiye edilememesi
3- Trombositlerdeki minör veya kriptik antijenlerin ve megakaryosit üzerindeki antijenlerin testte yakalanamaması
4- Bir grup hastanın trombositopeniyi antikor üretmeden oluşturması

2.3.2. FcγR Reseptörleri ve RES

İTP mekanizmasında trombosit-antikor bağlı komplekslerin FcγR taşıyan makrofajlarca dolaşımdan temizlendiği bilinmektedir. FcγR monositik fagositik hücrelerde bulunan ve antikorlarda ki Fc kısmına bağlanarak opsonizasyonu yöneten reseptör tipleridir. FcγR ailesi aktive edici (örn. FcγRI, FcγRII, FcγRIII) ve inhibe edici (örn. FcγRIIb) reseptör çeşitlerinden meydana gelmektedir. İTP hastalarında antikor kaplı trombositlerin fagositozunda FcγRII ve FcγR IIIa'nin indirekt olarak devrede olduğu, inhibe edici reseptör olan FcγRIIb'nin ise azaldığı gösterilmiştir. İTP hastalarında monosito-fagositer sistem elemanlarında bulunan FcγR eğilimlerinin antijen – antikor komplekslerinin fagosite edilerek temizlenmesine yönelik olduğu gözlenmiştir (49-51).

2.3.3. Kompleman Sisteminin Rölü

Trombositlere bağlı antikorlar sadece FcγR'yi uyararak opsonizasyonu sağlamazlar. Ayrıca kompleman sistemi elemanları için bağlanacak dayanak noktası olurlar. Yakın zamanda İTP hastalarının plazmalarının in-vitro koşullarda

kompleman sistemini aktive ettiği Najaoui ve ark. ile Peerschke ve ark. tarafından gösterilmiştir (13, 52). Najaoui ve ark, ayrıca komplemanların fiksasyon kuvvetinin anti – trombosit antikor seviyesi ile korele olduğunu göstermişlerdir. Bu sayede kompleman sistemi direk hücre lizisi veya antijen – antikor kompleksinin klirensini artırarak immün – ilişkili trombosit yıkımında görev almaktadır.

2.3.4. T Lenfositlerinin Yeri

Hayvan çalışmalarından öğrenildiği kadarıyla, immun homeostaz Tip 1 (IFNγ, IL-2, TNFα ve TNFβ1) ile Tip 2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13) ilişkili yanıtlar arasında ki denge ile sağlanmaktadır (48). Kronik İTP hastalarında otoantikorların rolünün iyi bilinmesine rağmen bu hastalığın etiyopatogenezini açıklamaya yetmemektedir. Bazı İTP hastalarında antijen spesifik antikorların saptanamadığı ve bazı hastalarda trombosit otoantikorlarının varlığına rağmen remisyonun devam ettiği bilinmektedir. Ayrıca İTP hastalarında çeşitli $CD8^+$ T lenfosit anormallikleri saptanmıştır (53).

Antijen sunan hücreler $CD8^+$ T lenfositlere MHC Sınıf I aracılı sunum yapmakta ve Sitotoksik T lenfositlerini aktive etmektedirler. Ollson ve ark. Apo-1/Fas, granzim B ve perforin gibi sitotoksik genlerin Tip 1 T-helper (Th1) hücre yanıtında ki genlerle birlikte artmış ekspresyonlarını aktif fazdaki İTP hastalarında göstermişlerdir (6). KIR reseptör ailesi üyelerinin (örn. KIR3DLL ve KIR3DL2) de MHC Sınıf I moleküllerine bağlanarak STL ve NK hücre yanıtlarını azalttığı, KIR reseptör seviyelerinin remisyondaki İTP hastalarında aktif İTP hastalarına göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (6). FasL ile TNFα'nın artmış seviyeleri ve bunların ilgili hücrelerin yüzeyinde bulunan reseptörleriyle ilişkileri trombositlerin apopitozu ile sonuçlanabilmektedir. Aktif dönem ile remisyonda olan İTP hastalarının kanları in – vitro çalışmalarda karşılaştırılmış, aktif dönemdeki hastalarda STL aracılı lizis görülürken remisyondaki hastalarda lizis olmamıştır (6, 10, 54).

Antitrombosit antikoru üretiminden trombosit spesifik yardımcı T (Th) hücrelerinin sorumlu olduğu yakın zamanda saptanmıştır (55). Th hücrelerinin T hücre reseptörleri (TCR) antijen sunan hücrelerdeki peptid-MHC kompleksine bağlanarak CD154 – CD 40 aracılı anormal bir sinyal aktivasyonuna sebep

olmaktadır. Th hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen CD28 ile APC'lerin yüzeyinde eksprese edilen CD80/B7 etkileşimi ek bir ko-stimulatuvar sinyal artışına neden olmaktadır. Aktive olan Th hücreleri IL-2 ve IFNγ salgılayarak B lenfositlerinin farklılaşmasını ve antikor üretmesini sağlamaktadırlar. B7-CD28 etkileşiminin kırılmasının glikoprotein spesifik T hücre toleransını sağladığı çalışmalarda gösterilmiştir (56, 57). Yeni tanı İTP hastalarında T hücre klon artışı gösterilememiştir. Kronik İTP hastalarında ise anormal olarak çoğalmış T hücre klonları saptanmıştır. Splenektomi yanıtlı hastalarda T hücre klonunda azalmanın yanıttan sorumlu olabileceği literatürde belirtilmektedir (58).

Th1 ve Th2 hücreleri arasındaki dengenin bozulması ayrıca İTP'nin de dahil olduğu bir çok otoimmun hastalığın patogenezinde suçlanmaktadır. Panitsas ve ark. aktif hastalık döneminde ki İTP hastalarında Th1/Th2 oranının remisyondaki hastalara veya sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve trombosit sayısında ki düşüklüğün Th1/Th2 oranının yüksekliği ile korele olduğunu gözlemlemişlerdir(15).

T hücrelerinin bir alt tipi olan ve çok yakın zamanda tanımlanan Th17 veya Th22 hücrelerinin de İTP gelişimi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Th17 hücreleri ve onların efektör sitokinleri olan IL-17 aktif dönemdeki İTP hastalarında ciddi oranda artmıştır. Genotip analizi, IL17F7488T alelinin İTP ile anlamlı korelasyonu olduğunu göstermiştir. Th22 hücleri de Th17'ler gibi potent bir proinflamatuvar T hücre alt tipidir ve İTP hastalarının aktif döneminde sayıları anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Glukokortikoid tedavisi Th22 T hücrelerini ve onların efektör sitokini olan IL-22 ekspresyonunu azaltmaktadır. (18, 53)

$CD4^+CD25^+$ regulatuar T hücreleri (Treg) $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücre yanıtlarını baskılayarak immun sistemin düzenlenmesinden sorumludur. Aktif dönemdeki İTP hastalarında Treg hücrelerinin sayısal ve immunregülatuar fonksiyonlarında azalma olduğu, deksametazon, İVİg, Ritüksimab ve TPO agonistlerinin Treg hücrelerindeki anormallikleri düzelttikleri gösterilmiştir. (16, 59-63). $CD4^+$ $CD25^-$ CD45 RA^+ T hücrelerinin İTP patogenezinde GP – spesifik Treg hücrelerine dönüşebildiği, Dentritik hücrelerin antijen sunma fonksiyonunu modüle ederek Th hücrelerinde immun toleransa yönelik etkileri ortaya çıkardığı gösterilmiştir (64).

FasL, TNFα ve TNFα - ilişkili apopitozu uyaran ligand (TRAIL) TNF süperailesine ait bireylerdir ve herbiri kendine ait reseptörlerine bağlandıktan sonra apopitozu uyarabilir. İTP hastalarında artmış olan Fas ve FasL ekspresyonunun saptanması bu hastalığın etiyolojisinde Fas sinyal yolağının da rol aldığını düşündürmektedir (65). Hastalığın aktif döneminde $CD3^+$ lenfositlere yönelik yapılan çalışmalarda anti-apoptotik genlerden A20 ve kaspaz-8'in artmış regülasyonu ve pro-apoptotik gen olan Bax' ın azalmış regülasyonu saptanmıştır. Aktive olmuş T lenfositlerinin apopitozunun engellenmesiyle inflamasyonun ortadan kaldırılması yavaşlamakta ve biriken otoreaktif T lenfositleri trombositleri yıkmaya devam etmektedirler (66).

2.3.5. Antijen Sunan Hücrelerin Rolü

Otoreaktif aktive Th lenfositleri kendilerine MHC Sınıf II+ makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından sunulan peptid parçacıklarını tanıyarak antijenlere karşı IgG ilişkili otoreaktif yanıtı başlatmaktadırlar (67). Cines ve ark. APC'lerin trombosit GP'lerine karşı yeni kriptik epitoplar geliştirdiğini, başka ko-stimulatuvar uyaranlarla beraber bu molekülleri tanıyan T hücrelerini aktive ettiğini söylemişlerdir (68). Bu mekanizmanin İTP'nin başlangıcından ve sürecin devamından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Kuwana dalak makrofajlarının otoreaktif T lenfositlerine kriptik trombosit peptidleri sunan majör hücre grubu olduğunu ve trombositlere karşı antikor gelişimini uyardıklarını göstermiştir (69). Hamzeh-Cognasse İTP hastalarının APC'lerine apoptotik trombositleri sunduğunda bunların otoreaktif T hücre proliferasyonunu uyardığını göstermiştir. APC disfonksiyonu İTP'de immun imbalansın tetiklenmesinde kritik bir rol oynamaktadır (70).

2.3.6. Dismegakaryositopoez

İTP hastalarının plazmaları ile yapılan in vitro çalışmalarda megakaryosit üretiminde ve maturasyonunda azalma gösterilmiştir. Chang ve ark. anitrombosit antikorları serumdan tespit edilebilen İTP hastalarının plazmalarının kord kanında megakaryopoezi baskıladığını göstermişlerdir (7). McMillan ve ark. ise benzer bir

şekilde İTP hastalarının plazmalarının in vitro şartlarda megakaryosit maturasyonunu engellediğini göstermişlerdir (8).

2.3.7. İmmun hücreler olarak Trombositler

Trombositlerin kendileri de aktif immun sistem elemanlarıdır ve İTP'deki immun yanıtlara katkı sağlamaktadırlar (11, 71). CXCL5, CCL5, EGF ve CD40L sitokinlerinin ekpresyonu hem İTP hastalarında hem de aplastik anemi hastalarında önemli derecede düşük saptanmıştır. Bu sitokinlerin seviyeleri trombositopeninin derecesi ile ilişkilendirilmiştir. Trombosit kökenli bu sitokinlerin seviyesindeki azalmanın Th1/Th2 dengesini bozduğu ve hematopoezi etkilediği kabul edilmektedir (72)

2.3.8. Rölatif trombopoietin (TPO) eksikliği

Trombopoez, trombopoietin (TPO) adı verilen bir sitokin tarafından düzenlenmektedir. TPO, c-MPL protoonkogeninin ürünü olan c-mpl reseptörlerinin bir ligandıdır (73). Asidik bir glikoprotein olan TPO karaciğerde üretilmekte, megakaryosit maturasyonunun trombositlere kadar olan her bir basamağını kontrol etmektedir (74). TPO seviyeleri İTP'de normal veya hafifçe artmış iken, aplastik anemide normalden 10 kat daha fazla seviyelere çıkmaktadır (75). Deneysel verilerde İTP hastalarında TPO' nun kemik iliğinde ki megakaryositlerde koloni formasyonunu arttırdığı ve periferik kanda trombosit seviyelerinde artışa yol açtığı gösterilmiştir (76). Bu çalışmalarda gösterilen rölatif endojen TPO eksikliğinin İTP'nin patofizyolojisinde bir rolü olduğu, dışardan TPO verilmesinin İTP yönetiminde etkili olduğu düşüncesi TPO mimetik ajanların (romiplostim ve eltrombopag) FDA tarafından kabulü ile sonuçlanan çok merkezli randomize klinik çalışmalarda gösterilmiştir (77, 78).

2.3.9. Genetik Sendromlar

Yaygın Değişken İmmun Yetmezlik (CVID), otoimmun lenfoproliferatif sendrom (ALPS), Hiper İgM sendromu gibi sendromlarla İTP'nin birlikteliği göze çarpmaktadır. CVID ile İTP birlikteliği %10 civarındadır ve hastalığın çoğunlukla ilk bulgusudur. T lenfositlerinin etkilendiği kalıtsal hastalıklarda da İTP görülebilmektedir. DiGeorge (del22q11.2) sendromunda Treg hücrelerinin

azalmasına bağlı olarak İTP gelişme riski normal popülasyona göre 200 kat artmıştır. Benzer bir şekilde Treg lenfositlerinin etkilendiği Wiskott – Aldrich sendromunda İTP sıktır (79-82).

2.4.Tanı ve Klinik Özellikler

İTP bir ekartasyon tanısıdır. Trombosit sayımı $< 100 \times 10^9$/L olan hastalarda trombositopeninin diğer sebepleri araştırıldıktan ve dışlandıktan sonra İTP tanısı konulur.

2.4.1. Kanama

İTP hastalarının en sık klinik bulgusu kanamadır. Kanama odağı olarak en sık tutulan yerler cilt, oral kavite ve gastrointestinal sistemdir. Purpura genellikle ekstremitelere (kuru purpura) lokalizedir ve herhangi bir presipitan etken olmadan da görülebilir. Mukozal kanama denildiğinde ise akla epistaksis, menoraji, diş eti kanaması ve gastrointestinal kanama gelmektedir (4). Derin trombositopenisi olan hastalarda oral kavite de hemorajik büller (yaş purpura) görülebilmekte ve bunlar gastrointestinal sistemde veya diğer sistemlerdeki kanamaların habercileri olabilmektedir.

İntrakraniyal kanama (İKK) ise İTP hastalığının en çok korkulan ancak nadir bir komplikasyonudur. İKK vakalarının hemen hemen tamamı hastaların trombosit sayıları $< 10 \times 10^9$/L olduğunda meydana gelmektedir. Yakın zamanda Uluslararası Ortak Çalışma Grubu tarafından yayınlanan bir çalışmada yeni tanı alan 340 erişkin İTP hastasından altı tanesinin intrakraniyal kanama ile başvurduğu, çocuklarda ise bu oranın daha az olduğu ve 1784 yeni tanı İTP vakasından 10 tanesinde İKK görüldüğü bildirilmiştir (83). Danimarka kökenli başka bir çalışmada ise genel popülasyonla kıyaslandığında İKK riskinin kronik İTP hastalarında 3.2 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir.

İTP hastalarında kanama için belirlenmiş bir takım risk faktörleri mevcuttur. Bunlar trombosit sayısı, yaş ve kanama diyatezi olarak saptanmıştır (47). Trombosit sayısı günlük pratikte yaygın olarak kanama açısından yaygın olarak kullanılan bir risk faktörüdür. Majör kanama hemostatik bir bozukluk, travma, cerrahi ve anti-trombotik tedavi gibi kanamaya eğilimi arttıracak faktörlerin yokluğunda ve trombosit sayısı $>30 \times 10^9$/L ise oldukça nadir görülmektedir(84). İleri yaş ve kanama diyatezi İTP hastalarında kanama için belirlenmiş bağımsız risk faktörleridir.

Retrospektif bir çalışmada trombosit sayıları < 30 x 10^9/L olan İTP hastalarında 60 yaş üzeri olanların 40 yaş altındaki gruba göre fatal hemoraji ve non-fatal majör hemoraji risklerinin 30 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Daha önce kanama öyküsü bulunan hastalarda ise yeniden kanama riskinin normal popülasyona göre 27.5 kat arttığı gösterilmiştir (5, 85).

2.4.2. Bitkinlik

Bitkinlik İTP hastalarında çoğunlukla fark edilmeyen ancak oldukça sık bir semptomdur. Newton ve ark. yaptığı bir çalışmada hastaların % 22 – 39' unda mevcut olduğu gösterilmiştir (86). Tedavi süreci başarı ile tamamlanan hastalarda yorgunluk ve sağlık ilişkili yaşam kalite ölçeği değerlendirmelerinde belirgin düzelmeler gösterilmiştir (87). Mathias ve ark. yaptığı bir çalışmada univariate analizlerde bitkinliğin varlığının kanama, steroidlerle tedavi ve trombosit sayısının < 100 x 10^9/L olması ile korele olduğu, cinsiyet, yaş ve hastalık süresi ile ilişkili olmadığı saptanmıştır (88). İTP patogenezinde inflamatuvar sitokinlerden IL-2 ve IFN-γ seviyesinin artmış olduğu bilinmektedir. Sitokin seviyelerinin yüksekliği bitkinlik hisseden İTP hastalarının bir kısmında bu durumun oluşmasından sorumlu olabilir (89).

2.4.3. Tromboz

İTP hastalarının tromboza eğilimli olduğuna yönelik literatürde yakın zamanlı çalışmalar bildirilmiştir. Aledort ve ark. 186 hastalık bir kronik İTP serisinden 18 tromboembolik olay bildirmişler (90), Sarpatwari ve ark. ise İngiliz veritabanından elde ettikleri sonuçlarda venöz, arteryel ve mikst tromboembolik olayları araştırmışlar ve hazard oranlarını sırasıyla 1.58 (%95 CI, 1.01 – 2.48), 1.37 (%95 CI, 0.94 – 2.00) ve 1.41 (%95 CI, 1.04 – 1.91) saptamışlardır (91).

İTP hastalarında tromboz oluşumundan sorumlu mekanizmalar hala net olarak bilinememektedir. Ancak İTP hasta grubunda anti-fosfolipit antikor insidansının daha sık olduğu ve bu antikoru taşıyan İTP hastalarında daha sık tromboz gelişebileceği akılda tutulmalıdır. Tromboz oluşumuna antikor kaplı trombositlere karşı kompleman aktivasyonunun ve trombosit kökenli protrombotik maddelerin miktarının artmasının da yol açabileceği düşünülmektedir(92, 93).

