

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

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

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

Uzmanlık Tezi

Dr . Tuğba Songül TAT

Trabzon-2011

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

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

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

Uzmanlık Tezi

Dr . Tuğba Songül TAT

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Mustafa YILMAZ

Trabzon-2011

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. İdiyopatik Trombositopenik Purpura.....	2
2.2. IL-10	13
2.3. IL-17	14
3. MATERYAL ve METOD.....	16
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	34
7. TÜRKÇE ÖZET	35
8. İNGİLİZCE ÖZET	36
9. KAYNAKLAR.....	37

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İdiyopatik trombositopenik purpura (ITP) artmış trombosit yıkımı ile karakterize, kronik, edinsel ve organ spesifik bir otoimmün hastalıktır. Trombositlere karşı otoantikör gelişimi ve otoantikörlerle kaplı trombositlerin retiküloendotelial sistemde yıkımı sonucu trombositopeni ortaya çıkmaktadır. ITP de primer immunolojik defekt platelet spesifik otoreaktif T lenfositlerin aktivasyonu sonucu antiplatelet antikör üreten B lenfositlerin oluşumu ve proliferasyonudur. ITP de bu sürecin nasıl geliştiği bilinmemekte ama tetikleyici etkenler tam olarak bilinmemektedir. Bir çok çalışma T lenfositlerin kronik ITP patogenezinde rol oynadığını (1-3) ve otoimmün cevapta T helper 1 (Th 1) sitokin kutuplaşmasının olduğunu göstermiştir (4-6). Ayrıca T regülatuar hücrelerin ITP gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir.

Literatüre bakıldığında romatoid artrit, Behçet hastalığı, Graves hastalığı, ülseratif kolit, astım, atopik dermatit, çölyak hastalığı gibi patogenezinde otoimmünitenin sorumlu tutulduğu hastalıklarda interlökin 10 (IL-10) ve interlökin 17 (IL-17) sitokin gen polimorfizmi çalışıldığı ve bazılarında anlamlı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Ancak otoimmün bir hastalık olan ITP’de diğer otoimmün hastalıklara kıyasla IL-10 ve IL-17 gen polimorfizmleri ile ilgili yayınlanmış az sayıda çalışma mevcuttur. ITP’li hastalarda serum IL-10 ve 17 düzeyleri sınırlı sayıda araştırmada çalışılmıştır. Yayınlanan çalışmalarda bulgular arasında farklılıklar olduğu görülmektedir.

Bu çalışmanın amacı; erişkin ITP’li hastalarda IL-10 ve IL-17 sitokinlerinin gen polimorfizmlerini çalışarak bunların kontrol grubuna göre farkının olup olmadığını tespit etmek ve bu sitokinlerin gen polimorfizmlerinin tedavi yanıtı üzerine olan etkilerini araştırmaktır. Ayrıca tedavi almayan ITP’li vakalarda ve kontrol grubunda IL-17 ve IL-10 serum sitokin düzeylerinin ölçülmesi; hasta ve kontrol gruplarında bu sitokinlerin serum düzeylerinin karşılaştırılması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İdiyopatik Trombositopenik Purpura

İdiyopatik trombositopenik purpura (immün trombositopenik purpura, immün trombositopeni, ITP) kazanılmış bir hastalıktır. İTP'nin iki tanı kriteri vardır (7-11): 1- Trombosit sayısı 100.000/mikrolitreden düşük olmalı, trombosit dışında diğer periferik kan hücre sayıları ve periferik yaymada demir eksikliği anemisi bulguları hariç normal olmalıdır. 2-Trombositopeniye yol açabilecek başka bir hastalık veya ilaç kullanımı olmamalıdır. Sistemik lupus eritematozus, antifosfolipid sendromu, kronik lenfositik lösemi gibi immün trombositopeniye neden olan durumlar sekonder immün trombositopeni olarak adlandırılmaktadır (12).

Hastalığı fazları şu şekilde isimlendirilmiştir. Tanı konduktan sonraki ilk 3 ay yeni tanı ITP olarak adlandırılmıştır. Tanıdan itibaren 3-12. aylar arasında olup spontan remisyonun olmaması veya tedavi kesildiğinde remisyonunda kalamaması durumu inatçı ITP, 12 aydan sonraki dönem de kronik ITP olarak adlandırılmaktadır. Ciddi kanamalar ile seyreden ITP de şiddetli (ağır) ITP olarak isimlendirilmiştir.

2.1.1. İnsidans

Kronik ITP, 12 aydan uzun süren, çoğunlukla erişkinlerde görülen ve trombositopeninin düzelmesi için tedavi gerektiren bir hastalıktır. Erişkin kronik ITP hastalarının ortalama yaşı 40-45 arasındadır (13). ABD'de ITP'nin yıllık insidansı ortalama 10.000 de 1,6'dır (13). Yapılan 2 farklı çalışmada ITP tanısı alan hastaların % 18 i ve % 29 u asemptomatik bulunmuştur (14,15). Bir çok çalışma belirtmektedir ki hastaların yaklaşık % 70 i kadındır ve kadınların da % 72 si 40 yaş altındadır. Danimarka' da yapılan bir çalışmada cinsiyet farkının sadece 60 yaş grubun altında olduğu saptanmıştır (16). Danimarka' da 1973-1995 yılları arasında trombositopeni değeri 50,000/ mikrolitre olarak alındığında yıllık insidans bir milyon da 22 olarak tespit edilmiştir (16). Çalışma süresince asemptomatik hastalara tanı konulmasının artması nedeniyle yıllık insidans artmış olarak

saptanmıştır (16). Yapılan son çalışmalarda ise erkek ve kadınlar arasında fark olmadığı belirtilmektedir.

2.1.2. Patofizyoloji

ITP nin patogenezi hastanın B lenfositleri tarafından sıklıkla trombosit membran glikoproteini olan GPIIb/IIIa ya karşı, spesifik Immunglobulin G (Ig G) yapısında oto antikorlarının yapımı yolu ile artmış trombosit yıkımı ile birlikte, megakaryositten trombosit üretiminin inhibisyonu ile ilişkilidir (8,17-20).

2.1.2.1. Başlatıcı olay

ITP nin etyolojisi açık değildir ancak kazanılmış faktörlerin yanı sıra genetik faktörlerin de rol oynadığı düşünülmektedir (12,21,22). Bazı ITP vakaları geçirilmiş bir viral enfeksiyon ile ilişkili bulunmaktadır. Bu muhtemelen anti virus antikorlarının trombosit glikoproteinlerine karşı çapraz reaksiyon vermesi ile ilişkili olabilir. Ayrıca immun cevaptaki değişiklikler periferik toleransın kaybına neden olabilmekte ve oto reaktif antikorların gelişmesine yardımcı olabilmektedir. Hematolojik olmayan malinitelerle ITP ilişkisi belirtilse de, özellikle meme kanserinde, bu ilişki ko-insidental olarak görülmektedir (23-26).

2.1.2.2. Trombosit Yaşam Süresi

ITP'de trombositlerin yaşam süresi dakikalardan 2-3 gün arasında olacak şekilde kısalmıştır (27). Splenik sekestrasyon ve yıkım birçok hastada kısalmış yaşam süresinden sorumludur (28). Bunun yanında karaciğer ve kemik iliğinin retiküloendotelial hücreleri antikor kaplı trombositlerin sekestrasyonunda önemli rol oynayabilirler. Bu hastalar çok düşük trombosit sayısı olan ve splenektomi sonrası trombositopenisi devam eden hastalardır (29).

2.1.2.3. B ve T hücre yanıtı

ITP'deki trombosit membran glikoprotein epitoplarına karşı B hücre Ig G cevabı CD 4 + T helper lenfositler tarafından sürdürülmektedir (30)

Bu patolojik süreci şöyle özetleyebiliriz (31,32) :

Fagosite edilmiş trombositlerin GpIb/IIIa ve, veya GpIb/IX membran antijenleri ve trombositlerin sindirilmiş peptidleri makrofaj tarafından oto reaktif CD 4+ T hücresine sunulur. T hücre reseptörleri antijen sunan makrofaj üzerindeki HLA-DR antijenik peptid kompleksini tanıdığında T hücre aktive hale gelir. Aktive olmuş T hücresi IL-6 salınımı ve CD154 ekspresyonunu artırır. Bu olaylar otoreaktif antikor üreten B hücrelerini uyarır. B hücreleri antijenik baskı altında proliferasyona ve somatik mutasyona uğrarlar. B hücreleri tarafından üretilen oto-antikorlar trombositlere bağlanırlar. Opsoninlenen trombositler çoğunlukla dalak makrofajları tarafından fagosite edilirler. Belki bu aşamada kompleman aktivasyonunun yardımı da olmaktadır (33). Ayrıca otoantikorlar megakaryositlere bağlanabilmekte ve trombosit üretimini azaltabilmektedirler.

2.1.3. ITP Kliniği

ITP kliniği trombositopeniye bağlı kanama ile ilişkilidir. Trombositopeni ile ilişkili kanama mukokutanöz olarak tanımlanmakta, bu da hemofili gibi koagülasyon bozukluğuna bağlı olan, geçikmiş, yavaş ilerleyen visseral hematomdan ayrılmasını sağlamaktadır. ITP'li hastalarda peteşi, purpura ve kolay morarma beklenmekte, epistaksis, diş eti kanaması ve menoraji yaygın görülmekte, gastrointestinal sistem kanaması ve gros hematüri nadir iken ölümcül olabilen intrakraniyel kanama çok çok az görülmekte, bu yüzden görülme sıklığı tahmin edilememektedir.

Trombositopeninin klinik yansıması hastaya göre değişmektedir. Yaş arttıkça gastrointestinal sistem kanama sıklığı ve intrakraniyel hemoraji sıklığı hastanın ko-morbid hastalıklarına bağlı olarak artmaktadır (örneğin hipertansiyon gibi) (34). Kanama ile trombosit sayısı arasında korelasyon yoktur. ITP'de çok düşük trombosit sayılarına rağmen hafif kanamaların görülmesi ITP'de trombositlerin daha genç, büyük ve hemostatik olarak daha etkili olmasına ve kemik iliği rezervinin mükemmel olmasına bağlanmıştır (35) . Enfeksiyon veya sistemik ciddi hastalığın yokluğunda trombosit sayısı 10.000 / μ l nin üzerinde iken nadiren ciddi kanama oluşmaktadır (36).

2.1.4.Laboratuvar

Periferik kan bulguları: Trombosit boyutu ve morfolojik görünümündeki anormallikler yaygındır. Trombositler genelde büyüktür (3-4 µm). Boyut ve şekil olarak çeşitlilik göstermektedir. Anormal küçük trombositler ve trombosit fragmanları (mikropartiküller) belirgindir. Ortalama trombosit hacmi (MPV) ve trombosit boyutu heterojenitesinin (trombosit dağılım aralığının) ölçümü, ITP'li hastaların değerlendirilmesinde yararlı bilgiler sağlayabilir (37). Çok sayıda megatrombosit bulunması, yüksek MPV değerlerine yol açar. Megatrombositozun altında yatan asıl mekanizma bilinmemektedir. Trombosit yıkımına cevap olarak hızlandırılmış trombosit oluşumunun bir sonucu olabilir. ITP'li hastalarda MPV artışı trombosit sayısı ile genellikle ters orantılı olacak şekilde koreledir. Bazı hastalarda anemi olabilir. Anemi genellikle kan kaybına bağlıdır ve sıklıkla normositerdir. Eğer kanama ciddiye ve uzun sürdüyse, demir eksikliği anemisi görülebilir. ITP'li hastalarda pozitif Coombs testi ve otoimmün hemolitik anemi olabilir. Bu birliktelik Evans Sendromu olarak bilinir (38). Lökosit sayısı hastaların tamamına yakınında normaldir. Koagülasyon testlerin de sadece uzamış kanama zamanı gibi trombositopeniye atfedilebilen değişiklikler vardır. Protrombin zamanı, parsiyel tromboplastin zamanı ve fibrinojeni içeren kan koagülasyon testlerinin sonuçları, komplike olmayan ITP' li hastalarda normaldir.

Kemik iliği bulguları: Açıklanamayan trombositopenili tüm hastalarda kemik iliği aspirasyon ve biopsisi endikedir. İzole trombositopenili, fizik muayene, tam kan sayımı ve periferik yayma muayenesinin diğer nedenleri dışladığı ITP olgularında ihtiyaç yoktur (7,9,39). 2010 Vincenza Konsensusunda 60 yaş üzerindeki erişkinler sistemik semptomları olanlar, atipik bulguları olanlar ve splenektomi planlananlarda yapılması önerilirken, Amerika Hematoloji Topluluğu (ASH)-2011 kılavuzunda kemik iliği incelemesinin belli bir yaş sınırıyla ilişkisi tartışmalı olarak belirtilmiş ve tipik ITP bulguları varsa 60 yaş üstü için önerilmezken, splenektomi öncesinde yapılmasına gerek olmadığını belirtilmiştir (40).

