



**ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**MİKOZİS FUNGOİDES TANILI OLGULARDA  
SİTOKİN GEN POLİMORFİZMİ**

**Dr. Serkan YAZICI**

**UZMANLIK TEZİ**

**BURSA-2011**



**ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**MİKOZİS FUNGOİDES TANILI OLGULARDA  
SİTOKİN GEN POLİMORFİZMİ**

**Dr. Serkan YAZICI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Danışman: Doç. Dr. Kenan AYDOĞAN**

**BURSA-2011**

## İÇİNDEKİLER

Özet .....	ii
Summary .....	iv
Giriş .....	1
Gereç ve Yöntem .....	12
Bulgular .....	19
Tartışma ve Sonuç .....	25
Kaynaklar.....	28
Teşekkür.....	34
Özgeçmiş .....	35

## ÖZET

Mikozis Fungoides (MF) en sık görülen t- hücreli deri lenfoması çeşidi olup, deride CD4+ TH infiltrasyonu ile karakterizedir. Sitokinlerin MF gelişiminde temel rol oynadığı düşünülmektedir ve sitokin profilinde TH-1'den a TH-2'ye kayma hastalık progresyonuna eşlik etmektedir. sitokin üretimi genetik olarak kontrol edilmektedir ve sitokin genlerinin alelik varyasyonları sitokinlerin düşük veya yüksek miktarlarda üretimi ile ilişkilidir. bu çalışmanın amacı, MF gelişimi veya progresyonu için risk oluşturan sitokin gen polimorfizmlerini saptayabilmektir. 55 mikozis fungoidesli olgunun, IFN- $\gamma$ +874 (TH-1 sitokin), IL-10-1082, IL-6-174 (TH-2 sitokin), TGF- $\beta$ 1 codon 10 and codon 25 ve TNF- $\alpha$ -308 gen polimorfizmleri yaş ve cinsiyet yönünden karşılaştırılmış 50 kontrol grubu ile karşılaştırıldı. IFN- $\gamma$ +874, IL-10-1082, IL-6-174 ve TNF- $\alpha$ -308 gene polimorfizmleri için Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism metodu uygulandı. TGF- $\beta$ 1 kodon-10 ve kodon-25 DNA sekans analizi ile belirlendi. Sitokinlerin genotip dağılımının karşılaştırılmasında ki-kare veya fisher's exact testi kullanıldı. P <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Hasta ve kontrol grubunda incelenen beş sitokin genlerinin hiçbirinde genotip dağılımı anlamlı farklılık göstermedi. Bizim çalışmamız çalışılan sitokin gen polimorfizmlerinin hastalık gelişimi veya progresyonu için risk faktörü olmadığını gösterebileceği geniş serili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** Mikozis Fungoides, lenfoma, sitokin gen polimorfizmi.

## SUMMARY

### **Cytokine Gene Polimorphisms among Mycosis Fungoides Patients**

Mycosis Fungoides (MF) is the most common form of the cutaneous T-cell lymphoma, characterized with CD4+ TH infiltration in the skin. Cytokines are considered to play a crucial role in the development of MF. Shift from a TH-1 to a TH-2 cytokine profile accompanies with disease progression. Cytokine production is under genetic control and allelic variations of cytokine genes associated with lower or higher production of cytokines. The aim of this study was to determine any possible cytokine gene polimorphism that representing as a risk factor for development or progression of MF. Genotyping for IFN- $\gamma$ +874 (TH-1 cytokine), IL-10-1082, IL-6-174 (TH-2 cytokines), TGF- $\beta$ 1 codon 10 and codon 25 and TNF- $\alpha$ -308 was undertaken for 55 Turkish patients with MF and compared with age and sex matched 50 healthy control groups. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method was applied for IFN- $\gamma$ +874, IL-10-1082, IL-6-174 and TNF- $\alpha$ -308 gene polymorphisms. TGF- $\beta$ 1 was genotyped by direct DNA sequencing of PCR amplified gene products for codon 10 and codon 25 polymorphisms.  $\chi^2$  test or the Fisher's exact test were used to compare the genotype distribution of cytokines as well as frequencies of genotype variations. P values of  $<0.05$  were considered statistically significant

Genotype distribution showed no significant differences between the patients and the controls for any of five investigated cytokines. Although our study suggests that any of studied cytokine gene polimorphism is not a risk factor for development or progression of disease in Turkish population further studies on larger numbers of cases are needed.

**Key words:** Mycosis Fungoides, lymphoma, Cytokine gene polimorphisms.

## GİRİŞ

Mikozis Fungoides (MF) T-hücreli deri lenfomalarının en yaygın formu olup, deri lezyonları epidermotropik klonal CD4<sup>+</sup> T-lenfosit infiltrasyonu ile karakterizedir. İlk olarak 1806'da Fransız Jean Louis Alibert tanımlamıştır ve 1835'te bazı deri tümörlerinin mantara benzemesi nedeniyle “ *mycosis fungoide*” olarak yeniden adlandırılmıştır (1). MF nadir görülen bir lenfoma olmakla birlikte en sık (%75-80) görülen primer deri lenfomasıdır ve derinin primer non-hodgkin lenfomalarının %50'sini oluşturmaktadır. İnsidansı coğrafik bölgelere göre farklılık göstermektedir. Yıllık insidansı 0.13-0.9/100000 arası değişmektedir ve beyaz ırkta daha nadir görülmektedir. ABD' de yıllık insidansı 0.29/ 100.000, prevalansı %0.5 olarak bildirilmişken, Asya ülkelerinde yıllık insidansı 0.43/100.000 olarak bildirilmiştir (2-8). MF genellikle yaşlı bireyleri etkilemekle birlikte, hayatın herhangi bir döneminde ortaya çıkabilir. Tanı anında median yaş 55-60 olarak bildirilmiş olup, özellikle Asya ülkelerinde daha genç popülasyonda görüldüğü bildirilmiştir. Erkeklerde kadınlara oranla daha sık (erkek/kadın oranı 1.6-2.0/1) görülmektedir (9, 10).

Etyopatogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte, genetik olarak yatkın bireylerde çeşitli çevresel ve bireysel immünolojik faktörlerin hastalık gelişiminde rolü olduğu ileri sürülmektedir (11).

**Çevresel faktörler:** Kronik antijenik stimülasyonun, çeşitli lenfoma türleri ile ilişkisi gösterilmiş olup MF'te de tetiği çeken önemli faktör olabileceği ileri sürülmektedir. T hücrelerinin sürekli antijenik uyarımı kronik inflamasyon sürecine ve sonuç olarak malign T-hücre klonunun oluşumuna neden olmaktadır (12). Bazı kimyasalların etyopatogenezde rolü olabileceği düşünülse de son zamanlarda yapılan geniş vaka kontrollü çalışmada bu ilişki gösterilememiştir. HTLV-1, CMV ve EBV gibi viral enfeksiyon ajanlarının etyopatogenezdeki rolü halen tartışmalıdır (11).

**İmmünolojik faktörler:** MF, deri ve periferik kanda küçük-orta boyutlu, epidermotropik CD4<sup>+</sup> T-hücreleri ile karakterizedir ve etyopatogenezinde sitokinlerin temel rol oynadığı düşünülmektedir. T<sub>H</sub>-1/ T<sub>H</sub>-

2 dengesi, lenfoid hücre gelişimi ve farklılaşması için temel rol oynamaktadır ve  $T_H-1/ T_H-2$  fonksiyon bozukluğu lenfomagenez etyopatogenezinde temel rol oynadığı bildirilmektedir (13). Erken evre olgularda  $T_H-1$  sitokin profili (IFN- $\gamma$ ) hakimken, ileri evre olgularda IL- 4, IL-5, IL-6 gibi  $T_H-2$  sitokin profili hakim hale gelmektedir ve ileri evre olgularda artmış  $T_H-2$  sitokin profili,  $T_H-1$  aracılı anti-tümör yanıtı bozarak immünsüpresyonda rol oynamaktadır (14,15). Erken dönemdeki anti-tümör yanıtta  $CD8^+$  sitotoksik T-hücrelerinin ( $T_s$ ) önemli rol oynadığı gösterilmiştir ve özellikle IFN- $\gamma$   $T_s$  aracılı anti-tümör yanıtta temel rol oynamaktadır. Bunun yanında dermal infiltrasyondaki yüksek  $CD8^+$   $T_s$  oranı ile iyi prognoz arası ilişki bildirilmektedir (16). Bu bulgular göz önünde bulundurulduğunda; sitokinlerin MF gelişiminde ve hastalık progresyonunda temel rol oynadığı ileri sürülmektedir.

**Genetik faktörler:** MF etyopatogenezinde genetik anormalliklerin kümülatif etkisi ile oluşan anormal klonal proliferasyonun malign transformasyona zemin hazırladığı düşünülmektedir. Klonal T-hücrelerinin göstergesi olan; TCR gen re-arranjmanı ileri evre olgularda gösterilse de, erken evre olgularda görülmeyebilir (17). Klonal  $CD4^+$  T-hücreleri antijenleri HLA sınıf II molekülleri aracılığı ile tanımaktadır ve Aw31, Aw32, B8, Bw38 ve DR5 gibi HLA sınıf 2 histokompatibilite antijenleri ile MF arası ilişki tanımlanmıştır. Ayrıca MF etyopatogenezini hücre siklusu ve apoptozu kontrol eden; p53, p15, p16 ve CDKN2A gen defektleri, Bcl-2, Fas, JunB, Stat-3 mutasyonları ve kromozom 1 ve 6 10 delesyon/ translokasyonları arası ilişki bildirilmiştir. Nadir de olsa ailevi olguların bildirilmesi de MF etyopatogenezinde genetik yatkınlığın rolünü desteklemektedir (18-20).

**Klinik** olarak klasik MF'li olgular; yama-plak-tümör lezyonları ile ortaya çıkar. Bu lezyonlar eşzamanlı görülebildiği gibi ardışık olarak da ortaya çıkabilir. **Erken yama lezyonu** tipik olarak, bazen kaşıntılı olabilen, değişik boyularda, eritematöz, ince skuamlıdır ve lezyonlara değişen derecelerde atrofi eşlik edebilir (Şekil-1).



**Şekil-1:** Gövdede lokalize, MF yama evre lezyonu.

Baslangıç deri lezyonları genellikle güneşten korunmuş; kalçalar, gövde ve ekstremitelerin kapalı kısımlarından başlar. Lezyonlar zamanla daha infiltratif kırmızı kahverengi kabuklu **plak** halini alır. Multipl plak veya nodüller ve/veya sebebi açıklanamayan **eritrodermi** (Şekil-2) ile seyredebilir.



