

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TÜRK TOPLUMUNDA HEPATİT B VE HEPATİT C
ENFEKSİYONUNDA IL-28B POLİMORFİZMİNİN VE VİRAL YÜK İLE
İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. ZEYNEP KOÇ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. IŞIL FİDAN

ANKARA
AĞUSTOS 2018

**T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TÜRK TOPLUMUNDA HEPATİT B VE HEPATİT C
ENFEKSİYONUNDA IL-28B POLİMORFİZMİNİN VE VİRAL YÜK İLE
İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. ZEYNEP KOÇ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. IŞIL FİDAN**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2017-07 proje numarası ile desteklenmiştir

**ANKARA
AĞUSTOS 2018**



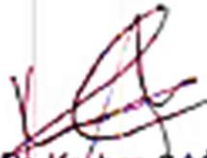
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	ZEYNEP KOÇ
Baba Adı	RAMAZAN
Doğum Yeri/Tarihi	HAYMANA 05.06.1988
Diploma Tarihi / Diploma No	05.07.2013/ 32537
Mezun Olduğu Fakülte	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	TİBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
İhtisas Süresi	Yıl:4
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: TÜRK TOPLUMUNDA HEPATİT B VE HEPATİT C ENFEKSİYONUNDA IL-28B POLİMORFİZMİNİN VE VİRAL YÜK İLE İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ

JÜRİ KARARI: BAŞARILI

JÜRİ ÜYELERİ


Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR
BAŞKAN

Prof. Dr. Işıl FİDAN
ÜYE




Prof. Dr. Gültepe İftar DOLAPÇI
ÜYE

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinden son şeklini alana kadar geçen her aşamada değerli görüşleriyle yol gösteren, destekleyen ve sadece bu çalışmayla sınırlı kalmaksızın her sorumda kapısını gönül rahatlığıyla çaldığım danışmanım, hocam Sayın Prof. Dr. Işıl Fidan’a, disiplini, akademik bilgi ve birikimi ve ilgisi ile her zaman destek olan, çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Esra Tuğ’a çok teşekkür ederim.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı’nda asistanları olduğum için her zaman kendimi şanslı hissettiğim, akademik bilgi ve birikimleriyle mesleki ve bireysel gelişimime büyük katkı sağlamış hocalarım Sayın Prof. Dr. Kayhan Çağlar, Prof. Dr. Nedim Sultan, Prof. Dr. Seyyal Rota, Prof. Dr. Meltem Yalınay, Prof. Dr. Ayşe Kalkancı, Prof. Dr. Gülendamar Bozdayı ve Prof. Dr. Funda Doğruman Al’a çok teşekkür ederim.

Beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum çok kıymetli asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Ayça Ünal, Arş. Gör. Dr. Hande Durak, Arş. Gör. Dr. Tuğba Çuhadar, Arş. Gör. Dr. Sidre Erganiş, Doktora öğrencisi Ülker Abdülmecit ve özellikle tez çalışmamda yardımlarını unutmayacağım Doktora öğrencisi Fakhriddin Sarzhanov’a çok teşekkür ederim.

Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında birlikte çalıştığımız ve bu büyük ailenin içinde olduğum için kendimi her zaman şanslı hissettiren çok kıymetli çalışma arkadaşlarıma ve asistanlığım boyunca yardımlarını unutmayacağım Bio. Kenan Yüce’ye ve Moleküler Viroloji Laboratuvarında tez sürecimde desteğini esirgemeyen çok değerli Bio. Raziye Kurnaz, Laborant Melahat Şaşkın ve Laborant Dilek Çelik’e çok teşekkür ederim.

Beni büyütüp yetiştiren, desteklerini her zaman hissettiğim, duaları ile güç, sevgi ve şefkatleri ile moral veren saygıdeğer anneciğime ve babacığımın çok teşekkür ederim.

Her zaman bana en iyi dost ve arkadaş olan çok kıymetli kardeşime, abime ve sevgili eşime çok teşekkür ederim.

YOL' a ve YOLCULUK' a

İÇİNDEKİLER

Tez sınav tutanağı	i
Teşekkür	ii
İçindekiler	iv
Kısaltmalar	vii
Şekiller dizini	ix
Tablolar dizini	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Hepatit B	5
2.1.1. Virüsün Yapısı	5
2.1.2. Viral Genomun Yapısı	5
2.1.3. Dünya’da ve Türkiye’de HBV Enfeksiyonu	6
2.1.4. İmmünopatogenez	7
2.1.4.1. Doğal İmmün Yanıt	8
2.1.4.2. Edinsel İmmün Yanıt	11
2.1.5. Klinik Bulgular	13
2.1.5.1. Akut Enfeksiyon	13
2.1.5.2. Kronik Enfeksiyon	14
2.1.5.3. Tedavi Almamış Kronik Hepatit B Enfeksiyonlu Hastalarda Prognoz	18
2.1.6. Kronik Hepatit B Enfeksiyonunda Tanı	19
2.2. Hepatit C	23
2.2.1. Virüs ve Genom Yapısı	23
2.2.2. Dünya’da ve Türkiye’de HCV Enfeksiyonu	24
2.2.3. İmmünopatogenez	25
2.2.3.1. Doğal İmmün Yanıt	26
2.2.3.2. Kronik Hepatit C enfeksiyonunda konak immün yanıtı	26

2.2.3.3.	Edinsel immün yanıt	27
2.2.4.	Klinik Bulgular	29
2.2.4.1.	Akut Enfeksiyon	30
2.2.4.2.	Kronik Enfeksiyon	31
2.2.5.	Kronik Hepatit C Enfeksiyonunda Tanı	33
2.2.5.1.	Genel laboratuvar testleri	33
2.2.5.2.	Serolojik Testler	33
2.2.5.3.	Virolojik Testler	34
2.2.5.4.	Radyolojik Testler (Ultrasonografi)	36
2.2.5.5.	Fibrozis evresinin belirlenmesi	36
2.3.	Sitokinler	36
2.4.	Polimorfizm	40
2.4.1.	Genome Genel Bakış	40
2.4.2.	Genetik Varyasyonlar	47
2.4.2.1.	Tek nükleotid polimorfizmi (TNP=SNP)	48
2.4.2.1.1.	Tek nükleotid polimorfizm tipleri	50
2.4.2.1.2.	Hastalıklara duyarlılıkta TNP ve önemi	53
2.4.2.1.3.	TNP ve Farmakogenetik önemi	56
2.4.2.1.4.	TNP lokalizasyon tanımlanması	57
2.4.2.1.5.	Genom proje veritabanları	58
2.4.2.1.6.	TNP analiz yöntemleri	59
2.4.2.2.	Viral enfeksiyonlar ve TNP	64
	<i>IL-28B (IFNλ3)</i> geni ve polimorfizmleri	66
2.4.2.2.1.	HBV enfeksiyonları ve TNP	68
2.4.2.2.2.	HCV enfeksiyonları ve TNP	71
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	74
3.1.	Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler, Sarf Malzeme, Cihazlar	74
3.2.	Hasta Grupları	75
3.3.	HBV-DNA ve HCV-RNA varlığı	78
3.3.1.	Nükleik asit ekstraksiyonu	78
3.3.2.	HBV-DNA tespiti ve kantitasyonu	78

3.3.3.	HCV-RNA tespiti ve kantitasyonu	79
3.4.	<i>IL-28B</i> gen polimorfizminin belirlenmesi	79
3.4.1.	Genomik DNA İzolasyonu	79
3.4.1.1.	Spin Kolon Yöntemi ile Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu	79
3.4.1.2.	Genomik DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi	81
3.4.2.	rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin (TNP) RT-PCR Yöntemi ile Belirlenmesi	82
3.4.2.1.	Yöntemin Esasları	82
3.4.2.2.	Kitin Çalışma Prensibi	83
3.4.2.3.	Protokol	84
3.4.2.4.	Sistemin Programlanması	85
3.4.2.5.	Analiz	86
3.5.	ELISA Yöntemi ile <i>IL-28B</i> Sitokin Düzeyinin Belirlenmesi	87
3.5.1.	Reaktiflerin Hazırlanması	87
3.5.2.	ELISA Aşamaları	88
3.5.3.	Sonuçların Değerlendirilmesi	89
3.6.	İstatistiksel Analiz	90
4.	BULGULAR	91
5.	TARTIŞMA	121
6.	SONUÇ	144
7.	KAYNAKLAR	147
8.	ÖZET	165
	Anahtar sözcükler	166
9.	SUMMARY	167
	Keywords	168
10.	EKLER	169
11.	ÖZGEÇMİŞ	171

KISALTMALAR

ALT	Alanin aminotransferaz
Ark	Arkadaşları
AST	Aspartat aminotransferaz
AUG	Adenin, Urasil, Guanin
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık �rg�t�
GWAS	Genom çapında ilişkilendirme �alışmaları
HBV	Hepatit B virüsü
HBcAg	Hepatit B kor antijeni
HBeAg	Hepatit B e (erken;early) antijeni
HBsAg	Hepatit B yüzey (surface) antijeni
HCC	Hepatosellüler karsinoma
HCV	Hepatit C virüsü
HLA	Human Leukocyte Antigen
IFN-�	�nterferon-�
IL	�nterl�kin
IL-28B	�nterl�kin-28B
IFN�	�nterferon lambda
IRF	�nterferon reg�lat�r faktör
ISG	�nterferon ile uyarılmış genler
ISGF3	�nterferon ile uyarılmış gen faktör 3
ISRE	�nterferon ile uyarılmış yanıt elementleri