Kemik iliğindeki değişiklikler genellikle megakaryositlerle sınırlıyken, kan kaybının bir sonucu olarak normoblastik hiperplazi oluşabilir. Ara sıra olan eozinofili hariç, lökositler seri normaldir (28). Megakaryositlerin genellikle boyutları artmıştır (15). Sayıları normal veya artmış olabilir. Muhtemelen hızlanmış trombopozeze bağlı olarak

megakaryositlerin tek çekirdekli, dar stoplazmalı ve göreceli olarak daha az granülleri olan genç formları yaygındır (41).

2.1.5. Ayırıcı Tanı

Trombositopenik bir hastanın değerlendirilmesindeki ilk basamak, azalmış trombosit sayısını doğrulamak için periferik kan yaymasının incelenmesidir. EDTA (etilendiamin tetra asetik asit) varlığında trombositler; granüositler ya da monositlerle aglutinasyona girerler. Bunun yanında trombositler venöz kan örneğindeki beyaz kan hücrelerinin yüzeyine rozet formasyonunda bağlanmış olduğundan dolayıda sayılamayabilirler (trombosit satellitizmi) (28).

ITP, periferik kan yaymasında trombositopeninin gösterilmesiyle birlikte öykü, fizik muayene ve tam kan sayımında trombositopeniye yol açacak başka nedenin olmamasına dayalı bir dışlama tanısıdır. Splenomegali, trombositopeninin dalağın büyümesiyle ilişkili altta yatan ayrı bir hastalığın varlığına bağlı hipersplenizmin bir sonucu olabileceğini göstermektedir (28).

Akut lösemi, myelodisplastik sendrom ve aplastik aneminin başlangıç semptomları ITP'yi taklit edebilir. Trombositopeninin görüldüğü ITP dışındaki hematolojik bozukluklar da genellikle trombositopeni dışında lökosit ve eritrosit anormallikleri mevcuttur. ITP karakteristik bir kemik iliği değişikliğine sebep olmaz. Bu nedenle kemik iliği incelemesi rutin olmamalıdır. Ancak tanıda şüphe olan hastalarda, diğer etyolojileri dışlamak amacıyla kemik iliği aspirasyonu ve biopsisi yapılması yararlı olabilir (28).

Periferik yaymada şistositlerin bulunması, trombositopeninin mikroanjyopatik bir süreçle ilişkili olabileceğini gösterir. Trombotik trombositopenik purpura (TTP) veya hemolitik üremik sendrom (HÜS) da trombositopeni ile birlikte artmış laktat dehidrogenaz ve indirekt bilirubin seviyeleri gibi hemolizin laboratuvar bulguları mevcuttur. Ayrıca TTP'de geçici, multifokal nörolojik bulgular, böbrek yetmezliği, ateş görülebilir. HÜS'te ise sadece böbrek yetmezliği olabilir. Dissemine intravasküler koagulopatide trombositopeni ile birlikte koagülasyon anormallikleri bulunmaktadır (28).

İmmün trombositopeni tanısı konulduktan sonra ikinci önemli basamak: ITP ile HIV, hepatit C gibi viral enfeksiyonların, sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi kollajen vasküler hastalıkların, kronik lenfositik lösemi gibi lenfoproliferatif bozuklukların ve ilaç alımı gibi immün trombositopenik purpuranın sekonder formlarının ayrılmasıdır. Özellikle bir erişkinde trombositopeninin gelişiminde farmakolojik bir etyolojiden şüphelenilmelidir. Çünkü trombositopeniyle ilişkili birçok ilaç erişkinlerde çocuklardan daha sık olarak kullanılmaktadır. Trombositopeninin heparin alımına sekonder olma olasılığını elimine etmek de gereklidir. Ayrıca, antifosfolipid antikor sendromu trombositopeniyle ilişkili olabilecek bir bozukluktur (28).

2.1.6. ITP'nin Tedavisi

Erişkin ITP tedavisi: ITP'li bir hastada tedavinin amacı trombosit sayısını normal sınırlara yükseltmekten ziyade, önemli kanamaları önleyecek seviyede bir trombosit sayısına ulaşmaktır (20). Dolayısıyla tanı konan her hastaya tedavi vermeye gerek yoktur. Trombosit sayısı 30.000/mikrolitrenin altında olan tüm hastalar kanama bulguları olmasa dahi tedavi edilmelidir. Ayrıca trombosit sayısı 30.000-50.000/mikrolitre arasında olan aktif majör kanamalı hastalar, öyküsünde ciddi kanaması olan hastalar, kanamaya yol açabilecek ilave ko-morbitidesi olan hastalar ve yaşam tarzı veya mesleği yüksek kanama riski taşıyan hastalar da tedavi edilmelidir. ITP için başlangıç tedavisi 1mg/kg/gün dozunda metilprednizolon veya 40mg/gün 4 gün boyunca uygulanan ve 14-28 günde bir tekrarlanan dexametazondur. Steroid verilen hastaların yaklaşık %70' inde tedavi cevabı alınırken, %39' unda ise tam cevap izlenir. Tam cevap alınan hastaların ancak yarısında uzun süreli remisyon devam eder, olguların çoğunda steroid azaltılması esnasında veya kesildikten sonra yanıt kaybı gözlenir (42). Genel olarak erişkin ITP'li hastaların %80' inde steroid yetersizdir ve ikinci basamak tedavilere gereksinim vardır.

Steroide Cevapsız ITP'de İkinci Basamak Tedavi:

Steroide cevapsız veya tekrarlayan hastalığı olan ITP'li olgularda tedavi gereği varsa splenektomi veya rituximab ikinci basamak tedavi olarak seçilmelidir (11,43). İkinci basamak tedavi için ilk tercih edilmesi gereken splenektomidir. Splenektomi halen ITP'de

en yüksek tam ve kalıcı remisyon oranlarına sahip tedavi şeklidir (44). Rituximab splenektomiden daha düşük oranlarda kalıcı remisyon olanağı sağlar; ancak cerrahiye tercih etmeyen veya operasyon için kontra-endikasyonu olan hastalar için uygun bir tedavi seçeneğidir. Trombopoez stimüle edici ajanlar kalıcı remisyon sağlamamakla birlikte trombosit sayılarını kanama için güvenli sınırın üzerinde tutarlar. Splenektomi veya rituximabın uygulanmadığı hastalarda ikinci basmakta uygulanabilirler. Anti D ikinci basmak tedavi için iyi bir alternatif değildir. Randomize bir çalışmada steroide cevapsız olgularda anti D kullanımı splenektomiyi geciktirmekle birlikte splenektomi sıklığında herhangi bir azalmaya yol açmamıştır (45).

Splenektomi:

Splenektomi ITP'de iki mekanizmayla etkili olur. Birincisi antikorlarla kaplı trombositlerin tutulduğu ve yıkıldığı majör organ çıkarılarak yıkım azaltılır. İkincisi anti-platelet antikor üretiminde, total lenfoid kitlesinin yaklaşık %25'i dalakta bulunduğundan, önemli bir azalmaya olanak sağlar. ITP tedavisinde splenektominin yeri hakkında 70 yılı aşan bir deneyim mevcuttur. 2623 olguyu içeren bir meta analizde ITP'de splenektomi sonrası %68 vakada tam cevap, %22 vakada ise kısmi cevap elde edilmiştir (44). Tedavi cevabı sağlanan vakaların tamamına yakınında ise remisyon kalıcı olmuştur. Mevcut veriler splenektominin, başlangıç tedavisine cevapsız ITP olgularında, hastaların üçte ikisinde tam ve kalıcı cevap sağlayabildiğini göstermektedir. Splenektominin zamanlaması hakkında farklı görüşler olsa da, 2010 yılında yayımlanan konsensus raporunda tanıdan 6 ay sonra yapılması önerilmektedir (11). Bununla birlikte başlangıç steroid tedavisine rağmen şiddetli ve semptomatik trombositopenileri devam eden hastalarda 6 aydan önce de splenektomi düşünülebilir.

Bazı çalışmalarda splenektomi öncesi radyoaktif madde ile işaretli plateletlerin splenik sekestrasyonunun saptanmasının (46) ve splenektomi öncesi intravenöz immünglobulin (IVIG) cevabının varlığının splenektomiye iyi cevabın göstergeleri olabileceği belirtilmiştir (47,48). Ancak başka çalışmalardan elde edilen veriler splenik sekestrasyon çalışmaları veya IVIG sonrası cevap varlığının, splenektomi ile remisyon elde edileceğinin göstergeleri olamayacağını işaret etmektedir (49-51). Splenektomiye iyi cevap göstergesi olabilecek tek klinik parametre hastanın yaşıdır (44,52). Genç hastalarda

splenektomiye cevap daha iyidir. Bununla birlikte ITP'li hastalarda splenektomi için kabul edilmiş bir yaş sınırı yoktur. Laparoskopik tekniklerle yapılan splenektomilerde laparotomiye kıyasla mortalite ve morbidite daha düşüktür (53,54). Yaklaşık 3000 splenektomi vakasını içeren bir analizde morbidite (laparoskopi %9.6 – laparotomi %12.9) ve mortalite oranları (laparoskopi %0.2 – laparotomi %1) laparoskopi grubunda daha düşük bulunmuştur. Splenektomi sonrası tam cevap ilk iki hafta içerisinde ortaya çıkar, bazı olgularda ise trombosit sayısı splenektomiye takiben hemen yükselebilir (53). Splenektomi komplikasyonlarının başlıcaları cerrahi komplikasyonlar ve enfeksiyonlardır. Cerrahi öncesi trombosit sayısı steroid tedavisi, IVIG, anti-D ve/veya platelet transfüzyonları ile 50.000/mikrolitrenin üzerine çıkarılmalıdır. Splenektomi sonrası enfeksiyon riskini en aza indirmek için iki hafta öncesinden streptokokus pnömoni, hemofilus influenza ve neisseria menenjitidise karşı hastalar aşılanmalıdır.

Rituksimab:

Rituksimab steroid tedavisinin yetmediği olgularda diğer bir ikinci basamak tedavi alternatifidir. İTP'li hastalarda rituksimaba cevap olasılığı %40 civarlarındadır (55). Çok merkezli bir çalışmada, splenektomiye aday 60 İTP'li hastaya, 4 hafta süreyle haftalık 375 mg/m² dozunda rituksimab verilmiştir (56). Hastaların 24 tanesinde (%40) bir yıl, 20 tanesinde (%33) 2 yıl sonunda trombosit sayısının 50.000/mikrolitrenin üzerinde olduğu saptanmıştır. 2 yıl sonunda hastaların %40'ında başka herhangi bir tedavi uygulanmaksızın trombosit sayıları tedavi için eşik değer olan 30.000/mikrolitrenin üzerinde seyretmiştir. Bu çalışmada hastaların 16 tanesinde (%27) yönetilebilir geçici yan etkiler izlenmiş, yalnız bir hastada tedavinin kesilmesi gerekmiştir. Rituksimab cevabı olmayan 36 hastanın, 25 tanesine splenektomi yapılmış ve splenektomi cevabının 15 hastada (%60) olduğu rapor edilmiştir.

İkinci basamak tedavide splenektomi ve rituksimabı karşılaştıran bir çalışma yoktur. Yine farklı dozlarda rituximab rejimlerini karşılaştıran çalışmalar henüz yayımlanmamıştır. Ancak ITP'li 48 hastalık bir çalışmada 100 mg/hafta gibi düşük dozlarda rituximab uygulanması ile de benzer sonuçların elde edilebileceği rapor edilmiştir. Bu çalışmada toplam cevap oranı %60, tam cevap oranı ise %40 olarak bulunmuştur (57). Literatür incelendiğinde ITP olgularında rituximab cevabının %30-43

arasında değiştiği görülmektedir. Splenektomi ile kıyaslandığında rituximaba bağlı yan etkiler daha seyrekler. Ancak tedavi cevap oranları ve kalıcı cevap oranları da rituximab alan hastalarda daha düşüktür. Uzun dönem komplikasyonlar splenektomi ve rituximab alan hastalarda oldukça nadir ve benzer sıklıktadır. Progresif multifokal lökoensefalopati rituximabın en önemli yan etkisidir, fakat ITP için rituximab verilen yalnızca bir hastada rapor edilmiştir (58). Rituximab ITP’de ikinci basamak tedavi olarak splenektomi için uygun olmayan veya cerrahiden kaçınan hastalar için tercih edilmelidir.

Kronik Refrakter İTP Tedavisi:

Erişkin hastaların %10 kadarı kronik refrakter ITP grubuna girer. Üç aydan uzun süredir ITP tanısı olan, splenektomi ve rituximaba dirençli, trombosit sayıları 50.000/mikrolitreden düşük seyreden olgular kronik refrakter ITP olarak tanımlanır. Bu hastalarda trombosit sayısı tek başına bir tedavi endikasyonu olarak kabul edilmemelidir. Kanama bulguları olmayan ve trombosit sayıları 30.000/mikrolitreden yüksek olan hastalar tedavisiz izlenmelidir. Ciddi kanamalarla seyreden veya trombosit sayıları 30.000/mikrolitreden düşük olan hastalarda trombopoez stimüle edici ajanlar kullanılabilir. Trombopoez stimüle edici ajanlara cevap vermeyen olgularda kanama varlığında veya trombosit sayısının 20.000/mikrolitreden düşük olduğu hastalarda siklofosfamid, vinkristin, vinblastin, azathiopürin, danazol, mikofenolat mofetil, siklosporin gibi ajanlardan biri tercih edilebilir (59).