**Şekil-2:** Eritrodermik MF.

Genellikle anamnezde tanı öncesinde kronik, tekrarlayan biyopsiler ile tanı konulamayan non-spesifik ekzematöz veya psoriaziform deri lezyonları mevcuttur. Deri lezyonlarının ortaya çıkmasından tanı konulmasına kadar geçen süre (**Premikotik evre**) birkaç hafta ile >50 yıl arası değişebilmekle beraber, median 4-6 yıl olarak bildirilmiştir (1, 9).

**Poikilodermik varyantı** benek şeklinde hiper/hipopigmentasyon, atrofi, telenjektazi şeklinde kendini gösterir ve **Poikiloderma Vaskulare Atrofikans** olarak tanımlanmıştır. Çoğu hasta plak evrede kalmakla birlikte bazı olgular tümöral evreye ilerler ve nodüller (Şekil-3) lezyonlar gelişebilir.





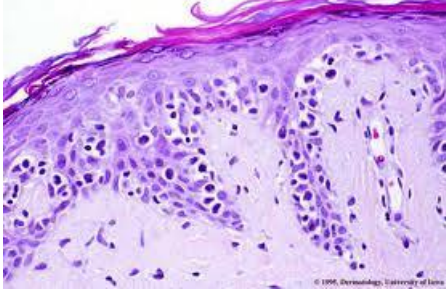
**Şekil-3:** MF tümöral evre.

**Tümör evre** olgularda karakteristik olarak patch, plak ve tümöral lezyonlar eşzamanlı görülür. Olgularda klasik yama-plak-tümöral evre progresyonu görülebilmekle birlikte, De-novo tümöral lezyonlar ortaya çıkabilir. Öncesinde yama/ plak benzeri lezyonlar olmadan büyük nodüler lezyonlarla ortaya çıkan formu **tumeur d'emble** olarak tanımlanmıştır. Büyük tümöral lezyonlarda nekroza bağlı ülserasyon görülebilir (21).

**Sezary sendromu** bazı yazarlarca MF'in eritrodermik lösemik formu olduğu düşünülse de yeni World Health Organization-European Organisation for Research and Treatment of Cancer (WHO-EORTC) sınıflamasında deri lenfomalarının ayrı bir formu olarak sınıflandırılmıştır (1). **Deri dışı tutulum**, deri tutulumunun yaygınlığı ile ilişkilidir. Lenfadenopati (LAP) genellikle geç dönemde, deri dışı tutulumun erken bulgusu olarak meydana gelir ve bölgesel LAP en sık görülen bulgu olmakla birlikte viseral tutulumda görülebilir. En sık Akciğer, Dalak, Karaciğer, gastrointestinal sistem tutulmakla birlikte, teorik olarak tüm retiküloendotelial sistem organları tutulabilir. Deri dışı tutulum; sınırlı yama-plak evre olgularda son derece nadirken, tümöral evre ve eritrodermik olgularda sık görülmektedir. Sınırlı deri lezyonlu olgularda kemik iliği (Kİ) kural olarak tutulmazken, ileri evre olgularda beklenen bir bulgudur (22).

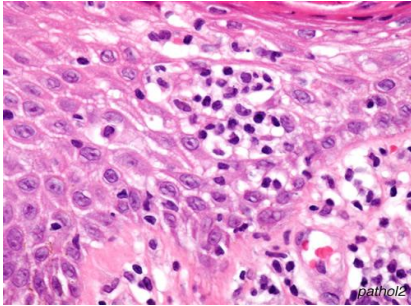
**Histopatolojik olarak erken evre yama** lezyonlarda; bazal tabakada lokalize lenfositlerden oluşan yüzeysel band tarzı veya likenoid infiltrat görülürken, *plak* lezyonlarında **epidermotropizm** belirgindir. Erken evre

lezyonlarda atipik hücre hiç görülmeyebilirken bazen blast hücresi, eozinofil ve plazma hücreleride görülebilir. *Epidermotropik atipik hücreler*; küçük-orta boyutlu, serebriform nükleuslu ve bazen hiperkromaziktir (Şekil-4).



**Şekil-4:** Erken yama evre olguda epidermotropizm.

Sıklıkla lineer dizilim gösteren atipik hücreler halo ile çevrilidir (17). İntraepidermal atipik hücre kümelerinin varlığı **Pautrier's Mikroabsesi** olarak adlandırılır (Şekil-5).



**Şekil-5:** Erken evre olguda Pautrier's mikroabsesi.

Bu bulgu karakteristik olmakla birlikte olguların az bir kısmında bulunur. Tümör evreye ilerleyen olgularda epidermotropizm kaybolur, infiltrat tüm dermisi kaplar ve deri altı dokulara yayılabilir (23).

**İmmünofenotipik olarak** MF neoplastik T-hücreleri olgun hafıza T-hücre fenotipi (CD3+, CD4+, CD45RO+, CD8-) gösterirken, nadirde olsa; CD3+, CD4-, CD8+ vakalar bildirilmiştir. Neoplastik atipik hücrelerde farklılaşma derecesine göre bir veya birden çok T-hücre ilişkili antijen kaybı (CD2+, CD3+, CD4+, CD5+) görülebilir. CD7<sup>+</sup>liği olguların 1/3'ünde saptanırken, CD7 kaybı kronik T-hücre uyarımı olan bir çok benign

dermatozda da görülebildiği gösterilmiştir. CD25 sıklıkla negatif olmakla birlikte, pozitif vakalarda bildirilmiştir. İmmünfenotiplendirmedeki anormallikler plak veya tümöral evre olgularda belirgin iken, erken yama evre lezyonlu olgularda nadiren saptanması nedeniyle erken tanıdaki yeri oldukça kısıtlıdır (24).

Olguların çoğunda gözlenen kronik non-spesifik egzema dönemi ve histopatolojik olarak bir çok hastalıkla karışabilmesi nedeniyle olguların **tanısı** güçtür; anamnez ve fizik muayene bulguları histopatolojik inceleme ve gerekli olgularda biyokimyasal, immünohistokimyasal, sitogenetik analizler ile kesin tanıya gidilir (25). MF olgularında tedavi seçiminde en önemli faktör **klirik evredir**. Periferik lenf nodu tutulumunun olmadığı erken evre I-IIA olgularda ileri görüntüleme yöntemleri gerekli değilken, evre IIB ve dahileri, deri-dışı tutulum şüphelenilen olgularda ileri tetkik gerekli olabilir (26). Evreyi ve prognozu etkileyen, LN tutulumunun varlığında LN biyopsisi yapılmalıdır. Belirgin Kİ tutulumlu olgular kendini periferik kanda *Sezary Hücre*si olarak gösterdiği için Kİ incelemesi evrelemede rutin kullanılmamaktadır (27). MF olgularında evrelendirme için Tümör, Lenf Nodu, Metastaz, Blood (TNMB) sınıflaması ilk olarak 1979'da tanımlanmış (28) ve 2006'da revize edilmiştir (29). Tablo-1 ve 2'de Mikozis fungoides TNMB sınıflandırması ve klinik evreleme sistemi özetlenmiştir (29).

**Tablo-1:** Mikozis fungoides TNMB sınıflandırması.

<b>MİKOZİS FUNGOİDES VE SEZARY SENDROMUNUN TNMB SINIFLANDIRMASI</b>	
<b>T (deri)</b>	
T <sub>1</sub>	Sınırlı yama/plak (toplam deri yüzeyinin %10'undan daha azını etkileyen)
T <sub>2</sub>	Yaygın yama/plak (toplam deri yüzeyinin %10'undan daha fazlasını etkileyen)
T <sub>3</sub>	Tümör
T <sub>4</sub>	Eritrodermi
<b>N (lenf nodu)</b>	
N <sub>0</sub>	Büyümüş lenf nodu yok
N <sub>1</sub>	Histolojik tutulum olmadan büyümüş lenf nodları
N <sub>2</sub>	Histolojik tutulum olarak büyümüş lenf nodları (normal yapı korunmuş)
N <sub>3</sub>	Histolojik tutulum olarak büyümüş lenf nodları (normal yapı bozulmuş)
<b>M (iç organ)</b>	
N <sub>0</sub>	Viseral tutulum yok
M <sub>1</sub>	Viseral tutulum var
<b>B (kan)</b>	
B <sub>0</sub>	Dolaşımda atipik Sezary hücresi yok (ya da lenfositlerin %5'inden az)
B <sub>1</sub>	Kanda düşük tümör yükü (lenfositlerin $\geq$ %5'i Sezary hücresi fakat B <sub>2</sub> değil)
B <sub>2</sub>	Kanda yüksek tümör yükü ( $\geq$ 1000/ $\mu$ L Sezary hücresi + pozitif klon)

**Tablo-2:** Mikozis fungoides için klinik evreleme sistemi.

<b>MİKOZİS FUNGOİDES KLİNİK EVRELEME SİSTEMİ</b>				
<b>Klinik evre</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>	<b>B</b>
IA	T <sub>1</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>	B <sub>0-1</sub>
IB	T <sub>2</sub>	N <sub>0</sub>	M <sub>0</sub>	B <sub>0-1</sub>
IIA	T <sub>1-2</sub>	N <sub>1-2</sub>	M <sub>0</sub>	B <sub>0-1</sub>
IIB	T <sub>3</sub>	N <sub>0-2</sub>	M <sub>0</sub>	B <sub>0-1</sub>
III	T <sub>4</sub>	N <sub>0-2</sub>	M <sub>0</sub>	B <sub>0-1</sub>
IVA <sub>1</sub>	T <sub>1-4</sub>	N <sub>0-2</sub>	M <sub>0</sub>	B <sub>2</sub>
IVA <sub>2</sub>	T <sub>1-4</sub>	N <sub>3</sub>	M <sub>0</sub>	B <sub>0-2</sub>
IVB	T <sub>1-4</sub>	N <sub>0-3</sub>	M <sub>1</sub>	B <sub>0-2</sub>

MF tedavisinde kür sağlayabilecek bir tedavi yöntemi henüz mevcut değildir. Başlangıç tedavisinin seçimi bireye göre planlanmalıdır ve tedavi seçiminde olgunun evresi, hastanın koşulları göz önünde bulundurulmalıdır. Genel olarak tedavilerin hastalık kontrolünde etkili oldukları fakat yaşam süresini uzatmadıkları gösterilmiştir. Olguya göre; deriyi hedefleyen tedaviler, sistemik kemoterapötik ajanlar, biyolojik yanıt düzenleyiciler tercih edilebilmektedir. Erken evre MF’te deri-hedefli tedaviler tercih edilirken, nodal ya da viseral tutulumun olduğu, ileri evre hastalıkta sistemik kemoterapiler kullanılmaktadır. Tablo-3’te klinik evreye göre olguların tedavisi özetlenmiştir (11).

