



ERİŞKİN İDİYOPATİK TROMBOSİTOPENİK PURPURALI HASTALARDA IL-10 VE IL-17 GEN POLİMORFİZMİ*

IL-10 AND IL-17 GENE POLYMORPHISMS IN ADULT IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA

Tuğba Songül TAT¹, Mustafa YILMAZ², Ahmet ALVER³, Gülşah BAYÇELEBİ⁴

1. Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Allerji-İmmünoloji Birimi, Gaziantep, Türkiye
2. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Hematoloji BD, Trabzon, Türkiye
3. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, Trabzon, Türkiye
4. Serbest Hekim, İç Hastalıkları, Samsun, Türkiye

* Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir.

Öz

Amaç: İnterlökin 10 (IL-10) ve interlökin 17 (IL-17) sitokin gen polimorfizmlerinin otoimmün birçok hastalıkta araştırıldığı ve bazılarında anlamlı sonuçlar bulunduğu, ancak idiyopatik trombositopenik purpuralı (ITP) hastalarda IL-10 ve IL-17 gen polimorfizmleri ile ilgili yayınlanmış az sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Bu çalışmada erişkin ITP hastalarında IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmi ve bu sitokinlerin serum düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: 50 ITP' li hasta ve 51 sağlıklı kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmleri, DNA izolasyonu yapıldıktan sonra belirlenmiş ve bu sitokinlerin serum düzeyleri ELISA yöntemi ile aynı hasta grubunda toplam 32 hastada ve 32 sağlıklı kişide ölçülmüştür.

Bulgular: Hasta ve kontrol grupları arasında IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmleri dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, serum IL-10 düzeyleri ITP'li hastalarda sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,003). Serum IL-17 düzeyleri ise hasta ve kontrol grubunda benzer bulunmuştur. Ayrıca gruplar arasında yaş, cinsiyet, tedavi cevabı, tanı anındaki trombosit değerleri karşılaştırılmış ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Sonuç: Çalışmamızda ITP'li hastalarda sağlıklı kişilere göre IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmleri sıklıklarının farklı olduğu saptanmamış ancak IL-10 düzeyleri ITP'li grupta yüksek bulunmuştur. Sitokinlerin ITP'nin tanı ve takibindeki önemini açıklığa kavuşturabilmek için literatürdeki veriler de dikkate alındığında bu alanda daha geniş hasta içeren çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: İmmün trombositopenik purpura, İnterlökin-10, İnterlökin -17, Gen polimorfizmi.

Abstract

Aim: Interleukin 10 (IL-10) and interleukin 17 (il-17) cytokine gene polymorphisms were investigated in many autoimmune diseases and there were significant results in some studies but a few published studies on IL-10 and il-17 gene polymorphisms in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) were seen in the literature. In this study, we aimed to evaluate the IL-10 (-592 A/C) and IL-17 (A126G) gene polymorphisms and their serum levels in adult patients with ITP.

Materials and Methods: The IL-10 (-592 A/C) and IL-17 (A126G) gene polymorphisms in 50 patients with ITP and 51 healthy control groups were determined after DNA isolation and serum levels of these cytokines were measured by ELISA method, in 32 patients with ITP in the same group and 32 healthy volunteers.

Results: There was no statistically significant difference in IL-10 (-592 A/C) and IL-17 (A126G) gene polymorphisms between the patients and control groups, whereas serum IL-10 levels were found to be statistically significant higher in ITP patients than control group (p=0.003). Serum IL-17 levels were similar in patients and control groups. In addition, age, sex, response to treatment and platelet values at diagnosis were compared between the groups, but there was no statistically significant difference.

Conclusion: In our study, IL-10 (-592 A/C) and IL-17 (A126G) gene polymorphisms were not found to be different in patients with ITP compared to healthy subjects, although IL-10 levels were found to be higher in the ITP group than healthy group. When we look the datas in the literature, we thought that more studies with larger series are needed in this field in order to clarify the importance of cytokines in the diagnosis and follow-up of ITP.

Key Words: Immune thrombocytopenic purpura, Interleukin-10, Interleukin -17, Gene polymorphism.

GİRİŞ

ITP (idiyopatik trombositopenik purpura) trombositlerin immün yıkımı sonucunda

trombosit sayısının 100.000 /mm³'ün altında olması ile karakterize, kazanılmış, kanamayla seyreden otoimmün bir hastalıktır. Patogenezinde patolojik antiplatelet

Corresponding Author / Sorumlu Yazar:

Tuğba Songül TAT
Dr. Ersin Arslan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Allerji-İmmünoloji Birimi, Gaziantep, Türkiye
E-posta: tugbasongultat@yahoo.com

Article History / Makale Geçmişi:

Date Received / Geliş Tarihi: 03.05.2018
Date Accepted / Kabul Tarihi: 29.06.2018

antikorlarının yanında, bozulmuş megakaryopoezis, T hücre aracılıklı trombosit yıkımı gibi mekanizmalar rol oynamakla birlikte her bir hastada rol oynayan mekanizma değişkendir¹.