2.5.Fizik Muayene ve Laboratuvar İncelemeleri

2.5.1. Fizik Muayene

Fizik muayene bulgularında kanama ile ilişkili bulguların haricinde genellikle başka bulgu bulunmaz. Genç hastalarda hafif splenomegali saptanabilir ancak orta ve ciddi splenomegalinin varlığı başka hastalığı düşündürmelidir. Ateş, kilo kaybı, hepatomegali, lenfadenomegali gibi konstitusyonel semptomlar ve bulgular HİV, SLE veya bir lenfoproliferatif hastalığı düşündürmelidir (1).

2.5.2. Periferik Kan Sayımı

İTP eritrositik ve lökositik seride anormalliğin eşlik etmediği izole trombositopeni ile karakterizedir. Ancak kan kaybına bağlı demir eksikliği anemisi olabileceği de unutulmamalıdır. Anemi varlığında retikülosit sayımı aneminin eritrosit üretiminin azlığından mı yoksa eritrositlerin artmış yıkımından mı kaynaklandığını göstermede faydalıdır (1).

2.5.3. Periferik Yayma

İTP tanısının önemli parametrelerinden birisi periferik yayma değerlendirilmesidir. Trombositopeninin diğer sebeplerinin gösterilmesinde önemli bir diyagnostik araçtır. İyi değerlendirilmiş bir periferik yayma ile mikroanjiyopatik süreçlere ait bulgular, trombosit satellizmi, psödotrombositopeni, MDS ve akut veya kronik lösemilere ait bulgular saptanabilir (1).

2.5.4. Kemik iliği incelemesi

60 yaşın üzerindeki hastalara, sistemik semptomları olan veya anormal bulguları olan hastalara ve splenektomi düşünülen hastalara kemik iliği incelemesi yapılması önerilmektedir. Kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisinin birlikte alınması önerilmekte, morfolojik incelemelere ek olarak flowsitometrik ve sitogenetik incelemeler yapılması tavsiye edilmektedir (1, 42, 43, 94).

2.5.5. Helikobakter Pilori

Helikobakter pylori infeksiyonunu saptamaya yönelik olarak erişkin İTP hastalarında üre nefes testi veya dışkıda antijen testi yapılması IWG tarafından önerilmektedir. Serolojik testlerin sensitivite ve spesifitesi diğer testlere göre daha düşük olmakla birlikte IVIg tedavisi sonrası yalancı pozitiflik gösterebilmektedir (1).

2.5.6. HİV ve HCV testleri

HİV ve HCV ilişkili trombositopeniyi primer İTP'den ayırt etmek zordur ayrıca bu virüslerle infekte hastalarda diğer semptomlardan birkaç yıl önce sadece trombositopeni gelişebilmektedir. İTP şüphesi olan hastalarda prevalans, hasta anamnezi, kişisel risk faktörlerinin varlığına bakılmaksızın rutin HCV ve HİV serolojik testleri yapılmalıdır. Bu enfeksiyonların kontrolü ile bazı hastalarda hematolojik remisyon görülebilmektedir (95).

2.5.7. Diğer Testler

İTP hastalarında bazal IgG, IgA ve IgM seviyeleri ölçülmelidir. İmmunglobulinlerin düşük seviyeleri CVID veya Selektif IgA Eksikliği gibi bir hastalığı gösterebilir. Böyle durumlarda immunsüpresif tedaviler rölatif kontraendikasyon taşımaktadırlar (1).

İTP hastalarının %22' sinde direk antiglobulin testi pozitif saptanmıştır. Bu durumun klinik üzerine etkisi halen belirsizdir. Direkt antiglobulin testinin yüksek retikülosit sayımlı anemi varlığında veya anti-D immunglobulin tedavisi uygulanacaksa yapılması önerilmektedir. Ayrıca anti-D immunglobulin tedavisi uygulanacak hastalara kan grubu tayini yapılması önerilmektedir (1).

2.6. Sekonder İmmun Trombositopeni

Bazı hastalarda enfeksiyoz veya immun sistemdeki defektlere bağlı olarak immun trombositopeni gelişebilmektedir. Bunun için Cines ve ark. tarafından sekonder İTP'nin mekanizmasında yatan immun defektlerin 3 kategoride incelenmesi gerektiği önerilmiştir.(11)

Bunlar

- İmmun stimulasyon altında periferal tolerans defektleri
- B lenfosit differansiyasyon blokları
- Kemik iliğinde veya gelişim döneminde ortaya çıkan santral defektler

Periferik tolerans kaybından meydana gelen trombositopeniler tedaviye daha iyi yanıtlı olup daha az relaps yaparken, santral tolerans kaybından meydana gelenler ise birçok hücre tipini etkiledikleri ve intrensek otoreaktiviteye sahip oldukları için daha sık relaps yapma eğilimindedirler.

Periferik tolerans kaybı sonucu gelişen sekonder İTP için en iyi örnek çocukluk çağında viral bir hastalık sonucu ortaya çıkan ve %80 spontan remisyona giren İTP örneğidir. Aşılar ve infeksiyöz etkenlerin sonrasında gelişen trombositopeni de periferik tolerans kaybı ile açıklanmaktadır. Kızamık-kabakulak-kızamıkçık (MMR) aşısı sonrası, CMV ve VZV virüsleri ile enfeksiyon sonrası ve Helikobakter pylori ile enfeksiyon sonrası görülen trombositopeniler bu başlık altındadır. Ancak İTP ile ilişkili en sık enfeksiyon Hepatit C olarak bildirilmekte ve İTP hastalarında %20'ye yakın bir oranda saptanabilmektedir. HIV virüsü megakaryositleri enfekte ederek ve viral epitoplara karşı gelişen antikorların trombositler ile çapraz reaksiyon vermesiyle trombositopeni oluşturabilmektedir (89).

B lenfositlerin differansiyasyon bozukluklarına bağlı gelişen İTP için en uygun örnek kronik lenfositik lösemi (KLL)'dir. KLL'de trombositopeninin varlığının kötü prognoz ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Hodgkin hastalığı, non-Hodgkin lenfomalar ve geniş granülositik lösemi (LGL) B lenfosit bozuklukları ile ilişkili sekonder İTP sebepleri arasındadır. Yine bu grup içerisinde yaygın değişken immun yetmezlik (CVID) ve otoimmun hemolitik anemi B lenfositlerin kontrol noktalarında meydana gelen defektler ve hafıza B-hücrelerinin kaybı ile ilişkilidir (89).

Santral tolerans kaybı ile ilişki sekonder İTP sebepleri arasında antifosfolipid antikor sendromu, sistemik lupus eritematozus, otoimmun hemolitik anemi (İTP ile birlikteliği Evans Sendromu) ve otoimmun lenfoproliferatif sendrom sayılabilir (89).

2.7.Tedavi

Erişkin İTP hastalarında genel popülasyonla kıyaslandığında artmış morbidite ve mortalite dikkati çekmektedir. Özellikle trombosit sayısı < 30 x 10^9/L olan hasta grubunda bu fark daha da belirginleşmektedir. Kanama ve enfeksiyonlar immun trombositopeni hastalarında mortaliteye eşit katkı sağlamaktadır (96).

Erişkinlerde tedavi yönetimi çocuk hasta gruplarına göre daha komplekstir. Bu hastalığın erişkin yaş grubunda büyük çoğunlukla kronikleşme eğiliminde olması, kanama riskinin artmış olması ile ilişkilidir. Tedavinin amacı minimal toksisite ile hemostatik trombosit sayısının 20 – 30 x 10^9/L' nin üzerinde tutulmasıdır. Tedaviye başlama endikasyonu trombosit sayısının semptomatik olmayan bireylerde < 20 – 30

x 10^9/L 'nin altında olması olarak belirlenmişken bazı kaynaklarda bu sayı < 50 x 10^9/L olarak verilmektedir(1, 44, 96). Kanama bulgusu ile başvuran hastalarda vakit geçirilmeden tedaviye başlanılması önerilmektedir. Tedavi hastanın yaşı, yaşam stili, bireysel kanama risk değerlendirilmesi ve hasta tercihlerine göre optimize edilmelidir (1).

İTP tedavisi için İWG tarafından öne sürülen algoritmada birinci basamak medikal tedavi grubu içerisine kortikosteroid tedavisi, İVİg ve İV anti-D uygulaması yer almaktadır. İkinci basamak tedavi ise splenektomi, TPO reseptör agonistleri ve ritüksimab tedavisinden oluşmaktadır. Üçüncü basamak tedavi seçenekleri ise immünsüpresif ve sitotoksik tedavi seçenekleridir. Ancak akılda tutulmalıdır ki İTP tedavi algoritmasında ki tedavi seçeneklerinin birbirlerine üstünlüğünü gösteren kontrollü çalışmalar yoktur (1).

2.7.1. Birinci Basamak Tedavi

Kortikosteroidler standart başlangıç tedavi rejimi olarak ilk seçenek olan ajanlardır. Kortikosteroid tedavisi kanamalı hastalarda trombosit sayısını arttırmasının yanında damarlar üzerine etkileri ile kanamanın durdurulması üzerine etkilidirler. Ancak tedavi ile birlikte steroide bağlı yan etkiler çabuk gelişmekte ve önemli komplikasyonlara yol açabilmektedir (97, 98).

Prednizon İTP tedavisinde ilk seçilecek olan kortikosteroiddir. Prednizon tedavisine 0.5 – 2 mg/kg/gün dozundan başlanılır ve trombosit sayısı > 30 – 50 x 10^9/L olana kadar bu dozdan devam edilir. Trombosit sayısının bu hedeflere ulaşması bir kaç günden birkaç haftaya kadar zaman alabilmektedir. Kortikosteroid ilişkili yan etkilerden kaçmak amacıyla tedavi yanıtlı olan hastalarda hızla doz azaltılmalı ve mümkün olan en erken sürede tedavi kesilmelidir. Tedavi yanıtsız hastalarda ise 4 haftadan sonra steroid tedavisi azaltılarak kesilmelidir(90, 99-104).

Deksametazon İTP tedavisinde yavaş yavaş terkedilse de yakın zamanda yapılan iki çalışmadan elde edilen sonuçlara göre tedavi başlangıç yanıtlarında ve remisyonun sürdürülmesinde yüksek başarı oranları sunmuştur. Bu çalışmalardan birinde yeni tanı İTP hastalarına 40 mg deksametazon (400 mg predizon eşdeğeri) 4 gün boyunca verilmiş ve %50 hastada remisyon sağlamıştır. Başka bir çalışmada ise 40 mg deksametazon 4 gün boyunca 14 günlük sikluslarla 4 kür verilmiş ve

hastaların %86'sında yanıt elde edilmiş ve hastaların %74'ü 8 ay boyunca remisyonda kalmışlardır (105).

İntravenöz anti-D (İV anti-D) kan grubu tayini yapılmış, Rh(D) pozitif splenektomi olmamış hasta grubunda kullanılabilmektedir. Otoimmun hemolitik anemili hastalarda hemolizi arttırabileceği için kullanılmamalıdır. Tedavi öncesi direkt coombs testi ve retikülosit sayımı da önerilmektedir. Tedavi dozu 50 -75 μg/kg'dır ve tedavi öncesinde asetaminofen ve prednizon ile premedikasyon önerilmektedir. Tedavi ile hafif anemi olabileceği gibi DİK, intravasküler hemoliz ve renal yetmezlik gibi fatal komplikasyonlar gelişebileceği akılda tutulmalıdır. Hastaların tedaviye ortalama yanıt süreleri ise 4-5 gün civarındadır (106-109).

İntavenöz İmmunglobulin (İVİg) yaklaşık 20 yıldan beri kullanılmaktadır. İVİg Fc reseptör ekspresyonu üzerinden humoral ve selüler immuniteyi etkilemektedir. İVİg ayrıca dendritik hücreler üzerinde maturasyon arresti yaparak IL-12 üretimini azaltmakta ve IL-10 üretimini arttırmaktadır. Hayvan çalışmalarında dendritik hücrelerin in vitro İVİg ile muamele edilip tekrar deneklere verildiğinde İTP'nin iyileştiği gözlenmiştir. Bu İVİg için uzun dönemli immunmodülatuvar etkisinin olduğunu bizlere düşündürmektedir. İVİg tedavisi ile yanıtlar steroid tedavisine benzerdir ancak yanıt süreleri çok daha kısadır. İVİg uygulaması esnasında hastalarda baş ağrısı görülebilmekte ve infüzyon süresinin görece uzun olması bir negatif etki olsa da 1 g/kg dozundan 2 gün üst üste uygulandığında ilk 24 saatte trombosit artışları dikkati çekmektedir. Hızlı yanıt istenilen durumlarda İVİg steroidler ile birlikte kullanılarak kısa sürede remisyon sağlayabilir ayrıca infüzyon reaksiyonları ve aseptik menenjit gelişimi de birlikte kullanım ile önlenebilir. Tedavi yan etki profiline bakıldığında ise hafif düzeyde baş ağrısı en sık karşılaşılan yan etki olmakla birlikte tromboz, renal yetmezlik ve anafilaktoid reaksiyonlar nadir ama ciddi tedavi komplikasyonlarıdır (43, 110-115).

2.7.2. İkinci Basamak Tedaviler

İTP hastalarının antikor kaplı trombositleri RES elemanları olan makrofajların Fc reseptörleri tarafından tanınmakta ve dolaşımdan kaldırılmaktadır. Splenektomi hem antikor üretiminin ortadan kaldırılması hem de trombosit yıkımının önlenmesi açısından küratif bir tedavi olarak görülmektedir. Birinci basamak tedavilere yanıt vermeyen hastalara yapılması önerilmektedir. Splenektomize İTP

hastaları üzerinde yapılan çalışmalarda hastaların splenektomiye yanıtlarının yaklaşık %90 civarında olduğu ve %70 hastanın ise 5 yıllık takipte remisyonda olduğu görülmüştür(116). Başka bir çalışmada splenektomize hastalar 150 ay civarında takip edilmiş ve hastaların üçte ikisinin herhangi başka bir tedavi ihtiyacı olmadığı gösterilmiştir(117). Yeni tedavi opsiyonlarının gelişmesi hem doktorların splenektomiyi önermesinde hem de hastaların hastalıklarının tedavi opsiyonu olarak splenektomiyi kabul etmesinde daha çekingen davranmalarına yol açmıştır (118). Dalağın kapsüllü organizmalarla mücadele merkezi olduğu göz önüne alındığında splenektomize bireylerin sepsis ve enfeksiyonlara yatkınlığının arttığı, splenektomi sonrası ilk bir sene için bu riskin 4.5 kat daha fazla olduğu sonrası için 2.5 kat olduğu gösterilmiştir. Bu yan etkiden kaçınmak amacıyla kapsüllü bakterilere karşı splenektomi öncesi aşılama ve splenektomi sonrası profilaktik antibiyoterapi önerilmektedir. Pulmoner hipertansiyon ve vasküler tromboembolik olaylar ise splenektominin yakın zamanda dikkatleri üzerine çeken yan etkisi olarak göze çarpmaktadır (119-121).

Rituximab B lenfositler üzerinde bulunan yüzey markırı olan CD-20'ye karşı geliştirilmiş monoklonal bir antikordur. Tedavi ruhsatını ilk klonal B hücre maligniteleri üzerine almıştır. Rituximab tedavisi alan hastalarda hızlı bir şekilde B lenfosit sayısı düşmektedir. Bu durum B lenfosit sayısının azalmasına bağlı antikor üretiminin de azalmasına yol açtığından ilacın otoimmun hastalıkların tedavisinde kullanımı konusunu gündeme getirmiştir. Rituximab bu amaçla hem erişkin hem de pediatrik popülasyonda kronik İTP'de denenmiş ve remisyon indüksiyonunda yüz güldürücü sonuçlar vermiştir. İki sistematik derlemede erişkin hastalarda yanıt oranı (yanıt trombosit sayısının > 50 x 10^9/L olması kabul edilmiştir) % 57 ve % 63 olarak saptanmıştır. Ancak uzun dönem yanıt oranları ise düşüktür. Hastaların 1 ve 5 yıllık remisyonda kalım oranı sırasıyla %33 ve %26 olarak bulunmuştur (122).

Rituximab tedavisine yanıt için bir takım prediktif faktörler belirlenmiştir ancak bu faktörlerin yeterli sayıda çalışma ile doğrulanmadığını akılda tutmak gerekir. Bu faktörler ise hastalık süresinin kısa olması, sekonder İTP vakaları ve daha önce kortikosteroid tedavisine yanıt alınması olarak sayılabilir . Rituximab tedavisinin uzun dönem remisyon sonuçlarının düşük olması üzerine yapılan çalışmalarda tedavi yanıtı olanların selüler immun yanıtlarında da düzelme dikkati

çekmiş, Th1/Th2 oranının restore olduğu, Treg lenfositlerin sayısının ve fonksiyonlarının düzeldiği gözlemlenmiştir. Bu durum tedavi etkinliğinin sadece B lenfositler üzerinden olmadığını düşündürmektedir. Tedavi yanıtsız grupta ise trombositlere karşı antikor üreten plazma hücrelerinin tedaviden aylar sonra hala dalakta saptanabildiği ve tedavi yanıtsızlığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (62, 123, 124).

Tedavi dozu 375 mg/m^2/hafta olmak üzere toplam 4 dozdur. Tedavi yan etkilerinin çoğunu ise infüzyon reaksiyonları oluşturmaktadır. Diğer yan etkileri ise infeksiyöz komplikasyonlar, serum hastalığı ve viral hastalık reaktivasyonu olarak belirtilebilir.

İkinci basamak tedavi seçenekleri arasında yer alan bir diğer ilaç grubu trombopoietin reseptör agonistleridir. TPO-RA grubu ilaçlar kemik iliğinde megakaryositleri uyararak dolaşıma trombosit salınmasını sağlayarak trombosit sayısını artırmaktadırlar. FDA tarafından bu grupta ruhsatlanan iki ajan mevcuttur. Bunlar eltrombopag ve romiplostimdir.