**Tablo-3:** Mikozis fungoidesin tedavisi.

<b>MİKOZİS FUNGOİDES TEDAVİSİ</b>
<b>Premikotik faz</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Topikal kortikosteroidler, UVB</li><li>• Etkili değilse, PUVA</li></ul>
<b>Evre IA-IIA (yamalar/plaklar)</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• PUVA; HN2; topikal BCNU</li><li>• UVB (sadece yamalar varsa)</li><li>• Topikal kortikosteroidler ya da topikal beksaroten (sadece sınırlı yamalar/ince plaklar varsa)</li><li>• RT (tek bir lezyon ise)</li><li>• TSEB (yaygın kalın plaklar varsa)</li></ul>
<b>Evre IIB (deri tümörleri)</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• PUVA ya da HN2 + RT (eğer sadece birkaç tümör varsa)</li><li>• TSEB (takiben deri-hedefli tedaviler)</li><li>• Nüks: PUVA + IFN-<math>\alpha</math>; PUVA + retinoidler (asitretin; oral beksaroten*); denileukin diftitox*</li><li>• RT ekle (tümörler ısrarcıysa), ikinci TSEB'i düşün (10-20 Gy)</li></ul>
<b>Evre III (eritrodermi)</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• ECP; etkili değilse, IFN-<math>\alpha</math> ekle</li><li>• Düşük doz klorambusil ve prednizon, düşük doz metotreksat</li><li>• Eğer gerekliyse deri-hedefli tedaviler ekle (PUVA; HN2; RT)</li><li>• Oral beksaroten*</li></ul>
<b>Evre IV (nodal, viseral tutulum)</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Multiajan kemoterapisi (Ör: CHOP)</li><li>• Biyolojik yanıt düzenleyiciler (denileukin diftitox*; IL-12, vs.)</li><li>• Eğer gerekliyse deri-hedefli tedaviler ekle (PUVA; HN2; RT)</li></ul>

\* Geleneksel yöntemlere göre etkinliği henüz kararlaştırılmadı

ECP, ekstrakorporeal fotoforez; HN2, topikal nitrojen mustard; IFN, interferon; RT, lokal radyoterapi; TSEB, total deri elektron ışınlama.

MF hastalarında prognoz; hastalığın evresine, deri lezyonlarının tipi ve yaygınlığına ve deri-dışı tutulumun varlığına bağlıdır. T-evresi ve deri-dışı tutulum varlığı en önemli prognostik faktördür. Evre IA olguların yaşam beklentisi normal popülasyonla aynı iken, evre IVA-IVB olgularda yaşam beklentisi 1,5 yıldan daha az olarak bildirilmektedir (11, 21).

Lenf nodu/ viseral tutulumu

Büyük T-hücreli lenfoma transformasyonu

Artmış serum LDH ve  $\beta_2$  mikroglobulin düzeyi

Periferik kanda eozinofili

Erkek cinsiyet

Folikülotropik MF

Büllöz/ granülomatoz MF

Özellikle eritrodermik olgularda başvuru anında;

>65y

İleri klinik evre (III/ IV) olgularda B<sub>1</sub>

Olgularda prognozun kötü olduğu bildirilmiştir (30, 31).

### **Sitokin Gen Polimorfizmi**

Sitokinler vücutta çeşitli hücreler özellikle immün sistem hücreleri tarafından üretilen ve hücre-hücre hücre-nükleus arası etkileşimi sağlayan sinyal moleküllerdir. Bu moleküller doğal ve kazanılmış immün yanıt oluşumu ve düzenlenmesi için anahtar rol oynarlar. İmmün sistem hücrelerinin spesifik antijenlere veya non-spesifik uyarılara karşı sitokin üretimi; pro ve/veya anti- inflamatuvar immün yanıt oluşumunda temel rol oynamaktadır. TH-1 (IFN- $\gamma$ ) (pro-İnflamatuvar) ve TH-2 (IL4, IL-5, IL-6, IL10) (anti-İnflamatuvar) hücreler tarafından üretilen sitokinler pek çok enfeksiyon, otoimmün ve malign hastalıkların etyopatogenezinde rol almaktadır. Ayrıca sitokinler kanser gelişimini çeşitli yollarla kolaylaştırmaktadır (32). Bunlar;

- Tümör gelişimi için gerekli mikro çevreye katkıda bulunurlar.
- Direk veya indirek olarak tümör hücre büyümesini uyarırlar.
- Tümör hücrelerine karşı geliştirilen immün yanıtı bozarlar.

Hücrelerin bazal ve uyarılmış sitokin düzeyleri bireysel farklılıklar göstermekte olup, bu farklılık genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir.

Polimorfizm, popülasyonda bir lokus için iki ya da daha fazla alelin mutasyonla oluşabileceğinden daha yüksek sıklıkla birlikte bulunmasıdır. Bu sıklığın 0.01'den fazla olması durumunda bu lokus polimorfik olarak kabul edilmektedir. Sitokin profilleri arasındaki bireysel farklılıkların bir kısmı, sitokin genlerinin düzenleyici bölgelerindeki alelik polimorfizmlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Sitokin genlerinin değişik polimorfik bölgeleri tanımlanmış olup bu polimorfizm popülasyonlara göre farklılık gösterebilmektedir (33). Son yıllarda giderek artan sayıda enfeksiyon, otoimmün, T-hücre aracılı hastalıklar ve lenfoproliferatif maligniteler olmak üzere çeşitli hastalıkların etyopatogenezini ile sitokinler arası ilişkiyi kapsayan çalışmalar bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda sitokin düzeyleri bireysel farklılık göstermekte ve bu

farklılık; gen düzenleyici bölgelerdeki allellik polimorfizmlerle açıklanmaktadır. Sitokinlerin üretimini kontrol eden genlerdeki polimorfik lokuslar, sitokinlerin anormal üretimine ve fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır ve birçok sitokinin promoter bölge polimorfizmlerinin sitokin düzeylerinde değişime yol açarak patolojik yanıtı neden olduğu gösterilmiştir (34).

MF erken evre olgularda TH-1 (IFN- $\gamma$ ) sitokin profili hakimken, ileri evrelerde TH-2 (IL4, IL-5, IL-6, IL10) sitokin profili baskın hale geldiği iyi bilinmektedir ve sitokinlerin MF gelişiminde ve hastalık progresyonunda temel rol oynadığı ileri sürülmektedir.

**IL-6 sitokin gen polimorfizmi:** IL-6 akut faz yanıtında önemli rol oynar ve akut ve kronik inflamasyondaki düzeyleri farklılıklar göstermesi nedeniyle hastalık progresyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. En sık promoter bölge polimorfizmi IL-6-174 G>C görülmektedir. Homozigot CC aleli düşük IL-6 üretimine neden olurken, homozigot GG aleli yüksek IL-6 üretimine neden olur (35).

**IL-10 sitokin gen polimorfizmi:** Özellikle pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe ederek kontrol eden immünmodülatör sitokindir ve artmış IL-10 düzeyleri çeşitli inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıklarla ilişkilidir. Artmış IL-10 düzeyi anti-tümör yanıtın bozulmasına katkıda bulunur. IL-10 üretimi 1q31-32 kromozomu tarafından kontrol edilir ve IL-10 geninin promoter bölgesinde çeşitli polimorfik bölgeler tanımlanmış olsada IL-10-1082 G>A en sık görülen polimorfik bölgedir ve homozigot GG aleli yüksek IL-10 üretimine yol açmaktadır (36).

**TNF- $\alpha$  sitokin gen polimorfizmi:** İnflamasyonda anahtar rol oynayan pro-inflamatuvar sitokindir ve bir çok enfeksiyöz ve otoimmün hastalık ile genetik polimorfizmi arası ilişki gösterilmiştir. Üretimi 6p21.3 kromozomu tarafından kontrol edilir. TNF- $\alpha$ - 308 G>A en sık görülen promoter bölge polimorfizmidir. Homozigot GG aleli yüksek sitokin düzeyine neden olurken, homozigot AA aleli düşük sitokin düzeyine neden olur (37).

**IFN-  $\gamma$  sitokin gen polimorfizmi:** Esas olarak T-hücreleri tarafından üretilen IFN- $\gamma$  hücrel immüniteyi aktive eder. IFN- $\gamma$  geni 12q24.1'de lokalizedir. IFN-  $\gamma$ +874 T>A promoter bölge polimorfizmi hastalıklarla ilişkisi

en çok araştırılan bölgedir. Homozigot TT aleli yüksek sitokin düzeyine neden olurken, homozigot AA aleli düşük miktarlarda sitokin üretimine neden olur (38).

**TGF-  $\beta$ 1 sitokin gen polimorfizmi:** TGF-  $\beta$ 1 T-hücre aktivasyonu, proliferasyonu gibi hücresel olaylarda ve tümör oluşumu gibi patolojik süreçlerde temel rol oynayan immünsupresif etkili sitokindir. Kodon-10 T>A ve kodon-25 G>C polimorfizmleri TGF- $\beta$ 1 sitokin düzeyinin yüksek, normal veya düşük üretimine neden olur (39).

Bu çalışmanın **amacı**, sitokinlerin nadir görülen MF etyopatogenezinde ve progresyonunda temel rol oynadığı hipotezinden yola çıkarak, IFN- $\gamma$  (T<sub>H</sub>-1 sitokin), IL-10, IL-6 (T<sub>H</sub>-2 sitokin), TGF- $\beta$ -1 ve TNF- $\alpha$  sitokinlerinin üretimini kontrol eden; IFN-  $\gamma$  (+874), IL-10 (+1082), IL-6 (+174), TGF-  $\beta$ 1 (kodon-10 ve kodon-25) ve TNF-  $\alpha$  (-308) sitokin genlerindeki polimorfizmlerin, hastalık gelişiminde ve/ veya progresyonunda bağımsız bir risk faktörü olup olmadığının araştırılmasıdır.



## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ocak 2000-Ocak 2010 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalında takip edilen klinik, histopatolojik ve immunohistokimyasal bulgularla, EORTC (1) kriterlerine uygun olarak MF tanısı konulmuş ve International Society for Cutaneous Lymphoma (ISCL) (40)'ye göre erken (Evre I-II) ve geç (Evre III-IV) evre olarak evrelendirilmiş 55 olgu **Hasta grubu** olarak dahil edildi. Yaş ve cinsiyet yönünden karşılaştırılmış 50 gönüllü olgu **Kontrol grubu** olarak çalışmaya dahil edildi. Hasta ve kontrol grubunda eşlik eden atopik hastalık, otoimmün hastalık, malignite öyküsü dışlanma kriteri olarak kabul edildi.

Çalışma öncesinde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındıktan sonra (22 aralık 2009 tarih ve 2009-7/12 nolu karar) çalışma kriterlerine uygun olarak çalışmaya alınan olgulara Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu imzalatıldı.

### DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubundan genotip tayinleri için -20°C'de saklanan EDTA'lı tüplerden yaklaşık 2 cc'lik kan örneği alındı. Dr. Zeydanlı DNA izolasyon kiti (Dr. Zeydanlı-Hayat Bilimleri Ltd. Şti, Türkiye) prosedürü uygulandı. Süspanse olmuş örnek 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüp içine alınarak üzerine 500 µl solüsyon B ve 20 µl solüsyon A eklendi. Karışım vortekslenerek 42°C'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üzerine 500 µl solüsyon C eklenip vortekslenerek 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Oluşan iki fazdan üstteki berrak faz alınarak temiz 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüpe konuldu. Üzerine 500 µl solüsyon D konuldu. 10.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Oluşan süpernatant atılarak üzerine 500 µl solüsyon E konulup 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılarak tüpler kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra 100 µl distile su eklenerek çalışılma zamanına kadar - 20°C'de saklandı.

## Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Protokolü

PCR yöntemi, genomik DNA'nın sıcaklığın etkisiyle çift zincirinin tek zincir hale gelmesi sonrasında uygun sıcaklıkta ilgili primerlerin ilgili primer bölgesine yapışması ve DNA Taq polimeraz enzimi katalizörlüğünde ortamdaki dört deoksinükleotid trifosfatın (adenin, guanin, sitozin, timin) yeni zincire eklenmesi sonucunda ilgili gen bölgelerin çoğaltılması temeline dayanmaktadır. Bu çalışmada izole edilen DNA'larda IFN- $\gamma$ +874, IL-10-1082, IL-6-174, TNF- $\alpha$ -308, TGF- $\beta$ 1 kodon 10 ve kodon 25 polimorfizmlerini içeren gen bölgelerini çoğaltmak için PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi kullanıldı. Bunun için PCR reaksiyonu karışımı hazırlandı. Yaklaşık 25  $\mu$ l'lik PCR karışımı 0,2 ml'lik PCR tüpünde aşağıdaki sıra ile karıştırıldı (Tablo-4 ve Tablo-5).

**Tablo-4:** IFN- $\gamma$ +874, IL-10-1082, IL-6-174, TNF- $\alpha$ -308 polimorfizmleri için PCR reaksiyonu karışımında kullanılan malzemeler ve miktarları.

---

1) dNTP (10 mM)(Dr. Zeydanlı - Hayat Bilimleri Ltd. Şti, Türkiye)..	0,3 $\mu$ L
2) 10x PCR Buffer (Magnezyumlu) (Dr. Zeydanlı - Hayat Bilimleri Ltd. Şti, Türkiye)..	2,5 $\mu$ L
3) 10 pmol/ml ilgili gene özgü primer forward (ALPHA DNA, Kanada)	1,0 $\mu$ L
4) 10 pmol/ml ilgili gene özgü primer reverse (ALPHA DNA, Kanada)	1,0 $\mu$ L
5) Distile su.....	16,0 $\mu$ L
6) Genomik DNA.....	4,0 $\mu$ L
7) Taq polimeraz enzimi (5 ünite/ $\mu$ l) (Dr. Zeydanlı - Hayat Bilimleri Ltd.Şti, Türkiye)	0,2 $\mu$ L

---

**Tablo-5:** TGF- $\beta$ 1 kodon-10 ve kodon-25 polimorfizmleri için PCR reaksiyonu karışımında kullanılan malzemeler ve miktarları.

---

1) dNTP (10 mM)(Dr. Zeydanlı - Hayat Bilimleri Ltd. Şti, Türkiye)..	0,4 $\mu$ L
2) 10x PCR Buffer (Magnezyumlu) (Dr. Zeydanlı - Hayat Bilimleri Ltd. Şti, Türkiye)..	3 $\mu$ L
3) 2 pmol/ml ilgili gene özgü primer forward (ALPHA DNA, Kanada)	2,0 $\mu$ L
4) 2 pmol/ml ilgili gene özgü primer reverse(ALPHA DNA, Kanada)	2,0 $\mu$ L
5) Distile su.....	14,4 $\mu$ L
6) Genomik DNA.....	4,0 $\mu$ L
7) Taq polimeraz enzimi (5 ünite/ $\mu$ l) (Dr. Zeydanlı - Hayat Bilimleri Ltd.Şti, Türkiye)	0,2 $\mu$ L

---

IFN- $\gamma$ +874, IL-10-1082, IL-6-174, TNF- $\alpha$ -308, TGF- $\beta$ 1 kodon 10 ve kodon 25 polimorfizmlerini çoğaltmak için kullanılan primer dizileri, Annealing sıcaklıkları, oluşan ürünün uzunluğu ve kullanılan kesim enzimi Tablo-6'da özetlenmiştir (41-45).

**Tablo-6:** Kullanılan primer dizileri, Annealing sıcaklıkları, oluşan ürünün uzunluğu ve kullanılan kesim enzimi.

	Primer (forward) Primer (reverse)	Annealing sıcaklıkları	Oluşan Ürün (Baz çifti)	Kullanılan kesim enzimi
<b>IFN-<math>\gamma</math>+874</b>	5'- TTCTTACAACACAAAATCAAGTC -3' 5'- AGTATTCCCAAAAGGCTTATGT -3'	50 °C	366 bç (340+26)	Alw26 I (New England Biolabs, Beverly, ABD)
<b>IL-10-1082</b>	5'- CTCGCTGCAACCCAACCTGGC -3' 5'- TCTTACCTATCCCTACTTCC -3'	60 °C	139 bç (106+33)	MnI I (New England Biolabs, Beverly, ABD)
<b>IL-6-174</b>	5'- GCTTCTTAGCGCTAGCCTCAATG -3' 5'- TGGGGCTGATTGGAAACCTTATTA -3'	55 °C	116 bç (63+53)	Nla III (New England Biolabs, Beverly, ABD)
<b>TNF-<math>\alpha</math>-308)</b>	5'- AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT -3' 5'-TCCTCCCTGCTCCGATTCCG-3'	60 °C	107 bç (80+27)	Nco I (New England Biolabs, Beverly, ABD)
<b>TGF-<math>\beta</math>1 kodon 10 ve kodon 25</b>	5'- TTCCCTCGAGGCCCTCCTA -3' 5'- GCCGCAGCTTGGACAGGATC -3'	60 °C	294	-

Tüplerde bulunan reaksiyon karışımı PCR yapılmak üzere PCR(GenAmp 9700-Applied Biosystems, ABD) cihazına yerleştirildikten sonra belirlenen program uygulandı. İlgili genin polimorfizmi için PCR döngü programı olarak Tablo-7 belirtilen sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR işlemi PCR cihazında gerçekleştirildi.

**Tablo-7:** PCR Döngü Programı.

---

Kapak sıcaklığı, (cihaz tipine özel) .....	103°C
1)Başlangıç denatürasyonu .....	94°C.....5 dakika
2)Denatürasyon .....	94°C.....1 dakika
3) Annealing (primere özgü tablo 6).....	50-60°C.....1 dakika
4) Extention.....	72°C.....1 dakika
5) Son extention... ..	72°C.....10 dakika

\*2,3 ve 4 işlemler sırasıyla 35 siklus

---

### **Jel Elektroforez Protokolü**

Agaroz Jel Elektroforezi, DNA ve PCR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması için kullanılan standart bir metotlardan biridir. Bu çalışmada PCR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için %2'lik agaroz jel elektroforezi uygulandı. %2'lik jel hazırlanması için 5 mL 10x TBE (Dr. Zeydanlı - Hayat Bilimleri Ltd. Şti, Türkiye) solüsyonu 45 ml distile su ile beher içinde karıştırıldı. Karışımın içine 1 gr agaroz (Sigma-Aldrich, Almanya) eklendi. Çözelti mikrodalga fırında "medium" ayarında agaroz çözününceye kadar ısıtıldı. Eriyen jel içine 5 µL etidyum bromid (Dr. Zeydanlı - Hayat Bilimleri Ltd. Şti, Türkiye) eklenerek karıştırıldı. Jel, elektroforez aparatına dökülerek soğumaya bırakıldı. Elektroforez tankı, 1xTBE ile doldurularak jel yürütme işlemine hazır hale getirildi. PCR ürünleri brom-fenol mavisi ile muamele edilerek agaroz jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar yürütüldü.

### **TGF-β1 kodon 10 ve kodon 25 polimorfizmlerin Genotiplerinin DNA Dizi Analizi ile belirlenmesi**

PCR reaksiyonları sonucu yaklaşık 294 baz çiftlik ürünler elde edilmesi beklendi. PCR ürünü bantları görülen olguları, genotiplerini belirlemek için DNA dizi analizi işlemine alındı.

## DNA Dizi Analiz “CYCLE SEQUENCING” işlemleri

10 µl'lik PCR karışımı 0,2 ml'lik PCR tüpünde aşağıdaki sıra ile karıştırıldı.

---

Big Dye Cycle Sequencing v3.1 Kit (Applied Biosystems, ABD)	.2 µL
• 5x Sequencing Buffer (Applied Biosystems, ABD)	.....2,5 µL
• Forward ya da reverse primer	.....1,5 µL
• PCR Ürünü	..... 1,5 µL
• dH2O	..... 3,5 µL

---

Hazırlanan karışımlar PCR cihazında aşağıdaki sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR reaksiyonu gerçekleştirildi.

---

Kapak sıcaklığı (cihaz tipine özel).....	103°C
1- Başlangıç denatürasyonu.....	96°C..... 1 dakika
2- Denatürasyon.....	96°C..... 10 saniye
3- “Annealing”.....	50°C..... 5 saniye
4- “Extention” .....	60°C..... 4 dakika
5- Bekleme.....	4° C..... ∞

(2, 3 ve 4 işlemler sırasıyla 25 siklus)

---

## DNA Dizi Analiz “CYCLE SEQUENCING” Ürünlerinin SEPHADEX G-50 ile temizlenmesi

1 g Sephadex-G-50(Sigma-Aldrich, Almanya) 14 ml distile suda çözülür ve çalkalanarak oda ısısında bekletilir. Sephadex kolonlarının içerisine 500 µl dağıtılır. 4000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrası Sephadexli kolonlar 1,5 ml'lik bir tüpe aktarılır. 10 µl Cycle Sequencing ürünü Sephadex üzerine bırakılır. 4000 rpm 'de 3 dakika tekrar santrifüj edilir. Alttaki tüpe aktarılmış olan ürün dizileme için uygun olan üründür. Oluşan yaklaşık 10 µl'lik ürünler 3130 Genetic Analyzers (Applied Biosystems, ABD) cihazına yüklenir.

## **Genotiplerin Belirlenmesi**

Olguların genotiplerini belirlemek için 3130 Genetic Analyzers (Applied Biosystems, ABD) cihazında yürütülen ürünlerin bilgileri "Sequencing Analysis" programında analiz edildi.

