

HBV Enfeksiyonun Doğal Seyrine IL-28B Gen Polimorfizminin Etkisi*

Effect of IL-28B Polymorphisms on the Natural Course of HBV Infection

Neşe DEMİRTÜRK¹, Nevil AYKIN², Figen ÇEVİK², Buğra KOCA³, Nurhan DOĞAN⁴, Tülay KÖKEN³

¹ Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.

¹ Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Afyonkarahisar, Turkey.

² Yunus Emre Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Eskişehir.

² Yunus Emre State Hospital, Department of Infectious Diseases, Eskişehir, Turkey.

³ Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.

³ Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Afyonkarahisar, Turkey.

⁴ Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.

⁴ Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Afyonkarahisar, Turkey.

* Bu çalışma, "24th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL)" (12-15 Mart 2015, İstanbul) kongresinde poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 31.08.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 29.12.2015

ÖZ

Hepatit B virusu (HBV) ile enfekte olan hastalarda, hastalığın sonuçlarının öngörülebilmesi, tedavi yaklaşımının belirlenmesi ve kronikleşmenin önlenmesi için önemlidir. Son yıllarda, IL-28B gen polimorfizminin, kronik hepatit B gelişen hastalarda, klinik seyir ya da tedavi yanıtı üzerine etkili olabileceğini araştıran çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmada, IL-28B rs12979860 gen polimorfizminin, HBV enfeksiyonunun doğal seyri üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Prospektif olarak planlanan bu çalışmaya, Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Yunus Emre Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniklerine başvuran hastalar arasından rastgele seçilen 99 olgu dahil edilmiştir. Olgular; kronik hepatit B (grup 1, n= 43); asemptomatik taşıyıcı (grup 2, n= 34) ve enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanmış (grup 3, n= 22) bireyler olmak üzere üç grupta değerlendirilmiştir. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı bir fark yoktur ($p > 0.05$). Tüm olgularda, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile IL-28B'nin 3176 C/T (rs12979860) pozisyonundaki promotör polimorfizmi araştırılmıştır. Çalışmamızda, gruplardaki IL-28B rs12979860 C/T polimorfizm dağılımları incelendiğinde, CC, CT ve TT allel sıklığı sırasıyla; grup 1'de %34.9, %48.8 ve %16.3; grup 2'de %47.1, %35.3 ve %17.6; grup 3'te ise %63.6, %27.7 ve %13.6 olarak bulunmuştur. Her üç grup arasında C/T allel dağılımları açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Neşe Demirtürk, Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ali Çetinkaya Kampüsü, 03200 Afyonkarahisar, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 272 246 3301, **E-posta (E-mail):** neses0@hotmail.com

tir ($p > 0.5$). Bununla birlikte, IL-28B rs12979860 geninde CC alleli taşıyanların oranı, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, doğal bağışıklığı olanlarda en yüksek (%63.6), kronik hepatit B hastalarında ise en düşük (%34.9) düzeyde bulunmuştur. Çalışmamızın verilerine göre, HBV enfeksiyonunun klinik seyrini belirlemede, IL-28B rs12979860 gen polimorfizmi etkili görünmemektedir. Ancak bu verilerin desteklenmesi için, daha fazla hasta sayısı ile yapılacak olan ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar sözcükler: Hepatit B virusu; HBV enfeksiyonu; doğal seyir; IL 28B gen polimorfizmi.