IU/ ml	Internasyonal unite/mililitre
KHB	Kronik hepatit B
MHC	Major histocompatibility complex
mRNA	Messenger RNA
NCBI	The National Center for Biotechnology Information
NF-κB	Nukleer faktör kappa beta
NK	Natural killer
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PRR	Pattern tanıyan reseptörler
RE	Restriksiyon endonükleaz
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribonükleik asit
rs	referans SNP
RT-PCR	Gerçek zamanlı PCR (Real Time PCR)
STL	Sitotoksik T lenfosit
TGF	Transforming growth faktör
Th 17	T helper 17
TLRs	Toll-benzeri reseptörler
TNF-α	Tümör nekroz faktör- α
TNP=SNP	Tek nükleotid polimorfizm (Single nucleotide polymorphism)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. HBV doğal ve kazanılmış immün yanıt	9
Şekil 2. Akut hepatit B enfeksiyonunun klinik sonuçları	17
Şekil 3. İyileşme ile sonuçlanan akut HBV enfeksiyonu	21
Şekil 4. Akut HBV enfeksiyon sonrası kronik HBV enfeksiyonuna ilerleme	21
Şekil 5. Virüse özgü CD8+ T hücrelerin başarısı ve başarısızlığı	29
Şekil 6. Hepatit C enfeksiyonunun klinik sonuçları	30
Şekil 7. İyileşme ile sonuçlanan akut HCV enfeksiyonu	35
Şekil 8. Akut HCV enfeksiyon sonrası kronik HCV enfeksiyonuna ilerleme	35
Şekil 9. Kromozom 19 üzerinde IFN λ genlerinin lokalizasyonu	39
Şekil 10. IFN sinyalizasyonu ve JAK-STAT yolağı	40
Şekil 11. A) Genomun yapısı B) Transkripsiyon C) Post-transkripsiyonel modifikasyon	44
Şekil 12. Ökaryotik bir hücrede transkripsiyon ve translasyon	45
Şekil 13. Kromozom çiftinde allel, genotip ve haplotip modeli	46
Şekil 14. TNP, Haplotip, Tag TNP	46
Şekil 15. Tek Nükleotid Polimorfizmi (TNP-SNP)	49
Şekil 16. Kromozom 2'ye ait bireyler arasında tek nükleotid polimorfizmi	50
Şekil 17. PCR-RFLP yöntemi ile genotip tayini	61
Şekil 18. RT-PCR ile DNA amplifikasyonu	62

Şekil 19. Spesifik viral hastalıklara duyarlılık veya dirençle ilişkili genetik varyantların genel kategorisi.	65
Şekil 20. Kromozom 19’da IFN- λ 3/4 gen lokusu ve tanımlanmış TNP’ler	67
Şekil 21. İncelenen üç TNP bölgesi için Real Time PCR Protokolü	86
Şekil 22. <i>IL-28B</i> rs12979860 polimorfizmine ait genotiplerin sonuç grafiği.	92
Şekil 23. <i>IL-28B</i> rs8099917 polimorfizmine ait genotiplerin sonuç grafiği.	92
Şekil 24. <i>IL-28B</i> rs12980275 polimorfizmine ait genotiplerin sonuç grafiği.	93
Şekil 25. Kontrol grubu, HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda <i>IL-28B</i> geni rs12979860 polimorfizmi genotip dağılımı.	112
Şekil 26. Kontrol grubu, HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda <i>IL-28B</i> geni rs8099917 polimorfizmi genotip dağılımı.	112
Şekil 27. Kontrol grubu, HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda <i>IL-28B</i> geni rs12980275 polimorfizmi genotip dağılımı.	113
Şekil 28. Kontrol grubu, HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu gruplarda serum <i>IL-28B</i> düzeyleri (pg/ml).	116
Şekil 29. Kontrol grubu ve kronik hepatit B enfeksiyonlu, asemptomatik kronik HBV taşıyıcı, viral yük pozitif kronik HCV ve viral yük negatif kronik HCV gruplarında serum <i>IL-28B</i> düzeylerinin grafik olarak gösterimi (pg/ml)	117

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. HCV enfeksiyonunun kronikleşmesiyle ilgili faktörler	32
Tablo 2. Kronik HCV’de fibrozis gelişimi üzerine etkili faktörler	32
Tablo 3. Kontrol grubuna ait özellikler	76
Tablo 4. HBV ile enfekte veya kronik HCV enfeksiyonlu hastalara ait özellikler	77
Tablo 5. rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP’lerinin verileri	84
Tablo 6. RT-PCR Reaksiyonu bileşenleri	85
Tablo 7. RT-PCR Döngüleri	85
Tablo 8. Kontrol ve hasta gruplarının demografik verileri	91
Tablo 9. Kontrol grubu ile viral hepatitli hastalar arasında <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	94
Tablo 10. Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hastalar arasında <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	96
Tablo 11. Kontrol grubu ile kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar arasında <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	98
Tablo 12. Kontrol grubu ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	99

Tablo 13. Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	101
Tablo 14. Yüksek viral yüklü kronik hepatit B ile düşük viral yüklü kronik hepatit B enfeksiyonlu gruplar arasında <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	103
Tablo 15. Kontrol grubu ile kronik HCV enfeksiyonlu hastalar arasında <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	106
Tablo 16. Kontrol grubu ile viral yük pozitif kronik HCV arasında <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	107
Tablo 17. Kontrol grubu ile viral yük negatif kronik HCV arasında <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	109
Tablo 18. Viral yük pozitif kronik HCV ile viral yük negatif kronik HCV grubunda <i>IL-28B</i> rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki	110
Tablo 19. Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hastalar arasında <i>IL-28B</i> geni rs12979860 (C/T), rs8099917 (T/G) ve rs12980275 (A/G) polimorfizmlerinin haplotip frekansları arasındaki ilişki	114
Tablo 20. Kontrol grubu ile kronik HCV enfeksiyonlu hastalar arasında <i>IL-28B</i> geni rs12979860 (C/T), rs8099917 (T/G) ve rs12980275 (A/G) polimorfizmlerinin haplotip frekansları arasındaki ilişki	115

Tablo 21. Kontrol grubu ve kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta, asemptomatik kronik HBV taşıyıcı, viral yük pozitif kronik HCV ve viral yük negatif kronik HCV gruplarında serum IL-28B düzeyleri	117
Tablo 22. HBV ile enfekte hastalarda IL-28B rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları ile yüksek IL-28B ve düşük IL-28B serum düzeyleri arasındaki ilişki	119
Tablo 23. Kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda IL-28B rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları ile yüksek IL-28B ve düşük IL-28B serum düzeyleri arasındaki ilişki	120
Tablo 24. Türkiye’de yapılan bazı çalışmalarda KHB enfeksiyonlu hastalarda <i>IL-28B</i> geni polimorfizmlerinin genotip dağılımı	126
Tablo 25. Dünya’da yapılan bazı çalışmalarda KHB enfeksiyonlu hastalarda <i>IL-28B</i> geni polimorfizmlerinin genotip dağılımı	131
Tablo 26. Türkiye’de yapılan bazı çalışmalarda kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda <i>IL-28B</i> geni polimorfizmlerinin genotip dağılımı	134
Tablo 27. Dünya’da yapılan bazı çalışmalarda kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda <i>IL-28B</i> geni polimorfizmlerinin genotip dağılımı	137

1. GİRİŞ

Hepatit B virüsü (HBV) ve Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonları; karaciğer hastalıklarının başlıca nedeni olup, karaciğerin akut veya kronik enflamasyonuna neden olarak; akut hepatit, kronik hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinomaya (HCC) yol açabilen önemli sağlık sorunlarından biridir (1, 2). Hepatite bağlı mortalitenin %96' sından HBV ve HCV enfeksiyonları sorumludur (3).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre; 2015 yılında Dünya'da 257 milyon kronik Hepatit B hastası (taşıyıcı); 71 milyon kronik hepatit C hastası olduğu tahmin edilmektedir (4). Her yıl yaklaşık 620.000 kronik hepatit B hastası; 400.000 kronik hepatit C hastası çoğunlukla karaciğer sirozu, HCC gibi geç komplikasyonlar nedeni ile kaybedilmektedir (5, 6).

DSÖ; ülkeleri, hepatit B enfeksiyonu taşıyıcılık oranları açısından düşük (<%2), orta (%2-8) ve yüksek (>%8) endemik bölgelere ayırmıştır (7). Ülkemizde Hepatit B yüzey (surface) antijeni (HBsAg) pozitifliği bölgeler arası farklılıklar göstermekle birlikte ortalama %4' tür ve hepatit B açısından orta endemisite bölgesinde yer almaktadır (8).

DSÖ; dünya nüfusunun yaklaşık %3' ünün HCV ile enfekte olduğunu bildirmektedir. Gelişmiş ülkelerde anti-HCV prevalansı %1-2 arasında iken; ülkemizde sıklık %0,5-1 arasında değişmekte olup Güneydoğu Anadolu bölgesinde %1,9'a ulaşmaktadır (8). TC. Sağlık Bakanlığı ve Türk Nefroloji Derneği'nin 2014 yılı ortak raporuna göre hepatit C açısından rezervuar ve önemli bir risk grubunu

oluşturan hemodiyaliz hastalarında ve periton diyalizi hastalarında anti-HCV pozitiflikleri sırasıyla % 7,5 ve % 3,1 olarak bildirilmiştir (9).

Akut HBV enfeksiyonlu hastaların genellikle %5-10'ununda kronik HBV enfeksiyonuna ilerleme görülmektedir. Bu kişilerin yaklaşık üçte birinde kronik aktif hepatit gelişmekte ve bu durum karaciğerin sürekli yıkımı, skar oluşumu, karaciğer yetmezliği, siroz veya primer HCC ile sonuçlanabilmektedir. Üçte iki hastada ise aktif tablo gelişmeden hastalar virüsle enfekte olarak yaşamını daha az sorunlarla devam ettirmektedirler. Akut HCV enfekte hastalar genellikle asemptomatik olup %15'i kendiliğinden iyileşmekte, %70'inde virüs persiste kalmakta ve kronik enfeksiyon gelişmektedir. Kronik fazda kendiliğinden HCV klirensi zordur; 10-40 yıl içinde hastaların %20'sinde siroz tablosuna ilerleme görülebilmektedir. Hastalarda karaciğer yetmezliği ve HCC (%1-4) gelişme riski de artmaktadır (10).

Hepatitli hastalarda hastalık sürecinin akut veya kronik hale gelmesini etkileyen virolojik faktörler, immünolojik faktörler yanında konağa ait faktörler önemli bir yer tutmaktadır (11). Özellikle HBV ve HCV enfeksiyonlu hastaların neden bazılarında virüsün yok edildiği ama diğer grupta kronikleştiği sorusu her zaman gündemini korumuştur. Kronikleşmeyi önleyecek faktörlerin belirlenmesi, HBV ve HCV enfeksiyonlu kişilerde enfeksiyon kronikleşmeden önce alınabilecek önlemleri belirlemesi açısından büyük önem taşımaktadır.

İnsan genomu incelendiğinde, yaklaşık %99,9 DNA sekansları identiktir ancak %0,1 polimorfik bölgeler bulunmaktadır. Tek nükleotid polimorfizmler

(TNP=Single Nucleotide Polymorphism=SNP), bir kromozomun belli bir gen lokusunda bulunan ve bireyler arasında tek bir nükleotid farklılığı gösteren genetik varyasyonların en sık görülen formudur. Hastalığa direkt neden olmazlar ama insanlarda hastalığa yatkınlığı, hastalığın ciddiyetini, prognozunu, ilaç yanıtını ve tedavi etkinliğini değiştirebilmektedirler (12). Konak doğal ve kazanılmış immün yanıtta rol oynayan pek çok sitokinin etkin antiviral immün yanıt oluşturmada ve hepatit enfeksiyonu ile mücadelede rol oynadığı düşünülmektedir. Sitokin genlerindeki allelik değişiklikler muhtemelen sitokin üretimi ve viral enfeksiyonlara karşı immün yanıtı etkileyerek viral enfeksiyonun progresyonunu, prognozunu, kronikleşme indeksini ve antiviral tedaviye verilecek yanıtı etkilemektedir (11).