### **IFN- $\gamma$ +874, IL-10-1082, IL-6-174 ve TNF- $\alpha$ -308 genlerine ait PCR ürünlerinin Restriksiyon Enzim Kesimine Bırakılması**

PCR reaksiyonu sonucu IFN- $\gamma$ +874, IL-10-1082, IL-6-174 ve TNF- $\alpha$ -308 genlerine ait ürünlerin genotip tayini için sırasıyla Alw26I, Mnl I, Nla III ve Nco I kesim enzimleri kullanıldı. ,0,2 ml'lik tüplere 10  $\mu$ l hacimdeki PCR ürünü, 2  $\mu$ l restriksiyon enzim bufferı, 8  $\mu$ l distile su ve her birey için yeterli ünite/ $\mu$ l ilgili kesim enzimi olacak şekilde karışım hazırlandı. Karışım enzimin optimum çalışma sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Restriksiyon enzim kesim sonuçları agaroz jelde değerlendirildi. Enzim ile kesim yapılmış ürünlere brom-fenol mavisini ile muamele edilerek jelle yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar yürütüldü. Yürütülen ürünler ultraviyole ışığında değerlendirilmiştir.

### **IFN- $\gamma$ +874, IL-10-1082, IL-6-174 ve TNF- $\alpha$ -308 Polimorfizmlerinin Genotiplerin belirlenmesi**

-**IFN- $\gamma$**  genine ait 366 bç'lik PCR ürününden 340 bç ve 26 bç iki ayrı ürün oluşursa A/A genotipi, 366 bç,340 bç ve 26 bç üç ayrı ürün oluşursa A/T genotipi ve 366 bç şeklinde olursa ise T/T genotipi olarak belirlendi.

-**IL-10** genine ait 139 bç'lik PCR ürününden 106 bç ve 33 bç iki ayrı ürün oluşursa G/G genotipi, 139 bç,106 bç ve 33 bç üç ayrı ürün oluşursa A/G genotipi ve 139 bç şeklinde olursa ise A/A genotipi olarak belirlendi.

-**IL-6** genine ait 116 bç'lik PCR ürününden 63 bç ve 53 bç iki ayrı ürün oluşursa C/C genotipi, 116 bç,63 bç ve 53 bç üç ayrı ürün oluşursa C/G genotipi ve 116 bç şeklinde olursa ise G/G genotipi olarak belirlendi.

-**TNF-**  $\alpha$  genine ait 107 bç'lik PCR ürününden 80 bç ve 27 bç iki ayrı ürün oluşursa G/G genotipi, 107 bç,80 bç ve 27 bç üç ayrı ürün oluşursa C/G genotipi ve 107 bç şeklinde olursa ise A/A genotipi olarak belirlendi.

### **İstatistiksel Analiz**

Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi Uludağ Üniversitesi 'SPSS for Windows Version 13,0' istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Çalışmada sürekli değer alan değişkenler ortalama, standart sapma, maksimum-minimum değerleriyle birlikte verildi. Kategorik değer alan değişkenler (cinsiyet, genotip) çapraz tablolarla verilip iki grup arasındaki farklılıkları pearson ki-kare ve Fisher'in ki-kare testi kullanıldı. Sürekli değer alan yaş değişkeni için normallik testi Shapiro-Wilks testiyle yapıldı. Yaş değişkeni iki grup arasında student T testi ile karşılaştırıldı. Çalışmada anlamlılık düzeyi  $p=0,05$  olarak kabul edildi.

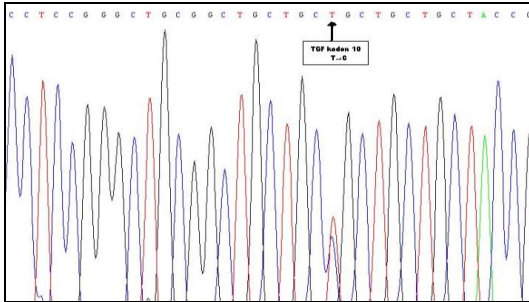
## BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen olguların klinik ve demografik özellikleri Tablo-8’de özetlenmiştir. Hasta grubu 31 erkek (%56,3), 24 kadın (%43,6) olmak üzere toplam 55 kişiden oluşuyordu. Hasta grubundaki olguların yaşları 15–78 arasında değişmekte olup, ortalama  $49.07 \pm 14.69$  saptandı. Kontrol grubu ise 25 erkek (%50), 25 kadın (%50) toplam 50 kişiden oluşuyordu. Kontrol grubunun yaşları 40–64 arasında değişmekte olup, ortalama  $49.04 \pm 6.07$  saptandı. Her iki grup arasında hastaların yaşları ve cinsiyetleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p > 0,05$ ). Hasta grubundaki olgulardan 47’si ISCL’ye göre erken evre, 8’i geç (Evre III-IV) evre olarak değerlendirildi.

**Tablo-8:** Hasta ve sağlıklı kontrol grubunun klinik ve demografik özellikleri.

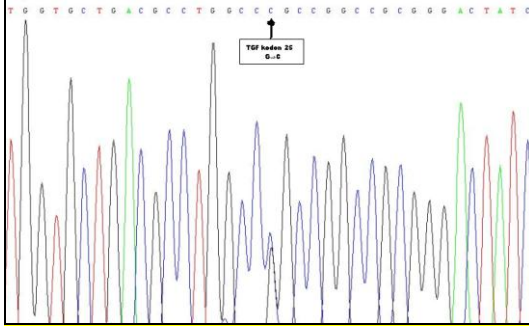
	Mikozis Fungoides	Kontrol	P
n	55	50	
Cinsiyet	31,♂:24♀	25,♂:25♀	0,988
Yaş	$49.07 \pm 14.69$	$49.04 \pm 6.07$	0,519
Evre			
Yama/Plak	47		
Tümör/SS	8		

Bazı genotiplerin “Sequencing Analysis” programında Şekil-6 ve Şekil-7’de analiz görüntüleri gösterilmiştir.



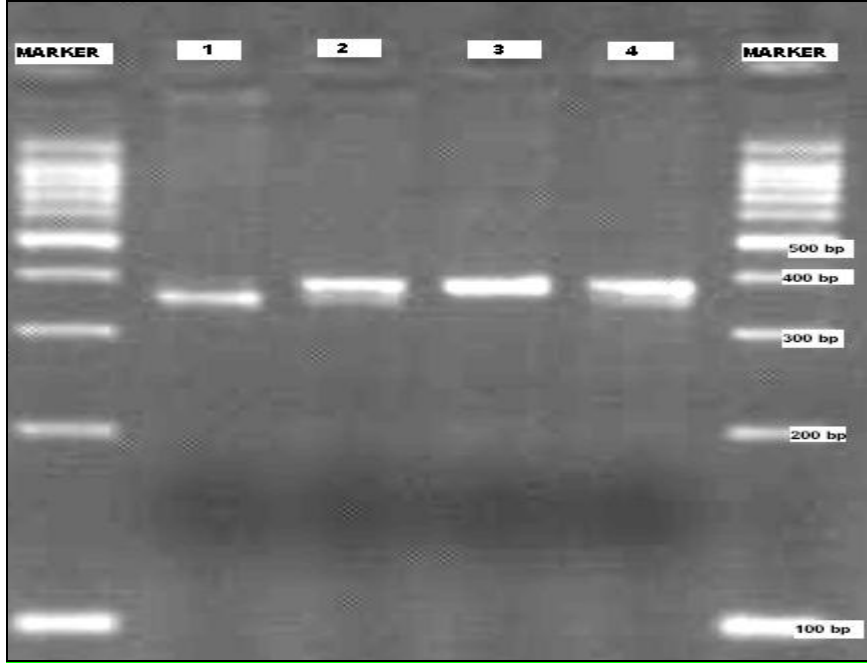
**Şekil-6:** TGF geninin kodon-10 polimorfizmi açısından analiz edilen T/C genotipli olgunun gösterimi.





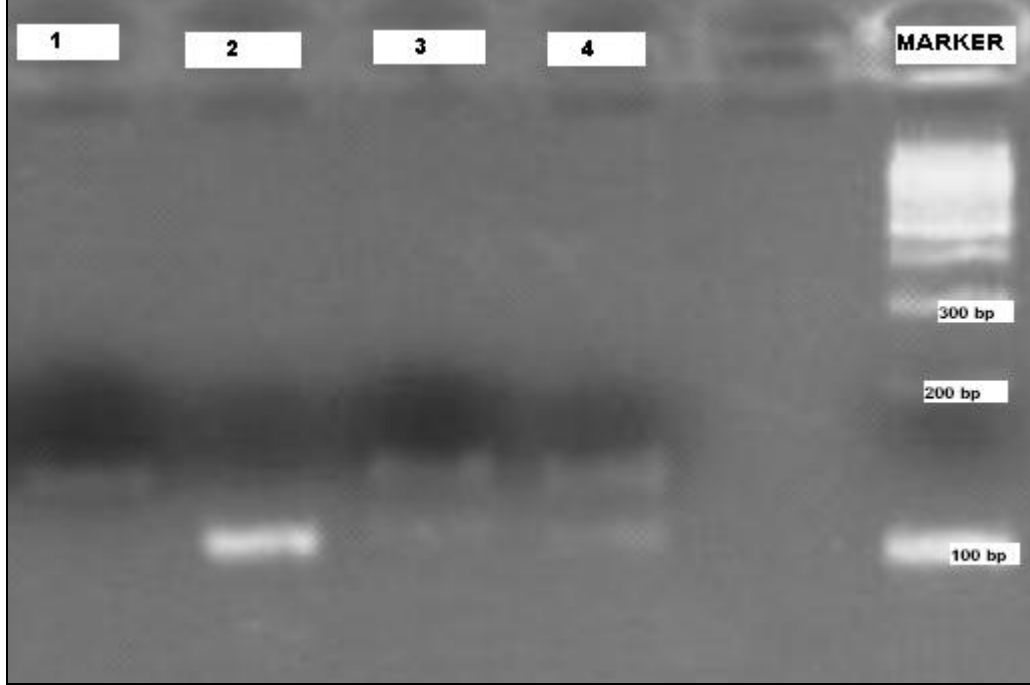
**Şekil-7:** TGF geninin **kodon-25** polimorfizmi açısından analiz edilen G/C genotipli olgunun gösterimi.

IFN- $\gamma$  genindeki +874 polimorfizminin agaroz jel görüntüsü Şekil-8’de görülmektedir.



