

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

138697

**TROMBOSİT SAYISI NORMAL OLAN VE
TROMBOSİTOZLU DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİLİ
HASTALARDA SERUM TROMBOPOİETİN, İNTERLÖKİN-3,
İNTERLÖKİN-6 VE İNTERLÖKİN-11 DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**UZMANLIK TEZİ
DR. YÜKSEL SEÇKİN**

**TEZ YÖNETİCİSİ
DOÇ. DR. İSMET AYDOĞDU**

MALATYA - 1999

Eğitim sürem boyunca bilimsel desteklerini esirgemeyen ve yoğun çalışmaları sırasında tezimin danışmanlığında yardımcı olan Doç. Dr. İsmet AYDOĞDU başta olmak üzere, Prof. Dr. Fatih HİLMİOĞLU, Doç. Dr. Haluk şAVLI, Doç. Dr. Bülent YILDIRIM, Yrd. Doç. Dr. Süleyman BÜYÜKBERBER, Yrd. Doç. Dr. Murat ALADAĞ, Yrd. Doç. Dr. Melih KARINCAOĞLU, Uzm.Dr. Bülent KANTARÇEKEN, Uzm.Dr. İbrahim DOĞAN'a ve İç hastalıkları ABD.'nda görevli asistan arkadaşlarıma, eğitimime katkısı olduğunu düşündüğüm Göğüs hastalıkları, İnfeksiyon Hastalıkları ve Kardiyoloji Ana Bilim Dalı Oğretim yelerine, tezimin laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Biyolog Barış OTLU ve istatistiksel analizlerin yapılmasında yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Saim YOLOĞLU'na ve tüm asistan arkadaşlarım ile tüm servis personeline teşekkür ederim.

Ayrıca asistanlık eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca desteğini benden esirgemeyen Eşime, Oğluma ve Aileme teşekkür etmeyi borç bilirim.

İçindekiler:

1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
A.MEGAKARYOPOEZ VE TROMBOSİT OLUŞUMU	3
B.TROMBOPOİETİK FAKTÖRLER	7
1. <i>Trombopoietin (TPO)</i>	7
2. <i>İnterlökin-3 (İL-3)</i>	8
3. <i>İnterlökin-6 (İL-6)</i>	8
4. <i>İnterlökin-11 (İL-11)</i>	9
5. <i>Stem cell faktör</i>	10
6. <i>Lösemi inhibitör faktörü (LİF)</i>	10
7. <i>Eritropoietin (EPO)</i>	10
C.TROMBOSİTOZ.....	11
a- <i>Primer trombositoz</i>	11
b- <i>Reaktif trombositoz</i>	14
D. DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ	17
E. DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ VE TROMBOSİTOZ.....	22
3. MATERYAL VE METOD	23
4. BULGULAR	25
5.TARTIŞMA	43
6.SONUÇ	48
7.ÖZET	50
8. KAYNAKLAR	52

Tablo ve Şekil listesi:

Tablo 1. Megakaryositlerin olgunlaşma süreci.....	4
Tablo 2. Megakaryopoez de etkili olan sitokinler.....	6
Tablo 3. Reaktif ve primer trombositozun ayrılması.....	12
Tablo 4. Reaktif trombositoz nedenleri.....	15
Tablo 5. Reaktif trombositozlu ve normal trombosit sayısı olan demir eksikliği anemili hastalardaki tam kan sayımı parametreleri.....	29
Tablo 6. Reaktif trombositozlu ve normal trombosit sayısı olan demir eksikliği anemili hastalardaki serum Trombopoietin, İnterlökin-3, İnterlökin-6, İnterlökin-11 düzeyleri.....	33
Şekil 1. Grupların RBC ortalamaları.....	34
Şekil 2. Grupların Hemoglobin ortalamaları.....	34
Şekil 3. Grupların MCV ortalamaları.....	35
Şekil 4. Grupların MCH ortalamaları.....	35
Şekil 5. Grupların MCHC ortalamaları.....	36
Şekil 6. Grupların RDW ortalamaları.....	36
Şekil 7. Grupların Trombosit ortalamaları.....	37
Şekil 8. Grupların MPV ortalamaları.....	37
Şekil 9. Grupların Serum Demiri ortalamaları.....	38
Şekil 10. Grupların Ferritin ortalamaları.....	38
Şekil 11. Trombositozlu ve trombosit sayısı normal olan gruplarda serum Trombopoietin düzeylerinin karşılaştırılması.....	39
Şekil 12. Trombositozlu ve trombosit sayısı normal olan gruplarda serum İL-3 düzeylerinin karşılaştırılması.....	40
Şekil 13. Trombositozlu ve trombosit sayısı normal olan gruplarda serum İL-6 düzeylerinin karşılaştırılması.....	41
Şekil 14. Trombositozlu ve trombosit sayısı normal olan gruplarda serum İL-11 düzeylerinin karşılaştırılması.....	42

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Hematopoez ve hematopoezi etkileyen faktörler son yıllarda en çok çalışılan konulardan birisidir. Uzun süreden beri üzerinde çalışılan ve klinik kullanıma giren eritropoietin (EPO), G-CSF, GM-CSF gibi faktörlerden sonra son yıllarda trombopoietin (TPO) bulunmuştur. Trombopoietin megakaryopoezin düzenlenmesi ve trombosit oluşumunda kritik rol oynamaktadır. Endojen trombopoietin'in stem sellerde bulunan reseptörlerine bağlanarak megakaryosit kolonilerin oluşumunu ve oluşan megakaryositlerin maturasyonunu sağladığı bilinmektedir^{1,2}. Trombopoetinden başka İnterlökin-3 (İL-3), İL-6 ve İL-11 de megakaryopoezde rol oynamaktadır³. Kemoterapiye bağlı gelişen trombositopenilerde bu faktörlerin kullanılması ile trombosit sayılarında artışın olması da bunu kanıtlamaktadır^{4,5}.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda primer ve reaktif trombositozlu hastalarda sitokin düzeyleri ölçülmekte ve patogenezi üzerindeki etkileri araştırılmaktadır. Trombositoz, dolaşan kanda anormal yüksek sayıda trombositin bulunmasıdır. Bu durum, değişik fizyolojik uyarı ve patolojiler sonucu oluşabilir. En sık nedenler; myeloproliferatif hastalıklar gibi primer ve kanser, kollajen doku hastalıkları, kronik inflamatuvar hastalıklar, infeksiyon ve demir eksikliği anemisinde olduğu gibi sekonder nedenlerle meydana gelmektedir. Primer trombositozda trombosit artışı her hastada olduğu halde, reaktif trombositozda neden olan hastalıklarda her hastada trombosit artışı görülmemektedir. Bu olayın fizyopatolojisi henüz net olarak aydınlatılamamıştır.

Primer trombositozda trombotik komplikasyonlarla sık karşılaşılırken, reaktif trombositozda bu tür olaylar nadirdir. Literatürde karotis arterde trombüs ve serabral infarktüs ile seyreden reaktif trombositozlu demir eksikliği anemili olgular bildirilmiştir^{6,7,8}.

Yapılan çalışmalarda primer trombositozlu olgularda serum İL-1 alfa, İL-1 beta, İL-4 ve İL-6 düzeylerinin sağlıklı bireylerdeki düzeylere yakın veya baskılanmış olması, bu kişilerdeki trombosit artışının otonom nedenlere bağlı olabileceği şeklinde açıklanırken, reaktif trombositozda ise düzeylerinin artmış olarak bulunması bu sitokinlerin trombosit üretiminde önemli rol oynadıklarını göstermiştir⁹. Primer ve reaktif trombositozlu hastalarda trombopoietin düzeyinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise her iki grupta TPO düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunurken, iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır².

Bu çalışmada ise reaktif trombositozun önemli nedenlerinden biri olan demir eksikliği anemisinde trombopoietin (TPO), İL-3, İL-6, İL-11 düzeylerinin değerlendirilmesi amacı ile trombositozla seyreden ve trombosit sayısı normal olan 25 kadın hasta içeren iki grup oluşturuldu. Her iki gruba 6 ay boyunca demir tedavisi uygulanarak; tedavinin başlangıç, 20. gün, 90. gün ve tedavinin bitimi olan 180. günde alınan serumlarda sitokin düzeyleri ölçüldü. Sonuçlar her iki grup arasında ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

A.MEGAKARYOPOEZ VE TROMBOSİT OLUŞUMU

Trombositlerin, megakaryositler tarafından oluşturulduğu 1910 yılından beri bilinmektedir. Megakaryositler kemik iliğinde az sayıda bulunan hücrelerdir ve in vitro olarak agregasyon eğilimi ve fragil olmaları incelenmelerini zorlaştırmaktadır^{10,11}. Son yirmi yılda megakaryosit öncül hücrelerinin klonlanması, megakaryosit ve içeriklerine yönelik monoklonal antikorların üretimi ve hematopoez regülasyon mekanizmalarına yönelik moleküler tekniklerin ilerlemesi, megakaryosit biyolojisi hakkındaki bilgilerimizin artmasına yol açmıştır¹².

a-Megakaryosit öncül hücreleri

Megakaryositler, öncül hücrelerin endomitozu sonucu, nükleuslarının olgunlaşması ile meydana gelen hücrelerdir. İn vitro çalışmalarda, öncül hücreler yönlendirilmiş ve yönlendirilmemiş olmak üzere ikiye ayrılır. Yönlendirilmemiş hücreler koloni oluşturan birim granülosit- eritroid-makrofaj- megakaryosit (CFU-Mix veya CFU-GEMM) gibi birçok hücre dizisini üretme kapasitesine sahip kök hücreleri oluşturur¹³. Multipotent kök hücrelerden, megakaryosit özgül kök hücrelere değişim mpl onkogeni vasıtasıyla olmakta ve bu onkogen megakaryosit hücre dizisi ve kök hücrelerde yüksek oranlarda eksprese edilmektedir¹⁴. Megakaryosit kök hücrelerin sınıflandırılması, kültürdeki proliferasyon özellikleri, membran antijen ekspresyonu ve fiziksel özelliklerine göre yapılmaktadır¹⁵. En erken tanımlanabilen programlanmış kök hücre BFU-Mega'dır ve megakaryosit dizileri oluşturur (100 veya daha fazla hücre). Kültür başlangıcından 21 gün sonra tespit edilmektedir. Hematopoietik kök hücre belirleyicisi olan CD34'ü eksprese ederler ve HLA-DR negatiftir¹². Bir sonraki kök hücre koloni oluşturan birim- megakaryosit (CFU-Mega)'dır ve megakaryosit sayısı 12 veya daha az olan diziler oluşturur. Kültürün 12.

gününde görülebilir. Membranında CD34 ve HLA-DR antijenleri bulunur¹². Kök hücrelerin olgunlaşmasıyla birlikte CD34 antijeni hızlı bir şekilde azalmaya başlar ve poliploid immatür megakaryositlerde kaybolurlar¹⁶. Megakaryositlerin olgunlaşma süreci Tablo-1’de özetlenmiştir.

Tablo 1. Megakaryositlerin olgunlaşma süreci

	Boyut (µm)	Morfoloji
Megakaryoblast Evre I	>15	bazofilik stoplazma, çekirdek loblu
Bazofil megakaryosit Evre II	>20	bazofilik stoplazma, at nalı şeklinde çekirdek, sentrosom etrafında azürofil granül
Granüler megakaryosit Evre III	>25-50	büyük çok loblu çekirdek, asidofilik stoplazma
Olgun megakaryosit Evre IV	>25-50	piknotik çekirdek, 10-12 azürofil granül grubu

b-Poliploidi

Megakaryosit farklılaşma yolundaki iyi tanımlanamamış bir noktada mitoz durur ve poliploidizasyon veya nükleer endomitoz başlar. Morfolojik olarak endomitoz, nükleer membranın ayrılması ve multipolar mitotik iğ iplikçiklerinin oluşması ile ilgilidir. Poliploidinin başlamasının ardından megakaryositler, her DNA replikasyonu sonrası endomitoza girer. Mitozun bitmesi açıkça endoreduplikasyona bağlıdır. Poliploidi sürecine girme olasılığı hematopoietik büyüme faktörleri tarafından değiştirilebilir. Endomitoz sürecine olan yöneliş, megakaryosit stoplazmasının olgunlaşmasının ilerlemesine izin verir. Daha az sayıdaki ploidi hücrelerin trombosit üretiminde başarısız olduklarını gösteren sağlam deliller olmamasına rağmen, trombositlerin 8N ploidi veya daha büyük hücrelerden oluştuğu tahmin edilmektedir¹⁰.

c-Demarkasyon membran sistemi

Olgun megakaryositlerde elektron mikroskobu ile gözlenen düz membran sistemi, stoplazmayı trombosit alanlarına böler ve bundan dolayı demarkasyon membran sistemi oluşur¹⁰. 72 saatlik olgunlaşma periyodu süresince toplam yüzey ve demarkasyon membranı % 2600 artış gösterir¹⁰. Hem megakaryosit hücre zarı hem de demarkasyon membran sistemi GPIb/IX ve GPIIb/IIIa'nın ikisini birden üretirler ve bu trombosit glikoproteinleri demarkasyon membran sistemi oluşmadan önce ilk kez plazma membranında ortaya çıkarlar¹⁷. Bu sistem, golgi ve endoplazmik retikulum membran yapılarının kendiliğinden birleşmesiyle oluşmaktadır. Bu nedenle trombosit membranı ile megakaryosit membranı aynı yapıda değildir. Megakaryositler kemik iliğinde sinüzoidal membrana yakın yerleşmiştir. Megakaryositlerdeki sitoplazmik uzantılar sinüzoid membranında ki endotel hücrelerini yırtarak venöz sinüslerin içine uzanır. Sitoplazmadaki granüler segmentlerde demarkasyon olur ve plateletler bu uzantıların parçalanmasıyla oluşur. Geride kalan nükleus da fagosite edilir.

d-Megakaryopoezin düzenlenmesi

Bir megakaryositten ne kadar trombosit üretildiği tam olarak bilinmemektedir. Megakaryosit sitoplazmik volüm ve kitle hesaplamaları ile bir megakaryositten 1000-5000 civarında trombosit üretildiğini göstermektedir¹⁰. Kan dolaşımına, günde ortalama olarak 35000/mm³ yeni trombosit katılmaktadır. Belirgin ihtiyaç durumunda ise trombosit üretimi 8 kat artmaktadır¹⁰. İnsandaki trombosit sayısının normal sınırları oldukça geniştir (150000-400000/mm³). Kanda dolaşan trombosit sayısı, megakaryosit sayı ve stoplazmik hacim, trombosit yaşam süresi ve dalakta sekestre edilen trombosit yüzdesine bağlıdır. İn vivo gözlemler trombosit ihtiyacına ilk cevabın olgun, proliferasyon özelliği olmayan megakaryositlerden geldiğini göstermektedir. Aplastik anemi, izole megakaryositik

Tablo 2. Megakaryopoez de etkili olan sitokinler

Sitokin	Primer etki	Trombosit sayısı	
Stem cell faktör	Proliferasyon	Değişiklik yok	İn vitro sinerjistik bir faktöre ihtiyaç duyar
İL-1	Maturasyon	Arttırır	Endojen İL-6'yı arttırır
İL-3	Proliferasyon	Arttırır	Güçlü Meg-CSF etkili
GM-CSF	Proliferasyon	Değişken etki	
İL-6	Maturasyon	Arttırır	Olgunlaşmayı tek başına arttırır
LIF	Maturasyon	Arttırır	İL-6'ya benzer
İL-11	Maturasyon	Arttırır	İL-6'ya benzer
Oncostatin M	Maturasyon	Arttırır	İL-6'ya benzer
EPO	Proliferasyon, maturasyon	Değişiklik yok	İn vivo rolü belirsiz
İL-4	İnhibisyon		.
İnterferon-alfa	İnhibisyon	Azaltır	Trombositoz tedavisinde kullanılır
TGF-beta	İnhibisyon	Azaltır	
PF ₄	İnhibisyon		

hipoplazi, kemoterapi veya radyoterapi ile oluşan aplazi gibi megakaryosit azalmasına yol açan durumlarda, cevap olarak plazmada, serum ve idrarda koloni oluşturan birim- Megakaryosit (CFU-Mega)'nın proliferasyonunu arttıran humoral maddeler tespit edilmiştir^{18,19,20,21,22}. Bunların megakaryosit koloni stimulan aktivite (Meg-CSA) olduğu belirtilmiştir^{20, 21}. Dolaşımdaki Meg-CSA trombosit sayısına bağlı olmayıp, daha ziyade megakaryosit ihtiyacına cevap vermektedir^{23,24}. İnterlökin-3 ve GM-CSF gibi hematopietik sitokinlerin Meg-CSA etkisine sahip oldukları bilinmektedir.

