

ORIGINAL ARTICLE

Alopesi areata'da IL-6 Promotör Polimorfizmi

IL-6 Promoter Polymorphism in Alopecia Areata

Hacı Ömer Ateş

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji A.D, 60100, Tokat, Türkiye

Yazışma Adresi: Ömer Ateş, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji A.D, 60100, Tokat, Türkiye Email: omerates27@yahoo.com

ÖZET

Amaç: Alopesi areata (AA), T- hücre aracılı otoimmün bir hastalıktır ve sitokinler bu hastalığın gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar. Önceki çalışmalar AA'lı hastaların serumlarında proinflatuar bir sitokin olan IL-6'nın serum seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu göstermiştir. IL-6 geninin promotör bölgesinde bulunan -174 G/C polimorfizmi IL-6'nın serum seviyesini etkilemektedir. Sunulan bu çalışmanın amacı IL-6 -174 G/C promotör polimorfizmi ile AA'nın ilişkisinin olup olmadığını değerlendirmektir.

Yöntemler: Bu çalışmaya 146 AA'lı hasta ve 133 sağlıklı birey dahil edildi. IL-6 geni -174 G/C polimorfizminin genotiplendirmesi Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Enzim Analizi (REA) yöntemleri ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Hasta ve kontrol grupları arasında IL-6 geni -174 G/C promotör polimorfizminin genotip ve allel frekanslarının dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla, $p=0.749$ ve $p=0.228$).

Sonuç: Bu çalışma, IL-6 -174G/C polimorfizminin AA için bir yatkınlık faktörü olmadığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Alopesi areata, IL-6, Otoimmünite, Polimorfizm

ABSTRACT

Objectives: Alopecia areata (AA) is a T-cell mediated autoimmune disease and cytokines play important roles development of this disease. Previous studies showed significantly increased serum IL-6, as a pro-inflammatory cytokine, levels in AA patients compared to healthy controls. The -174G/C polymorphism in the promoter of the IL-6 gene that affects IL-6 serum levels. The aim of present study was to assess whether IL-6 -174G/C promoter polymorphism is associated with AA.

Methods: The study included 146 unrelated patients with AA and 133 unrelated healthy controls. The genotyping of IL-6 gene -174 G/C polymorphism was performed by polymerase chain reaction (PCR) based restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis.

Results: Genotype and allele distribution of IL-6 gene -174 G/C polymorphism was not found to be significantly different between patients and controls ($p=0.749$ and $p=0.228$, respectively).

Conclusion: This study shows that IL-6 gene -174 G/C polymorphism is not a predisposing factor for AA.

Key words: Alopecia Areata, Autoimmunity, IL-6, Polymorphism.