ITP'nin patogenezinin sıklıkla trombosit membran glikoproteinlerine karşı, oto reaktif B hücrelerinden yapılan spesifik immunglobulin G (Ig G) oto antikorları aracılıklı artmış trombosit yıkımı ile birlikte, megakaryositten trombosit üretiminin inhibisyonu ile ilişkili olduğu açık olarak tespit edilmiştir. Ek olarak son zamanlarda anormal T hücre yanıtının ITP'nin gelişmesinden ve progresyonundan sorumlu olduğu tanımlanmıştır^{1,2}.

Adaptif immün sistemin düzenlenmesinde T helper (Th) hücre alt grupları ve T hücre ilişkili sitokinler önemli rol oynamaktadır³. Th1 hücreleri, başta interferon gama (IFN- γ) sitokini üreterek, hücre içi patojenlere karşı savunmada, otoimmün hastalıklarda ve doku hasarında ana rolü oynamaktadır. Th2 hücreleri ise IL-4, IL-5 ve IL-13 sitokinleri ile paraziter enfeksiyonlarda ve allerjik hastalıklarda rol alan Th alt grubudur³. Th1/Th2 dengesinin de ITP patogenezinde önemli rol oynadığı, bu dengede Th1 yönünde bir kayma olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir^{4,5}. Son dönemlerde Th17 hücrelerinin, patogenezinde oto immünitenin rol oynadığı birçok hastalıkta olduğu gibi ITP'de de önemli olduğu gösterilmiştir^{6,7}. Özellikle Th2 ve T regülatuar (Treg) hücrelerden salgılanan antiinflamatuvar bir sitokin olan interleükin (IL)-10'nun da bir çok otoimmün hastalık gibi ITP'de de rol oynadığı gösterilmiştir⁸⁻¹⁵. Sonuçta IL-10 ve IL-17 sitokinleri çok sayıda otoimmün hastalıkta araştırılmış ve hastalıkların patogenezinde

önemli rol oynadığı tespit edilmiştir¹⁴⁻¹⁶. Erişkin ITP'li hastalarda bu sitokinlerle ilgili yapılmış az sayıda çalışma mevcuttur^{6,10-13}. Bu çalışmada erişkin ITP hastalarında IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmi ve bu sitokinlerin serum düzeyleri incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada erişkin ITP'li hastalarda IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmlerini tespit ederek, sıklıklarının ITP'li hastalarda sağlıklı kişilere göre farklı olup olmadığının gösterilmesi, ayrıca ITP'li vakalarda ve kontrol grubunda IL-10 ve IL-17 serum düzeylerinin ölçülmesi, hasta ve kontrol gruplarında bu sitokinlerin serum düzeylerinin karşılaştırılması, serum sitokin düzeyleri ile ITP hastalarının trombosit sayıları ve yaşları arasında bir ilişki olup olmadığının irdelenmesi ve hasta grubunda tedavi cevabına göre sitokin düzeylerinin karşılaştırılması planlanmıştır.

Hastalar ve kontrol grubu

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı polikliniğine Eylül 2010-Eylül 2011 tarihleri arasında başvuran, çalışmaya katılmaya onam vermiş, 50 ITP'li hasta (41 kadın, 9 erkek hasta, yaş dağılımı 18-78 arasında) dahil edildi. Toplam 55 hastadan gen polimorfizmi çalışılmak üzere periferik venöz kan alındı ancak teknik nedenlerle DNA izolasyonu yapılamayan 5 hasta çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak yaş, cinsiyet uyumlu, çalışmaya katılmaya onan veren 51 sağlıklı herhangi bir otoimmün hastalığı olmayan bireyler seçildi (42 kadın, 9 erkek birey, yaş dağılımı 18-76 arasında).

ITP hastaları için tanı kriterleri

Trombosit sayısı mikrolitrede 100.000'in altında olan, fizik muayenede kanama bulguları dışında patolojik bulgusu olmayan, tam kan sayımı ve periferik yaymada trombositopeni dışında normal bulguları olan, HbsAg, HCV, HIV, ANA, Anti dsDNA negatif saptanan, göğüs radyografisi, tiroid fonksiyon testleri, idrar analizi, hemoglobin (demir eksikliği anemisi dışında) ve beyaz küre değerleri normal olan, splenomegalisi ve öyküsünde trombositopeni yapabilecek ilaç kullanım öyküsü olmayan hastalar ITP tanısı ile çalışmaya dahil edildiler. 60 yaş üstünde veya ITP yönünden şüpheli bulguları olan hastalara kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi yapılarak tanı kesinleştirildi.