Son yıllarda, HCV ve HBV enfeksiyonlarının gidişatını etkileyen konak faktörlerinden sitokin genlerindeki tek nükleotid polimorfizmler büyük önem kazanmıştır. Çalışmalarda, özellikle HBV ve HCV enfeksiyonlu hastalarda sitokin genlerinde çeşitli polimorfizmler tespit edilmiş ve bunların özellikle kendiliğinden viral temizlenme ve tedaviye verilecek yanıtındaki rollerinin belirlenmesi üzerine yoğunlaşmıştır (13-15).

Bu çalışmada, Türk toplumunda *IL-28B* gen polimorfizminin HBV ve HCV enfeksiyonunun gidişatına etkisi ve *IL-28B* plazma düzeyi ile HBV ve HCV enfeksiyonunun ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece bu çalışma, *IL-28B* gen bölgesi polimorfizmi ile HBV ve HCV duyarlılığı, viral kontrol, karaciğer inflamasyonu ve hastalık prognozu arasındaki ilişkinin belirlenmesine yardımcı olabilecektir. Çalışmamızın sonucunda elde edilecek verilerin; hepatit

enfeksiyonunun progresyonunu önleyecek tedbirlerin alınması ve yeni gen tedavisi seçeneklerinin geliştirilmesi konusunda yapılacak çalışmalara yol gösterebileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hepatit B

2.1.1. Virüsün Yapısı

Hepadnaviridae ailesinin Orthohepadnavirüs genusunda yer alan, konak genomuna entegre olabilen, retrovirüslara benzer özellikler gösteren, RNA aracılığı ile hepatositlerde replike olarak karaciğer fonksiyon bozukluğuna yol açabilen, 42 nm çapında sferik yapıda zarflı DNA virüsüdür. Lipid zarf yapısı konak hücre yüzeyinden kazanılmış olup viral yüzey antijeni (HBsAg) bulunmaktadır (8, 16, 17).

2.1.2. Viral Genomun Yapısı

HBV'nin ikozahedral nükleokapsid yapısı, çift sarmallı DNA molekülü içeren HBV genomunu kapsamaktadır. Nükleokapsid, 240 viral kapsid proteininin biraraya gelmesi ile oluşmuştur ve viral genom DNA'sının tek kopyası, negatif zincirin 5' ucunda kovalent bağlanmış viral polimeraz enzimi ve protein kinazlar içermektedir (8). Genom DNA'sının iki zincirinin asimetrik yapısı kendine özgü eşsiz bir özelliktir. Negatif polariteli iplik tam bir halka oluşturur, pozitif polariteli iplik ise daha kısadır ve değişken uzunlukta bulunmaktadır. Negatif ve pozitif ipliklerin 5' ucundaki hidrojen bağları onları bir arada tutmaktadır. Negatif ipliğin 5' ucunda kovalent olarak bağlanmış viral polimeraz ve pozitif ipliğin 5' ucunda kovalent olarak bağlanmış oligonükleotid formda ribonükleik asit (RNA)

bulunmaktadır. Viral genomun bu yapısı gevşek sirküler DNA (relaxed circular DNA-rcDNA) olarak adlandırılmaktadır (18).

2.1.3. Dünya’da ve Türkiye’de HBV Enfeksiyonu

Dünya nüfusunun %30’u HBV ile enfektedir (19). DSÖ verilerine göre; 2015 yılında Dünya’da 257 milyon kronik Hepatit B hastası (taşıyıcı) bulunmaktadır ve her yıl yaklaşık 620.000 enfekte kişi HBV’nin neden olduğu akut enfeksiyon ve siroz ya da HCC gibi geç komplikasyonlar nedeniyle kaybedilmektedir (4). Birçok ülkede etkin aşılama programlarının uygulanmasıyla HBV enfeksiyonlarının insidansında azalma olmasına rağmen, henüz rutin aşılama programına ulaşamayan ülkelerin varlığı ve yaş nedeniyle aşılama programının dışında kalmış olan kitlelerde HBV morbidite ve mortalite açısından önemini korumaktadır (20).

HBV enfeksiyonunu dünya coğrafyası üzerindeki insidansı, HBV taşıyıcısı oranlarına göre üç bölümde incelenir: Orta Asya, Güney Asya, Sahraaltı Afrika ve Amazon bölgeleri yüksek endemisite (>%8); Amerika Birleşik Devletleri, Kuzey Avrupa, Avustralya, Yeni Zelanda düşük endemisite (<%2) ve Türkiye’nin de içinde bulunduğu Orta Doğu, Doğu Avrupa, Akdeniz havzası orta endemisite (%2-8) bölgeleri olarak bilinmektedir (21).

Endemisite oranlarını ve akut enfeksiyondan kronik forma dönüşü virüsün kazanım yaşı ve bulaş şekli de etkilemektedir. Kronikleşme oranı erişkin yaş

grubunda %5, yenidoğanlarda perinatal temasa bağlı olarak %90, 1-5 yaş grubunda ise %20-50 civarındadır (21).

Ülkemizde farklı coğrafik bölgelerde farklı prevalans oranları saptanmakta olup; toplam 3,5 milyon kişi HBV ile enfektidir. Ülkemizde toplumun değişik kesimlerindeki kişileri kapsayan çalışmalarda HBsAg pozitiflik oranı %0,7-12 (ortalama %5) olarak bildirilmiştir. Çalışmaların birbirleriyle karşılaştırılma gücüğü ile beraber HBsAg pozitifliğinin Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yaşayan kişilerde ve bu bölgelerden göç alan yerlerde yaşayanlarda daha yüksek oranlarda olduğu gözlenmektedir (21).

2.1.4. İmmünopatogeneze

HBV enfeksiyonu, akut ya da kronik, semptomatik ya da asemptomatik olabilir. Bunlardan hangisinin oluşacağı birçok faktör yanında kişinin enfeksiyona karşı immün yanıtı ile de ilişkilidir (10). HBV temel olarak hepatositleri enfekte eder. Sitopatik olmayan bir virüstür ve immünolojik olaylar bu enfeksiyonun patogeneğinde, seyrinde ve sonucunda önemli rol oynamaktadırlar (8).

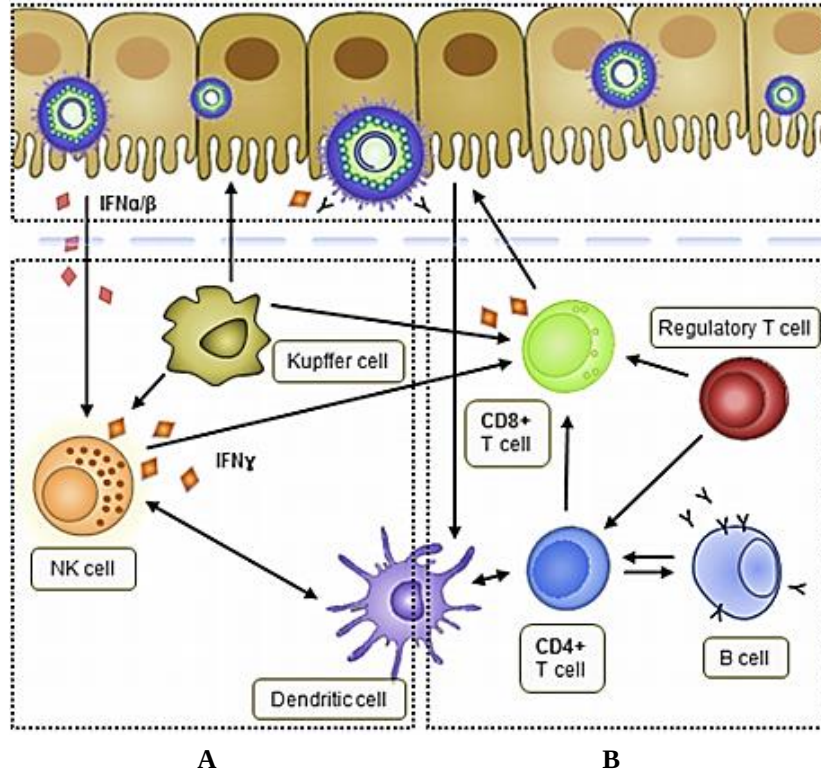
HBV'ye karşı ilk savunma, çok kısa sürede devreye giren, dakikalardan saatlere kadar sürebilen, doğal bağışık mekanizmaları tarafından gerçekleştirilmektedir. Viral enfeksiyon devam ederse edinsel immün yanıt başlar. Pek çok virüs için, erken spesifik olmayan doğal immün yanıt ve T ve B hücrelerinin aracılık ettiği edinsel immün yanıt birlikte hareket etmektedir (Şekil 1) (8, 22).

2.1.4.1. Doğal İmmün Yanıt

Dendritik hücreler, makrofajlar (Kupffer hücreleri) ve doğal öldürücü (natural killer (NK)) hücreler gibi doğal immün sistem hücrelerinin aktivasyonu, savunmanın birinci hattını oluşturarak, enfeksiyonun erken döneminde virüsün yayılımını geciktirir.

Doğal immün sistem HBV'ye karşı harekete geçtiğinde, HBV replikasyonunun derecesine göre HBV DNA'sı, antijenleri (özellikle HBsAg) ve proteinleri, doğal bağışıklık sisteminin etki mekanizmalarını ve antiviral sinyal yollarını değişik yollarla inhibe etmektedirler; bu durum farklı klinik profillerin oluşmasına neden olmaktadır. Virüse ait bu yapılar immün düzenleyici gibi davranarak kendi replikasyonunu kolaylaştırma, doğal bağışık yanıttan kaçma ve dolayısıyla kronikleşme eğilimine katkıda bulunmaktadır. Bu kaçış mekanizmasından dolayı HBV proteinleri ve partikülleri, virüsün logaritmik büyüme fazında; vücuda girişinden 5 hafta sonra saptanmaktadırlar. Antiviral tedavi kombinasyonları ile immün cevap indüklenerek HBV'ye toleransın bozulması ve HBV eliminasyonunun sağlanması hedeflenmektedir (23).