Geliş: 07 Tem 2016; Revizyon: 11 Ekim 2016; Kabul: 18 Ekim 2016

GİRİŞ

Alopesi areata (AA), saçlı deri ve/veya vücutta çeşitli şekil ve büyüklükte skarsız, inflamatuvar kıl dökülmesiyle karakterize edilen dokuya özgü otoimmün özellikte bir deri hastalığıdır [1,2]. Hastalığın klinik seyri tahmin edilemez olup doğumdan itibaren yaşamın son dönemine kadar herhangi bir yaşta, cinsiyette ve etnik grupta görülebilir [3]. AA'nın tam olarak etiopatogenezi bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörlerin kombinasyonu ile belirlenen multifaktöriyel bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Çevresel faktörler ile hastalığa yatkınlık oluşturan genlerin birlikteliği sonucu hastalık fenotipi ortaya çıkmakta ve hastalık modifiye edici genetik faktörler, inflamatuvar yanıtın ve klinik sonuçların derecesini belirlemektedir [4]. AA'nın poligenik temelini destekleyen birçok çalışma vardır ve bunlar arasında pozitif aile öyküsünün rapor edildiği çalışmalar [5], ikiz çalışmaları [6], hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar [7], insan lökosit antijeninin (HLA) ilişkisinin ve ailesel kümelenmenin gösterildiği çalışmalar [5,8] bulunmaktadır. AA'nın gelişimi için önerilen şu anki hipotezler kıl foliküllerindeki immün ayrıcalığın ve otoreaktif T lenfositlerinin aktivasyonu sonucunda kıl folikülü otoantijen sunumunun bozulması üzerine odaklanmaktadır [9]. T lenfositlerinden üretilen sitokinler otoimmün inflamasyon da önemli roller oynadıkları için çeşitli sitokin genleri AA [10,11] ve Liken planus gibi T lenfositlerinin etkili olduğu çeşitli hastalıklarda öncül olarak çalışılmaktadır [12]. IL-6 konak savunmasında merkezi bir rol oynayan multifonksiyonel bir sitokindir [13]. AA'nın patogenezinde yer aldığı düşünülen otoreaktif T- hücre yanıtı [9] genetik olarak belirlenebilirken aynı zamanda IL-6 ve diğer sitokinler tarafından da artırılabilir [14]. IL-6 geni 7. kromozom üzerinde lokalize olmaktadır ve 5 ekzon içermektedir [15]. IL-6 geninin promotör bölgesinde bulunan -174 G/C polimorfizminin in vivo ve in vitro ortamda IL-6'nın serum seviyesini etkilediği rapor

edilmiştir. Bu çalışmalarda G allelinin IL-6 geninin ekspresyonunu artırdığı ve homozigot bireylerin (G alleli için) plazma ve serumunda IL-6'nın seviyesinin en yüksek olduğu bulunmuştur [16]. IL-6 ve diğer inflamatuvar sitokinler özellikle kronik inflamasyon, otoimmün hastalıklar, viral enfeksiyon ve tümör oluşumunda önemli roller oynamaktadır [14]. Daha önceki çalışmalarda AA'lı hastaların serumlarında IL-6 seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu rapor edilmiştir [17,18] ancak literatür araştırmalarımıza göre AA'da IL-6 gen polimorfizmlerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

IL-6'nın, immün hücre aktivasyonunda ve inflamasyonda önemli roller oynadığı [19] aynı zamanda inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogenezinde yer aldığı [20] göz önüne alındığında IL-6 gen polimorfizimleri ile AA arasındaki bağlantının araştırılması önemli olacaktır. Bu çalışma; IL-6'nın transkripsiyon seviyesini etkilediği bilinen -174 G/C (rs1800795) polimorfizminin Alopesi areata ile olası ilişkisinin toplumumuzda değerlendirilebilmesi amacıyla gerçekleştirildi.

YÖNTEMLER

Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmaya Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Ana Bilim Dalı polikliniğine başvuran 18-45 yaş arası Alopesi areata tanısı konulmuş 146 hasta (yaş ortalaması \pm SD: 33.14 \pm 7.321 yıl) ve kendisinde ve akrabalarında AA olmayan 133 bireyden oluşan kontrol grubu (yaş ortalaması \pm SD: 32.34 \pm 5.343) dahil edilmiştir. Hasta grubunu 72 erkek ve 74 kadın, kontrol grubunu ise 64 erkek ve 69 kadın oluşturmaktadır. Kontrol grubu, AA öyküsü olmayan ve dermatoloji kliniğine diğer sebeplerden başvuran hastalardan seçildi. Yapılan çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Etik Kurulu tarafından onay alınmış olup araştırmaya dahil edilen her bireyden onam formu alındı. Tüm

katılımcılar genotip analizi için periferik kan örneği vermeyi kabul etti.

