

CD247 Genine Ait rs858554 ve rs704848 Polimorfizmlerinin İmmün Trombositopeni Hastalığı ile İlişkisi

The association of CD247 Gene rs858554 and rs704848 Polymorphisms with Immune Thrombocytopenia Disease

İbrahim Kutlubay¹ , Elif Gülsüm Ümit² , Jülide Tozkır³ 

¹Department of Nuclear Medicine, Trakya University School of Medicine, Edirne, Turkey

²Department of Hematology, Trakya University School of Medicine, Edirne, Turkey

³Health Services Vocational College, Trakya University, Edirne, Turkey

Cite this article as: Kutlubay İ, Ümit EG, Tozkır J. The association of CD247 gene rs858554 and rs704848 polymorphisms with Immune Thrombocytopenia Disease. Experimed 2019; 9(1): 23-7.

ÖZ

Amaç: İmmün trombositopeni (İTP), edinsel olarak trombositlere karşı gelişen otoantikörler ve trombopoezde bozulmalar nedeniyle trombositlerin yıkımı ya da yapım kusuru sonucu trombositopeni gelişimi ile karakterize bir hastalıktır. Hastalığın patogenezi tam olarak bilinmemektedir. İTP’de görülen otoantikörler genellikle IgG tipinde oluşmaktadır. Bu antikörlerin oluşumu için spesifik T hücre klonlarının anormal etkinliği söz konusudur. Bu çalışmada T hücrenin aktivasyonu için sinyal iletimi yapan CD3 zeta zinciri (CD247) molekülüne ait rs858554 ve rs704848 polimorfizmleri ile immün trombositopeni (İTP) hastalığının ilişkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada İTP’li grupta 35 kadın, 20 erkek verici olmak üzere 55, sağlıklı kontrol grubunda ise 31 kadın, 22 erkek olmak üzere toplam 53 kişi bulunmaktadır. Polimorfik varyantları belirlemek için *TaqMan Probe Real-Time PCR* yöntemi kullanılmıştır.

Bulgular: İTP’li hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında rs858554 ve rs704848 polimorfizmleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Sonuçlar cinsiyet dağılımına ve polimorfizmlerin haplotipik dizimlerine göre değerlendirilmiştir. Gruplar arasında fark bulunmamıştır. İTP’li hastalar için klinik veriler açısından yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir fark belirlenmemiştir.

Sonuç: Elde edilen bulgular ve hastaların klinik seyrine dair Hematoloji kliniğinden alınan veriler doğrultusunda rs858554 ve rs704848 polimorfizmlerinin ilgili popülasyon için İTP hastalığının patogenezi ile doğrudan ilişkili olmadığı tespit edilmiştir.

Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: 2017/05

Anahtar Kelimeler: İTP, otoimmünite, immün sistem, trombosit, CD247, polimorfizm

ABSTRACT

Objective: Immune Thrombocytopenia (ITP) is a disease characterized by the development of thrombocytopenia as a result of platelet destruction due to autoantibodies which is against to platelets. There is the abnormal T cell response that stimulates the proliferation and differentiation of autoreactive B cells. The first signal is transmitted with the CD3 zeta chain (CD247) molecule to the T cell for activation. In this study, the association of immune thrombocytopenia (ITP) disease with rs858554 and rs704848 polymorphisms of CD3 zeta chain (CD247) gene, have been investigated.

Materials and Methods: The study was performed with the blood samples taken from 108 donors in the ITP and healthy control group. The patients with ITP who were followed in Trakya University Medical Faculty Hematology Clinic were included to the study. The patients and healthy controls were informed about the study and signed informed consent form approved by the local ethics committee. The ITP group were including 35 females, 20 males (55 in total) and in the healthy control group there were 31 females, 22 males (53 in total). The allelic variants of rs858554 and rs704848 were determined with “TaqMan Probe Real-Time PCR”, the analyses were performed with using “AB Applied Biosystems (SerialNumber: 2720010807)” via VIC/FAM dyes. The results were statistically evaluated with chi square test.