B. TROMBOPOİETİK FAKTÖRLER

1. Trombopoietin (TPO)

Megakaryopoez sırasında bazı büyüme faktörleri birden fazla aşamaya etki ederken (TPO), bazıları ise sinerjistik etki edebilir (İL-6 ve İL-11 gibi). Henüz yeni bulunan bir faktör olmasına rağmen, TPO ilk defa Kelemen tarafından 1958'de tanımlanmış ve bunu izleyen yıllarda TPO'nun fizyolojik özellikleri belirlenmiştir. Tüm bu bilgilere rağmen , TPO uzun yıllar sentezlenememiştir. Bunun sebeplerinin başında plazma düzeylerinin çok düşük olması gelmektedir. TPO'nun bulunuşu bu açıdan ilginçtir. Önce reseptörü bulunmuş ardından TPO sentezlenebilmiştir. Megakaryopoez üzerine etki eden faktörler üzerine Fransa'dan Gisselbrecht ve Vainchenker'in çalışmaları ile başlayan araştırmalar sonucunda 1986'da Wendling ve ekibi MPL-V adı verilen ve myeloproliferatif lösemiye yol açan bir virüs tanımlanmıştır²⁵. Buna yol açan viral onkogen izole edilmiş (v-mpl) ve ardından bunun insanda karşılığı olan onkogen insan eritrolösemi hücre dizisinde bulunmuştur (c-mpl). Bunun sekansı incelendiğinde Hematopoietik büyüme faktörlerine çok benzediği görülmüş ve ligandının (mpl-ligand) megakaryosit gelişmesinde rolü olabileceği Kaushansky tarafından gösterilmiştir²⁶. Ardından TPO'nun cDNA'sı klonlanmıştır²⁷. TPO 332 amino asit'den oluşan 38.000 molekül ağırlıklı bir glikoproteindir. Diğer hematopoietik büyüme faktörleri ise 166 amino asit'den daha kısadır. Geni 3. kromozomda q27-28'de kodlanır. Yapım yeri en fazla karaciğerde olup, ayrıca böbrek, kemik iliği ve dalakta da yapıldığı düşünülmektedir. Yapısındaki ilginç bir özellik ise Eritropoietin (EPO) ile %25 homolog olmasıdır²⁸.

TPO etkileri

1. Serum içeren agar kültürlerde TPO tek başına veya İL-3 ya da SCF ile birlikte megakaryosit koloni oluşumunu uyarmaktadır. İL-3'ün TPO'ya yanıt veren megakaryosit kolonilerini arttırdığı görülmüştür²⁶.

2. TPO varlığında büyük poliploid asetilkolinesteraz pozitif megakaryositler oluşmakta ve İL-3, İL-6, İL-11 ve SCF gibi trombopoetik hematopietik büyüme faktörleri ile yapılan kültürlerle göre bu megakaryositler daha çok daha büyük ve daha poliploid olmaktadır²⁹.

2. İnterlökin-3 (İL-3)

İnterlökin-3, 133 amino asit içeren 14 000 dalton ağırlığında bir proteindir. Multi-CSF olarak da bilinen İnterlökin-3 1980'li yılların başından beri bilinmektedir. 5. kromozomun uzun koluna lokalizedir. Çok yönlü bir hematopietik büyüme faktörüdür. Granülopez, monopez, eritropoz ve megakaryopozde rol oynar. GM-CSF genine çok yakın bir genetik lokusta yerleşmiştir. Kandaki konsantrasyonu tespit edilemeyecek kadar düşüktür. İnterlökin-3; CFU-Blast, CFU-GEMM gibi erken öncül hücreleri ve CFU-GM, CFU-Mega ve CFU-Eos gibi geç öncül hücrelerin büyümesini aktive eder. Maya ve E.Coli ile üretilen formları klinik çalışmalarda kullanılmaya başlamıştır. Kemik iliği yetmezliği, myelodisplazi ve kemoterapi sonrası myelosüpresyonlu hastalarla yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar elde edilmiştir. Kemoterapi sonrası myelosüpresyonda trombosit transfüzyon ihtiyacında azalma görülmüştür. Stem cell faktör'ün tersine, İL-3 ve GM-CSF tek başlarına kullanıldığında Meg-CSA etkisine sahiptir ve İL-3 daha etkili görünmektedir¹⁰.

3. İnterlökin-6 (İL-6)

İnterlökin-6, 7. kromozomun kısa koluna lokalize ve 212 amino asit içeren yaklaşık 26 kD'luk sitokin olup mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücreleri ile bazı aktive T hücreleri tarafından sentezlenirler. Gram negatif bakteriyemi veya TNF infüzyonu sonrası dolaşımda saptanabilir. İL-6'nın reseptörü 60 kD'luk bağlayıcı bir protein ile 130 kD'luk sinyal ileten alt birimden oluşur. İL-6 fibrinojen, hemopeksin gibi akut faz cevabına katkıda bulunan plazma proteinlerinin hepatositler tarafından sentezlenmesine neden olur. İL-6, B lenfositlerinin immunglobulin

salınımı için bir kofaktör rolü oynar. B lenfositlerinin geç dönemlerinde ve plazma hücreleri (plazmositoma yada myeloma) içinde büyüme faktörü olarak rol oynar. Kendi kendine büyüyen plazmasitoma hücreleri otokrin büyüme faktörü olarak İL-6 salgılar¹⁰. Megakaryositler, kendileri için gerekli İL-6 ve reseptörlerini üretmektedir³⁰. Megakaryosit koloni oluşumu hakkında daha önce yapılan çalışmalarda optimal koloni oluşumu için megakaryosit güçlendirici faktör gerektiği gösterilmiştir³¹. Bu faktörün büyük ihtimalle İL-6 olduğu sanılmaktadır³². İL-6 sitokin ağı içindeki karmaşık etkileşimler ile megakaryosit proliferasyonunu hızlandırır^{33,34}. İL-6 in vitro olarak insan megakaryosit olgunlaşmasını artırır^{35,36}. Hem normal hem de trombositopenik hayvanlarda yapılan çalışmalarda, trombosit yapımını uyararak, trombosit sayısını artırır^{37,38,39,40}.

4. İnterlökin-11 (İL-11)

İlk olarak 1990'da saptanan İL-11, bir çok dokuda pleotropik etkisi olan bir sitokindir. Beyin, timus, akciğer, kemik ve spinal kord nöronlarında, barsaklarda ve testislerde üretildiği gösterilmiştir. Kemik iliği stromal hücrelerinden klonlanan bir moleküldür. İnsan İL-11'in genomik sekansı 5 exon ve 4 intron'dan oluşur ve 19. kromozomda lokalizedir^{41,42,51}. 199 amino asit içerir ve moleküler ağırlığı 19.144 daltondur. İL-11 ekspresyonu çeşitli dokularda farklı sitokinler tarafından düzenlenir. Örneğin kemik iliği fibroblast hücrelerde İL-11 gen ekspresyonu stimülasyonu İL-1 alfa, TGF-β1 (transforming growth faktör) ve TGF-β2 tarafından düzenlenir^{43,44,51}. İL-11, diğer erken ve geç evrede etkili olan büyüme faktörleriyle sinerjistik etki göstererek hematopoezin çeşitli evrelerinde etkili olur. İL-3, İL-4, İL-7, İL-12, İL-13, stem cell faktör⁴⁵, flt3 ligand⁴⁶ ve GM-CSF⁴⁵ ile sinerjizma gösterir. İL-11, İL-3, trombopoetin ve SCF⁴⁷ ile birlikte mürine ve insanda^{48,49} trombopoez ve megakaryopoezin çeşitli aşamalarında etkili olur. İn vivo insan^{50, 51} ve rodentlerde İL-11'in megakaryositlerin üretim, farklılaşma ve maturasyonun belirgin artırdığı gösterilmiştir.

5. Stem cell faktör

Kültürlerde yapılan çalışmalar, megakaryosit kök hücre proliferasyonunda stem cell faktörün rolünün çok az veya hiç olmadığını göstermiştir^{52,53}. Bununla beraber İL-3 veya GM-CSF ile birlikte kullanıldığında koloni oluşumunu uyardığı görülmüştür^{52,53}. İn vitro olarak c-kit fonksiyonu baskılandığında megakaryosit koloni oluşumu azalmaz ve SCF megakaryopoez için gerekli değildir. İn vivo olarak SCF tek başına primatlarda megakaryosit sayısını arttırmasına karşılık trombosit sayısında artış izlenmemektedir⁵⁴.

6. Lösemi inhibitör faktörü (LIF)

LIF, insanda 22. kromozomda geni olan ve murin myeloid lösemik hücrelerde makrofaj farklılaşmasını indükleyen ve proliferasyonu inhibe eden bir faktördür. İn vitro megakaryosit kolonilerini ve primitif hematopoietik öncüllerini uyaran İL-3 ile sinerjizm gösterir. Akut faz protein sentezini arttırır¹⁰.

7. Eritropoietin (EPO)

EPO, bir glikozile protein yapısında olan hormondur ve hematopoietik büyüme faktörüdür. Esas olarak böbreklerden, daha az miktarda başta karaciğer olmak üzere diğer organlardan salgılanabilir. Eritropoezi; eritroid öncüllerin büyüme ve farklılaşmasını uyarak sağlamaktadır. 193 amino asitten oluşan, 18400 dalton ağırlığında olan ilk bulunan sitokinlerden biridir. Glikolize olarak aktivite kazanır. EPO, megakaryosit koloni gelişimini ve farklılaşmasını arttırma yeteneğine sahiptir^{55,56}. Bu hormonun reseptörleri megakaryositler üzerinde bulunmaktadır. Trombosit üretimi ile ilgili olarak, in vivo cevabın geçici olduğu hakkında şüpheli bulgular vardır. İnsanlarda ise trombosit üretiminin önemli bir uyarıcısı olduğuna dair klinik veriler azdır. Çünkü, EPO kullanılan kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda trombosit sayısını önemli ölçüde arttırmamaktadır.

C.TROMBOSİTOZ

Trombositoz, kanda anormal yüksek sayıda trombositin bulunmasıdır. Bu durum, değişik fizyolojik uyarı ve patolojiler sonucu oluşabilir. En sık nedenler: trombositemia, PRV, KML ve myelofibrosiz gibi patolojileri içeren myeloproliferatif hastalıklarda görülür.

Patofizyoloji:Geçici trombositoz, ekstrasvasküler trombosit havuzundan mobilizasyon sonucu oluşur (Epinefrin,egzersiz). Trombositozun diğer formlarında ise artmış trombosit üretimi mevcuttur. Trombokinetik çalışmalar bu artıştan 2 farklı mekanizmanın sorumlu olabileceğini göstermiştir. Reaktif trombositozu olan hastalarda, trombosit sayısı megakaryosit kitlesi ile direk orantılı ve ortalama megakaryosit volumü ile ise ters orantılıdır. Otonom trombositozda, trombosit üretimi normal düzenleyici mekanizmaların kontrolü altında değildir ve trombosit sayımı, megakaryosit volümü ile korelasyon göstermemektedir⁵⁷.

a-Primer trombositoz

Primer trombositoz megakaryositlerin anormal proliferasyonu ile karakterizedir. Yapılan çalışmalar primer trombositozun bir klonal neoplazma olduğunu ve bu yönüyle KML ve PRV' ya benzediğini göstermektedir. Seyrek görülen bir hastalık olup, erkek ve kadınlarda eşit sıklıkta görülür. Sıklıkla orta yaş ve adullarda görülmesine karşılık gençlerde ve çocuklarda rapor edilmiştir⁵⁷.

Patofizyoloji:

Megakaryosit sayısı, total megakaryosit kitlesi ve ortalama megakaryosit volumündeki artış karakterizedir⁵⁸. Trombosit üretim hızı normalden 15 kat daha fazladır. Trombosit yaşam süresi genellikle normaldir.

Tablo 3. Reaktif ve primer trombositozun ayrılması

	Reaktif trombositoz	Primer trombositoz
Trombokinetik özellikler 1. Total megakaryosit kitlesi 2. Megakaryosit sayısı 3. Megakaryosit volümü 4. Trombosit üretim hızı 5. Total trombosit kitlesi 6. Trombosit yaşam süresi	hafif artmış artmış azalmış artmış artmış normal	çok artmış artmış artmış artmış artmış normal veya hafif azalmış
Klinik ve laboratuvar özellikler 1. Tromboembolizm ve kanama 2. Süre 3. Splenomegali 4. Trombosit sayısı 5. Kanama zamanı 6. Trombosit morfoloji ve fonks. 7. Lökosit sayısı	Nadir Sıklıkla geçici yok genellikle <1.000.000 normal normal normal	Sık Kalıcı % 80'inde var genellikle >1.000.000 uzamış anormal artmış

Klinik:

Trombotik komplikasyonlar daha çok yaşlılarda görülür. Genç hastalarda ise daha nadirdir. Tromboz, hem arter hem de venlerde gelişmekle birlikte genellikle hepatik venler, mezenterik damarlar, aksiller arter ve parmak damarları sıklıkla etkilenir. Splenik ven trombozu, el ve ayak parmaklardaki iskemik ağrılar, geçici serebral iskemi atakları sık görülen klinik bulgulardır. Pulmoner embolizm ise oldukça sıktır. Tromboembolik komplikasyonlar ölümlle sonuçlanabilir. Tekrarlayan GİS hemoraji ve burun kanaması en sık kanama olgularını oluşturur.

Laboratuvar Bulguları:

Primer trombositoz hastalarının çoğunda ortalama trombosit sayısı $1.000.000/\text{mm}^3$ civarındadır. Periferik yaymada, trombositlerde kaba granülasyon ve dev trombositler görülür. Ortalama trombosit volümü artmıştır. Kemik iliğindeki megakaryositlerde belirgin

hiperplazi vardır. Çeşitli kromozom anormallikleri bildirilmekle birlikte tipik olarak Ph¹ kromozomu bulunmaz.

Tedavi:

Orta derecede trombositoz veya yüksek sayıda trombosit sayısına rağmen klinik gidiş iyi ise tedavi gereksizdir⁵⁹. Trombosit sayısının 1.000.000/mm³ üzerinde olduğu, hemorajik ve trombotik komplikasyonların geliştiği hastalarda trombosit sayısını düşürücü tedavi endikasyonu vardır. Melphalan, busulfan gibi alkilleyici ajanlar ve P³²- phosphate genelde tercih edilen yöntemlerdir. Bu ajanlar genellikle intermittan verilir ve trombosit sayısını normal değerlere düşürür. Ciddi kanama veya cerrahi girişim gibi acil durumlarda trombosit sayısının düşürülmesi için tromboferezis tavsiye edilmektedir. Heparin ve Coumadin gibi antikoagülanlar, tromboembolik komplikasyonların tedavi ve önlenmesinde geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Anagrelid, trombosit fonksiyonlarının potent bir inhibitörü olup myeloproliferatif sendromlarla ilişkili ve hemorajik trombositemiada trombosit sayısını düşürmede en etkili seçeneklerden biridir⁶⁰.

b-Reaktif trombositoz

Esansiyel trombositoz veya primer trombositoz gibi myeloproliferatif hastalıklar dışında, yüksek trombosit sayısı ile seyreden durumlar reaktif trombositoz diye adlandırılır. Farklı laboratuvarlarda değişken olmakla beraber trombosit sayısının üst sınırı 400.000/mm³ 'dür. Reaktif trombositozu yol açan nedenler Tablo 4'de gösterilmiştir.

Patogenez

Reaktif trombositozla sonuçlanan çeşitli hastalıklarda trombosit yaşam süresi normal veya azalmıştır⁶¹. Trombosit üretim hızı artmıştır. Trombosit üretimi hematopoietik faktörlerle düzenlenmekte ve reaktif trombositozda İL-1, İL-2, İL-3, İL-6 ve İL-11 gibi faktörlerin de sorumlu olabileceği tahmin edilmektedir^{62,63,64,65}. Reaktif trombositozlu hastalarda, agregasyon, platelet faktör 3 salınımı ve kanama zamanı gibi trombosit fonksiyon testleri normaldir. Trombotik komplikasyonlar; artmış trombosit sayısına, dolaşımda kendiliğinden oluşan belirgin trombosit klempleri ve artmış trombosit koagülasyon aktivitesiyle ilişkilidir^{66,67}. Bazı vakalarda ise trombositoz nedeni, trombosit havuzundan salınımına bağlıdır. Epinefrin verilmesinden sonra normal olgularda trombositlerin artması, fakat asplenik kişilerde bu artışın olmaması kaynağın dalak olduğunu göstermektedir.

Klinik

Reaktif trombositoz genellikle semptomsuz seyreder, fakat olguların küçük bir bölümünde, özellikle ateroskleroz veya hareketsiz kalan yaşlı hastalarda trombotik olaylar gelişebilir. Anormal kanama, primer trombositozlu hastalarda sık görülmesine rağmen reaktif trombositozda nadir görülür. Splenektomi sonrası trombosit sayısı ilk haftada 1.000.000 ve üzerine çıkar ve daha sonra yavaş yavaş azalarak 2 ay sonunda normale döner. Alkol, metotrexate gibi ilaçların kesilmesinden veya B₁₂ tedavisinden sonra oluşan ribaund trombositozda ise 10-17. günde en yüksek değerine ulaşır.

Tablo 4. Reaktif trombositoz nedenleri

Malign hastalıklar

Kronik inflamatuvar hastalıklar

- - Kollajen doku hastalıkları
- - İnflamatuvar barsak hastalıkları
- - Tüberküloz
- - Hepatik siroz
- - Kronik pankreatit
- - Temporal arterit
- - Kronik pnömonitis

Akut inflamatuvar hastalıklar

- - İnfeksiyonlar
- - Mukokutanöz lenf nodu sendromu

Akut kan kaybı

Demir eksikliği

Hemolitik anemi

Cerrahi

- - Splenektomi
- - Diğer girişimler

İlaçlar

- - Vincristine
- - Epinefrin
- - Interleukin 1-beta

Egzersiz

Ribaund trombositoz

- - Myelosüpresif ilaçların kesilmesi
- - Alkol kesilmesi
- - B₁₂ tedavisi

Prematürite

Diğer nedenler

- - Osteoporoz
- - Kardiyak hastalıklar
- - D.Mellitus
- - Renal yetmezlik
- - Nefrotik sendrom
- - Gebelik
- - Renal transplantasyon
- - Familial

Laboratuvar

Reaktif trombositozda genellikle trombosit fonksiyon ve morfolojisi normaldir.

Fibrinojen düzeyleri yüksek bulunabilir. Ferritin, reaktif ve primer trombositoz ayırıcı tanısında kullanılabilecek bir akut faz reaktanıdır. Özellikle, trombosit sayısı çok yüksek olan hastalarda trombositlerin tüketimine bağı olarak PaO₂ düzeyi anlamlı olarak azalmıştır.