Romiplostim megakaryositlerin yüzeyinde bulunan endojen trombopoietin reseptörlerinin bağlandığı c-Mpl reseptörüne bağlanan 4 peptid parçasının IgG Fc parçası ile birleştirilmesiyle elde edilmiştir. İlaç reseptöre bağlandıktan sonra megakaryosit proliferasyonu ve trombosit üretimini tetikleyen hücre içi JAK/STAT ve MAPK yolaklarını aktive etmektedir. Eltrombopag ise peptid yapıda olmayan ve c-Mpl reseptörünü transmembran bölgesinden aktive eden küçük bir moleküldür . Bu iki ajan trombopoietin reseptörlerinin farklı noktaları üzerinden etki etmekte ve iki ilaç arasında çapraz direnç gelişimi görülmemektedir (45, 125). Bu iki ajan üzerine yapılan randomize kontrollü çalışmalarda romiplostimin splenektomize olmayan hastaların %61'ini remisyona soktuğu, splenektomize grupta ise bu oranın %38 olduğu gösterilmiş ve romiplostimin splenektomiyi azalttığı, tedavi başarısızlığını düşürdüğü saptanmıştır (77). Eltrombopag için yapılan çalışmalarda hastaların %59 ila %81 arasında değişen oranlarda remisyona girdiği gözlemlenmiştir. Uzun dönem etkinlik çalışmalarında ise romiplostim alan hastaların 110 haftalık izlemde %92'sinin hala remisyonda olduğu , eltrombopag alan hastaların ise 156 haftalık izlemde %62'sinin remisyonda olduğu gösterilmiştir (78, 126). TPO-RA grubu ilaçlarla tedavi esnasında en sık görülen yan etkiler baş ağrısı,

uykusuzluk ve halsizlikdir. Nadiren kemik iliğinde retikülin gelişimi görülebilmekte ancak ilaca ara verilmesiyle bu süreç geri dönmektedir. İlaçların uzun dönem kullanım verilerinde trombotik hadiseler bildirilmiştir. Ayrıca eltrombopag açısından dikkatli olunması gereken bir yan etki de hepatotoksisitedir. Çalışma grubu hastalarının %10'ununda ilaç ilişkili karaciğer yetmezliği gelişmiştir (45).

Azatiyopürin: İTP hastalarında azatiyopurin kullanımı ile ilgili 53 hastalık bir çalışmada hastalara ortalama 18 ay boyunca 150 mg/gün dozundan azatiyopurin verilmiş ve hastaların %45'inde tam yanıt olduğu gösterilmiştir. Çoğu hastada sürekli tedavi gerekse de doz azaltımı ile yanıt devamı sağlanabilmektedir. Yan etkileri arasında güçsüzlük, terleme, transaminaz yüksekliği, pankreatit ve ciddi nötropeniler mevcuttur (1).

Siklosporin A: Siklosporin A 2.5 – 3 mg/kg/gün dozunda tek başına veya prednizon ile kombine kullanıldığında etkin bir tedavi seçeneğidir. Birinci seri tedaviye dirençli hastalarda kullanımında hastaların %80' inden fazlasında tedavi yanıtı alınmış ve %42 hasta ise tam remisyona girmiştir. Tedavi bitiminden sonra remisyonda kalım süresinin ise ortalama 29 ay civarı olduğu gözlemlenmiştir. Yan etki profilinde ise halsizlik, böbrek yetmezliği, hipertansiyon, nöropati, jinjival hiperplazi, hipertrikoz, tremor mevcuttur. Bu nedenle yaşlı hastalarda ve böbrek yetmezliği olan hastalarda kullanımı önerilmemektedir (1).

Siklofosfamid: İTP hasta grubunda kotikosteroid ve/veya splenektomiye dirençli hasta grubunda immunsupresyon amaçlı kullanılmaktadır. Tedavi dozu oral yoldan 1-2 mg/kg/gün 16 hafta boyunca veya intravenöz yoldan 0.3 – 1 g/m^2 dozundan her 2-4 haftada bir 1-3 gün arası şeklindedir. Tedavi yanıt oranları % 24 – 85 arasında değişmektedir (1).

Danazol: Danazol zayıf androjenik etkinliğe sahip steroid yapıda sentetik bir hormondur. Oral yoldan günlük 2 – 4 defa 200 mg (10-15 mg/kg/gün) dozunda kullanılır. Tedavi yanıt oranları %60 – 67 arasında değişmektedir. Tedavi yanıtının en fazla olduğu hasta grubu yaşlı erkekler ve splenektomize hastalardır (1).

Dapson: Sentetik dapson grubuna ait bir anilin türevi ilaçtır. Hem antimikrobiyal hem de antiinflamatuvar etkinliğe sahiptir. Oral yoldan günlük 75 – 100 mg dozunda İTP hastalarında kullanılmaktadır. Birinci sıra kortikosteroid

tedavisine yanıt alınamamış hasta gruplarında dapsonun splenektomiye gidişi 32 haftaya kadar geciktirdiği gösterilmiştir (1).

Mikofenolat Mofetil (MMF): MMF antiproliferatif immunsupresif etkili bir ajandır. Bazı İTP hastalarında kullanımının faydalı olabileceği belirtilmektedir. Optimal tedavi dozu 1000 mg/gün olup bu doza yavaş yavaş çıkılması önerilmektedir. Refrakter İTP vakalarında %40 civarında hastada yanıt alınmış ancak yanıtın sürdürülemediği görülmüştür (1).

Hastaların yaklaşık %20' sinde splenektomi veya birinci/ikinci sıra tedavilerle remisyon sağlanamaz. Ayrıca splenektomiyle remisyona giren hastaların % 10 – 20' sinin ilerleyen zamanlarda relaps olduğu bilinmektedir. Bu durumlarda tedavi seçenekleri oldukça sınırlıdır. Kombinasyon kemoterapileri, otolog veya allojeneik kök hücre nakli ve uzun dönemli TPO reseptör agonistleri kullanımı karşımıza çıkan tedavi seçenekleridir (1).

2.8. MEFV Gen Mutasyonları

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) otozomal resesif geçiş karakteri gösteren ve otoinflamasyonla seyreden hastalıkların da prototipi olan bir hastalıktır. Hastalık sıklıkla Kuzey Afrika Yahudileri, Ermeniler, Araplar, Iraklı (Sefardik, Sefarad) Yahudiler ve Türk'leri etkilemektedir. Ancak İtalyanlar, İspanyollar, Portekizliler, Fransızlar ve Yunanlılar gibi diğer Akdeniz popülasyonunda da nadir değildir (20-22). Hastalık 1945 yılında Amerikalı araştırmacı Siegal tarafından 10 vakalık bir seride benign paroksismal peritonitis adıyla tanımlanmış (127), Heller ve Sohar tarafından 1958 yılında hastalığa Ailesel Akdeniz Ateşi ismi verilmiştir (128). 1992 yılında hastalığa sebep olan genin 16. kromozoma lokalize edilmesiyle genetik tabana oturtulmuştur. Teknolojinin gelişmesi ve genetik çalışmaların hızlanmasıyla birlikte bu gen üzerine yapılan araştırmalar hız kazanmış ve 1997 yılında birbirinden bağımsız iki konsorsiyum bu geni 16. Kromozomun 16p13.3 lokusunda tespit etmiştir. Bu gene Akdeniz Ateşi manasında MEFV (MEditerranean FeVer) ismi verilmiştir. 16p13.3 lokusunda saptanan MEFV geninin 10 ekzondan oluştuğu, genin içerdiği DNA uzunluğunun 15 kb olduğu, 781 aminoasit uzunluğunda bir proteini kodladığı tespit edilmiştir (20, 24).

Bu genin ürünü olan proteine Uluslararası FMF Konsorsiyumu Latince ateş manasına gelen "pyros" kelimesinden köken alan "pyrin" ismini vermiştir. Fransız

FMF Konsorsiyumu ise bu proteine Latince'de deniz manasına gelen ve o dönem için Akdeniz'i akıllara getiren "mare nostrum" kelimesinden esinlenerek "marenostrin" ismini vermişlerdir. Pyrin/Marenostrin proteinine medikal literatürde "üç parçalı motif" manasına gelen ve proteinin üç parçalı yapısına işaret eden TRIM20 ismi de verilmektedir (20, 24).

Otoinflamatuvar hastalıkların genetik mutasyonlarının kaydedildiği INFEVERS veritabanında MEFV için 314 sekans varyantı ve AAA ilişkili altmıştan fazla mutasyon tanımlanmıştır(129). Mutasyonların en çok saptandığı kısım ve en uzun lokus yaklaşık 1600 kilobaz uzunlukta olan ekzon 10'dur. Genotip fenotip ilişkisine bakıldığında bu varyantların çoğunun hastalık fenotipine yansımadığı bilinmektedir. Hastalık ile en çok ilişkilendirilen mutasyonlar M694V, V726A, M694I, M680I ve E148Q mutasyonlarıdır ve bu mutasyonlar ülkemizde vakaların %74 – 85'inden sorumludur (25, 26). Bu kadar çok sayıda mutasyonun olması akıllara mutasyon analizi esnasında hangi mutasyonların aranması gerektiği sorusunu getirmiştir. 2012 yılında Shinar ve ark. tarafından herediter rekürren ateş sendromlarında taranacak mutasyonlar için bir kılavuz yayınlamışlardır. Bu kılavuzda M694V, M694I, M680I ve V726A mutlaka taranması gereken varyantlar, R761H, A744S, I692del, T267I ve E167D nadir görülen mutasyonlar ancak hastalıkla ilişkili oldukları için taranması önerilen varyantlar, K695R, E148Q, P369S, F479L ve I591T önemi belirsiz ancak taranması gereken varyantlar olarak önerilmiş, R202Q ve R408Q varyantları ise rapor edilmemesi önerilen varyantlar olarak belirlenmiştir (130).

Sağlıklı bireylerde MEFV mutasyon taşıyıcılığının ülkemizde sıklığı %20 olarak bildirilmiştir. Bu oran coğrafik farklılıklar göstermektedir. Irak'ta %39, Kuzey Afrika'da %22, Aşkenaz Yahudileri arasında %21, Ermeniler'de %21, Araplarda %20, Güneydoğu Avrupa popülasyonlarında %11, İran'da %6 saptanmıştır (27, 28, 131).

2.9. Pyrin ve MEFV Patogenezi

MEFV geni tarafından kodlanılan pyrin proteini ilk olarak periferik kan hücrelerinde ve kolon adenokarsinom hücrelerinde gözlenmiştir (20). Centola ve ark. MEFV geninin primer olarak nötrofillerde, eozinofillerde ve monositlerde eksprese edildiğini göstermişlerdir (132). Tidow ve ark. da MEFV mRNA'nin nötrofillerde,

monositlerde, dalak, akciğer ve kas dokusunda eksprese edildiğini göstermişlerdir (133) . Diaz ve ark. ise 2004 yılında pyrin proteinin sinovial fibroblastlar, dendritik hücreler ve nötrofillerde nükleusta, monositlerde ise sitoplazmada olduğunu göstermişlerdir. Monositlerde pyrin ekspresyonunun proinflamatuvar ajanlar olan IFN-γ, TNF-α ve LPS ile arttığı bilinmektedir. Matzner ve ark. IL-1β varlığı ile pyrin proteininin sinoviyal, peritoneal ve cilt fibroblastlarında arttığını göstermişlerdir (134).

Pyrin proteinin yapısal analizinde 5 farklı domainden oluştuğu görülmektedir. Bu bölgeler N-terminal ucundan C-terminal ucuna sırasıyla

- PYRIN domain
- B-box zinc finger domain
- bZIP transcription factor basic domain
- alpha helical (coiled-coil) domain
- B30.2 (PRYSPRY) domain şeklindedir.

Her bir domainin sitoskelatal sinyal iletimi, transkripsiyonel regülasyon, sitokin salınımı, apopitozun düzenlenmesi gibi rolleri olan proteinlerle etkileşimde ayrı bir görevi bulunmaktadır (135).

PYRIN domain N-terminal uçta yer alan yaklaşık 90 amino asit uzunluğunda bir bölgedir. PYRIN domaini death domain fold süperailesinin dört üyesinden bir tanesidir. Diğer üyeleri death domain (DD), death effector domain (DED) ve caspase-recruitmen domaindir (CARD). Pyrin diğer pyrin domaini içeren proteinlerle etkileşime girmektedir. Bunlardan bir tanesi adaptör bir protein olan ASC proteinidir. ASC N-terminal PYRIN domaini ve C-terminal CARD domaininden oluşmaktadır ve kaspaz-1'in proteolitik aktivasyonundan sorumludur. Kaspaz-1 proinflamatuvar sitokinler olan IL-1β, IL-18 ve IL-33'ün maturasyonundan sorumludur (136-139).

AAA hastalığının bir inflammazomapati olduğu düşünüldüğünde burada literatürde bildirilen ve isimlendirmeleri stres-sensing komponentler olan NOD benzeri reseptörlere (NLR) göre yapılan birkaç inflammazomdan bahsetmek gerekir. NLR protein (NLRP) 1, NLRP 2, NLRP 3, IPAF ve AIM2 bu ailenin üyeleridir.

ASC bir taraftan NLRP3 ile etkileşirken bir taraftan da kaspaz-1 ile etkileşerek IL-1β seviyesinin düzenlenmesini sağlamaktadır (135). Ancak NLRP3 proteininde meydana gelen fonksiyon kazanım mutasyonları IL-1β'nın seviyelerinin artmasına neden olmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda NLRP3 aktivitesinin pyrin ilişkili veya ilişkisiz fonksiyon kazanımı ile artmasının sonucunda artan IL-1β ve IL-18 seviyelerinin Th17 T lenfosit polarizasyonuna yol açtığı ve bununda otoimmun hastalıklarda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Ovadia ve ark. AAA hastalarında IL-1β ve IL-6 salınımının Th17 T lenfositlerinin polarizasyonuna yol açtığını ve bununda IL-17 aracılı kemotaksise yol açtığını göstermişlerdir (35).

MEFV mutasyonlarının çoğunun yer aldığı ekzon 10 bölgesinin pyrin proteininde kendisini gösterdiği yer C-terminal uçta bulunan B30.2 domainidir. B30.2 domaininin pyrinin inflammazomların majör komponentleri olarak NLRP1,2,3 ve kaspaz-5 ile etkileşimlerini yönettiği, bu etkileşimlerin eğiliminin de prokaspaz-1 aktivitesini dolayısıyla da IL-1β salgısını azaltmak olduğu ve burada meydana gelen mutasyonların neticesinde bu aktivitenin proinflamasyon lehine bozularak prokaspaz-1'in aktivitesinin arttığı ve IL-1β salgısının arttığı gösterilmiştir (140).

Sonuç olarak MEFV geni ürünü olan pyrin proteininin inflasmasyonun dengede tutulmasında görevli olduğu burada meydana gelen mutasyonların yukarıda bahsedilen mekanizmalar vasıtasıyla inflamasyondaki dengeyi sağlayan konumunu kaybetmesine yol açtığı ve etkilenen bölgelerde kontrolsüz inflamasyonun yol açtığı klinik belirtilerle kendini gösterdiği anlaşılmaktadır.

2.10. MEFV ve Diğer Hastalıklar

2.11.1. MEFV ve Sistemik Lupus Eritematozus

Sistemik Lupus Eritematozus (SLE) relaps ve remisyonlarla seyreden kronik multi organ tutulumlu otoimmun bir hastalıktır. Shinar ve ark. tarafından 2012 yılında yayımlanan bir çalışmada MEFV mutasyonlarının SLE hastalarının klinik fenotiplerine ve hastalığın ciddiyeti üzerine etkileri araştırılmış ve MEFV mutasyonları taşıyan hastaların daha sık ateş ve plörit atakları geçirdiğini ancak lupus nefritinin bu hasta grubunda daha az görüldüğü saptanmıştır. Bunu MEFV

mutasyonları taşıyan bireylerin kanlarında SAA ve CRP düzeylerinin yüksek olmasının otoantikorları yıkıma uğratarak zararın önüne geçildiği şeklinde açıklamışlardır (34). Erer ve ark. tarafından yapılan 190 lupus hastasının dahil edildiği çalışmada da MEFV mutasyonlarının SLE'ye yatkınlık üzerinde etkisi olmadığı gösterilmiştir (141). Farklı bir görüş olarak Deniz ve ark. 2014 yılında 114 SLE hastası üzerinde yaptıkları bir çalışmada SLE nefriti olan hastalarda E148Q mutasyonunu saptayamamış, hafif şiddette lupus hastalığı ile lupus nefriti vakaları arasında ekzon 10 mutasyonlarının SLE nefriti ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (142).

2.11.2. MEFV ve Romatoid Artrit

Romatoid Artrit (RA) çoğunlukla eklemleri etkileyen sistemik otoimmun bir hastalıktır. Sinoviyal fibroblastlarda ve monositlerde MEFV mutasyonu ekspresyonunun gösterilmesi, AAA'nin artrit ile seyreden bir hastalık oluşu ve sağlıklı popülasyonda taşıyıcılık oranının Yahudi toplumlarında %20 civarında olması düşüncesiyle Rabinovich ve ark. RA hastalarında MEFV geninin etkisini araştırmışlardır. Romatoid Artrit hastalarında MEFV mutasyon varlığının hastalığı şiddetlendirdiğini ve kadınlarda RA gelişimi riskini arttırdığını saptamışlardır (30). Koca ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise RA hastalarında MEFV prevalansı ve önemi araştırılmış ve MEFV mutasyonu varlığının RA hastalarında deforme eklem sayısının bu mutasyonları taşımayan bireylere göre istatistiki olarak anlamlı derecede daha fazla olduğunu göstermişlerdir (143). Migita ve ark. yaptığı çalışmada ise Japon RA hastalarında MEFV mutasyon varlığının hastalık üzerine etkisi gösterilememiştir (144).