IL-10 ve IL-17 gen polimorfizmlerinin saptanması

DNA izolasyonu

Çalışmaya dahil edilen her hastadan ve kontrol grubundaki bireylerden 4 mililitre periferik kan (EDTA'lı tüp) örneği alındı. Toplanan kan örneklerinden Fujifilm QuickGene DNA ekstraksiyon kiti ile DNA izole edildi. İzole edilen DNA'ların konsantrasyon ve saflıkları 260/280 nm dalga boylarında absorbanlarının ölçülmesiyle belirlendi, çözelti agaroz jelde yürütülerek DNA varlığı teyit edildi.

Genotip tayini

IL-10 (-592 A/C) polimorfizmi için 412 bp'lik bölgeyi kapsayan F: 5' CCT AGG TCA CAG TGA CGT GG 3' R: 5' GGT GAG CAC TAC CTG ACT AGC 3' primer çifti, IL-17F (A126G) için 470 bp'lik F: 5' GTG TAG GAA CTT GGG CTG CAT CAA T 3' R: 5' AGC TGG GAA TGC AAA CAA AC 3' primer çifti kullanılarak hedef bölgeler polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltıldı. PCR reaksiyonunda son

hacim 25 µl olacak şekilde 100ng DNA, 2,5 µl 10x buffer, 1,5 µl MgCl (50mM), 2mM'lık dNTP karışımından 2,5 µl, her bir primerden (10pM) 1 µl, 0,5 ünite Taq polimeraz (Vivantis) kullanıldı. IL-10 (-592 A/C) genotipini tayin için RsaI (Vivantis), IL-17 (A126G) genotipini tayin için Avall (Vivantis) restriksiyon enzimleri PCR ürünleri ile 37 C'de 16 saat inkübe edildi. Kesim reaksiyonu sonrası ürünler %2,5'lük agaroz jel elektroforezi ile görüntülendi.

IL-10 (-592 A/C) için jel elektroforezinde 412 bp'lik tek bant görülmesi CC, 236 ve 176 bp'lik iki bant AA, 412, 236 ve 176 bp'lik üç bant görülmesi AC genotipi ile uyumlu olarak değerlendirildi. IL-17 (A126G) için jel elektroforezinde 470 bp'lik tek bant AA, 395 ve 75 bp'lik 2 bant GG, 470, 395 ve 75 bp'lik üç bant AG genotipi ile uyumlu olarak değerlendirildi.

IL-10 ve IL-17 sitokin düzeylerinin saptanması

IL-10 ve IL-17 sitokin düzeyleri, sadece çalışmaya alındığı anda tedavi almayan hastalarda bakıldı. 55 ITP'li hasta grubunda tedavi almayan toplam 35 hasta mevcuttu. Bu hastalardan plazma IL-10 ve IL-17 sitokin düzeyleri saptanması için 2 mililitre periferik venöz kan örneği biyokimya tüpüne alındı. Alınan kanlar santrifüj edilip, -80 °C'de saklandı. 3Üç hastanın serumu hemolizli olması nedeniyle araştırma dışı bırakıldı. Toplam 32 hasta (24 kadın, 8 erkek hasta, yaş dağılımı 18-73 arasında) çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak yaş, cinsiyet uyumlu 32 sağlıklı, herhangi bir otoimmün hastalığı olmayan birey seçildi (27 kadın, 5 erkek, yaş dağılımı 18-72 arasında).

Serum IL-10 ve IL-17 düzeyleri ELISA yöntemi (IL-10 için Assay Max Human Interleukin-10 ELISA Kit, IL-17 için Bioscience Human IL-17 Platinum ELISA Kit) ile ölçüldü. Ölçümler üretici firmanın test klavuzunda önerdiği şekilde gerçekleştirildi.

İstatistiksel analiz

Araştırma verilerinin istatistiksel analizleri için SPSS 15.0 istatistik paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler kısmında; kategorik değişkenler sayı, yüzde verilerek, sürekli değişkenler ise normal dağılan veriler için ortalama \pm standart sapma ve normal dağılmayan veriler için ortanca (en küçüks- en büyük değer) ile sunulmuştur. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak değerlendirilmiştir. Normal dağılıma uymayan verilerde yapılan ikili grup karşılaştırma analizlerinde Mann-Whitney U testi, normal dağılıma uyan veriler için yapılan ikili grup karşılaştırma analizlerinde ise independent samples-t testi kullanılmıştır. Sitokin düzeyi trombosit değerleri ve yaş arasındaki ilişkiyi araştırmak için Spearman korelasyon analizi kullanılmıştır. Bu çalışmada p değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Etik kurul

Bu çalışma için Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (Eylül 2010 tarih ve 2010 /83 sayılı dosya numarası ile). Çalışmaya dahil edilen hastalar ve sağlıklı gönüllüler çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve onayları alınmıştır.