Konak-virüs immünolojik ilişkisinin ve virüsün bağışık yanıttan kaçış mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, kronik hepatit B (KHB) enfeksiyonlu hastalarda virüsün eradikasyonuna yardımcı tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından oldukça önemlidir (23).



Şekil 1. HBV doğal ve kazanılmış immün yanıt(22).

- A. Doğal immün yanıt
- B. Kazanılmış immün yanıt

Patern tanıyan reseptörler (PRR): Doğal immün yanıtın ilk basamağı ‘tanıma’ olup PRR yapıları viral moleküler yapıları tanır ve enfekte olmamış kendi sağlam hücrelerinden ayırır. Patojenlerin tanınması; doğal immün yanıtı başlatma, enfeksiyonu sınırlandırma ve etkili edinsel immün yanıt oluşumunu hızlandırmayı sağlamaktadır. Toll-benzeri reseptörler (TLRs), RIG-benzeri reseptörler (RLRs), NOD-benzeri reseptörler (NLRs), C-tipi lektin önemli PRR’lerdendir (23). Viral enfeksiyonlarda en önemli TLR’lerden: TLR-9 mikroorganizma DNA’sında bol bulunan metillenmiş CpG oligonükleotidlerini tespit ederken, TLR-3 viral çift

sarmal RNA (dsRNA), TLR-7 ve TLR-8 viral tek sarmal RNA (ssRNA)'yı tanımaktadır (24, 25). Bu tanıma neticesinde virüsün yok edilmesine yardımcı olacak inflamatuvar mediatörlerin transkripsiyonel ekspresyonunu sağlayacak olan hücre içi sinyal kaskadı çalışmaya başlar; tip 1 interferonlar ($IFN\alpha/\beta$), proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler üretilir (8, 26).

TLR ekspresyonunun azalması ve PRR sinyal yollarının inhibe edilmesi konağın doğal immün yanıtını bozarak kronik hepatit B (KHB) enfeksiyonuna zemin hazırlamaktadır (23).

Monositler/Makrofajlar: Akut ve kronik karaciğer hasarında monosit infiltrasyonu büyük oranda artar ve karaciğere sürekli Kupffer hücre takviyesi olur. Monosit alt tipleri klasik CD14 (+) CD16(-) ve klasik olmayan CD14(+) CD16(+)’dır. Klasik CD14(+) CD16(-) insan monositlerinin %90-95’ini oluşturmaktadır. Klasik olmayan CD14(+) CD16(+) monositler farklılaştıklarında, karaciğerde kronik ilerlemeyi devam ettiren, yüksek düzeyde proinflamatuvar sitokin ve kemokin ($TNF-\alpha$, $IFN-\gamma$, IL-6, MIP-1 α ve MIP-1 β) üretme kapasitesine sahiptir. Aynı zamanda, bu monositlerin, profibrojenik primer insan hepatik stellat hücrelerini doğrudan aktive edebildiği gösterilmiştir (27). Karaciğere yerleşik makrofajlar olan, intrahepatik lökositlerin %15-20’sini oluşturan Kupffer hücrelerinin HBV varlığında proinflamatuvar faktörlerden (IL-6, IL-1, $TNF-\alpha$) ziyade profibrojenik ve tolerojenik faktörler (TGF- β) salgılayarak hepatik stellat hücrelerini uyarıp fibrozise katkı sağladığı düşünülmektedir. Aynı zamanda, viral hepatit boyunca TRAIL, Fas ligand, granzim B, perforin ve ROS gibi sitotoksik moleküller salgılayarak doku hasarına katkıda bulunmaktadır (22, 28).

NK/NKT (Natural killer T) hücreleri: Doğal immünitinin ana hücreleri olan NK hücreleri HBV'nin hepatositlerden temizlenmesinde oldukça önemlidir. HBV enfeksiyonunun erken döneminde harekete geçerek HBV yayılımını sınırlamaya çalışan, edinsel immün yanıtın başlamasına aracılık eden hücrelerdir. Doğrudan sitotoksik etki ile ya da immün sistemin düzenlenmesinde yer alan IFN- γ olmak üzere birçok sitokin (TNF- α , TGF β , IL-10 vs.) üretimi ile antiviral aktivite göstermektedirler. Natural killer grup 2D (NKG2D); NK hücreleri, NKT hücreleri ve CD8 (+) sitotoksik T hücreleri üzerinde eksprese olan aktive edici bir reseptör olup MHC sınıf I moleküllerine benzeyen çeşitli ligand gruplarına bağlanırlar. NKG2D-ligand etkileşimleri HBV kalıcılığı, karaciğer hasarının gelişmesi ve HCC'ye ilerlemede önemli bir rol oynar (8, 22).

Tüm bu yollar HBV enfeksiyonuna bağlı karaciğer fibrozisinin önlenmesi açısından hedef bölgeler olarak değerlendirilebilir.

2.1.4.2. Edinsel İmmün Yanıt

CD4 ve CD8 T hücreleri, B hücreleri ve antikorlar, HBV kontrolünde edinsel immün yanıtın önemli elemanlarıdır. Edinsel immün yanıt diğer birçok virüsün aksine HBV enfeksiyonlarında, düşük viral replikasyon ve doğal immün yanıtın baskılanması nedeniyle maruziyetten 10-12 hafta sonra gelişmektedir (22).

Edinsel immünitinin başlaması için naif T hücrelerinin aktivasyonu gereklidir ve bunun için de viral peptid-HLA (Human Leukocyte Antigen) kompleksinin T hücre reseptörü tarafından tanınması ve T hücre yüzey reseptörü

ile antijen sunucu hücrenin yüzeyi üzerindeki kostimülatör moleküllerin etkileşimi gereklidir. CD4 ve CD8 T hücreleri hepatit virüslerinin yok edilmesinde işbirliği içinde hareket ederler (8).

HBV spesifik CD4 T hücreleri: Genellikle ‘HBV cor’ epitoplarını hedef almakta olup enfeksiyondan yedi-on hafta sonra kanda görülmektedir. KHB enfeksiyonlu hastalarla karşılaştırıldığında, akut HBV enfeksiyonlarında CD4 T hücre cevabı daha güçlüdür (22).

HBV spesifik CD8 T hücreleri: Antijen ve kostimülatörler ile etkin olan CD8 T hücreleri, antijeni yüzeyinde taşıyan enfekte hücreleri öldürme yeteneğindeki sitotoksik T lenfositlere (STL) farklılaşırlar (8, 22). Tüm HBV proteinlerini hedef alabilmekte olup sitolitik ve non-sitolitik efektör fonksiyonlara sahiptir. Fonksiyonel, sürekli, geniş ve poliklonal bir CD8 T hücre yanıtı, HBV kontrolü için kritiktir (22). Bununla birlikte, HBsAg’ye zayıf STL yanıtından dolayı; kronik hepatitin tüm vakalarında HBV’nin temizlenmesi gözlenemez. Bu nedenle, KHB enfeksiyonu için etkili bir tedavi oluşturulması için HBsAg’e STL yanıtının zayıf olmasının altında yatan mekanizmanın anlaşılması önemlidir (8).

KHB ve T hücre yanıtı: Kronik enfeksiyonun geç dönemlerinde HBV’ye özgü T hücrelerinin miktarı oldukça düşüktür. Sürekli HBsAg maruziyetine bağlı olarak HBV’ye özgü CD8 T hücreleri yavaş yavaş fonksiyonlarını kaybetmektedir. Bu duruma PD1, TIM3 gibi inhibitör reseptörlerin sürekli ekspresyonu da neden olmakta ve IFN- γ ve IL-2 üretimi ve proliferatif kapasite azalmaktadır (22).

T helper 17 (Th 17) hücreler: Th 17 hücreleri başta IL-17A olmak üzere IL-17F, IL-22, IL-21, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler üretirler. Son çalışmalar, Th 17 hücrelerinin, HBV enfeksiyonlarının patogeneğinde rol oynadığını göstermektedir. HBV ile ilişkili akut ve kronik karaciğer hasarı olan hastalarda, karaciğerde aşırı bir şekilde gelişen Th 17 yanıtları, karaciğere inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu sağlayan sitokinler salgılayarak karaciğer hasarının oluşmasına katkıda bulunabilmektedirler (29).

2.1.5. Klinik Bulgular

Akut ve kronik HBV enfeksiyonları çok çeşitli klinik bulgularla seyredebilmektedir. Akut faz subklinik ya da non ikterik hepatitten, ikterik hepatite hatta bazen, fulminan hepatite kadar değişen durumlarla karşımıza çıkarken; kronik faz, asemptomatik taşıyıcılıktan siroz ve HCC'ye kadar değişen tablolara neden olabilmektedir. Her ikisinde de ekstrahepatik komplikasyonlar görülebilmektedir (Şekil 2) (30).

2.1.5.1. Akut Enfeksiyon

HBV maruziyeti sonrası inkübasyon periyodu 1-4 ay kadardır. Bu sürenin sonunda yaklaşık üçte iki hastada herhangi bir semptomun görülmediği subklinik ya da anikterik form ortaya çıkmaktadır. İmmün sistemin matürasyonunu tamamlamamış olduğu bebeklik ve erken çocukluk dönemlerinde sıklıkla bu form görülmektedir (20). Semptomatik hepatit, 1 yaşından küçük çocuklarda nadiren, 5

yaşından küçük çocukların % 10'unda ve yetişkinlerin % 30-80'inde gelişebilmektedir. Semptomlar ve sarılık 1-3 ayda kaybolmaktadır. Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri 1000-2000 IU / L'ye kadar çıkabilmektedir; tipik olarak ALT, AST'den daha yüksektir. Prognozu belirlemede protrombin zamanı (PT) en iyi belirteçtir. Yüksek PT düzeyleri karaciğer yetmezliğine işaret etmektedir. İlk önce anti-HBc IgM oluşmakta ve bunu takiben anti-HBc IgG oluşmaktadır. Aynı anda serumda HBsAg ve HBV DNA'da saptanmaktadır. HBV DNA, HBeAg, HBsAg ve anti-HBc IgM kaybı; anti HBe, anti-HBs gelişimi bağışıklığı göstermektedir (30)

2.1.5.2. Kronik Enfeksiyon

Akut hepatit B enfeksiyonu geçiren bir hastada HBsAg pozitifliğinin 6 ay sonunda devam etmesi enfeksiyonun kronikleştiği göstermektedir. Akut HBV enfeksiyonlu hastaların %5-10'u genellikle kronik HBV enfeksiyonuna ilerlemektedir. Bu kişilerin yaklaşık üçte birinde kronik aktif hepatit gelişmektedir; karaciğerin sürekli yıkımı, skar oluşumu, karaciğer yetmezliği, siroz veya primer HCC ile sonuçlanabilir. Üçte ikilik grupta, kronik pasif hepatit gelişir ve daha az sorunla karşılaşmaktadırlar (Şekil 2). Akut hepatit B'de iyileşme yerine kronikleşmenin olmasına IFN yetersizliği, antijen sunumunda yetersizlik, CD4 T lenfositlerdeki aktivasyon bozukluğu ve HBV spesifik CD8 T hücrelerinin dokuda veya kanda az bulunması gibi faktörler neden olabilmektedir (10, 20). Semptomlar HCC ve siroz olmadığı sürece yorgunluk gibi nonspesifik belirtilerdir. Bulantı, sağ üst kadranda hassasiyeti, anoreksi, miyalji ve artraljiler nadiren eşlik eder.