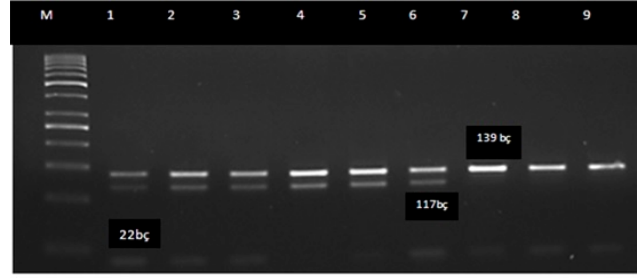
IL-6 geni -174 G/C polimorfizminin Genotiplendirilmesi

Hasta ve kontrol grubundan 2 ml periferik kan örneği EDTA'lı tüp içerisinde alındı ve genomik DNA izolasyonu, PureLink™ genomik DNA pürifikasyon kiti (Invitrogene) protokolüne uygun olarak yapıldı. Bu çalışmada IL-6 geni -174 G/C polimorfizminin genotiplendirmesi için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Enzim Analizi (REA) yöntemleri kullanıldı. Çalışmada kullanılan primerler, restriksiyon enzimi ve PZR- REA şartları için Demirtürk ve ark.'larının [21] yaptıkları çalışma referans alındı. IL-6 geni -174 G/C polimorfizminin amplifikasyonunda kullanılan primerler, ürün uzunlukları ve PZR şartları Tablo 1 de gösterildi. IL-6 geni -174 bölgesinin amplifikasyonu için son hacim 25 µL olacak şekilde reaksiyon karışımı hazırlandı. Reaksiyon karışımına, 50 ng genomik DNA, 0.8 nmol/µl her bir primer, 10X PCR 2.5 mM Buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP ve 1U Taq DNA polimeraz (Fermentas, USA) eklendi. Elde edilen PZR ürünleri REA yöntemleri kullanılarak analiz edildi. PZR ürünleri 1 U BseI restriksiyon enzimi (Thermo Scientific, USA) ile 37 oC' de bir saat bekletilerek kesildi.

Tablo 1: IL-6 -174 G/C Polimorfizmi için primer dizisi, kesim enzimi, ürün boyları, PZR programı

Polimorfizm	Primer Dizisi	Ürün Boyu	Kesim Enzimi	Kesim Ürünlerinin Boyu	PZR Programı
IL-6-174 G/C	5'TTGTC AAGACATG	156 bp	BseI-1	GG 139 + 17 bp	5 min at 94
	CCAAAGTGGCGAG3'			CC 117 + 22 + 17 bp	30 s at 94°C,
	5'-				30 s at 55°C, 40 siklus
	GTGCAATGTGACGTC				1 min at 72°C
	CCTTAGCAT-3'				5 min at 72°C

Kesim ürünleri etidyum bromür ile boyanmış %3'lük agaroz jelde elektroforez edildikten sonra UV ışık altında analiz edildi. IL-6 geni -174 G alleli içeren PZR ürünleri BseI restriksiyon enzimi ile kesildiğinde 139 ve 17 baz çiftlik 2 bant oluşurken -174 C alleli içeren PZR ürünleri BseI enzimi ile kesildiğinde 117, 22 ve 17 baz çiftlik bantlar şeklinde gözlemlendi (Şekil 1 de gösterildi).



Şekil 1: IL-6 -174 G/C bölgesinin BseI enzimi ile kesimi sonucu elde edilen ürünlerin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü
M: 50 bp'lik marker; 1-6:GC genotipi; 7-9:GG genotipi

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 13.0 ve OpenEpi Info 2.3.1 (www.openepi.com) yazılım programları kullanıldı. AA hasta ve kontrol gruplarında IL-6 geni -174 G/C gen polimorfizminin genotip dağılımı χ^2 , allel dağılımı ise Fisher kesin χ^2 testleri ile karşılaştırıldı. P değeri 0.05'den küçük bulunan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Genotip dağılımı ve Hardy-Weinberg (HWE) denkliği için <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl> programı kullanıldı.