Çalışma desteği

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından iç hastalıkları uzmanlık bitirme tezi olarak desteklenmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmaya ITP tanısı olan 50 hasta, 51 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. ITP hastalarının 41 (%82)'i kadın, 9 (%18)'u erkek, kontrol grubunun 42 (%82,3)'si kadın, 9 (%17,7)'u erkekti. Hastaların, yaş dağılımı 18-78 arasında olup yaş ortalaması $41 \pm 13,5$ yıl, kontrol grubunun yaş dağılımı 18-76 arasında, yaş ortalaması $40,8 \pm 15$ yıldır.

Sitokin gen polimorfizmi çalışılan 50 ITP'li hastada 9 hasta (%18) daha önce ITP için tedaviye ihtiyaç duymamıştır. 41 hasta (%82) tedaviye ihtiyaç duymuştur. Tedaviye ihtiyaç duyan gruptan 25 hastaya birinci basamak tedavi (kortikosteroid/intavenöz immun globulin), 10 hastaya ikinci basamak tedavi (splenektomi/rituksimab), 6 hastaya üçüncü basamak tedavi (vinkristin/danazol/rituksimab) verilmiştir.

Çalışmaya alınan 50 ITP'li hastada ve 51 sağlıklı gönüllüde IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmi çalışılmış olup, hasta grubunda çalışmaya alındığı anda tedavi ihtiyacı göstermeyen toplam 32 hasta ve hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyet özelliklerine sahip 32 sağlıklı gönüllüde IL-10 ve IL-17 serum sitokin düzeyleri çalışılmıştır.

ITP hastalarında ve kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) gen polimorfizmi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (Tablo 1). ITP hastalarında AA genotipi %4, CA genotipi %34, CC genotipi

%62 olarak tespit edilirken kontrol grubunda bu oranlar sırasıyla %3,9, %43,1, %52,9 olarak tespit edildi.

ITP hastalarında ve kontrol grubunda IL-17 (A126G) gen polimorfizmi karşılaştırıldığında; ITP hastalarında AA genotipi %82, AG genotipi %18 olarak tespit edilirken kontrol grubunda AA genotipi %78,4, AG genotipi %21,6 olarak tespit edildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı (Tablo 1).

Tablo 1. ITP ve kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmi genotipi dağılımı

| Sitokin ve Genotipi | ITP'li hasta grubu (n=50) | Kontrol grubu (n=51) | P değeri |
|---------------------|---------------------------|----------------------|--------------------|
| IL-10 | | | |
| AA | 2 (% 4,0) | 2 (% 3,9) | >0,05 ¹ |
| CA | 17 (% 34,0) | 22 (% 43,1) | |
| CC | 31 (% 62,0) | 27 (% 52,9) | |
| IL-17 | | | |
| AA | 41 (% 82,0) | 40 (% 78,4) | >0,05 ² |
| AG | 9 (% 18,0) | 11 (% 21,6) | |

¹ Pearson Ki-Kare Testi

² Continuity Correction Ki-Kare Testi

ITP ve kontrol grubunda IL-10 serum sitokin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. IL-10 serum düzeyi ortalaması hasta grubunda $0,86 \pm 0,88$ ng/ml iken kontrol grubunda $0,33 \pm 0,26$ ng/ml idi ($p=0,003$). IL-17 serum düzeyi ortalaması hasta grubunda $2,6 \pm 1,8$ pg/ml olarak tespit edilirken, kontrol grubunda $2,3 \pm 2,0$ pg/ml idi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($P=0,58$).

Tedavi alan ITP hastalarında IL-10 (-592 A/C) sitokin gen polimorfizmi incelendi. Tedavi gereksinimi olmayan toplam 9 hastadan 5 hasta AC, 4 hasta CC genotipine sahip iken, AA genotipine sahip hasta olmadığı görüldü. Birinci basamak tedavi ile remisyona giren toplam 25 hastanın 1 tanesi AA, 6 tanesi AC, 18 tanesi CC genotipine sahipti. İkinci basamak tedavi verilen toplam 10 hastadan 1

hasta AA, 4 hasta AC, 5 hasta CC genotipine sahipti. Üçüncü basamak tedaviye ihtiyaç duyan toplam 6 hastadan 2 tanesi AC, 4 tanesi CC genotipine sahipti AA genotipine sahip hasta yoktu. IL-10 genotip polimorfizmi ile tedavi gereksinimleri ve tedavi başarı oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Tedavi alan ITP'li hastalarda IL-17 (A126G) sitokin gen polimorfizmi incelendiğinde tedavi gereksinimi olmayan toplam 9 hastadan 5 hastanın AA, 4 hastanın AG genotipine sahip olduğu görüldü. Birinci basamak tedavi ile remisyona giren toplam 25 hastanın 20 tanesi AA, 5 tanesi AG genotipine sahipti. İkinci basamak tedavi verilen toplam 10 hastadan hepsinin AA genotipine, üçüncü basamak tedaviye ihtiyaç duyan toplam 6 hastanın hepsinin de AA genotipine sahip olduğu görüldü. AA genotipli hastalarda tedavi başarısı daha düşük olduğu halde; muhtemelen vaka sayılarının azlığı nedeniyle IL-17 genotip polimorfizmi ile tedavi gereksinimleri ve tedavi başarı oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. ITP'li vakalarda cinsiyete göre IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) sitokin gen polimorfizmi dağılımı karşılaştırıldı. Anlamlı fark saptanmadı.