Results: According to the results of the study, no significant difference was found in the rs858554 and rs704848 polymorphisms between the ITP group and the healthy control group. Gender distribution and haplotypic situational analysis, and the clinical finding for the ITP patients there were no association with allelic and genotypic variants of polymorphisms.

Conclusion: According to the findings that the rs858554 and rs704848 polymorphisms did not directly contribute to the clinical course of ITP disease for the investigated population in this study.

This work was supported by Research Fund of the Trakya University. Project Number:2017/05

Keywords: ITP, autoimmunity, immune system, platelet, CD247, polymorphism

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Jülide Tozkır **E-mail:** julideduymaz@trakya.edu.tr

Geliş Tarihi/Received Date: 27.03.2019 **Kabul Tarihi/Accepted Date:** 09.04.2019



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

İmmün trombositopeni (İTP), edinsel olarak trombositlere karşı gelişen otoantikörler ve trombopoezde bozulmalar nedeniyle, trombositlerin yıkımı ya da yapım kusuru sonucu trombositopeni gelişimi ile karakterize bir hastalıktır. Hastalığın en sık görülen belirtileri cilt altı kanamalar, peteşi, purpura ve ekimozlardır. Hayatı tehdit edici kanamalar (merkezi sinir sistemi kanamaları, gastrointestinal sistem kanamaları gibi) sıklığı yüksek olmamakla birlikte görülebilmektedir. Kanama riski, trombosit sayısı ile ilişkili olmakla birlikte çok düşük trombosit sayılarında dahi hayatı tehdit edici kanamalar sık olarak beklenmemektedir ve trombosit sayısı 30.000/mm³ altına inmedikçe tedavi önerilmemektedir. Hastalık için primer İTP, sekonder İTP ve ilaç ilişkili İTP tanımlamaları yapılmaktadır. Otoimmün mekanizmalar ile trombosit yıkımının görüldüğü tabloya primer İTP; HIV enfeksiyonu, hepatit C, sistemik lupus eritematozus (SLE), kronik lenfositik lösemi gibi bir başka hastalık seyrinde görülen trombositopenilere sekonder İTP ve ilaçlar ile ilişkilendirilen trombositopenilere de ilaç ilişkili İTP denilmektedir (1-5).

Hastalığın tanısı hasta öyküsü, kan sayımı testleri, fizik muayene bulguları ve periferik yayma incelenmesi ile konulabilmektedir. Kesin tanı konulabilmesi için diğer trombositopeni yapan hastalıkların (dalağı büyüyen hastalıklar, kemik iliğinin kanserleri, hepatitler ve benzeri) dışlanması gerekmektedir. Bu sebeple bazı biyokimyasal testler, kemik iliği aspirasyon biyopsisi ve batın ultrasonografisi gerekebilir. Şüpheli kişilerde viral enfeksiyonlar açısından gerekli kan testleri yapılabilir. Başka bir hastalık bulunamayan bir kişide kanda trombositler düşük iken, kemik iliğinde anormal hücreler görülmemesi ve megakaryositlerin sayıca yeterli ya da artmış bulunması ile İTP tanısı konmaktadır. Ön tanı konulurken trombositlere karşı gelişen antikörlerin araştırılması, test metotlarının çok güvenilir olmaması ve duyarlılıklarının düşük olması nedeniyle önerilmemekte ve uygulama da çok fazla tercih edilmemektedir (4, 5, 7).

Hastalığın tedavisinde öncelikli amaç immün sistemin baskılanması ve trombositlere karşı otoantikör gelişiminin engellenmesidir. Bu amaçla kortikosteroid ilaçlar (kortizon), intravenöz immünglobulin, Anti-D, rituksimab (anti-CD20 monoklonal antikoru) ve hayatı tehdit eden kanama durumunda trombosit süspanسیونları tedavi amacı ile kullanılmaktadır. Kortikosteroidlere dirençli (yanıtsız) hastalarda trombopoetin agonisti olan eltrombopag ve romiplostim gibi bileşikler, İTP patogenezindeki immün yolu hedeflemeksizin sadece trombosit yapımını uyarak sayısal bir artışa yol açmaktadır (1, 2).