ABSTRACT

The prediction of the consequences of disease is important to determine the therapy approaches and prevention of the chronic state in patients infected with hepatitis B virus (HBV). In recent years various studies are carried on to investigate the effect of IL-28B gene polymorphisms on the clinical course or therapy response in patients with chronic hepatitis B infection. The aim of the study was to evaluate the influence of IL-28B rs12979860 polymorphisms on the natural course of HBV infection. The study was designed prospectively, and the subjects were randomly selected among patients admitted to infectious disease outpatient clinics of Kocatepe University Medical School Hospital and Yunus Emre State Hospital located at provinces in Central Anatolia, Turkey. A total of 99 cases were included in the study and evaluated into three groups, namely, chronic hepatitis B patients (group 1, $n = 43$); inactive HBV carriers (group 2, $n = 34$) and subjects with acquired immunity after native infection (group 3, $n = 22$). There were no significant differences regarding the age and gender distribution between the groups ($p > 0.05$). All subjects were investigated for the IL-28B promoter single nucleotide polymorphism rs12979860 at position 3176 C/T, by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). Evaluation of the range of IL-28B rs12979860 C/T polymorphisms observed in the study groups showed that, the frequency of CC, CT and TT alleles were as follows; 34.9%, 48.8% and 16.3 % in group 1; 47.1%, 35.3% and 17.6% in group 2; 63.6%, 27.7% and 13.6% in group 3, respectively. No significant differences were observed between the groups in terms of C/T allele distribution ($p > 0.05$). However, in spite of statistical insignificance, the rate of CC allele in IL-28B rs12979860 gene was the highest in immune subjects (63.6%), while it was the lowest in chronic hepatitis B patients (34.9%). According to our data, IL-28B rs12979860 gene polymorphisms were not effective on the clinical course of HBV infection. In conclusion, further studies with large numbers of patients are needed to support these data.

Keywords: Hepatitis B virus; HBV infection; natural course; IL-28B gene polymorphism.

GİRİŞ

Akut hepatit B virus (HBV) enfeksiyonu geçiren bir hastada, enfeksiyonun nasıl sonuçlanacağını öngörmek mümkün değildir. Hepatit viruslarına karşı konağın immün yanıtında, insanda 19. kromozom üzerinde yer alan interlökin (IL)-28B gen ürünü olan interferon lambda 3 (IFN- λ 3) önemli yer tutmaktadır¹. Son yıllarda, IL-28B gen polimorfizminin, kronik hepatit B gelişen hastalarda, klinik seyir ya da tedavi yanıtı üzerine etkili olabileceğini araştıran çalışmalar yapılmıştır²⁻⁵. Ancak, literatürde HBV enfeksiyonu geçiren hastalarda, enfeksiyonun doğal seyri üzerine IL-28B gen polimorfizmini araştıran az sayıda çalışma mevcut olup, HBsAg persistansı üzerine IL-28B gen polimorfizminin etkili olabileceği bildirilmektedir⁶. HBV enfeksiyonu geçiren hastalarda, enfeksiyonun sonuçlarının öngörülebilmesi, kronikleşme olasılığı olan hastaların belirlenebilmesi ve bu durumu engellemek için farklı tedavi yaklaşımlarını da beraberinde getirebilir. Bu çalışmada, HBV enfeksiyonunun doğal seyri üzerine, IL-28B gen polimorfizminin etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, prospektif olarak planlandı ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi. Çalışmaya alınacak hastalar, Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Yunus Emre Devlet Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniklerine başvuran hastalar arasından rastgele örnekleme ile seçildi. Çalışmaya, aşağıda özellikleri belirtilen üç grup hasta alındı:

Grup 1: Kronik aktif hepatit B (KHB); HBsAg pozitifliği en az 6 aydır devam eden, HBV-DNA değerleri tedavi sınırının üzerinde ve biyopsi ile karaciğerde nekroinflamasyonu gösterilmiş hastalar.

Grup 2: Asemptomatik taşıyıcılar (AsT); HBsAg pozitifliği en az 6 aydır devam eden ancak HBV-DNA değerleri negatif olan hastalar.

Grup 3: Doğal bağışık (DB); HBV enfeksiyonu geçirerek bağışıklık geliştirmiş; HBsAg negatif, anti-HBs ve anti-HBc IgG antikorları pozitif olan kişiler.

Çalışmaya alınan bireylerden, EDTA'lı tüpe 2 ml kan örnekleri alındı ve genomik DNA'lar periferik kandan ticari kit kullanılarak izole edildi. Elde edilen DNA'lar, çalışılmacaya kadar -20°C'de saklandı. IL-28B'nin -3176 C/T (rs12979860) pozisyonundaki promotor polimorfizmi, Light Cycler mutasyon belirleme kiti (Roche Diagnostic, Almanya) kullanılarak LightCycler® 480 Instrument (Roche Diagnostic, Almanya) cihazında gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile saptandı. Çalışmanın sonunda, üç grup arasında IL-28B gen allel dağılımı açısından farklılık olup olmadığı değerlendirildi.