ITP'li hastalarda serum IL-10 düzeyleri ile trombosit sayıları arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($r=-0,073$; $p=0,360$). Yine serum IL-17 düzeyleri ile trombosit sayıları arasında ilişki saptanmadı ($r=-0,076$; $p=0,700$).

ITP'li hastalar arasında tedavi ihtiyacı olan (trombosit ≤ 30 bin/mikrolitre) ve tedavi ihtiyacı olmayan (trombosit >30 bin/mikrolitre) hasta grupları arasında, IL-10 ve IL-17 sitokin gen

polimorfizm çeşitliliği ile serum IL-10 ve IL-17 düzeyleri arasında da anlamlı fark yoktu. Yaş ile serum IL-10 düzeyleri arasında zayıf bir pozitif korelasyon tespit edilirken ($r=0,359$; $p=0,051$), yaş ile serum IL-17 düzeyleri arasında korelasyon yoktu.

TARTIŞMA

Bu çalışmada ITP hastalarında ve kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmleri çalışılmış, ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca ITP'li hastalarda sitokin gen polimorfizmleri ile trombosit sayısı, tedavi endikasyonu ve tedavi cevabı ilişkisi araştırılmış; gruplar arasında trombosit sayısı, tedavi endikasyonu ve tedavi cevapları açısından bir farklılık saptanmamıştır. Ek olarak bu çalışmada hasta ve kontrol gruplarında serum IL-10 ve IL-17 düzeyleri çalışılarak karşılaştırılmıştır. Serum IL-10 düzeyleri ITP'li hastalarda sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş; hasta grubunda serum IL-10 düzeyleri ile trombosit sayısı arasında bir pozitif korelasyon saptanmamıştır. Serum IL-17 düzeyleri ise hasta ve kontrol grubunda benzer bulunmuştur.

ITP'de Th17 ile ilgili farkı sonuçlar mevcuttur. Mad ve ark¹⁷ yaptığı çalışmada plazma sitokin konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre farklılık tespit etmezken, sonraki çalışmalarda Th17 yanıtının arttığı gösterilmiştir^{6,18-20}. ITP de anti-inflamatuar bir sitokin olan IL-10'un da azaldığı ve Treg fonksiyonlarında bozukluk olduğu gösterilmiştir^{21,22}.

Türkiye' de Pehlivan M ve arkadaşları 71 kronik ITP hastası ve sağlıklı kontrollerde IL-10 sitokin gen polimorfizmi çalışmışlar ancak

bizim çalışmamızdaki gibi istatistiksel olarak anlamlı fark saptamamışlardır¹¹. Saitoh T ve arkadaşları Japon 90 kronik erişkin ITP'li hasta ve 202 sağlıklı kontrolde -1082(G/A), -812(C/T), ve -592(C/A) IL-10 gen polimorfizmi çalışmışlardır. Bu çalışmada kronik ITP ve kontrol gruplarında genotip veya haplotip sıklığı arasında anlamlı fark bulunamamışlar ancak -592 AA genotipine sahip hastaların, -592 CC/CA genotipine sahip hastalara kıyasla ciddi trombositopeniye (trombosit sayısı < 10 bin/mikrolitre) sahip oldukları görülmüştür. Ek olarak ATA/ATA haplotipine sahip hastaların bu haplotipe sahip olmayanlara göre ciddi trombositopeniye sahip oldukları tespit edilmiştir¹². Kang-Hsi Wu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise akut ITP'li 50, kronik ITP'li 30 çocuk ve 100 sağlıklı bireyde IL-10 -627 C/A genotipini çalışmışlar ve bu çalışmada kronik ITP'li çocuklar ile kontrol grubunda anlamlı fark saptamışlar¹³. Başka bir çocukluk çağı ITP vakalarını inceleyen çalışmada da GCC haplotipi taşıyıp IL-10 yüksek olan vakalarda akut ITP gelişimi tespit edilmiş²³.