2.11.3. MEFV ve Ankilozan Spondilit

Ankilozan Spondilit (AS) çoğunlukla sakroiliak eklem ve aksiyel iskeletin tutulduğu romatizmal bir hastalıktır. Literatür taramalarında ankilozan spondilit ve MEFV mutasyonu ilişkisi sorgulandığında ülkemizden beş adet ve toplamda altı adet çalışma mevcuttur. Ülkemizde yapılan beş çalışmanın dördünde AS hasta grubunda MEFV mutasyon varlığının kontrol gruplarına göre anlamlı olarak fazla olduğu ancak hastalığa etkisinin olmadığı saptanmıştır (145-148). He ve ark. tarafından AS hastalarında MEFV mutasyonlarının etkisi araştırılmış ve M694V mutasyonunun AS gelişimi için Han soyunda bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir. MEFV

mutasyonunun yüksek sedimentasyon ve CRP seviyeleri ile ilişkisini de saptamışlardır (149). Durmuş ve ark. tarafından Karadeniz bölgesinde AS hastaları üzerinde MEFV mutasyonlarının klinik önemi üzerine bir çalışma yapılmış ve hasta popülasyonu ile kontrol grupları arasında bir fark saptanamamış ancak mutasyon taşıyan AS hastalarının hastalık aktivite skorlarının daha yüksek ve AS için kötü prognostik öneme sahip olan kalça tutulumunun mutasyon taşıyan grupta daha fazla olduğunu göstermişlerdir (150).

2.11.4. MEFV ve İnflamtuvar Bağırsak Hastalıkları

İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları (İBH) kolon ve rektuma sınırlı olan Ülseratif Kolit (ÜK) ve ağızdan anüse kadar tüm gastrointestinal sistemi tutabilen Crohn Hastalığından(CH) oluşmaktadır ve relapslarla giden kronik hastalıklardır. Fidder ve ark. yaptığı çalışmada MEFV mutasyon varlığının Crohn hastalığında striktür oluşumu ve ekstraintestinal tutulumla ilişkili olduğu gösterilmiştir (33). Karban ve ark. ise Crohn hastalığında E148Q mutasyonunun perianal hastalık gelişimine yatkınlık ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (151). Cattan ve ark. İBH ve AAA ilişkisinin beklenenden 8-14 kat daha fazla olduğunu saptamışlardır (152). Yıldırım ve ark. ülseratif kolit hastalarında MEFV mutasyonlarının ciddi hastalıkla ilişkili olabileceğini, mutasyon pozitif hastaların steroid gerektiren atak sayılarının ise daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (153). Giaglis ve ark. ise ülseratif kolitli hastalarda MEFV mutasyon sıklığının daha fazla olduğunu bu farkın ise epizodik artrit ile seyreden ÜK hastalarında daha belirgin olduğunu göstermişlerdir (154).

2.11.5. MEFV ve Behçet Hastalığı

Behçet Hastalığı (BH) mukokütanöz, oküler, vasküler ve santral sinir sistemi tutulumları ile seyreden multisistemik vaskülittir. Schwartz ve ark. AAA hastalarında Behçet Hastalığı'nın sıklığını artmış olarak saptamışlardır (155). Atagündüz ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise Behçet Hastalığında MEFV mutasyon sıklığının arttığını ve vasküler komplikasyonlardan sorumlu olduğunu saptamışlardır (31). Rabinovich ve ark. ise MEFV mutasyonu taşıyan Behçet hastalarında trombotik olayların arttığını buna karşın üveit ataklarının daha az görüldüğünü göstermişlerdir (156).

2.11.6. MEFV ve Multipl Skleroz

Multipl Skleroz (MS) inflamasyon, demyelinizasyon ve akson hasarı ile karakterize otoimmun bir santral sinir sistemi hastalığıdır. Yahalom ve ark. yaptıkları çalışmada AAA ve MS birlikteliğinin beklenenden sık olduğunu, Ailesel Akdeniz Ateşi hastalığının MS gelişimine predispozan olduğunu, bunun özellikle M694V homozigot bireylerde daha belirgin olduğunu göstermişlerdir (157). Ülkemizde yapılan iki çalışmada ise Akman-Demir ve ark. MS tanısı ile takip ettikleri hastalarda AAA'nın beklenenden dört kat, Kalyoncu ve ark ise iki kat daha sık olduğunu saptamışlardır (158, 159). Shinar ve ark. ise Aşkenaz olmayan MS hastalarında özellikle M694V homozigot taşıyan bireylerin hastalık progresyonunun daha hızlı olduğunu göstermişlerdir (32).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Araştırma örnekleminin tanımlanması

Çalışma Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin Hematoloji polikliniğinde 1.09.2015 ve 1.06.2016 tarihleri arasında yürütülmüştür. Çalışmada kontrol grubu daha önce diğer çalışmalarda da kullanılan verilerden alınmıştır. Çalışma için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

Çalışma grubu olarak hematoloji polikliniğinde takipte olan İTP tanısı almış, 18 yaşından büyük hastalar seçilmiştir.

Kontrol grubu ise Genel Dahiliye polikliniğine başvuran hastalardan oluşturuldu. Hastalar AAA'ya yönelik tanısı olup olmaması ve semptomatolojilerine yönelik sorgulandı ve negatif olanlar arasından bağ dokusu hastalığı olanlar, aktif malignitesi olanlar ve inflamatuvar hastalıkları olanlar kontrol grubuna alınmadı.

Çalışmaya alınma kriterleri

- İTP tanısı almış olmak
- 18 yaşından büyük olmak
- Gönüllü olarak onam formunu imzalamış olmak
- Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olmak

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri

- Çalışmaya onam vermemek
- 18 yaşından küçük olmak
- Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olmamak

Çalışma başlangıcında hastalardan gönüllü onam formu alındıktan sonra hastalara ait veriler hasta dosyalarından elde edildi. İTP hastalarının ve kontrollerin ön kolundan EDTA lı tüplere alınan 10 ml venöz kandan aynı gün DNA izolasyonu

GENERATION® Capture Column Kit (DNA Purification Kit) GC- 0300 ile yapıldı. İzolasyon sonrasında genetik materyal çalışılana kadar -20°C'de saklandı. DNA'larda homojen bir dağılım sağlandıktan sonra örnekler 1:50 oranında sulandırıldı. Optik yoğunlukları 260 nm'de spektrofotometrede ölçülerek stoklardaki DNA miktarları tayin edildi. Elde edilen değerlere göre tüm DNA örneklerinin son konsantrasyonu 30 ng/µl olacak şekilde DNA sulandırımları hazırlandı. Böylece PZR ile çoğaltılacak tüm DNA'ların konsantrasyonları eşitlenmiş ve stoklar korunmuş oldu. DNA'ların protein oranını belirlemek için de 280 nm'de ölçüm yapıldı. 260/280 nm oranının 1,5 ve üzeri olmasına dikkat edildi.

DNA izolasyonunu takiben MEFV geninin 10. Exon'unda bulunan altı ayrı mutasyon (M694V, M680I, V726A, A744S, R761H ve M694I) ARMS (Amplification Refractory Mutation System); 2. Exon'da bulunan E148Q mutasyonunun sıklığı ve gen frekansı PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism)yöntemi ile araştırıldı.

3.2.Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), DNA nın özgül hedef dizilerinin doğrudan çoğaltılmasına dayanır. Bu yöntemin uygulanabilmesi için çok küçük miktarlardaki DNA'nın varlığı yeterlidir. PCR ile belirli bir bölgeyi çoğaltabilmek için, hedef DNA'nın nükleotid dizini hakkında bazı bilgiler gerekir. Bu bilgi, tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanacak olan iki oligonükleotid primerin sentezi için kullanılır. Bu primerler, çoğaltılacak tek zincirli DNA molekülündeki karşılık gelen (tamamlayıcı) dizilerle hibridize olur. Isıya dayanıklı bir DNA polimeraz (Taq polimeraz), çalışılan DNA'daki hedef bölgenin kopyasının sentezini sağlar. PCR reaksiyonunda üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış ürünün miktarı, teorik olarak, bu üç adımın tekrarlanma sayısına bağlıdır:

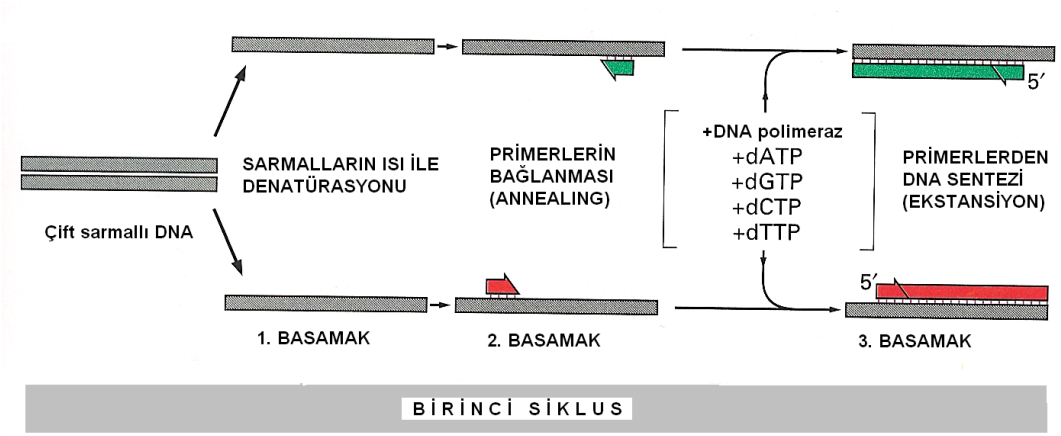
1. DNA'nın tek zincirli hale getirilmesi (denaturation): İlk adımda, çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. Bu amaçla çift zincirli DNA, tek zincir haline gelene kadar ısıtılır (90-95ºC'de, yaklaşık 5 dakika süreyle).

2. Primerlerin bağlanması (annealing): Sıcaklık 50 ilâ 70ºC arasında bir yere düşürülür ve primerlerin tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya özgül bağlanması sağlanır. Bu primerler yapay olgonükleotidlerdir (15-30 nükleotit uzunluğunda) ve

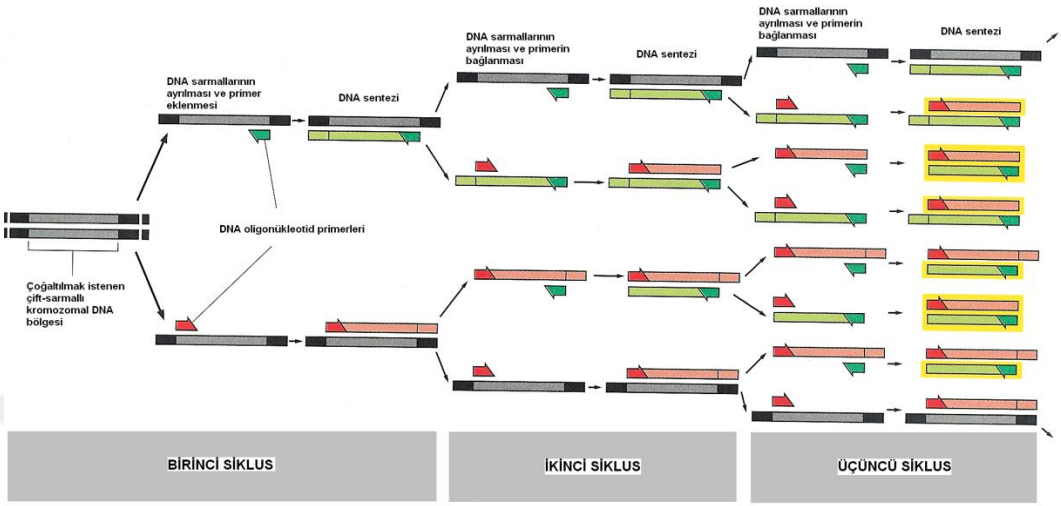
çoğaltılacak DNA kısmının uçlarındaki tamamlayıcı dizilere özgül olarak bağlanır. Bu primerler, kalıp DNA'nın sentezi için başlangıç noktası olarak görev yaparlar.

3. DNA sentezi (extension): DNA polimerazın ısıya dayanıklı bir şekli (sıcak su kaynaklarında yaşayan bir bakteriden elde edilen enzim (Taq polimeraz), reaksiyon karışımına ilâve edilir ve DNA sentezi 70 ilâ 75ºC arasındaki sıcaklıklarda gerçekleşir. Polimeraz enzimi nükleotidleri 5' den 3' ne doğru ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar ve hedef DNA'nın tek zincirli kopyalarını oluşturur.

Bu üç basamaktan oluşan reaksiyon seti-çift zincirli DNA nın tek zincirli hale getirilmesi (denatürasyon), primerlerin bağlanması (annealing) ve polimeraz enzimi ile zincirin uzaması (extension)-bir döngü olarak ifade edilir. PCR bir zincir reaksiyonudur, çünkü yeni DNA zincirlerinin sayısı her döngüde iki katına çıkar ve yeni zincirler bir sonraki döngüde kalıp görevi görürler. Bir döngü 4-5 dakika sürer ve 25-30 kere tekrar edilir. Bu döngüler sonucunda DNA miktarında yaklaşık bir milyon kez artma olur. İşlem, thermocycler (ısı döngü cihazı) denilen makinelerde, önceden döngü sayısı ve sıcaklıkları belirlenen programlarla, otomatik olarak gerçekleştirilir. Bu yöntem ile; klonlama, dizi analizi, klinik tanı ve genetik taramalar gibi diğer işlemlerde kullanmak üzere bol miktarda hedef DNA fragmentleri elde edilebilir (



Şekil 1. PCR reaksiyonuna ait denatürasyon, primerlerin bağlanması ve DNA sentez aşamaları



Şekil 2. PCR tekniği ile DNA'nın çoğaltılması

3.2.1. Amplification Refractory Mutation System (ARMS) PCR

M694V, M680I, V726A, A744S, R761H, M694I mutasyonlarını taramak için kullanılacak ARMS PCR yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemin prensibi gereği aralarındaki tek fark 3'OH ucundaki (son) tek nükleotid olan iki ileri primer sentezlenir. Bu son nükleotid mutasyonun meydana geldiği noktadır. Mutasyona spesifik primerde son nükleotid mutant diziye doğal tipde ise normal diziye komplementerdir. Taq Polimeraz polimerzasyon işlemini primerlerin 3'OH ucundaki nükleotidlerin kendilerine spesifik dizilere bağlanmasıyla yapabilir. Başka bir deyişle mutant primer ile ancak mutasyon varlığında normal primer ile de ancak normal dizi varlığında PCR pozitif amplifikasyon bandı elde edilir. Bu nedenle her hasta örneği için birbirini tamamlayıcı mutant ve normal diziye spesifik iki PCR uygulanmıştır. Bu iki PCR reaksiyonda kullanılan geri primerler ortakdır. Normal pirmer ile yapılan PCR aynı zamanda PCR koşullarının çalıştığını gösteren internal kontrol olarak da vazife görmektedir. Bu iki PCR sonunda sadece mutasyona spesifik primer setiyle yapılan PCR ürünü çoğalmışsa bu hasta için homozigot eğer her iki reaksiyon sonucunda da PCR ürünü elde ediliyorsa taşıyıcı olarak değerlendirilir. Elde edilen DNA bantları %2lik standart agoroz jelde etidyum bromür varlığıyla

transillüminatörde poloroid film kullanılarak görüntülenir. PCR sırasında kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak amacıyla önerilen tüm önlemler alınmıştır.

Nükleotid Dizisi Değişiklikleri Tespitinde DNA'nın Enzimatik Kesimi

Restriksiyon endonükleazları (RE), çift iplikli sarmal DNA'da özel nükleotid dizilerini tanıyan ve DNA'nın her iki ipliğini kesen enzimlerdir. Bakterilerde bulunan bu enzimler DNA'da özgün kısa dizileri tanırlar ve kesme işlemini, enzime göre değişmek üzere, tanıma yerinde veya bu yerin dışında başka özel bir dizide gerçekleştirirler. Kesim sonucunda farklı DNA fragmentleri oluşur. RE ile kesim sonucu elde edilen DNA parçalarının kontrolü, boyları bilinen standart DNA fragmentleri (ladder) ile karşılaştırılarak jel elektroforezi ile yapılmaktadır. PCR-RFLP (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphisms-Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri) adı verilen bu yöntemle PCR ile çoğaltılan hedef DNA bölgesi RE ile muamele edilerek farklı kesim özelliklerine sahip farklı alellerin tayini yapılabilmektedir.

ARMS Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Amplifikasyon işlemi reaksiyon hacmi 100 µl olacak şekilde karışıma; 0,2 mM dNTP, 1,5 mM MgCl2, 1X PCR tamponu 1 U Taq polimeraz enzimi (MBI Fermentas) 0.01µM ileri ve geri primer PCR karışımına eklendi. Hazırlanan karışıma 2'şer µl (100 ng) DNA eklenerek termal döngü cihazına (Biometra) yerleştirildi. Termal döngü ısıları; başlangıç denatürasyon için 95ºC'de 5 dakika, 35 döngü için 94ºC'de 1 dakika, 60ºC'de 1 dakika, 72ºC'de 1 dakika ve son uzama için 72ºC'de 2 dakikaydı. Olası DNA kontaminasyonunu değerlendirmek için her deneyde DNA içermeyen negatif kontrol kullanıldı.

Elde edilen PCR ürünleri 0,5 X TBE tamponu (Tris-Borik asit-EDTA) içinde etidyum bromür (EtBr) içeren %1,2'lik agaroz jelde değerlendirildi. PCR ürününün 8 µl'si ile 2 µl yükleme tamponu karıştırıldı ve jel kuyularına yüklendi. Elektroforezde 100 volt'da 20 dakika süre ile elektrik akımı uygulandı. PCR ürünlerine ait bantlar uzunluklarına göre birbirinden ayrıldıktan sonra oluşan bantlar transilüminatör

üzerinde ultraviyole ışığı altında değerlendirildi ve fotografları çekilerek bilgisayar ortamında kaydedildi. Kuvvetli ve tek bir bant görüntüsü veren ürünler uygun kabul edildi.