İstatistiksel değerlendirmede, SPSS 15 programı ile Pearson ki-kare ve Student t-testi kullanıldı.

BULGULAR

Bu çalışmada; 43'ü (%43.4) grup 1'de (16 erkek, 27 kadın; yaş ortalaması: 49.51 ± 11.41 yıl); 34'ü (%34.4) grup 2'de (15 erkek, 19 kadın; yaş ortalaması: 45.67 ± 14.40 yıl) ve 22'si (%22.2) grup 3'de (9 erkek, 13 kadın; yaş ortalaması: 49.90 ± 11.55 yıl) olmak üzere toplam 99 birey değerlendirilmiştir. Yaş ve cinsiyet dağılımı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur ($p > 0.05$).

Grup 1'deki hastalar aldıkları tedavilere göre değerlendirildiğinde; tümünün antiviral tedavi altında olduğu (29'u tenofovir, 12'si entekavir, biri lamivudin ve biri telbivudin) belirlenmiştir. Tenofovir alan hastaların 17'si ve entekavir alan hastaların 6'sı daha önce den interferon tedavisi almıştır.

Çalışma sonunda; grup 1'de en sık rastlanan IL-28B gen polimorfizmi CT (%48.8) iken, grup 2 ve grup 3'de CC (sırasıyla %47.1 ve %63.6) olarak saptanmıştır. Gruplar arasında C/T allel dağılımları açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p > 0.5$). Çalışmaya alınan hastaların, gruplara göre, IL-28B rs12979860 C/T polimorfizm dağılımları Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Çalışma Gruplarında IL-28B rs12979860 C/T Allel Polimorfizm Dağılımı

IL-28B rs12979860 nükleotid polimorfizmi	Grup 1 n (%)	Grup 2 n (%)	Grup 3 n (%)
CC	15 (34.9)	16 (47.1)	14 (63.6)
CT	21 (48.8)	12 (35.3)	5 (27.7)
TT	7 (16.3)	6 (17.6)	3 (13.6)
Toplam	43 (100)	34 (100)	22 (100)

C: Sitozin; T: Timin.

TARTIŞMA

Kronik hepatit B (KHB) tanısı ile interferon tedavisi alan hastalardan, IL-28B rs12979860 CC polimorfizmi taşıyanlarda, tedavi yanıtının daha kötü olduğu bildirilmektedir⁴. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise, KHB tanısı ile interferon ya da antiviral tedavi alan hastalarda, tedavi yanıtları ile IL-28B gen polimorfizmi arasında anlamlı ilişki olmadığı ifade edilmiştir⁵. Buna karşın, HBV enfeksiyonunun doğal seyrine IL-28B gen polimorfizminin etkili olup olmadığını araştıran çalışma sayısı daha azdır^{2,4}. Bu çalışmada, HBV enfeksiyonunun farklı evrelerindeki hastalarda, IL-28B rs12979860 C/T allel dağılımlarının incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızın sonunda, enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanan grupta (grup 3) CC alleli taşıyanların oranı (%63.6), kronik aktif hepatitli (grup 1) hastalara (%34.9) göre iki kata yakın yüksek bulunmuş; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu nedenle elde edilen sonucun, IL-28B gen polimorfizminin, HBV enfeksiyonunun doğal seyrine etkisi olmadığı şeklinde yorumlanması doğru olmayabilir. Bu bağlamda, çalışmamız, HBV enfeksiyonunun bizim çalışmamız dışında kalan evrelerindeki ve daha fazla sayıda hastayı içeren yeni çalışmalara ışık tutabilir.