İmmün trombositopeni hastalığının patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Trombositler bağışıklık sistemi tarafından bilinmeyen bir nedenle yabancı olarak kabul edilmekte ve trombositlere özgü üretilen antikörler trombositler üzerine bağlanmaktadır. Bu reaksiyon sonrası antikör aracılı reaksiyonlar nedeniyle trombositler parçalanmakta ve hızla sayıları düşmektedir (3). Otoantikör gelişmesi sürecinde antijen sunan hücreler, yardımcı T hücreleri ve düzenleyici T hücreleri arasında karmaşık bir etkileşim ortaya çıkmakta, bu süreçler sonu-

cunda aktiflenen B hücre klonları plazma hücrelerine dönüşerek otoantikörleri üretmektedir. İTP'de görülen otoantikörler trombosit glikoprotein komplekslerine (GPIIb/IIIa, Ib/IX, Ia/IIa, V ve IV) karşı genellikle IgG, nadiren de IgM tipinde oluşmaktadır. Periferik kanda dolaşan bu antikörler trombosit membranlarına bağlanmaktadır. Olguların yaklaşık %80'inde otoantikörler GPIIb-IIIa kompleksine karşı oluşmaktadır. Otoantikörler ile kaplı trombositler başta dalakta olmak üzere antijen sunan hücrelere Fc reseptörler aracılığı ile bağlanmaktadır. Trombositlerin yıkılması immün yanıtın şiddetlenmesine neden olmaktadır. Çünkü antijen sunan hücreler antijen işleme mekanizmaları sonucunda diğer trombosit antijenlerini sunarak farklı spesifik T hücrelerini aktive etmektedir. Bu spesifik T hücre klonları farklı otoantikörler üreten B hücre klonlarını tetiklemektedir. Böylece hastaların büyük bir kısmında spesifik bir hedef antijen ile başlayan immün reaksiyon, diğer trombosit antijenlerine karşı oluşan antikörlerle katlanarak devam etmektedir. Trombosit yüzey antijenlerine karşı gelişen otoantikör üretiminin artması sonucu hastada trombosit sayısı giderek düşmektedir (1, 3, 6-9).

İmmün trombositopeni hastalığının kronik doğası nedeni ile tedavi süreci uzun sürmektedir. Splenektomi günümüzde halen İTP tedavisinde ikinci basamakta birçok merkezde tercih edilen bir tedavi yöntemi olması nedeni ile popülerliğini korumaktadır. Ancak dalağın immün sistemdeki fonksiyonları bu tedavi ile kaybedilmekte ve böylece hastalar birçok enfeksiyona açık hale gelmektedir (8-10). Bu nedenle İTP hastalığının ortaya çıkış sebeplerinin ve genetik temellerinin ortaya çıkarılması tedavi sürecini de olumlu etkileyecektir. Hastalık otoimmün bir karakterde olduğu için hem T hücresi sinyal yollarındaki olumsuzlukların belirlenmesi, bu olumsuzlukların düzeltilmesi yönündeki tedavi seçeneklerinin belirlenmesi açısından kıymetli veriler sağlamaktadır.

