

Kronik Hepatit B ve C Hastalarında IL-1 Beta, IL-1 Reseptör Antagonisti ve IL-8 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması

Investigation of IL-1 Beta, IL-1 Receptor Antagonist and IL-8 Gene Polymorphisms in Patients with Chronic Hepatitis B and C

Gülay BÖREKÇİ¹, Sevim KARAKAŞ ÇELİK², Özlem KANDEMİR³, Nurcan ARAS⁴, Serap YALIN⁵

¹ Mersin Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Mikrobiyoloji Bölümü, Mersin.

¹ Mersin University Vocational School of Health, Microbiology Department, Mersin, Turkey.

² Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak.

² Bülent Ecevit University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Zonguldak, Turkey.

³ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

³ Mersin University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Mersin, Turkey.

⁴ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

⁴ Mersin University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Mersin, Turkey.

⁵ Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin.

⁵ Mersin University Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Mersin, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 02.10.2013 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 07.03.2014

ÖZET

Hepatit B ve C virusu (sırasıyla; HBV ve HCV) enfeksiyonlarında hastalığın prognozu ve viral persistans konağın immün yanıtı ile yakından ilişkilidir. Sitokinler ve genetik faktörler, kronik HBV ve HCV enfeksiyonlarının patogeneğinde önemli rol oynarlar; ancak altta yatan moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışma, kronik hepatit B ve C hastalığı ile interlökin (IL)-1 β , IL-1 reseptör antagonisti (IL-1RA) ve IL-8 gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmaya, kronik hepatit B'li 171 hasta (62 kadın, 109 erkek; yaş aralığı: 18-74 yıl), kronik hepatit C'li 104 hasta (63 kadın, 41 erkek; yaş aralığı: 25-79 yıl) ve kontrol olarak 86 sağlıklı kişi (41 kadın, 45 erkek; yaş aralığı: 18-72 yıl) olmak üzere toplam 361 olgu dahil edilmiştir. Olguların periferik kan lökositlerinden DNA ekstraksiyonu sonrası, IL-1 β -31, -511, +3954; IL-1RA ve IL-8 -251, -353, -738, -845 gen bölgelerine özgül primerler kullanılarak tek nükleotid polimorfizmleri gerçek zamanlı PCR yöntemi ile araştırılmıştır. Kronik hepatit B'li hastalarda IL-8 -251 AT (OR: 7.895, p= 0.003) ve IL-8 -738 TA (OR: 6.317, p= 0.007) genotip sıklığı; kronik hepatit C'li hastalarda ise IL-1 β -31 CT (OR: 6.757, p= 0.001), IL-1 β -511 CT (OR: 4.060, p= 0.004), IL-8 -251 AT (OR: 13.622, p= 0.001), IL-8 -738 TA (OR: 14.058, p= 0.001) ve IL-8 -845 TC (OR: 2.539, p= 0.004) genotip sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Kronik hepatit B'li hastalardaki allel sıklığı kontrol grubu ile kıyaslandığında; IL-1 β +3954 T allelinin hastalık ris-

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Gülay Börekçi, Mersin Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Çiftlikköy Kampüsü, Mersin, Türkiye. Tel (Phone): +90 324 361 0001/4223, E-posta (E-mail): gulay_borekci@yahoo.com

kini 1.5 kat artırdığı belirlenmiş ($p < 0.05$); diğer alleller arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). Kronik hepatit C'de ise IL-8 -845 C allelinin hastalık riskini 0.6 kat artırdığı ($p < 0.05$), ancak diğer alleller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$). Sonuç olarak IL-1 β -31, -511 promotor gen bölgesindeki polimorfizmler ve IL-8 -251, -738, -845 gen polimorfizmleri HBV ve HCV enfeksiyonlarının kronikleşmesinde etkili olabilir. Bu sitokin polimorfizmlerinin, kronik hepatit B ve C enfeksiyonlarındaki öneminin belirlenebilmesi için, taşıyıcı, kronik hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinoma gibi farklı hasta gruplarını içeren daha büyük ölçekli çalışmalar, moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına katkı sağlayabilir.

Anahtar sözcükler: Kronik hepatit; HBV; HCV; IL-1; IL-8; interlekin gen polimorfizmi.

ABSTRACT

The host immune response is closely related to the prognosis of disease and viral persistence in hepatitis B (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infections. Although it is well known that cytokines and genetic factors play important roles in the pathogenesis of chronic HBV and HCV infections, the underlying mechanisms are not fully understood. This study was conducted to determine the role of interleukin (IL)-1 β , IL-1 receptor antagonist (IL-1RA) and IL-8 gene polymorphisms in chronic hepatitis B and C infections. A total of 361 subjects, 171 with chronic hepatitis B (62 female, 109 male; age range: 18-74 yrs) and 104 with chronic hepatitis C (63 female, 41 male; age range: 25-79 yrs), and a control group of 86 healthy subjects (41 female, 45 male; age range: 18-72 yrs) were included in the study. Following the DNA extractions from peripheral blood leukocytes of the study groups, single nucleotide polymorphisms of IL-1 β -31, -511, +3954; IL-1RA and IL-8 -251, -353, -738, -845 gene regions were investigated by using specific primers with real-time PCR method. It was found that the genotype frequency of IL-8 -251 AT (OR: 7.895, $p = 0.003$) and IL-8 -738 TA (OR: 6.317, $p = 0.007$) in patients with chronic hepatitis B and the genotype frequency of IL-1 β -31 CT (OR: 6.757, $p = 0.001$), IL-1 β -511 CT (OR: 4.060, $p = 0.004$), IL-8 -251 AT, (OR: 13.622, $p = 0.001$), IL-8 -738 TA (OR: 14.058, $p = 0.001$), and IL-8 -845 TC (OR: 2.539, $p = 0.004$) in patients with chronic hepatitis C was significantly higher than the control group. When the allelic frequency was compared between chronic hepatitis B patients and the control group, it was determined that IL-1 β +3954 T allele increased the disease risk 1.5 times ($p < 0.05$), however, no statistically significant difference was detected for the other alleles. It was also determined that IL-8 -845 C allele increased the disease risk 0.6 times in chronic hepatitis C ($p < 0.05$) and no statistically significant difference was detected for the other alleles ($p > 0.05$). In conclusion, IL-1 β -31, -511 and IL-8 -251, -738, -845 gene polymorphisms may play a role in the chronicity of hepatitis B and C infection. In order to determine the importance of this cytokine polymorphisms in hepatitis B and hepatitis C virus infections, large-scale studies with different patient groups such as carriers, chronic hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma should be conducted to elucidate the molecular mechanisms underlying the disease process.