Trombopoez Stimüle Edici Ajanlar: Trombopoez stimüle edici ajanlar kronik refrakter İTP’de tedavi yaklaşımını değiştirmiştir. İTP tedavisinde FDA tarafından onaylanmış iki trombopoez stimüle edici ajan bulunmaktadır. Romiplostim bir trombopoietin peptid mimetik ve eltrombopag bir trombopoietin nonpeptid mimetiktir. 142 hastayı kapsayan bir çalışmada Romiplostim cevap oranı %87 olarak saptanmış, 13 hastada (%9) ciddi yan etki (kemik iliği fibrozisi, vaginal kanama, derin ven trombozu, anlamı belirsiz monoklonal gammopati) gözlenmiştir (60). En önemli yan etki olarak kabul edilen kemik iliği fibrozisi romiplostim uygulanan 271 hastanın 10 tanesinde saptanmış ve ilacın kesilmesi ile birlikte fibrozis de gerilemiştir (60,61). Eltrombopag FDA tarafından onaylanmış diğer bir trombopoez stimüle edici ajandır. Ülkemizde de bulunmaktadır. Erişkin ITP’li 197 hastayı kapsayan bir Faz III çalışmada 50mg/gün başlangıç dozunda eltrombopag ile tedavi

edilen hastalarda cevap oranı %79 olarak bulunmuştur (62). Splenektomi yapılan ve yapılmayan hastalarda tedavi cevap oranları benzedir. Hepatotoksisite ve kemik iliği fibrozisi önemli yan etkileri arasındadır. Romiplostim ve Eltrombopag FDA tarafından kortikosteroid, IVIG ve splenektomiye cevapsız ITP'li olgularda ruhsatlandırılmıştır. Trombopoez stimüle edici ajanlar kronik refrakter ITP'li hastalarda diğer alternatiflere göre tedavi cevap oranları oldukça yüksek olduğundan ilk seçenek olarak tercih edilebilirler.

Steroidler: Kronik refrakter ITP'de daha önce steroid almış olsa da splenektomi sonrası düşük doz glukokortikoid kullanımı ile güvenli bir trombosit sayısı sağlanabilir. Bazı hastalarda gün aşırı 5-10 mg steroid yeterli olabilmektedir. Ancak bu düşük dozlarda dahi osteoporoz ve diğer yan etkiler görülebilmektedir (63).

Diğer İmmüsupresif Ajanlar: Siklofosfamid 50-100mg/m² günlük oral doz veya aylık intravenöz pulse dozlarda (750mg-1.5g/m²) kullanılabilir. 20 vakalık bir seride tam cevap oranı %65 olarak rapor edilmiştir (64). Azathiopürin oral 150mg/gün dozunda kullanılabilir. Her iki ajan içinde tedavi cevabının ortaya çıkabilmesi için 2-4 ay gerekebilir. Vinkristin ve vinbalstin kronik refrakter ITP'de kullanılan diğer ilaçlardır. Vinkristin 2mg/hafta dozunda 4 hafta süreyle uygulanır. Tedavi cevap oranları %70 civarında olmakla beraber sıklıla geçicidir. Siklosporin, mikofenolat mofetil kullanılan diğer immüsupresif ajanlardır. Ayrıca siklofosfamid, vinkristin, metilprednisolon veya azathiopürin, mikofenolat mofetil ve siklosporin kombinasyonları diğer alternatiflerdir (65, 66).

Danazol: İmmunmodulator bir ajandır. ITP'li erkeklerde ve gebe olmayan kadınlarda verilebilir. Danazol oral 600mg/gün dozunda kullanıldığında %40'a varan oranlarda tedavi cevaplarının elde edilebileceği rapor edilmiştir. Ancak kronik refrakter ITP'li olgularda etkinliği oldukça sınırlıdır.

Aksesuar Splenektomi: Splenektomi sonrası relaps izlenen hastalarda residüel splenik doku veya aksesuar dalak varlığı, özellikle periferik yaymada eritrositlerde Howell-Joly cisimciklerinin görülmediği olgularda, düşünülmelidir. Aksesuar dalak bilgisayarlı tomografi veya sintigrafik yöntemlerle araştırılmalı ve mümkünse cerrahi olarak çıkarılmalıdır. Aksesuar dalak tesbit edilip çıkarılan hastalarda tedavi cevap oranları

%50 civarlarındadır (67). Ancak özellikle erişkin hastalarda aksesuar splenektomi sonrası uzun dönem cevap oranları daha düşük olabilir (68), bu nedenle ve trombopoez stimüle edici ajanların klinik kullanıma girmesi ile birlikte gelecekte bu olgularda cerrahi seçeneği muhtemelen daha az düşünülecektir.

Helikobakter Pylori Eradikasyonu: Dünyanın bazı bölgelerinde kronik ITP'li hastalarda helikobakter pylori ile enfekte olma sıklığı %60'a kadar ulaşmaktadır. Helikobakter pylori eradikasyon tedavisi sonrası trombosit sayılarında düzelme oranları enfekte olan hastalarda %51 iken, enfekte olmayan hastalarda %8,8 olarak rapor edilmiştir (69). Japonya ve İtalya'da yapılan çalışmalarda ITP'li hastalarda helikobakter pylori eradikasyonu sonrası yüksek tedavi cevapları gözlenmiş; ancak ABD, Kanada ve İspanya'dan yapılan yayınlarda eradikasyon tedavileri ile trombosit sayılarının oldukça düşük oranlarda yükseldiği rapor edilmiştir. Helikobakter pylori eradikasyon tedavisinin kronik refrakter ITP'li hastalardaki yeri mevcut literatür bilgileri ışığında tam olarak kesinleştirilememiştir.

Otolog Hematopoietik Kök Hücre Nakli: Kronik refrakter ITP olgularında otolog kök hücre nakli ile ilgili iki vaka serisi yayımlanmıştır. 14 hastalık ilk seride kalıcı tam yanıt 6, kalıcı kısmi yanıt 2 hastada saptanmıştır (70). Yine 14 hastalık ikinci vaka serisinde ise tam yanıt 5, geçici cevap 3 hastada saptanmış, 2 hastada ise transplant ile ilgili komplikasyonlara bağlı mortalite izlenmiştir (71).

Özet olarak steroide cevapsız hastalarda ikinci basamak tedavide ilk seçenek splenektomi olmalıdır. Splenektomi istemeyen veya cerrahi kontrendikasyon olan hastalarda ikinci basamak tedavi olarak rituximab tercih edilmelidir. Kronik refrakter ITP'li olgularda ise en yüksek tedavi başarısı trombopoez stimüle edici ajanlarla elde edilmektedir. Dolayısıyla splenektomi ve/veya rituximab sonrası ilk tercih Eltrombopag veya romiplostim olabilir. Ancak trombopoez stimüle edici ajanların pahalı olması, kalıcı cevap sağlamaması, sürekli kullanılmaları zorunluluğu gibi dezavantajları da vardır; ayrıca nadirde olsa kemik iliği fibrozisi gibi önemli yan etkilere yol açabilirler. Trombopoez stimüle edici ajanlara da cevap vermeyen kronik refrakter ITP olgularında diğer immunsupresif ajanlar veya onların kombinasyonları tercih edilmelidir. .

2.2.II-10

2.2.1. IL-10 Genel Bilgiler

IL-10 immün sistemin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan küçük bir protein olan sitokindir. İmmün sistem üzerine çok farklı görevleri olmasına rağmen en önemli iki görevi; makrofajlar tarafından sitokin üretimini ve T hücre aktivasyonu sırasında makrofajların yardımcı etkisini inhibe etmektir (72). Bu etkilerin sonucunda IL-10 immün sistem üzerinde önemli bir anti inflamatuvar etkiye neden olmaktadır.

IL-10 asıl olarak CD 4 Th hücrelerinden sentezlenmektedir. Ayrıca aktive B hücrelerinden, makrofajlardan ve bazı hematopoetik olmayan hücrelerden örneğin keratinositler, kolon karsinomu ve melanom hücrelerinden de salgılanabilmektedir (44).

2.2.2.IL-10'un T lenfositleri üzerine etkisi:

Farelerde Th1 hücre sitokin sentezini inhibe etmektedir (73). İnsan T hücrelerinin yaşamı, sitokin üretimi ve proliferasyonu üzerine de inhibitör etkisi mevcuttur. Örneğin IL-10, T hücre üzerindeki IL-10 reseptörü ile etkileşime geçtiği zaman IL-2 geninin transkripsiyonunu baskılamaktadır ve bu da T hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir (73). Monositlerin antijen sunum fonksiyonunu da değiştirmektedir. Böylece indirek olarak T hücre inhibisyonuna yol açmaktadır (73). T hücrelerin enerjik olmasında da rol oynamaktadır (74). Ayrıca CD 8 T hücrelerinin sitotoksik fonksiyonlarını etkilemeden CD 8 T hücrelerinden IFN gamma sentezini inhibe etmektedir (73) ve insan IL-10'u CD 8 T lenfositlerin sitolitik aktivitesini, diferansiasyonunu, proliferasyonunu, kemotaksisini uyarıcı özellik göstermektedir (75).

2.2.3. IL-10'un makrofaj / monosit üzerine etkisi:

Monositlerin fenotip ve sitokin üretimi üzerine etkisi mevcuttur ve monosit üzerindeki MHC sınıf 2 ekspresyonunu inhibe etmektedir (73). IFN gamaya cevap olarak meydana gelen monositten B-7 ve ICAM-1 ekspresyonunu engelleyebilmektedir. Bu da T hücre monosit bağlantısını engellemektedir (73). Aktivasyonun takibinde monositte (m RNA seviyesinde) IL-1 alfa, IL-1 beta, IL -6, IL-8, TNF alfa, granülosit-makrofaj ve granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) üretimini engellemektedir. Ayrıca monositte IL-12 ekspresyonunu önleyerek T hücre üretimini engellemektedir ve monositlerden kendisinin (IL-10) üretimini inhibe etmektedir. Böylelikle kendi düzenleyici, negatif feedback

döngüsünün çalıştığını göstermektedir (73). IFN gama tarafından oluşturulan makrofaj aktivasyonunu da inhibe etmektedir (76).

2.2.4. IL-10' un natural killer (NK) hücreleri üzerine etkisi:

NK hücrelerinden monositin indüklediği IFN gamma yapımını inhibe eder ve indirek olarak bu inhibisyon monositlerden IL-12 üretiminin baskılanmasına neden olur. Ayrıca IL-2 ile aktive olmuş NK hücrelerinden IFN gama, TNF alfa ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktörün üretimini artırır ve NK direçli hedef tümör hücrelerine karşı NK sitotoksik aktivitesini uyarır (73).

2.2.5. IL-10'un B lenfositleri üzerine etkisi:

İstirahatteki B hücreleri üzerinde MHC sınıf 2 antijen ekspresyonunu indükler (76) ve in vitro B hücrelerinin yaşayabilirliğinin artmasına yol açar (73). Germinal merkez B hücrelerinde apoptozu indüklemektedir ancak bu olayın mekanizması bilinmemektedir (77). Ayrıca B hücrelerinin antikor üreten B hücrelerine farklılaşmasını uyarır (73).

2.3.IL-17

IL-17, T hücre cevabının düzenlenmesinde rol oynayan sitokin ailesinin yeni bir üyesidir. Altı tane IL-17 ailesi ligantı (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25) and IL-17F) ve beş tane reseptörü (IL-17RA, IL-17RB/IL-25R, IL-17RC, IL-17RD/SEF and IL-17RE) tanımlanmıştır (78,79). IL-17 resöptörü çoğu hücrede eksprese edilmektedir ve bir çok hücre bu sitokine cevap vermektedir. Uyarım sonunda hücrede nükleer faktör kappa B ve JNK kinaz yolağı aktive olmaktadır. IL-17A ve IL-17F Th 17 (IL-17 salgılayan T hücreleri) hücrelerinin patolojik aktivitesinden sorumlu IL-17 sitokin ailesi üyeleridir. IL-17 esas olarak T hücrelerinden salgılanmaktadır ancak makrofajlardan, dentritik hücrelerden ve doğal öldürücü hücrelerden de salgılandığı bilinmektedir. IL-17 sitokini proinflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin, hücre adezyon moleküllerinin ve büyüme faktörlerinin üretimine neden olmaktadır (79). Ayrıca IL-17 bir çok mikroba karşı özellikle hücre dışı bakteri ve mantara karşı konak savunması için gereklidir. Th 17 nin bazı otoimmün hastalıkların in vivo çalışmalarında patojenik rol oynadığı gösterilmiştir (79,80). Astım, sistemik lupus eritamatozus ve inflamatuvar bağırsak hastalığını da içeren

bazı otoimmün hastalığı olanlarda IL-17 sitokin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (81-83).

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı, Tıbbi Genetik ve Biyokimya Ana Bilim Dallarını tarafından yürütülmüştür. Çalışma protokolü Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Eylül 2010 tarih ve 2010 /83 sayılı dosya numarası ile).