Semptomlar çoğunlukla hastalığın şiddeti, serum AST düzeyleri, biyopsi bulguları ile korele değildir. Serum AST düzeyleri normal olabilmekle beraber, kronik aktif hepatitli hastalarda hafif-orta yükselmeler görülebilmektedir. HBsAg pozitif olup; HBeAg ve HBV DNA pozitifliği sık olarak eşlik etmektedir. Hipersplenizm belirtileri trombosit sayısında azalma, hepatik fonksiyonlarda bozulma, hipoalbuminemi, hiperbilirubinemi siroza işaret eder. HBV ilişkili kompanse siroz olguların %2-5'i dekompanse siroza ilerleme göstermektedir. Dekompansé sirozun klinik bulguları ve belirtileri arasında asit, sarılık, hepatik ensefalopati veya varis kanaması yer almaktadır (30).

Kronik hepatit B enfeksiyonu birbirini izleyen dört farklı evrede gelişmektedir (20).

İmmün tolerans dönemi: Özellikle perinatal dönemde, organizmanın virüse karşı gösterdiği immün tolerans viral replikasyonun ve viral yükün vücutta oldukça yüksek düzeyde olmasına neden olmaktadır. HBeAg pozitifliği, yüksek HBV DNA düzeyi, normal veya hafif yüksek ALT seviyeleri ve minimal histolojik aktivite ile karakterizedir. immün tolerans nedeniyle immün yanıtla bağlı karaciğer hasarı gelişmediğinden, ALT ve AST düzeyleri ile karaciğer biyopsi bulguları normal sınırlardadır (8, 20).

İmmün klirens dönemi: Bu dönemde hepatik aktivite devam etmektedir. Konağın gösterdiği immün yanıt sonucu HBV DNA düzeyi düşer ve ALT seviyeleri dönemsel alevlenmeler göstermektedir. Bu sürecin sonunda hastaların bir kısmında, HBeAg pozitif fazda fibroza ilerleyip siroz gelişirken büyük bir kısmında HBV

DNA düzeyi düşer, anti HBe oluşur ve inaktif taşıyıcılık fazına geçilmektedir. İnaktif taşıyıcıların %20-30'unda kendiliğinden ya da immunsupresyona bağlı olarak, HBeAg serokonversiyonu eşlik etsin ya da etmesin, HBV DNA ve ALT seviyelerinde yükselme ile birlikte HBV reaktivasyonu gelişebilmektedir (8).

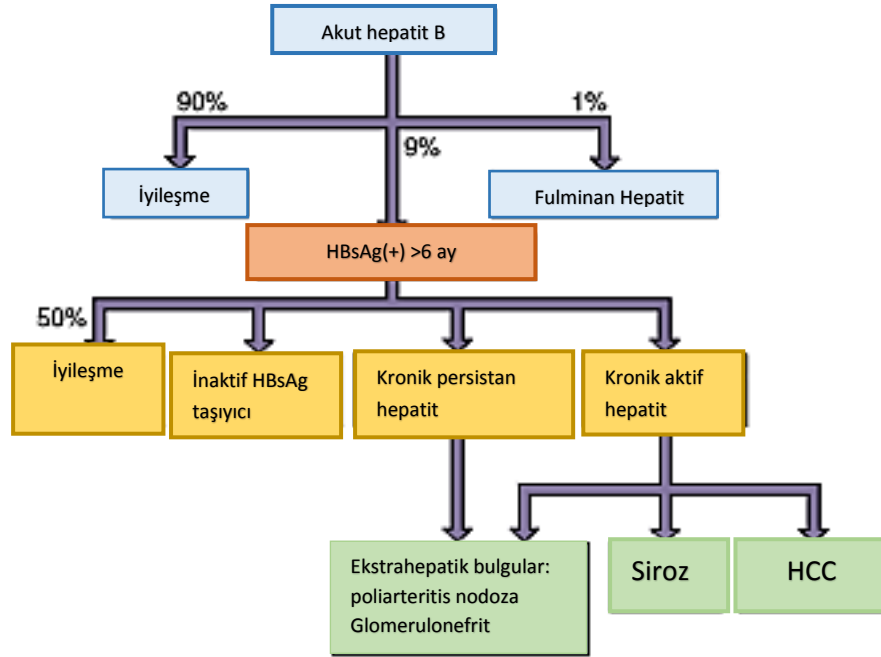
İnaktif dönem: İmmun yanıt döneminin sona ermesi ile başlayan inaktif dönemde HBV DNA düzeyi düşük pozitif veya negatif düzeye inmektedir. İmmun yanıt döneminde çok ağır karaciğer hasarı meydana gelmemişse virolojik aktivitenin sona ermesiyle beraber histopatolojik düzelme ve ALT seviyelerinin de normale dönmesiyle tipik bir 'inaktif (asemptomatik) taşıyıcı' tablosu ortaya çıkmaktadır (20). Ülkemizde 1998 yılından itibaren hepatit aşısının ulusal rutin çocuk aşılama programına dahil edilmesi ve sosyoekonomik koşullarda kısmi düzelme ile HBsAg taşıyıcılık oranı %5'lerden %3-4'e kadar gerilemiş olup; bu hastaların da %80'ini inaktif taşıyıcıların oluşturduğu tahmin edilmektedir (8).

American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) 2009 rehberine göre; >6 ay HBsAg pozitifliği, HBeAg negatifliği ve anti HBe pozitifliği, serum HBV DNA düzeyinin <2000 IU/ml olması, sürekli normal ALT/AST değerleri, karaciğer biyopsisinde belirgin hepatit bulgularının olmaması inaktif taşıyıcılık tanı kriterleridir (8).

Reaktivasyon dönemi: İnaktif döneme geçen hastaların büyük kısmı inaktif taşıyıcı olarak ömür boyu kalırken bir kısmında viral replikasyonun yeniden başlamasıyla HBeAg negatif kronik B hepatiti gelişmektedir. Bu evrede HBV DNA

düzeyleri genelde önceki iki dönemden daha düşüktür. ALT düzeyleri dalgalanma göstermektedir (20).

İyileşme dönemi: Kendiliğinden HBsAg negatifleşmesinin olduğu dönemdir. Daha ileri yaşlarda kazanılan enfeksiyonlarda daha sık görülmektedir. Bu dönem genellikle iyi seyirli olmakla birlikte, özellikle ilk 10 yıl sırasında HBsAg kaybı olan olgularda düşük düzey HBV DNA pozitifliği sürebilmektedir (20).



Şekil 2. Akut hepatit B enfeksiyonunun klinik sonuçları (10).

2.1.5.3. Tedavi Almamış Kronik Hepatit B Enfeksiyonlu Hastalarda

Prognoz

Dünya nüfusunun yaklaşık % 30'u HBV ile enfekte olup yaklaşık 350 milyonu (% 5-6) kronik persistan taşıyıcılar oluşturmaktadır. Kronik persistan enfeksiyon oluşma riski HBeAg pozitif anneden bebeğe perinatal bulaş yoluyla %90; çocuklarda %20; erişkinlerde %5-10 kadardır. Kronik persistan enfeksiyonlu hastaların %10-30'unda siroz ve HCC gelişmektedir. ***Epidemiyolojik faktörler (hastalığın alınma yaşı, alkol kullanımı, diğer hepatit virüsleriyle koenfeksiyon gibi); viral faktörler (HBV DNA düzeyi, HBV genotipi, HBV genetik varyantları gibi); çevresel faktörler (tedavi, aşılama, hijyen, beslenme), konak immünolojik ve genetik faktörler enfeksiyonun duyarlılığını ve ilerlemesini etkilemektedir(31, 32).*** KHB'de morbidite ve mortalite olasılığı siroz gelişimiyle doğrudan ilişkilidir. KHB'nin ilerlemesini birçok faktör etkilemektedir. Yüksek HBV DNA seviyesi, Hepatit D virüsü ya da Hepatit C virüsü ile eşzamanlı enfeksiyon siroza ilerleme oranını artırmaktadır. Hastalık sürecinde daha şiddetli inflamasyon ve fibroze sahip olan hastaların da siroza ilerleme eğilimi daha yüksektir. HBsAg pozitif hastalarda siroz olmaksızın uzun dönem prognoz iyidir. HBsAg negatifleşen hastalarda ise prognoz daha iyidir. Siroz geliştikten sonra, dekompanse karaciğer sirozu gelişme riski yılda % 20-25 arasında değişmektedir (30).

2.1.6. Kronik Hepatit B Enfeksiyonunda Tanı

KHB enfeksiyonunun tanısı invitro hücre kültürlerinde üretilmediği için **biyokimyasal, serolojik, moleküler, patolojik değerlendirmelerle** beraber HCV, HDV, HIV gibi diğer hepatit nedenlerinin dışlanması ile konulmaktadır (8, 33).

Serolojik testler, hastalığın seyrini ve evresini tanımlamaktadır. HBV enfeksiyonu laboratuvar tanısında ve enfeksiyonun klinik seyrinde HBV serolojik belirteçleri araştırılmaktadır (Şekil 3,4).

HBsAg: Semptomlardan 1-2 hafta önce ortaya çıkar, 2-6 ay varlığını sürdürdükten sonra akut enfeksiyonlarda kaybolmaktadır. Kronik enfeksiyonlarda ise 6 aydan uzun süre varlığını devam ettirmektedir (8).

HBeAg: Akut ve kronik enfeksiyonda serumda HBsAg ile aynı dönemde görülmektedir. Bulaştırıcılığın, aktif replikasyon ve infektivitenin yüksek olduğunun bir göstergesidir. **HBeAg**, persistan enfeksiyonun oluşumu için gereklidir. HBeAg düzeyi, doğal seyir sırasında kendiliğinden veya tedavi sırasında azalırsa bu yüksek replikatif durumdan düşük replikatif faza geçişi ifade edebilir (8).