3.2.2. PCR-Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri (Restriction Fragment Length Polymorphisms-PCR-RFLP)

E148Q allelerini saptamak için BstNI (Roche, Manheim, Germany) enzimi kullandı. E148 alleli varlığında 150 bazçifti (bç); Q alleli varlığında ise 93 bç, 64 bç oluşan bir kesim paterni verecektir. RFLP deneyinde 10 µl PCR ürünü, 1 µl (10 U) RE, 2 µl RE tamponu ve 7 µl steril su ile toplam 20 µl hacim içerisinde 37ºC'de gece boyu inkübasyona bırakıldı. Kesim ürünleri, EtBr içeren %2'lik agaroz jel ile elektroforezde 100 volt'da 50 dakika süreyle yürütüldü. Jel ultraviyole ışık altında değerlendirildi.

3.3.İstatistiksel Analiz

3.3.1. Güç analizi

Daha önceki çalışmalarda kullanılan kontrol veri setimizde MEFV mutasyon sıklığı %25, tip I hata 0.05, tip II hata 0.10 ve klinik olarak anlamlı olacak fark %20 alındığında gerekli hasta sayısı 81 olarak hesaplandı.

3.3.2. İstatistik yöntem

Verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Sürekli değişkenler ortanca (aralık), kategorik değişkenler uygunluk durumuna göre ki kare, Yates düzeltmeli ki kare veya Fisher kesinlik testleriyle karşılaştırıldı. Varsayılan riske kadar geçen süre Kaplan Meier yöntemiyle hesaplandı, Log-Rank testiyle karşılaştırıldı. Hazard oranları Cox-Oransal Hazard Modeli ile hesaplandı.

4. BULGULAR

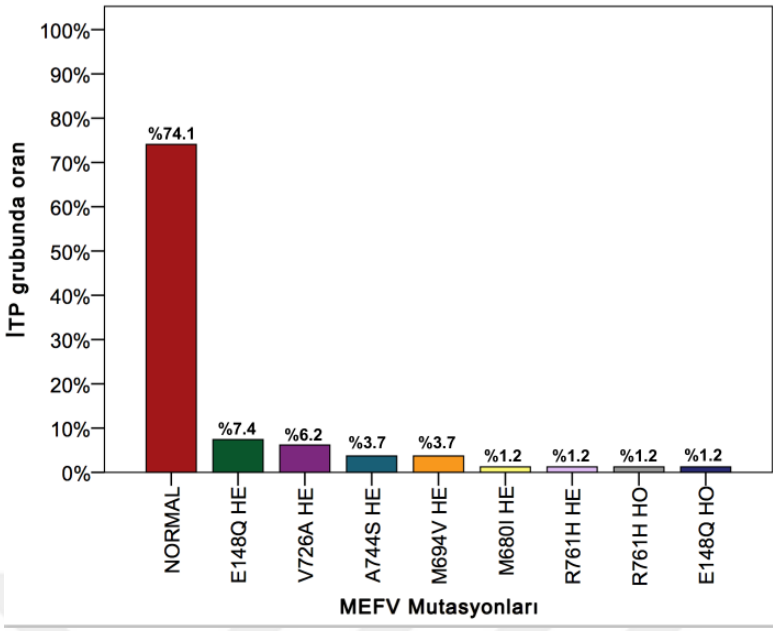
Çalışmaya alınan 81 hastadan 61'i kadın (%75.3), 20'si erkekti (%24.7). Kontrol grubunda ise 186 hastanın 98 tanesi kadın (%52.7) ve 88 tanesi erkekti (%47.3). İTP grubunda hastaların ortanca yaşı 50 (21-79), kontrol grubunda ise 56 (24-76) saptandı. MEFV mutasyon varlığı açısından analiz edildiğinde ise İTP grubunda 21 (%25.9) ve kontrol grubunda 46 (%24.7) hastada mutasyon saptanmış olup, gruplar arasında fark gözlenmedi (**p=0.963**) (Tablo 1). İki adet hastanın mutasyon durumu bilinirken aldıkları tedavilere ulaşılamadı ve bu hastalar tedavi analizlerine dahil edilmedi.

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri ve MEFV mutasyon sıklıkları

Değişken	İTP (n=81)	Kontrol (n=186)
Yaş, yıl		
Ortanca (aralık)	50 (21-79)	56 (24-76)
Cinsiyet, kadın, n (%)	61 (75.3)	98 (52.7)
MEFV gen mutasyonu, n (%)	21 (25.9)	46 (24.7)

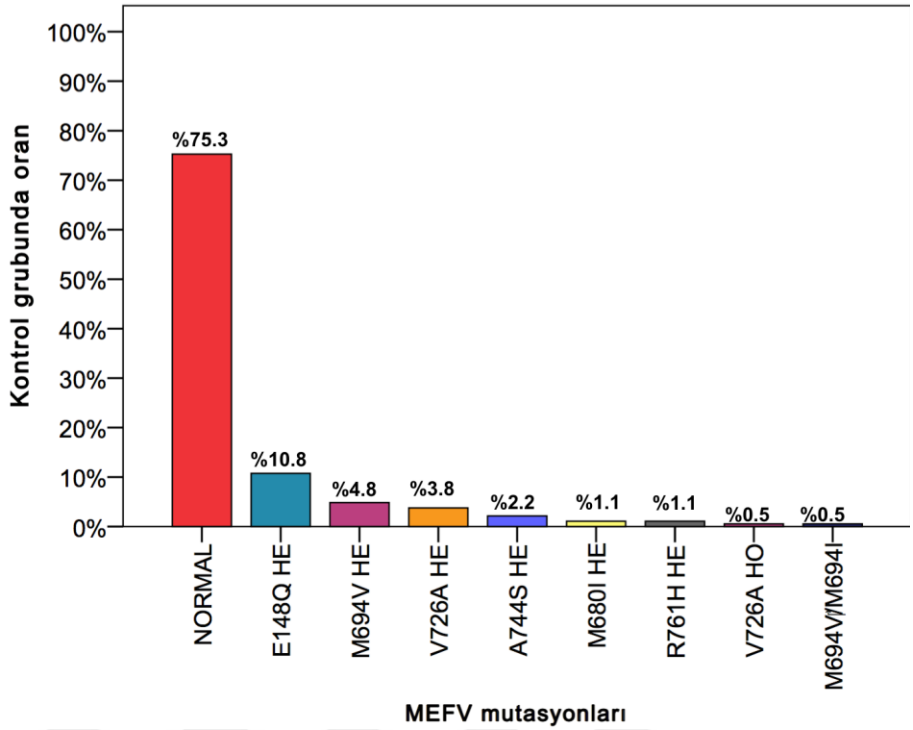
Tablo 1. İTP, immün trombositopeni

İmmun trombositopeni grubunda 58 (%71.6) hastada MEFV mutasyonu saptanmazken, E148Q HE (heterozigot) mutasyonu 6 (%7.4) hasta ile en sık saptanan mutasyon oldu. Bir hastada E148Q ve bir hastada da R761H mutasyonlarının homozigot formu saptandı. Diğer mutasyonlara ait veriler Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. İTP grubunda MEFV mutasyonları

Kontrol grubunda ise mutasyon saptanmayan katılımcı sayısı 140'tı (%75.3). Toplam 46 gönüllüde mutasyon saptanmıştır. E148Q 20 gönüllüde (%10.8) ile en sık saptanan mutasyon olmuştur. Bir hastada V726A homozigot mutasyonu saptanmış ve bir hastada ise M694V/M694I birleşik heterozigot formu saptanmıştır. Diğer mutasyonlar ve sıklıkları ise Şekil 4'de özetlenmiştir.



Şekil 4. Sağlıklı katılımcılarda MEFV mutasyonları

İmmun trombositopeni grubu kendi içerisinde mutasyon varlığına göre mutasyon (+) ve mutasyon (-) olarak sınıflanmış ve mutasyon varlığının demografik ve klinik değişkenlerle olan ilişkisi analiz edilmiştir. Yaş, cinsiyet, tanı anında trombosit sayısı, uygulanan tedavi sayısı, steroide yanıt oranları, splenektomize hasta oranı, splenektomiye yanıt oranları, steroide primer direnç varlığı, steroid yanıt kaybına kadar geçen süre ve splenektomi yanıt kaybına kadar geçen süre analiz parametreleri olarak iki grupta karşılaştırıldı (Tablo 2).

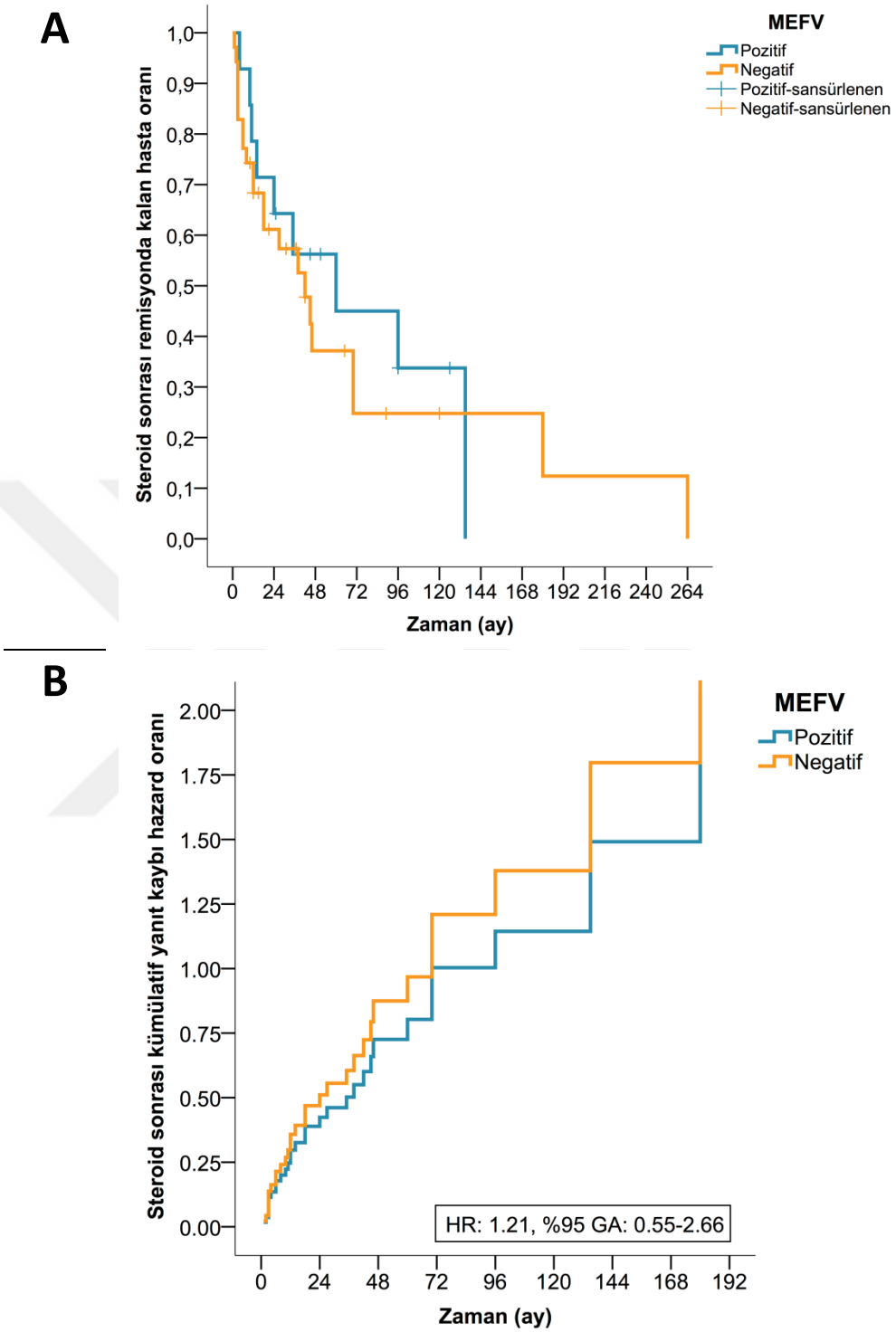
Tablo 2. İTP tanılı hastalarda MEFV mutasyonunun demografik ve klinik değişkenlerle ilişkisi

Değişken	MEFV^{poz} (n=21)	MEFV^{neg} (n=60)	P
Yaş, ortanca (aralık), yıl	48 (26-69)	51 (21-79)	0.93
Cinsiyet, kadın, n (%)	13 (65.0)	47 (78.3)	0.37
Tanı anında trombosit sayısı, ortanca (aralık) (/µL)	42.5 (10-115)	23 (3-112)	0.10
İTP tedavi sayısı, ortanca (aralık)	1 (0-5)	1.5 (0-9)	0.78
Steroid yanıt oranları, n (%)	18 (94.7)	48 (82.8)	0.28
Splenektomi yapılma oranları, n (%)	7 (33.3)	22 (37.9)	1.00
Splenektomi yanıt oranları, n (%)	6 (85.7)	15 (68.2)	0.64
Steroide primer direnç, n (%)	1 (7.1)	10 (21.7)	0.47
Steroid: yanıt kaybına kadar geçen süre, ortanca (aralık), ay	60 (0-124.3)	42 (19.2-64.8)	0.64
Splenektomiye kadar geçen süre, ortanca (aralık), ay	101 (42.5-159.5)	51 (46.0-56.0)	0.48
Splenektomi: yanıt kaybına kadar geçen süre, ortanca (aralık), ay	38 (0-90.9)	54 (14.9-93.1)	0.42

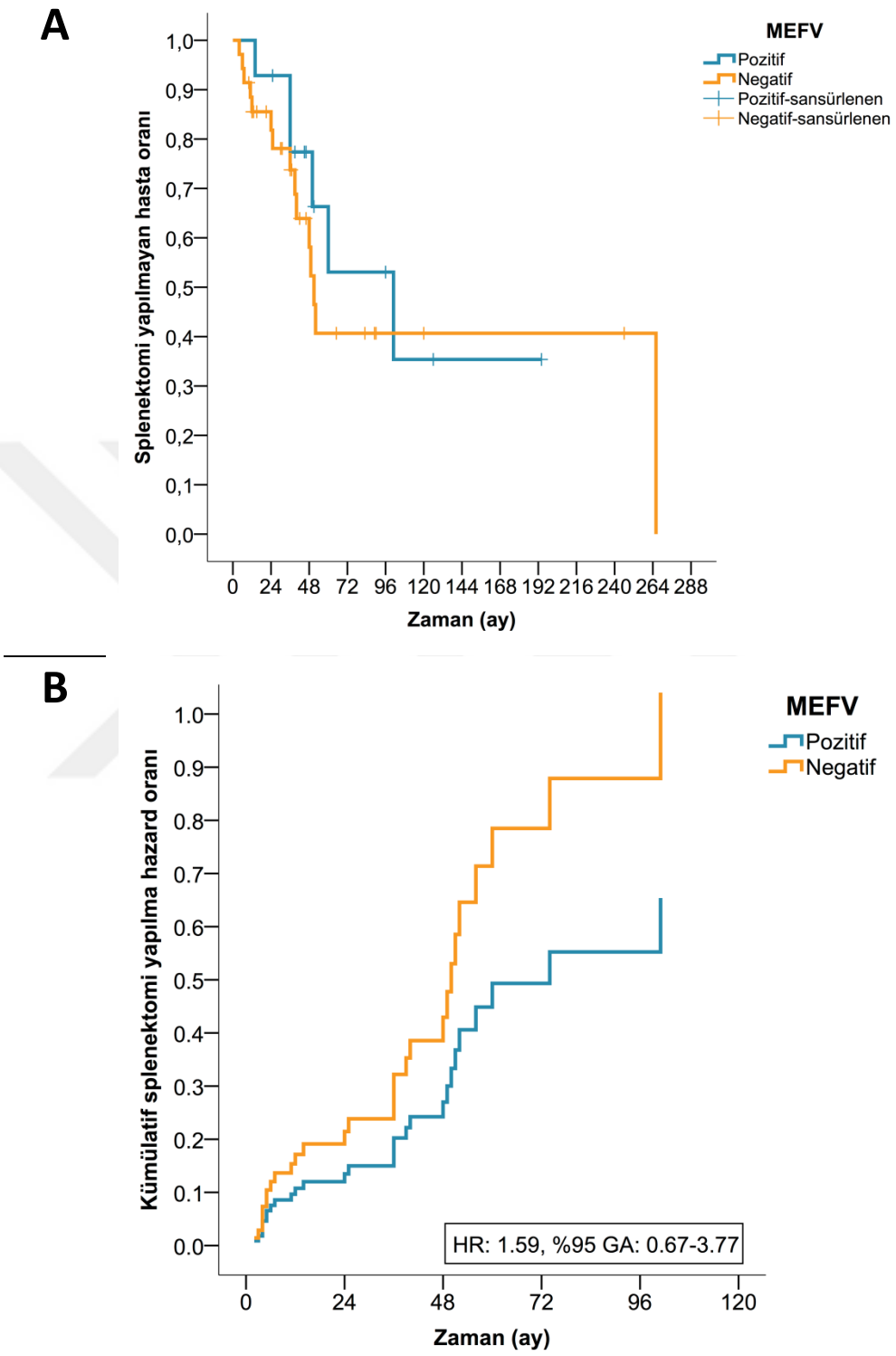
Tablo 2. İTP, immün trombositopeni

Hastalar ilk basamak tedavi olan steroid tedavisine yanıt oranı mutasyon (+) grupta %94.7 iken, mutasyon (-) grupta %82.8 bulunmuştur (p=0.28). Hastalardan mutasyon taşıyanların steroid tedavisi sonrası yanıt kaybına kadar geçen süre ortanca 60 (0-124.3) ay saptanmıştır. Bu değer mutasyon taşımayan grupta ise ortanca 42 (19.2-64.8) ay saptanmıştır (p=0.64). Hastaların steroid tedavisine yanıt oranları ve kümülatif yanıt kaybı hazard oranları Şekil 5'te verilmiştir.