Bu çalışmada erişkin ITP'li hastalarda IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmlerini çalışarak, bunların ITP ile ilişkisinin olup olmadığını gösterilmesi, ayrıca yeni tanı konmuş 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 arasında bir ilişki olup olmadığını irdelenmesi ve hasta grubunda tedavi cevabı ile sitokin düzeylerinin ilişkisinin araştırılması planlanmıştır.

3.1. Hastalar ve kontrol grubu

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı polikliniğine Eylül 2010-Eylül 2011 tarihleri arasında başvuran, katılmaya onam vermiş, 50 ITP'li hasta (41 kadın, 9 erkek hasta, yaş dağılımı 18-78 arasında olup yaş ortalamaları 41 yıl) dahil edildi. Toplam 55 hastadan gen polimorfizmi çalışılmak üzere periferik venöz kan alınmıştı ancak teknik nedenlerle DNA izolasyonu yapılamayan 5 hasta çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak yaş, cinsiyet uyumlu, çalışmaya katılmaya onan veren 51 sağlıklı birey seçildi (42 kadın, 9 erkek birey, yaş dağılımı 18-76 olup yaş ortalamaları 40,8 yıl).

ITP hastaları için tanı kriterleri:

Trombosit sayısı mikrolitrede 100.000'in altında olan, fizik muayenede kanama bulguları dışında bulgusu olmayan, tam kan sayımı ve periferik yaymada trombositopeni dışında normal bulguları olan, HbsAg, HCV, HIV, ANA, Anti ds DNA negatif; göğüs radyografisi, tiroid fonksiyon testleri, idrar analizi, hemoglobin (demir eksikliği anemisi

dışında) ve beyaz küre değerleri normal, splenomegalisi ve öyküsünde trombositopeni yapabilecek ilaç kullanım öyküsü olmayan hastalar ITP tanısı ile çalışmaya dahil edildiler. 60 yaş üstünde olan veya ITP yönünden şüpheli bulguları olan hastalara kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi yapılarak tanı kesinleştirildi.

3.2. IL-10 ve IL-17 gen polimorfizmlerinin saptanması

DNA İZOLASYONU

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 absorbanslarının ölçülmesiyle belirlendi, çözelti agaroz jelde yürütülerek DNA varlığı teyit edildi.

GENOTİP TAYİNİ

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. PCR şartları ise şöyle idi;

1. aşama 94 C derece 5 dak
2. aşama 35 siklus olacak şekilde 94 C 30 sn, 60 C 30 sn ve 72 C 45 sn
3. siklus 72 C 4 dk

Son olarak 4 C'de PCR sonlandırıldı.

PCR ürünleri %1,5'luk agaroz jelde elektroforez yardımıyla görüntüledi.

IL-10 (-592 A/C) genotipini tayin için RsaI(Vivantis), IL-17 (A126G) genotipini tayin için AvaII (Vivantis) restriksiyon enzimleri PCR ürünleri ile 37 C'de 16 saat inkübe edildi. Kesim reaksiyonu sonrası ürünler %2,5'luk agaroz jel elektroforezi ile görüntülendi.

IL-10 (-592 A/C) için jel elektoroforezinde 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 elektoroforezinde 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.

3.3. IL-10 ve IL-17 sitokin düzeylerinin saptanması

IL-10 ve IL-17 sitokin düzeylerinin saptanması için, çalışmaya alındığı anda tedavi almayan toplam 35 hastadan 2 mililitre periferik venöz kan örneği biyokimya tübüne alındı. Alınan kanlar santrifüj edilip, -80 derecede saklandı. 3 hastanın serumunun hemolizli olması üzerine araştırma dışı bırakıldı. Toplam 32 hasta (24 kadın, 8 erkek hasta, yaş dağılımı 18-73 arasında olup yaş ortalamaları 35,3 yıl) çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak yaş, cinsiyet uyumlu 32 sağlıklı birey seçildi (27 kadın, 5 erkek birey, yaş dağılımı 18-72 olup yaş ortalamaları 34 yıl). Kontrol grubundan da aynı şekilde 2 mililitre venöz kan örneği biyokimya tübüne alınarak, santrifüj edildi ve -80 derecede çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü her test için dondurulmuş serumlar çözülerek oda ısısına gelmeleri sağlandı.

Örneklerde serum IL-10 ve IL-17 düzeyleri Biyokimya Anabilim Dalı tarafından Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kitleri (IL-10 için Assay Max Human Interleukin-10 ELISA Kit, IL-17 için Bioscience Human IL-17 Platinum ELISA Kit) kullanılarak tespit edildi. Ölçümler üretici firmanın kitlerle birlikte verilen kullanma klavuzunda önerdiği şekilde, yöntemde değişiklikler yapılmadan gerçekleştirildi. Optik absorbans dereceleri mikroElisa otomatik okuyucu tarafından 450 nm de ölçüldü. Serum sitokin düzeyleri, kitle beraber verilen ve konsantrasyonu belli olan standartlar ile

oluşturulan standart eğrilerin, rneklelerin absorbands dereceleri ile Microsoft Excel 2003 programı kullanılarak bilgisayarında karşılaştırılması ile elde edildi.

3.4. İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 17.0 paket programı kullanıldı. Hasta grubu ve kontrol grubunun karşılaştırılması için student-t testi kullanıldı.

Çalışmada parametrik koşulları taşıyan grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testi ; parametrik koşulları sağlamayan grupların karşılaştırılmasında Ki kare ve Kolmogorow Smirnov testi kullanıldı. Ölçümle elde edilen veriler ortalama ve standart sapma, sayımla elde edilen veriler sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışma 41 (%82) kadın, 9 (%18) erkek olmak üzere 50 ITP'li hastayı kapsamaktadır. Hastaların, yaş dağılımı 18-78 arasında olup yaş ortalamaları $41 \pm 13,5$ yıldır. Kontrol grubu olarak yaş, cinsiyet uyumlu, çalışmaya katılmaya onan veren 51 sağlıklı birey seçilmiştir. Kontrol grubunda 42 (%82,3) kadın, 9 (%17,7) erkek bulunmaktadır, yaş dağılımı 18-76 yıl, yaş ortalamaları $40,8 \pm 15$ yıldır.

Hasta grubunda 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.

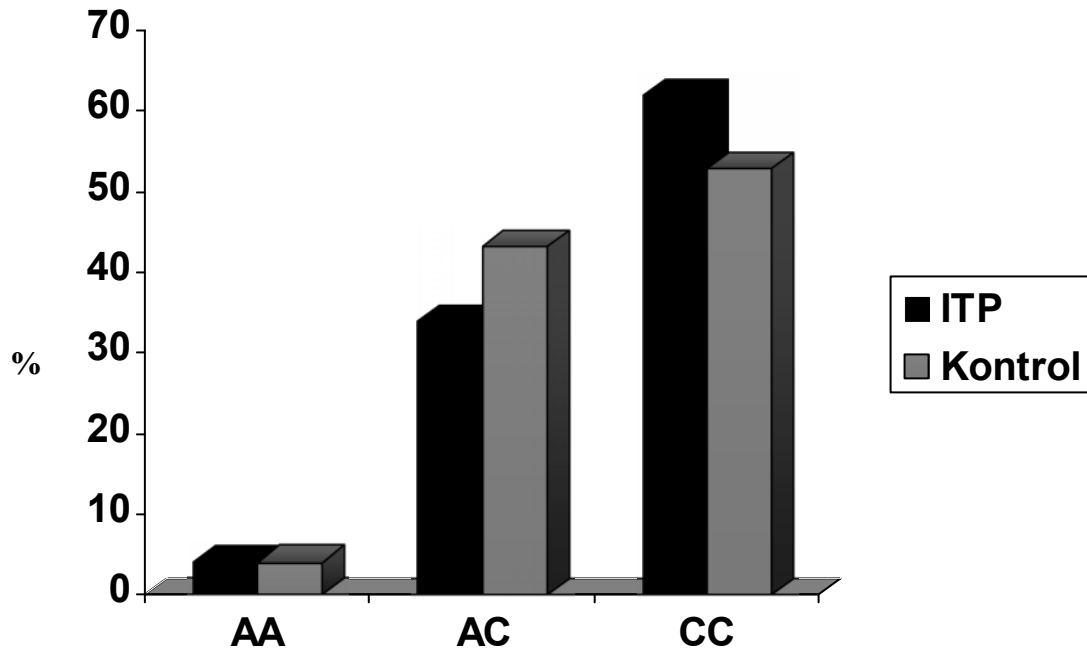
Çalışmaya alınan 50 ITP'li hastada ve 51 sağlıklı gönüllüde IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmi çalışılmış olup, hasta grubunda çalışmaya alındığı anda tedavi ihtiyacı göstermeyen toplam 30 hasta ve hasta grubu ile benzer yaş ve cinsiyet özelliklerine sahip 30 sağlıklı gönüllüde IL-10 ve IL-17 serum sitokin düzeyleri çalışılmıştır.

ITP hastalarında ve kontrol gruplarında IL-10 (-592 A/C) gen polimorfizmi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 1, Şekil 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 gruplarında 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 2, Şekil 2).

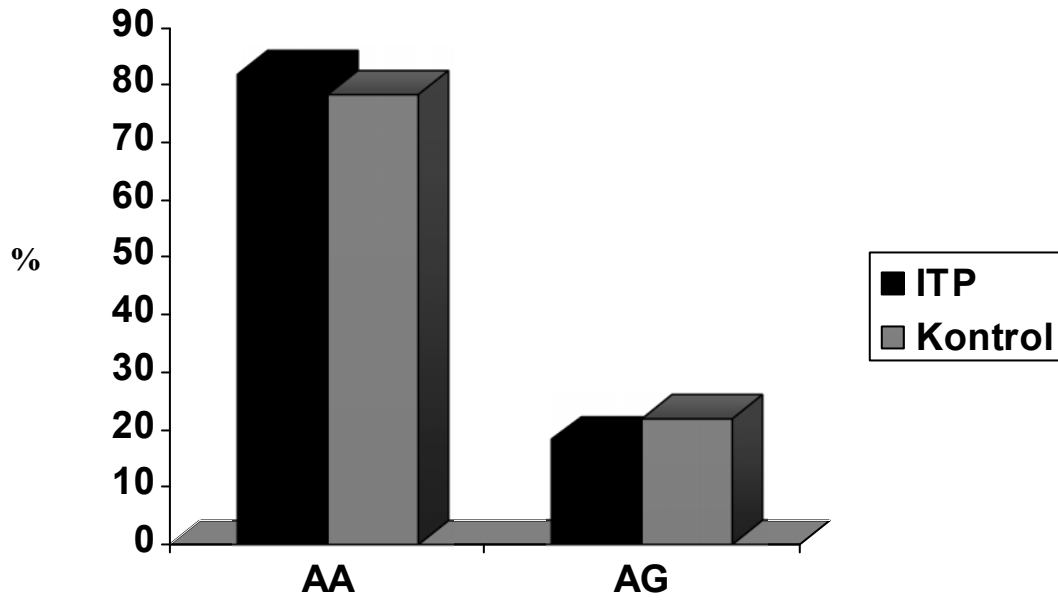
Tablo 1. ITP ve kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) gen polimorfizmi genotipi

Genotip	ITP (n=50)		Kontrol (n=51)		P değeri
	No	%	No	%	
AA	2	4,0	2	3,9	AD
CA	17	34,0	22	43,1	AD
CC	31	62,0	27	52,9	AD

**Şekil 1: ITP ve kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) gen polimorfizmi genotipi**

Tablo 2. ITP ve kontrol grubunda IL-17 (A126G) gen polimorfizmi genotipi

Genotip	ITP (n=50)		Kontrol (n=51)		P değeri
	No	%	No	%	
AA	41	82,0	40	78,4	AD
AG	9	18,0	11	21,6	AD

**Şekil 2: ITP ve kontrol grubunda IL-17 (A126G) gen polimorfizmi genotipi**

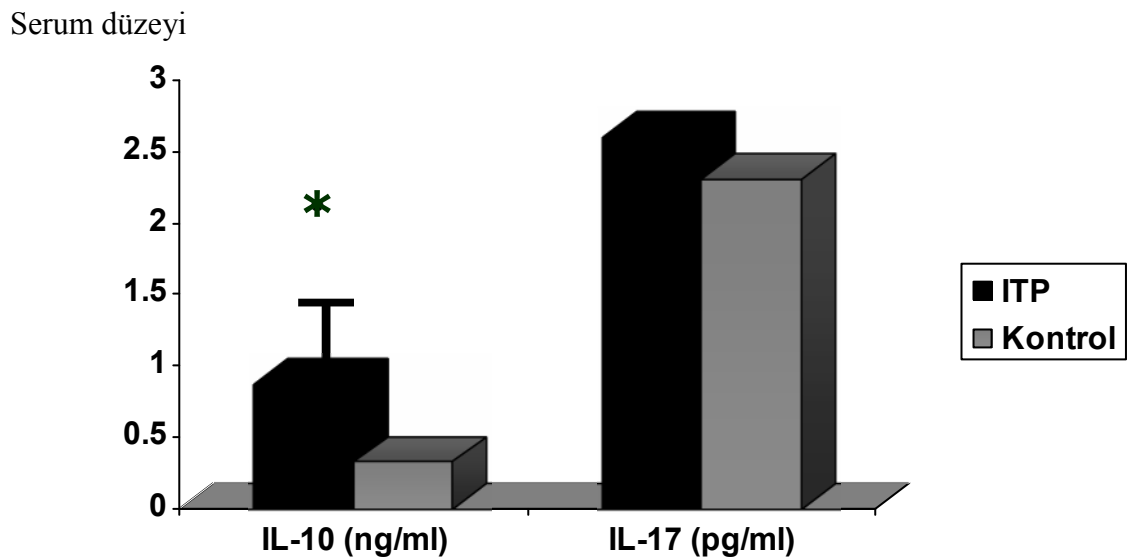
ITP ve kontrol grubunda IL-10 serum sitokin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. IL-10 serum düzeyi ortalaması hasta grubunda $0,86 \pm 0,88$ ng/ml iken kontrol grubunda $0,33 \pm 0,26$ ng/ml idi ($p=0,003$) (Tablo 3, Şekil 3).