Tedavi

Reaktif trombositozlu hastalar genellikle semptomsuzdur ve bu nedenle tedaviye çoğu kez ihtiyaç yoktur. Ancak semptomlu hastalarda acil olarak, yüksek sayıda trombosit dolaşımından çekmek amacıyla tromboferez kullanılmalıdır⁶⁸. Aspirin ve dipiridamol gibi ilaçlar, trombosit agregasyonunu engellemeleri nedeniyle reaktif trombositozlu, tromboz riski yüksek hastalarda profilaktik amaçla kullanılabilir.

D. DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ

Anemi; toplum için normal sınırlarda kabul edilen hemoglobin değerinin düşük olmasıdır. Dünyada en yaygın olan anemi nedenidir. İnsan metabolizması için en önemli metal olan demir, çevremizde bol miktarda bulunmaktadır. Besinlerde ise et ve et ürünleri dışında az miktarda bulunmakta ve insan vücudunda emilim ve atılımı ile dengede tutulmaktadır. Sağlıklı bir insanda ortalama 3-5 gram düzeyinde fonksiyonel ve depo demiri bulunmaktadır.

a. Demir eksikliği anemisi sıklığı

Demir eksikliği anemisi gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde en sık görülen beslenme bozukluğudur. Toplum genelinde anemi sıklığı çeşitli çalışmalarda % 0,7-6,9 arasında rapor edilmektedir⁶⁹. Dünya Sağlık Örgütü erkekler için 14 gr/dl, gebe olmayan kadınlar için 12 gr/dl ve gebe kadınlar için 11 gr/dl değerlerini anemi için eşik olarak kabul etmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'ü yeni yayınlanan bir raporunda genel anemi sıklığını dünya çapında % 30 olarak rapor etmiştir⁷⁰.

b. Etiyoloji

Demir eksikliği uzun süreli negatif demir dengesine yol açan kayıp ve kullanım hızı artışlarının sonucudur. Ayrıca fizyolojik miktarlarda ihtiyaç duyulan demirin teminindeki yetersizlikten kaynaklanmaktadır. Yetersiz diyet alımı malabsorbsiyon, kan kaybı, tekrarlayan gebelikler, çocukluk çağında hızlı büyüme, intravasküler hemoliz uzun süreli negatif demir dengesinin sebebi olarak görülmektedir⁷¹. Demir eksikliği olgularının % 80'inde altta yatan neden kronik kan kaybıdır. Diyet yetersizliği ile birlikte menstruasyon sorunları bu yaygın durumlardan en sık olarak görülenlerden birisidir. Çocukluk, büyüme çağı ve gebelik günlük ihtiyaçların arttığı ve buna karşılık diyet yetersizliğinin sorun olduğu dönemlerdir. Demir eksikliği anemisine neden olan faktörler iki büyük kategoriye ayrılabilir.

1-Fizyolojik kayıplar

Menstrual yolla kan kaybı kadınlarda demir eksikliği anemisinin en sık nedenidir. Rahim içi araç menstrual siklus kanamalarını arttıran bir durumdur. Gebelik ve laktasyon sırasında demir ihtiyacı gebelik öncesi döneme göre belirgin olarak artmaktadır. Düzenli olarak kan verilmesi demir kaybının önemli bir nedeni olabilir. Bir ünite kan 250 mg demir içermektedir

2-Patolojik kayıplar

Gastrointestinal yol ile patolojik demir kaybı erkeklerde ve post menopozal kadınlarda en sık karşılaşılan durumdur^{57,72}. Kronik GİS kan kaybına yaygın nedenleri arasında peptik ülser, gastrit, mukozal travmalı hiyatal herniler, glukokortikoid ilaç kullanımı, parazitik enfestasyonlar, hemoroid, kolon anjiodisplazisi, ve kolonik adenokarsinom sayılabilir. Genitoüriner sistem kanamaları, tekrarlayan hemoptiziler, kalp kapak hastalıkları, kronik böbrek yetersizliği tanılı ve hemodiyalize giren olgular demir dengesi açısından potansiyel tehdit altındadır.

c. Klinik

Hastalar genellikle anemiye iyi uyum göstererek ve az bir semptomla işlerini yapmayı sürdürmektedirler. Yorgunluk, çarpıntı, baş dönmesi, nefes darlığı, kulak çınlaması, uğultu, solukluk, baş ağrıları ve sinirlilik yaygın şikayetler arasındadır^{57,71}. Yaşlı hastalarda anjina pektoris yada kalp yetmezliği tablosu ile karşılaşılabılır. Anemi tablosu ile birlikte daha açık olan semptomlar eforla gelen nefes darlığı, yataktan ani kalkma sırasında belirginleşen baş dönmeleri, çabuk yorulma, kas ağrısı ve üşüme hissinin belirginleşmesidir. Demir eksikliğinin klasik bulgularından biride alışılmadık şeylerin alışkanlık yapıcı tarzda tüketilmesi anlamına gelen pikadır. Buz, kil, nişasta ve çamaşır kolası, çiğ patates gibi maddeler en sık görülen örneklerdir. Fizik muayenede hastalarda

glossit, anguler şelilit, ozena, kaşık tırnak, %10 olguda splenomegali saptanabilir. Endoskopik incelemede gastrit, postcricoid web saptanabilir.

d. Laboratuvar

Anemi tanısında hemoglobin konsantrasyonu ve hemotokrit başlıca tarama testleridir. Eritrositlerde görülen değişiklikler hem anemi süresi hem de şiddetine bağlıdır.

Eritrosit indeksleri:

Hemoglobin sentezi azaldığı zaman; eritrosit indeks değerleride azalmaktadır. Eritrosit indeks değerleri kalibrasyona göre bir miktar etkilense de MCV 80 fl altı mikrositoz, MCHC 31g/dl altı hipokromi ve MCH alt sınırı olarak 27hg kullanılmaktadır. Otomatik kan sayım cihazları ile MCV'nin en yararlı indeks olduğu gösterilmiştir^{57,71}. MCHC ise bu indeksler içinde en az sensitif olarak değerlendirilmiştir. Diğerlerine ait değerler düştüğü zaman bile normal olarak kalabilmektedir.

Periferik yayma:

Mikrositik eritrositlerin çaplarının küçüklüğü ile kolayca periferik yaymada değerlendirilebilmektedir. Anemi başlangıcında merkezi solukluk belirgin şekilde artmaktadır. Başlangıçtaki hafif anizositoza, hafif ovalositoz eşlik etmektedir. Bunu hipokromi ve mikrositoz izlemektedir.

Eritrosit çapı değişim eğrileri:

Hücre çap ortalamaları yanında çap farklılık değişiklikleri eritrosit çaplarının dikkatli ölçümlerine dayanmaktadır. Bu dağılım eğrileri frekansı için Price-Jones eğrileri kullanılmaktadır. Bu konuda elektronik hücre sayıcılar daha geçerli ve doğru sonuçlar vermektedir. Eritrosit volümü değişiklikleri RDW (eritrosit dağılım genişliği) olarak isimlendirilmiştir. RDW'nin normal değerleri % 13,4+1,2'dir. Demir eksikliğinde RDW değeri % 16,3+1,8'e çıkmaktadır. Artmış RDW demir eksikliği için % 90-100 sensitif,

buna karşılık % 50-70 spesifiktir⁷². Demir eksikliği tablosunda RDW, MCV'den önce düşmektedir.

Serum demir konsantrasyonu

Serum demiri tek başına demir eksiliği anemisi için güvenilir ve yeterli bir kriter değildir. Demir depolarının tükenmiş olduğu ispatlanan birçok hastada serum demir konsantrasyonu normal yada artmış olarak bulunmuştur⁶⁹.

Total demir bağlama kapasitesi ve transferrin saturasyonu

Kanda normalde bulunan total transferrin seviyesini göstermektedir. Normalde 250-450µg/L olup; ortalaması her iki cinsiyet içinde 340µg/L düzeyinde olup demir eksikliği tablosunda artış görülmektedir. Demir eksikliği anemisinde serum demirinin düşmesinden önce TDBK artmaya başlamaktadır. Serum demir/TDBK oranı transferrin saturasyonu olarak bilinmektedir. Bu oran normalde % 20-45 arasında değişmektedir. Demir eksikliğinde serum demiri düşmekte ve TDBK artmaktadır. Bu yüzden transferrin saturasyonu % 10'nun altındadır.

Serum ferritin konsantrasyonu

RES hücrelerinden mobilize olan depo demirinin glikoprotein şeklidir. Ortalama düzeyi 15-500µg/L'dir. Demir tedavisi almaya başlayan erişkinlerde serum ferritin düzeyinin normal sınırlara çekilmesi tedavinin 2-3. haftalarında olmaktadır. Parenteral demir uygulaması ise serum ferritin düzeyini 24 saat içerisinde arttırmakta ve artmış düzeylerin 4-6 hafta boyunca sürmesine yol açmaktadır.

e. Demir eksikliği anemisinde tedavi:

Başlıca tedavi seçenekleri; diyet desteği, oral demir uygulaması, parenteral demir uygulaması ve kan transfüzyonlarıdır. Diyet tedavisi genellikle demirin biyoyararlılığının düşüklüğünden dolayı geçerli bir seçenek değildir. Bunlardan oral demir tedavisi en etkin ve en ucuz olan yaklaşım şekli iken; kan transfüzyonları pahalı ve riskli yaklaşımı

oluşturarak hastalarda dolaşım yüklenmesi ve transfüzyonla bulaşan hastalıklar açısından son tercihi oluşturmaktadır.

Demir tedavisinin amacı yalnızca kayıpların giderilmesi değil; aynı zamanda demir depolarının da doldurulmasıdır. Ağır anemili olgularda yaklaşık 400-500 mg yeni hemoglobin sentezleneceğinden; yaklaşık 2 gram demire ihtiyaç olacaktır. Demir depolarının doldurulması için ise 1 gram daha ilave demir gerekecektir. Tedaviye cevap başlangıçtan ortalama 5 gün sonra görülmekte ve 10. günde % 5-10 retikülositoz ile zirveye ulaşmaktadır. Anemi tablosu düzeldikten tedavi en az 6 ay, bazı otörlere göre ise 12 ay daha devam edilmelidir⁷³.

Demir malabsorsiyonunun saptanması durumunda parenteral demir tedavisi uygulanmalıdır.

E. DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ VE TROMBOSİTOZ

Reaktif trombositozun en önemli sebeplerinden biride demir eksikliği anemisidir.

Trombosit sayısı bazı hastalarda normalin 2-3 katına çıkabilir. Tüm demir eksikliği anemili olgularda trombosit sayısında artış görülmemektedir. Demir eksikliğinde bazı hastalarda trombositoz, bazılarında ise bu durumun izlenmemesinin nedeni henüz aydınlatılamamış bir konudur.

Demir eksikliği anemisinde trombositoz etiolojisinde kronik kan kaybı ve beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerin rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur⁷⁴. Demir tedavisi ile trombosit sayısındaki düşüşler bu çalışmaları desteklemektedir. Yapılan klinik ve laboratuvar çalışmalarında reaktif trombositoz patogenezinde; trombopoietin ve İL-1, İL-2, İL-3, İL-6 gibi sitokinlerin önemli rol oynadıkları gösterilmiştir^{62,63,64,65}.

Primer trombositozda trombotik komplikasyonlarla sık karşılaşılırken, reaktif trombositozlu olgularda bu tür olaylar nadirdir. Literatürde trombosit sayısı 1 000 000/mm³ üzerinde olan demir eksikliği anemili olgularda; karotis arterde, serabral arterde trombus ile seyreden geçici iskemik atak ve serabral infarkt gibi oldukça ciddi trombotik komplikasyonlar bildirilmiştir. Bu komplikasyonların çocuklarda da bildirilmiş olması olayın önemini bir kez daha ortaya koymaktadır^{6,7,8}.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Şubat 1997 ile Mayıs 1998 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı polikliniğine başvuran yetişkin kadın hastalarda (n=75) yapılmıştır.

Grupların oluşturulması:

1.Grup: Yaşları 17-45 (ort:33,04±1,68) arasında değişen ve tam kan sayımında trombositoz (trombosit>400 000/mm³) saptanan; anamnez, fizik muayene ve laboratuvar bulguları ile demir eksikliği anemisi tanısı konulan 25 kadın hastadan oluşturuldu.

2.Grup: Yaşları 16-48 (ort:32,04±1,67) arasında değişen ve tam kan sayımında trombosit sayısı normal olan (trombosit<400 000/mm³) demir eksikliği anemisi tanısı konulan 25 kadın hastadan oluşturuldu.

3.Grup: Yaşları 22-41 (ort:30,20±1,08) arasında değişen, anemisi ve trombositozu olmayan sağlıklı 25 kadından oluşturuldu.

Çalışmaya alınma kriterleri:

- 1.Olgular, yaşları 16-48 arasında değişen kadın hastalardan seçildi.
- 2.Çalışmaya öykü, fizik muayene ve laboratuvar tetkikleri ile demir eksikliği anemisi tanısı konulan hastalar alındı. Kronik hastalık anemisi olan hastalar çalışmaya alınmadı.
- 3.İnfeksiyon, malignite ve kollajen doku hastalıkları gibi sekonder trombositozu sebep olan patolojiler saptanan hastalar, birinci grubu oluşturan reaktif trombositozlu hastalar grubuna alınmadı.

Çalışma planı:

Çalışmada; tam kan sayımı (RBC, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, RDW, trombosit, MPV) ve biyokimyasal analizler (serum demiri, serum demir bağlama kapasitesi ve ferritin) kullanılarak hastalar trombositozlu grup ve trombosit sayısı normal

olan demir eksikliği anemili iki grup oluşturuldu. Her iki gruptaki hastalara demir²⁺ (ferröz sülfat 80 mg.) preparatı sabah, akşam birer tablet başlandı. Hastalar tedavi başlangıcından itibaren 20. gün, 3. ay ve 6. ayda kontrollere çağırılarak fizik muayene, tam kan sayımı ve biyokimyasal tetkikleri tekrarlandı. Bu kontroller sırasında serum İnterlökin-3, 6, 11 ve Trombopoietin düzeylerini saptamak amacıyla hastaların kanları alınarak antikoagülan eklenmeden 1500/dk hızla 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar - 38 C⁰ deep frezde saklandı.

Parametrelerin analizi:

Hematolojik parametreler Coulter STKS tam kan sayımı cihazı ile elde edilirken, biyokimyasal tetkikler Olympus AU-600 otoanalizörü kullanılarak yapıldı. Serum demiri kalorimetrik end-point TPTZ, ferritin ise immüno-türbidometrik end-point yöntemi ile saptandı.

Serum İnterlökin-3, İL-6, İL-11 ve Trombopoietin düzeyleri ELİSA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile çalışıldı. İnterlökin-3, İL-11 ve Trombopoietin düzeyleri RD Systems (614 McKinley Place N.E., Minneapolis, MN 55413, USA) kitleri ile, serum İnterlökin-6 düzeyleri ise Bender MedSystems (Dr. Boehringer-Gasse 5-11, P.O. Box 73, A-1121, Vienna, Austria) kitleri ile saptandı.

İstatistiksel yöntem:

Elde edilen bulgular SPSS Windows paket programı kullanılarak istatistiksel değerlendirme yapıldı. 1. ve 2. gruptaki günler arasındaki değişim iki eş arası farkın önemlilik testi (t-test for paired samples) ile değerlendirilirken, üç grup arasındaki farklılıklar gruplar arasında tek yönlü varyasyon analizi (ONE WAY) ile test edildi. Değerlendirmede p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Reaktif trombositozla seyreden demir eksikliği anemisi ve trombosit sayısı normal olan demir eksikliği anemili hastalarda serum İnterlökin-3, İL-6, İL-11 ve Trombopoietin düzeylerinin karşılaştırılmasını amaçlayan bu çalışmada hematolojik, biyokimyasal ve sitokin düzeylerine ait değerler ve istatistiksel bulgular sırasıyla sunulmuştur.

RBC:

Reaktif trombositozla seyreden 1. grupta tedavi başlangıcında ortalama RBC sayısı $4\ 230\ 000 \pm 110\ 000/\text{mm}^3$ iken, yirminci günde $4\ 570\ 000 \pm 120\ 000/\text{mm}^3$, 3. ayda $4\ 770\ 000 \pm 90\ 000/\text{mm}^3$ ve 6. ayın sonunda ise $4\ 790\ 000 \pm 70\ 000/\text{mm}^3$ değerine ulaşmıştır. 2. grupta tedavi başlangıcında ortalama RBC sayısı $4\ 120\ 000 \pm 120\ 000/\text{mm}^3$ iken, yirminci günde $4\ 540\ 000 \pm 120\ 000/\text{mm}^3$, 3. ayda $4\ 740\ 000 \pm 70\ 000/\text{mm}^3$ ve 6. ayın sonunda ise $4\ 840\ 000 \pm 60\ 000/\text{mm}^3$ değerine ulaşmıştır (Tablo 5). Her iki gruptaki artışlar anlamlı ($p < 0.05$) iken, gruplar arasındaki karşılaştırmada istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Şekil 1).

Hemoglobin:

1. grupta tedavi başlangıcında ortalama hemoglobin 8.72 ± 0.31 gr/dl iken, 20. günde 10.48 ± 0.30 gr/dl, 3. ayda 12.74 ± 0.14 gr/dl ve 6. ayın sonunda ise 13.16 ± 0.16 gr/dl değerine ulaşmıştır. 2. grupta ise tedavi başlangıcında ortalama hemoglobin 8.72 ± 0.40 gr/dl iken, 20. günde 11.20 ± 0.26 gr/dl, 3. ayda 12.66 ± 0.10 gr/dl ve 6. ayın sonunda ise 13.03 ± 0.09 gr/dl değerine ulaşmıştır (Tablo 5). Her iki gruptaki 20, 3.ay ve 6. aydaki artışlar başlangıç değerlerine göre anlamlı iken ($p < 0.05$), iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$) (Şekil 2).