T hücrelerin antijenik yapıları tanıyabilmeleri için mutlaka hücre-hücre teması gerekmektedir. T hücreleri plazmada serbest dolaşan antijenleri tanıyamamaktadır. Antijen; antijen sunucu hücreler üzerindeki moleküller aracılığı ile lenfositlere sunulur. Antijen sunumuna aracılık eden moleküllere "insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigen - HLA)" denir. T lenfositleri HLA üzerinde sunulan antijenleri T hücre reseptörü ile tanır. Bu tanıma immün reaksiyonun başlaması için ilk sinyali oluşturmaktadır. T hücre reseptörünün hücre içi uzantısı kısadır. Antijeni tanıma sonrası yeterli sinyal iletimini sağlayamaz. T hücre reseptörü ile birlikte bulunan CD3 molekülü sinyal iletiminden sorumludur. CD3 molekülü; γ , ϵ , ζ olmak üzere üç zincirin heterodimer ve homodimer kombinasyonları ile oluşmuş bir komplekstir. T hücre reseptörü uygun antijeni tanıdığı anda özellikle CD3 ζ zincir aracılığı ile sinyal iletimi gerçekleşir. Zincir üzerindeki immün tirozin aktivasyon motifleri sinyal iletiminden sorumludur. İmmün yanıtın gelişmesi için başka sinyallere de ihtiyaç vardır. Ama antijen tanınması ile gerçekleşen bu ilk sinyal mutlaka gerekmektedir (11, 12).

CD3 ζ zincir CD247, CD3H, CD3Q, CD3Z, IMD25, T3Z ve TCRZ isimleri ile de adlandırılabilir. CD3 ζ zincir, diğer bir adıyla CD247 molekülünün geni 1q22-q25 lokusunda bulun-

maktadır ve 87.896 baz uzunluğundadır. Bu molekül T hücre reseptörü dışında başka reseptörlerde de sinyal iletimi işlevi görmektedir (13).

T hücrelerinin immün reaksiyonlara başlaması için gerekli olan birinci sinyal mekanizmalarında yaşanacak olası bozukluklar gelişecek olan immün yanıtta aksaklıklara neden olabilir. Bu çalışmada T hücre cevabının gelişiminde asıl olan CD3'ün Ç zincirine ait rs858554 ve rs704848 tek nükleotid polimorfizmlerinin İTP hastalığının patogeneziye katkısının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın etik kurul onayı Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (02.11.2016 tarih, 17/08 sayı). Çalışmaya katılan gönüllüler, yapılan bilgilendirme sonrası onam formunu imzalayarak çalışmaya dahil olmuşlardır. Çalışma grubunu Trakya Üniversitesi Hastanesi Hematoloji Kliniği'nde takibi yapılan İTP hastaları ve sağlıklı kontroller oluşturmaktadır. İTP hastaları Uluslararası Tromboz Hemostaz Birliği (ISTH) tarafından belirlenen kanama değerlendirme ölçeği ile majör ve minör kanama değerlendirme kriterlerine göre değerlendirilmiş, kesin tanı alanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik verileri Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışmaya 19 yaşından gün almış, birbiri ile akrabalık ilişkisi olmayan yetişkinler dahil edilmiştir. İTP'li grubunda 35 kadın, 20 erkek verici olmak üzere 55 kişi, sağlıklı kontrol grubunda ise 31 kadın, 22 erkek olmak üzere toplam 53 kişi katılmıştır. Sağlıklı kontrol olarak dahil edilen kişilerin kendilerinde ve en az üç kuşak ailesinde bilinen otoimmün hastalık olmamasına dikkat edilmiştir. Toplam 108 vericinin her birinden antikoagülanlı tam kan sayımı tüplerine bir tüp kan alınmıştır.

