

Kronik Hepatit B ve C Enfeksiyonları ile TNF- α (-308) Gen Polimorfizmi Arasındaki İlişkinin Araştırılması*

Investigation of the Association Between Chronic Hepatitis B and C Infections and TNF- α (-308) Gene Polymorphism

Gülay BÖREKÇİ¹, Nurcan ARAS², Özlem KANDEMİR³, Serap YALIN⁴, Sevim KARAKAŞ ÇELİK⁵, Mehmet BERKÖZ⁶

¹ Mersin Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Mersin.

¹ Mersin University School of Health, Mersin, Turkey.

² Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

² Mersin University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Mersin, Turkey.

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

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

⁴ Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin.

⁴ Mersin University Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Mersin, Turkey.

⁵ Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak.

⁵ Bülent Ecevit University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Zonguldak, Turkey.

⁶ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Van.

⁶ Yüzüncü Yıl University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Biotechnology, Van, Turkey.

* Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından desteklenmiş (Proje no: BAP-SYO HB (GB) 2010-5A) ve 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi (9-13 Kasım 2013, Antalya)'nde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 29.10.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 09.02.2016

ÖZ

Kronik hepatit B (KHB) ve kronik hepatit C (KHC) enfeksiyonlarının patogeneğinde, sitokinler ve genetik faktörler önemli rol oynamaktadır. Sitokin genlerindeki değişimler, gen ekspresyonunu etkileyerek hastalığın klinik seyrini değiştirebilmektedir. Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) geninin promotor bölgesindeki tek nükleotid polimorfizmlerinden biri olan -308 polimorfizmi ile KHB ve KHC enfeksiyonları arasındaki ilişkiyi araştırarak çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte, çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Ayrıca bu konu ile ilgili olarak ülkemizde yeterli veri bulunmamaktadır. Bu çalışmada, KHB ve KHC enfeksiyonu ile TNF- α (-308) gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, KHB'li 167 hasta (67 kadın, 100 erkek; yaş aralığı 18-74 yıl, yaş ortalaması: 40.23 $\pm$ 13.09) ile bu grup için 95 kontrol (46 kadın, 49 erkek; yaş ortalaması: 36.41 $\pm$ 15.0 yıl) ve KHC'li 104 hasta (63 kadın, 41 erkek; yaş aralığı: 25-79 yıl, yaş ortalaması: 52.8 $\pm$ 12.6) ile bu grup için 86 kontrol (41 kadın, 45 erkek; yaş ortalaması:

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Gülay Börekçi, Mersin Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Çiftlikköy Kampüsü, 33343 Mersin, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 324 361 0001/4223, **E-posta (E-mail):** gulay_borekci@yahoo.com

36.4 ± 14.9 yıl) olmak üzere toplam 271 kronik hepatitli hasta ve 181 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hasta ve kontrollerden alınan kan örneklerinden genomik DNA izole edilmiş ve elde edilen DNA'larda TNF- α (-308)G/A (rs 1800629) polimorfizmi gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile araştırılmıştır. KHB'li hasta grubunda TNF- α (-308) GG, GA ve AA genotipleri sırasıyla 126 (%75.4), 38 (%22.8) ve 3 (%1.8) hastada saptanırken, kontrol grubunda bu sayılar sırasıyla 84 (%88.4), 11 (%11.6) ve 0 (%0) olarak izlenmiştir. KHC'li hasta grubunda ise TNF- α (-308) GG, GA ve AA genotipleri sırasıyla 37 (%35.6), 28 (%26.9) ve 39 (%37.5) hastada bulunmuş, kontrol grubunda bu sayılar sırasıyla 38 (%44.2), 8 (%9.3) ve 40 (%46.5) olarak belirlenmiştir. Her iki hasta grubunda da tespit edilen GA genotip sıklığı kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (KHB için p= 0.024, KHC için p= 0.006). Hasta ve kontrol gruplarında, TNF- α (-308)G/A polimorfizmi alel sıklıklarının dağılımı incelendiğinde; KHB'li hastalarda G alelinin kontrollere göre yüksek (%94.2'ye karşı %86.8), A alelinin ise düşük (%5.8'e karşı %13.2) olduğu dikkati çekmiştir (p= 0.008). KHC'li hastalarda ise G ve A alellerinin sıklıkları (sırasıyla %48.8 ve %51.2), kontrol grubuna göre (sırasıyla %49 ve %51) anlamlı farklılık göstermemiştir (p= 0.969). Sonuç olarak bulgularımız, literatürdeki çoğu çalışmanın verileri ile uyumlu olarak, hepatit B ve C enfeksiyonlarında TNF- α (-308)GA genotipinin, kronikleşmede etkili olabileceğini düşündürmüştür. Bu konuda yapılacak daha ileri çalışmalar, hepatit B ve C hastalığının kronikleşmesindeki moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına katkı sağlayabilir.