BULGULAR

IL-6 geninin promotör bölgesinde lokalize olan -174 G/C gen polimorfizminin genotip ve allel dağılımı hasta ve kontrol gruplarında analiz edildi. Hasta ve kontrol grubuna ait demografik özellikler tablo 2 de verildi. Çalışma grupları arasında cinsiyet ve yaş dağılımı yönünden anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla, $p=0.9047$ ve $p=0.473$). IL-6 geni -174 G/C promotör polimorfizminin genotip dağılımının hasta ve kontrol grubunda HWE denkliğine uygun olduğu bulundu. AA'lı hasta ve kontrol grubunda, IL-6 -174 G/C polimorfizminin genotip dağılımı ve allel sıklığı Tablo 3'de gösterildi. Hasta ve kontrol grupları arasında IL-6 geni -174 G/C promotör polimorfizminin genotip ve allel sıklığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla, $p=0.749$ ve $p=0.228$).

Tablo 2: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri

	AA hasta grubu (N=146)	Kontrol grubu P (N=133)
Cinsiyet		
Kadın	74 (%51)	69 (%52)
Erkek	72 (%49)	64 (%48)
Yaş		
Yaş ortalaması (yıl)	33.14 ± 7.321	32.34 ± 5.343 0.473

Tablo 3: IL-6 -174 G/C Polimorfizminin AA Hastalarında ve Kontrol Grubundaki Genotip Dağılımı ve Allel Sıklığı

	AA hasta grubu N=146 (%)	Kontrol Grubu N=133 (%)	P
IL-6 -174 G/C Genotipler			
G/G	71(%49)	71(%54)	0.7492
G/C	66(%45)	55(%41)	
C/C	9(%6)	7(%59)	
Alleller			
G	208(%71)	197(%74)	0.228
C	84(%29)	69(%26)	

TARTIŞMA

IL-6, fibroblastlar, makrofajlar, B ve T hücreleri gibi çeşitli hücrelerden üretilen proinflamatuvar bir sitokin olmakla birlikte hematopoezin, immün hücre aktivasyonunun ve inflamasyonun düzenlenmesinde önemli roller oynamaktadır [19]. Çeşitli inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların patogeneğinde IL-6'nın anormal üretimine işaret edilmekte ve bu sitokinin aşırı derecede üretimi B hücrelerinin anormal farklılaşmasına ve antikor üretmesine yol açmaktadır [20].

Sitokin üreten genlerdeki polimorfizmler çevresel bir tetikleyiciye yanıtta üretilen sitokin miktarını belirleyebilmektedir [4]. Bu polimorfizmlerin arasında IL-6 geninin promotör bölgesinde bulunan -174G/C değişimi de yer almaktadır. Gen transfeksiyon çalışmaları G allelinin, C allelinden yaklaşık %60 kadar daha yüksek seviyede eksprese olduğunu göstermiştir. Bu yüzden -174G/C polimorfizminin -174GG ve -174GC genotipleri daha yüksek seviyede üretici fenotip ile -174CC genotipi ise daha düşük seviyede üretici fenotip ile karakterize edilir. G allelinin sıklığı etnik gruplar arasında farklılıklar göstermektedir örneğin Kafkas popülasyonlarına göre Kafkas olmayan popülasyonlarda çok daha yüksek sıklık göstermektedir. IL-6 üretimini değiştiren

polimorfizmler juvenil idiopatik artrit, menengokok hastalığı, birkaç tip kanserin dahil olduğu çok sayıda hastalığa yakınlıkla ilişkilendirilmiştir [19].