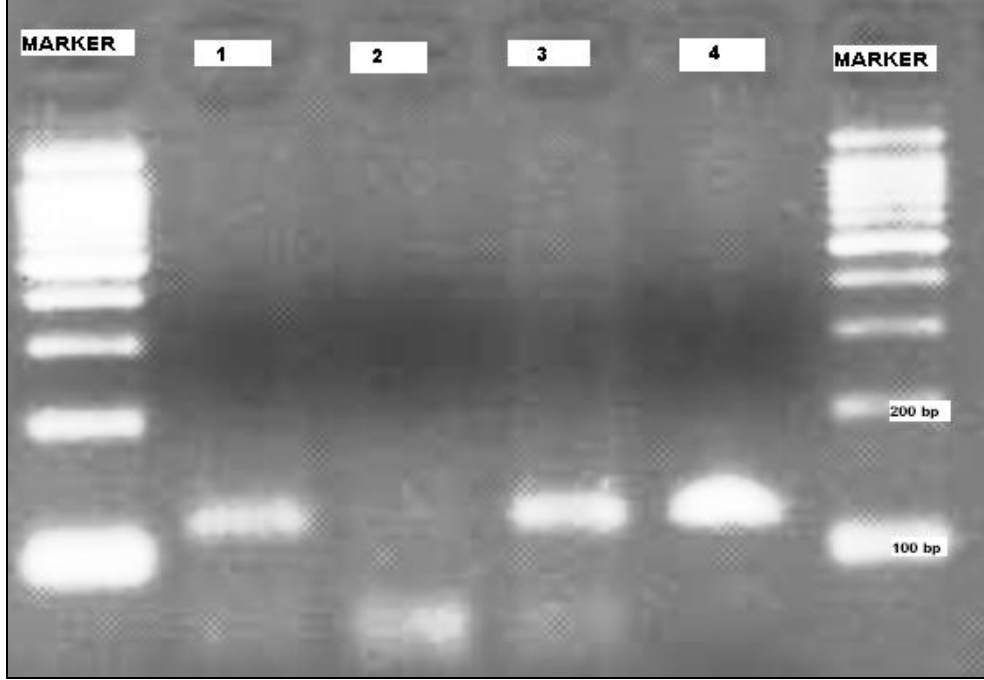
**Şekil-8:** IFN- $\gamma$  genindeki + 874 polimorfizmi PCR-RFLP ürünlerinin Alw26 enzim kesimi sonrası %3 agaroz jeldeki görüntüsü. Son kuyucuk 100 bp DNA ladder (Marker), 1 nolu kuyucuk A/A genotipine, 2 ve 4 nolu kuyucuklar A/T genotipine, 3 nolu kuyucuk ise T/T genotipine sahip bireyleri göstermektedir.

IL-10 genindeki-1082 polimorfizminin agaroz jel görüntüsü Şekil-9'da görülmektedir.



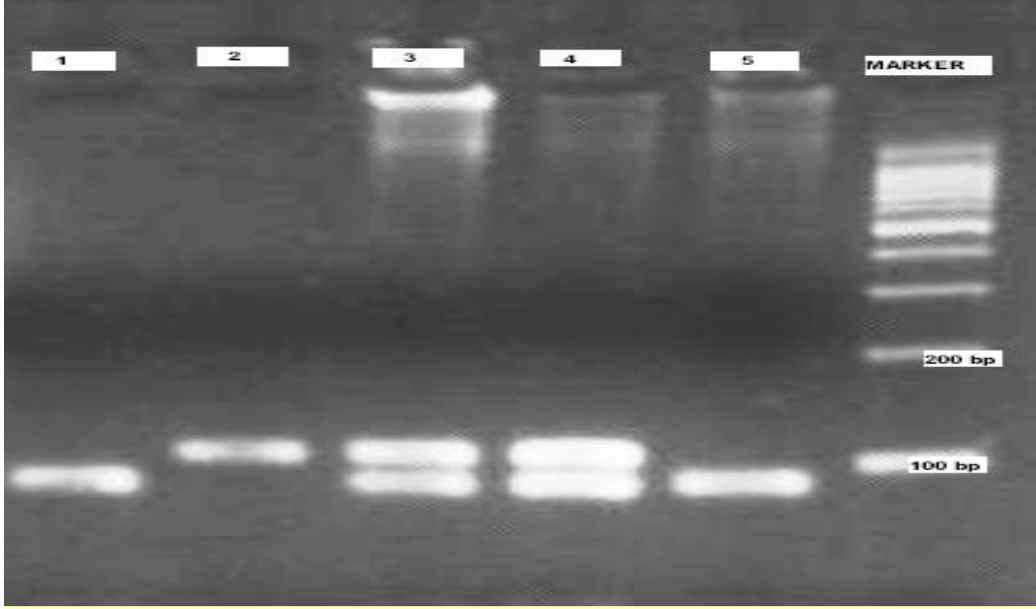
**Şekil-9:** IL-10 genindeki -1082 polimorfizmi PCR-RFLP ürünlerinin Mnl I enzim kesimi sonrası %3 agaroz jeldeki görüntüsü. Son kuyucuk 100 bp DNA ladder (Marker), 1 nolu kuyucuk A/A genotipine, 2 nolu kuyucuk G/G genotipine, 2 ve 4 nolu kuyucuklar ise A/G genotipine sahip bireyleri göstermektedir.

IL-6 genindeki +174 polimorfizminin agaroz jel görüntüsü Şekil 10'da görülmektedir.



**Şekil-10:** IL-6 genindeki +174 polimorfizmi PCR-RFLP ürünlerinin Nla III enzim kesimi sonrası %4 agaroz jeldeki görüntüsü. Son kuyucuk 100 bp DNA ladder (Marker), 1 ve 4 nolu kuyucuklar C/G genotipine, 2 nolu kuyucukl C/C genotipine, 4 nolu kuyucuk ise G/G genotipine sahip bireyleri göstermektedir.

TNF- $\alpha$  genindeki -308 polimorfizminin agaroz jel görüntüsü Şekil 11'de görülmektedir.



**Şekil- 11:** TNF-  $\alpha$  genindeki -308 polimorfizmi PCR-RFLP ürünlerinin Nco I enzim kesimi sonrası %4 agaroz jeldeki görüntüsü. Son kuyucuk 100 bp DNA ladder (Marker), 1 ve 5 nolu kuyucuklar G/G genotipine, 2 nolu kuyucuk A/A genotipine, 3 ve 4 nolu kuyucuklar ise G/A genotipine sahip bireyleri göstermektedir.

Hasta ve kontrol gruplarının; IFN-  $\gamma$  (+874), IL-10 (+1082), IL-6 (+174), TGF-  $\beta$ 1 (kodon-10 ve kodon-25) ve TNF-  $\alpha$  (-308) sitokin genlerinin fenotipik özellikleri Tablo-9'da özetlenmiştir. İncelenen 5 sitokin genotipleri karşılaştırıldığında hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ( $p > 0,05$ ). Yine hasta grubunda erken evre ( $n=47$ ) olgular ile ileri evre ( $n=8$ ) olgular kendi içinde karşılaştırıldığında hasta ve kontrol grubu genotipik alelleri arasında bir farklılık gözlenmedi ( $p > 0,05$ ).

**Tablo-9:** Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının; IFN-  $\gamma$  (+874), IL-10 (+1082), IL-6 (+174), TGF-  $\beta$ 1 (kodon-10 ve kodon-25) ve TNF-  $\alpha$  (-308) sitokin gen polimorfizmlerinin fenotipik özellikleri.

Polimorfizm	Mikozis fungoides N:55	Kontrol n:50	Toplam n:105	P
				<b>(P=0,853)</b>
<b>TGF-<math>\beta</math> kodon-10</b>				
TT*	15	15	30	
TC <sup>o</sup>	25	20	45	
CC <sup>u</sup>	15	15	30	
				<b>(P=0.342)</b>
<b>TGF-<math>\beta</math> kodon-25</b>				
GG*	50	47	97	
GC <sup>o</sup>	5	2	7	
CC <sup>u</sup>	-	1	1	
				<b>(P= 0.456)</b>
<b>IFN-<math>\gamma</math> kodon-874</b>				
TT*	22	19	41	
TA <sup>o</sup>	24	18	42	
AA <sup>u</sup>	9	13	22	
				<b>(P=0.391)</b>
<b>TNF- <math>\alpha</math> kodon-308</b>				
GG*	45	43	88	
GA <sup>o</sup>	8	7	15	
AA <sup>u</sup>	2	-	2	
				<b>(P= 0.872)</b>
<b>IL -10-1082</b>				
GG*	6	4	10	
GA <sup>o</sup>	23	21	44	
AA <sup>u</sup>	26	25	51	
				<b>(P= 0.153)</b>
<b>IL-6-174</b>				
GG*	29	17	46	
GC <sup>o</sup>	20	26	46	
CC <sup>u</sup>	6	7	13	

\* : yüksek sitokin üretim aleli  
<sup>o</sup> : Normal sitokin üretim aleli  
<sup>u</sup> : Düşük sitokin üretim aleli

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Mikozis Fungoides nadir görülen, primer olarak deriyi tutan deri lenfoması olup Hodgkin dışı deri lenfomalarının en sık görülen formudur (1). Etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte hastalık etyopatogenezinde özellikle immünolojik faktörler ve genetik yatkınlığın rolü üzerinde durulmaktadır (11). İmmün sistem fonksiyon bozukluğunun lenfoma gelişimi için risk oluşturduğu iyi bilinmektedir. İmmün sistem hücreleri salgıladıkları sitokinler aracılığıyla diğer hücrelerle etkileşirler;  $T_H-1$  hücreleri asıl olarak hücrel immüniteyi kontrol ederken,  $T_H-2$  hücreleri antikor üretimi ve humöral immünitenin kontrolünü sağlarlar. MF'te de hastalığın erken döneminde anti-tümör yanıt için gerekli olan  $T_H-1$  sitokin profili (IFN- $\gamma$ ) önemli iken, ileri evrelerde immünsüpresif etkileri ön planda olan  $T_H-2$  sitokin profili (IL-6, IL-10) hakim olduğu iyi bilinmektedir. Sitokin profilindeki bu kaymanın hastalık progresyonunda rol oynadığı bildirilmiştir (46-48).  $T_H-1$ / $T_H-2$  sitokinlerinin üretimini kontrol eden genlerin alelik varyasyonlarının lenfomagenez ile ilişkisi, geniş vaka-kotrollü popülasyon çalışmaları ile gösterilmiştir (49). İmmün sistem hücrelerinin sitokin üretimini kontrol eden genler, belli bölgelerinde polimorfizm göstererek sitokin gen ürünlerinin düşük veya yüksek düzeyde üretimine ve son ürün olan sitokinlerde fonksiyon bozukluğuna neden olurlar (33). Sitokin genlerinin alelik varyasyonları ile; oto-immün, enfeksiyöz, T-hücre aracılı deri hastalıkları gibi benign ve lenfoproliferatif ve lenfoma-dışı maligniteler arası etyopatogenetik ve prognostik ilişki tanımlanmıştır (50-58).