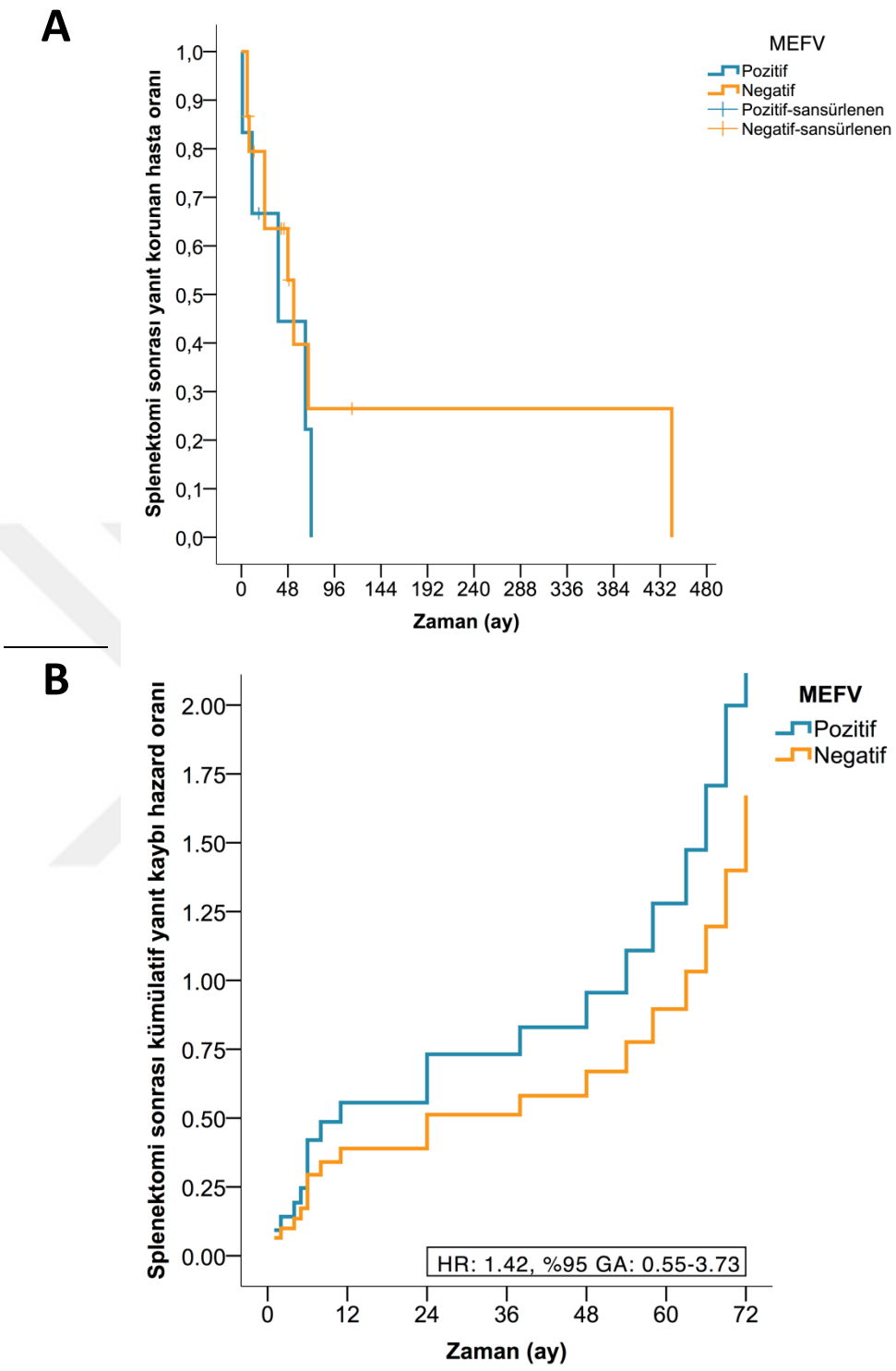
Mutasyon (+) 7 hastaya (%35) splenektomi yapılmış ve 6 hasta (%85.7) splenektomiye yanıt vermiştir. Mutasyon taşımayan grupta ise 22 hastaya (%37.9) splenektomi yapılmış ve 15 hasta (%68.2) splenektomi ile remisyona girmiştir. Mutasyon (+) grupta splenektomiye kadar geçen süre ortanca 101 (42.5-159.5) ay iken mutasyon negatif grupta 51 (46.0-56.0) ay olarak saptanmıştır. Splenektomi sonrası yanıt kaybına kadar geçen süre ise mutasyon (+) grupta ortanca 38 (0-90.9) ay iken mutasyon (-) grupta ise ortanca 54 ay (14.9-93.1) ay olarak saptanmıştır. Splenektomi sonrası yanıt kaybı analizleri Şekil 6 ve 7'de sunulmuştur.



Şekil 5. Panel A'da İTP'de MEFV mutasyonu varlığının steroid sonrası yanıt süresi üzerine etkisi, panel B'de tedavi sonrası kümülatif yanıt kaybı hazard oranı üzerine etkisi gösterilmiştir



Şekil 6. Mutasyon varlığının splenektomi gereksinimi üzerine etkisi



Şekil 7. Mutasyon varlığının splenektomi sonrası yanıt kaybı üzerine etkisi

5. TARTIŞMA

İmmun trombositopeni, çocuklarda ve erişkinlerde geçici veya kalıcı trombositopeni ile seyreden, sık görülen akkiz otoimmun bir hastalıktır. Erişkinlerde izole trombositopeninin en sık sebebidir. Trombositopeninin derecesine göre artmış kanama riski hastalığın korkulan komplikasyonlarındandır (2, 160). Hastalık patogenezinde trombositlere karşı gelişen otoantikorların trombositlerin yüzeyine bağlanarak retikülo-endotelyal sistem elemanları olan makrofajlar ve dentritik hücrelerce trombositlerin dolaşımdan kaldırılması şeklinde olduğu uzun süre kabul edilen mekanizma olmuştur (12, 37). Son zamanlarda yapılan patofizyolojik çalışmalar neticesinde sadece humoral immunitenin değil aynı zamanda hücresel immunitenin de patofizyolojide önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Hücresel immunite elemanları arasındaki denge değişikliklerinin olasılıkla antijen sunumunu kuvvetlendirerek İTP patogenezinde artmış antikor yanıtına , hatta antikor yokluğunda bile relapslara neden olabildiği gösterilmiştir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, hücresel immün sisteme ait Th1/Th2 lenfositleri arasındaki dengenin, proinflamatuvar bir ortam oluşturan Th1 lehine değiştiği ve T helper lenfosit ailesinin proinflamatuvar özellikli üyesi olan Th17 T lenfositlerin sayısının arttığı, bunun da İTP patogenezinde önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir.(6, 15, 18, 48, 53, 58, 66).

Ailesel Akdeniz Ateşi serozal yüzeyler olan plevra, periton ve sinoviumun bir veya birkaçının tutulumu ile giden, bu tabloya ateş yüksekliğinin ve akut faz yüksekliğinin eşlik ettiği otoinflamatuvar karakterde otozomal resesif kalıtım özelliği gösteren bir hastalıktır (161). Hastalık ilişkili MEFV geni mutasyonlarının sağlıklı popülasyonda da bulunduğu bilinmektedir. Ülkemizde sağlıklı taşıyıcılık oranı yaklaşık %20 olarak bildirilmiştir. Ancak ülkemiz içinde de bölgesel dağılımlarının farklı olduğu gösterilmiştir (28, 162). Sağlıklı taşıyıcı bireylerde, bu mutasyonu taşımayan bireylere göre inflamatuvar parametrelerin daha yüksek olduğu ve subklinik inflamasyonun devam ettiği de anlaşılmıştır (163). MEFV geni tarafından kodlanılan pyrin/marenostrin proteinin başlıca nötrofillerde, monositlerde, dentritik hücrelerde ve dalak olmak üzere insan vücudunda yaygın olarak eksprese edildiği gösterilmiştir. Pyrin genindeki mutasyonların nötrofillerde, monositlerde ve diğer

RES elemanlarında doğrudan aktivite artışına neden olabileceği ve mutant pyrin proteinin NLRP3 aracılı proinflamatuvar bir ortam oluşturması sonucunda ortamda artan IL-1β seviyelerinin Th17 T lenfositlerini polarize ederek sayısının artmasına yol açtığı bilinmektedir (35).

Çalışmamızda, MEFV geninin hücresel aracılıklı hümoral immünite üzerindeki etkisinden yola çıkarak İTP'deki otoimmünite ile ilişkisini ve mutasyon varlığının demografik ve klinik parametreler üzerindeki olası etkisi araştırılmış ve İTP grubunda MEFV mutasyon sıklığının, hasta kontrol grubundan istatistiksel olarak farklılık göstermediği saptanmıştır. MEFV mutasyonu saptanan İTP'li hastalarda ki demografik ve klinik özelliklerin mutasyon taşımayanlar ile benzer olduğu belirlenmiştir. Değerlendirilen tüm klinik ve demografik parametrelerde her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamış olmasına karşın mutasyon taşıyan grubun birinci basamak steroid tedavisine yanıt verme oranlarının daha yüksek ve steroid tedavisi sonrası yanıt kaybına kadar geçen sürenin kontrol grubuna göre belirgin olarak daha uzun olma eğilimi taşıdığı , splenektomiye kadar geçen sürenin de daha uzun olma eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir.

Mutasyon taşıyan grupta splenektomi sonrası yanıt kaybına kadar geçen sürenin mutasyon taşımayan gruba göre daha kısa olduğu gözlemlenmiştir. Kumar ve ark. 140 splenektomize hastayı uzun dönem takip etmişler ve hastaların beş yıllık relapssız sağ kalımlarını %75 civarında saptamışlar, ayrıca steroid tedavisine yanıtın splenektomi sonrası süreçte remisyonda kalım açısından iyi bir prediktör olduğunu göstermişlerdir (164). Kojouri ve ark. literatürde splenektomi uygulanan İTP hastaları ile yapılan bildirimlerden yaptıkları sistematik derlemede splenektomi uygulanan hastaların yanıt prediktörlerinden birinin splenektomi öncesi steroid tedavisine yanıt olduğunu göstermişlerdir (165). Çalışmamızda mutasyon taşıyan hasta grubunun steroid tedavisine yanıtlarının belirgin olarak daha iyi olmasına karşın splenektomi sonrası relaps sürelerinin daha kısa olması, altta yatan subklinik inflamasyonun immünolojik sistem üzerinde ki uyarıcı etkilerinin retiküloendotelyal sistem elemanları olan monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler üzerinde devam etmesi ve dolaylı yoldan hücresel immünitenin dengesinin proinflamasyona kayması ile açıklanabilir.

Halen literatürde İTP ve MEFV ilişkisini değerlendiren başka bir çalışma bulunmamaktadır. Splenektomi sonrası daha erken relaps eğiliminin MEFV mutasyonu taşıyan İTP hastalarında hangi mekanizma ile geliştiğini dolaylı olarak daha önce yapılmış olan ve benzer seyirli otoimmun hastalıklar olan SLE, RA, Crohn hastalığı, ÜK ve MS gibi hastalıklarda yapılan MEFV mutasyonu varlığına yönelik çalışmaların sonuçlarını incelemeyi gerektirmektedir.

Otoimmun bir hastalık olan sistemik lupus eritematozus hastalığına yönelik Shinar ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada MEFV mutasyonunun proinflamatuvar bir ortam oluşturmasından hareketle 70 hastalık bir SLE kohortunda mutasyon sıklığının saptanması ve mutasyon varlığının organ tutulumuna etkisi araştırılmıştır. Mutasyon taşıyan hastalarda ateş ve plörit atakları taşımayan gruba göre daha sık saptanmış ve bu süregelen kronik inflamasyonla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca yine bu hasta grubunda renal tutulum wild tip MEFV taşıyanlara göre daha az bulunmuş bu taşıyıcı grubun kanlarında yüksek seviye de bulunan SAP ve CRP'nin otoantikorları yıkıma uğratarak renal koruma sağladığı şeklinde açıklanmıştır (34).

Rabinovich ve ark. romatoid artrit hastalığında hastalık ile ilişkilendirilen genlerden bir tanesinin MEFV geninin olduğu kromozomda lokalize olması ve her iki hastalıkta da sinoviyal inflamasyonun bulunmasından hipotezle 98 romatoid artrit hastası ile 100 sağlıklı kontrol grubu üzerinde bir araştırma yapmışlardır. Hasta ve gönüllü grupta mutasyon sıklığı açısından anlamlı fark saptamamalarına rağmen mutasyon taşıyan grupta kendi geliştirdikleri skorlama sistemine göre hastalığın daha şiddetli seyrettiği; yaş, cinsiyet, hastalık süresi ve romatoid faktör seviyeleri her iki grupta benzeştirildiğinde mutasyon varlığında hastalık şiddeti skorunun 15 kat daha fazla olduğunu göstermişlerdir (30).

Dayer ve ark. romatoid artritli hasta grubunda IL-1β seviyelerinin daha fazla olduğunu saptamışlardır. AAA hastalığı tedavisinde IL-1β'ya yönelik geliştirilen anakinra etken maddeli ilacın romatoid artrit hastalarında eklem destruksiyonunu ve hastalık şiddetini azaltmada etkin olduğu gösterilmiştir. Robinovich ve ark. bu durumun mutant pyrin proteinin IL-1β seviyelerinde ki artışı ile ilişkili olduğunu düşünmektedirler (166).

Fidder ve ark. Crohn Hastalığı ve AAA'nın her ikisinin de inflamatuvar hastalıklar olmasından, Crohn hastalığı ile ilişkilendirilen genin 16. kromozomun

kısa kolunda lokalize olmasından, mutant pyrin geninin etkilerinin nötrofillerde en belirgin olmasının gastrointestinal mukozal harabiyetle ilişkisi olmasından hareketle 105 Crohn hastasında mutasyon taraması yapmışlar, mutasyon varlığında hastalığın seyrinde intestinal striktür gelişiminin 4 kat daha fazla olduğu, hastalığın ekstraintestinal komplikasyonlarının daha sık olduğunu saptamışlardır. Ancak mutasyon varlığının Crohn hastalığı açısından predispozan bir faktör olmadığını belirtmişlerdir (33).

Giaglis ve ark. ülseratif kolit ve AAA'nın benzer epizodik ataklarla seyreden hastalıklar olması, ülseratif kolitte olan mukozal inflamasyonun nötrofil hakimiyetinde olmasından dolayı ve her iki hastalıkta da IL-1β ve NF-κB aktivitesinin artmış olmasından hipotezle 25 ülseratif kolit, 65 sağlıklı kontrol, 28 romatoid artrit ve 15 AAA hastasından oluşan bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmanın sonucunda ülseratif kolit grubunda mutasyon oranı %28 saptanmış ve bu oranın sağlıklı kontrol grubu ve romatoid artrit grubundan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak hastalık seyri ile ilişkisi sadece ülseratif kolit grubunda epizodik artrit yaşayanlarda anlamlı çıkmıştır (154).

Shinar ve ark. tarafından otoimmun bir hastalık olan multipl skleroz hastalığının relaps ve remisyonlarla giden formunun AAA hastalığının seyrine benzediği hipotezinden yola çıkılarak 144 MS hastası üzerinde MEFV mutasyon sıklığını araştırdıkları bir çalışmada MEFV mutasyon varlığının MS açısından predispozan bir faktör olmadığını ancak özellikle de mutant kısmın M694V olmasının Aşkenaz olmayan Yahudiler'de MS progresyonunun daha hızlı olduğunu ve hastalık ilişkili disabilitenin daha çok oluştuğunu göstermişlerdir (32).

Literatürde yer alan daha önceki çalışmaların bir kısmında MEFV mutasyonu prevalansı kontrol gruplarına göre daha yüksek sıklıkta saptanmış, bir kısmında ise MEFV mutasyonlarının prevalansı kontrol grubuna benzer oranda saptanmıştır. MEFV prevalansının kontrol gruplarından farklı bulunmadığının bildirildiği hastalıklarda dahi mutasyon varlığının oluşturduğu inflammasyona yatkınlık halinin (proinflamatuar durumun) otoimmun hastalıkların şiddetinin artmasına, ve klinik bulgularının daha gürültülü bir şekilde ortaya çıkmasına, daha yüksek morbiditeye ve hastalık şiddet skorlarına yol açtığı görülmüştür.