Hemotokrit:

Hemotokrit değerleri her iki grupta tedavi sonunda başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak ($p<0.05$) yükselirken, gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 5).

MCV:

1. grupta tedavi başlangıcında ortalama MCV 62.71 ± 1.45 fl iken, 20. günde 70.11 ± 1.12 fl, 3. ayda 78.30 ± 0.80 fl ve 6. ayın sonunda ise 82.84 ± 0.97 fl değerine ulaşmıştır. 2. grupta ise tedavi başlangıcında ortalama MCV değeri 65.85 ± 1.59 fl iken, 20. günde 74.41 ± 1.12 fl, 3. ayda 81.74 ± 0.64 fl ve 6. ayın sonunda ise 84.84 ± 0.34 fl değerine ulaşmıştır (Tablo 5). Her iki gruptaki 20, 3.ay ve 6. aydaki artışlar başlangıç değerlerine göre anlamlı iken ($p<0.05$), iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (şekil 3).

MCH ve MCHC:

MCV ve MCHC değerleri her iki grupta tedavi sonunda başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak ($p<0.05$) yükselirken, gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (şekil 4, 5) (Tablo 5).

RDW:

Trombositozlu grupta başlangıç RDW değeri 19.54 ± 0.83 iken, 20. günde en yüksek değerine ulaşmıştır (Tablo 5). Bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0.01$). nc ve 6. aydaki değerler sırasıyla 14.52 ± 0.27 , 13.62 ± 0.17 olup, başlangıç değerlerine göre istatistiksel açıdan anlamlı azalma saptandı ($p=0.000$). 2. grupta başlangıç RDW değeri 19.34 ± 0.69 iken, 20. günde 24.43 ± 0.84 olup anlamlı artış mevcuttu ($p=0.000$). Üç ve 6. aydaki değerlerde ise başlangıç değerlerine göre anlamlı azalma vardı ($p=0.000$). İki grup arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (şekil 6).

Trombosit:

Reaktif trombositozla seyreden 1. grupta tedavi başlangıcında ortalama trombosit sayısı $493.680 \pm 19.820 / \text{mm}^3$ iken, yirminci günde $370.960 \pm 15.490 / \text{mm}^3$, 3. ayda $292.160 \pm 14.240 / \text{mm}^3$ ve 6. ayın sonunda ise $265.440 \pm 11.500 / \text{mm}^3$ değerine düştü (Tablo 5). Bu grupta başlangıçtaki trombosit sayısı diğer günlerdeki trombosit sayıları ile karşılaştırıldığı zaman anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0.000$). İkinci grupta tedavi başlangıcında ortalama trombosit sayısı $313.960 \pm 10.620 / \text{mm}^3$ iken, yirminci günde $300.280 \pm 16.230 / \text{mm}^3$, 3. ayda $259.760 \pm 13.990 / \text{mm}^3$ ve 6. ayın sonunda ise $262.600 \pm 7910 / \text{mm}^3$ değerleri saptandı. Yine bu grupta başlangıçtaki trombosit sayısı diğer günlerdeki trombosit sayılarına nazaran anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0.05$). Başlangıçtaki değerler açısından kıyaslandığı zaman ise 1. gruptaki hastalarda trombosit sayısı, 2. gruptaki hastalardan anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0.00$) (Şekil 7).

MPV:

Her iki grupta başlangıçtaki ortalama MPV değerleri sırasıyla 8.12 ± 0.13 fl ve 8.15 ± 0.12 fl olup (Tablo 5), 6 aylık tedavi süresince ve iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p<0.05$) (Şekil 8).

Serum demiri:

1. grupta tedavi başlangıcında ortalama serum demir düzeyi 31.36 ± 1.67 $\mu\text{g}/\text{dl}$ iken, 20. günde 50.68 ± 4.35 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 3. ayda 74.96 ± 4.08 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ve 6. ayın sonunda ise 89.64 ± 4.69 $\mu\text{g}/\text{dl}$ değerine ulaşmıştır. 2. grupta ise tedavi başlangıcında ortalama serum demir düzeyi 31.80 ± 1.94 $\mu\text{g}/\text{dl}$ iken, 20. günde 45.72 ± 2.55 $\mu\text{g}/\text{dl}$, 3. ayda 73.68 ± 3.95 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ve 6. ayın sonunda ise 91.84 ± 3.62 $\mu\text{g}/\text{dl}$ değerine ulaşmıştır (Tablo 5). Her iki gruptaki 20, 3.ay ve 6. aydaki artışlar başlangıç değerlerine göre anlamlı iken ($p<0.05$), iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Şekil 9).

Ferritin:

Birinci grupta tedavi başlangıcında ortalama serum ferritin düzeyi 9.08 ± 0.41 ng/dl iken, 20. günde 16.36 ± 1.12 ng/dl, 3. ayda 39.28 ± 2.45 ng/dl ve 6. ayın sonunda ise 63.64 ± 4.56 ng/dl değerine ulaşmıştır. İkinci grupta ise tedavi başlangıcında ortalama serum ferritin düzeyi 8.04 ± 0.34 ng/dl iken, 20. günde 18.40 ± 2.01 ng/dl, 3. ayda 36.12 ± 2.46 ng/dl ve 6. ayın sonunda ise 55.12 ± 3.31 ng/dl değerine ulaşmıştır (Tablo 5). Her iki gruptaki 20. gün, 3.ay ve 6. aydaki artışlar başlangıç değerlerine göre anlamlı iken ($p < 0.05$), iki grup arasında anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p > 0.05$) (Şekil 10).



TABLO 5. Reaktif trombositozlu ve normal trombosit sayısı olan demir eksikliği anemili hastalardaki tam kan sayımı parametreleri

	REAKTİF TROMBİTOZLU DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİLİ GRUP				NORMAL TROMBOSİT SAYISI OLAN DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİLİ GRUP				KONTROL GRUBU
	Başlangıç Ort.±SH	20. gün Ort.±SH	3. ay Ort.±SH	6. ay Ort.±SH	Başlangıç Ort.±SH	20. gün Ort.±SH	3. ay Ort.±SH	6. ay Ort.±SH	
Beyaz küre	7.88±0.44	7.43±0.28	8.15±0.25	8.16±0.28	7.33±0.52	6.97±0.25	7.22±0.28	7.26±0.22	7.22±0.29
Kırmızı küre	4.23±0.11	4.57±0.12	4.77±0.09	4.79±0.07	4.12±0.12	4.54±0.12	4.74±0.07	4.84±0.06	4.85±0.05
Hemogloblin	8.72±0.31	10.48±0.30	12.74±0.14	13.16±0.16	8.72±0.40	11.20±0.26	12.66±0.10	13.03±0.09	13.72±0.11
Hematokrit	27.56±0.83	32.52±0.80	38.59±0.50	39.38±0.45	27.71±1.08	34.59±0.70	38.46±0.31	39.82±0.27	39.50±1.52
MCV	62.71±1.45	70.11±1.12	78.30±0.80	82.84±0.97	65.85±1.59	74.41±1.12	81.74±0.64	84.84±0.34	83.77±0.18
MCH	20.59±0.97	23.48±0.72	27.55±0.48	29.37±0.53	20.65±0.67	24.81±0.61	28.61±0.36	30.12±0.38	29.35±0.18
MCHC	31.13±0.32	31.89±0.30	32.89±0.17	33.48±0.28	30.91±0.32	32.11±0.18	33.19±0.08	33.58±0.13	34.13±0.14
RDW	19.54±0.83	23.44±1.36	14.52±0.27	13.62±0.17	19.34±0.69	24.43±0.84	14.94±0.28	14.88±0.47	12.88±0.11
Trombosit	493.68±19.82	370.96±15.49	292.16±14.24	265.44±11.50	313.96±10.62	300.28±16.23	259.76±13.99	262.60±7.91	248.08±7.74
MPV	8.12±0.13	8.32±0.17	8.24±0.13	8.40±0.12	8.15±0.12	8.33±0.14	8.27±0.08	8.26±0.10	7.83±0.05
Serum demiri	31.36±1.67	50.68±4.35	74.96±4.08	89.64±4.69	31.80±1.94	45.72±2.55	73.68±3.95	91.84±3.62	98.08±4.12
SDBK	389.32±9.10	350.52±10.15	275.88±7.66	255.80±5.56	455.52±9.27	369.60±10.78	291.96±6.52	270.60±7.18	254.18±8.01
Ferritin	9.08±0.41	16.36±1.2	39.28±2.25	63.64±4.56	8.04±0.34	18.40±2.01	36.12±2.46	55.12±3.31	65.48±3.98

Ort: Ortalama, SH: Standart Hata

MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Ortalama hemoglobin konsantrasyonu, MCHC: Ortalama eritrosit hemogloblin konsantrasyonu, RDW: Eritrosit dağılım genişliği, MPW: Ortalama trombosit hacmi, SDBK: Serum demir bağlama kapasitesi.

Trombopoietin:

Reaktif trombositozlu grupta tedavi başlangıcında ortalama trombopoietin düzeyi 488.63 ± 44.26 pg/ml iken, 20. günde 382.46 ± 38.75 pg/ml, 3. ayda 454.63 ± 52.04 pg/ml ve 6. ayın sonunda ise 147.05 ± 7.78 pg/ml olarak saptandı. Trombosit sayısı normal olan 2. grupta ise tedavi başlangıcında ortalama trombopoietin düzeyi 160.19 ± 6.82 pg/ml iken, 20. günde 179.72 ± 6.35 pg/ml, 3. ayda 192.31 ± 15.88 pg/ml ve 6. ayın sonunda ise 169.30 ± 10.57 pg/ml olarak saptandı (Tablo 6). Kontrol grubunda ise TPO düzeyi 153.97 ± 4.15 pg/ml idi.

Bu sonuçlara göre trombositozlu grupta TPO düzeyi ilk 90 gün; hem kontrol hem de 2. gruba göre anlamlı şekilde yüksek seyrediyordu ($p=0.00$). Bu grupta ilk 90 gündeki değişiklik anlamlı bulunmaz iken, 180. günde anlamlı düşme mevcuttu ($p=0.00$). İkinci grupta TPO düzeyleri kontrol grubu ile aynı düzeyde seyrederken, günler arasındaki değişim anlamlı değildi ($p>0.05$). Yüz sekseninci gün sonundaki TPO düzeyleri arasında ise her 3 grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.587$) (Şekil 11).

İnterlökin-3:

Reaktif trombositozlu grupta tedavi başlangıcında ortalama İnterlökin-3 düzeyi 32.33 ± 1.76 pg/ml iken, 20. günde 25.23 ± 1.52 pg/ml, 3. ayda 22.36 ± 2.22 pg/ml ve 6. ayın sonunda ise 14.25 ± 1.01 pg/ml olarak saptandı. Trombosit sayısı normal olan 2. grupta ise tedavi başlangıcında ortalama İnterlökin-3 düzeyi 13.70 ± 0.73 pg/ml iken, 20. günde 10.15 ± 0.60 pg/ml, 3. ayda 9.06 ± 0.57 pg/ml ve 6. ayın sonunda ise 5.93 ± 0.44 pg/ml olarak saptandı (Tablo 6). Kontrol grubunda ise İL-3 düzeyi 5.27 ± 0.42 pg/ml idi. Trombositozlu grupta ölçülen İL-3 düzeyleri tüm günlerde giderek azalmasına rağmen hem kontrol hem de normal trombosit sayısı olan gruba göre anlamlı şekilde yüksek saptandı ($p=0.00$). Bu grupta İL-3 başlangıç değerine göre anlamlı şekilde azalarak 14.25 ± 1.01 pg/ml düzeyine

düşmesine rağmen kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman hala anlamlı olarak yüksek saptandı ($p=0.00$).

İkinci grupta ise ilk 90 gün içinde ölçülen İL-3 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek iken ($p=0.00$), 180. günde anlamlı şekilde düşerek kontrol grubu düzeyine ulaştı (Şekil 12).

İnterlökin-6:

Reaktif trombositozlu grupta tedavi başlangıcında ortalama İnterlökin-6 düzeyi 27.47 ± 3.07 pg/ml, 20. günde 28.89 ± 1.95 pg/ml, 90.günde 21.55 ± 2.25 pg/ml ve 180.gün sonunda ise 7.49 ± 0.69 pg/ml olarak saptandı. Trombosit sayısı normal olan 2. grupta ise tedavi başlangıcında ortalama İnterlökin-6 düzeyi 14.87 ± 1.75 pg/ml iken, 20. günde 13.64 ± 1.03 pg/ml, 90. günde 7.67 ± 0.61 pg/ml ve 180. gün sonunda ise 7.14 ± 0.86 pg/ml olarak saptandı. Kontrol grubunda ise İL-6 düzeyi 6.83 ± 0.21 pg/ml idi (Tablo 6).

İL-6 düzeyleri trombositozlu grupta ilk 90 günde, hem kontrol grubu hem de trombosit sayısı normal olan gruba göre anlamlı şekilde yüksek saptandı ($p=0.00$). Trombosit sayısı normal olan grupta ölçülen İL-6 düzeyleri ise ilk 20 gün içinde kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek iken, 90. günde düşerek 180. günde kontrol grubu düzeyine düştü. Her üç grupta 180. günde ölçülen İL-6 düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.748$) (Şekil 13).

İnterlökin-11:

Reaktif trombositozlu grupta tedavi başlangıcında ortalama İnterlökin-11 düzeyi 115.22 ± 5.44 pg/ml iken anlamlı şekilde azalarak 20. günde 88.86 ± 5.54 pg/ml, 3. ayda 63.25 ± 5.85 pg/ml ve 6. ayın sonunda ise 27.74 ± 2.87 pg/ml düzeyine düştü. Trombosit sayısı normal olan 2. grupta ise tedavi başlangıcında ortalama İnterlökin-11 düzeyi 42.70 ± 6.35 pg/ml iken, 20. günde hafif bir artışla 47.25 ± 4.22 pg/ml düzeyine ulaştı. 3.

ayda ise hızlı bir düşme ile 17.85 ± 1.04 pg/ml ve 6. ayın sonunda ise 13.31 ± 1.18 pg/ml olarak saptandı. Kontrol grubunda ise İL-11 düzeyi 9.57 ± 0.66 pg/ml idi (Tablo 6).

İki grup karşılaştırıldığında, trombositozlu grupta tüm günlerde anlamlı bir yükseklik mevcuttu ($p=0.00$). Trombositozlu grupta ölçülen değerler giderek azalmasına rağmen 180. günde bile kontrol grubuna göre hala anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0.05$). Trombosit sayısı normal olan grupta ise ilk 90 gün kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik saptanırken ($p<0.05$), 180. günde farklılık ortadan kalktı (Şekil 14).



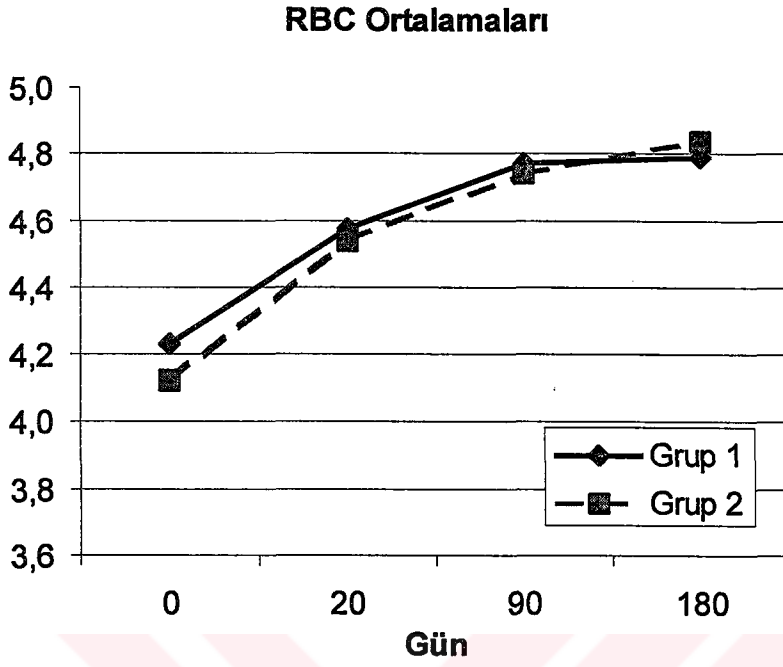
Tablo 6. Reaktif trombositozlu ve normal trombosit sayısı olan demir eksikliği anemili hastalardaki serum Trombopoietin, İnterlökin-3, İnterlökin-6, İnterlökin-11 düzeyleri.