Mikozis Fungoides etyopatogenezinde rolü olduğu düşünülen; **IFN- $\gamma$**  düzeyinin; erken evre olguların, kanında azalmasına karşın lezyonlu deride arttığı gösterilmiştir. IFN- $\gamma$ 'nın özellikle erken dönemdeki  $T_S$  aracılı anti-tümör yanıtta önemli rol oynadığı bilinmektedir (59-62). **IL-6**, akut faz yanıtında önemli bir medyatör olup akut ve kronik inflamasyonda rol alır ve özellikle hastalık progresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. IL-6 geninin özellikle promoter bölgesinin (IL-6-174G) polimorfizmi sık görülmektedir ve

promoter bölge polimorfizminin Hodgkin lenfoma gelişimi için risk faktörü ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (63, 64). **IL-10**, anti-inflamatuvar özellik gösteren güçlü immünsüpresif sitokindir. IL-10 özellikle T<sub>H</sub>-1 yanıtını baskımlarken, T<sub>H</sub>-2 yanıtını güçlendirdiği bilinmektedir. T<sub>H</sub>-2 hücrelerinden üretilir ve TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılar. Artmış IL-10 düzeyi Hodgkin lenfomalı olgularda ileri evre ve kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (65-67). IL-10 gen polimorfizminin çeşitli infeksiyon hastalıkları ve otoimmün hastalıklara yatkınlık sağladığı ve prognoz ile ilişkisi bildirilmiştir (68). IL-10 genetik varyasyonlarının Hodgkin-dışı lenfoma gelişimi için risk faktörü olduğu geniş vaka-kotrollü popülasyon çalışmaları ile gösterilmiştir (69). MF' te de erken evre olgularda IL-10 düzeyinin kanda arttığı bildirilmiştir (70). **TNF- $\alpha$**  normal lenfoid doku gelişimi ve fonksiyonu için gerekli temel pro-inflamatuvar sitokindir. TNF- $\alpha$  (kodon-308 ) polimorfizminin TNF- $\alpha$  protein sentezini artırarak fonksiyon bozukluğuna neden olduğu gösterilmiştir (37). MF'te özellikle erken dönemde lezyonlu deride arttığı gösterilmiştir (71-73). TNF- $\alpha$  (kodon-308) gen polimorfizminin foliküler lenfoma gelişimi ve hodgkin dışı lenfoma prognozu ile ilişkisi bildirilmiştir (74-76). TNF- $\alpha$ 'nın farklı alelleri ile erişkin T-hücreli lösemi/lenfoma gelişimi ve erken başlangıçlı psoriasis arası ilişki bildirilmiştir (77). **TGF- $\beta$ 1** immünsüpresif etkili sitokin olup, hücre proliferasyonunu, diferansiyasyonunu ve apoptozu regüle eder (78). İmmünsüpresif etkisiyle T hücre fonksiyonlarını baskılar. MF'te reaktif T-hücreleri ve tümöral hücrelerden salgılanmaktadır (79). TGF- $\beta$ 1 polimorfizmi ile romatoid artrit, sistemik skleroz krohn hastalığı gibi otoimmün hastalıklar ve psoriasis ve atopik dermatit gibi T-hücre aracılı deri hastalıkları arası ilişki tanımlanmıştır (80). Son zamanlarda TGF- $\beta$ 1 polimorfizmi ile meme kanseri prognozu arası ilişki geniş vaka kontrollü çalışma ile gösterilmiştir (81).

Literatür incelemesinde; çeşitli solid tümörler ve özellikle Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfomalar ile sitokin gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda sitokin gen polimorfizmleri ile hastalık etyopatogenezi ve prognozu arasında ilişki tanımlanmıştır. Nadir görülen, Hodgkin-dışı lenfoma çeşidi olan MF ile ilgili

genetik polimorfizm amaçlı geniş vaka-kontrolü çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Hodak ve ark. (82) tarafından İsrailde yapılan çalışmada erken evre (evre IA-IB) 33 olgunun, IFN-  $\gamma$  (+874), IL-10 (+1082), IL-6 (+174), TGF-  $\beta$ 1 (kodon-10 ve kodon-25) ve TNF-  $\alpha$  (kodon-308) gen polimorfizmleri 48 kontrol grubu ile karşılaştırılmış. Yapılan bu çalışmada sitokin gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış ve erken evre MF'in spesifik polimorfizmler ile saptanamayacağı kararına varılmıştır. Türk popülasyonunda yaptığımız çalışmada 55 olgunun IFN-  $\gamma$  (+874), IL-10 (+1082), IL-6 (+174), TGF-  $\beta$ 1 (kodon-10 ve kodon-25) ve TNF-  $\alpha$  (kodon-308) sitokin gen polimorfizmleri ve 50 kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Her iki grubun sitokin gen polimorfizmleri genotipik özellikleri arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ek olarak çalışmaya dahil edilen 8 ileri evre olgu ile 47 erken evre olguların incelenen 5 sitokin genotipleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Elde edilen bu bulgular; IFN-  $\gamma$  (+874), IL-10 (+1082), IL-6 (+174), TGF-  $\beta$ 1 (kodon-10 ve kodon-25) ve TNF-  $\alpha$  (kodon-308) sitokin genlerindeki polimorfizmin MF gelişimi ve progresyonuyla ilişkisi olmadığını düşündürse de bu bulgular geniş vaka-kontrollü çalışmalarıyla desteklenmelidir.



## KAYNAKLAR

1. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005;105:3768–85.
2. Weinstock MA. A registry-based case-control study of mycosis fungoides. *Ann Epidemiol* 1991;1:533–9.
3. Chuang TY, Su WP, Muller SA. Incidence of cutaneous T-cell lymphoma and other rare skin cancers in a defined population. *J Am Acad Dermatol* 1990;23:254–6.
4. Weinstock MA, Horm JW. Mycosis fungoides in the United States: increasing incidence and descriptive epidemiology. *JAMA* 1988;260:42–6.
5. Weinstock MA, Gardstein B. Twenty-year trends in the reported incidence of mycosis fungoides and associated mortality. *Am J Public Health* 1999;89:1240–4.
6. Mc Fadden N, Nyfors A, Tanum GC. Mycosis fungoides in Norway 1960–1980: a retrospective study. *Acta Derm Venereol* 1983;109:1–13.
7. Dougan LE, Mathews MLV, Armstrong BK. The effect of diagnostic review on the estimate incidence of lymphatic and hematopoietic neoplasms in Western Australia. *Cancer* 1981;48:866–72.
8. Hamminga L, van Vioten WA. Report of the Dutch Mycosis Fungoides Study Group. *Br J Dermatol* 1980;102:477–8.
9. Hoppe RT, Wood GS, Abel EA. Mycosis fungoides and the Sezary syndrome: pathology, staging, and treatment. *Curr Probl Cancer* 1990;14:293–371.
10. Alsaleh QA, Nanda A, Al-Ajmi H, et al. Clinicoepidemiological features of mycosis fungoides in Kuwait, 1991-2006. *Int J Dermatol* 2010;49:1393-8.
11. Zinzani PL, Ferreri AJ, Cerroni L. Mycosis fungoides. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008 ;65:172-82.
12. Tan RSH, Butterworth CM, McLaughlin H, et al. Mycosis fungoides—a disease of antigen persistence. *Br J Dermatol* 1974;91:607–11.
13. Chiu BC, Weisenburger DD. An update of the epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Clinical Lymphoma*, 2003;4:161–8.
14. Papadavid E, Economidou J, Psarra A, et al. The relevance of peripheral blood T-helper 1 and 2 cytokine pattern in the evaluation of patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Br J Dermatol* 2003; 148:709-18.
15. Dummer R, Willers J, Kamarashev J, et al. Pathogenesis of cutaneous lymphomas. *Semin Cutan Med Surg*. 2000;19:78-86.
16. Hoppe RT, Medeiros LJ, Warnke RA, et al. CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes influence the long-term survival of patients with mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:448-53.
17. Massone C, Kodama K, Kerl H, et al. Histopathologic features of early (patch) lesions of mycosis fungoides: a morphologic study on 745

- biopsy specimens from 427 patients. *Am J Surg Pathol* 2005;29:550–60.
18. Li G, Chooback L, Wolfe JT, et al. Overexpression of p53 protein in cutaneous T cell lymphoma: relationship to large cell transformation and disease progression. *J Invest Dermatol* 1998;110:767-70.
  19. Smoller BR, Santucci M, Wood GS, et al. Histopathology and genetics of cutaneous T-cell lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2003;17:1277-311.
  20. Hodak E, Klein T, Gabay B, et al. Familial mycosis fungoides: report of 6 kindreds and a study of the HLA system. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:393-402.
  21. Kim YH, Jensen RA, Watanabe GL, et al. Clinical stage IA (limited patch and plaque) mycosis fungoides. A long-term outcome analysis. *Arch Dermatol* 1996;132:1309–13.
  22. Epstein EHJ, Levin DL, Croft JDJ, et al. Mycosis fungoides. Survival, prognostic features, response to therapy, and autopsy findings. *Medicine (Baltimore)* 1972;51:61–72.
  23. Diamandidou E, Colome-Grimmer M, Fayad L, et al. Transformation of mycosis fungoides/Sezary syndrome: clinical characteristics and prognosis. *Blood* 1998;92:1150-9.
  24. Ralfkiaer E, Wolff-Snedorff A, Thomsen K, et al. Immunophenotypic studies in cutaneous T-cell lymphomas: clinical implications. *Br J Dermatol* 1993;129:655–9.
  25. Zackheim HS, Mc Calmont TH. Mycosis fungoides: the great imitator. *J Am Acad Dermatol* 2002;47:914-8.
  26. Kulin PA, Marglin SI, Shuman WP, et al. Diagnostic imaging in the initial staging of mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Arch Dermatol* 1990;126:914–8.
  27. Salhany KE, Greer JP, Cousar JB, et al. Marrow involvement in cutaneous T-cell lymphoma. A clinicopathologic study of 60 cases. *Am J Clin Pathol* 1989;92:747–54.
  28. Bunn PAJ, Lamberg SI. Report of the committee on staging and classification of cutaneous t-cell lymphomas. *Cancer Treat Rep* 1979;63:725–8.
  29. Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N, et al. ISCL/EORTC. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood* 2007;110:1713-22.
  30. Kim YH, Bishop K, Varghese A, et al. Prognostic factors in erythrodermic mycosis fungoides and the Sezary syndrome. *Arch Dermatol* 1995;131:1003–8.
  31. Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, et al. Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. *J Clin Oncol* 2010;28:4730-9.