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 ($P=0,58$) (Tablo 3, Şekil 3).

Tablo 3. ITP ve kontrol grubunda IL-10 ve IL -17 seum sitokin düzeyleri

	Hasta ($n=30$)	Kontrol ($n=30$)	P değeri
IL-10 (ng/ml)	$0,86 \pm 0,88$	$0,33 \pm 0,26$	0,003
IL-17 (pg/ml)	$2,6 \pm 1,8$	$2,3 \pm 2,0$	0,58

Değerler ortalama \pm standart sapma olarak sunulmuştur



Şekil 3: ITP ve kontrol grubunda IL-10 ve IL -17 serum sitokin düzeyleri

* $p=0.003$

ITP hastalarına verilen tedaviler ile IL-10 (-592 A/C) sitokin gen polimorfizmi ilişkisi irdelendi. 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 (Tablo 4).

Tablo 4. ITP' lı hastalarda tedavi IL-10 (-592 A/C) sitokin gen polimorfizmi ilişkisi

	IL- 10 gen polimorfizmi			
	AA	AC	CC	Toplam
Tedavi gereksinimi olmayan	0	5	4	9
Tedavi cevabı içindeki %	% 0	% 55,6	% 44,4	% 100
IL-10 gen polimorfizmi içindeki %	% 0	% 29,4	% 12,9	% 18,0
1. basamak tedavi alan	1	6	18	25
Tedavi cevabı içindeki %	% 4,0	% 24,0	% 72,0	% 100
IL-10 gen polimorfizmi içindeki %	% 50,0	% 35,3	% 58,1	% 50,0
2. basamak tedavi alan	1	4	5	10
Tedavi cevabı içindeki %	% 10,0	% 40,0	% 50,0	% 100
IL-10 gen polimorfizmi içindeki %	% 50,0	% 23,5	% 16,1	% 20,0
3. basamak tedavi alan	0	2	4	6
Tedavi cevabı içindeki %	% 0,0	% 33,3	% 66,7	% 100
IL-10 gen polimorfizmi içindeki %	% 0,0	% 11,8	% 12,9	% 12,0
Toplam	2	17	31	50
Tedavi cevabı içindeki %	% 4,0	% 34,0	% 62,0	% 100
IL-10 gen polimorfizmi içindeki %	% 100	% 100	% 100	% 100
P değeri	AD	AD	AD	

ITP'li hastalarda verilen tedaviler ile IL-17 (A126G) sitokin gen polimorfizmi ilişkisi irdelendi. 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 (Tablo 5).

Tablo 5. ITP'li hastalarda tedavi IL-17 (A126G) sitokin gen polimorfizmi ilişkisi

	IL-17 gen polimorfizmi		Toplam
	AA	AG	
Tedavi gereksinimi olmayan	5	4	9
Tedavi cevabı içindeki %	% 55,6	% 44,4	% 100
IL-17 gen polimorfizmi içindeki %	% 12,2	% 44,4	% 18,0
1. basamak tedavi alan	20	5	25
Tedavi cevabı içindeki %	% 80,0	% 20,0	% 100
IL-17 gen polimorfizmi içindeki %	% 48,8	% 55,6	% 50,0
2. basamak tedavi alan	10	0	10
Tedavi cevabı içindeki %	% 100	% 0	% 100
IL-17 gen polimorfizmi içindeki %	% 24,4	% 0	% 20,0
3. basamak tedavi alan	6	0	6
Tedavi cevabı içindeki %	% 100	% 0	% 100
IL-17 gen polimorfizmi içindeki %	% 14,6	% 0	% 12,0
Toplam	41	9	50
Tedavi cevabı içindeki %	% 82,0	% 18,0	% 100
IL-17 gen polimorfizmi içindeki %	% 100	% 100	% 100
P değeri	AD	AD	

ITP'li vakalarda IL-10 (-592 A/C) sitokin gen polimorfizmi ve cinsiyet dağılımı karşılaştırıldı. Toplam 41 kadın hastadan 2 hasta AA, 12 hasta AC, 27 hasta CC genotipine sahipti. 9 erkek hastadan ise 5 hasta AC, 4 hasta CC genotipine sahip iken, AA genotipine sahip erkek hasta yoktu (Tablo 6). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 6. ITP'de IL-10 (-592 A/C) sitokin gen polimorfizmi ve cinsiyet dağılımı

		cinsiyet		toplam
		kadın	erkek	
IL-10 genotipi	AA	2	0	2
	IL-10 genotipi içindeki %	% 100	% 0	% 100
	cinsiyet %	% 4,9	% 0	% 4,0
	AC	12	5	17
	IL-10 genotipi içindeki %	% 70,6	% 29,4	% 100
	cinsiyet %	% 29,3	% 55,6	% 34,0
	CC	27	4	31
	IL-10 genotipi içindeki %	% 87,1	% 12,9	% 100
	cinsiyet %	% 65,9	% 44,4	% 62,0
Toplam		41	9	50
	IL-10 genotipi içindeki %	% 82,0	% 18,0	% 100
	cinsiyet %	% 100	% 100	% 100
P değeri		AD	AD	

ITP'li hastalarda IL-17 (A126G) sitokin gen polimorfizmi ve cinsiyet dağılımı bakıldığı zaman toplam 41 kadın hastadan 32 hastanın AA, 9 hastanın AG, toplam 9 erkek hastadan tüm hastaların AA genotipinde olduğu görüldü (Tablo 7). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

ITP'li hastalarda serum IL-10 düzeyleri ile trombosit sayıları arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0,36$, $R:-0,073$). Yine serum IL-17 düzeyleri ile trombosit sayıları arasında ilişki saptanmadı ($p=0,7$, $R:-0,076$).

ITP'li hastalar arasında tedavi ihtiyacı olan (trombosit ≤ 30 bin/ mikrolitre) ve tedavi ihtiyacı olmayan (trombosit > 30 bin/ mikrolitre) hasta grupları arasında IL-10 düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı (tablo 8, şekil 4)

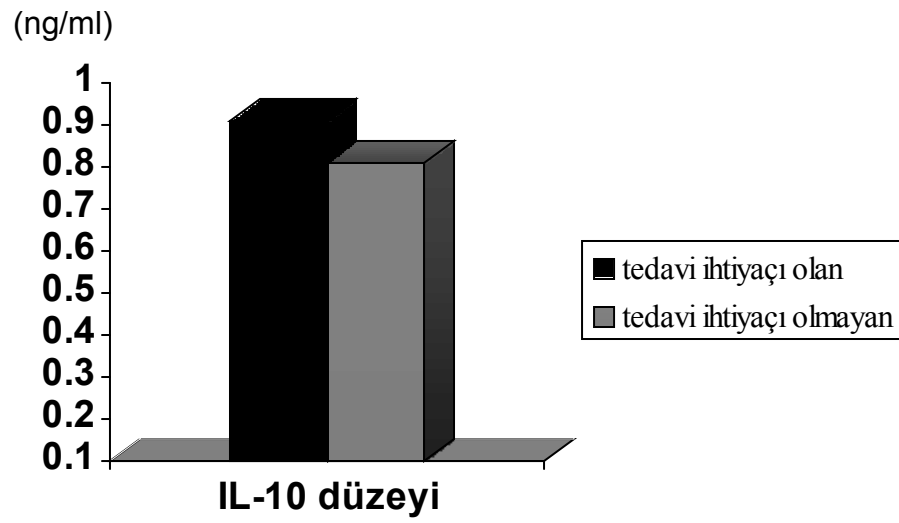
IL-10 ve IL-17 sitokin gen polimorfizm çeşitliliği ile serum IL-10 ve IL-17 düzeyleri arasında anlamlı ilişki yoktu. Yaş ile serum IL-10 düzeyleri arasında zayıf bir pozitif korelasyon tespit edilirken ($p=0,051$, $R:0,359$), yaş ile serum IL-17 düzeyleri arasında korelasyon yoktu.

Tablo 7. ITP' lı hastalarda IL-17 sitokin gen polimorfizmi ve cinsiyet dağılımı

		cinsiyet		toplam
		kadın	erkek	
IL-17 genotipi	AA	32	9	41
	IL-17 genotipi içindeki %	% 78,0	% 22,0	% 100
	cinsiyet %	% 78,0	% 100	% 82,0
	AG	9	0	9
	IL-17 genotipi içindeki %	% 100	0	% 100
	cinsiyet %	% 22	0	% 18,0
Toplam		41	9	50
	IL-17 genotipi içindeki %	% 82,0	% 18,0	% 100
	cinsiyet %	% 100	% 100	% 100
P değeri		AD	AD	

Tablo 8. ITP'li hastalarda tedavi ihtiyacı olan ve olmayan grupta serum IL-10 düzeyleri

	tedavi ihtiyacı olan (<i>n</i> =15)	tedavi ihtiyacı olmayan (<i>n</i> =15)	P değeri
IL-10 (ng/ml)	0,91 ± 0,89	0,81 ± 0,9	AD



Şekil 4. ITP' lı hastalarda tedavi ihtiyacı olan ve olmayan grupta serum IL-10 düzeyleri

5. TARTIŞMA

ITP trombositlere karşı gelişen otoantikörler sonucu artmış trombosit yıkımı ile karakterize otoimmün bir hastalıktır. Otoantikörler genellikle trombosit yüzey glikoproteinleri olan GP IIb/IIIa ve GPIb' ye karşıdır ve bu antikörler aracılığı ile retikoendotelial sistemde makrofajlar tarafından trombositlerin antikör aracılıklı yıkımı olmaktadır. ITP' nin etyolojisi açık değildir ancak hem genetik hem de çevresel faktörlerin ITP'nin gelişiminde etkili olduğu kabul edilmektedir. Otoreaktif B lenfositlerinden üretilen antitrombosit antikörlerinin ITP de primer immunolojik defekt olduğu düşünülse de disfonksiyonel hücrel immunitenin ITP'nin patogeneğinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (84). T helper hücreler ürettikleri sitokine göre iki grupta sınıflandırılmaktadırlar. Bunlar IFN gama üreten ve makrofajların aktivasyonunda rol oynayan Th 1 ve esas antikör oluşumunda rol alan Th 2 lenfositlerdir. Bir çok immün cevabın düzenlenmesinde ve otoimmün hastalıkta Th 1 ve Th 2 oranı önemli rol oynamaktadır (85). Immün sistemin Th 1 (sellüler) veya Th 2 (humoral) yönde kutuplaşması immün aktivasyondaki sitokinlerin seviyelerine göre olmaktadır. Kronik ITP de yapılan çoğu çalışmalarda Th 1 cevabı olduğu gösterilmişken (4-6,86), bazı çalışmalarda da Th 2 cevabı olduğu gösterilmiştir (87). Son zamanlarda T helper lenfositlerin Th 1 ve Th 2 den farklı olarak IL-17 salgılayan Th 17 olarak adlandırılan yeni bir alt grubu olduğu tanımlanmıştır (88,89). Bir çok otoimmün hastalıkta Th 17 hücrelerinin önemli rol oynadığı gösterilmiştir. İmmün inhibisyonda rol oynayabilen ancak aynı zamanda humoral immüniteyi aktive eden IL-10 sitokinin de bir çok otoimmün hastalığının gelişimini etkileyebileceğini gösteren yayınlar mevcuttur. Romatoid artrit, Behçet hastalığı, Graves hastalığı, ülseratif kolit, astım, atopik dermatit, çölyak hastalığı gibi patogeneğinde otoimmünitenin sorumlu tutulduğu hastalıklarda IL-10 veya IL-17 sitokin gen polimorfizmi çalışıldığı ve bazılarında anlamlı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Literatüre bakıldığında otoimmün bir hastalık olan ITP de IL-10 gen polimorfizmi ile ilgili yapılmış üç, IL 17 gen polimorfizmi ile ilgili bir çalışma olduğu görülmektedir.

IL-10 gen polimorfizmleri ile bir çok otoimmün hastalık arasında ilişki olduğu çok sayıda makalede yayımlanmıştır. Graham RW ve arkadaşlar 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 saptanmıştır (90). 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 edilmiştir (91). 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 saptamışlardır (92). 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 saptamışlar (93).