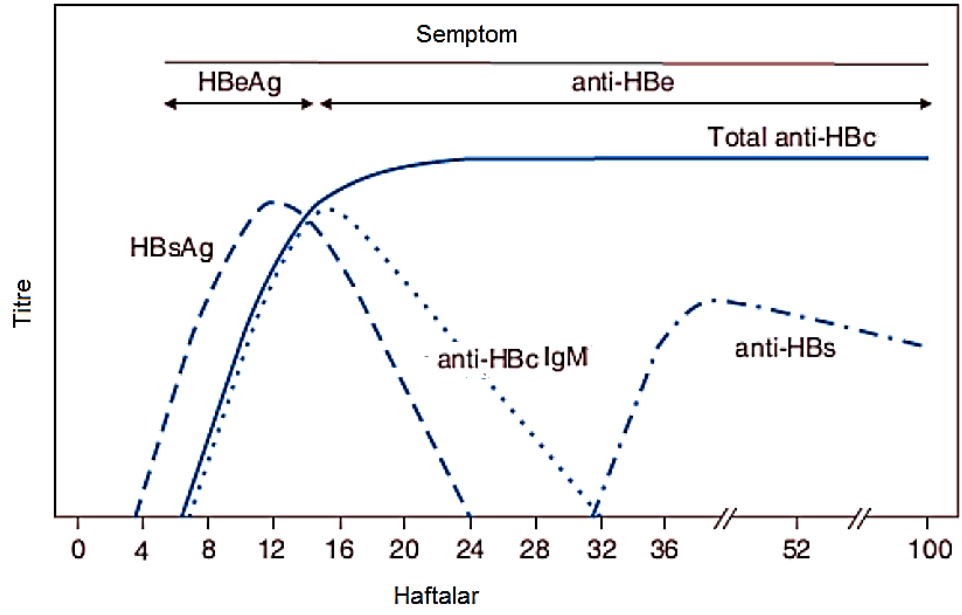
HBcAg: genellikle intranükleer yerleşimli olup **aktif hastalık döneminde** ve **aşırı replikasyon** gösteren olgularda sitoplazmada da yaygın olarak saptanabilmektedir. Ancak HBcAg'ye dolaşımda serbest olarak rastlanmadığından serumda varlığı tespit edilemez (34).

Anti HBc IgG: Hepatit B kor antijenine karşı oluşan antikordur. Klinik bulgularla beraber pozitifleşir. Serumda hayat boyu kalır. Akut enfeksiyonlarda, kronik enfeksiyonlarda ve taşıyıcılarda pozitif olabilir. Anti HBs ile beraber doğal olarak geçirilen enfeksiyona karşı gelişen bağışık yanıtı göstermektedir (8).

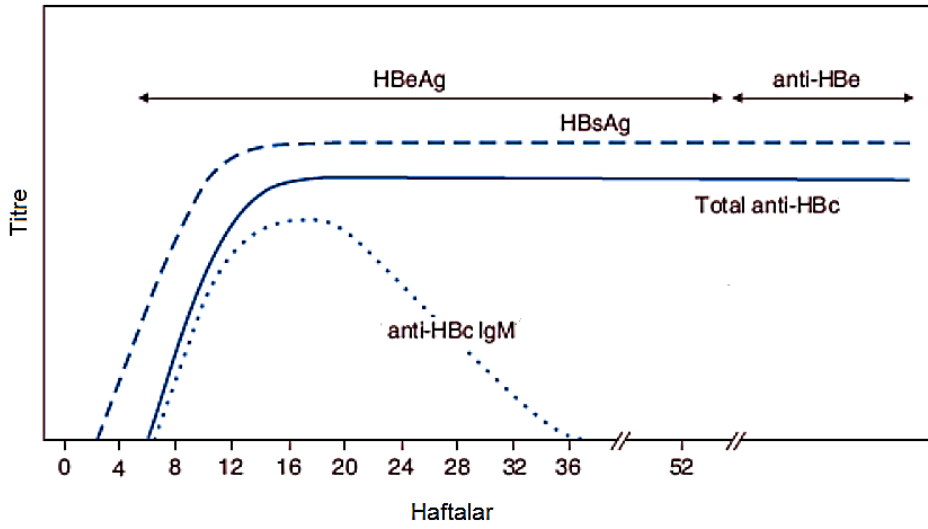
Anti HBc IgM: Hepatit B kor antijenine karşı oluşan IgM sınıfı antikordur. Klinik bulgularla pozitifleşir; 6-24 ay içinde negatifleşir. Akut veya yeni geçirilmiş enfeksiyonu gösterir (8). HBsAg'nin kaybolup anti HBs'nin belirlenemediği pencere döneminde pozitif olup akut enfeksiyonu gösteren en iyi serolojik belirteçtir (10).

Anti HBs: HBsAg'ye karşı oluşan antikordur. Geçirilmiş enfeksiyon ve aşılama sonucu oluşan bağışıklıkta pozitifleşir. Pencere dönemi sonrası koruyucu anti HBs antikorları belirir (8).

Anti HBe: HBeAg'ye karşı oluşan antikordur. Geçirilmiş enfeksiyon ve kronik enfeksiyonda pozitif olarak saptanır. Anti HBe pozitif olan kronik hastalarda genellikle HBV DNA düşük düzeyde ya da negatif olur (8).



Şekil 3. İyileşme ile sonuçlanan akut HBV enfeksiyonu (35).



Şekil 4. Akut HBV enfeksiyon sonrası kronik HBV enfeksiyonuna ilerleme (36).

KHB enfeksiyonunda 6 ay süren HBsAg pozitifliğinin yanı sıra Anti HBs negatifliği ve Anti HBc total/IgG pozitifliği görülmektedir. HBeAg pozitif bir hastanın HBV DNA'yı kaybederek Anti-HBe pozitif hale kendiliğinden ya da antiviral ilaç tedavisi ile gelmesi, tedaviden sonra oluşması istenen bir durumdur (8).

Moleküler tanı yöntemleri, HBV'nin tespitinden, genotiplerin belirlenmesi ve antiviral direnç genlerinin gösterilmesine kadar birçok amaçla yüksek doğrulukla kullanılmaktadır. Ancak özellikle kantitatif olarak viral yükün belirlenebilmesi, HBV tedavisini yönlendirmede büyük katkılar sağlamıştır.

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time PCR (RT-PCR)) yöntemlerinin geliştirilmesi, tanısal mikrobiyolojinin her alanında olduğu gibi HBV tespitinde de oldukça avantaj sağlamıştır. Klasik nükleik asit çoğaltma yöntemlerinden daha duyarlı ve hızlı olan RT-PCR yöntemlerinde, ampikonun analizi için reaksiyonu tüpünün açılması gerekmediğinden çapraz kontaminasyon riski daha düşüktür. Çoğaltılan ampikonlar bu yöntemlerde; floresan işaretli probaların kullanıldığı TagMan, molecular beacons, Scorpions gibi yöntemler ile özgül olarak, SYBR-Green 1 ve etidyum bromür gibi DNA'ya bağlanabilen boyalar ile özgül olmayarak gösterilebilir. Farklı floresan moleküllerin, farklı dalga boylarında ışıma yapmaları birden fazla hedefin saptanabildiği multipleks PCR uygulamalarına da olanak sağlamaktadır (8).

Patolojik değerlendirmede karaciğer biyopsisi nekroinflamasyon ve fibroz değerlendirme kullanılabilmektedir. Karaciğer sertliğini **radyolojik olarak**

değerlendiren yöntemler (transient elastografi (TE), MR elastografi) fibroz evrelemede en duyarlı noninvaziv testlerdir. Bunlar arasında en yaygın kullanılanı TE'dir. Daha düşük sensitivite ve spesifitesiyle, orta düzeyde tanı doğruluğuna sahip olan APRI (Aspartat aminotransferaz to platelet ratio) ve FIB-4 (fibrosis index based on the four factors) karaciğerde fibroz ve nekroinflamasyonu değerlendiren direkt ve indirekt serum belirteçleridir (33, 37).

2.2. Hepatit C

2.2.1. Virüs ve Genom Yapısı

HCV, *Flaviviridae* ailesindeki *Hepacivirus* cinsinin tek üyesidir. Yaklaşık 50 nm çapında küresel yapılı zarflı bir viral partiküle sahiptir. Tek iplikli ve pozitif polariteli RNA genomu yaklaşık 9600 nükleotid uzunluktadır. Bu RNA genomu bir çekirdek ve glikoproteinler ile sarılmış bir lipidden meydana gelen 30-35 nm çapında bir kapsit yapısı ile çevrilidir. Genomun 5' ve 3' uçlarında herhangi bir proteini kodlamayan (NCR: non-coding region ya da UTR: untranslated region) ancak viral proteinlerin translasyonunda ve viral replikasyonda görev alan bölgeler bulunmaktadır. IRES (internal ribosomal entry site) adı verilen ve viral genomun ökaryotik ribozomun 40S alt ünitesine tutunduktan sonra başka bir translasyon başlatıcı sinyale gerek duymaksızın ribozom tarafından okunmasını sağlayan bölge 5'NCR içinde yer almaktadır. Genomun her iki ucunda yer alan bu kodlanmayan bölgelerin arasında virüsün yapısal ve yapısal olmayan proteinlerini kodlayan bölge yer almaktadır. Bu kısım viral poliproteini kodlayan tek bir açık okuma

çerçevesinden (ORF) oluşmaktadır. ORF'nin bitiminden hemen sonra başlayan 3'NCR yaklaşık 80 baz uzunluğunda bir poly (U/UC) segmenti ve iyi korunmuş X kuyruk bölgesi içermektedir. Son iki bölge RNA replikasyonu için gereklidir. 5'NCR ve 3'NCR'nin X kuyruk bölgesi genomun en korunmuş bölgeleridir (8, 38).

2.2.2. Dünya'da ve Türkiye'de HCV Enfeksiyonu

HCV enfeksiyonu dünya genelinde yaygın morbidite ve mortalite nedenidir. Aşısının bulunmamasına rağmen, yeni çıkan antiviral ajanlarla HCV'nin 15-20 yıl içinde eradike edilebileceği tahmin edilmektedir. Son 20 yılda gelişmiş ülkelerde HCV enfeksiyonu sıklığı önemli ölçüde azalsa da, HCV'ye bağlı karaciğer hastalıklarından ölümlerde artış olmuştur (39).

DSÖ 2017 raporuna göre dünyada tahmini olarak 71 milyon kronik HCV enfeksiyonlu kişi vardır. DSÖ'ye göre 2015 yılında 1,75 milyon yeni HCV enfeksiyonu ortaya çıkmıştır. Yaklaşık 399.000 kişi her yıl hepatit C kaynaklı siroz ve HCC nedeniyle ölmektedir (6, 30).