Anahtar sözcükler: Kronik hepatit B; kronik hepatit C; TNF-alfa-308; polimorfizm.

ABSTRACT

Cytokines and genetic factors play important roles in the pathogenesis of chronic hepatitis B (CHB) and chronic hepatitis C (CHC) infections. Variations in cytokine genes may effect the gene expression and may lead to changes in the clinical manifestations of diseases. One of the single nucleotide polymorphisms in the promoter region of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) gene is the polymorphism at -308. position which was investigated in many studies by means of its relationship between CHB and CHC infections, however their results are incompatible. Furthermore, there is no sufficient data on this subject in our country. This study was aimed to determine the relationship between TNF- α (-308) gene polymorphism with CHB and CHC infections. A total of 271 patients with chronic hepatitis and 181 healthy subjects were included in the study. Of them 167 were CHB cases (67 female, 100 male; age range 18-74 years, mean age: 40.23 ± 13.09) and 95 controls for CHB group (46 female, 49 male; mean age: 36.41 ± 15.0 years), while 104 were CHC cases (63 female, 41 male; age range: 25-79 years, mean age: 52.8 ± 12.6) and 86 controls for CHC group (41 female, 45 male; mean age: 36.4 ± 14.9 years). After the isolation of genomic DNA from blood samples of the patient and control groups, TNF- α (-308)G/A (rs 1800629) polymorphism was investigated by using the real-time polymerase chain reaction from the obtained DNAs. Among CHB group, TNF- α (-308) GG, GA, AA genotypes were detected in 126 (75.4%), 38 (22.8%) and 3 (1.8%) of the patients, respectively, while these numbers were 84 (88.4%), 11 (11.6%) and 0 (0%) in control group, respectively. Among CHC group, TNF- α (-308) GG, GA, AA genotypes were detected in 37 (35.6%), 28 (26.9%) and 39 (37.5%) of the patients, respectively, while these numbers were 38 (44.2%), 8 (9.3%) and 40 (46.5%) in control group, respectively. The frequency of GA genotype was significantly higher in both patient groups compared to the control groups (p=0.024 for CHB and p= 0.006 for CHC). When the distribution of allele frequencies of TNF- α (-308)G/A polymorphism was evaluated in the patients and control groups, it was noted that G allele was found to be high in CHB patients comparing with controls (94.2% vs 86.8%), however A allele was identified to be lower than controls (5.8% vs 13.2%) (p= 0.008). In contrast, there was no significant difference in terms of allele frequency compared with CHC patients and the control group (p= 0.969). In conclusion, our data in accordance with the results of many studies in literature, determined that TNF- α (-308) polymorphisms can influence the chronicity of hepatitis B and C infections. Further studies on this subject would contribute to the elucidation of the molecular mechanisms of chronic hepatitis B and C diseases.

Keywords: Chronic hepatitis B; chronic hepatitis C; TNF-alpha-308; polymorphism.

GİRİŞ

Viral hepatitler, tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu oluşturmaya devam etmektedir. Hepatit B (HBV) ve hepatit C (HCV) virusları, kronik hepatit, fulminan hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinoma (HSK)'ya kadar giden ciddi hastalıklara neden olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), günümüzde 240 milyon kişinin HBV, 130-150 milyon kişinin ise HCV ile enfekte olduğunu belirtmektedir¹. Hepatit B virus enfeksiyonlarının %5-10'u, HCV enfeksiyonlarının ise %55-85'i kronikleşmekte; bu süreçte konağa (genetik faktörler, immün yanıt, yaş, cinsiyet, ırk, vb) ve virusa (suşun virülansı, genotipi, vb) ait çeşitli faktörlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir²⁻⁵. Sitokinler immünopatogeneze rol oynayan önemli mediyatörlerden olup, sitokin genlerindeki değişiklikler, gen ekspresyonunu değiştirerek HBV ve HCV enfeksiyonlarının seyrini ve tedaviye yanıtı etkileyebilmektedir⁶⁻¹⁰.