Bir çok araştırmacı Th 17 hücrelerinin romatoid artrit, otoimmün diabetes mellitus, otoimmün ensefalit veya ankilozan spondilitis gibi T hücre ilişkili hastalıklarda önemli rol oynadığını göstermişlerdir (78,81,94). IL 17 F ile çeşitli immunolojik hastalıklar arasında ilişkiyi gösteren bir çok polimorfizm çalışması mevcuttur. IL-17 F 7488 CC genotipi sıklığı artmış astım olasılığı ile ilişkili iken inflamatuvar bağırsak hastalığı, romatoid artrit ve kronik yorgunluk sendromu ile ters ilişkili bulunmuştur (95,96,97). 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 saptanmıştır (98). 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 saptamışlardır (99). Paradowska-Gorycka A ve arkadaşları 220 Polonyalı 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 bulunmuştur (100).

Bizim çalışmamızda ITP hastalarında ve kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmleri çalışılmış, ancak kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca ITP'li hastalarda sitokin gen polimorfizmleri ile trombosit sayısı, tedavi endikasyonu ve tedavi cevabı ilişkisi araştırılmış; sitokin gen polimorfizmi olan ve olmayan hastalar arasında trombosit sayısı, tedavi endikasyonu ve tedavi cevapları açısından bir farklılık saptanmamıştır. Ayrıca 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 korelasyon saptanmamıştır. Serum IL-17 düzeyleri ise hasta ve kontrol grubunda benzer bulunmuştur.

Literatürde IL-10 gen polimorfizmi ile ilgili çalışmalar incelendiğinde farklı sonuçların olduğu görülmektedir. Pehlivan M ve arkadaşları 71 kronik ITP hastası ve sağlıklı kontrollerde IL-10 sitokin gen polimorfizmi çalışmışlar ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptamamışlardır (101). 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 bulamamışlar 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 hastalar bu haplotipe sahip olmayanlara göre ciddi trombositopeniye sahip oldukları tespit edilmiştir (102). 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 saptamışlar (103).

ITP de IL-17 gen polimorfizmi ile ilgili olarak Saitoh T ve arkadaşlarının bir çalışması yayımlanmıştır. Kronik ITP'li 102 hasta ve 188 sağlıklı bireyde IL-17 F 7488 CC genotipini çalışmışlar ve kontrol grubuna kıyasla ITP'li vakaların IL-17F 7488 CC genotipini daha az sıklıkla sahip olduklarını 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 edilmiştir (104). Zhang J. ve arkadaşları kronik ITP'li hastalarda dolaşan Th 17 hücre

yüzdesinin normal hücelere kıyasla daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca bu çalışmada Th 1 ve Th 17 arasında pozitif korelasyon olduğu da gösterilmiştir (105).

Bizim çalışmamızda da ITP hastalarında IL-10 (-592 A/C) gen polimorfizminin Pehlivan M ve Saitoh T ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda olduğu gibi kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak Saitoh ve arkadaşlarının araştırmasında IL-10 -592 AA genotipine sahip hastaların, -592 CC/CA genotipine sahip hastalara kıyasla ciddi trombositopeniye (trombosit sayısı < 10 bin/mikrolitre) sahip oldukları görülmüştür, ancak bizim hasta gruplarımızda böyle bir fark tespit edilmemiştir. Saitoh T ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada farklı bir gen bölgesi polimorfizmi irdelenmiş ve bu bakılan IL-17 F 7488 bölgesinde ITP'li vakaların IL-17F 7488 CC genotipini daha az sıklıkla sahip olduklarını tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızdan elde edilen bulgular ise ITP ile IL-17 (A126G) gen polimorfizimleri arasında bir bağlantı bulunmadığını göstermiştir.

ITP'li hastalarda serum IL-10 ve IL-17 düzeylerinin çalışıldığı sınırlı sayıda makale mevcuttur. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar genellikle sınırlı sayıda vaka içermektedir ve çelişkilidir. 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 anlamlı fark bulunamamıştır (106). 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 plasma seviyelerini çalışmışlar ve kontrol grubu ile arasında fark bulamamışlardır (107). 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 /mikrolitreden düşük olanlar, ikinci grup trombosit sayısı 50-150 bin/mikrolitre arasında olup stabil hastalığı olanlar, üçüncü grupta 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 saptanamamıştır (108). Guo NH, Shi QZ ve arkadaşlarının Çin'de ITP li hastalarda yapmış oldukları başka bir çalışmada IL-10 sev seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunurken, IL-17 seviyesinde anlamlı fark saptanamamışlardır. (109) Yine Çin' de Chang DY, Ouyang J, ve arkadaşlarının kronik ITP hastalarında yaptıkları bir çalışmada IL-10 ve IL-17 plazma

seviyeleri ELİSA yöntemi ile bakılmış. 21 aktif hastalığı olan, 5 remisyonunda olmayan ve 9 remisyonunda olan ITP li hasta ve toplam 18 sağlıklı kontrolde bu çalışma yapılmıştır. Gruplar arasında IL-17 seviyesi ile fark saptanmamışken IL-10 seviyesi remisyonunda olan ve sağlıklı bireylerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Plazma IL-10 seviyesi trombosit sayısı ile pozitif olarak korele bulunmuştur (110). Literatürdeki veriler incelendiğinde bizim çalışmamıza benzer şekilde çoğu çalışmada serum IL-17 seviyeleri hasta ve kontrol grubunda farklılık göstermemiştir. Ancak serum IL-10 düzeyleri analiz edildiğinde çalışmalar arasında oldukça farklı veriler olduğu dikkati çekmektedir. Bazı çalışmalarda hasta ve kontrol gruplarında serum IL-10 düzeyleri benzer bulunmuş iken, bazı çalışmalarda ise serum IL-10 düzeyleri düşük bulunmuştur. Serum IL-10 düzeyleri ile ilgili farklılıklar muhtemelen çalışma populasyonlarının heterojenliğinden kaynaklanmaktadır. Bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler ise erişkin ITP'li hastalarda serum IL-10 düzeylerinin yüksek olduğunu göstermiştir. IL-10 farklı etkilere sahip bir sitokindir. Bir yandan Th1 cevabı ile ilişkili proinflamatuvar sitokinleri ve antijen sunan hücreleri inhibe eder iken, öte yandan bazı T lenfositleri ve B lenfositlerin matürasyon ve antikor üretimini stimüle etmektedir (111). Özellikle B lenfositler üzerine olan uyarıcı ve aktive edici etkileri, trombositlere karşı antikor üretimi sonucu gelişen bir hastalık olan ITP'de serum IL-10 yüksekliği ile hastalık arasında bağlantı kurulmasına olanak sağlayabilir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmleri sıklığının ve serum IL-17 seviyelerinin ITP hastalarında ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerde farklı olmadığını, dolayısıyla ITP gelişiminde bir rollerinin bulunmayabileceğini göstermiştir. IL-10 serum sitokin düzeyleri ise ITP hastalarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. ITP hastalarında serum IL-10 düzeyleri ile ilgili literatürdeki çelişkili veriler de dikkate alındığında bu alanda daha geniş hasta serili çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada ITP hastalarında ve kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmleri çalışılmış, ancak kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ITP'li hastalarda sitokin gen polimorfizmleri ile trombosit sayısı, tedavi endikasyonu ve tedavi cevabı ilişkisi araştırılmış; sitokin gen polimorfizmi olan ve olmayan hastalar arasında trombosit sayısı, tedavi endikasyonu ve tedavi cevapları açısından bir farklılık saptanmamıştır. Ayrıca 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 korelasyon saptanmamıştır. Serum IL-17 düzeyleri ise hasta ve kontrol grubunda benzer bulunmuştur.

Kısıtlılıkları şu şekilde özetleyebiliriz;

- 1- Vaka sayısı azlığı nedeniyle anlamlı farklılık olasılığı olan parametrelerde istatistiksel anlam verecek düzeye ulaşılamamıştır.
- 2- Yeni tanı ITP hastalarında tedavi cevabı ile IL-10 ve IL-17 sitokin düzeylerinin ilişkisinin araştırılması Hematoloji polikliniğine başvuran tedavi gereksinimi olan yeni tanı akut ITP hastalarının az sayıda olmasından dolayı yapılamamıştır.
- 3- Çalışma kaynaklarının sınırlı olması nedeniyle fazla sayıda sitokin gen polimorfizm bölgesi çalışılamamıştır.

Öneriler:

İmmun cevapla ilişkili olan IL-10 ve IL-17 sitokinlerinin gen polimorfizmlerin bazı otoimmün hastalıklarda ilişkisi gösterilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmleri sıklığının ve serum IL-17 seviyelerinin ITP hastalarında ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerde farklı olmadığını, dolayısıyla ITP gelişiminde bir rollerinin bulunmayabileceğini göstermiştir. IL-10 serum sitokin düzeyleri ise ITP hastalarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. ITP hastalarında serum IL-10 düzeyleri ile ilgili literatürdeki çelişkili veriler de dikkate alındığında bu alanda daha geniş hasta serili çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

7. ÖZET

Erişkin İdiyopatik Trombositopenik Purpuralı Hastalarda IL-10 ve IL-17 Gen Polimorfizmi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Trabzon 2011. ITP artmış trombosit yıkımı ile karakterize, kronik, edinsel ve organ spesifik bir otoimmün hastalıktır. Literatüre bakıldığında interlökin 10 (IL-10) ve interlökin 17 (IL-17) sitokin gen polimorfizmlerinin romatoid artrit, Behçet hastalığı, Graves hastalığı, ülseratif kolit, astım, atopik dermatit, çölyak hastalığı gibi patogenezinde otoimmünitenin sorumlu tutulduğu hastalıklarda çalışıldığı ve bazılarında anlamlı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Otoimmün bir hastalık olan ITP’de diğer otoimmün hastalıklara kıyasla IL-10 ve IL-17 gen polimorfizmleri ile ilgili yayınlanmış az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmada ITP hastalarında ve kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmi ve bu sitokinlerin serum düzeyleri çalışılması amaçlanmıştır.

50 ITP’li hastada ve 51 sağlıklı kontrol grubunda IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmi DNA izolasyonu yapıldıktan sonra belirlenmiş ve bu sitokinlerin serum düzeyleri ELİSA yöntemi ile toplam 32 sağlıklı bireyde ve ITP’li hastada çalışılmış; gruplar arasında IL-10 ve IL-17 sitokinleri gen polimorfizmleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, serum IL-10 düzeyleri ITP’li hastalarda sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p değeri: 0,003). Serum IL-17 düzeyleri ise hasta ve kontrol grubunda benzer bulunmuştur. Ayrıca yaş, cinsiyet, tedavi cevabı, tanı anındaki trombosit sayısı ile IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmi ve bu sitokinlerin serum düzeyleri karşılaştırılmış ancak gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar IL-10 (-592 A/C) ve IL-17 (A126G) gen polimorfizmleri sıklığının ve serum IL-17 seviyelerinin ITP hastalarında ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerde farklı olmadığını, dolayısıyla ITP gelişiminde bir rollerinin bulunmayabileceğini göstermiştir. IL-10 serum sitokin düzeyleri ise ITP hastalarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. ITP hastalarında serum IL-10 düzeyleri ile ilgili literatürdeki çelişkili veriler de dikkate alındığında bu alanda daha geniş hasta serili çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: ITP, IL-10 ve IL-17 gen polimorfizmi, serum seviyesi

8. SUMMARY

IL-10 and IL-17 gene polymorphisms in adult idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). In adults ITP is primarily characterized by increased platelet destruction, it is chronic, acquired and organ specific autoimmune disorder. When the literature is analysed, many investigations about interleukin-10 and interleukin-17 gene polymorphisms in rheumatoid arthritis, Behçet's disease, Graves' disease, ulcerative colitis, asthma, atopic dermatitis, celiac disease in which autoimmune disorder is associated with their pathogenesis are seen and there are significant differences in some of them. In ITP which is an immune-mediated disorder there are a few study. In this study we aim to investigate IL-10 (-592 A/C) and IL-17 (A126G) gene polymorphisms and their serum levels in patients with ITP and control groups.

After the investigation of IL-10 (-592 A/C) and IL-17 (A126G) gene polymorphisms and their plasma levels in patients with ITP and control groups, no significant differences can be found in IL-10 (-592 A/C) and IL-17 (A126G) gene polymorphisms and IL-17 serum levels between patients with ITP and control groups. However IL-10 serum levels are significantly higher in patients groups compared to control groups (p:0,003). We examined 50 patients with ITP and 51 healthy controls for gene polymorphisms and 32 patients with ITP and 32 healthy controls with ELISA for plasma levels. In addition we investigate the relationship between age, sex, treatment respond and platelet count in diagnosis in patients, IL-10 (-592 A/C) and IL-17 (A126G) gene polymorphisms and their plasma levels in patients with ITP but there is no significant differences between groups.

The result of this study – there is no significant differences in IL-10 (-592 A/C) and IL-17 (A126G) gene polymorphisms and IL-17 serum levels between patients with ITP and control groups- demonstrates that there may be no contribution of them in developing ITP. IL-10 serum levels are significantly higher in patients groups compared to control groups. There are lots of contradictory results in IL-10 serum levels in ITP patients. Large prospective studies of cytokine gene polymorphisms are needed to determine the role they play in ITP.