Key words: Chronic hepatitis; HBV; HCV; IL-1; IL-8; interleukin gene polymorphism.

GİRİŞ

Hepatit B (HBV) ve hepatit C (HCV) virusları, kronik hepatitlere neden olmalarının yanı sıra siroz, fulminant hepatit ve hepatoselüler karsinoma (HSK) gibi ciddi sonuçlara yol açmaları nedeniyle de tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır^{1,2}. HBV ve HCV enfeksiyonlarında kronikleşme oranı sırasıyla %5-10 ve %75-85 olarak verilmekte; kronik viral hepatitlerin patogeneğinde konak immün yanıtının büyük önem taşıdığı belirtilmektedir^{3,4}. Doğrudan sitopatik etkileri olmayan bu iki hepatit virusunun da kro-

nik hepatit oluşturmada; sitotoksik T lenfositleri (Tc), NK hücreleri, yardımcı T (Th) lenfositleri, dendritik hücreler, sitokinler ve genetik faktörler önemli rol oynamaktadır⁵⁻⁷.

İnterlökin-1 (IL-1), akut ve kronik inflamasyonda önemli rol oynayan sitokinlerden biridir. IL-1 ailesi, IL-1 α , IL-1 β , IL-1 reseptör antagonisti (IL-1RA), IL-1F5-10 ve IL-33 sitokinlerini içermektedir⁸. IL-1 β , güçlü proinflamatuvar sitokinlerden biri olup, hücre sağ kalımı ve çoğalması da dahil olmak üzere birçok fonksiyona sahiptir. IL-1RA ise hemen tüm dokularda eksprese edilmekte ve IL-1 α / β reseptörlerine bağlanarak IL-1 α ve β 'nın bu reseptörlere bağlanmasını engelleyerek sinyal oluşmasını bloke etmektedir. IL-1RA, IL-1 α ve β 'dan farklı olarak güçlü bir inhibitör etkiye sahiptir ve IL-1 aracılı inflamasyonda düzenleyici protein olarak rol oynamaktadır^{8,9}. Kemokin ailesinin üyelerinden biri olan interlökin-8 (IL-8, CXCL8) ise, nötrofil ve T lenfositlerinin kemotaksisini sağlayarak doğal immün yanıtta önemli rol oynamaktadır. IL-8'in akut inflamatuvar reaksiyonları başlatıcı ve artırıcı rolünün yanında, kronik inflamasyon ve kanser gibi hastalıklarla da ilişkisi bulunmaktadır^{10,11}. Yapılan çalışmalar, bu sitokinleri (IL-1 β ve IL-8) kodlayan gen bölgelerinde, bireyler arasında saptanan polimorfizmlerin [IL-1 β için -31 (C/T), -511 (C/T), +3954 (C/T) bölgeleri; IL-8 için -251 (A/T), -353 (A/T), -738 (T/A), +678 (T/C) ve -845 (T/C) bölgeleri] hastalıklarla ilişkili olduğunu ve kronik viral hepatitlerin klinik seyri ve antiviral ilaçlara yanıtta da belirleyici olabileceğini işaret etmektedir¹²⁻¹⁷. Ancak belirtilen bu sitokin polimorfizmleri ile kronik hepatit B ve C enfeksiyonlarıyla ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır^{12,14,17-21}. Ayrıca, Türk popülasyonunda, kronik hepatit B (KHB) ve kronik hepatit C (KHC) hastalarında bu polimorfizmlerin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, KHB ve KHC enfeksiyonu ile IL-1 β (-31 C/T, -511 C/T, +3954 C/T), IL-1RA (A/T) ve IL-8 (-251 A/T, -353 A/T, -738 T/A, -845 T/C) gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğinde kronik hepatit tanısı alan 275 hasta (171 KHB; 104 KHC) ile kontrol olarak 86 sağlıklı kişi olmak üzere toplam 361 kişi dahil edildi. Çalışma, Mersin 1 no'lu Etik Kurulu'dan (No: 6/116) alınan onay ile gerçekleştirildi ve hasta ve kontrol grubundaki kişilerden yazılı onam alındı.