Tümör nekrozis faktör (TNF); doğal bağışıklık, hücre regülasyonu, hücre farklılaşması ve apoptoz gibi biyolojik süreçlerde görevi olan ve enfeksiyon, otoimmünite ve kanser gibi hastalıklarda önemli rol oynayan polipeptid yapıda proinflamatuvar bir sitokindir¹¹. TNF geni, 6 nolu kromozom üzerinde MHC sınıf III gen bölgesi içinde yer alır. TNF'nin α ve β olmak üzere iki tipi mevcut olup, TNF- α , çoğunlukla aktive makrofaj ve monositler tarafından salgılanır; ancak aktive T ve B hücreleri, doğal öldürücü (NK) hücreler, mast hücreleri, fibroblastlar, keratinositler, kupffer hücreleri, düz kas hücreleri, bazofiller ve tümör hücreleri gibi çeşitli hücrelerden de sentezlenebilir. TNF- β ise başlıca T lenfositlerinden salınır; konak hücre üzerindeki etkileri TNF- α gibidir, fakat ondan daha zayıf etki göstermektedir^{12,13}. TNF- α 'nın önemli işlevleri arasında; inflamasyonun başlaması ve artışı, nötrofil infiltrasyonu, makrofaj aktivasyonu, T ve B hücre proliferasyonu, koloni stimulan faktör sentezinin artırılması ve anti-tümör aktivite gibi çok sayıda etki sayılabilir¹². TNF- α , çeşitli kanserler, enfeksiyonlar ve otoimmün hastalıklarda polimorfizm-hastalık ilişkisinin araştırıldığı en yaygın sitokinlerden biridir^{7,12-15}. TNF'nin promotor bölgesinde çok sayıda tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism; SNP) (-1031 T/C, -863 C/A, -857 C/T, -575 A/G, -376 G/A, -308 G/A, -244 A/G, -238 G/A ve -163 G/A) saptanmış olmakla birlikte, en yaygın araştırılan -308 pozisyonundaki polimorfizmdir^{6-9,14}. Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalar, TNF- α (-308) promotor gen bölgesindeki genotip ve alel farklılıklarının, HBV ve HCV'ye karşı duyarlılığın oluşması, virusun vücuttan temizlenmesi veya persistan enfeksiyonların gelişmesinde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir^{7,8,13-17}. Ülkemizde ise bu konu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır¹⁸. Bu çalışmada, kronik hepatit B ve C enfeksiyonları ile TNF- α (-308) gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hasta ve Kontrol Grupları

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi ve çalışmaya katılan tüm bireyler çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onamları alındı. Çalışmanın hasta grubunu, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran kronik hepatit B (KHB) tanısı alan 167 hasta ile kronik hepatit C (KHC) tanısı alan 104 hasta olmak üzere toplam 271 kişi oluş-

turdu. Kontrol grubuna ise, herhangi bir kalıtsal, edinsel veya kronik rahatsızlığı bulunmayan, HBsAg, anti-HBc, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV belirteçleri negatif, ALT değerleri normal olan toplam 181 sağlıklı birey dahil edildi. Bu bireylerden 95'i KHB hastalarına karşı, 86'sı KHC hastalarına karşı kontrol grubunu oluşturdu.

DNA İzolasyonu ve Genotip Tayini

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden 2'şer ml periferik kan EDTA'lı tüplere alındı ve çalışma gününe kadar 4°C'de saklandı. Kan örneklerinden DNA izolasyonu, tam otomatik DNA/RNA ekstraksiyon cihazı (ExiPrep16; Bioneer, Güney Kore) kullanılarak yapıldı ve elde edilen DNA'lar -20°C'de saklandı.