Deneysel aşamalar Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu QIAGEN EZ1 Advanced XL (Seri No: L122A1010) cihazında yapılmıştır. Otomatize sistemde her verici için 200 µl DNA izole edilmiştir. İzole edilen DNA'lar için miktar analizi NanoDrop cihazında yapılmıştır. Konsantrasyonu uygun olan örnekler gruplar halinde Real-Time PCR işlemine alınmıştır. Konsantrasyonu uygun olmayan örneklerden yeniden izolasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada CD247 genine ait rs858554 polimorfizmi için A/G, rs704848 polimorfizmi için de C/G alellerinin sıklığı araştırılmıştır. Alel sıklığını belirlemek için TaqMan Probe Real-Time PCR yöntemi kullanılmış, analizler AB Applied Biosystems (Seri No: 2720010807) PCR cihazında, floresan işaretli VIC/FAM kanalları kullanılarak yapılmıştır. VIC ve FAM floresan işaretli öncü boya-ları ifade etmekte ve PCR cihazı analizleri bu referanslara göre yapmaktadır. Polimorfizmleri belirlemek için Thermo Fisher marka TaqMan SNP Genotyping Assays ve kitlerle birlikte verilen Master Mix ticari kullanım kılavuzunda önerilen şartlara uygun kullanılmıştır. rs858554 polimorfizmi için TCCCGGCATGG-CTTACTAGGTGGTT-A/G-ACGCCAGGGCAGTTGGGAGGTAAT (AssayID: C_8918095_10) ve rs704848 polimorfizmi için ATTC-

Tablo 1. İTP'li hastaların klinik verileri

	Klinik Veriler	Kadın	Erkek	Toplam
Major Kanama	+ (Var)	2	2	4
	- (Yok)	33	18	51
Minör Kanama	+ (Var)	15	6	21
	- (Yok)	20	14	34
Trombosit Sayısı/mm ³	<10000 mm ³	12	6	18
	10000-20000 mm ³	16	11	27
	>20000 mm ³	5	5	10
IVIg Yanıtı	Yok	0	0	0
	Erken	16	15	31
	Geç	18	6	24
Tüm Yanıt Tipi	Kısmi Cevap	10	5	15
	Tam Cevap	24	16	40
Yanıt Veren Tedavi Tipi	Steroid	23	12	35
	Eltrombopag	12	8	20

İTP: İmmün trombositopeni

GTAAGCCACCTCCCAAGCCCC-C/G-AATAGCCCCAGGTAGGGGA-CATCCC (Assay ID: C_1680863_10) prob dizileri kullanılmıştır. rs858554 probu için A aleli floresan işaretli VIC kanalından, G aleli ise floresan işaretli FAM kanalından okunmuştur. rs704848 probunda ise C aleli VIC kanalından, G aleli ise FAM kanalından okunmuştur. PCR cihazına VIC/FAM referans değerleri girildiğinde probun içerdiği boyaya göre cihaz bir grafik oluşturularak analiz sonuçlarını vermiştir. Gruplardaki alel ve genotip sıklığı dağılımları ki-kare testi yapılarak karşılaştırılmıştır.

BULGULAR

CD247 genine ait rs858554 polimorfizmi için A/G, rs704848 polimorfizmi için de C/G alellerinin sıklığı İTP'li hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında belirlenerek karşılaştırılmıştır. Çalışma gruplarına göre her iki polimorfizmin alel ve genotip frekanslarının dağılımları Tablo 2'de verilmiştir. rs858554 polimorfizmi için AA genotipi sağlıklı kontrollerde 14 kişide (%26,41), İTP'li hastalarda 12 kişide (%21,82); AG genotipi sağlıklı kontrollerde 28 kişide (%52,83), İTP'li hastalarda 25 kişide (%45,45); GG genotipi ise sağlıklı kontrollerde 11 kişide (%20,76), İTP'li hastalarda 18 kişide (%32,73) tespit edilmiştir. rs704848 polimorfizmi için dağılıma bakıldığında CC genotipi sağlıklı kontrollerde 19 kişide (%35,84); İTP'li hastalarda 18 kişide (%32,72); CG genotipi sağlıklı kontrollerde 25 kişide (%47,16), İTP'li hastalarda 22 kişide (%40); GG genotipi ise sağlıklı kontrollerde 9 kişide (%17), İTP'li hastalarda 15 kişide (%27,28) tespit edilmiştir. Her iki polimorfizm için de sağlıklı kontroller ve İTP'li hastalar arasında istatistik olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 2.rs8585545 ve rs704848 Polimorfizmlerinin İTP'li ve Sağlıklı Kontrol Gruplarındaki Alel ve Genotip Frekansları Dağılımı