Çalışma Grupları

Kronik hepatit B hastaları; en az 6 ay süreyle alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri normal değerlerden 1.5-2 kat daha yüksek, HBV-DNA (+), HBsAg (+), anti-HBs (-), anti-HBc IgG (+), HBeAg (+/-), anti-HBe (+/-) olan ve histopatolojik incelemede histolojik aktivite indeksleri (HAI) kronik hepatit ile uyumlu toplam 171 hastadan oluşmaktaydı. Kronik hepatit C hastaları; kronik hepatit ile uyumlu karaciğer biyopsisi olan, en az 6 ay süreyle anti-HCV (+), HCV-RNA (+), ALT düzeyleri yüksek veya normal olan 104 olgudan oluşturuldu. Kontrol grubu olarak ise; HBsAg, anti-HBc, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV negatif, ALT değerleri normal olan, akut ve kronik hepatit geçmişi olmayan 86 sağlıklı kişi alındı.

DNA İzolasyonu ve Hedef Bölgelerin Amplifikasyonu

Hasta ve kontrol grubundaki kişilerden 2 ml'lik EDTA'lı tüplere kan alındı ve periferik kan lökositlerinden DNA izolasyonu, tam otomatik DNA/RNA ekstraksiyon cihazı (ExiPrep16; Bioneer, Güney Kore) kullanılarak yapıldı. Elde edilen DNA'ların saflık ve miktar tayinleri Nanodrop Spektrofotometre (ACTGene UVS-99) ile yapıldıktan sonra -20°C'de saklandı.

Çalışma gruplarındaki bireylerden elde edilen DNA'ların amplifikasyonunda hedef bölgelere özgül primer dizileri kullanıldı (Tablo I). Çalışmada, *IL-1β* (-31 C/T, -511 C/T, +3954 C/T), *IL1RA* (A/T) ve *IL-8* (-251 A/T, -353 A/T, -738 T/A, -845 T/C) gen bölgesindeki tek nükleotid polimorfizmlerini (Single nucleotide polymorphism; SNP) belirlemek için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (rtPCR) yöntemi uygulandı. Yöntemde, GreenStar PCR master miks ve primer setleri (Bioneer, G. Kore) kullanıldı ve 50 µl'lik reaksiyon hacmi hazırlamak için 1-100 ng arasındaki cDNA eklendi. PCR reaksiyon karışımı, tam otomatik pipetleme robotu (EzMate401; Arise Biotech, Tayvan) kullanılarak; *non-template* kontrol için PCR grade su 5 µl, örnek DNA 5 µl, ileri primer 1 µl, geri primer 1 µl ve PCR grade su 43 µl olmak üzere toplam 50 µl olacak şekilde hazırlandı. PCR koşulları ön denatürasyon için 95°C'de 5 dk, denatürasyon için 95°C'de 10 sn, birleşme ve uzama için 55°C'de 40 sn olmak üzere toplam 45-50 döngü olacak şekilde ayarlandıktan sonra SYBR-GREEN filtre seçilerek Real Time PCR (Bioneer, ExiCycler™-96 Model

Tablo I. Çalışmada Kullanılan Primer Dizileri

SNP		Primerler	Genotip	Kaynak no
IL-1β -31	F	5'-AGA AGC TTC CAC CAA TAC TC-3'	C/T	18
	R	5'-AGC ACC TAG TTG TAA GGA AG-3'		
IL-1β -511	F	5'-ACT TAA GTT TAG GAA TCT TCC CAC T-3'	C/T	24
	R	5'-GAG CTT ATC TCC AGG GTT GC-3'		
IL-1β +3954	F	5'-GTT GTC ATC AGA ACT TTG ACC-3'	C/T	24
	R	5'-TTC AGT TCA TAT GGA CCA GA-3'		
IL-1RA	F	5'-CTC AGC AAC ACT CCT AT-3'	A/T	24
	R	5'-TCC TCG TCT GCA GGT AA-3'		
IL-8 -251	F	5'-CCA TCA TGA TAG CAT CTG TA-3'	A/T	19
	R	5'-CCA CAA TTT GGT GAA TTA TTA A-3'		
IL-8 -353	F	5'-GAA TTC AGT AAC CCA GGC AT-3'	A/T	19
	R	5'-AAG CTT GTG TGC TCT GCT GTC TCT-3'		
IL-8 -738	F	5'-AAC CCA GCA GCT CCA GTG-3'	T/A	19
	R	5'-AGA TAA GCC AGC CAA TCA TT-3'		
IL-8 -845	F	5'-AAC CCA GCA GCT CCA GTG-3'	T/C	19
	R	5'-AGA TAA GCC AGC CCA GTG-3'		

SNP: Tek nükleotid polimorfizmleri; F: İleri primer; R: Geri primer.

QPCR, G. Kore) cihazında işlem gerçekleştirildi. Sonuçlar, amplifikasyon eğrilerine göre mutant, heterozigot ve homozigot yabancı tip (wild type) olarak yorumlandı (Şekil 1).