Çalışmamız literatürde yer alan ve İTP ile MEFV mutasyonlarının ilişkisini inceleyen ilk çalışmadır. Her ne kadar demografik parametreler ve hastalık şiddeti üzerine etkili parametrelerin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilemese de mutasyon taşıyan hasta grubunun kortikrosteroid tedavisine daha iyi yanıt verdikleri, daha uzun süre remisyonda kaldıkları ve dolayısıyla splenektomiye gidiş süresinin daha uzun olduğu ancak splenektomi sonrası relaps süresinin daha kısa olduğu gözlemlenmiştir. Splenektomi sonrasında relapsın MEFV mutasyonu taşıyan İTP hastalarında daha erken gelişmesi ve yine MEFV taşıyan İTP hastalarında birinci basamakta uygulanan steroid tedavisine iyi yanıt vermiş olmaları, daha önce literatürde yer alan ve iyi steroid yanıtının splenektomi sonrası remisyonun iyi prediktörü olarak tanımlanması ile çelişmektedir. Ancak bu çalışmalarda hastalar MEFV mutasyonlarının varlığına göre tabakalandırılmamışlardır. MEFV mutasyonalarının varlığı porinflamatuar bir durum yarattığından iyi steroid yanıtına rağmen relaps gelişen ve splenektomi uygulanan hastalarda, splenektomi sonrası steroid tedavisi kesildiğinden, proinflamatuar durum humoral immunitenin olasılıkla daha erken tetiklenmesine ve MEFV mutasyonu taşıyan hastalarda splenektomi sonrasında relapsın daha erken gelişmesine neden olmaktadır. Bu bulgu, ülkemiz gibi FMF hastalığının ve MEFV mutasyon taşıyıcılığının yüksek prevalansta olduğu ülkelerde İTP ve olasılıkla otoimmun mekanizmaların rol aldığı diğer hematolojik hastalıkların tedavisinde tedavi yanıtını değiştiren faktörler açısından MEFV mutasyon varlığının göz önünde bulundurulması gerektiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda saptanan MEFV mutasyonu taşıyan İTP hastalarında splenektomi sonrası hızlı ve sık relaps eğiliminin, istatistiksel olarak anlamlı olabileceği ancak çalışmamıza alınan hasta sayılarının olasılıkla bu eğilimi güçlü bir şekilde gösteremediği düşünülebilir. Daha geniş hasta grupları ile yapılacak, çok merkezli çalışmalar bulgularımızın tekrarlanması açısından önem taşımaktadır.

6. KAYNAKLAR

1. Provan D, Stasi R, Newland AC, Blanchette VS, Bolton-Maggs P, Bussel JB, et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. Blood. 2010;115(2):168-86.
2. 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.
3. Frederiksen H, Schmidt K. The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults increases with age. Blood. 1999;94(3):909-13.
4. Neylon AJ, Saunders PW, Howard MR, Proctor SJ, Taylor PR. Clinically significant newly presenting autoimmune thrombocytopenic purpura in adults: a prospective study of a population-based cohort of 245 patients. British journal of haematology. 2003;122(6):966-74.
5. Cohen YC, Djulbegovic B, Shamai-Lubovitz O, Mozes B. The bleeding risk and natural history of idiopathic thrombocytopenic purpura in patients with persistent low platelet counts. Archives of internal medicine. 2000;160(11):1630-8.
6. 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. Nature medicine. 2003;9(9):1123-4.
7. 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.
8. McMillan R, Wang L, Tomer A, Nichol J, Pistillo J. Suppression of in vitro megakaryocyte production by antiplatelet autoantibodies from adult patients with chronic ITP. Blood. 2004;103(4):1364-9.
9. Houwerzijl EJ, Blom NR, van der Want JJ, Esselink MT, Koornstra JJ, Smit JW, et al. Ultrastructural study shows morphologic features of apoptosis and para-apoptosis in megakaryocytes from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood. 2004;103(2):500-6.
10. Zhang F, Chu X, Wang L, Zhu Y, Li L, Ma D, et al. Cell-mediated lysis of autologous platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. European journal of haematology. 2006;76(5):427-31.
11. Cines DB, Bussel JB, Liebman HA, Prak ETL. The ITP syndrome: pathogenic and clinical diversity. Blood. 2009;113(26):6511-21.
12. Semple JW, Provan D, Garvey MB, Freedman J. Recent progress in understanding the pathogenesis of immune thrombocytopenia. Current opinion in hematology. 2010;17(6):590-5.
13. Najaoui A, Bakchoul T, Stoy J, Bein G, Rummel MJ, Santoso S, et al. Autoantibody-mediated complement activation on platelets is a common finding in patients with immune thrombocytopenic purpura (ITP). European journal of haematology. 2012;88(2):167-74.
14. Wang T, Zhao H, Ren H, Guo J, Xu M, Yang R, et al. Type 1 and type 2 T-cell profiles in idiopathic thrombocytopenic purpura. Haematologica. 2005;90(7):914-23.

15. Panitsas FP, Theodoropoulou M, Kouraklis A, Karakantza M, Theodorou GL, Zoumbos NC, et al. Adult chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) is the manifestation of a type-1 polarized immune response. Blood. 2004;103(7):2645-7.
16. Sakakura M, Wada H, Tawara I, Nobori T, Sugiyama T, Sagawa N, et al. Reduced Cd4+ Cd25+ T cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Thrombosis research. 2007;120(2):187-93.
17. Hu Y, Ma D-x, Shan N-n, Zhu Y-y, Liu X-g, Zhang L, et al. Increased number of Tc17 and correlation with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. PLoS One. 2011;6(10):e26522.
18. Zhang J, Ma D, Zhu X, Qu X, Ji C, Hou M. Elevated profile of Th17, Th1 and T cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. Haematologica. 2009;94(9):1326.
19. Hu Y, Li H, Zhang L, Shan B, Xu X, Li H, et al. Elevated profiles of Th22 cells and correlations with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. Human immunology. 2012;73(6):629-35.
20. Consortium FF. A candidate gene for familial Mediterranean fever. Nature genetics. 1997;17(1):25.
21. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. Arthritis and rheumatism. 1997;40(10):1879-85.
22. Kastner D, Aksentijevich I. Intermittent and periodic arthritic syndromes. Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology. 2005;1:1279-306.
23. Pras E, Aksentijevich I, Gruberg L, Balow Jr JE, Prosen L, Dean M, et al. Mapping of a gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. New England Journal of Medicine. 1992;326(23):1509-13.
24. The International FMFC. Ancient Missense Mutations in a New Member of the RoRet Gene Family Are Likely to Cause Familial Mediterranean Fever. Cell. 1997;90(4):797-807.
25. Touitou I. The spectrum of familial Mediterranean fever (FMF) mutations. European Journal of Human Genetics. 2001;9(7):473-83.
26. Dundar M, Emirogullari EF, Kiraz A, Taheri S, Baskol M. Common Familial Mediterranean Fever gene mutations in a Turkish cohort. Molecular biology reports. 2011;38(8):5065-9.
27. Stoffman N, Magal N, Shohat T, Lotan R, Koman S, Oron A, et al. Higher than expected carrier rates for familial Mediterranean fever in various Jewish ethnic groups. European Journal of Human Genetics. 2000;8(4):307-10.
28. Yilmaz E, Ozen S, Balci B, Duzova A, Topaloglu R, Besbas N, et al. Mutation frequency of familial Mediterranean fever and evidence for a high carrier rate in the Turkish population. European journal of human genetics. 2001;9(7):553-5.
29. Hesker PR, Nguyen M, Kovarova M, Ting JP, Koller BH. Genetic loss of murine pyrin, the Familial Mediterranean Fever protein, increases interleukin-1beta levels. PLoS One. 2012;7(11):e51105.
30. Rabinovich E, Livneh A, Langevitz P, Brezniak N, Shinar E, Pras M, et al. Severe disease in patients with rheumatoid arthritis carrying a mutation in the Mediterranean fever gene. Annals of the rheumatic diseases. 2005;64(7):1009-14.
31. Atagunduz P, Ergun T, Direskeneli H. MEFV mutations are increased in Behcet's disease (BD) and are associated with vascular involvement. Clinical and experimental rheumatology. 2003;21(4 Suppl 30):S35-7.

32. Shinar Y, Livneh A, Villa Y, Pinhasov A, Zeitoun I, Kogan A, et al. Common mutations in the familial Mediterranean fever gene associate with rapid progression to disability in non-Ashkenazi Jewish multiple sclerosis patients. Genes and immunity. 2003;4(3):197-203.
33. Fidder H, Chowers Y, Ackerman Z, Pollak RD, Crusius JB, Livneh A, et al. The familial Mediterranean fever (MEVF) gene as a modifier of Crohn's disease. The American journal of gastroenterology. 2005;100(2):338-43.
34. Shinar Y, Kosach E, Langevitz P, Zandman-Goddard G, Pauzner R, Rabinovich E, et al. Familial Mediterranean FeVer gene (MEFV) mutations as a modifier of systemic lupus erythematosus. Lupus. 2012;21(9):993-8.
35. Ovadia A, Livneh A, Feld O, Ben-Zvi I, Kukuy E, Kivity S, et al. T helper 17 polarization in familial Mediterranean fever. Genes and immunity. 2013;14(4):212-6.
36. Takeuchi M, Kastner DL, Remmers EF. The immunogenetics of Behcet's disease: A comprehensive review. Journal of autoimmunity. 2015;64:137-48.
37. Stasi R, Newland AC. ITP: a historical perspective. Br J Haematol. 2011;153(4):437-50.
38. Imbach P, Kuhne T, Signer E. Historical aspects and present knowledge of idiopathic thrombocytopenic purpura. Br J Haematol. 2002;119(4):894-900.
39. Watson-Williams E, Macpherson A, Davidson S. THE TREATMENT OF IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA A REVIEW OF NINETY-THREE CASES. The Lancet. 1958;272(7040):221-6.
40. Lo E, Deane S. Diagnosis and classification of immune-mediated thrombocytopenia. Autoimmunity reviews. 2014;13(4):577-83.
41. Ruggeri M, Fortuna S, Rodeghiero F. Heterogeneity of terminology and clinical definitions in adult idiopathic thrombocytopenic purpura: a critical appraisal from literature analysis. Pediatric blood & cancer. 2006;47(S5):653-6.
42. 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.
43. ITP A. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. British journal of haematology. 2003;120(1):574-96.
44. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L, Crowther MA. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. Blood. 2011;117(16):4190-207.
45. Arnold DM, Patriquin C, Toltl LJ, Nazi I, Smith J, Kelton J. Diseases of platelet number: immune thrombocytopenia, neonatal alloimmune thrombocytopenia, and posttransfusion purpura. Hematology: Basic Principles and Practice Philadelphia, Elsevier-Saunders. 2013.
46. Koylu A, Pamuk GE, Uyanik MS, Demir M, Pamuk ON. Immune thrombocytopenia: epidemiological and clinical features of 216 patients in northwestern Turkey. Annals of hematology. 2015;94(3):459-66.
47. Lakshmanan S, Cuker A. Contemporary management of primary immune thrombocytopenia in adults. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2012;10(10):1988-98.
48. Johnsen J. Pathogenesis in immune thrombocytopenia: new insights. ASH Education Program Book. 2012;2012(1):306-12.

49. Asahi A, Nishimoto T, Okazaki Y, Suzuki H, Masaoka T, Kawakami Y, et al. Helicobacter pylori eradication shifts monocyte Fcγ receptor balance toward inhibitory FcγRIIB in immune thrombocytopenic purpura patients. The Journal of clinical investigation. 2008;118(8):2939-49.
50. Liu X-g, Ma S-h, Sun J-z, Ren J, Shi Y, Sun L, et al. High-dose dexamethasone shifts the balance of stimulatory and inhibitory Fcγ receptors on monocytes in patients with primary immune thrombocytopenia. Blood. 2011;117(6):2061-9.
51. Kaveri SV. Intravenous immunoglobulin: exploiting the potential of natural antibodies. Autoimmunity reviews. 2012;11(11):792-4.
52. Peerschke EI, Andemariam B, Yin W, Bussel JB. Complement activation on platelets correlates with a decrease in circulating immature platelets in patients with immune thrombocytopenic purpura. British journal of haematology. 2010;148(4):638-45.
53. Liu X, Hou Y, Peng J. Advances in immunopathogenesis of adult immune thrombocytopenia. Frontiers of medicine. 2013;7(4):418-24.
54. 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.
55. Semple JW, Provan D. The immunopathogenesis of immune thrombocytopenia: T cells still take center-stage. Current opinion in hematology. 2012;19(5):357-62.
56. Peng J, Liu C, Liu D, Ren C, Li W, Wang Z, et al. Effects of B7-blocking agent and/or CsA on induction of platelet-specific T-cell anergy in chronic autoimmune thrombocytopenic purpura. Blood. 2003;101(7):2721-6.
57. Zhang XL, Peng J, Sun JZ, Guo CS, Yu Y, Wang ZG, et al. Modulation of immune response with cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 immunoglobulin-induced anergic T cells in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. Journal of thrombosis and haemostasis : JTH. 2008;6(1):158-65.
58. Fogarty P, Rick M, Zeng W, Risitano A, Dunbar C, Bussel J. T cell receptor VB repertoire diversity in patients with immune thrombocytopenia following splenectomy. Clinical & Experimental Immunology. 2003;133(3):461-6.
59. Liu B, Zhao H, Poon MC, Han Z, Gu D, Xu M, et al. Abnormality of CD4+ CD25+ regulatory T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura. European journal of haematology. 2007;78(2):139-43.
60. Ling Y, Cao X, Yu Z, Ruan C. Circulating dendritic cells subsets and CD4+ Foxp3+ regulatory T cells in adult patients with chronic ITP before and after treatment with high-dose dexamethasome. European journal of haematology. 2007;79(4):310-6.
61. Yu J, Heck S, Patel V, Levan J, Yu Y, Bussel JB, et al. Defective circulating CD25 regulatory T cells in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. Blood. 2008;112(4):1325-8.
62. 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.

63. Bao W, Bussel JB, Heck S, He W, Karpoff M, Boulad N, et al. Improved regulatory T-cell activity in patients with chronic immune thrombocytopenia treated with thrombopoietic agents. Blood. 2010;116(22):4639-45.
64. Zhang X-L, Peng J, Sun J-Z, Liu J-J, Guo C-S, Wang Z-G, et al. De novo induction of platelet-specific CD4+ CD25+ regulatory T cells from CD4+ CD25− cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood. 2009;113(11):2568-77.
65. Shenoy S, Mohanakumar T, Chatila T, Tersak J, Duffy B, Wang R, et al. Defective apoptosis in lymphocytes and the role of IL-2 in autoimmune hematologic cytopenias. Clinical Immunology. 2001;99(2):266-75.
66. Olsson B, Andersson P-O, Jacobsson S, Carlsson L, Wadenvik H. Disturbed apoptosis of T-cells in patients with active idiopathic thrombocytopenic purpura. Thrombosis and haemostasis. 2005;93(1):139-44.
67. Geissmann F, Manz MG, Jung S, Sieweke MH, Merad M, Ley K. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. Science. 2010;327(5966):656-61.
68. Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. New England Journal of Medicine. 2002;346(13):995-1008.
69. Kuwana M, Okazaki Y, Ikeda Y. Splenic macrophages maintain the anti-platelet autoimmune response via uptake of opsonized platelets in patients with immune thrombocytopenic purpura. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2009;7(2):322-9.
70. Hamzeh-Cognasse H, Cognasse F, Palle S, Chavarin P, Olivier T, Delézay O, et al. Direct contact of platelets and their released products exert different effects on human dendritic cell maturation. BMC immunology. 2008;9(1):1.
71. Semple JW, Italiano JE, Freedman J. Platelets and the immune continuum. Nature Reviews Immunology. 2011;11(4):264-74.
72. Feng X, Scheinberg P, Samsel L, Nunez O, Green S, McCoy JP, et al. Plasma Cytokines Associated with Low Platelet Counts in Aplastic Anemia and Immune Thrombocytopenia. Blood. 2009;114(22):1317-.
73. Cohen-Solal K, Villeval J-L, Titeux M, Lok S, Vainchenker W, Wendling F. Constitutive expression of Mpl ligand transcripts during thrombocytopenia or thrombocytosis. Blood. 1996;88(7):2578-84.
74. Kuter DJ. New thrombopoietic growth factors. Blood. 2007;109(11):4607-16.
75. Gu J, Lu L, Xu R, Chen X. Plasma thrombopoietin levels in patients with aplastic anemia and idiopathic thrombocytopenic purpura. Chinese medical journal. 2002;115(7):983-6.
76. von dem Borne A, Folman C, van den Oudenrijn S, Linthorst G, de Jong S, de Haas M. The potential role of thrombopoietin in idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood Rev. 2002;16(1):57-9.
77. Kuter DJ, Bussel JB, Lyons RM, Pullarkat V, Gernsheimer TB, Senecal FM, et al. Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomised controlled trial. The Lancet. 2008;371(9610):395-403.
78. Bussel JB, Provan D, Shamsi T, Cheng G, Psaila B, Kovaleva L, et al. Effect of eltrombopag on platelet counts and bleeding during treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. The Lancet. 2009;373(9664):641-8.