TNF- α (-308) gen bölgesindeki tek nükleotid polimorfizmini belirlemek için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi uygulandı. TNF- α (-308)G/A (rs 1800629) polimorfizmi, Gill ve arkadaşları¹⁹ tarafından tanımlanan primerler kullanılarak Syber-Green temelli genotipleme yöntemiyle araştırıldı. Yöntemde "GreenStar PCR Master Mix" ve primer setleri (Bioneer, G. Kore) kullanıldı ve 50 μ l'lik reaksiyon hacmi hazırlamak için 1-100 ng arasındaki DNA eklendi. PCR reaksiyon karışımı; 5 μ l örnek DNA ["non-template" kontrol için, 5 μ l PCR ultra saf (grade) su], 20 pmol her bir primerden (ileri ve geri primer) 1'er μ l ve 43 μ l PCR ultra saf su olmak üzere toplam 50 μ l 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 uygulandı. Daha sonra Syber-Green filtre seçilerek gerçek zamanlı PCR cihazında (Bioneer, ExiCycler™-96 Model QPCR, G. Kore) işlem gerçekleştirildi. Sonuçlar, amplifikasyon eğrilerine göre mutant, heterozigot ve homozigot yabani tip (wild type) olarak yorumlandı.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler SPSS paket programına aktarıldı ve tanımlayıcı istatistikler, ki-kare ile binary lojistik regresyon testleri kullanılarak analiz edildi. İstatistiksel anlamlılık $p \leq 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan KHB ve KHC hastaları ile kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo I'de görülmektedir.

Kronik hepatit B ile TNF- α (-308) polimorfizmi arasındaki ilişki incelendiğinde; GG, GA ve AA genotipi sırasıyla hasta grubunda %75.4, %22.8 ve %1.8; kontrol grubunda ise %88.4, %11.6 ve %0 olarak saptanmış; hasta grubunda GA genotip sıklığı kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p < 0.05$) (Tablo II). KHC grubunda ise TNF- α (-308) GG, GA ve AA genotip sıklığı sırasıyla hasta grubunda %35.6, %26.9 ve %37.5; kontrol grubunda ise %44.2, %9.3 ve %46.5 olarak saptanmış; GA genotip sıklığı, hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$) (Tablo II).

Tablo I. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Hepatit B		Hepatit B	
	Hasta grubu n (%)	Kontrol grubu n (%)	Hasta grubu n (%)	Kontrol grubu n (%)
Kadın	67 (40.1)	46 (48.4)	63 (60.6)	41 (47.7)
Erkek	100 (59.9)	49 (51.6)	41 (39.4)	45 (52.3)
Yaş (Yıl)				
Ortalama $\pm$ SD (Aralık)	40.23 $\pm$ 13.09 (18-74)	36.41 $\pm$ 15.0	52.8 $\pm$ 12.6 (25-79)	36.4 $\pm$ 14.9

Tablo II. Kronik hepatit B ve C enfeksiyonları ile TNF- α (-308)G/A polimorfizmi arasındaki ilişki

Genotip	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	Toplam n (%)	p değeri	OR %95CI
Kronik hepatit B					
GG	126 (75.4)	84 (88.4)	210 (80.2)		1 (referans)
GA	38 (22.8)	11 (11.6)	49 (18.7)	0.024*	0.434 (0.210-0.897)
AA	3 (1.8)	0 (0)	3 (1.1)	0.999	0.000 (0.000-)
Toplam	167 (100)	95 (100)	262 (100)		
Kronik hepatit C					
GG	37 (35.6)	38 (44.2)	75 (39.5)		1 (referans)
GA	28 (26.9)	8 (9.3)	36 (18.9)	0.006*	0.278 (0.112-0.689)
AA	39 (37.5)	40 (46.5)	79 (41.6)	0.997	0.999 (0.531-1.879)
Toplam	104 (100)	86 (100)	190 (100)		

Kronik hepatit B ve C enfeksiyonlarında, TNF- α (-308)G/A polimorfizmi alel sıklıklarının dağılımı incelendiğinde; KHB hastalarında G ve A alelleri sırasıyla %94.2 ve %5.8 iken, bu oranlar kontrollerde %86.8 ve %13.2 olarak izlenmiş ve anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.05$) (Tablo III). Buna karşın KHC hasta grubunda G ve A alellerinin sıklıkları (sırasıyla %48.8 ve %51.2), kontrol grubuna göre (sırasıyla %49 ve %51) anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$) (Tablo III).