İstatistiksel Analiz

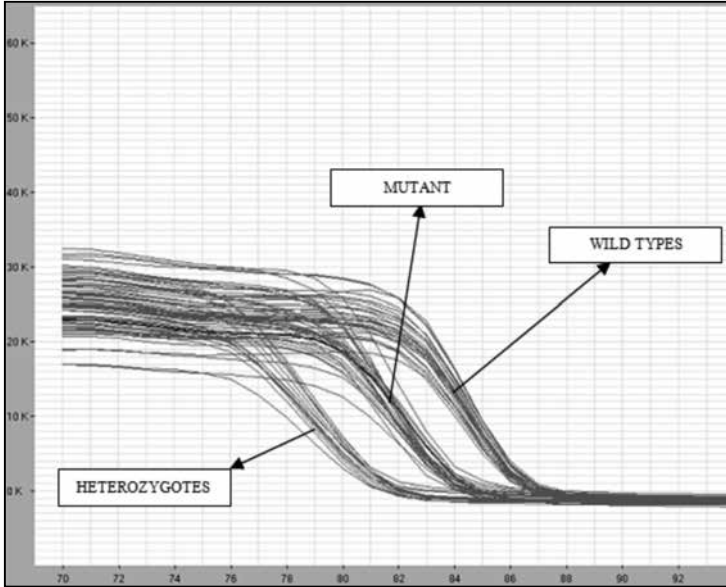
Elde edilen veriler "SPSS for Windows 11.5" paket programında, tanımlayıcı istatistikler, ki-kare ve binary lojistik regresyon testleri kullanılarak analiz edildi ve $p \leq 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan KHB ve KHC'li hastaların cinsiyet dağılımı sırasıyla; 62 (%36.3) kadın, 109 (%63.7) erkek ve 63 (%60.6) kadın, 41 (%39.4) erkek şeklinde olup, yaş ortalamaları sırasıyla; 40.17 ± 13.19 (aralık: 18-74) ve 52.77 ± 12.57 (aralık: 25-79) yıl olarak belirlenmiştir. Kontrol grubundaki bireylerin ise 41 (%47.7)'i kadın, 45 (%52.3)'i erkek olup, yaş ortalaması 36.41 ± 14.91 (aralık: 18-72) yıldır.

Kronik hepatit B'li hasta ve kontrol grubunun genotip dağılımları karşılaştırmalı olarak Tablo II'de gösterilmiştir. KHB'li hastalarda *IL-8* -251 AT ve *IL-8* -738 TA genotip sıklığının kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Yapılan analizde KHB hastalığı ile *IL-8* -251 (A/T) ve *IL-8* -738 (T/A) genotipleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo II).

Kronik hepatit C'li hasta ve kontrol grubunun genotip dağılımları karşılaştırmalı olarak Tablo III'te verilmiştir. KHC'li hastalarda *IL-1 β* -31 CT, *IL-1 β* -511 CT, *IL-8* -251 AT, *IL-8* -738 TA ve *IL-8* -845 TC genotip sıklığının kontrol grubuna göre yüksek olduğu izlenmiştir ($p < 0.05$). Yapılan değerlendirmede, KHC hastalığı ile *IL-1 β* -31 (C/T), -511 (C/T),



Şekil 1. Çalışma sonucu elde edilen amplifikasyon eğrilerinin yorumu.

Tablo II. Kronik Hepatit B Hastaları ile Kontrol Grubunda IL-1 β , IL-1RA ve IL-8 Genotiplerinin Sıklığı

Genotip	Kontrol grubu n (%)	Hasta grubu n (%)	p değeri*	OR (95% CI)
IL-1β -31				
CC	40 (46.5)	64 (37.4)	0.080	Referans
CT	4 (4.7)	21 (12.3)		3.281 (1.050-10.259)
TT	42 (48.8)	86 (50.3)		1.280 (0.745-2.197)
IL-1β -511				
CC	38 (44.2)	86 (50.3)	0.537	Referans
CT	6 (7.0)	14 (8.2)		1.031 (0.368-2.887)
TT	42 (48.8)	71 (41.5)		0.747 (0.435-1.281)
IL-1β +3954				
CC	42 (48.8)	63 (36.8)	0.182	Referans
CT	9 (10.5)	21 (12.3)		1.556 (0.650-3.724)
TT	35 (40.7)	87 (50.9)		1.657 (0.953-2.882)
IL-1RA				
AA	35 (40.7)	80 (46.8)	0.619	Referans
AT	9 (10.5)	18 (10.5)		0.875 (0.358-2.138)
TT	42 (48.8)	73 (42.7)		0.760 (0.439-1.317)
IL-8 -251				
AA	36 (41.9)	57 (33.3)	0.003	Referans
AT	2 (2.3)	25 (14.6)		7.895 (1.762-35.364)
TT	48 (55.8)	89 (52.0)		1.171 (0.679-2.020)
IL-8 -353				
AA	34 (39.5)	81 (47.4)	0.341	Referans
AT	8 (9.3)	19 (11.1)		0.997 (0.398-2.497)
TT	44 (51.2)	71 (41.5)		0.677 (0.391-1.173)
IL-8 -738				
TT	39 (45.3)	71 (41.5)	0.007	Referans
TA	2 (2.3)	23 (13.5)		6.317 (1.414-28.219)
AA	45 (52.3)	77 (45.0)		0.940 (0.550-1.607)
IL-8 -845				
TT	37 (43.0)	66 (38.6)	0.089	Referans
TC	6 (7.0)	28 (16.4)		2.616 (0.992-6.896)
CC	43 (50.0)	77 (45.0)		1.004 (0.580-1.738)

* Ki-kare testi uygulanmıştır. OR: Odds Ratio; CI: Confidence Interval.