ITP de IL-17 gen polimorfizmi ile ilgili olarak Saitoh T ve arkadaşlarının çalışmasında kronik ITP'li 102 hasta ve 188 sağlıklı bireyde IL-17 F 7488 CC genotipini çalışmışlar ve kontrol grubuna kıyasla ITP'li hastalarda IL-17 F 7488 CC genotipinin daha az sıklıkta olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca çalışmada IL-17 F 7488 TT genotipine sahip olanların IL-17 7488 TC genotipine sahip olanlara kıyasla tanı anında ciddi trombositopenisinin (trombosit sayısı < 10 bin/ mikrolitre) olduğu tespit edilmiştir²⁴.

ITP'li hastalarda serum IL-10 ve IL-17 düzeylerinin çalışıldığı çok sayıda makale mevcuttur. Bir çalışmada IL-10 düzeyi 29

pediatrik yaş grubu ve 19 erişkin olmak üzere toplam 48 hasta ve 50 sağlıklı gönüllüde çalışılmış ve yaş ve serum sitokin seviyeleri arasında bizim çalışmamızdaki gibi anlamlı fark bulunmamıştır²⁵. Daoxin M ve arkadaşları toplam 29 erişkin kronik ITP'li hasta ve 38 sağlıklı kontrolde ELİSA ile IL-17, TGF-β, IL-6 ve IFN-γ plazma seviyelerini çalışmışlar ve kontrol grubu ile arasında fark bulamamışlardır¹⁷. Jiaan-Der Wang ve arkadaşları 57 kronik ITP'li pediatrik hastada ve 28 sağlıklı kontrolde IL-2, IL-4, IL-10, TGF-b1, IL-17 seviyelerini çalışmışlardır. Bu çalışmada hasta grubu çalışma esnasındaki trombosit sayılarına göre 3 gruba ayrılmıştır. Birinci grup aktif hastalığı olup, trombosit sayısı 50 bin /mikolitreten düşük olanlar, ikinci grup trombosit sayısı 50-150 bin/mikrolitre arasında olup stabil hastalığı olanlar, üçüncü grup ise trombosit sayısı 150 bin/mikrolitre üstünde olup remisyonda olanlar olarak alınmış. Sonuçta 3 hasta grubunda da IL-17 seviyesi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. IL-10 seviyesinde ise 3 grup ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır²⁶. Guo NH arkadaşlarının Çin'de ITP li hastalarda yapmış oldukları başka bir çalışmada IL-10 seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunurken, IL-17 seviyesinde anlamlı fark saptamamışlardır²⁷. Yine Çin' de Chang DY ve arkadaşlarının kronik ITP hastalarında yaptıkları bir çalışmada IL-10 ve IL-17 plazma seviyeleri ELİSA yöntemi ile bakılmış. 21 aktif hastalığı olan, 5 remisyonda olmayan ve 9 remisyonda olan ITP li hasta ve toplam 18 sağlıklı kontrolde bu çalışma yapılmıştır. Gruplar arasında IL-17 seviyesi ile fark saptanmamışken IL-10 seviyesi remisyonda olan ve sağlıklı bireylerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Plazma IL-10 seviyesi

trombosit sayısı ile pozitif olarak korele bulunmuştur²⁸. Literatürdeki veriler incelendiğinde bizim çalışmamıza benzer şekilde bir çok çalışmada serum IL-17 seviyeleri hasta ve kontrol grubunda farklılık göstermemiştir ancak Wang ve arkadaşları²⁹ ile TH 17 nin ITP nin gelişiminde önemli olduğunu göstermişlerdir. Yeni yayınlanan bir çalışmada da Qiao ve arkadaşları ITP de TH 17 ve Th 9 un arttığını göstermişlerdir³⁰.

Literatürde ITP dışında bir çok hastalıkta IL-10 ve IL-17 gen polimorfizmleri çalışılmış ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Graham RW ve arkadaşları Behçet hastalığında IL-10 1082 AA genotipinin zayıf olarak Behçet hastalığı ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada tüm Behçet hastalarında IL-10 819 T ile ilişki saptanmıştır³¹. Omid K ve arkadaşları 107 Graves hastası ve 140 sağlıklı bireyde IL-10 -1082A/G, -819C/T, -592C/A genotipini çalışmışlardır. Bu çalışmada hastalarda IL-10 -1082G allel ve GG genotipinin, -819T allel, TC ve TT genotipinin, -592A allel, AC ve AA genotipinin anlamlı olarak fazla olduğu tespit edilmiştir¹⁴. Abdullah A ve arkadaşları da 83 Suudi vitiligo hastası ve 101 sağlıklı kişide çalıştıkları IL-10 -1082 GG, -592 CC, -819 CC genotiplerinin vitiligo hastalarında kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğunu saptamışlardır³². Kuzey Hindistan'da romatoid artritli 222 hasta ve 208 sağlıklı bireyde Deepali G ve arkadaşları IL-10 geninin -819/-592 ve -1082 pozisyonuna bakmışlar ve -819 /-592 polimorfizminin yüksek hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğunu saptamışlar¹⁵.