	rs858554					rs704848				
	Alel Frekansı (%)		Genotip Frekansı (%)			Alel Frekansı (%)		Genotip Frekansı (%)		
	A	G	AA	AG	GG	C	G	CC	CG	GG
SK (N=53)	56 (52,8)	50 (47,2)	14 (26,4)	28 (52,8)	11 (20,8)	63 (59,4)	43 (40,6)	19 (35,8)	25 (47,2)	9 (17)
İTP (N=55)	49 (44,5)	61 (55,5)	12 (21,8)	25 (45,4)	18 (32,7)	58 (52,7)	52 (47,3)	18 (32,7)	22 (40)	15 (27,3)

İTP: İmmün trombositopeni

Tablo 3. rs8585545 ve rs704848 Polimorfizmlerinin İTP'li ve Sağlıklı Kontrol Gruplarındaki Alel ve Genotip Frekanslarının Cinsiyete Göre Dağılımı

		rs858554					rs704848				
		Alel Frekansı (%)		Genotip Frekansı (%)			Alel Frekansı (%)		Genotip Frekansı (%)		
		A	G	AA	AG	GG	C	G	CC	CG	GG
♀	SK (N=31)	32(51,6)	30(48,4)	9(29)	14(45,2)	8(25,8)	34(54,8)	28(45,2)	9(29)	16(51,6)	6(19,4)
	İTP (N=35)	29(41,4)	41(58,6)	8(22,9)	13(37,1)	14(40)	32(45,7)	38(54,3)	10(28,6)	12(34,3)	13(37,1)
♂	SK (N=22)	24(54,5)	20(45,5)	5(22,7)	14(63,6)	3(13,6)	29(65,9)	15(34,1)	10(45,5)	9(40,9)	3(13,6)
	İTP (N=20)	20(50)	20(50)	4(20)	12(60)	4(20)	26(65)	14(35)	8(40)	10(50)	2(10)

İTP: İmmün trombositopeni

Çalışma grupları oluşturulurken cinsiyet dağılımlarının birbirine yakın olması sağlanmıştır. Polimorfizm dağılımlarının analizlerinde cinsiyet açısından da değerlendirme yapılmıştır. Bu karşılaştırmanın verileri Tablo 3'te verilmiştir. Her iki polimorfizm için gruplar arasındaki dağılım birbirine benzer olarak tespit edilmiş ve istatistiki olarak gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Polimorfizmlerin ikisi birlikte değerlendirilerek haplotipik açıdan farklılık olup olmadığı analiz edilmiştir. Haplotipik açıdan gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

İmmün trombositopenili hastalar için klinik veriler açısından yapılan değerlendirmelerde hem genotip dağılımları hem alel frekanslar hem de haplotipik dağılımların analizleri yapılmıştır. Bu değerlendirmelerde klinik veri için anlamlı fark bulunmamıştır.

TARTIŞMA

Bu çalışmada T hücre reseptörünün sinyal iletimi için kullandığı CD3 ζ zincir yani CD247 genine ait iki tane tek nükleotid polimorfizmi İTP'li hastalarda ve sağlıklı kontrollerde araştırılmıştır. T hücre fonksiyonlarının başlaması için T hücre reseptöründen gelecek olan sinyal esastır. Bu reseptörün gen yapısı ile ilgili farklılıklar sinyal ileti fonksiyonlarında değişikliklere neden olabilir. Araştırılan rs858554 ve rs704848 polimorfizmleri intronik varyantlardır. Polimorfizm-hastalık ilişkilerini inceleyen birçok çalışmada intronik polimorfizmler dikkatle incelenmektedir.