Tablo III. Kronik Hepatit C Hastaları ile Kontrol Grubunda IL-1 β , IL-1RA ve IL-8 Genotiplerinin Sıklığı

Genotip	Kontrol grubu n (%)	Hasta grubu n (%)	p değeri*	OR (95% CI)
IL-1β -31				
CC	40 (46.5)	37 (35.6)	0.001	Referans
CT	4 (4.7)	25 (24.0)		6.757 (2.147-21.259)
TT	42 (48.8)	42 (40.4)		1.081 (0.582-2.007)
IL-1β -511				
CC	38 (44.2)	39 (37.5)	0.004	Referans
CT	6 (7.0)	25 (24.0)		4.060 (1.498-11.0)
TT	42 (48.8)	40 (38.5)		0.928 (0.498-1.729)
IL-1β +3954				
CC	42 (48.8)	44 (42.3)	0.094	Referans
CT	9 (10.5)	23 (22.1)		2.439 (1.013-5.875)
TT	35 (40.7)	37 (35.6)		1.009 (0.539-1.888)
IL-1RA				
AA	35 (40.7)	37 (35.6)	0.066	Referans
AT	9 (10.5)	24 (23.1)		2.523 (1.031-6.172)
TT	42 (48.8)	43 (41.3)		0.968 (0.517-1.815)
IL-8 -251				
AA	36 (41.9)	37 (35.6)	0.001	Referans
AT	2 (2.3)	28 (26.9)		13.622 (3.021-61.424)
TT	48 (55.8)	39 (37.5)		0.791 (0.424-1.475)
IL-8 -353				
AA	34 (39.5)	33 (31.7)	0.126	Referans
AT	8 (9.3)	20 (19.2)		2.576 (0.997-6.657)
TT	44 (51.2)	51 (49.0)		1.194 (0.639-2.234)
IL-8 -738				
TT	39 (45.3)	43 (41.3)	0.001	Referans
TA	2 (2.3)	31 (29.8)		14.058 (3.155-62.637)
AA	45 (52.3)	30 (28.8)		0.605 (0.321-1.139)
IL-8 -845				
TT	37 (43.0)	51 (49.0)	0.004	Referans
TC	6 (7.0)	21 (20.2)		2.539 (0.933-6.910)
CC	43 (50.0)	32 (30.8)		0.540 (0.289-1.007)

* Ki-kare testi uygulanmıştır. OR: Odds Ratio; CI: Confidence Interval.

Tablo IV. Kronik Hepatit B ve Hepatit C'li Hastalarda Allel Sıklığı									
Allel	Kronik hepatit B					Kronik hepatit C			
	Kontrol grubu n (%)	Hasta grubu n (%)	p değeri*	OR (95% CI)	Kontrol grubu n (%)	Hasta grubu n (%)	p değeri*	OR (95% CI)	
IL-1β -31									
C	84 (48.8)	149 (43.6)	0.262	Referans	84 (48.8)	99 (47.6)	0.837	Referans	
T	88 (51.2)	193 (56.4)		1.236 (0.856-1.786)	88 (51.2)	109 (52.4)		1.051 (0.701-1.575)	
IL-1β -511									
C	82 (47.7)	186 (54.4)	0.161	Referans	82 (47.7)	103 (49.5)	0.757	Referans	
T	90 (52.3)	156 (45.6)		0.764 (0.529-1.103)	90 (52.3)	105 (50.5)		0.929 (0.620-1.391)	
IL-1β +3954									
C	93 (54.1)	147 (43.0)	0.019	Referans	93 (54.1)	111 (53.4)	0.918	Referans	
T	79 (45.9)	195 (57.0)		1.562 (1.080-2.257)	79 (45.9)	97 (46.6)		1.029 (0.686-1.543)	
IL-1RA									
A	79 (45.9)	178 (52.0)	0.224	Referans	79 (45.9)	98 (47.1)	0.837	Referans	
T	93 (54.1)	164 (48.0)		0.783 (0.542-1.130)	93 (54.1)	110 (52.9)		0.953 (0.636-1.430)	
IL-8 -251									
A	74 (43.0)	139 (40.6)	0.636	Referans	74 (43.0)	102 (49.0)	0.257	Referans	
T	98 (57.0)	203 (59.4)		1.103 (0.761-1.598)	98 (57.0)	106 (51.0)		0.785 (0.523-1.178)	
IL-8 -353									
A	76 (44.2)	181 (52.9)	0.076	Referans	76 (44.2)	86 (41.3)	0.603	Referans	
T	96 (55.8)	161 (47.1)		0.704 (0.487-1.018)	96 (55.8)	122 (58.7)		1.123 (0.747-1.689)	
IL-8 -738									
T	80 (46.5)	168 (49.1)	0.640	Referans	80 (46.5)	117 (56.3)	0.064	Referans	
A	92 (53.5)	174 (50.9)		0.901 (0.624-1.300)	92 (53.5)	91 (43.8)		0.676 (0.451-1.015)	
IL-8 -845									
T	80 (46.5)	160 (46.8)	1.000	Referans	80 (46.5)	123 (59.1)	0.017	Referans	
C	92 (53.5)	182 (53.2)		0.989 (0.685-1.428)	92 (53.5)	85 (40.9)		0.601 (0.400-0.903)	

* Ki-kare testi uygulanmıştır. OR: Odds Ratio; CI: Confidence Interval.

IL-8 -251 (A/T), IL-8 -738 (T/A) ve IL-8 -845 (T/C) genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p < 0.05$) (Tablo III).

Kronik hepatit B'li hastalardaki allel sıklığı kontrol grubu ile kıyaslandığında; *IL-1β +3954 T* allelinin hastalık riskini 1.5 kat artırdığı belirlenmiş ($p < 0.05$); diğer alleller arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). KHC'de ise *IL-8 -845 C* allelinin hastalık riskini 0.6 kat artırdığı ($p < 0.05$), ancak diğer alleller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$) (Tablo IV).