Dünya genelinde HCV enfeksiyon prevalansında önemli derecede heterojenite vardır. Dünyada hemen hemen tüm ülkelerde görülmektedir. DSÖ verilerine göre Doğu Akdeniz ve Avrupa Bölgelerinde prevalans en yüksek olup sırasıyla %2,3 ve %1,5'tur. Diğer ülkelerde HCV prevalansı %0,5 ve %1 arasında değişmektedir. Doğu ve Orta Asya ile Kuzey Afrika/ Ortadoğu yüksek prevalansa (>%3,5); Güney ve Güneydoğu Asya, Sahraaltı Afrika, Orta ve Güney Latin Amerika, Karayipler, Avustralya ve Avrupa'nın büyük kesimi orta prevalansa

(%1,5-35); Asya Pasifik, Tropikal Latin Amerika ve Kuzey Amerika düşük prevalansa ($\leq$ %1,5) sahip bölgeler olup coğrafi olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir (40).

Türkiye’de HCV prevalansı ile ilgili veriler kan merkezi ve toplum taramalarından edinilmiştir. Ülke genelinde Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği’nin 2008-2011 yılları arasında yaptıkları çalışmada anti-HCV pozitifliği %0,95 olarak bulunmuştur. Viral Hepatitle Savaşım Derneği’nin saha çalışmasında anti-HCV pozitiflikleri 2008-2011 yılları arasında % 0,4-0,7 olarak tespit edilmiştir (41). Hemodiyaliz hastaları, böbrek transplantasyonlu hastalar ve periton diyalizi yapılan hastalar anti-HCV pozitifliğinin en yüksek olduğu gruptur. Hepatit C açısından önemli bir risk grubu ve rezervuar olan bu hastalarda Nefroloji ve Transplantasyon Derneğinin çalışma raporuna göre anti-HCV pozitifliği hemodiyaliz hastalarında %8,5, böbrek transplantasyonlu hastalarda %8,4 ve periton diyalizi yapılan hastalarda %4,5 olarak saptanmıştır (41).

2.2.3. İmmünopatogeneze

HCV insan vücuduna girdiğinde önce doğal immün sistem devreye girmekte ve Tip 1 IFN üretimi ve antiviral hedef genlerin aktivasyonu gerçekleşmektedir. Ancak doğal immün sistem yeterli gelmemekte ve inkübasyon döneminde HCV karaciğerde çoğalmaya devam etmektedir. Haftalar sonra edinsel immün sistem devreye girmektedir. Edinsel immün sistemin gücü ve kalitesi HCV ilerlemesini belirlemede oldukça önemlidir. Karaciğerde HCV spesifik CD8+

sitotoksik T hücreleri ve CD 4 T helper hücrelerinin aktivasyonunda ani azalma kronikleşmenin belirtisidir (42).

2.2.3.1. Doğal İmmün Yanıt

Viral enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattıdır. Doğal immün sistemin hücresel komponentlerinin düzenlenmesi ve aktivasyonunda ve antiviral yanıtın indüklenmesinde **interferonlar** kritik rol oynamaktadır (42).

İnterferon ile uyarılmış genlerin (ISG) güçlü uyarımına rağmen doğal immün yanıt HCV'nin tamamen temizlenmesi için yeterli değildir. Ayrıca HCV enfekte ettiği hücrelerdeki antiviral efektör proteinlerin ekspresyonunu ve işlevini inhibe edebilmektedir (42).

2.2.3.2. Kronik Hepatit C enfeksiyonunda konak immün yanıtı

Kronik HCV enfeksiyonunda ISG ekspresyonu

Kronik HCV enfeksiyonunda virüs henüz tam bilinmeyen mekanizmalarla doğal ve kazanılmış immün yanıttan kaçmaktadır (42).

ISG indüksiyonu bireyler arasında önemli farklılıklar göstermektedir. IFN sisteminin aktivasyon düzeyini belirleyen diğer faktörlerle ilgili bilgilerimiz sınırlıdır (42).

Tüm diğer IFN subtiplerinin aksine, IFN λ 1, IFN λ 2, IFN λ 3 ve son zamanlarda tespit edilen IFN λ 4 messenger RNA (mRNA) karaciğer biyopsilerinde

tespit edilebilmektedir. Tespit edilen düşük mRNA miktarının, kronik HCV enfeksiyonunda ISG'lerin indüksiyonu için yeterli biyoaktif protein üretip üretmediği bilinmemektedir. IFN λ sinyalleri, kronik hepatit C (KHC) hastalarında temel ISG indüksiyonunun güçlü adaylarındandır (42).

2.2.3.3. Edinsel immün yanıt

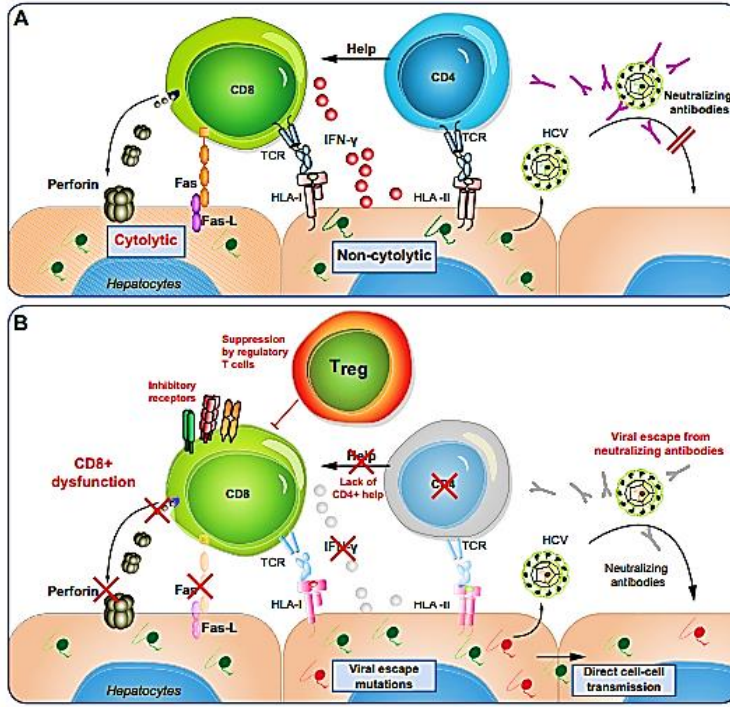
Kronik HCV enfekte hastaların büyük bir kısmı HCV spesifik nötralizan antikor ve T hücre cevabına rağmen persiste kalmaktadır. T hücre cevabı karaciğer hastalığının ilerlemesine neden olabilmektedir. Edinsel immün yanıtın başarısızlığına neden olarak çeşitli mekanizmalar ortaya atılmaktadır (Şekil 5). Örneğin, viral türümsüler (Quasispecies) yeteneği, nötralizan antikor ve T hücre cevabından kaçışı desteklemektedir (43). HCV glikoproteinlerinin yüksek dansiteli lipoprotein ve scavenger reseptör B1 (SCARB1) ile etkileşimi nötralizan antikorlardan korunmayı sağlayabilmektedir (44). HCV'nin hücreden hücreye transfer yoluyla nötralizasyondan kaçtığı da belirtilmiştir (45, 46). HCV spesifik T hücre cevabının başarısızlığı, T hücre tükenmesi ve viral kaçış mutasyonları ile de ilgilidir.

Kronik HCV enfekte hastaların çoğunda, yine de, virüse spesifik T hücreleri karaciğerde oldukça zengindir (47). **Viral kaçış mutasyonları HCV kronisitesi ile; kaçış mutasyonlarının olmaması viral klirens ile ilişkili görünmektedir.** Viral kaçışa, sınırlı CD 4+ T hücre cevabı, T hücre reseptör çeşitliliğinin sınırlı

olması, CD 8+ T hücrelerin fonksiyonel değişimi, belli viral bölge mutasyonları neden olabilmektedir (42).

Kronik HCV enfeksiyonunun en belirgin özelliği, antiviral sitokin salgılama ve proliferasyon yeteneği bozulmuş CD8+ T hücrelerinin varlığıdır. T hücrelerindeki azalma, PD-1, CTLA-4, TIM-3 gibi inhibitör reseptörlerin upregülasyonu ve CD127'nin düşük ekspresyonu ile ilişkilidir. Yüksek PD-1 ekspresyonu varlığında intrahepatik HCV spesifik CD8 + T hücreleri apoptozise uğramaktadırlar. CD4+ T hücre yardımının eksikliği veya Treg (T regülatör) veya sitokinlerin etkileri de virüs spesifik CD8+ T hücrelerinin tükenmesine katkıda bulunmaktadır. Kronik HCV enfeksiyonlarda HCV spesifik CD4+ T hücre cevabının zayıf olduğu gözlenmiştir (42).

Bu sonuçlar, birkaç farklı mekanizmanın HCV'ye spesifik T hücre işlev bozukluğuna katkıda bulunduğunu ortaya koymaktadır; ancak, bu farklı yolların her birinin göreceli katkısının gelecekte netleştirilmesi gerekmektedir. Antiviral tedavinin katkısı da net değildir. Akut enfeksiyonda Peg-IFN tip I tedavisi, virüse spesifik CD8+ T hücre fonksiyonlarını düzeltir; kronik enfeksiyonlarda Peg-IFN tip I tedavisinin CD8+ T hücrelerinin fonksiyonuna katkısı olmamıştır. Aynı zamanda, IFN içermeyen direkt antiviral tedaviler CD8+ T hücre fonksiyonlarını düzeltmektedir. Farklı antiviral adaylarla yapılan daha ileri çalışmalarında doğrulanması gerekmesine rağmen, bu sonuçlar devam eden replikasyonun doğrudan HCV'ye özgü CD8 + T hücre başarısızlığına katkıda bulunabileceğini göstermektedir (42).



Şekil 5. Virüse özgü CD8+ T hücrelerin başarısı ve başarısızlığı (42).