32. Dranoff G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004 ;4:11-22.
33. Smith AJ, Humphries SE. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009;20:43-59.
34. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun*. 1999;1:3-19.
35. Smith AJ, Illig T, Herder C, et al. Joint analysis of individual participants' data from 17 studies on the association of the IL6 variant 174G>C with circulating glucose levels, interleukin-6 levels, and body mass index. *Ann Med*. 2009;41:128-38.
36. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, et al. An investigation of polymorphism in the interleukin- 10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997;24:1–8.
37. Bayley JP, Ottenhoff TH, Verweij CL. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? *Genes Immun* 2004;5:315–29.
38. Pravica V, Perrey C, Stevens A, et al. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Hum Immunol* 2000;61:863–6.
39. Grainger DJ, Heathcote K, Chiano M, et al. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type beta1. *Hum Mol Genet* 1999;8:93–7.
40. Bunn PA Jr, Lamberg SI. Report of the Committee on Staging and Classification of Cutaneous T-Cell Lymphomas. *Cancer Treat Rep* 1979;63:725-8.
41. Ohtsuka T, Yamakage A, Yamazaki S. The polymorphism of transforming growth factor-beta1 gene in Japanese patients with systemic sclerosis. *Br J Dermatol* 2002;147:458-63.
42. Morse HR, Olomolaiye OO, Wood NA, et al. Induced heteroduplex genotyping of TNF-alpha, IL-1beta, IL-6 and IL-10 polymorphisms associated with transcriptional regulation. *Cytokine*. 1999;11:789-95.
43. Roh JW, Kim MH, Seo SS, et al. Interleukin-10 promoter polymorphisms and cervical cancer risk in Korean women. *Cancer Lett*. 2002 8;184:57-63.
44. Bokodi G, Derzbach L, Bányász I, et al. Association of interferon gamma T+874A and interleukin 12p40 promoter CTCTAA/GC polymorphism with the need for respiratory support and perinatal complications in low birthweight neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007;92:25-9.
45. Seitzer U, Swider C, Stüber F, et al. Tumour necrosis factor alpha promoter gene polymorphism in sarcoidosis. *Cytokine* 1997;9:787-90.
46. Asadullah K, Docke WD, Haeubler A, et al. Progression of mycosis fungoides is associated with increasing expression of interleukin-10 in RNA. *J Invest Dermatol* 1996;107:833–7.
47. Asadullah K, Docke WD, Haeubler A, et al. Interferon-c and tumor necrosis factor and mRNA expression in mycosis fungoides progression. *Blood* 1996;88:757.

48. Vowels BR, Lessin SR, Cassin M, et al. Th2 cytokine mRNA expression in skin in cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 1994;103:669–73.
49. Lan Q, Wang SS, Menashe I, et al. Genetic variation in Th1/Th2 pathway genes and risk of non-Hodgkin lymphoma: a pooled analysis of three population-based case-control studies. *Br J Haematol* 2011;153:341-50.
50. Mulcahy B, Waldron-Lynch F, Mc Dermott MF, et al. Genetic variability in the tumor necrosis factor-lymphotoxin region influences susceptibility to rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 1996;59:676–83.
51. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, et al. The effect of novel polymorphism in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998;102:1369–76.
52. Cabrera M, Show MA, Sharples C, et al. Polymorphism in the tumor necrosis factor genes associated with mucocutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 1995;182:1259–64.
53. Hohler T, Kruger A, Gerken G, et al. A tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) promoter polymorphism associated with chronic hepatitis B infection. *Clin Exp Immunol* 1998;111:579–82.
54. Reich K, Mossner R, Konig IR, et al. Promoter polymorphisms of the genes encoding tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta are associated with different subtypes of psoriasis characterized by early and late disease onset. *J Invest Dermatol* 2001;118:155–63.
55. Arkwright PD, Chase JM, Babbage S, et al. Atopic dermatitis is associated with a lowproducer transforming growth factor b1 cytokine phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:281–4.
56. Warzocha K, Riberio P, Bienvenu J, et al. Genetic polymorphisms in the tumor necrosis factor locus influence non-Hodgkin's lymphoma outcome. *Blood* 1998;91:3574–81.
57. Kitzgibbon J, Grenzervis D, Matthews J, et al. Tumor necrosis factor polymorphisms and susceptibility to follicular lymphoma. *Br J Haematol* 1999;107:388–91.
58. Tsukaszki K, Miller CW, Kubota T, et al. Tumor necrosis and polymorphism associated with increased susceptibility to development of adult T-cell leukemic lymphoma in human T-lymphotropic virus type carriers. *Cancer Res* 2001;61:3770–4.
59. Dummer R, Kohl O, Gillessen J, et al. Peripheral blood mononuclear cells in patients with nonleukemic cutaneous T-cell lymphoma. Reduced proliferation and preferential secretion of a T-helper-2 like cytokine pattern on stimulation. *Arch Dermatol* 1993;129:433–6.
60. Drenzo M, Rubegni P, DeAloe G, et al. Extracorporeal photopheresis restores Th1/Th2 imbalance in patients with early-stage cutaneous T-cell lymphoma. *Immunology* 1997;92:99–103.
61. Shohat M, Hodak E, Sredni B, et al. Cytokine profile of patients with mycosis fungoides and the immunomodulatory effect of AS101. *Acta Derm Venereol* 2001;81:255–7.

62. Rubegni P, Bracci V, DeAloe G, et al. Cytokine production profile of peripheral blood mononuclear cells in patients with large plaque parapsoriasis en plaque. *Arch Dermatol* 2001;137:966–7.
63. Cordano, P, Lake A, Shield, L, et al. Effect of IL-6 promoter polymorphism on incidence and outcome in Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol.* 2005;128:493-5.
64. Cozen W, Gill PS, Ingles, SA, et al. IL-6 levels and genotype are associated with risk of young adult Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2004;103:3216-21.
65. Poppema S. Immunobiology and pathophysiology of Hodgkin lymphomas. *Hematology.* 2005:231-8.
66. Sarris AH, Kliche KO, Pethambaram P, et al. Interleukin-10 levels are often elevated in serum of adults with Hodgkin's disease and are associated with inferior failure-free survival. *Ann Oncol* 1999;10:433–40.
67. Bohlen H, Kessler M, Sextro M, et al. Poor clinical outcome of patients with Hodgkin's disease and elevated interleukin-10 serum levels. Clinical significance of interleukin-10 serum levels for Hodgkin's disease. *Ann Hematol* 2000;79:110–3.
68. Eskdale J, Gallagher G, Verweij CL, et al. Interleukin 10 secretion in relation to human IL-10 locus haplotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:9465–70.
69. Purdue MP, Lan Q, Krickler A, et al. (2007) Polymorphisms in immune function genes and risk of non-Hodgkin lymphoma: findings from the New South Wales non-Hodgkin Lymphoma Study. *Carcinogenesis* 2006;28:704-712.
70. Shohat M, Hodak E, Sredni B, et al. Cytokine profile of patients with mycosis fungoides and the immunomodulatory effect of AS101. *Acta Derm Venereol* 2001;81:255–7.
71. Tracey L, Villuendas R, Dotor AM, et al. Mycosis fungoides shows concurrent deregulation of multiple genes involved in the TNF-signaling pathway: an expression profile study. *Blood* 2003;102: 1042–50.
72. Dalian D, Ulmer RA, Jackow C, et al. Tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma but not HTLV-1 Tax are likely factors in the epidermotropism of cutaneous T-cell lymphoma via induction of interferon-inducible protein 10. *Leuk Lymphoma* 1998;29:315–28.
73. Howell WM, Calder PC, Grimble RF. Gene polymorphisms, inflammatory diseases and cancer. *Proc Nutr Soc.* 2002;61:447-56.
74. Kitzgibbon J, Grenzelsvis D, Matthews J, et al. Tumor necrosis factor polymorphisms and susceptibility to follicular lymphoma. *Br J Haematol* 1999;107:388–91.
75. Tsukaszki K, Miller CW, Kubota T, et al. Tumor necrosis and polymorphism associated with increased susceptibility to development of adult T-cell leukemic lymphoma in human T-lymphotropic virus type carriers. *Cancer Res* 2001;61:3770–4.

76. Wang SS, Cerhan JR, Hartge P, et al. Common genetic variants in proinflammatory and other immunoregulatory genes and risk for non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Res.* 2006;66:9771-80.
77. Reich K, Mossner R, Konig IR, et al. Promoter polymorphisms of the genes encoding tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta are associated with different subtypes of psoriasis characterized by early and late disease onset. *J Invest Dermatol* 2001;118:155–63.
78. Derynck R, Choy L. Transforming growth factor-beta and its receptors. In: Thompson A (ed). *The Cytokine Handbook*. CA: Academic Press; 1998.
79. Echchakin H, Bagot M, Dorothee G, et al. Cutaneous T-cell lymphoma reactive CD4+ cytotoxic T lymphocyte clones display a Th2 cytokine profile and use a Fas-independent pathway for specific tumor cell lysis. *J Invest Dermatol* 2000;115:74–80.
80. Baran W, Szepietowski JC, Mazur G, et al. TGF-beta(1) gene polymorphism in psoriasis vulgaris. *Cytokine* 2007;38:8-11.
81. Skerrett DL, Moore EM, Bernstein DS, et al. Cytokine genotype polymorphisms in breast carcinoma: associations of TGF-beta1 with relapse. *Cancer Invest* 2005;23:208-14.
82. Hodak E, Akerman L, David M, et al. Cytokine gene polymorphisms in patch-stage mycosis fungoides. *Acta Derm Venereol* 2005;85:109-12.

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca emeği olan; daima yakın desteğini gördüğüm sayın hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Kenan AYDOĞAN'a; bilgi ve tecrübelerinden daima faydalandığım sayın hocam Anabilim Dalı Başkanımız, Prof. Dr. Hayriye SARICAOĞLU'na; mesleki eğitimimde büyük katkıları bulunan ve eğitimim boyunca bana her zaman destek olan, tecrübelerini her zaman bizimle paylaşan sayın hocam Prof. Dr. Şükran TUNALI'ya; çalışmalarımda ve eğitimimde desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Doç. Dr. Emel BÜLBÜL BAŞKAN'a; birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve tüm Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı çalışanlarına; tezimin her aşamasında ilgilerini esirgemeyen Uludağ Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı sayın Doç. Dr. Tahsin YAKUT ve değerli asistan arkadaşım Dr. Mutlu KARKUCAK'a; beni yetiştirip bugünlere getiren sevgili aileme ve mesleki gelişimime katkıda bulunan tüm hastalarımın minnettarım.

## ÖZGEÇMİŞ

04.10.1981'de Artvin'de doğdum. İlkokul öğrenimimi Artvin Gazi İlköğretim Okulu ve Gürsu Atatürk İlkokulu'nda; Orta öğrenimimi Gürsu Hamdi Çalış İlköğretim Okulu'nda ve Lise öğrenimimi Bursa Çınar Lisesi'nde tamamladım. 2000 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi'nde Eğitim görmeye hak kazandım. Temmuz 2006'da Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. Kasım 2006'da Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı bölümde uzmanlık eğitimime devam etmekteyim.