TARTIŞMA

HBV ve HCV enfeksiyonlarında, genetik faktörler ve konağın immün yanıtı, hastalığın oluşmasından sorumlu tutulmakla birlikte, günümüzde bu enfeksiyonların immünopatogenezi ile ilgili birçok nokta hala aydınlatılamamıştır^{4,5}. Genetik varyasyonlar, sitokinlerin ekspresyonu ve yapısını değiştirerek enfeksiyon riskinin artmasına, akut ve kronik hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır. HBV ve HCV enfeksiyonlarında hastalığın kronikleşmeye eğilimi, siroz veya HSK'ya prognozu, virusun antiviral ilaçlara yanıtı ve vücuttan temizlenmesi, sitokinlerin genetik varyasyonlarına bağlı olabilmektedir^{6,12,17}. HBV ve HCV enfeksiyonlarının patogenezi aydınlatmaya yönelik, literatürde sitokin polimorfizmleri ile ilgili çalışmalar bulunmakla birlikte, *IL-1β (-31, -511, +3954)* *IL-1RA* ve *IL-8 (-251, -353, -738, -845)* genlerine ait bizim ulaşabildiğimiz polimorfizm çalışması sınırlı sayıdadır^{12,14,17-21}. Sitokin genlerindeki polimorfizmler, sitokinlerin oluşumunu etkileyerek anormal proinflatuvar reaksiyonlar ve antiinflatuvar kontrol mekanizmalarının disfonksiyonuna neden olmakta ve hastalıkların prognozunda önemli rol oynayabilmektedir²²⁻²⁴. Son yıllardaki çalışmalarda, *IL-1β*, *TNF-α*, *IL-8* ve *IL-18* gibi proinflatuvar sitokin ve kemokinlerdeki artışın, tümör ve kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkili olduğu belirtilmektedir^{13,25-27}. Kronik hepatitli hastalarda da, sitokin düzeylerinin artması karaciğerde inflamasyona neden olmaktadır²⁸. Hepatit C'li hastalarda yapılan bir çalışmada, *IL-1β* aktivitesindeki artışın, fibroz gelişimi ve inflamasyonun daha şiddetli seyretmesine neden olduğu bildirilmektedir²⁹. Ayrıca, *IL-1β*'nin, interferon kaynaklı antiviral aktiviteyi azaltarak, kronik hepatitlerin patogenezinde rol oynadığı ifade edilmektedir³⁰.

Kronik hepatit ve karaciğer hastalıklarında *IL-1* genindeki bazı polimorfizmlerin *IL-1β* oluşumunu etkilediği düşünülmekte ve muhtemelen *IL-1β* transkripsiyonel aktivitesinin artmasına yol açan polimorfizmlerin, kronikleşmeyi kolaylaştırabileceği, siroz ve HSK gelişme riskini artırabileceği ileri sürülmektedir^{14,18,19,21,26}. Ayrıca, KHC'li hastalarda özellikle *IL-1β (-31 ve -511)* gen polimorfizmlerinin hepatokarsinogenez ile ilişkili olabildiği belirtilmiştir¹². Buna karşın, *IL-1* polimorfizmlerinin kronik karaciğer hastalığındaki rolünü araştıran bazı çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Fontanini ve arkadaşlarının¹⁴ İtalya'da yaptıkları bir çalışmada; *IL-1β -31, -511, +3953* ve *IL-1RA* genotip sıklıkları açısından, hepatit B ve C'ye bağlı sirozu olan hastalar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Chan ve arkadaşlarının³¹ Çin popülasyonunda yaptığı bir çalışmada da, *IL-1β -31, -511, +3964* ve *IL-1RA* sitokin gen polimorfizmleri, KHB'li hasta ve kontrol grubu arasında farklılık göstermemiştir. Migita ve arkadaşlarının¹⁹ Japon hastalarla yaptıkları çalışmada ise, *IL-1β -31 T* allel sıklığı hepatit B'ye bağlı siroz gelişen hastalarda

anlamli düzeyde yüksek bulunmuş ve *IL-1β* polimorfizmlerin hepatit B hastalığının ilerlemesiyle ilgili olabileceği belirtilmiştir. Zhang ve arkadaşları¹⁸, 190 KHB'li hasta ve 249 kontrol bireyde yaptıkları çalışmada, *IL-1β* -511 C/T ve *IL-1RA* intron 2 polimorfizmleri ile kronik hepatit B arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir. Bahr ve arkadaşları³², *IL-1β* -511 ve *IL-1RA* polimorfizmlerini, KHC ve sirozlu hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar ve *IL-1β* -511 polimorfizminin KHC'ye duyarlılığı artırdığını, *IL-1RA*'nın ise hastalığın siroza ilerlemesiyle ilişkili olabileceğini vurgulamışlardır. *IL-1β* polimorfizmlerinin HSK ile ilişkisini araştıran çalışmalarda, hepatit C'li hastalarda *IL-1β* -31 T/T genotipi ve *IL-1β* -511 ve -31 C-T haplotipinin HSK ile ilişkili olduğu saptanmıştır^{12,26}. Çalışmamızda *IL-1β* -31 CT genotip sıklığı KHB hastalarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, ancak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p > 0.05$) (Tablo II). Buna karşın KHC hastalarında *IL-1β* -31 ve -511 bölgesindeki CT genotip sıklığı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş ve CT genotipine sahip bireylerde hepatit C'nin kronikleşme riskinin *IL-1β* -31 için 6.8, -511 için 4.1 kat fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, allel analizinde *IL-1β* +3954 T allelinin hastalık riskini 1.6 kat artırdığı saptanmıştır ($p < 0.05$). Çalışma sonuçlarımız, *IL-1β* (-31, -511, +3954) gen polimorfizmlerinin kronik hepatitlerin oluşumunda rolü olabileceğini düşündürmektedir. Genotip ve allel sıklıklarındaki farklılıklar, çalışma gruplarının sayılarının farklı olması ve etnik farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir.