IL 17 F ile çeşitli immünolojik hastalıklar arasında ilişkiyi gösteren birçok polimorfizm çalışması mevcuttur. Won-Cheoul J ve arkadaşları Koreli Behçet hastalarında IL-17

geni A126G, G155A, ve A161G polimorfizmini çalışmışlardır. A126G polimorfizminde Behçet hastaları ve kontrol grubunda farklılık saptanmıştır¹⁶. Tomiyasu A ve arkadaşları ülseratif kolitli hastalarda IL-17A (rs2275913, G-197A) polimorfizmini ve IL-17F (rs763780, 7488T/C) genini çalışmışlardır. Hem 197A ve hem de 7488 T allellerinin önemli derecede ülseratif kolit gelişimi ile ilişkili olduğunu saptamışlardır³³. Paradowska-Gorycka A ve arkadaşları 220 Polyalı romatoid artrit hastası ve 106 sağlıklı kontrolde IL-17F His161Arg (7488A/G; rs763780) ve Glu126Gly (7383A/G; rs2397084) polimorfizmini çalışmışlardır. Bu çalışmada hastalıkla polimorfizmler arasında korelasyon tespit edilmemiştir, ancak His161Arg varyantı hastalığın aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur³⁴.

Sonuç olarak literatürde IL-10 ve IL-17 gen polimorfizmlerinin bir çok otoimmün hastalıklardaki sıklığını inceleyen çalışmalar vardır. ITP hastalarında literatürdeki veriler de dikkate alındığında bu alanda daha geniş hasta serili çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Bu çalışmanın kısıtlılığı olarak; vaka sayısı azlığı nedeniyle anlamlı farklılık olasılığı olan parametrelerde istatistiksel anlam verecek düzeye ulaşamamasını ve çalışma kaynaklarının sınırlı olması nedeniyle fazla sayıda sitokin gen polimorfizm bölgesi çalışamamasını görmekteyiz.

Kaynaklar

1. Lambert MP, Gernsheimer TB. Clinical updates in adult immune thrombocytopenia. *Blood*. 2017;129(21):2829–35.
2. Semple JW, Provan D. The immunopathogenesis of immune thrombocytopenia: T cells still take center-stage *Curr Opin Hematol*. 2012;19(5):357-62
3. Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in

autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine*. 2015;74(1):5-17.

4. 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.
5. Ogawara H, Handa H, Morita K, Hayakawa M, Kojima J, Amagai H, et al. High Th1/ Th2 ratio in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*. 2003;71(4):283-8.
6. Rocha AM, Souza C, Rocha GA, de Melo FF, Clementino NC, Marino MC, et al. The levels of IL-17A and of the cytokines involved in Th17 cell commitment are increased in patients with chronic immune thrombocytopenia. *Haematologica*. 2011;96(10):1560-4.
7. Zhou L, Xu F, Chang C, Tao Y, Song L, Li X. Interleukin-17-producing CD4+T lymphocytes are increased in the patients with primary immune thrombocytopenia. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2016;27(3):301-7.
8. Mosser DM, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev*. 2008;226:205-18.
9. Zhang G, Zhang P, Liu H, Liu X, Xie S, Wang X, et al. Assessment of Th17/Treg cells and Th cytokines in an improved immune thrombocytopenia mouse model. *Hematology*. 2017;22(8):493-500.
10. Rezaeeyan H, Jaseb K, Alghasi A, Asnafi AA, Saki N. Association between gene polymorphisms and clinical features in idiopathic thrombocytopenic purpura patients. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2017;28(8):617-22.
11. Pehlivan M, Okan V, Sever T, Balci SO, Yılmaz M, Babacan T, et al. Investigation of TNF-alpha, TGF-beta 1, IL-10, IL-6, IFN-gamma, MBL, GPIIb/IIIa, and IL1A gene polymorphisms in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Platelets*. 2011;22(8):588-95.
12. Saitoh T, Kasamatsu T, Inoue M, Mitsui T, Koiso H, Yokohama A, et al. Interleukin-10 gene polymorphism reflects the severity of chronic immune thrombocytopenia in Japanese patients. *Int J Lab Hematol*. 2011;33(5):526-32.
13. Wu KH, Peng CT, Li TC, Wan L, Tsai CH, Lan SJ, Chang MC, Tsai FJ. Interleukin 4, interleukin 6 and interleukin 10 polymorphisms in children with acute and chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 2005;128(6):849-52.
14. Khalilzadeh O, Anvari M, Momen-Heravi F, Esteghamati A, Rashidi A, Mahmoudi M, et al. Gene polymorphisms of interleukin-4, interleukin-10 and