GWAS (Genom Çapında İlişki Çalışması-*Genome-Wide Association Studies*) çalışmalarında da tek nükleotid polimorfizmlerinin çoğu kodlama yapmayan gen bölgelerinde şekillenmektedir (14-16). CD247 genine ait intronik polimorfizmlerin molekülün fonksiyonel etkinliği üzerine etkisini gösteren bir çalışma kolorektal kanser için öngörülen bir antikor tedavisi ile ilişkili olarak ortaya konmuştur. Zhang ve ark. (17) yaptığı çalışmada immün düzenleyici polimorfizmlerin, M701 adlı antikor aracılı sitotoksositeye etkisi araştırılmıştır. CD247 geninin intronik rs294955 polimorfizmini homozigot taşıyan bireylerde düşük sitotoksik kapasite bildirilmiştir.

Literatürde CD247 gen polimorfizmlerinin birçok farklı hastalık için araştırıldığı görülmektedir. Bu makaleler içerisinde İTP gibi otoimmün hastalıklar olan romatoid artrit, SLE, sistemik skleroz gibi hastalıkların araştırıldığı yayınlar olduğu kadar farklı hastalıklardan da çalışmalar mevcuttur. Ancak İTP ve CD247 ilişkisini araştıran yayına rastlanmamıştır. Bu çalışma bu özelliği ile özgün bir araştırma alanına ışık tutmaktadır.

Peng Li ve ark. (18) romatoid artrit hastalarında yaptığı çalışmada CD247 gen polimorfizmleri 612 hasta ve 848 kontrolde çalışılmıştır. Bu çalışmada araştırılan rs858554 polimorfizmi ile romatoid artrit hastalığı arasında anlamlı ilişki bildirilmiştir. Bir başka otoimmün hastalık olan SLE hastalığı ile ilgili yapılan çok merkezli çalışmada 8922 hasta, 8072 kontrol değerlendirilmiştir. Araştırılan CD247 polimorfizmleri arasında rs858554 ve rs704848 polimorfizmleri de bulunmaktadır. Bu çalışmanın etnik kökenle-

re göre yapılan değerlendirmesinde rs858554 polimorfizmi özellikle Asya kökenli SLE hastalar için anlamlı olarak bildirilmiştir. Ancak Avrupa kökenli SLE hastalarında böyle bir ilişki olmadığı vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızın sonucunda elde edilen dağılım profilinin de literatürdeki Avrupa popülasyonu ile uyumlu olduğu görülmektedir. Bu bilgi toplumsal olarak paylaşılan genetik yükün hastalıklar ile ilişkisinin ortaya konmasının önemini işaret etmektedir.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının sayıları görece oldukça düşüktür. Bunun başlıca nedeni katılımda gönüllülük esasına dayalı bir grup oluşturulmasıdır. Ayrıca İTP hastalığı daha çok çocuklarda görülen otoimmün bir hastalıktır. Çalışmamız sadece 18 yaşından büyük hasta ve sağlıklı kontrollerle yapıldığı için gruplar içerisindeki sayının az olması istatistiksel değerlendirmelerde yetersiz kalmış olabilir.

İmmün trombositopeni hastalarında yapılacak T hücre sinyal yollarının katkısını açıklamaya yönelik genetik ve fonksiyonel çalışmalar hem patogenezin anlaşılmasına katkı sağlayacak hem de buradan edilecek bilgi tedavi seçeneklerinin artırılması için yardımcı olacaktır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan alınmıştır.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı çalışmaya katılan tüm hastalardan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Tasarım - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Denetleme - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Gereçler - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Analiz ve/veya Yorum - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Literatür Taraması - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Yazan - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Eleştirel İnceleme - İ.K., E.G.Ü., J.T.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2017/05).

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval for this study was obtained from the Trakya University Ethics Committee of Scientific Research.

Informed Consent: Written informed consent was obtained from the patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Design - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Supervision - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Materials - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Data Collection and/or Processing - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Analysis and/or Interpretation - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Literature Search - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Writing Manuscript - İ.K., E.G.Ü., J.T.; Critical Reviews - İ.K., E.G.Ü., J.T.