Şimdiye kadar yapılan çalışmaları incelendiğimiz kadarıyla otoimmün bir hastalık olan AA'da IL-6 gen polimorfizmlerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanılmamış olup IL-6'nın AA'da serum düzeyinde çalışıldığı birkaç çalışma mevcuttur. Bilgiç ve ark.'ları 40 AA'lı hastada ve 40 sağlıklı bireyde IL-6, TNF α , IL-23 sitokinlerinin ve CXCL9, CCL17, CCL20 ve CCL27 kemokinlerinin serum seviyesini incelemişlerdir. TNF α , IL-6, IL-23, CXCL9, CCL17, CCL20 ve CCL27'nin serum seviyesi kontrol grubuna göre AA'lı hasta grubunda önemli derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ancak logistik regresyon analizi sonucunda IL-6, TNF α , CXCL9 ve CCL20 ile AA arasında bir ilişki bulunamamış CCL17 ve CCL27 seviyeleri pozitif, IL-23 seviyesinde negatif bir ilişki bulunmuştur [17]. Atwa ve ark.'ları ise yaptıkları çalışmada AA'lı hastalarda IL-6, IL-17, IL-21, IL-22 ve TNF α sitokinlerinin serum seviyesi ve bu sitokinlerin AA'nın şiddeti ve klinik tipleriyle ilişkisini araştırdılar. Çalışmanın sonucunda IL-6, IL-17, IL-21, IL-22 ve TNF α sitokinlerinin serum seviyesinin AA'lı hasta grubunda daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. IL-17 ve TNF α sitokinlerinin seviyesi hastalık şiddetiyle IL-22'nin seviyesi ise AA'nın süresi ile pozitif olarak ilişkilendirilmiştir. Ancak farklı klinik tipteki ve şiddetteki AA'lı hastalar arasında IL-6'nın serum seviyesinde önemli bir fark görülmedi [18]. Çalışmamızın sonuçları incelendiğinde hasta ve kontrol grubu arasındaki dağılımda anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu durumda görülmektedir ki -174G/C polimorfizmi AA için bir risk faktörü oluşturmamaktadır. IL-6'nın üretimi aynı zamanda IL-1 ve TNF α sitokinleri tarafından uyarılmaktadır [22]. AA'da yapılan çalışmalarda IL-1 β 'nın in vitro ve in vivo da kıl büyümesinin inhibisyonunda önemli faktörlerden biri olabileceği ve hastalıktan

etkilenmiş saçlı deride IL-1β'nın aşırı derecede eksprese olduğu gösterilmiştir [23,24]. AA'da IL-6'nın serum seviyesinin artması [17,18], 1β'nın ekspresyonunun artmasıyla ilişkili olabilir. Yapılan deneysel çalışmalarda IL-6 geninin promotöründe üç farklı polimorfik bölge (-597G/A, -572G/C ve -373nAT) daha belirlenmiştir [25]. IL-6 proinflamatuvar sitokinini kodlayan gendeki diğer fonksiyonel varyantlarında AA'da analiz edilmesi klinik olarak kullanışlı olabilir.

Özetle, çalışma bulgularımız IL-6 -174G/C polimorfizminin AA'nın gelişiminde genetik bir risk faktörü olmadığını göstermektedir. Polimorfizmlerin ırklar ve etnik gruplar arasında değişkenlik göstermesi ve çalışma grubunun göreceli olarak az olması dolayısıyla daha büyük çalışma serileri ile verilerimizin doğrulanmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

TEŞEKKÜR

Çalışma için gerekli hasta ve kontrol gruplarının oluşturulmasını, klinik verilerin elde edilmesini sağlayan dermatolog Doç.Dr. Gökür Kalkan'a, moleküler analizlerin gerçekleştirilmesinde teknik destek veren MSc Nihan Bozkurt'a teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma her hangi bir fon tarafından desteklenmemiştir.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Seok H, Suh DW, Jo B, Lee HB, Jang HM, Park HK. Association between TLR1 polymorphisms and alopecia areata. *Autoimmunity* 2014;1-6.
2. Kim SK, Park HJ, Chung JH, et al. Association Between Interleukin 18 Polymorphisms and Alopecia Areata in Koreans. *Journal Of Interferon & Cytokine Research* 2014;34.
3. Jabbari A, Petukhova L, Cabral RM, et al. Genetic basis of alopecia areata: A roadmap for translational research. *Dermatol Clin.* 2013;31:109-17.