	REAKTİF TROMBOSİTOZLU DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİLİ GRUP					NORMAL TROMBOSİT SAYISI OLAN DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİLİ GRUP					KONTROL GRUBU
	Başlangıç Ort. ± SH	20. gün Ort. ± SH	3. ay Ort. ± SH	6. ay Ort. ± SH		Başlangıç Ort. ± SH	20. gün Ort. ± SH	3. ay Ort. ± SH	6. ay Ort. ± SH		
İL-3	32.33±1.76	25.23±1.52	22.36±2.22	14.25±1.01		13.70±0.73	10.15±0.60	9.06±0.57	5.93±0.44		5.27±0.42
İL-6	27.47±3.07	28.89±1.95	21.55±2.25	7.49±0.60		14.87±1.75	13.64±1.03	7.67±0.61	7.14±0.86		6.83±0.21
İL-11	115.22±5.44	88.86±5.54	63.25±5.85	27.74±2.87		42.70±6.35	47.25±4.22	17.85±1.04	13.31±1.18		9.57±0.66
TPO	488.63±44.26	382.46±38.75	454.63±52.04	147.05±7.78		160.19±6.82	179.72±6.35	192.31±15.88	169.30±10.57		153.97±4.15

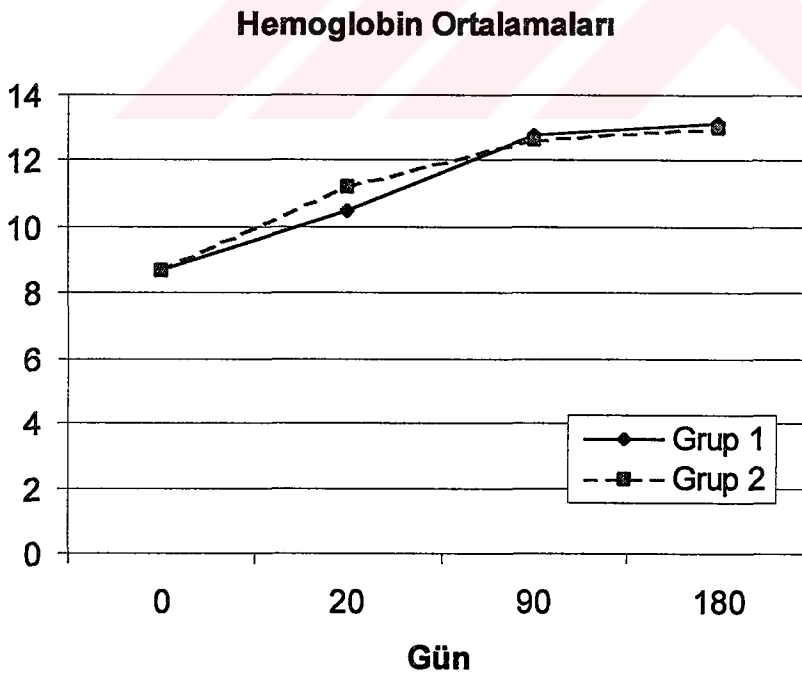
Ort: Ortalama, SH: Standart Hata.

İL-3: İnterlökin-3, İL-6: İnterlökin-6, İL-11: İnterlökin-11, TPO: Trombopoietin.

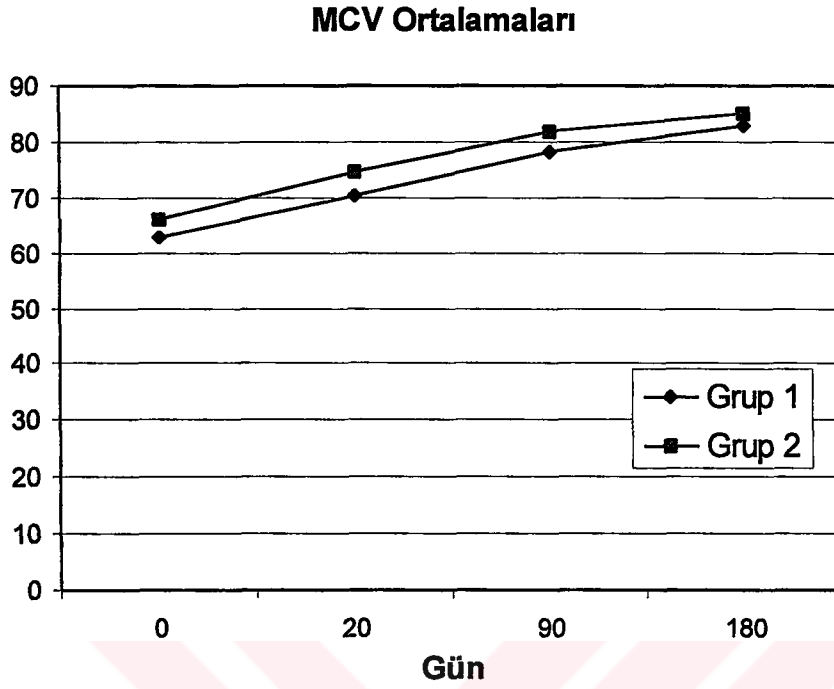
Şekil 1: Grupların RBC ortalamaları.



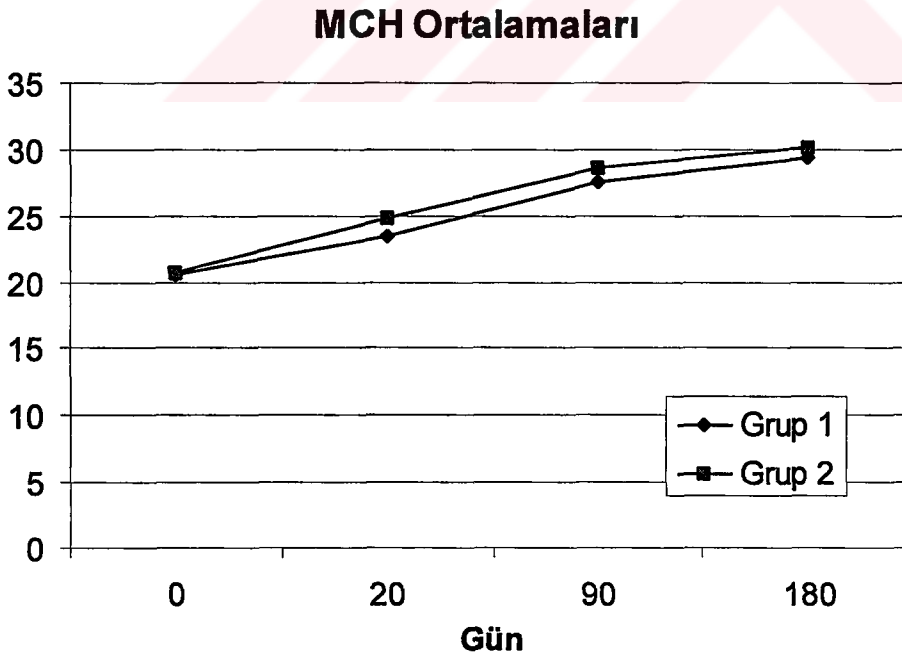
Şekil 2 : Grupların Hemogloblin ortalamaları.



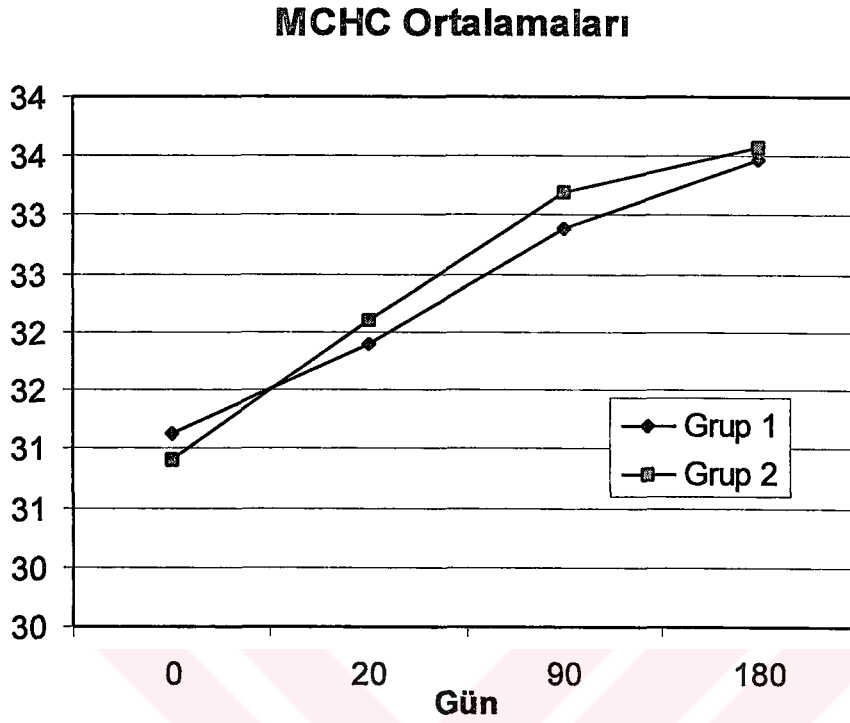
Şekil 3: Grupların MCV ortalamaları.



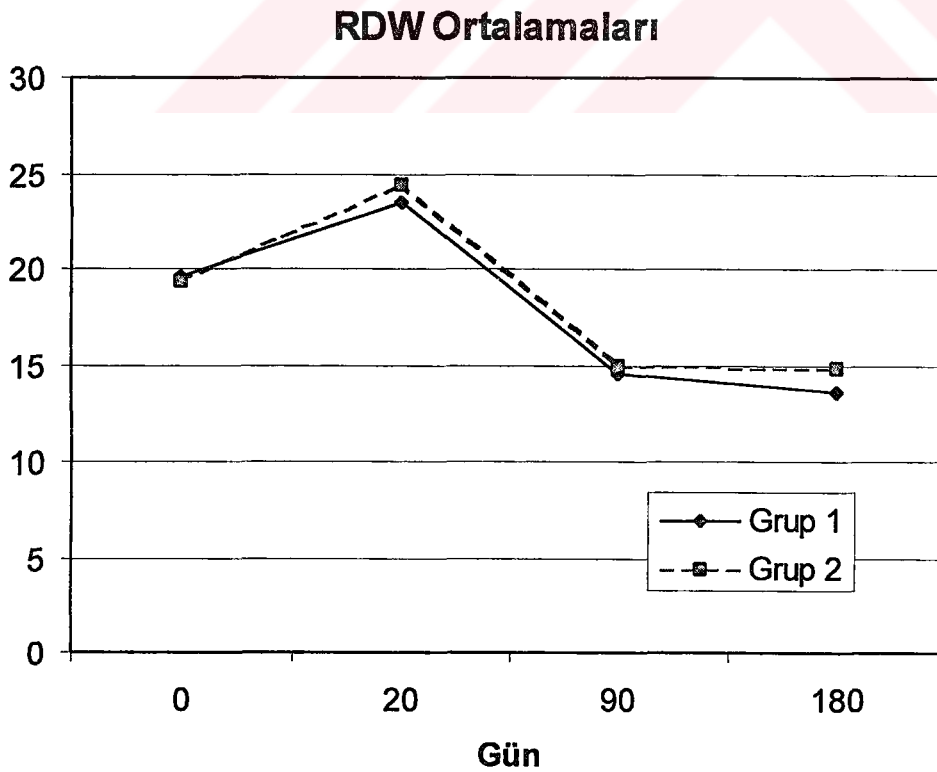
Şekil 4: Grupların MCH ortalamaları.



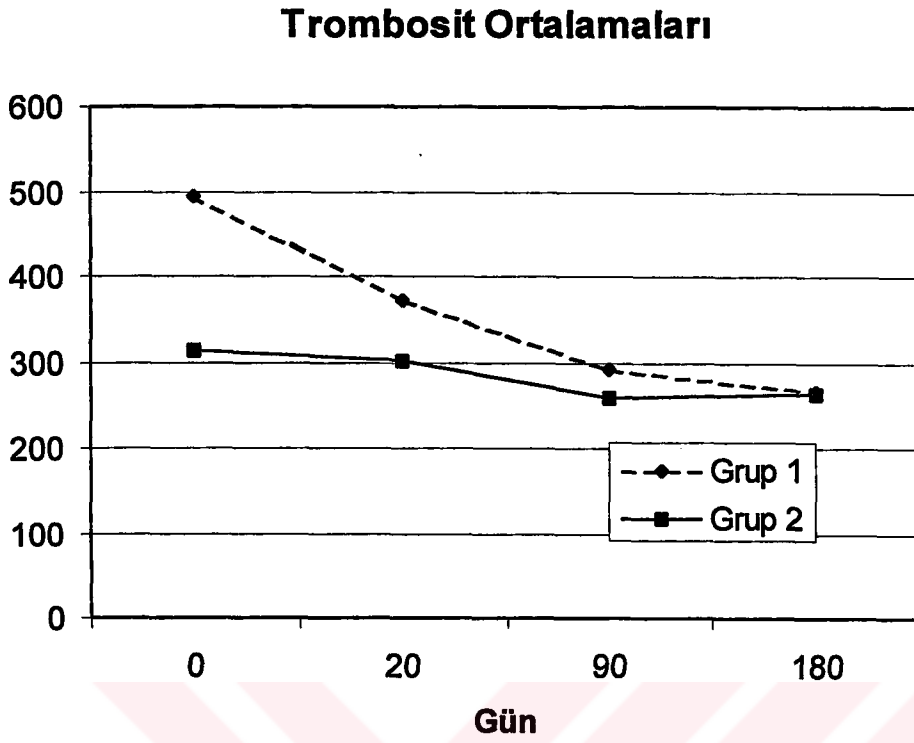
Şekil 5 : Grupların MCHC ortalamaları.



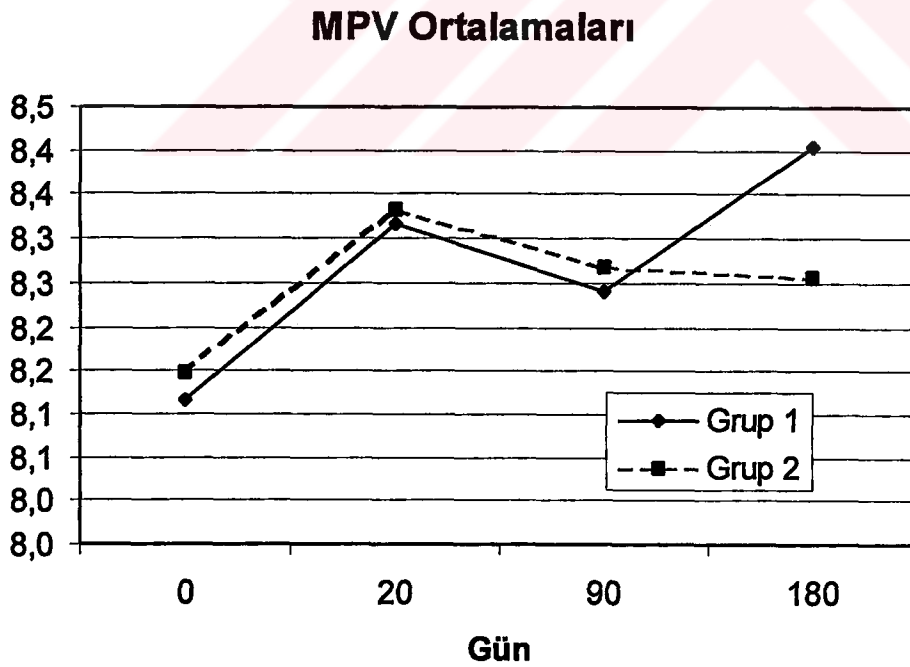
Şekil 6: Grupların RDW ortalamaları.



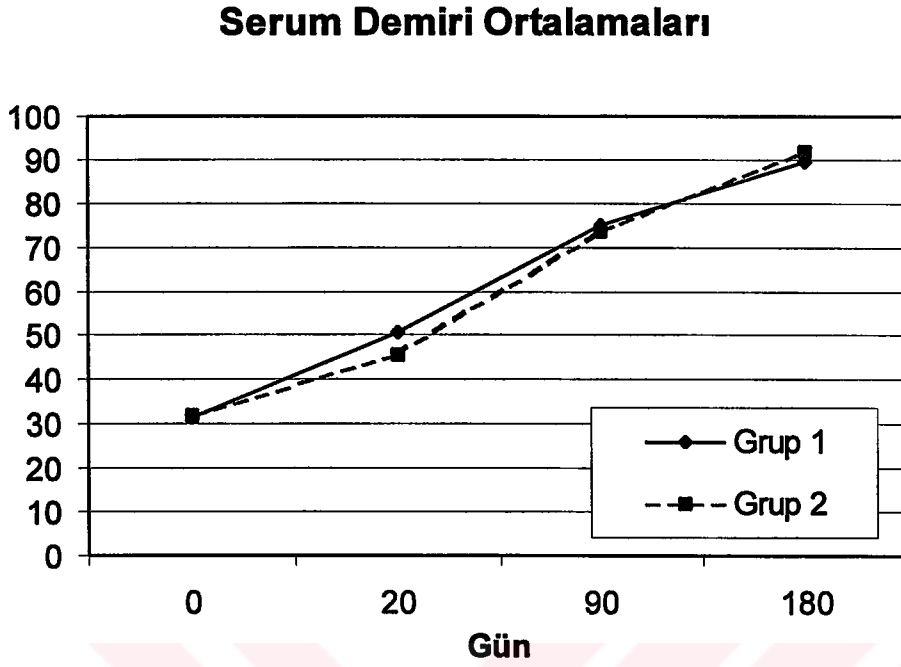
Şekil 7 : Grupların Trombosit ortalamaları.



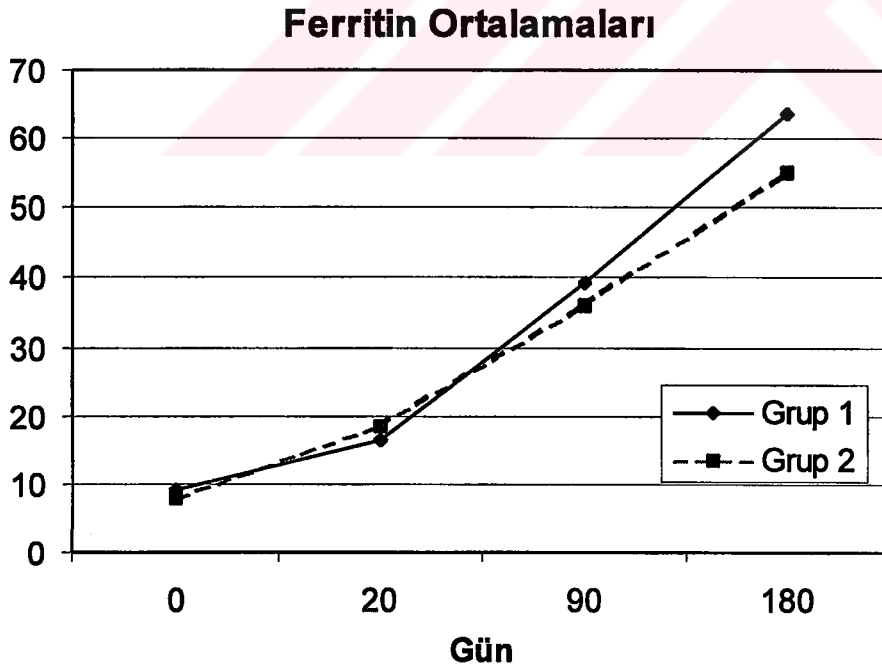
Şekil 8 : Grupların MPV ortalamaları.