TARTIŞMA

Hepatit B ve C enfeksiyonlarının immünopatogenezi ve değişken klinik seyri ile ilgili mekanizmalar karmaşık olup, tam olarak bilinmemektedir. Bu virüslere karşı inflamatuvar yanıtın, virusun temizlenmesi ile mi yoksa karaciğer hasarı ile mi sonuçlanacağına dair altta yatan moleküler mekanizmalar da henüz aydınlatılamamıştır^{5,20,21}. HBV ve HCV enfeksiyonlarına karşı savunmada sitokinlerin önemli rol oynadığı ve tanımlanan bazı sitokin polimorfizmlerinin, bireyler arasında sitokin ekspresyonunda farklılıklara yol açarak hastalığın klinik seyrini ve tedaviye yanıtı etkilediği belirtilmektedir^{9,10,22,23}. Bunlar arasında yer alan ve üzerinde en fazla çalışmanın yapıldığı sitokin ise TNF- α 'dır. TNF- α 'nın promotor

Tablo III. Kronik hepatit B ve C enfeksiyonlarında TNF- α (-308)G/A polimorfizmi alel sıklıkları

Alel	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	Toplam n (%)	p değeri	OR %95CI
Kronik hepatit B					
G	179 (94.2)	290 (86.8)	469 (89.5)	0.008*	1 (referans)
A	11 (5.8)	44 (13.2)	55 (10.5)		0.405 (0.204-0.805)
Toplam	190 (100)	334 (100)	524 (100)		
Kronik hepatit C					
G	84 (48.8)	102 (49.0)	186 (48.9)	0.969	1 (referans)
A	88 (51.2)	106 (51.0)	194 (51.1)		1.008(0.673-1.510)
Toplam	172 (100)	208 (100)	380 (100)		

* İstatistiksel olarak anlamlıdır.

* İstatistiksel olarak anlamlıdır.

bölgesinde çok sayıda polimorfizm tanımlanmış olmakla birlikte, (-308). pozisyonundaki polimorfizmin, gen ekspresyonunu değiştiren, fonksiyonel bir polimorfizm olduğu saptanmıştır^{6,8,14,17,22-24}. Bu çalışmanın amacı da, kronik hepatit B (KHB) ve kronik hepatit C (KHC) enfeksiyonu ile TNF- α (-308) gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır. Çalışmamızda, KHB ve KHC hastaları, sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında; her iki hasta grubunda da TNF- α (-308)GA genotipinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Tablo II). Alel sıklıkları incelendiğinde ise, KHB hastalarında G aleli, kontrol grubunda ise A aleli yüksek bulunmuş ($p < 0.05$); KHC hastalarında alel dağılımları bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo III).

TNF- α (-308) polimorfizmi ile hepatit B ve C hastalığının klinik seyri arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmektedir²⁵⁻²⁷. Yapılan bazı çalışmalarda TNF- α (-308) polimorfizmi ile KHB ve KHC arasında ilişki saptanmazken^{28,29}, bazılarında ilişki olabileceği belirtilmektedir^{6,8,14}. Xu ve arkadaşları⁸, HBV enfeksiyonu olan hastalar ile karşılaştırıldığında sağlıklı kişilerde TNF- α (-308) pozisyonundaki GA genotip ve A alel sıklığını anlamlı düzeyde daha yüksek bulmuşlar ve TNF- α (-308)A ile HBV'nin temizlenmesi arasında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bazı çalışmalarda da, A alel sıklığındaki artışın TNF- α 'nın azalmasına neden olduğu ve A aleline sahip kişilerde klinik seyrin daha hafif olduğu ifade edilmiştir^{24,30}. Zheng ve arkadaşları¹⁷, TNF- α (-308) A alelinin KHB enfeksiyonlarında koruyucu etkiye sahip olabileceği ileri sürmüşlerdir. Bazı araştırmacılar ise, G alelinin persistan HBV enfeksiyonu için risk oluşturduğunu belirtmektedir^{14,18,27,31}. Xia ve arkadaşlarının²⁷ meta-analiz çalışmasında, KHB'li 2754 hasta ile HBV enfeksiyonundan iyileşen 1630 olgu değerlendirilmiş ve TNF- α (-308)GG genotipini taşıyan hastalarda, HBV persistansının anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirtilmiştir. Cheong ve arkadaşlarının¹⁴ Kore'de yaptıkları çalışmada, HBV ile enfekte 412 hasta (72 inaktif taşıyıcı, 261 kronik hepatit, 79 karaciğer sirozu) ile 204 sağlıklı birey incelenmiş ve TNF- α (-308)G/(-238)G homozigot haplotipine sahip olmanın, persistan HBV enfeksiyon riskini artırdığı saptanmıştır. Li ve arkadaşları³¹ da, çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde, TNF- α (-308)GA genotipi ile KHB arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalardaki bu çelişkili sonuçların nedeni, etnik ve bireysel farklılıklar