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: This study has received financial support from the Trakya University Scientific Research Projects (Project ID: 2017/05).

KAYNAKLAR

1. Bylsma LC, Fryzek JP, Cetin K, Callaghan F, Bezold C, Mehta B, Wasser JS. Systematic literature review of treatments used for adult immune thrombocytopenia in the second-line setting. *Am J Hematol* 2019; 94: 118-32. [CrossRef]
2. Neunert CE, Cooper N. Evidence-based management of immune thrombocytopenia: ASH guideline update. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2018; 2018: 568-75. [CrossRef]
3. Audia S, Mahévas M, Samson M, Godeau B, Bonnotte B. Pathogenesis of immunethrombocytopenia. *Autoimmun Rev* 2017; 16: 620-32. [CrossRef]
4. Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, Michel M, Provan D, Arnold DM, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood* 2009; 113: 2386-93. [CrossRef]
5. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L Jr, Crowther MA, American Society of Hematology. 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood* 2011; 117: 4190-207. [CrossRef]
6. Stasi R, Newland AC. ITP: a historical perspective. *J Hematol* 2011; 153: 437-50. [CrossRef]
7. İTP Tanı ve Tedavi Kılavuzu. *Türk Hematoloji Derneği*, 2011.
8. Grainger JD, Bolton-Maggs PHB, Godeau B, Bussel J, Donato H, Elalfy M, et al. Diagnosis and management of chronic ITP: comments from an ICIS expert group. *Ann Hematol* 2010; 89: 11-7. [CrossRef]
9. Blanchette M, Freedman J. The history of idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Transfus Sci* 1998; 19: 231-6. [CrossRef]
10. McMillan R, Luiken GA, Levy R, Yelenosky R, Longmire RL. Antibody against megakaryocytes in idiopathic thrombocytopenic purpura. *JAMA* 1978; 239: 2460-2. [CrossRef]
11. Abbas AK, Lichtman AH. (2nd ed.). (2004). *Basic immunology: functions and disorders of the immune system*. Philadelphia, W.B Saunders Co.
12. Ngoenkam J, Schamel WW, Pongcharoen S. Selected signalling proteins recruited to the T-cell receptor-CD3 complex. *Immunology* 2018; 153: 42-50. [CrossRef]
13. Ahonen T, Saltevo J, Laakso M, Kautiainen H, Kumpusalo E, Vanhala M. Gender differences relating to metabolic syndrome and proinflammation in Finnish subjects with elevated blood pressure. *Mediators Inflamm* 2009; 2009: 959281. [CrossRef]
14. Degner JF, Pai AA, Pique-Regi R, Veyrieras JB, Gaffney DJ, Pickrell JK, et al. DNase I sensitivity QTLs are a major determinant of human expression variation. *Nature* 2012; 482: 390-4. [CrossRef]
15. Trynka G, Sandor C, Han B, Xu H, Stranger BE, Liu XS, et al. Chromatin marks identify critical cell types for fine mapping complex trait variants. *Nature Genetics* 2013; 45: 124-30. [CrossRef]
16. Zhang CM, Yu LY, Lv JF, Gong L, Zhou HH, Chen XP, et al. Effects of immune-related gene polymorphisms on a bispecific antibody targeting colorectal cancer cell. *Per Med* 2018 15: 167-79. [CrossRef]
17. Li P, Wang X, Zhao MQ, Li LJ, Zhang C, Li BZ, et al. TCR-CD3 ζ gene polymorphisms and expression profile in rheumatoid arthritis. *Autoimmunity* 2016; 49: 466-71. [CrossRef]
18. Martins M, Williams AH, Comeau M, Marion M, Ziegler JT, Freedman BI, et al. Genetic association of CD247 (CD3 ζ) with SLE in a large-scale multiethnic study. *Genes Immun* 2015; 16: 142-50. [CrossRef]