Keywords:ITP, IL-10, IL-17 polymorphisms, serum levels

9. KAYNAKLAR

1. Olsson B, Andersson PO, Jerna' s M, Jacobsson S, Carlsson B, Carlsson LM, Wadenvik H: T-cell mediated cytotoxicity toward platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nat Med*, 9: 1123–24, 2003.
2. Semple JW: Immune pathophysiology of autoimmune thrombocytopenic. *Blood Rev*, 16: 9–12, 2002.
3. Zhang F, Chu X, Wang L, Zhu Y, Li L, Ma D, Peng J, Hou M: Cell-mediated lysis of autologous platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*, 76: 427–31, 2006.
4. Semple JW, Milev Y, Cosgrave D, Mody M, Hornstein A, Blanchette V, Freedman J: Differences in serum cytokine levels in acute and chronic autoimmune thrombocytopenic Purpura relationship to platelet phenotype and antiplatelet T cell reactivity. *Blood*, 87: 4245–54,1996.
5. Ogawara H, Handa H, Morita K, et al: High Th1 / Th2 ratio in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*, 71: 283–8, 2003.
6. Panitsas FP, Theodoropoulou M, Kouraklis A, Karakantza M, Theodorou GL, Zoumbos NC, Maniatis A, Mouzaki A: Adult chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) is the manifestation of a type-1 polarized immune response. *Blood*, 103: 2645–47, 2004.
7. George JN, Woolf SH, Raskob GE, et al: Idiopathic thrombocytopenic purpura, a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood*, 88-93,1996.

8. Cines DB, Blanchette VS: Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*, 346: 995-99, 2002.
9. British Committee for Standards in Haematology General Haematology Task Force: Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. *Br J Haematol*, 120: 574-76, 2003.
10. Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, et al: Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children; report from an international working group. *Blood*, 113: 2386-88, 2009.
11. Provan D, Stasi R, Newland AC, et al: International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood*, 115: 168, 2010.
12. Cines DB, Bussel JB, Liebman HA, Luning Prak ET: The ITP syndrome; pathogenic and clinical diversity. *Blood*, 113: 6511, 2009.
13. Cortelazzo S, Finazzi G, Buelli M, et al: High risk of severe bleeding in aged patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 77: 31-33, 1991.
14. Portielje JE, Westendorp RG, Kluin-Nelemans HC, Brand A: Morbidity and mortality in adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 97: 2549, 2001.
15. Neylon AJ, Saunders PW, Howard MR, et al: Clinically significant newly presenting autoimmune thrombocytopenic purpura in adults; a prospective study of a population-based cohort of 245 patients. *Br J Haematol*, 122: 966, 2003.
16. Frederiksen H, Schmidt K: The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults increases with age. *Blood*, 94: 909, 1999.
17. Michel M, Lee K, Piette JC, et al: Platelet autoantibodies and lupus-associated thrombocytopenia. *Br J Haematol*, 119: 354, 2002.

18. Kuwana M, Kaburaki J, Okazaki Y, et al: Two types of autoantibody-mediated thrombocytopenia in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*, 45: 851-54, 2006.
19. Nugent D, McMillan R, Nichol JL, Slichter SJ: Pathogenesis of chronic immune thrombocytopenia; increased platelet destruction and/or decreased platelet production. *Br J Haematol*, 146: 585-596, 2009.
20. Toltl LJ, Arnold DM: Pathophysiology and management of chronic immune thrombocytopenia; focusing on what matters. *Br J Haematol*, 152: 52, 2011.
21. Cooper N, Bussel J: The pathogenesis of immune thrombocytopaenic purpura. *Br J Haematol*, 33: 364, 2006.
22. Sood R, Wong W, Gotlib J, et al: Gene expression and pathway analysis of immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 140: 99, 2008.
23. Ustun C, Dainer P, Hendricks L, et al: Association of breast cancer and immune thrombocytopenic purpura. *South Med J*, 95: 1335, 2002.
24. Peffault de Latour R, Des Guetz G, Laurence V, et al: Breast cancer associated with idiopathic thrombocytopenic purpura; a single center series of 10 cases. *Am J Clin Oncol*, 27: 333, 2004.
25. Tfayli, A, Vesely, SK, George, JN: Occurrence of immune thrombocytopenic purpura in patients with nonhematologic cancers; a systematic review of clinical evidence from case reports. *Community Oncology*, 5: 260, 2008.
26. Khasraw M, Baron-Hay S: Immune thrombocytopenic purpura (ITP) and breast cancer. Does adjuvant therapy for breast cancer improve platelet counts in ITP? *Ann Oncol*, 20: 1282, 2009.

27. Branchog I, Kutti J, Ridell B, et al: The relation of thrombokinetics to bone marrow megakaryocytes in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Blood*, 45: 551-62, 1975.
28. Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, Means RT: *Wintrobe's Clinical Hematology*. Twelfth ed, Wolters Kluwer / Lipincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2009, pp. 1292-313.
29. . Heyns A du P, Badenhorst PN, Lotter MG, et al: Platelet turnover and kinetics in immune thrombocytopenic purpura: results with autologous ¹¹¹In-labeled platelets and homologous ⁵¹Cr-labeled platelets differ. *Blood*, 67: 86-92, 1986.
30. Sukati H, Watson HG, Urbaniak SJ, Barker RN: Mapping helper T-cell epitopes on platelet membrane glycoprotein IIIa in chronic autoimmune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 109: 4528, 2007.
31. Kuwana M, Okazaki Y, Ikeda Y: Splenic macrophages maintain the anti-platelet autoimmune response via uptake of opsonized platelets in patients with immune thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost*, 7: 319-321, 2009.
32. Chong BH: Primary immune thrombocytopenia; understanding pathogenesis is the key to better treatments. *J Thromb Haemost*, 7: 319, 2009.
33. Peerschke EI, Andemariam B, Yin W, Bussel JB: Complement activation on platelets correlates with a decrease in circulating immature platelets in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 148: 638, 2010.
34. Guthrie TH Jr, Brannan DP, Prisant LM: Idiopathic thrombocytopenic purpura in the older adult patient. *Am J Med Sci*, 296: 17, 1988.
35. Wandt H, Frank M, Ehninger G, et al: Safety and cost effectiveness of a $10 \times 10^9/L$ trigger for prophylactic platelet transfusions compared with the traditional $20 \times 10^9/L$ trigger; a prospective comparative trial in 105 patients with acute myeloid leukemia. *Blood*, 91: 3601, 1998.

36. Lacey JV, Penner JA: Management of idiopathic thrombocytopenic purpura in the adult. *Semin Thromb Hemost*, 3: 160, 1977.
37. Nelson RB, Kehl D: Electronically determined platelet indices in thrombocytopenic patients. *Cancer*, 48: 954-956, 1981.
38. Pegels JG, Helmerhorst FM, Van leeuwen EF, et al: The Evans syndrome: characterization of the responsible autoantibodies. *Br J Haematol*, 51: 445-450, 1982.
39. Jubelirer SJ, Harpold R: The role of the bone marrow examination in the diagnosis of immune thrombocytopenic purpura: case series and literature review. *Clin Appl Thromb Hemost*, 8: 73, 2002.
40. Cindy Neunert, Wendy Lim, Mark Crowther, Alan Cohen, Lawrence Solberg Jr, Mark A: Crowther The American Society of Hematology 2011, evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia February , 2011.
41. Queisser U, Queisser W, Spiertz B: Polyploidization of megakaryocytes in normal humans, in patients with idiopathic thrombocytopenia and with pernicious anaemia. *Br J Haematol*, 20: 489-501, 1971.
42. Stasi R, Stipa E, Masi M, Cecconi M, Scimo MT, Oliva F, Sciarra A, Perrotti AP, Adomo G, Amadori S, et al: Long-term observation of 208 adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Med*, 98: 436-42, 1995.
43. George JN: Management of immune thrombocytopenia-something old, something new. *N Engl J Med*, 363: 1959-61, 2010.
44. Kojouri K, Vesely SK, Terrell DR, George JN: Splenectomy for adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura; a systematic review to assess long-term platelet count responses, prediction of response, and surgical complications. *Blood*, 104: 2623-34, 2004.

45. George JN, Raskob GE, Vesely SK, Moore D Jr, Lyons RM, Cobos E, Towell BL, Klug P, Guthrie TH: Initial management of immune thrombocytopenic purpura in adults; a randomized controlled trial comparing intermittent anti-D with routine care. *Am J Hematol*, 74: 161-9, 2003.
46. Sarpatwari A, Provan D, Erqou S, Sobnack R, David Tai FW, Newland AC: Autologous 111 In-labelled platelet sequestration studies in patients with primary immune thrombocytopenia (ITP) prior to splenectomy; a report from the United Kingdom ITP Registry. *Br J Haematol*, 151: 477-87, 2010.
47. Law C, Marcaccio M, Tam P, Heddle N, Kelton JG: High-dose intravenous immune globulin and the response to splenectomy in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*, 336: 1494-81, 1997.
48. Holt D, Brown J, Terrill K, Goldsby R, Meyers RL, Heximer J, Nordfors B, Slayton WB: Response to intravenous immunoglobulin predicts splenectomy response in children with immune thrombocytopenic purpura. *Pediatrics*, 111: 87-90, 2003.
49. Bussel JB, Kaufmann CP, Ware RE, Woloski BM: Do the acute platelet responses of patients with immune thrombocytopenic purpura (ITP) to IV anti-D and to IV gammaglobulin predict response to subsequent splenectomy? *Am J Hematol*, 67: 27-33, 2001.
50. Ruivard M, Caulier MT, Vantelon JM, Tournilhac O, Schaeffer A, Godeau B, Bierling P: The response to high-dose intravenous immunoglobulin or steroids is not predictive of outcome after splenectomy in adults with autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 105: 1130-32, 1999.
51. Radaelli F, Faccini P, Goldaniga M, Guggiari E, Pozzoli E, Maiolo AT, Ciani A, Pogliani EM: Factors predicting response to splenectomy in adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica*, 85: 1040-44, 2000.

52. Fabris F, Tassan T, Ramon R, Carraro G, Randi ML, Luzzatto G, Moschino P, Girolami A: Age as the major predictive factor of long-term response to splenectomy in immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*, 112: 637-40, 2001.

53. Wu JM, Lai IR, Yuan RH, Yu SC: Laparoscopic splenectomy for idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Surg*, 187: 720-3, 2004.

54. Dolan JP, Sheppard BC, DeLoughery TG: Splenectomy for immune thrombocytopenic purpura; surgery for the 21st century. *Am J Hematol*, 83: 93-6, 2008.

55. Arnold DM, Dentali F, Crowther MA, Meyer RM, Cook RJ, Sigouin C, Fraser GA, Lim W, Kelton JG: Systematic review: efficacy and safety of rituximab for adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med*, 146: 25-33, 2007.

56. Godeau B, Porcher R, Fain O, Lefrere F, Fenaux P, Cheze S, Vekhoff A, Chauveheid MP, Stirnemann J, Galicier L, Bourgeois E, Haiat S, Varet B, Leporrier M, Papo T, Khellaf M, Michel M, Bierling P: Rituximab efficacy and safety in adult splenectomy candidates with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 112: 999-1004, 2008.

57. Zaja F, Vianelli N, Volpetti S, Battista ML, Defina M, Palmieri S, Bocchia M, Medeot M, De Luca S, Ferrara F, Isola M, Baccarani M, Fanin R: Low-dose rituximab in adult patients with primary immune thrombocytopenia. *Eur J Haematol*, 85: 329-34, 2010.

58. Carson KR, Evens AM, Richey EA, Habermann TM, Focosi D, Seymour JF, Laubach J, Bawn SD, Gordon LI, Winter JN, Furman RR, Vose JM, Zelenetz AD, Mamtani R, Raisch DW, Dorshimer GW, Rosen ST, Muro K, Gottardi-Littell NR, Talley RL, Sartor O, Green D, Major EO, Bennett CL: Progressive multifocal leukoencephalopathy after rituximab therapy in HIV-negative patients; a report of 57 cases from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. *Blood*, 113: 4834-40, 2009.

59. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L Jr, Crowther MA: American Society of Hematology. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood*, 117: 4190-207, 2011.
60. Bussel JB, Kuter DJ, Pullarkat V, Lyons RM, Guo M, Nichol JL: Safety and efficacy of long-term treatment with romiplostim in thrombocytopenic patients with chronic ITP. *Blood*, 113: 2161-71, 2009.
61. Kuter DJ, Mufti GJ, Bain BJ, Hasserjian RP, Davis W, Rutstein M: Evaluation of bone marrow reticulin formation in chronic immune thrombocytopenia patients treated with romiplostim. *Blood*, 114: 3748-56, 2009.
62. Cheng G, Saleh MN, Marcher C, Vasey S, Mayer B, Aivado M, Arning M, Stone NL, Bussel JB: Eltrombopag for management of chronic immune thrombocytopenia (RAISE); a 6-month, randomised, phase 3 study. *Lancet*, 377: 393-402, 2011.
63. Guidry JA, Watson S, George JN, Vesely SK, Terrell DR: Addendum to corticosteroid side effects and risk for bleeding in immune thrombocytopenic purpura; patient perspectives. *Eur J Haematol*, 83: 497-8, 2009.
64. Reiner A, Gernsheimer T, Slichter SJ: Pulse cyclophosphamide therapy for refractory autoimmune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 85: 351-8, 1995.
65. Figueroa M, Gehlsen J, Hammond D, Ondreyco S, Piro L, Pomeroy T, Williams F, McMillan R: Combination chemotherapy in refractory immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*, 328: 1226-9, 1993.