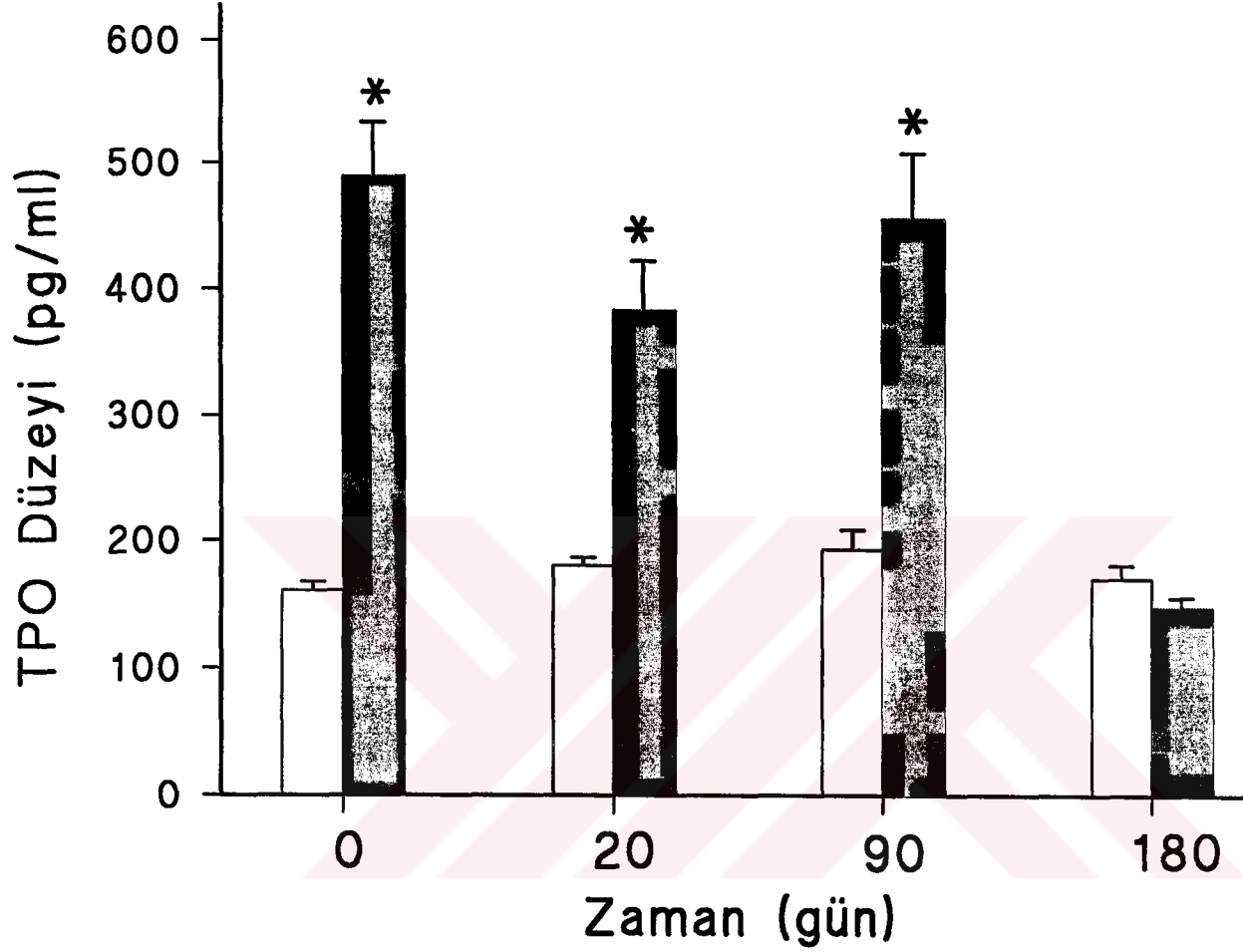
Şekil 9 : Grupların Serum Demiri ortalamaları.



Şekil 10 : Grupların Ferritin ortalamaları.



Şekil 11: Trombositozlu ve trombosit sayısı normal olan gruplarda serum Trombopoietin düzeylerinin karşılaştırılması

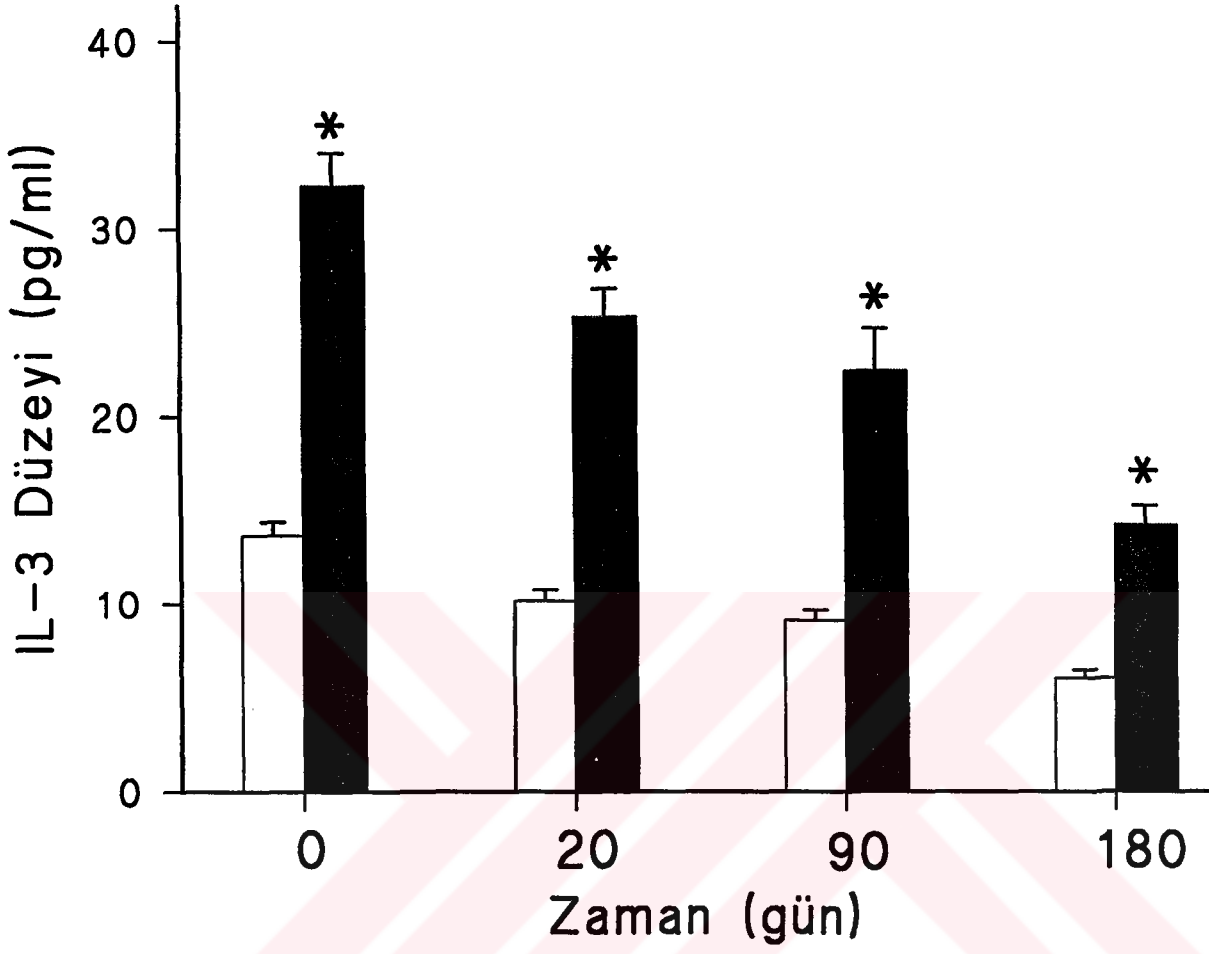


 Trombositozlu grup

 Trombosit sayısı normal olan grup

* İki grup arasında anlamlı fark var ($p<0.05$)

Şekil 12: Trombositozlu ve trombosit sayısı normal olan gruplarda serum İnterlökin-3 düzeylerinin karşılaştırılması

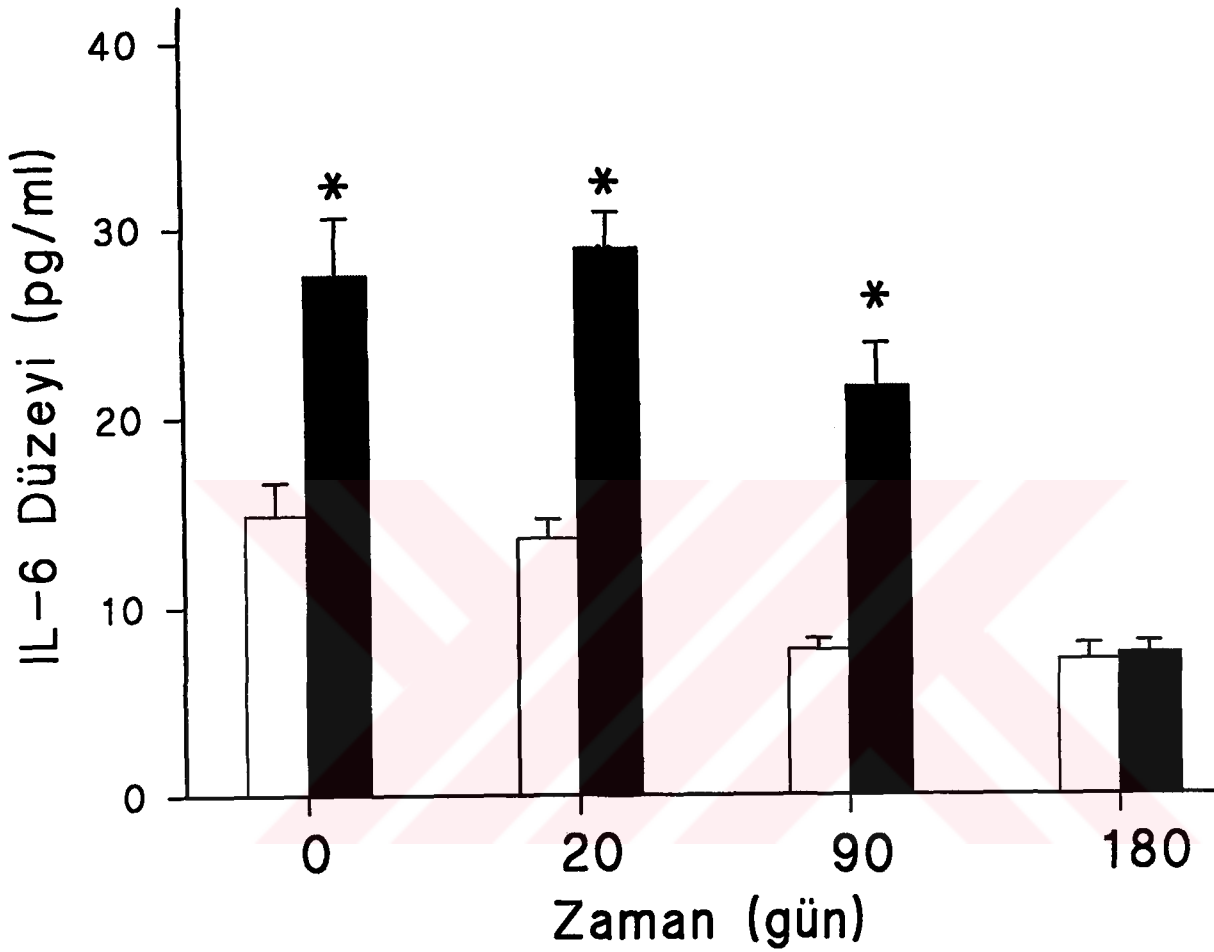


■ Trombositozlu grup

□ Trombosit sayısı normal olan grup

* İki grup arasında anlamlı fark var ($p<0.05$)

Şekil 13: Trombositozlu ve trombosit sayısı normal olan gruplarda serum İnterlökin-6 düzeylerinin karşılaştırılması

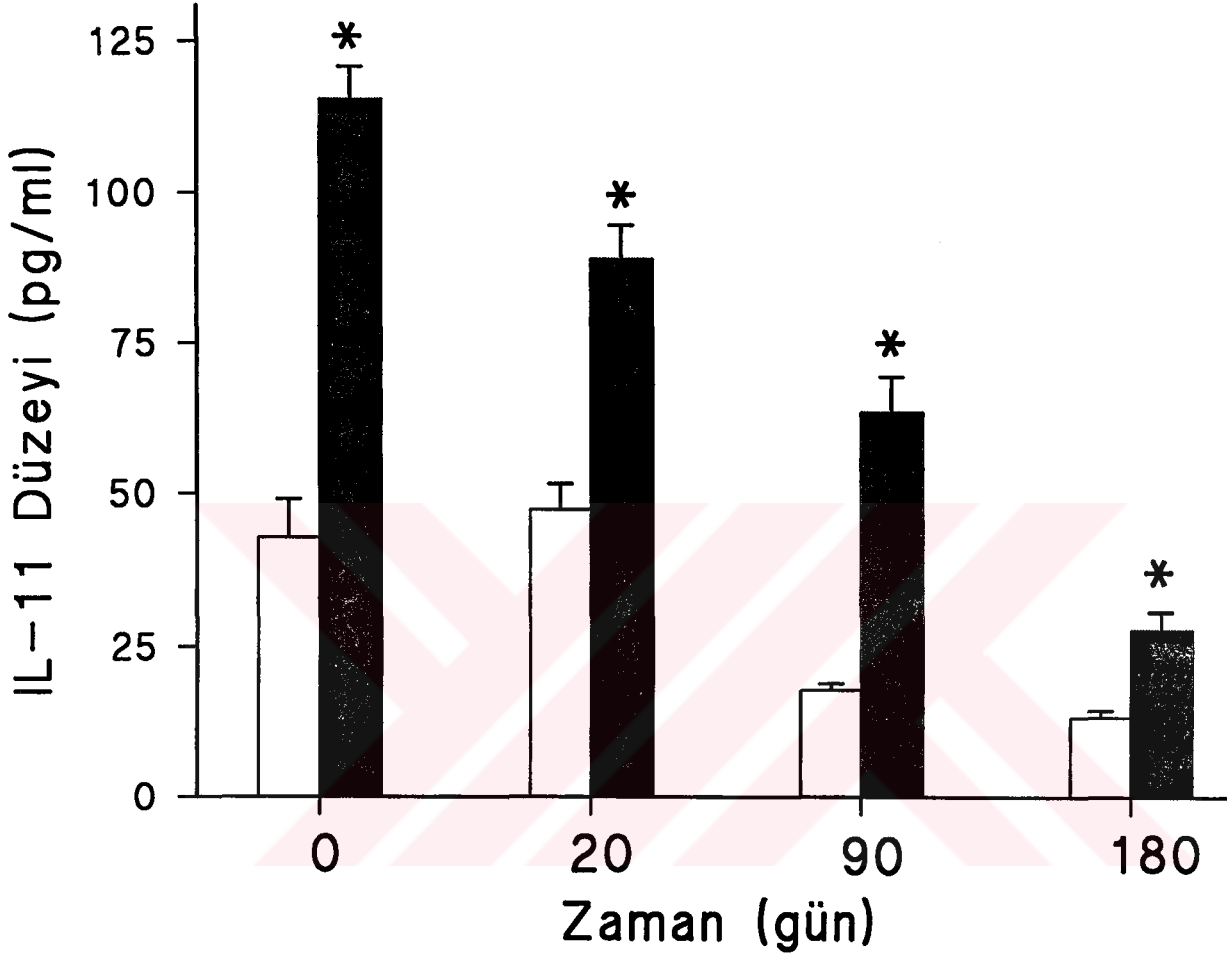


■ Trombositozlu grup

□ Trombosit sayısı normal olan grup

* İki grup arasında anlamlı fark var ($p < 0.05$)

Şekil 14: Trombositozlu ve trombosit sayısı normal olan gruplarda serum İnterlökin-11 düzeylerinin karşılaştırılması



 Trombositozlu grup

 Trombosit sayısı normal olan grup

* İki grup arasında anlamlı fark var ($p<0.05$)

5.TARTIŞMA

Hematopoez ve hematopoezi etkileyen faktörler son yıllarda en çok çalışılan konulardan birisidir. Uzun süreden beri üzerinde çalışılan ve klinik kullanıma giren eritropoietin (EPO), G-CSF, GM-CSF ve daha erken aşamalara etkili faktörlerden sonra son yıllarda trombopoetin (TPO) bulunmuştur⁷⁵. Klinik kullanıma girmesi için çalışmalara devam edilmektedir Hematopoezin erken aşamalarında İL-3, SCF, GM-CSF, İL-6, İL-11 ve İL-1 etki etmektedir. CFU-Meg oluşuktan sonra ise bu faktörlerin bir kısmı etkilerine devam etmekte ancak esas etkiyi trombopoietin göstermektedir^{58,75}. Endojen trombopoetin stem sellerde bulunan reseptörlerine bağlanarak megakaryosit kolonilerin oluşumunu ve oluşan megakaryositlerin maturasyonunu sağladığı bilinmektedir¹. Kemoterapiye bağlı gelişen trombositopenilerde bu faktörlerin kullanılması ile trombosit sayılarında artışın olması da bunu kanıtlamaktadır^{4,5}.