Tıp III interferon olarak bilinen IFN- λ , dokuzuncu kromozom üzerinde farklı bir gen bölgesinde kodlanan IFN- α ile aynı sinyal yolağını indükleyerek antiviral aktivite gösterir. HBV ile enfekte hücrelerde, transmembran reseptörüne bağlanan IFN- λ , MHC sınıf I antijen ekspresyonunu artırır ve JAK-STAT sinyal yolağını uyarır⁶. İnsan hepatoma hücrelerinde, yüksek konsantrasyonda IFN- λ ile HBV replikasyonunun %30 oranında azaltıldığı gösterilmiş olmakla birlikte, IFN- λ 'nın HBV'ye karşı antiviral aktivitesinin sınırlı olduğu bildirilmektedir⁷. Bu durum, IFN- λ 'nın kodlandığı IL-28B genindeki C/T allel dağılımı ile ilişkili olabilir. Nitekim, hepatit C virusu (HCV) ile enfekte kronik hepatit hastalarından IL-28B geninde CC alleli taşıyanlarda pegile-interferon ve ribavirin kombinasyon tedavisine kalıcı virolojik yanıt oranları, CT/TT allel dağılımı taşıyanlara göre çok daha iyi bulunmuştur².

Serumdan HBsAg'nin spontan olarak temizlenmesi ile IL-28B gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin değerlendirildiği geniş kapsamlı bir meta-analizde, bu polimorfizmin HBV enfeksiyonunda spontan iyileşme üzerine çok etkili olmadığı rapor edilmiştir⁷. Lee ve arkadaşları⁷ tarafından yapılan bu meta-analiz, literatürde bu konuda ulaşılabilen en kapsamlı çalışma olmasına karşın, yazarlar, bu meta-analizde de bazı kısıtlamaların olduğunu; bunlardan birinin değerlendirilen çalışma sayılarının az olması nedeniyle istatistiksel yorumun çok da güçlü olmadığını vurgulamaktadırlar. Literatürde, ulaşılabildiği kadarıyla

la, HBV genotipleri ile IL-28B gen polimorfizmi ilişkisinin tedavi yanıtı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda da, HBV ile enfekte olan grup 1 ve grup 2'deki hastalarda genotiplendirme yapılamamıştır. Bununla birlikte, HBe-Ag negatif, HBV genotip D ile enfekte hastalarda, tedavi ile HBsAg serokonversiyonunun, CC genotipi olanlarda, olmayanlara göre daha iyi olduğu bildirilmektedir⁶. Sonuç olarak bulgularımız, IL-28B gen polimorfizminin, HBV enfeksiyonunun doğal seyrini belirlemede etkisiz olduğunu düşündürmektedir. Ancak kesin yargıya varmak için, daha fazla hasta sayısı ile yapılacak ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Chen Y, Xu HX, Wang LJ, Liu XX, Mahato RI, Zhao YR. Meta-analysis: IL28B polymorphisms predict sustained viral response in HCV patients treated with pegylated interferon- α and ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36(2): 91-103.
2. Li W, Jiang Y, Jin Q, et al. Expression and gen polymorphisms of interleukin 28B and hepatitis B virus infection in a Chinese Han population. *Liver Int* 2011; 31(8): 1118-26.
3. Domagalski K, Pawlowska M, Zalesna A, et al. The relationship between IL-28B polymorphisms and the response to peginterferon alpha-2a monotherapy in anti-HBe-positive patients with chronic HBV infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33(11): 2025-33.
4. Peng LJ, Guo JS, Zhang Z, Shi H, Wang J, Wang JY. IL28B rs12979860 polymorphism does not influence outcomes of hepatitis B virus infection. *Tissue Antigens* 2012; 79(4): 302-5.
5. Kandemir Ö, Fidancı ŞB, Demir N, Görür A, Tamer L. Chronic hepatitis B and IL28B rs12979860 polymorphisms: preliminary study. *Mol Biol Rep* 2013; 40(11): 6189-94.
6. Hong SH, Cho O, Kim K, Shin HJ, Kottenko SV, Park S. Effect of interferon-lambda on replication of hepatitis B virus in human hepatoma cells. *Virus Res* 2007; 126(1-2): 245-9.
7. Lee DH, Lee JH, Kim YJ, et al. Relationship between polymorphisms near the IL28B gene and spontaneous HBsAg seroclearance: a systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat* 2014; 21(3): 163-70.