- transforming growth factor-beta in Graves' disease. *Clin Exp Med.* 2010;10(2):123-8.
15. Gambhir D, Lawrence A, Aggarwal A, Misra R, Mandal SK, Naik S. Association of tumor necrosis factor alpha and IL-10 promoter polymorphisms with rheumatoid arthritis in North Indian population. *Rheumatol Int.* 2010;30(9):1211-7.
 16. Jang WC, Nam YH, Ahn YC, Lee SH, Park SH, Choe JY, et al. Interleukin-17F gene polymorphisms in Korean patients with Behçet's disease. *Rheumatol Int.* 2008;29(2):173-8.
 17. Ma D, Zhu X, Zhao P, Zhao C, Li X, Zhu Y, et al. Profile of Th17 cytokines (IL-17, TGFbeta, IL-6) and Th1 cytokine (IFN-gamma) in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol* 2008;87(11):899-904.
 18. Ji L, Zhan Y, Hua F, Li F, Zou S, Wang W, et al. The ratio of treg/th17 cells correlates with the disease activity of primary immune thrombocytopenia. *PLoS One.* 2012;7(12): e50909.
 19. Hu Y, Ma DX, Shan NN, Zhu YY, Liu XG, Zhang L, et al. Increased number of Tc17 and correlation with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. *PLoS One.* 2011;6(10): e26522.
 20. Zhang J, Ma D, Zhu X, Qu X, Ji C, Hou M. Elevated profile of Th17, Th1 and Tc1 cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Haematologica.* 2009;94(9):1326-9.
 21. Li F, Ji L, Wang W, Hua F, Zhan Y, Zou S, et al. Insufficient secretion of IL-10 by Tregs compromised its control on over-activated CD4+ T effector cells in newly diagnosed adult immune thrombocytopenia patients. *Immunol Res.* 2015; 61:269-80.
 22. 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. *Eur J Haematol.* 2007;78(2):139-43.
 23. Tesse R, Del Vecchio GC, De Mattia D, Sangerardi M, Valente F, Giordano P. Association of interleukin-(IL)10 haplotypes and serum IL-10 levels in the progression of childhood immune thrombocytopenic purpura. *Gene.* 2012;505(1):53-6.
 24. Saitoh T, Tsukamoto N, Koiso H, Mitsui T, Yokohama A, Handa H, et al. Interleukin-17F gene polymorphism in patients with chronic immune thrombocytopenia. *Eur J Haematol.* 2011;87(3):253-8.
 25. Culic S, Labar B, Marusic A, Salamunic I. Correlations among age, cytokines, lymphocyte subtypes, and platelet counts in autoimmune thrombocytopenic purpura. *Pediatr Blood Cancer.* 2006;47(5):671-4.
 26. Wang JD, Chang TK, Lin HK, Huang FL, Wang CJ, Lee HJ. Reduced expression of transforming growth factor- β 1 and correlated elevation of interleukin-17 and interferon- γ in pediatric patients with chronic primary immune thrombocytopenia (ITP). *Pediatr Blood Cancer.* 2011;57(4):636-40.
 27. Guo NH, Shi QZ, Hua JY, Li ZJ, Li J, He WF, et al. Expression of regulatory T cells and Th17 cells in idiopathic thrombocytopenic purpura and its significance. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2010;31(9):610-12.
 28. Chang DY, Ouyang J, Zhou RF, Xu JY, Chen B, Yang YG, et al. Profiles of different subsets of CD (4) (+) T cells in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2010;49(3):213-6.
 29. Wang X, Zhou YH, Chen XH, Yin LM, Zhao YN, Wo, LK, et al. Role and Significance of T Help Cells 17 in Pathogenesis of Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2016;24(6):1833-36.
 30. Qiao J, Li X, Wu Y, Wu X, Zhu F, Liu N, et al. An increased expression profile of Th9/IL-9 correlated with Th17/IL-17 in patients with immune thrombocytopenia. *Platelets.* 2017;28(3):287-94.
 31. Wallace GR, Kondeatis E, Vaughan RW, Verity DH, Chen Y, Fortune F, et al. IL-10 genotype analysis in patients with Behçet's disease. *Hum Immunol.* 2007;68(2):122-7.
 32. Abanmi A, Al HF, Zouman A, Kudwah A, Jamal MA, Arfin M, et al. Association of Interleukin-10 gene promoter polymorphisms in Saudi patients with vitiligo. *Dis Markers.* 2008;24(1):51-7.
 33. Arisawa T, Tahara T, Shibata T, Nagasaka M, Nakamura M, Kamiya Y. et al. The influence of polymorphisms of interleukin-17A and interleukin-17F genes on the susceptibility to ulcerative colitis. *J Clin Immunol.* 2008;28(1):44-9.
 34. Paradowska-Gorycka A, Wojtecka-Lukasik E, Trefle J, Wojciechowska B, Lacki JK, Maslinski S. Association between IL-17F Gene Polymorphisms and Susceptibility to and Severity of Rheumatoid Arthritis (RA). *Scand J Immunol.* 2010;72(2):134-41.