4. Cork MJ, Crane AM, Duff GW. Genetic control of cytokines. Cytokine gene polymorphisms in alopecia areata. *Dermatol Clin.* 1996;14:671-8.
5. de Andrade M, Jackow CM, Dahm N, et al. Alopecia areata in families: association with the HLA locus. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 1999;4:220-3.
6. Rodriguez TA, Fernandes KE, Dresser KL, Duvic M. National Alopecia Areata Registry. Concordance rate of alopecia areata in identical twins supports both genetic and environmental factors. *J Am Acad Dermatol* 2010;62:525-7.
7. Sundberg JP, Silva KA, Li R, et al. Adult-Onset Alopecia Areata Is a Complex Polygenic Trait in the C3H/HeJ Mouse Model. *J Invest Dermatol* 2004;123:294-7.
8. Blaumeiser B, Goot Ineke van der, Fimmers R, et al. Familial aggregation of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2006;54:627-32.
9. Wang E, McElwee KJ. Etiopathogenesis of alopecia areata: Why do our patients get it? *Dermatologic Therapy* 2011;24:337-47.
10. Ito T, Tokura Y. The role of cytokines and chemokines in the T-cell-mediated autoimmune process in alopecia areata. *Experimental Dermatology* 2014;23:787-91.
11. Kalkan G, Karakus N, Baş Y, et al. The association between Interleukin (IL)-4 gene intron 3 VNTR polymorphism and alopecia areata (AA) in Turkish population. *Gene* 2013;527:565-9.
12. Uçmak D, Balcı G, Harman M. Evaluation of interleukin-2 and tumor necrosis factor-α levels in patients with lichen planus. *Dicle Med J.* 2012;39:6-8.
13. Simpson RJ, Hammacher A, Smith DK, Matthews JM, Ward LD. Interleukin-6: Structure-function relationships. *Protein Science* 1997;6:929-55.
14. Hirano T. Interleukin 6 and its receptor: ten years later. *Int Rev Immunol.* 1998;16:249-84.
15. Wang HY, Zhang JJ, Zheng XY, et al. Association between IL-6 Gene (-174 & -572 G/C) Polymorphisms and Endometrial Adenocarcinoma Risk. *Pathol. Oncol. Res.* DOI 10.1007/s12253-016-0073-6.
16. Belluco C, Olivieri F, Bonafe M, et al. -174G/C polymorphism of interleukin 6 gene promoter affects interleukin 6 serum level in patients with colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2003;9:2173-6.
17. Bilgic O, Sivrikaya A, Unlu A, Altinyazar HC. Serum cytokine and chemokine profiles in patients with alopecia areata. *J Dermatol Treat.* 2015;Oct 7:1-4.
18. Atwa MA, Youssef N, Bayoumy NM. T-helper 17 cytokines (interleukins 17, 21, 22, and 6, and tumor necrosis factor-α) in patients with alopecia areata: association with clinical type and severity. *International Journal of Dermatology* 2016;55:666-72.
19. Cussigh A, Falletti E, Fabris C, et al. Interleukin 6 promoter polymorphisms influence the outcome of chronic hepatitis C. *Immunogenetics* 2011;63:33-41.
20. Pekiner FN, Aytugur E, Demirel GY, Borahan MO. Interleukin-2, interleukin-6 and T regulatory cells in peripheral blood of patients with Behçet's disease and recurrent aphthous ulcerations. *J Oral Pathol Med.* 2012;41:73-79.
21. Demirturk F, Ates O, Gunal O, et al. IL-6 gene promoter polymorphisms: genetic susceptibility to recurrent pregnancy loss. *Bratisl Lek Listy* 2014;115:479-82.

22. Al-Banna N, Raghupathy R, Albert MJ. Correlation of Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokine Levels with Histopathological Changes in an Adult Mouse Lung Model of *Campylobacter jejuni* Infection. *Clinical And Vaccine Immunology*, Dec. 2008;1780-7.
23. Bodemer C, Peuchmaur M, Fraitag S, et al. Role of Cytotoxic T Cells in Chronic Alopecia Areata. *J Invest Dermatol* 2000;114:112-6.
24. Gregoriou S, Papafragkaki D, Kontochris GT, et al. Cytokines and Other Mediators in Alopecia Areata. *Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation*, 2010;5.
25. Brull DJ, Montgomery HE, Sanders J, et al. Interleukin-6 gene -174g > c and -572g > c promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1458-63.