ve çalışılan hasta sayısı ile ilgili olabilir. Ülkemizde ise bu konu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunduğundan, bu sonuçları destekleyecek yeterli veri mevcut değildir. Baştürk ve arkadaşlarının¹⁸ yaptığı bir çalışmada, TNF- α (-308)G/G polimorfizmi kontrol grubuyla kıyaslandığında, hepatit B'li hasta grubunda anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Çalışma sonuçlarımız, Baştürk ve arkadaşlarının¹⁸ bulgularını destekler nitelikte olup, ülkemiz popülasyonunda G alelinin hastalık riskini artırdığını, buna karşın A alelinin HBV enfeksiyonlarından korunmada etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Kronik hepatit C enfeksiyonu ile TNF- α (-308) polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda da benzer sonuçlar bildirilmektedir. Valenti ve arkadaşları²³, KHC'li hastalarda insülin direnci, TNF- α salınımı ve hastalığın şiddeti ile TNF- α gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlar; TNF- α (-308) ve (-238) polimorfizmlerinin, hastalardaki TNF- α aktivitesi, insülin direnci ve hastalığın şiddeti ile anlamlı bir ilişki gösterdiğini bildirmişlerdir. Talaat ve arkadaşlarının³² çalışmasında, HCV'ye bağlı siroz ve HSK gelişen hastalarda, TNF- α (-308)GG genotip sıklığı, diğer genotiplere göre daha yüksek oranda bildirilmiştir. Bir başka çalışmada ise, TNF- α (-308)AG ve AA genotipi ile HCV enfeksiyonuna duyarlılık ve kombine (pegile interferon- α ve ribavirin) tedaviye yanıt arasında anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiş ve bu genotiplerin HCV'ye karşı duyarlılık ve ilaca karşı direnç oluşturmada etkili olabileceği ifade edilmiştir³³. Benzer olarak Radwan ve arkadaşları⁷ da, TNF- α GA ve AA genotip sıklığının HCV'ye bağlı siroz ve HCC'li hastalarda anlamlı düzeyde arttığını göstermişlerdir. Dai ve arkadaşları³⁴, TNF- α (-308)A alel sıklığını, düşük viral yük ve yüksek fibrozis skoruna sahip olan hepatit C'li hastalarda daha yüksek bulmuşlar; aynı araştırmacılar başka bir çalışmada kalıcı viral yanıtla TNF- α (-308)A alel polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır³⁵. Yukarıdaki çalışmalarda belirtildiği gibi, hepatit C hastalığı ile TNF- α (-308) polimorfizmi arasındaki pozitif ilişkiye rağmen, literatürde anlamlı ilişki saptanmayan çalışmalar da bulunmaktadır^{25,26,36}. Bizim çalışmamızda ise, KHB hastalarında olduğu gibi KHC hasta grubunda da TNF- α (-308)GA genotip sıklığı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Ulaşılabildiği kadarıyla, ülkemizde KHC ile TNF- α (-308) gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte Aksoy'un³⁷ yaptığı çalışmada, KHC tedavisine yanıtı belirlemede sitokin gen polimorfizmlerinin rolü araştırılmış; tedaviye yanıt veren ve vermeyen hepatit C hastaları ile TNF- α (-308) polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir.