Multifonksiyonel bir CXC kemokini olan *IL-8*'in, akut inflamatuvar reaksiyonları başlatma ve sürdürme görevinin yanında onkogeneze, anjiyogeneze, adezyon, invazyon ve metastaz sürecinde önemli fonksiyonları saptanmış ve çeşitli kanser türlerinin oluşumu ile yakın ilişkisi bulunmuştur^{15,33}. Nötrofiller için güçlü bir kemotaksik etkiye sahip olan *IL-8*'in, akut ve kronik karaciğer inflamasyonunda rol oynadığı ve sirozlu hastalarda *IL-8* serum düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Kronik karaciğer hastalığında, monosit/makrofajların da, *IL-8* reseptörü olan CXCR1 yoluyla *IL-8*'e yanıt vererek esas rol oynadığı belirlenmiştir^{27,34}. Bunların yanı sıra KHC'li hastalarda, *IL-8* serum düzeyleri ile hastalığın ilerlemesi ve interferon tedavisine yanıtızlık arasında da yakın ilişki olduğu rapor edilmiştir³⁵. *IL-8* geninin promotor bölgesindeki polimorfizmlerin, kanser ve inflamatuvar hastalıklarla ilişkisini gösteren çalışmalar^{36,37} olmakla birlikte, kronik karaciğer hasarında *IL-8* polimorfizmlerinin immünopatogeneze mekanizmalarını açıklığa kavuşturacak yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bu konuda Qin ve arkadaşlarının²⁰ yaptığı çalışmada, KHB'ye bağlı siroz gelişen hastalarda *IL-8* geninin -251 pozisyonundaki A allel sıklığının T allelini taşıyan kişilere göre düşük olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmacılar, A allelinin karaciğer sirozuna karşı duyarlılığı azalttığını saptamışlar ve AA genotipinin karaciğer sirozu için koruyucu bir faktör olabileceğini belirtmişlerdir²⁰. Chien ve arkadaşları³³ da, HSK'lı hastalarda *IL-8* -251, +781, +1633, +2767 gen bölgelerindeki polimorfizmleri araştırmışlar; -251 TA + AA genotipine sahip kişilerin KHB gelişimi için yüksek risk taşıdığını, buna karşın +781 T/T genotipinin HSK için düşük riskli olduğunu bildirmişlerdir. *IL-8* geninin -845, -738, -353, -251 bölgesindeki polimorfizmlerin araştırdığı çalışmamızda ise; *IL-8* -251 AT (OR: 7.895) ve -738 TA (OR: 6.317) genotipine sahip kişilerde KHB gelişme riskinin; *IL-8* -251 AT (OR: 13.622), -738 TA (OR: 14.058) ve -845 TC (OR: 2.538) genotipine sahip kişilerde ise KHC gelişme riskinin yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışma sonuçlarımız, kronik hepatit B ve C enfeksiyonlarının patogeneğinde IL-1 β ve IL-8 sitokin gen polimorfizmlerinin önemli olabileceğini; HBV ve HCV enfeksiyonlarının seyri hakkında ipucu verebileceğini göstermektedir. Kronik hepatit B ve C'li toplam 275 hasta ile 86 kontrol bireyi içeren bu çalışma, Türk popülasyonunda bu sitokinlere ait polimorfizmlerin yapıldığı ilk çalışma olması nedeniyle önem taşımaktadır. Bu sitokin polimorfizmlerinin HBV ve HCV enfeksiyonlarındaki öneminin belirlenebilmesi için taşıyıcı, kronik hepatit, siroz ve HSK gibi farklı hasta gruplarını içeren daha büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, hepatit B ve C'nin kronikleşmesinde etkili olabileceği düşünülen başka genlerle de yapılacak çalışmalar, bu hastalığın moleküler mekanizmalarının aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Lavanchy D. Chronic viral hepatitis as a public health issue in the world. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22(6): 991-1008.
2. El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2012; 142(6): 1264-73.
3. Chen SL, Morgan TR. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci* 2006; 3(2): 47-52.
4. Visvanathan K, Lewin SR. Immunopathogenesis: role of innate and adaptive immune responses. *Semin Liver Dis* 2006; 26(2): 104-15.
5. Boonstra A, Woltman AM, Janssen HL. Immunology of hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22(6): 1049-61.
6. Larrubia JR, Benito-Martinez S, Miquel-Plaza J, Sanz-de-Villalobos E, Gonzalez-Mateos F, Parra T. Cytokine-their pathogenic and therapeutic role in chronic viral hepatitis. *Rev Esp Enferm Dig* 2009; 101(5): 343-51.
7. Rehmann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nat Med* 2013; 19(7): 859-68.
8. van de Veerdonk FL, Netea MG. New insights in the immunobiology of IL-1 family members. *Front Immunol* 2013; 4: 167.
9. Zhang Y, Liu C, Peng H, Zhang J, Feng Q. IL1 receptor antagonist gene IL1-RN variable number of tandem repeats polymorphism and cancer risk: a literature review and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7(9): e46017.
10. Baggiolini M, Loetscher P, Moser B. Interleukin-8 and the chemokine family. *Int J Immunopharmacol* 1995; 17(2): 103-8.
11. Gales D, Clark C, Manne U, Samuel T. The chemokine CXCL8 in carcinogenesis and drug response. *ISRN Oncol* 2013; 2013: 859154.
12. Wang Y, Kato N, Hoshida Y, et al. Interleukin-1 beta gene polymorphisms associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2003; 37(1): 65-71.
13. Li K, Yao S, Liu S, Wang B, Mao D. Genetic polymorphisms of interleukin 8 and risk of ulcerative colitis in the Chinese population. *Clin Chim Acta* 2009; 405(1-2): 30-4.
14. Fontanini E, Cussigh A, Fabris C, et al. Gender-related distribution of the interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in patients with end-stage liver disease. *Inflammation* 2010; 33(4): 251-8.
15. Wang Z, Wang C, Zhao Z, et al. Association between -251A > T polymorphism in the interleukin-8 gene and oral cancer risk: a meta-analysis. *Gene* 2013; 522(2):168-76.
16. Yücel OO, Berker E, Mescil L, Eratalay K, Tepe E, Tezcan I. Association of interleukin-1 beta (+3954) gene polymorphism and gingival crevicular fluid levels in patients with aggressive and chronic periodontitis. *Genet Couns* 2013; 24(1): 21-35.