Son yıllarda trombositozlu hastalarda sitokin düzeyleri araştırılmakta ve patogeneizde nasıl rol oynadıkları merak edilmektedir. Bu çalışmada ise reaktif trombositozun önemli nedenlerinden biri olan demir eksikliği anemisinde trombopoezde etkili olan sitokin düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

İnsanlarda trombositoz myeloproliferatif hastalıklara bağlı primer ve kanser, kollajen doku hastalıkları, kronik inflamatuvar hastalıklar, infeksiyon ve demir eksikliği anemisinde olduğu gibi sekonder nedenlerle meydana gelmektedir. Primer trombositozda trombosit artışı her hastada olduğu halde, reaktif trombositozda neden olan hastalıklarda her hastada trombosit artışı görülmemektedir. Bu olayın fizyopatolojisi henüz net olarak aydınlatılamamıştır.

Primer trombositozda trombotik komplikasyonlarla sık karşılaşılırken, reaktif trombositozlu olgularda bu tür olaylar nadirdir. Ancak literatürde serabral infarkt, karotis arterde trombüs gibi oldukça ciddi trombotik komplikasyonlar bildirilmiştir^{6,7,8}.

Trombositlerle yapılan çalışmalarda, trombopoetinle trombositler üzerindeki reseptörler uyarıldığında fosfatidil inozitol 3-K'nın regülatör altünitesinde ve başka trombosit proteinlerinde tirozin fosforilasyonu olmaktadır. Sonuç olarak ise integrin alfa 2b, beta3 modülasyonu, fibrinojene bağlanmada artış ve trombosit agregasyonunda artış olmaktadır⁷⁶. TPO etkisiyle trombositlerde Stat3 ve Stat5 (Signal Transducers and Activators of Transcription) tirozin fosforilasyonu da artar. Bu moleküller sitokinlerin hücre üzerinde, özellikle DNA'daki etkilerine aracılık etmektedir. Bu moleküllerin trombositlerde bulunması ve TPO ile düzeylerinin artması reseptör sonrası olaylardan sorumlu olabilir, trombositlerdeki adezyon ve agregasyon artışının nedeni olabilir^{76,77}. Bu mekanizma özellikle TPO düzeyi yüksek bulunan reaktif trombositozlu olgulardaki trombotik komplikasyonları açıklayabilir.

Son yıllardaki çalışmalarda, TPO'in trombosit salınmadan önceki son dönem megakaryosit diferansiasyonunda mutlak gerekli olduğu bulunmuştur⁷⁸. Olgun megakaryosit olmayan, serumsuz bir ortamdaki fare kemik iliği sisteminde ortama TPO eklenmesiyle poliploid megakaryositler oluşmakta ve demarkasyonlu trombosit alanlarıyla sitoplazmik parçalanma olmaktadır. Bu gelişmeler ortamda İL-3, İL-6, İL-11 ve SCF olmadan da olmaktadır. Ortama çözümlü mpl eklenerek TPO bağlandığında ise megakaryositlerin diferansiasyonları, megakaryositlerin morfolojik olarak ayrıştırılmayacakları bir düzeyde durmaktadır. Yani terminal diferansiasyon için megakaryositlerin TPO'ye ihtiyaçları vardır. Ama bu bulgular TPO'in megakaryosit sistemindeki tek sitokin olduğu anlamına gelmez. Örneğin İL-3 fare megakaryosit öncülerinin çoğalmasını serumsuz ortamda artırır ama maturasyonunu artırmaz. İL-6, maymunlara verildiğinde megakaryosit boyut ve ploidisinde belirgin bir artış olur, trombosit sayısında geçici bir artış olur, toplam trombosit volümü değişmez. Ultrastrüktürel analizde değişik yapıda megakaryositler görülür, membranları fazladır, ama

belirgin trombosit adaları yoktur. Bu bulgular İL-6'nın fizyolojik olmaktan çok patolojik bir stimulan olduğunu düşündürmektedir.

Farelerde yapılan deneylerde bir grup fareye intraperitoneal trombopoietin verilirken, kontrol grubuna sadece taşıyıcı verilmiştir. Değerlendirme için kan sayımları, ilik ve dalaktaki hematopoietik kök hücre düzeyleri hesaplanmıştır. Üç gün içerisinde trombositlerde artış başlamış ve 5 gün içinde bu artış kontrollere göre % 400 olmuştur. İki gün içerisinde olgun megakaryositler artmaya başlamış ve 6. günde kontrollere göre 10 kat artmıştır. Ortalama megakaryosit alanında da artış gözlenmiştir. Aynı süre içinde kemik iliği ve dalaktaki megakaryosit öncül hücrelerde 20 kat artış izlenmiştir⁷⁹. Trombositopenik farede trombopoietin düzeyleri ve dolaşan trombosit sayısı arasında negatif ilişki saptanmıştır⁷⁹.

Primer trombositozda trombosit artışı trombopoetin ve İL-6 artışına bağlanmasına rağmen, yapılan bir çalışmada myeloproliferatif hastalıklı olgularda serum İL-1 alfa, İL-1 beta, İL-4 ve İL-6 düzeylerinin sağlıklı bireylerdeki düzeylere yakın veya baskılanmış olması, bu kişilerdeki trombosit artışının otonom nedenlere bağlı olabileceği şeklinde açıklanmıştır⁹. TPO düzeyinin de ölçüldüğü başka bir çalışmada ise primer trombositozlu hastalarda TPO düzeyleri yüksek bulunmuştur².

Trombosit kitlesiyle plazma TPO düzeyleri arasında ters ilişki vardır. Hayvan deneylerinde trombositler akut olarak azaldığında TPO düzeyi altı saat içinde artmaya başlar, üçüncü günde maksimum olur⁸⁰. TPO salınmasını sağlayan mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Trombositopenik, TPO düzeyleri yüksek hayvanlarda yapılan çalışmalarda karaciğerde TPO m-RNA'sının artmadığı görülmüştür⁷⁹. Bu nedenle trombosit sayısının doğrudan TPO katabolizmasını etkilediği, trombosit sayısı düşükse TPO katabolizması azalacağından düzeyinin yükseleceği, trombosit sayısı fazla ise tam tersinin olacağı düşünülmüştür⁸⁰. Bu çalışmalara rağmen trombopoetin ve İL-6

düzeylelerinin primer trombositozda yüksek olmasının, trombopoetin klirensindeki bozuklukla ilgili olabileceği ileri sürülmüştür².

Daha sonra yapılan çalışmalarda kemik iliğinde TPO m-RNA'sının trombositopenik hayvanlarda arttığı bulunmuştur. Sonuç olarak trombosit kitlesi en azından belli bir düzeyde TPO gen ekspresyonunu etkilemektedir⁸⁰. Ancak trombosit kitlesi yanında trombosit öncülü hücrelerin kitlesinin de önemi vardır. Örneğin İTP'de TPO düzeylerindeki yükselme ile trombosit sayıları arasında tam ilişki kurulamamıştır. Megakaryositlerin diğer sitokinlerle artırılması bu bulgunun nedeni olabilir

Reaktif trombositozu neden olan malign ve inflamatuvar olaylarda trombosit artışına trombopoetin ve İL-6 artışlarının nedeni olduğu bildirilmektedir. Özellikle epitelyal over kanserlerinde İL-6 artışının reaktif trombositozu nedeni olduğu bildirilmiştir⁸¹.

Reaktif trombositozu neden olan durumlarda megakaryopoez stimülasyonunun trombosit artışına yol açtığı, bunu sağlayan faktörlerin ise GM-CSF, G-CSF, İL-1, İL-3, İL-4, İL-11, Eritropoietin ve trombopoetin olduğu bildirilmektedir^{81,82}. Bizim çalışmamızda demir eksikliği anemisi ve trombositozun olduğu grupta İL-3, İL-6, İL-11 ve Trombopoetin yüksekliği de bu çalışmayı desteklemektedir. Demir eksikliği anemisinde bazı hastalarda reaktif trombositoz gözlenirken bazılarında trombosit sayısının normal olmasının nedeni açık değildir. Trombositozlu olan grupta megakaryopoez üzerinde etkili faktörlerin yüksekliği bunu izah edebilir. Bizim çalışmamızda da bu faktörler trombositozlu grupta trombosit sayısı normal olan demir eksikliği anemili gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Romatoid artrit gibi inflamatuvar olaylarda trombositozu İL-1 ve İL-4 gibi inflamatuvar olaylarda rolü olan faktörlerin de katkıda bulunabileceği bildirilmiştir⁹.

Reaktif trombositozda da trombopoetin düzeylerinin yüksek bulunmasının nedeni iki sebeple izah edilmeye çalışılmıştır². Birinci mekanizma; primer trombositozlarda olduğu gibi TPO klirensinde (katabolizma) defekt, diğer mekanizma ise trombopoetin

üretiminin trombosit – megakaryosit kitlesinin klirensinden daha fazla olması olarak düşünülmüştür. İkinci hipotezin inflamatuvar olayların kötüleşmesine paralel olarak, bu kişilerdeki trombosit sayısının artışının nedeni olabileceği düşünülmüştür. Demir eksikliğinde kronik kan kaybının reaktif trombositozu yol açabileceği düşünülebilir. Majör alt ekstremitte travmaları sonrası trombositoz görülmesi bu hipotezi desteklemektedir⁸³. Kronik kan kaybı sonucu kompanse olarak kemik iliğini stimule etmek amacıyla bu faktörlerde artış olabilir. Ayrıca bu hastalarda önceden geçirilmiş inflamatuvar olaylara bağlı sitokin artışları da bir diğer mekanizma olabilir.

Demir eksikliği anemisinde trombositozla beslenme arasında bir ilişki olabileceği konusunda yapılan bir çalışmada ; sadece sütle beslenen tavşanlarda dolaşıma çıkan ve kanda dolaşan trombosit sayılarında artış gözlenmiştir. Aynı çalışmada demir içeren yiyeceklerle beslenen tavşanlarda bu artış gözlenmemiştir⁷⁴. Bizim hastalarımızın diyetleri konusunda yeterli bilgiye sahip olamadığımız için bu konuda yorum yapılamamıştır. Yalnız demir tedavisi verildikten sonra hastalarda yüksek bulunan İL-3, İL-6, İL-11 ve trombopoetin'in azalması ile birlikte trombosit sayılarının da azalması bu çalışmayı desteklemektedir. Trombositozu olan demir eksikliği anemili grupta altı aylık demir tedavisi sonrası kan değerleri tamamen düzelmiş olup, beraberinde ise serum trombopoetik faktör seviyeleri tedrici olarak kontrol grubu düzeylerine inmiştir.

Sonuç olarak demir eksikliği anemisi ile trombositoz ve trombopoetide etkili growth faktörler arasında kesin bir ilişki vardır. Bu ilişkiyi açıklayabilecek cinsiyet, beslenme ve demir eksikliğine neden olan etyolojik faktörler arasında bağlantı olup olmadığını kesin açığa çıkarmak amacıyla yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.SONUÇ

1. Bu çalışmada reaktif trombositozla seyreden ve trombosit sayısı normal olan demir eksikliği anemili hastalardaki serum trombopoietin (TPO), İL-3, İL-6 ve İL-11 düzeylerinin karşılaştırılması amaçlandı.
2. İki grup arasında hemoglobin, MVC, MCH; MCHC, RDW, serum demiri ve ferritin düzeyleri arasında benzerlik varken, birinci grupta trombosit sayısı anlamlı şekilde yüksekti ($p<0.05$).
3. Trombositozlu grupta TPO düzeyi ilk 90 gün; hem kontrol hem de 2. gruba göre anlamlı şekilde yüksek seyrediyordu ($p<0.05$). İkinci grupta TPO düzeyleri kontrol grubu ile aynı düzeyde seyrederken 180 gün sonunda 3 grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).
4. Trombositozlu grupta ölçülen İL-3 düzeyleri tüm günlerde giderek azalmasına rağmen hem kontrol hem de normal trombosit sayısı olan gruba göre anlamlı şekilde yüksek saptandı ($p<0.05$). İkinci grupta ise ilk 90 gün içinde ölçülen İL-3 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek iken ($p<0.05$), 180. günde anlamlı şekilde düşerek kontrol grubu düzeyine ulaştı.
5. İL-6 düzeyleri trombositozlu grupta ilk 90 günde, hem kontrol grubu hem de trombosit sayısı normal olan gruba göre anlamlı şekilde yüksek saptandı ($p<0.05$). Trombosit sayısı normal olan grupta ölçülen İL-6 düzeyleri ise ilk 20 gün içinde kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek iken, 90. günde düşerek 180. günde kontrol grubu düzeyine düştü. Her üç grupta 180. günde ölçülen İL-6 düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p<0.05$).
6. Trombositozlu grupta İL-11 düzeylerinde tüm günlerde anlamlı bir yükseklik saptandı ($p<0.05$). Trombositozlu grupta ölçülen değerler giderek azalmasına rağmen 180. günde bile kontrol grubuna göre hala anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0.05$).

Trombosit sayısı normal olan grupta ise ilk 90 gün kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik saptanırken ($p<0.05$), 180. günde farklılık ortadan kalktı.

7. Sonuç olarak demir eksikliği anemisi ile trombositoz ve trombopoezde etkili growth faktörler arasında kesin bir ilişki vardır. Bu ilişkiyi açıklayabilecek cinsiyet, beslenme ve demir eksikliğine neden olan etyolojik faktörler arasında bağlantı olup olmadığını kesin açığa çıkarmak amacıyla yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



7.ÖZET

Hematopoez konusundaki araştırmalar sonucunda eritropoietin (EPO), G-CSF, GM-CSF gibi büyüme faktörlerinin klinik kullanıma girmesinin ardından megakaryopoez ve trombosit oluşumunda İL-3, SCF, GM-CSF, İL-6, İL-11, IL-1 ve trombopoietin'in önemli rol oynadığı saptanmıştır. Endojen trombopoetin stem sellerde bulunan reseptörlerine bağlanarak megakaryosit kolonilerin oluşumunu ve oluşan megakaryositlerin maturasyonunu sağladığı bilinmektedir.

İnsanlarda trombositoz myeloproliferatif hastalıklara bağlı primer ve kanser, kollajen doku hastalıkları, kronik inflamatuvar hastalıklar, infeksiyon ve demir eksikliği anemisinde olduğu gibi sekonder nedenlerle meydana gelmektedir.

Bu çalışmada demir eksikliği anemisine bağlı olarak gelişen trombositozlu 25 kadın hastadaki serum düzeyleri, trombosit sayısı normal olan demir eksikliği anemili 25 kadın hasta ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Hastalara demir tedavisi başlandı. Tedavinin başlangıcında, 20. gün, 90. gün ve tedavinin bitimi olan 180. gününde alınan serumlarında TPO, İL-3, İL-6, İL-11 düzeyleri ELİSA yöntemi ile çalışıldı.

TPO ve İL-6 düzeyleri ilk 90 gün; hem kontrol hem de trombosit sayısı normal olan demir eksikliği anemili gruba göre anlamlı şekilde yüksek saptanırken, 180. günde 3 grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). İL-3 ve İL-11 düzeyleri, tüm günlerde giderek azalmasına rağmen, trombositozlu grupta anlamlı şekilde yüksek saptandı ($p<0.05$). Trombosit sayısı normal olan grupta ise İL-3 ve İL-11 düzeyleri 180. gün sonunda kontrol grubu düzeyine düştü.

Yapılan çalışmalarda myeloproliferatif hastalıklı olgularda serum İL-1alfa, İL-1beta, İL-4 ve İL-6 düzeylerinin sağlıklı bireylerdeki düzeylere yakın veya suprese olması, bu kişilerdeki trombosit artışının otonom nedenlere bağlı olabileceği şeklinde açıklanırken,

reaktif trombositozlu hastalarda sitokin düzeylerinin yüksek saptanması trombositoz oluşumunda önemli rol oynadıklarını göstermiştir. Bu çalışmada trombositozu olan demir eksikliği anemili hastalarda serum TPO, İL-3, İL-6, İL-11 düzeylerinin yüksek saptanması bu çalışmaları desteklemektedir. Trombosit kitlesiyle plazma TPO düzeyleri arasında ters ilişki olduğu bilinmektedir. Reaktif trombositozda da trombopoetin düzeylerinin yüksek bulunmasının nedeni iki sebeple izah edilmeye çalışılmıştır. Birinci mekanizma; primer trombositozlarda olduğu gibi TPO klirensinde (katabolizma) defekt , diğer mekanizma ise trombopoetin üretiminin trombosit – megakaryosit kitlesinin klirensinden daha fazla olması olarak düşünülmüştür.