Çalışmamızın verilerine göre, hem KHB hem de KHC'li hastalarda TNF- α (-308)GA genotip sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş olup, G alelinin hastalığın ilerlemesinde bir risk oluşturabileceği düşünülmüştür. Bu konu ile ilgili olarak, gen ekspresyonu, sitokin üretimi ve polimorfizm gibi konuları da kapsayan daha ileri çalışmalar, kronik hepatitlerin immünopatogenezindeki moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına katkı sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Draft global health sector strategy on viral hepatitis, 2016-2021 - the first of its kind. Available at: http://www.who.int/hepatitis/strategy2016-2021/Draft_global_health_sector_strategy_viral_hepatitis_13nov.pdf?ua=1

2. Thursz M, Yee L, Khakoo S. Understanding the host genetics of chronic hepatitis B and C. *Semin Liver Dis* 2011; 31(2): 115-27.
3. Park SH, Rehmann B. Immune responses to HCV and other hepatitis viruses. *Immunity* 2014; 40(1): 13-24.
4. Stättermayer AF, Scherzer T, Beinhardt S, Rutter K, Hofer H, Ferenci P. Review article: genetic factors that modify the outcome of viral hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39(10): 1059-70.
5. Balmasova IP, Yushchuk ND, Mynbaev OA, et al. Immunopathogenesis of chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2014; 20(39): 14156-71.
6. Smith AJ, Humphries SE. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20(1): 43-59.
7. Radwan MI, Pasha HF, Mohamed RH, Hussien HI, El-Khshab MN. Influence of transforming growth factor- β 1 and tumor necrosis factor- α genes polymorphisms on the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients. *Cytokine* 2012; 60(1): 271-6.
8. Xu J, Zhang S, Zhang Z, et al. TNF-alpha promoter region polymorphisms affect HBV virus clearance in southern Chinese. *Clin Chim Acta* 2013; 425: 90-2.
9. Saxena R, Chawla YK, Verma I, Kaur J. IL-6 (-572/-597) polymorphism and expression in HBV disease chronicity in an Indian population. *Am J Hum Biol* 2014; 26(4): 549-55.
10. Tunçbilek S. Relationship between cytokine gene polymorphisms and chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2014; 20(20): 6226-35.
11. Aggarwal BB, Gupta SC, Kim JH. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood* 2012; 119(3): 651-65.
12. Işık G, Demirezen Ş, Bektaş MS. Tümör nekroz faktör ve servikal kanser bağlantısı. *Türk Bilimsel Derlemeler Derg* 2008; 1(2): 55-61.
13. Saxena R, Kaur J. Th1/Th2 cytokines and their genotypes as predictors of hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol* 2015; 7(11): 1572-80.
14. Cheong JY, Cho SW, Hwang IL, et al. Association between chronic hepatitis B virus infection and interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphisms. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21(7): 1163-9.
15. Tayebi S, Mohamadkhani A. The TNF- α -308 promoter gene polymorphism and chronic HBV infection. *Hepat Res Treat* 2012; 2012: 493219.
16. Yin G, Zhu T, Li J, Wu A, Liang J, Zhi Y. CXCL12 rs266085 and TNF- α rs1799724 polymorphisms and susceptibility to cervical cancer in a Chinese population. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(5): 5768-74.
17. Zheng MH, Qiu LX, Xin YN, Pan HF, Shi KQ, Chen YP. Tumor necrosis factor-alpha-308A allele may have a protective effect for chronic hepatitis B virus infection in Mongoloid populations. *Int J Infect Dis* 2010; 14(7): e580-5.
18. Basturk B, Karasu Z, Kilic M, Ulukaya S, Boyacioglu S, Oral B. Association of TNF-alpha-308 polymorphism with the outcome of hepatitis B virus infection in Turkey. *Infect Genet Evol* 2008; 8(1): 20-5.
19. Gill RM, Lee TH, Utter GH, et al. The TNF (-308A) polymorphism is associated with microchimerism in transfused trauma patients. *Blood* 2008; 111(7): 3880-3.
20. Hiroishi K, Ito T, Imawari M. Immune responses in hepatitis C virus infection and mechanisms of hepatitis C virus persistence. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23(10): 1473-82.
21. Tarocchi M, Polvani S, Marroncini G, Galli A. Molecular mechanism of hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2014; 20(33): 11630-40.
22. Niro GA, Fontana R, Gioffreda D, et al. Tumor necrosis factor gene polymorphisms and clearance or progression of hepatitis B virus infection. *Liver Int* 2005; 25(6): 1175-81.
23. Valenti L, Pulixi E, Fracanzani AL, et al. TNFalpha genotype affects TNFalpha release, insulin sensitivity and the severity of liver disease in HCV chronic hepatitis. *J Hepatol* 2005; 43(6): 944-50.