17. Saxena R, Chawla YK, Verma I, Kaur J. Interleukin-1 polymorphism and expression in hepatitis B virus-mediated disease outcome in India. *J Interferon Cytokine Res* 2013; 33(2): 80-9.
18. Zhang PA, Li Y, Xu P, Wu JM. Polymorphisms of interleukin-1B and interleukin-1 receptor antagonist genes in patients with chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2004; 10(12): 1826-9.
19. Migita K, Maeda Y, Abiru S, et al. Polymorphisms of interleukin-1beta in Japanese patients with hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2007; 46(3): 381-6.
20. Qin X, Deng Y, Liao XC, et al. The IL-8 gene polymorphisms and the risk of the hepatitis B virus/infected patients. *DNA Cell Biol* 2012; 31(6): 1125-30.
21. Kim SS, Cheong JY, Lee D, et al. Interleukin-1B and interleukin-1 receptor accessory protein gene polymorphisms are associated with persistent hepatitis B virus infection. *Hepatogastroenterology* 2012; 59(113): 190-7.
22. Alpsoy E, Kodelja V, Goerdts S, Orfanos CE, Zouboulis ChC. Serum of patients with Behçet's disease induces classical (pro-inflammatory) activation of human macrophages in vitro. *Dermatology* 2003; 206(3): 225-32.
23. Coskun M, Bacanlı A, Sallakci N, Alpsoy E, Yavuzer U, Yegin O. Specific interleukin-1 gene polymorphisms in Turkish patients with Behçet's disease. *Exp Dermatol* 2005; 14(2): 124-9.
24. Guo ZS, Li C, Lin ZM, et al. Association of IL-1 gene complex members with ankylosing spondylitis in Chinese Han population. *Int J Immunogenet* 2010; 37(1): 33-7.
25. Vidal-Vanaclocha F, Mendoza L, Telleria N, et al. Clinical and experimental approaches to the pathophysiology of interleukin-18 in cancer progression. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25(3): 417-34.
26. Okamoto K, Ishida C, Ikebuchi Y, et al. The genotypes of IL-1 beta and MMP-3 are associated with the prognosis of HCV-related hepatocellular carcinoma. *Intern Med* 2010; 49(10): 887-95.
27. Zimmermann HW, Seidler S, Gassler N, et al. Interleukin-8 is activated in patients with chronic liver diseases and associated with hepatic macrophage accumulation in human liver fibrosis. *PLoS One* 2011; 6(6): e21381.
28. Tilg H, Wilmer A, Vogel W, et al. Serum levels of cytokines in chronic liver diseases. *Gastroenterology* 1992; 103(1): 264-74.
29. Gramantieri L, Casali A, Trerè D, et al. Imbalance of IL-1 beta and IL-1 receptor antagonist mRNA in liver tissue from hepatitis C virus (HCV)-related chronic hepatitis. *Clin Exp Immunol* 1999; 115(3): 515-20.
30. Tian Z, Shen X, Feng H, Gao B. IL-1 beta attenuates IFN-alpha beta-induced antiviral activity and STAT1 activation in the liver: involvement of proteasome-dependent pathway. *J Immunol* 2000; 165(7): 3959-65.
31. Chan HL, Tse AM, Chim AM, et al. Association of cytokine gene polymorphisms and liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23(5): 783-9.
32. Bahr MJ, el Menuawy M, Boeker KH, Musholt PB, Manns MP, Lichtinghagen R. Cytokine gene polymorphisms and the susceptibility to liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2003; 23(6): 420-5.
33. Chien MH, Yeh CB, Li YC, et al. Relationship of interleukin-8 gene polymorphisms with hepatocellular carcinoma susceptibility and pathological development. *J Surg Oncol* 2011; 104(7): 798-803.
34. Wang JY, Liu P. Abnormal immunity and gene mutation in patients with severe hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2003; 9(9): 2009-11.
35. Polyak SJ, Khabar KS, Rezeiq M, Gretch DR. Elevated levels of interleukin-8 in serum are associated with hepatitis C virus infection and resistance to interferon therapy. *J Virol* 2001; 75(13): 6209-11.
36. Liang WD, Li JS, Li KS, et al. Association of IL-8 gene polymorphisms with inflammatory bowel disease in Chinese patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2011; 91(26): 1825-9.
37. Xue H, Liu J, Lin B, Wang Z, Sun J, Huang G. A meta-analysis of interleukin-8-251 promoter polymorphism associated with gastric cancer risk. *PLoS One* 2012; 7(1): e28083.