66. Arnold DM, Nazi I, Santos A, Chan H, Heddle NM, Warkentin TE, Kelton JG: Combination immunosuppressant therapy for patients with chronic refractory immune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 115: 29-31,2010.
67. Thanarajasingam G, Vaidya R, Erie A, Wolanskyj AP: Accessory splenectomy for refractory immune thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol*, 86: 520-3, 2011.
68. Vesely SK, Perdue JJ, Rizvi MA, Terrell DR, George JN: Management of adult patients with persistent idiopathic thrombocytopenic purpura following splenectomy; a systematic review. *Ann Intern Med*, 140: 112-20, 2004.
69. Arnold DM, Bernotas A, Nazi I, Stasi R, Kuwana M, Liu Y, Kelton JG, Crowther MA: Platelet count response to *H. pylori* treatment in patients with immune thrombocytopenic purpura with and without *H. pylori* infection. *Haematologica*, 94: 850-6, 2009.
70. Huhn RD, Fogarty PF, Nakamura R, Read EJ, Leitman SF, Rick ME, Kimball J, Greene A, Hansmann K, Gratwohl A, Young N, Barrett AJ, Dunbar CE: High-dose cyclophosphamide with autologous lymphocyte-depleted peripheral blood stem cell (PBSC) support for treatment of refractory chronic autoimmune thrombocytopenia. *Blood*, 101: 71-2, 2003.
71. Passweg JR, Rabusin M, Musso M, Beguin Y, Cesaro S, Ehninger G, Espigado I, Iriundo A, Jost L, Koza V, Lenhoff S, Lisukov I, Locatelli F, Marmont A, Philippe P, Pilatrin C, Quartier P, Stary J, Veys P, Vormoor J, Wahlin A, Zintl F, Bocelli-Tyndall C, Tyndall A, Gratwohl A; Autoimmune Disease Working Party of the EBMT: Haematopoietic stem cell transplantation for refractory autoimmune cytopenia. *Br J Haematol*, 125: 749-55, 2004.
72. Abbas A, Lichtman A, Pober J: *Cellular and Molecular Immunology*, 2nd Ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company. 1994.

73. Delves P, Roitt I (eds): Encyclopedia of Immunology, 2nd Ed, San Diego, Academic Pres. 1998.
74. Chabot S, Williams G, Hamilton M, Sutherland G, Wee Yong V: Mechanisms of IL-10 Production in Human Microglia-T Cell Interaction. *Journal of Immunology*, 162: 6819-28, 1999.
75. Groux H, Cottrez F, Rouleau M, Mauze S, Antonenko S, Hurst S, McNeil T, Bigler T, Roncarolo M, Coffman R: A transgenic model to analyze the immunoregulatory role of IL-10 secreted by antigen-presenting cells. *Journal of Immunology*, 162: 1723-29, 1999.
76. Yue Ho S, Ying Liu A, Khan T, Hsu D, Bazan J, Moore K: A receptor for interleukin 10 is related to interferon receptors; *Proceedings of the National Academy of Science, USA*. 90: 11267-71, December 1993.
77. In Vivo Veritas: Biologic Therapeutics Program of the UPCI, NIH Cytokine Interest Group Symposium on Interleukin-10. Sep 10, 1996.
78. Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK, Armitage RJ: Human IL-17; a novel cytokine derived from T cells. *J Immunol*, 155: 5483–86, 1995.
79. Kawaguchi M, Adachi M, Oda N, Kokubu F, Huang SK: IL-17 cytokine family. *J Allergy Clin Immunol*, 114: 1265–73, 2004.
80. Nakae S, Nambu A, Sudo K, Iwakura Y: Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17 deficient mice. *J Immunol*, 171: 6173–77, 2003.
81. Kawaguchi M, Kokubu F, Fujita J, Huang SK, Hizawa N: Role of interleukin-17F in asthma. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 8: 383–9, 2009.
82. Crispin JC, Tsokos GC: IL-17 in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol*, 1–4, 2010.

83. Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y: Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut*, 52: 65–70, 2003.
84. Zhou B, Zhao H, Yang RC, Han ZC: Multi-dysfunctional pathophysiology in ITP. *Crit Rev Oncol Hematol*, 54: 107–116, 2004.
85. Mosmann TR, Sad S: The expanding universe of T-cells subsets; Th1, Th2 and more. *Immunol Today*, 17: 138–46, 1996.
86. Nomura S, Yanabu M, Kido H, Lan XG, Ichiyoshi H, Katsura K et al: Significance of cytokines and CD68 -positive microparticles in immune thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*, 55: 49–56, 1995.
87. Webber NP, Mascarenhas JO, Crow MK, Bussel J, Schattner EJ: Functional properties of lymphocytes in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Hum Immunol*, 62: 1346–55, 2001.
88. Kolls JK, Linden A: Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity*, 21: 467–76, 2004.
89. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang Y H et al: A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol*, 6: 1133-41, 2005.
90. Graham R. Wallace, Elly Kondeatis, Robert W. Vaughan, David H. Verity, Yuanneng Chen, Farida Fortune, Wafa Madanat, Charlie A. Kanawati, Elizabeth M. Graham, and Miles R: IL-10 Genotype Analysis in Patients with Behçet's Disease. *Human Immunology*, 68: 122–27, 2007.
- 91 Omid Khalilzadeh, Mehdi Anvari, Fatemeh Momen-Heravi, Alireza Esteghamati, Armin Rashidi, Mahdi Mahmoudi, Behrouz Nikbin, Aliakbar Amirzargar: Gene polymorphisms of

interleukin-4, interleukin-10 and transforming growth factor-beta in Graves' disease. *Clin Exp Med*, 10(2): 123-87, Jun, 2010.

92. Abdullah Abanmi, Fahad Al Harthi, Abdulrahman Zouman, Aida Kudwah, Mohammed Al Jamal, Misbahul Arfin and Mohammad Tari: Association of Interleukin-10 gene promoter polymorphisms in Saudi patients with Vitiligo. *Disease Markers*, 24: 51–7, 2008.

93. Deepali Gambhir, Able Lawrence, Amita Aggarwal, Ramnath Misra, Sudhir Kumar Mandal, Sita Naik: Association of tumor necrosis factor alpha and IL-10 promoter polymorphisms with rheumatoid arthritis in North Indian population. *Rheumatology International*, Volume: 30, Issue: 9, 2010, pages: 1211-17.

94. Murphy CA, Langrish CL, Chen Y, Blumenschein W, McClanahan T, Kastelein RA, Sedgwick JD, Cua DJ: Divergent pro- and anti-inflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation. *J Exp Med*, 198: 1951–57, 2003.

95. Arisawa T, Tahara T, Shibata T, et al: The influence of polymorphisms of interleukin-17A and interleukin-17F genes on the susceptibility to ulcerative colitis. *J Clin Immunol*, 28: 44–9, 2008.

96. Paradowska-Gorycka A, Wojtecka-Lukasik E, Trefler 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*, 72: 134–41, 2010.

97. Metzger K, Fremont M, Roelant C, De Meirleir K: Lower frequency of IL-17F sequence variant (His161Arg) in chronic fatigue syndrome patients. *Biochem Biophys Res Commun*, 376: 231–3, 2008.

98. Won Cheoul Jang, Yun Hyoung Nam, Young Chang Ahn, Sang Hyun Lee, Sung Hoon Park, Jung Yoon Choe, Shin Seok Lee, Seong Kyu Kim: Interleukin-17F gene polymorphisms in Korean patients with Behçet's disease. *Rheumatol Int*, 29: 173–78, 2008.

99. Tomiyasu Arisawa, Tomomitsu Tahara, Tomoyuki Shibata, Mitsuo Nagasaka, Masakatsu Nakamura, Yoshio Kamiya, Hiroshi Fujita, Masahiko Nakamura, Daisuke Yoshioka, Yuko Arima, Masaaki OkuboIchiro Hirata, Hiroshi Nakano: The Influence of Polymorphisms of Interleukin-17A and Interleukin-17F Genes on the Susceptibility to Ulcerative Colitis. *J Clin Immunol*, 28: 44–9, 2008.
100. A Paradowska Gorycka, E Wojtecka Lukasik, J Trefler, B Wojciechowska, J K Lacki and S Maslinski Scand: Association between IL-17F gene polymorphisms and susceptibility to and severity of rheumatoid arthritis (RA). *J Immunol*, 72(2): 134-41, 2010.
101. Pehlivan M, Okan V, Sever T, Balci SO, Yilmaz M, Babacan T, Pehlivan S: Investigation of TNF-alpha, TGF-beta 1, IL-10, IL-6, IFN-gamma, MBL, GPIA, and IL1A gene polymorphisms in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Platelets*, 19 May 2011.
102. Saitoh T, Kasamatsu T, Inoue M, Mitsui T, Koiso H, Yokohama A, Handa H, Matsushima T, Tsukamoto N, Karasawa M, Ogawara H, Nojima Y, Murakami H: Interleukin-10 gene polymorphism reflects the severity of chronic immune thrombocytopenia in Japanese patients. *International journal of laboratory hematology*, 33(5): 526-32, Oct 2011.
103. 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* ,128(6): 849-52, Mar 2005.
104. Saitoh T, Tsukamoto N, Koiso H, Mitsui T, Yokohama A, Handa H, Karasawa M, Ogawara H, Nojima Y, Murakami H: Interleukin-17F gene polymorphism in patients with chronic immune thrombocytopenia. *European Journal of hematology*, 87(3), Sep 2011.
105. 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*, 94: 1326–29, 2009.

106. Srdana Culic , Boris Labar, Ana Marusic, PhD,3 and Ilza Salamuni: Correlations Among Age, Cytokines, Lymphocyte Subtypes, and Platelet Counts in Autoimmune Thrombocytopenic Purpura. *Pediatr Blood Cancer*, 47: 671–74, 2006.

107. Daoxin Ma, Xiaojuan Zhu, Ping Zhao, Chunhong Zhao, Xiaofang Li, Yuanyuan Zhu, Lizhen Li, Jianzhi Sun, Jun Peng, Chunyan Ji: Profile of Th17 cytokines (IL-17, TGF- β , IL-6) and Th1 cytokine (IFN- γ) in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol*, 87: 899–904, 2008.

108. Jiaan Der Wang, Te-Kau Chang, Heng-Kuei Lin, Fang-Liang Huang, Chau-Jong Wang, Huei-Jane Lee: Reduced Expression of Transforming Growth Factor-b1 and Correlated Elevation of Interleukin-17 and Interferon-g in Pediatric Patients with Chronic Primary Immune Thrombocytopenia (ITP). *Pediatr Blood Cancer*, 57: 636–40, 2011.

109. Guo NH, Shi QZ, Hua JY, Li ZJ, Li J, He WF, Wu Q: Expression of regulatory T cells and Th17 cells in idiopathic thrombocytopenic purpura and its significance. 31(9): 610-12, Sep 2010.

110. Chang DY, Ouyang J, Zhou RF, Xu JY, Chen B, Yang YG, Zhang QG, Shao XY, Guan CY, Xu Y: Profiles of different subsets of CD4(+) T cells in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. 49(3): 213-6, Mar 2010.

111. Xu Q, Katakura Y, Yamashita M, Fang S, Tamura T, Matsumoto SE, Aiba Y, Teruya K, Osada K, Nishikawa R, Shirahata S: IL-10 augments antibody production in vitro immunized lymphocytes by inducing a Th2-type response and B cell maturation. *Biosci Biotechnol Biochem*, 68(11): 2279-84, Nov 2004.

KISALTMALAR

ANA.....	Anti nkleer antikor
Anti DS DNA.....	ift sarmallı DNA antikorı
AD.....	Anlamlı değil
C3.....	Kompleman 3
EDTA.....	Etilen diamin tetra asetik asit
ELİSA.....	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FcR.....	Fc reseptr
HIV.....	İnsan bağışıklık yetmezlik virs
HS.....	Hemolitik remik sendrom
IFN.....	İnterferon
IL.....	İnterlökin
ITP.....	İdiyopatik (otoimmün) trombositopenik purpura
IgG.....	İmmünoglobulin G
IgM.....	İmmünoglobulin M
IVIG.....	İntravenöz immünglobulin
Gp.....	Glikoprotein
G-CSF.....	Granülosit koloni uyarıcı faktör
MAC.....	Membran attack complex
MCV.....	Ortalama Eritrosit Hacmi
MPV.....	Ortalama Trombosit Hacmi
MHC.....	Major histocompatibility complex
NK.....	Naturel killer (doğal ldrc)
OİHA.....	Otoimmün hemolitik anemi
SLE.....	Sistemik lupus eritematozus
Th1.....	T helper 1
Th2.....	T helper 2
TNF.....	Tümör nekroz faktör
TTP.....	Trombotik trombositopenik purpura