Sonuç olarak demir eksikliği anemisi ile trombositoz ve trombopoezde etkili growth faktörler arasında kesin bir ilişki vardır. Bu ilişkiyi açıklayabilecek cinsiyet, beslenme ve demir eksikliğine neden olan etyolojik faktörler arasında bağlantı olup olmadığını kesin açığa çıkarmak amacıyla yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. KAYNAKLAR

1. Nichol J.L, Hokom M.M, Hornkohl A, Sheridan W.P, Kato T, Li Y.S, Bartley T.D. Megakaryocyte growth and development factor analysis of in vitro effect on human megakaryopoiesis an endogenous serum levels during chemotherapy induced thrombocytopenia. *Jn of Clin Invest* 1995;2973-78.
2. Cerutti A, Custodi P, Duranti M, Noris P, Balduini L.C. Thrombopoietin levels in patients with primary and reactive thrombocytosis. *Br. Jn. Haem* 1997;99:281-84.
3. Stephen N, Jin Z, Avraham H, Miyazaki Y. Transcriptional regulation of IL-3 expression in megakaryocytes. *Blood* 1996;88:66-74.
4. Gordon S.M, Stevens J.W, Battiato A.L, Loewy J, Loesch D, Breeden E. A phase I trial recombinant human IL-11 in women with breast cancer receiving chemotherapy. *Blood* 1996;87:3615-24.
5. Fanucchi M, Glaspy J, Crawford J, Garst J, Figlin R, Sheridan W. Effects of PEG-conjugated recombinant human megakaryocyte growth and development factor on platelet counts after chemotherapy for lung cancer. *The New England Journal of Medicine* 1997;336:404-9.
6. Saxena VK, Brans C, Crols R. Multiple cerebral infarctions in a young patient with secondary thrombocythemia due to iron deficiency anemia. *Acta Neurol* 1993;15:297-302.
7. Akins P.T, Glenn S, Nemeth P.M, Derdeyn C.P. Carotid artery thrombus associated with severe iron deficiency anemia and thrombocytosis. *Stroke*. 1996;27:1002-5.
8. Scodotti U, Colonna F, Ludovici L. Mild thrombocytosis secondary to iron deficiency anemia and stroke. *Riv Neurol* 1990;60:146-147.

9. Haznedaroğlu İ, Ertenli İ, Özcebe Ö.İ, Kiraz S, Özdemir Ö, Sayinalp N.M. Megakaryocyte-related interleukins in reactive thrombocytosis versus autonomous thrombocythemia. *Acta Haematol* 1996;95:107-111.
10. Samuel A. Burstein, Jannie Breton-Gorius. Megakaryopoiesis and platelet formation. *William's Hematology* 1996; Chapter 118: 1149-61.
11. Nakeff A: Megakaryocytic cells. *Bibl Haematol* 1984;48:131.
12. Hoffman R. Regulation of megakaryocytopoiesis. *Blood* 1989;74:1196.
13. Nakahata T, Ogawa M. Identification in culture of a class of hemopoietic colony-forming units with extensive capability to self-renew and generate multipotential hemopoietic colonies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982;79:3843-7 .
14. Fauser AA, Messner HA. Identification of megakaryocytes, macrophages, and eosinophils in colonies of human bone marrow containing neutrophilic granulocytes and erythroblasts. *Blood* 1979;53:1023-7.
15. Briddell RA, Brandt JE, Straneva JE, Srouf EF, Hoffman R. Characterization of the human burst-forming unit-megakaryocyte. *Blood* 1989;74:145-51.
16. Debili N, Issaad C, Masse JM, Guichard J, Katz A, Breton-Gorius J, Vainchenker W. Expression of CD34 and platelet glycoproteins during human megakaryocytic differentiation. *Blood* 1992;80:3022-35.
17. Debili N, Kieffer N, Nakazawa M, Guichard J, Titeux M, Cramer E, Breton-Gorius J, Vainchenker W. Expression of platelet glycoprotein Ib by cultured human megakaryocytes: ultrastructural localization and biosynthesis. *Blood* 1990;76:368-76.
18. Mazur EM, Hoffman R, Bruno E. Regulation of human megakaryocytopoiesis. An in vivo analysis. *J Clin Invest* 1981;68:733-41.
19. De Alarcon PA. Megakaryocyte colony-stimulating factor (Mk-CSF): its physiologic significance. *Blood Cells* 1989;15:173-85.

20. Hoffman R, Yang HH, Bruno E, Straneva JE. Purification and partial characterization of a megakaryocyte colony-stimulating factor from human plasma. *J Clin Invest* 1985;75:1174-82 .
21. Mazur EM, South K. Human megakaryocyte colony-stimulating factor in sera from aplastic dogs: partial purification, characterization, and determination of hematopoietic cell lineage specificity. *Exp Hematol* 1985;13:1164-72.
22. Mazur EM, Cohen JL, Newton J, Sohl P, Narendran A, Gesner TG, Mufson RA. Human serum megakaryocyte colony-stimulating activity appears to be distinct from interleukin-3, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and lymphocyte-conditioned medium. *Blood* 1990;76:290-7.
23. Kawakita M, Miyake T, Kishimoto S, Ogawa M. Apparent heterogeneity of human megakaryocyte colony- and thrombopoiesis-stimulating factors: studies on urinary extracts from patients with aplastic anaemia and idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1982;52:429-38.
24. Hoffman R, Mazur E, Bruno E, Floyd V. Assay of an activity in the serum of patients with disorders of thrombopoiesis that stimulates formation of megakaryocytic colonies. *N Engl J Med* 1981;305:533-8.
25. Wendling F, Varlet P, Charon M, Tambourin P. MPLV: a retrovirus complex inducing an acute myeloproliferative leukemic disorder in adult mice. *Virology* 1986;149:242-6.
26. Kaushansky K, Lok S, Holly RD, Broudy VC, Lin N, Bailey MC, Forstrom JW, Buddle MM, Oort PJ, Hagen FS, et al. Promotion of megakaryocyte progenitor expansion and differentiation by the c-Mpl ligand thrombopoietin. *Nature* 1994;369:568-71.
27. Lok S, Kaushansky K, Holly RD, Kuijper JL, Lofton-Day CE, Oort PJ, Grant FJ, Heipel MD, Burkhead SK, Kramer JM. Cloning and expression of murine

- thrombopoietin cDNA and stimulation of platelet production in vivo. *Nature* 1994;369:565-8.
28. Kaushansky K. The mpl ligand: molecular and cellular biology of the critical regulator of megakaryocyte development. *Stem Cells* 1994;12 Suppl 1:91-6; discussion 96-7.
 29. Lok S, Foster DC. The structure, biology and potential therapeutic applications of recombinant thrombopoietin. *Stem Cells (Dayt)* 1994;12:586-98.
 30. Navarro S, Debili N, Le Couedic JP, Klein B, Breton-Gorius J, Doly J, Vainchenker W. Interleukin-6 and its receptor are expressed by human megakaryocytes: in vitro effects on proliferation and endoreplication. *Blood* 1991;77:461-71.
 31. Oon SH, Williams N Biochemical characterization of an in-vitro murine megakaryocyte growth activity: megakaryocyte potentiator. *Leuk Res* 1986;10:403-11.
 32. Williams N. Is thrombopoietin interleukin 6? *Exp Hematol* 1991;19:714-8.
 33. Bruno E, Hoffman R. Effect of interleukin 6 on in vitro human megakaryocytopoiesis: its interaction with other cytokines. *Exp Hematol* 1989;17:1038-43.
 34. Bruno E, Cooper RJ, Briddell RA, Hoffman R. Further examination of the effects of recombinant cytokines on the proliferation of human megakaryocyte progenitor cells. *Blood* 1991;77:2339-46.
 35. Imai T, Koike K, Kubo T, Kikuchi T, Amano Y, Takagi M, Okumura N, Nakahata T. Interleukin-6 supports human megakaryocytic proliferation and differentiation in vitro. *Blood* 1991;78:1969-74.
 36. Kimura H, Ishibashi T, Uchida T, Maruyama Y, Friese P, Burstein SA. Interleukin 6 is a differentiation factor for human megakaryocytes in vitro. *Eur J Immunol* 1990;20:1927-31.

37. Ishibashi T, Kimura H, Shikama Y, Uchida T, Kariyone S, Hirano T, Kishimoto T, Takatsuki F, Akiyama Y. Interleukin-6 is a potent thrombopoietic factor in vivo in mice. *Blood* 1989;74:1241-4.
38. Hill RJ, Warren MK, Levin J. Stimulation of thrombopoiesis in mice by human recombinant interleukin 6. *J Clin Invest* 1990;85:1242-7.
39. Asano S, Okano A, Ozawa K, Nakahata T, Ishibashi T, Koike K, Kimura H, Tanioka Y, Shibuya A, Hirano T. In vivo effects of recombinant human interleukin-6 in primates: stimulated production of platelets. *Blood* 1990;75:1602-5.
40. Mayer P, Geissler K, Valent P, Ceska M, Bettelheim P, Liehl E. Recombinant human interleukin 6 is a potent inducer of the acute phase response and elevates the blood platelets in nonhuman primates. *Exp Hematol* 1991;19:688-96.
41. Morris JC, Neben S, Bennett F, Finnerty H, Long A, Beier DR, Kovacic S, McCoy JM, DiBlasio-Smith E, La Vallie ER, Caruso A, Calvetti J, Morris G, Weich N, Paul SR, Crosier PS, Turner KJ, Wood CR. Molecular cloning and characterization of murine interleukin-11. *Exp Hematol* 1996;24:1369-76.
42. McKinley D, Wu Q, Yang-Feng T, Yang YC. Genomic sequence and chromosomal location of human interleukin-11 gene (IL11). *Genomics* 1992;13:814-9.
43. Elias JA, Zheng T, Einarsson O, Landry M, Trow T, Rebert N, Panuska Epithelial interleukin-11. Regulation by cytokines, respiratory syncytial virus, and retinoic acid. *J Biol Chem* 1994;269:22261-8.
44. Elias JA, Zheng T, Whiting NL, Trow TK, Merrill WW, Zitnik R, Ray P, Alderman EM. IL-1 and transforming growth factor-beta regulation of fibroblast-derived IL-11. *J Immunol* 1994;152:2421-9.
45. Lemoli RM, Fogli M, Fortuna A, Motta MR, Rizzi S, Benini C, Tura S. Interleukin-11 stimulates the proliferation of human hematopoietic CD34+ and CD34+CD33-DR-

cells and synergizes with stem cell factor, interleukin-3, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Exp Hematol* 1993;21:1668-72.

46. Jacobsen SE, Okkenhaug C, Myklebust J, Veiby OP, Lyman SD. The FLT3 ligand potently and directly stimulates the growth and expansion of primitive murine bone marrow progenitor cells in vitro: synergistic interactions with interleukin (IL) 11, IL-12, and other hematopoietic growth factors. *J Exp Med* 1995;181:1357-63.
47. Kaushansky K. Thrombopoietin: the primary regulator of megakaryocyte and platelet production. *Thromb Haemost* 1995;74:521-5.
48. Burstein SA, Mei RL, Henthorn J, Friese P, Turner K. Leukemia inhibitory factor and interleukin-11 promote maturation of murine and human megakaryocytes in vitro. *J Cell Physiol* 1992;153:305-12.
49. Teramura M, Kobayashi S, Hoshino S, Oshimi K, Mizoguchi H. Interleukin-11 enhances human megakaryocytopoiesis in vitro. *Blood* 1992;79:327-31.
50. Orazi A, Cooper RJ, Tong J, Gordon MS, Battiato L, Sledge GW Jr, Kaye JA, Kahsai M, Hoffman R. Effects of recombinant human interleukin-11 (Neumega rhIL-11 growth factor) on megakaryocytopoiesis in human bone marrow. *Exp Hematol* 1996;24:1289-97.
51. Du X, Williams A.D. Interleukin-11: Review of molecular, cell biology, and clinical use. *Blood* 1997;89:3897-3908.
52. Avraham H, Vannier E, Cowley S, Jiang SX, Chi S, Dinarello CA, Zsebo KM, Groopman JE. Effects of the stem cell factor, c-kit ligand, on human megakaryocytic cells. *Blood* 1992;79:365-71
53. Briddell RA, Bruno E, Cooper RJ, Brandt JE, Hoffman R. Effect of c-kit ligand on in vitro human megakaryocytopoiesis. *Blood* 1991;78:2854-9.

54. Andrews RG, Knitter GH, Bartelmez SH, Langley KE, Farrar D, Hendren RW, Appelbaum FR, Bernstein ID, Zsebo KM. Recombinant human stem cell factor, a c-kit ligand, stimulates hematopoiesis in primates. *Blood* 1991;78:1975-80.
55. Sakaguchi M, Kawakita M, Matsushita J, Shibuya K, Koishihara Y, Takatsuki K. Human erythropoietin stimulates murine megakaryopoiesis in serum-free culture. *Exp Hematol* 1987;15:1028-34.
56. Kimura H, Ishibashi T, Sato T, Matsuda S, Uchida T, Kariyone S. Megakaryocytic colony formation (CFU-Meg) in essential thrombocythemia: quantitative and qualitative abnormalities of bone marrow CFU-Meg. *Am J Hematol* 1987;24:23-30.
57. Bithell C.T. Thrombocytosis. *Wintrobe Clinical Hematology Chapter* 54 1993;1390-1397.
58. Gewirtz AM, Bruno E, Elwell J, Hoffman R. In vitro studies of megakaryocytopoiesis in thrombocytotic disorders of man. *Blood* 1983;61:384-9.
59. Buss DH, Stuart JJ, Lipscomb GE. The incidence of thrombotic and hemorrhagic disorders in association with extreme thrombocytosis: an analysis of 129 cases. *Am J Hematol* 1985;20:365-72.
60. Silverstein MN, Pettitt RM, Solberg LA Jr, Fleming JS, Knight RC, Schacter LP. Anagrelide: a new drug for treating thrombocytosis. *N Engl J Med* 1988;318:1292-4.
61. Vollertsen RS, Fuster V, Conn DL, Luthra HS, McDuffie FC, Bowie EJ, Ilstrup DM. In vivo platelet survival in rheumatoid arthritis. *Mayo Clin Proc* 1982;57:620-4.
62. Hollen CW, Henthorn J, Koziol JA, Burstein SA. Elevated serum interleukin-6 levels in patients with reactive thrombocytosis. *Br J Haematol.* 1991;79:286-90.
63. De Benedetti F, Massa M, Robbioni P, Ravelli A, Burgio GR, Martini A. Correlation of serum interleukin-6 levels with joint involvement and thrombocytosis in systemic juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1991;34:1158-63.

64. Quesenberry PJ, Ihle JN, McGrath E. The effect of interleukin 3 and GM-CSA-2 on megakaryocyte and myeloid clonal colony formation. *Blood* 1985;65:214-7.
65. Neben TY, Loebelenz J, Hayes L, McCarthy K, Stoudemire J, Schaub R, Goldman SJ. Recombinant human interleukin-11 stimulates megakaryocytopoiesis and increases peripheral platelets in normal and splenectomized mice. *Blood* 1993;81:901-8.
66. Preston FE, Martin JF, Stewart RM, Davies-Jones GA. Thrombocytosis, circulating platelet aggregates, and neurological dysfunction. *Br Med J* 1979;2:1561-3.
67. Walsh PN, Murphy S, Barry WE. The role of platelets in the pathogenesis of thrombosis and hemorrhage in patients with thrombocytosis. *Thromb Haemost* 1977;38:1085-96.
68. Taft EG, Babcock RB, Scharfman WB, Tartaglia. Plateletpheresis in the management of thrombocytosis. *Blood* 1977;50:927-33.
69. Kahn R, Romslo I, Lamvik J. Anemia in general practice . *British Journal of Nutrition* 1994;58:41-45.
70. Cook JD, Skikne SD, Baynes RD. Iron deficiency the global perspective. Hershko C. *Progress in iron research*. Plenum press 1994: 219-228.
71. Fairbanks FV. The Anemias Mazzlo JJ *Manual of Clinical hematology*. Second edition chapter 1994; 2:17-38.
72. Thomson W, Meola T, Lipkin M. Iron deficiency anemia. *Arch.Intern M* 1988 ;148:2128-2130.
73. Massey CA. Microcytic anemia Differential diagnosis and management of iron deficient anemia. *North Clinics of America* 1992;76;3:549-566.
74. Holter PH, Refsum HE. Postnatal anemia and thrombocytosis in suckling rabbits: influence of delayed weaning and iron supples. *Pediatr Hematol Oncol* 1998;5:157-168.

75. Gordon MS, Hoffman R. Growth factors affecting human thrombopoiesis: Potential agents for the treatment of thrombocytopenia. *Blood* 1992;80:302-307.
76. Chen J, Herceg-Harjacek L, Groopman JE, Grabarek J. Regulation of platelet activation in vitro by the c-mpl ligand, thrombopoietin. *Blood* 1995;86:4054-4062.
77. Miyakawa Y, Oda A, Druker BJ et al. Thrombopoietin induces tyrosine phosphorylation of stat 3 and stat 5 in human blood platelets. *Blood* 1996; 87:439-446.
78. Stead B.R, Harker A.L. Precinical studies and potential clinical applications of c-mpl ligand. *Current Opinion In Hematology* 1996;197-202.
79. Ulich TR, Castillo J, Yin S et al. Megakaryocyte growth and development factor ameliorates carboplatin induced thrombocytopenia in mice. *Blood* 1995; 86:971-976.
80. McCarty JM, Sprugel KH, Fox NE et al. Murine thrombopoietin mRNA levels are modulated by platelet count. *Blood* 1995; 86:3668-3675.
81. Gastl G, Plante M, Finstad L.C, Wong Y.G. High IL-6 in ascitic fluid correlate with reactive thrombocytosis in patients with epithelial ovarian cancer. *Brh Jn Hem* 1993,83:433-441.
82. Burstein S.A, Harker L.A. Control of platelet production. *Clinics in Hematology* 1993;12:3-22.
83. Choe E.I, Kasabian A.K, Kolker A.R, Karp N.S. Thrombocytosis after major lower extremity: mechanism and possible role in free flap failure. *Ann Plast Surg* 1996;36:489-494.

T.C. YÜREKÖZÜ FAKÜLTESİ HEMATOLOJİ
KURUMU BAĞLI OKUL BİRLİĞİ