79. Bussone G, Mouthon L. Autoimmune manifestations in primary immune deficiencies. Autoimmunity reviews. 2009;8(4):332-6.
80. Zhang L, Radigan L, Salzer U, Behrens TW, Grimbacher B, Diaz G, et al. Transmembrane activator and calcium-modulating cyclophilin ligand interactor mutations in common variable immunodeficiency: clinical and immunologic outcomes in heterozygotes. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2007;120(5):1178-85.
81. Hernandez-Nieto L, Yamazaki-Nakashimada MA, Lieberman-Hernandez E, Espinosa-Padilla SE. Autoimmune thrombocytopenic purpura in partial DiGeorge syndrome: case presentation. Journal of pediatric hematology/oncology. 2011;33(6):465-6.
82. Cleland SY, Siegel RM. Wiskott-Aldrich Syndrome at the nexus of autoimmune and primary immunodeficiency diseases. FEBS letters. 2011;585(23):3710-4.
83. Kühne T, Berchtold W, Michaels LA, Wu R, Donato H, Espina B, et al. Newly diagnosed immune thrombocytopenia in children and adults: a comparative prospective observational registry of the Intercontinental Cooperative Immune Thrombocytopenia Study Group. Haematologica. 2011;96(12):1831-7.
84. Lacey JV, Penner JA, editors. Management of idiopathic thrombocytopenic purpura in the adult. Seminars in thrombosis and hemostasis; 1977: Copyright© 1977 by Thieme Medical Publishers, Inc.
85. Cortelazzo S, Finazzi G, Buelli M, Molteni A, Viero P, Barbui T. High risk of severe bleeding in aged patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood. 1991;77(1):31-3.
86. Newton JL, Reese JA, Watson SI, Vesely SK, Bolton-Maggs PH, George JN, et al. Fatigue in adult patients with primary immune thrombocytopenia. European journal of haematology. 2011;86(5):420-9.
87. Kuter DJ, Mathias SD, Rummel M, Mandanas R, Giagounidis AA, Wang X, et al. Health-related quality of life in nonsplenectomized immune thrombocytopenia patients receiving romiplostim or medical standard of care. American journal of hematology. 2012;87(5):558-61.
88. Mathias SD, Bussel JB, George JN, McMillan R, Okano GJ, Nichol JL. A disease-specific measure of health-related quality of life for use in adults with immune thrombocytopenic purpura: its development and validation. Health and quality of life outcomes. 2007;5(1):1.
89. Kistangari G, McCrae KR. Immune thrombocytopenia. Hematology/oncology clinics of North America. 2013;27(3):495-520.
90. Aledort LM, Hayward CP, Chen MG, Nichol JL, Bussel J. Prospective screening of 205 patients with ITP, including diagnosis, serological markers, and the relationship between platelet counts, endogenous thrombopoietin, and circulating antithrombopoietin antibodies. American journal of hematology. 2004;76(3):205-13.
91. 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.
92. Diz-Küçükkaya R, Hacıhanefioğlu A, Yenerel M, Turgut M, Keskin H, Nalçacı M. Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome in patients

presenting with immune thrombocytopenic purpura: a prospective cohort study. Blood. 2001;98(6):1760-4.
93. Peerschke EI, Yin W, Ghebrehiwet B. Complement activation on platelets: implications for vascular inflammation and thrombosis. Molecular immunology. 2010;47(13):2170-5.
94. Mak Y, Yu P, Chan C, Chu Y. The management of isolated thrombocytopenia in Chinese adults: does bone marrow examination have a role at presentation? Clinical & Laboratory Haematology. 2000;22(6):355-8.
95. Liebman HA, Stasi R. Secondary immune thrombocytopenic purpura. Current opinion in hematology. 2007;14(5):557-73.
96. Portielje JE, Westendorp RG, Kluin-Nelemans HC, Brand A. Morbidity and mortality in adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood. 2001;97(9):2549-54.
97. Kitchens CS, Weiss L. Ultrastructural changes of endothelium associated with thrombocytopenia. Blood. 1975;46(4):567-78.
98. Kitchens CS. Amelioration of endothelial abnormalities by prednisone in experimental thrombocytopenia in the rabbit. Journal of Clinical Investigation. 1977;60(5):1129.
99. McMillan R. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. New England Journal of Medicine. 1981;304(19):1135-47.
100. Bussel JB. Autoimmune thrombocytopenic purpura. Hematol Oncol Clin North Am. 1990;4(1):179-91.
101. Stasi R, Stipa E, Masi M, Cecconi M, Scimò MT, Oliva F, et al. Long-term observation of 208 adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. The American journal of medicine. 1995;98(5):436-42.
102. Ben-Yehuda D, Gillis S, Eldor A. Clinical and therapeutic experience in 712 Israeli patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Acta haematologica. 1994;91(1):1-6.
103. George JN, El-Harake MA, Raskob GE. Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. New England Journal of Medicine. 1994;331(18):1207-11.
104. Pizzuto J, Ambriz R. Therapeutic experience on 934 adults with idiopathic thrombocytopenic purpura: Multicentric Trial of the Cooperative Latin American group on Hemostasis and Thrombosis. Blood. 1984;64(6):1179-83.
105. Mazzucconi MG, Fazi P, Bernasconi S, De Rossi G, Leone G, Gugliotta L, et al. Therapy with high-dose dexamethasone (HD-DXM) in previously untreated patients affected by idiopathic thrombocytopenic purpura: a GIMEMA experience. Blood. 2007;109(4):1401-7.
106. Gaines AR. Disseminated intravascular coagulation associated with acute hemoglobinemia or hemoglobinuria following Rho (D) immune globulin intravenous administration for immune thrombocytopenic purpura. Blood. 2005;106(5):1532-7.
107. Scaradavou A, Woo B, Woloski B, Cunningham-Rundles S, Ettinger LJ, Aledort LM, et al. Intravenous anti-D treatment of immune thrombocytopenic purpura: experience in 272 patients. Blood. 1997;89(8):2689-700.
108. Cooper N, Woloski BMR, Fodero EM, Novoa M, Leber M, Beer JH, et al. Does treatment with intermittent infusions of intravenous anti-D allow a proportion of adults with recently diagnosed immune thrombocytopenic purpura to avoid splenectomy? Blood. 2002;99(6):1922-7.

109. George JN, Raskob GE, Vesely SK, Moore D, Lyons RM, Cobos E, et al. Initial management of immune thrombocytopenic purpura in adults: A randomized controlled trial comparing intermittent anti-D with routine care. American journal of hematology. 2003;74(3):161-9.
110. Newland A, Treleaven J, Minchinton R, Waters A. High-dose intravenous IgG in adults with autoimmune thrombocytopenia. The Lancet. 1983;321(8316):84-7.
111. Bussel J. Intravenous immune serum globulin in immune thrombocytopenia: clinical results and biochemical evaluation. Vox sanguinis. 1985;49(s1):44-50.
112. Schiavotto C, Ruggeri M, Rodeghiero F. Adverse reactions after high-dose intravenous immunoglobulin: incidence in 83 patients treated for idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) and review of the literature. Haematologica. 1992;78(6 Suppl 2):35-40.
113. Cayco AV, Perazella MA, Hayslett JP. Renal insufficiency after intravenous immune globulin therapy: a report of two cases and an analysis of the literature. Journal of the American Society of Nephrology. 1997;8(11):1788-94.
114. Crow AR, Lazarus AH. The mechanisms of action of intravenous immunoglobulin and polyclonal anti-d immunoglobulin in the amelioration of immune thrombocytopenic purpura: what do we really know? Transfusion medicine reviews. 2008;22(2):103-16.
115. Tamminga R, Berchtold W, Bruin M, Buchanan GR, Kühne T. Possible lower rate of chronic ITP after IVIG for acute childhood ITP an analysis from registry I of the Intercontinental Cooperative ITP Study Group (ICIS). British journal of haematology. 2009;146(2):180-4.
116. Mikhael J, Northridge K, Lindquist K, Kessler C, Deuson R, Danese M. Short-term and long-term failure of laparoscopic splenectomy in adult immune thrombocytopenic purpura patients: A systematic review. American journal of hematology. 2009;84(11):743-8.
117. Kojouri K, Vesely SK, Terrell DR, George JN. Splenectomy for adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: a systematic review to assess long-term platelet count responses, prediction of response, and surgical complications. Blood. 2004;104(9):2623-34.
118. Wang KK, Charles C, Heddle NM, Arnold E, Molnar L, Arnold DM. Understanding why patients with immune thrombocytopenia are deeply divided on splenectomy. Health Expectations. 2014;17(6):809-17.
119. Thomsen RW, Schoonen WM, Farkas DK, Riis A, Jacobsen J, Fryzek JP, et al. Risk for hospital contact with infection in patients with splenectomy: a population-based cohort study. Annals of Internal Medicine. 2009;151(8):546-55.
120. Davies JM, Lewis MP, Wimperis J, Rafi I, Ladhani S, Bolton-Maggs PH. Review of guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen: Prepared on behalf of the British Committee for Standards in Haematology by a Working Party of the Haemato-Oncology Task Force. British journal of haematology. 2011;155(3):308-17.
121. Crary SE, Buchanan GR. Vascular complications after splenectomy for hematologic disorders. Blood. 2009;114(14):2861-8.
122. Patel VL, Mahévas M, Lee SY, Stasi R, Cunningham-Rundles S, Godeau B, et al. Outcomes 5 years after response to rituximab therapy in children and adults with immune thrombocytopenia. Blood. 2012;119(25):5989-95.

123. Stasi R, Del Poeta G, Stipa E, Evangelista ML, Trawinska MM, Cooper N, et al. Response to B-cell–depleting therapy with rituximab reverts the abnormalities of T-cell subsets in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood. 2007;110(8):2924-30.
124. Mahévas M, Patin P, Huetz F, Descatoire M, Cagnard N, Bole-Feysot C, et al. B cell depletion in immune thrombocytopenia reveals splenic long-lived plasma cells. The Journal of clinical investigation. 2013;123(1):432-42.
125. Polverelli N, Palandri F, Iacobucci I, Catani L, Martinelli G, Vianelli N. Absence of bi-directional cross-resistance of thrombopoietin receptor agonists in chronic refractory immune thrombocytopenia: possible role of MPL polymorphisms. British journal of haematology. 2013;161(1):142-4.
126. Bussel JB, Cheng G, Saleh MN, Psaila B, Kovaleva L, Meddeb B, et al. Eltrombopag for the treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. New England Journal of Medicine. 2007;357(22):2237-47.
127. Siegal S. BENIGN PAROXYSMAL PERITONITIS*. Annals of Internal Medicine. 1945;23(1):1-21.
128. Heller H, Sohar E, Sherf L. Familial Mediterranean fever. AMA archives of internal medicine. 1958;102(1):50-71.
129. Infevers: an online database for autoinflammatory mutations. Copyright. Available at http://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers/ Accessed (2016-07-15).
130. Shinar Y, Obici L, Aksentijevich I, Bennetts B, Austrup F, Ceccherini I, et al. Guidelines for the genetic diagnosis of hereditary recurrent fevers. Annals of the rheumatic diseases. 2012;71(10):1599-605.
131. Debeljak M, Toplak N, Abazi N, Szabados B, Mulaosmanovic V, Radovic J, et al. The carrier rate and spectrum of MEFV gene mutations in central and southeastern European populations. Clinical and experimental rheumatology. 2015;33(6 Suppl 94):S19-23.
132. Centola M, Wood G, Frucht DM, Galon J, Aringer M, Farrell C, et al. The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. Blood. 2000;95(10):3223-31.
133. Tidow N, Chen X, Müller C, Kawano S, Gombart AF, Fischel-Ghodsian N, et al. Hematopoietic-specific expression of MEFV, the gene mutated in familial Mediterranean fever, and subcellular localization of its corresponding protein, pyrin. Blood. 2000;95(4):1451-5.
134. Diaz A, Hu C, Kastner DL, Schaner P, Reginato AM, Richards N, et al. Lipopolysaccharide-induced expression of multiple alternatively spliced MEFV transcripts in human synovial fibroblasts: A prominent splice isoform lacks the C-terminal domain that is highly mutated in familial mediterranean fever. Arthritis & Rheumatism. 2004;50(11):3679-89.
135. Chae JJ, Aksentijevich I, Kastner DL. Advances in the understanding of familial Mediterranean fever and possibilities for targeted therapy. British journal of haematology. 2009;146(5):467-78.
136. Bertin J, DiStefano P. The PYRIN domain: a novel motif found in apoptosis and inflammation proteins. Cell death and differentiation. 2000;7(12):1273-4.
137. Liepinsh E, Barbals R, Dahl E, Sharipo A, Staub E, Otting G. The death-domain fold of the ASC PYRIN domain, presenting a basis for PYRIN/PYRIN recognition. Journal of molecular biology. 2003;332(5):1155-63.

138. Masumoto J, Taniguchi Si, Ayukawa K, Sarvotham H, Kishino T, Niikawa N, et al. ASC, a novel 22-kDa protein, aggregates during apoptosis of human promyelocytic leukemia HL-60 cells. Journal of Biological Chemistry. 1999;274(48):33835-8.
139. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-β. Molecular cell. 2002;10(2):417-26.
140. Papin S, Cuenin S, Agostini L, Martinon F, Werner S, Beer H, et al. The SPRY domain of Pyrin, mutated in familial Mediterranean fever patients, interacts with inflammasome components and inhibits proIL-1β processing. Cell Death & Differentiation. 2007;14(8):1457-66.
141. Erer B, Cosan F, Oku B, Ustek D, Inanc M, Aral O, et al. MEFV gene variations in patients with systemic lupus erythematosus. Modern rheumatology / the Japan Rheumatism Association. 2014;24(1):93-6.
142. Deniz R, Ozen G, Yilmaz-Oner S, Alibaz-Oner F, Erzik C, Aydin SZ, et al. Familial Mediterranean fever gene (MEFV) mutations and disease severity in systemic lupus erythematosus (SLE): implications for the role of the E148Q MEFV allele in inflammation. Lupus. 2015;24(7):705-11.
143. Koca SS, Etem EO, Isik B, Yuce H, Ozgen M, Dag MS, et al. Prevalence and significance of MEFV gene mutations in a cohort of patients with rheumatoid arthritis. Joint, bone, spine : revue du rhumatisme. 2010;77(1):32-5.
144. Migita K, Nakamura T, Maeda Y, Miyashita T, Koga T, Tanaka M, et al. MEFV mutations in Japanese rheumatoid arthritis patients. Clinical and experimental rheumatology. 2008;26(6):1091-4.
145. Cinar M, Dinc A, Simsek I, Erdem H, Koc B, Pay S, et al. The rate and significance of Mediterranean fever gene mutations in patients with ankylosing spondylitis: a three-month, longitudinal clinical study. Rheumatology international. 2008;29(1):37-42.
146. Akkoc N, Sari I, Akar S, Binicier O, Thomas MG, Weale ME, et al. Increased prevalence of M694V in patients with ankylosing spondylitis: additional evidence for a link with familial mediterranean fever. Arthritis & Rheumatism. 2010;62(10):3059-63.
147. Cosan F, Üstek D, Oku B, Duymaz-Tozkir J, Cakiris A, Abaci N, et al. Association of familial Mediterranean fever–related MEFV variations with ankylosing spondylitis. Arthritis & Rheumatism. 2010;62(11):3232-6.
148. Yigit S, Inanir A, Karakus N, Kesici E, Bozkurt N. Common Mediterranean fever (MEFV) gene mutations associated with ankylosing spondylitis in Turkish population. Disease markers. 2012;33(3):113-8.
149. He C, Li J, Xu W. Mutations in the B30. 2 domain of pyrin and the risk of ankylosing spondylitis in the Chinese Han population: A case–control study. Immunology letters. 2014;162(1):49-52.
150. Durmus D, Alayli G, Cengiz K, Yigit S, Canturk F, Bagci H. Clinical significance of MEFV mutations in ankylosing spondylitis. Joint, bone, spine : revue du rhumatisme. 2009;76(3):260-4.
151. Karban A, Dagan E, Eliakim R, Herman A, Nesher S, Weiss B, et al. Prevalence and significance of mutations in the familial Mediterranean fever gene in patients with Crohn's disease. Genes and immunity. 2005;6(2):134-9.

152. Cattan D, Notarnicola C, Molinari N, Touitou I. Inflammatory bowel disease in non-Ashkenazi Jews with familial Mediterranean fever. The Lancet. 2000;355(9201):378-9.
153. Yildirim B, Tuncer C, Kan D, Tunc B, Demirag MD, Ferda Percin E, et al. MEFV gene mutations and its impact on the clinical course in ulcerative colitis patients. Rheumatol Int. 2011;31(7):859-64.
154. Giaglis S, Mimidis K, Papadopoulos V, Thomopoulos K, Sidiropoulos P, Rafail S, et al. Increased frequency of mutations in the gene responsible for familial Mediterranean fever (MEFV) in a cohort of patients with ulcerative colitis: evidence for a potential disease-modifying effect? Digestive diseases and sciences. 2006;51(4):687-92.
155. Schwartz T, Langevitz P, Zemer D, Gazit E, Pras M, Livneh A. Behcet's disease in Familial Mediterranean fever: characterization of the association between the two diseases. Seminars in arthritis and rheumatism. 2000;29(5):286-95.
156. Rabinovich E, Shinar Y, Leiba M, Ehrenfeld M, Langevitz P, Livneh A. Common FMF alleles may predispose to development of Behcet's disease with increased risk for venous thrombosis. Scandinavian journal of rheumatology. 2007;36(1):48-52.
157. Yahalom G, Kivity S, Lidar M, Vaknin-Dembinsky A, Karussis D, Flechter S, et al. Familial Mediterranean fever (FMF) and multiple sclerosis: an association study in one of the world's largest FMF cohorts. European journal of neurology. 2011;18(9):1146-50.
158. Akman-Demir G, Gul A, Gurol E, Ozdogan H, Bahar S, Oge AE, et al. Inflammatory/demyelinating central nervous system involvement in familial Mediterranean fever (FMF): coincidence or association? Journal of neurology. 2006;253(7):928-34.
159. Kalyoncu U, Eker A, Oguz KK, Kurne A, Kalan I, Topcuoglu AM, et al. Familial Mediterranean fever and central nervous system involvement: a case series. Medicine. 2010;89(2):75-84.
160. Aleem A. Durability and factors associated with long term response after splenectomy for primary immune thrombocytopenia (ITP) and outcome of relapsed or refractory patients. Platelets. 2011;22(1):1-7.
161. Sohar E, Gafni J, Pras M, Heller H. Familial Mediterranean fever: a survey of 470 cases and review of the literature. The American journal of medicine. 1967;43(2):227-53.
162. Group TFS. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. Medicine. 2005;84(1):1-11.
163. Lachmann HJ, Sengul B, Yavuzsen TU, Booth DR, Booth SE, Bybee A, et al. Clinical and subclinical inflammation in patients with familial Mediterranean fever and in heterozygous carriers of MEFV mutations. Rheumatology (Oxford, England). 2006;45(6):746-50.
164. Kumar S, Diehn FE, Gertz MA, Tefferi A. Splenectomy for immune thrombocytopenic purpura: long-term results and treatment of postsplenectomy relapses. Annals of hematology. 2002;81(6):312-9.
165. Kojouri K, Vesely SK, Terrell DR, George JN. Splenectomy for adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: a systematic review to assess long-term platelet count responses, prediction of response, and surgical complications. Blood. 2004;104(9):2623-34.

166. Burger D, Dayer JM, Palmer G, Gabay C. Is IL-1 a good therapeutic target in the treatment of arthritis? Best practice & research Clinical rheumatology. 2006;20(5):879-96.