24. Goncharova IA, Beloborodova EV, Freidin MB, Beloborodova EI, Pyzurev VP. Association of immune system gene polymorphisms with quantitative features which are pathogenetically important in chronic viral hepatitis. *Mol Biol (Mosk)* 2008; 42(2): 242-6.
25. Kusumoto K, Uto H, Hayashi K, et al. Interleukin-10 or tumor necrosis factor- α polymorphisms and the natural course of hepatitis C virus infection in a hyperendemic area of Japan. *Cytokine* 2006; 34(1-2): 24-31.
26. Bouzgarrou N, Hassen E, Gabbouj S, et al. Lack of effect of tumor necrosis factor- α -308 G/A polymorphism on severity of liver fibrosis in Tunisian hepatitis C virus (HCV)-infected patients. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34(4-5): 297-304.
27. Xia Q, Zhou L, Liu D, Chen Z, Chen F. Relationship between TNF- α gene promoter polymorphisms and outcomes of hepatitis B virus infections: a meta-analysis. *PLoS One* 2011; 6(5):e19606.
28. Saxena R, Chawla YK, Verma I, Kaur J. IFN- γ (+874) and not TNF- α (-308) is associated with HBV-HCC risk in India. *Mol Cell Biochem* 2014; 385(1-2): 297-307.
29. Xiang Y, Huang SF, Xia JR, et al. Association of the IFNAR1-17470 and IL-10-592 cytokine variants with susceptibility to chronic hepatitis B viral infections in a Chinese population. *Genet Mol Res* 2014; 13(4): 9187-95.
30. Goncharova IA, Beloborodova EV, Freidin MB, Beloborodova EI, Chernogoriuk GE, Puzyrev VP. Genetics factors determining predisposition to chronic course of virus hepatitis and fibrosis in liver. *Mol Biol (Mosk)* 2008; 42(2): 238-41.
31. Li Z, Li HQ, Yan Y, et al. Association between genetic polymorphism of tumor necrosis factor and chronic severe hepatitis B in patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2007; 87(30): 2105-8.
32. Talaat RM, Esmail AA, Elwakil R, Gurgis AA, Nasr MI. Tumor necrosis factor- α -308G/A polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus-infected patients. *Chin J Cancer* 2012; 31(1): 29-35.
33. Pasha HF, Radwan MI, Hagrass HA, Tantawy EA, Emara MH. Cytokines genes polymorphisms in chronic hepatitis C: impact on susceptibility to infection and response to therapy. *Cytokine* 2013; 61(2): 478-84.
34. Dai CY, Chuang WL, Lee LP, et al. Associations of tumour necrosis factor α promoter polymorphisms at position -308 and -238 with clinical characteristics of chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2006; 13(11): 770-4.
35. Dai CY, Chuang WL, Chang WY, et al. Tumor necrosis factor- α promoter polymorphism at position -308 predicts response to combination therapy in hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 2006; 193(1): 98-101.
36. Zhang X, Hu D, Zhu B, et al. Tumor necrosis factor- α promoter gene polymorphisms are not associated with hepatitis C virus infection in Chinese hemodialysis patients. *Ren Fail* 2011; 33(6): 593-9.
37. Aksoy B. Kronik hepatit C tedavisinde yanıtı belirlemede TNF- α (-398, -2381), IL-10 (-1082,-627) ve TGF β 1 +25 gen polimorfizminin rolü. Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Disiplinler Arası Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2006.