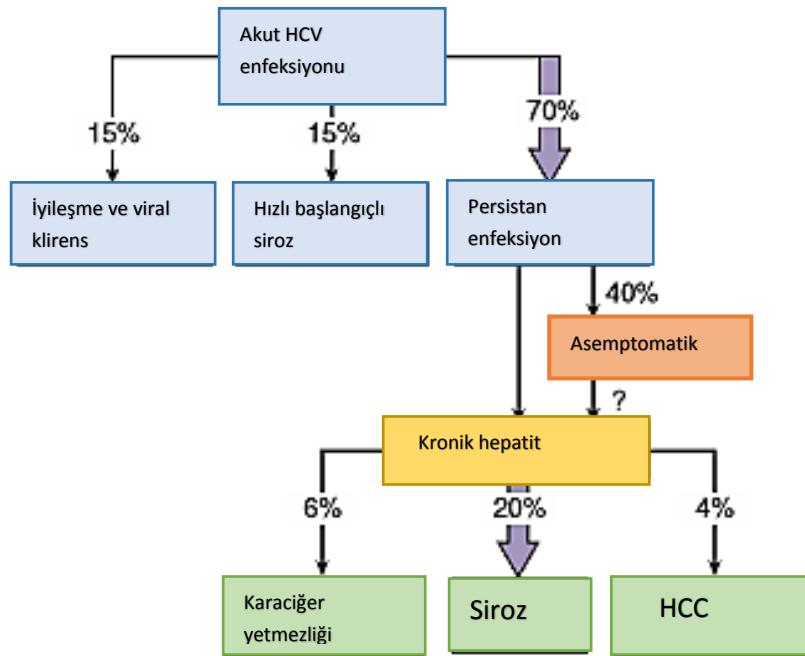
- A.** CD8+ T hücreler sitolitik (perforin) ve non sitolitik mekanizmalarla (IFN-γ) viral replikasyonu inhibe etmektedir. CD4+T hücre yardımı gerekmektedir. Nötralizan antikorlar virüsün hepatositleri enfekte etmesini uyatabilmektedir
- B.** HCV enfeksiyonunda viral kaçış inhibitör reseptörlerin uyarılmasına bağlı T hücre tükenmesi gibi birçok farklı mekanizma ile edinsel immün yanıt başarısızlığa uğrayabilmektedir

2.2.4. Klinik Bulgular

HCV enfeksiyonlarının doğal seyri viral ve konağa ait faktörlere bağlı olarak kişiler arasında büyük farklılıklar gösterir. Akut HCV enfekte hastalar %50-90 asemptomatik olup %15'i kendiliğinden iyileşmekte, %70'inde virüs persiste kalmakta ve kronik enfeksiyon gelişmektedir. Kronik fazda kendiliğinden HCV klirensi zordur; 10-40 yılda hastaların %20'sinde siroza ilerleme olabilmektedir.

Hastalarda karaciğer yetmezliği (%6) ve HCC (%1-4) gelişme riski artmaktadır (Şekil 6) (10, 42, 48).

Kronik HCV ve kompanse sirozda karaciğer transplantasyonu olmaksızın 5 yıllık sağkalım iyi olmakla beraber (%80), dekompanse siroz (%50) ve HCC’de belirgin şekilde düşmektedir (49).



Şekil 6. Hepatit C enfeksiyonunun klinik sonuçları (10).

2.2.4.1. Akut Enfeksiyon

HCV maruziyeti sonrası doğal immün yanıtta kaçabilen virüsler için inkübasyon süresi 6-120 gün olup bu sürede ALT yükselmesi ve semptomların ortaya çıkışı görülmektedir. Klasik seyrinde **preikterik dönem** (transaminazlarda artış ve prodromal belirtiler, 1-2 hafta), **ikterik dönem** (sarılık, 4-6 hafta) ve

iyileşme dönemi ile enfeksiyonun doğal seyri tamamlanır. Hastaların %75'inde asemptomatik seyir görülürken, akut enfekte hastaların %80'i kronik HCV enfeksiyonuna ilerlemektedir. Viral ve konağa ait faktörler kronikleşmede çok önemlidir (Tablo 1). Virüse maruziyetten 1-2 hafta sonra HCV RNA kanda saptanmakta ve bunu ALT, AST, bilirubin seviyelerinde yükselme izlemektedir. HCV antikorları (anti-HCV) genellikle 8 haftadan sonra pozitifleşir ve akut ile kronik hepatiti birbirinden ayırmada kullanılamaz. Akut HCV enfeksiyonu tanısında altın standart, daha önce negatif olan anti-HCV'nin pozitifleşmesi, HCV RNA pozitifliği ve ALT yüksekliğidir (10, 30, 50).

2.2.4.2. Kronik Enfeksiyon

Kronik HCV enfeksiyonu 6 aydan daha uzun süreli HCV RNA pozitifliğidir. HCV enfeksiyonu bir kez kronikleşince genellikle on yıllarca devam etmektedir. Serum HCV RNA seviyeleri sabit; serum ALT seviyeleri semptomlardan bağımsız olarak dalgalanma göstermektedir. Karaciğer biyopsilerinde inflamasyon derecesi de zamanla değişmektedir. Hastaların %20'sine yakınında zamanla siroza ilerleyen fibrozis gelişmektedir. Nekroinflamatuvar karaciğer hasarı, fibrozisin derecesi, serum ALT düzeyi ve serum HCV RNA düzeyi arasında zayıf ilişki vardır (30, 49).

Kronik HCV enfeksiyonunun doğal seyri üzerine etkili birçok faktör vardır (Tablo 2). Viral faktörler (genotip, subtipler ve quasispecies) ve konak faktörleri (bulaş şekli, semptomların varlığı veya yokluğu, başlangıç immün cevabı) hastalığın doğal seyrinde rol oynamaktadırlar (48, 49).

Kronik persistan hastalık, 10-15 yıl içerisinde kronik aktif hepatite, 20 yıl sonra ise siroza (kronik vakaların %20'si) ve karaciğer yetmezliğine (sirozlu olguların %20'si) ilerlemektedir (10).

Tablo 1. HCV enfeksiyonunun kronikleşmesiyle ilgili faktörler (49)

Akut HCV enfeksiyonunun asemptomatik seyri
İleri yaş
Erkek cinsiyet
Siyah tenli olmak
İmmüsupresyon
Koenfeksiyon
Genotip 3 dışı genotip
<i>IL-28B</i> polimorfizmi
Akut HCV sırasında
Yüksek viral yük
HCV yapısal proteinlerine karşı nötralize eden antikorların yüksek düzeyde olmaması
HCV bağlandıktan sonra hücre girişini nötralize edecek konak yanıtının olmaması
HCV'ye özgü CD4 Thücre yanıt sürekliliğinin olmaması

Tablo 2. Kronik HCV'de fibrozis gelişimi üzerine etkili faktörler (49)

Başlangıç fibrozisinin ileri olması
İleri yaş >40
Alkol kullanımı
Koenfeksiyon (HBV,HIV)
İmmüsupresyon
Metabolik karaciğer hastalığı
İnsülin rezistansı, nonalkolik steatohepatit, diabetes mellitus, obezite, kilo alımı, hiperlipidemi
Sigara kullanımı
Serum ALT düzeyinin yüksek seyretmesi
Erkek cinsiyet

2.2.5. Kronik Hepatit C Enfeksiyonunda Tanı

2.2.5.1. Genel laboratuvar testleri

Biyokimyasal testler: ALT, AST, GGT, ALP, albumin, globulin, total bilirubin. Tanıda biyokimyasal yöntemlerle karaciğer hasarının gösterilmesi önemlidir. Serum transaminazlarının yüksek olması genellikle inflamasyon ve fibrozis ile uyumlu olmakla birlikte, normal olması karaciğer hasarını dışlamaz (33).

Hematolojik testler: Tam kan sayımı, Protrombin zamanı (33)

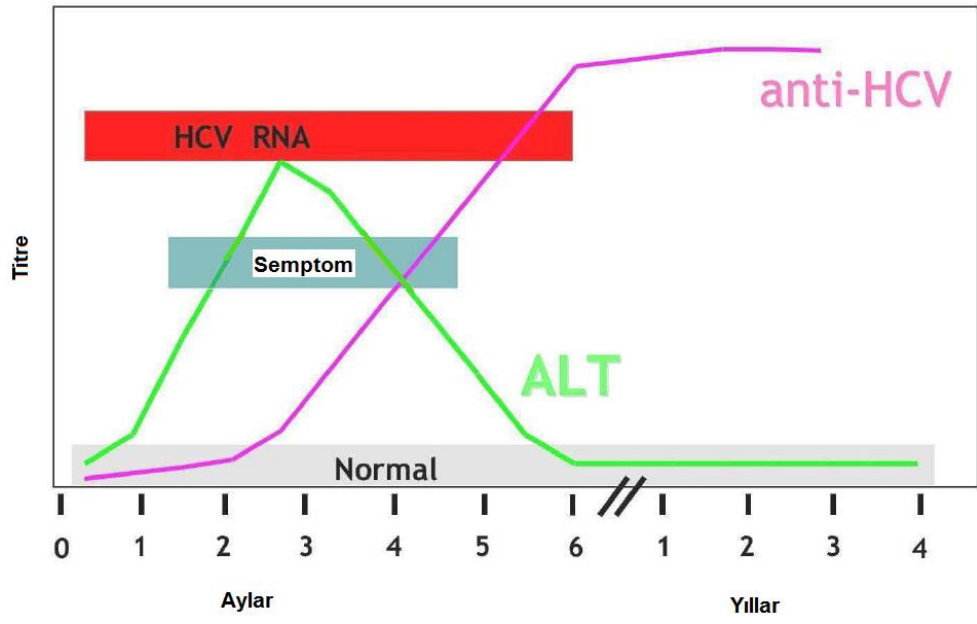
2.2.5.2. Serolojik Testler

Anti HCV: Tanımlanmış risk faktörü saptanan olgularda tarama testi olarak kullanılır. Anti HCV testi için 3. veya 4.kuşak ‘Enzim İmmünoassay’ (EIA) testleri kullanılmalıdır. Rekombinant olarak elde edilen kor, NS3, NS4, NS5 antiijenlerine karşı serumda antikor araştırılır; semikantitatif ölçüm yapar ve sonuçlar negatif ya da pozitif şeklinde verilir. 3.kuşak EIA testlerinin anti HCV saptama duyarlılığı ve özgüllüğü >%99’dur. Bu test virüs alındıktan sonra ilk 3-4 hafta süresince ve bağışıklığı baskılanmışlarda negatif bulunabilir. Bu nedenle belli hasta gruplarında HCV RNA çalışılması daha doğrudur. Anti-HCV, kişi HCV ile karşılaştıktan sonraki en erken 8.haftada pozitifleşir, hastaların çoğunda 2 ile 6 ay arasında pozitifleşmektedir. HCV’ye karşı gelişmiş bu antikorlar koruyucu değildir. Anti-HCV pozitifliği uzun yıllar pozitif kalır, kendiliğinden ya da tedavi ile HCV’nin klirensinden sonra giderek azalır 5-20 yıl sonra kaybolabilir (33, 49).

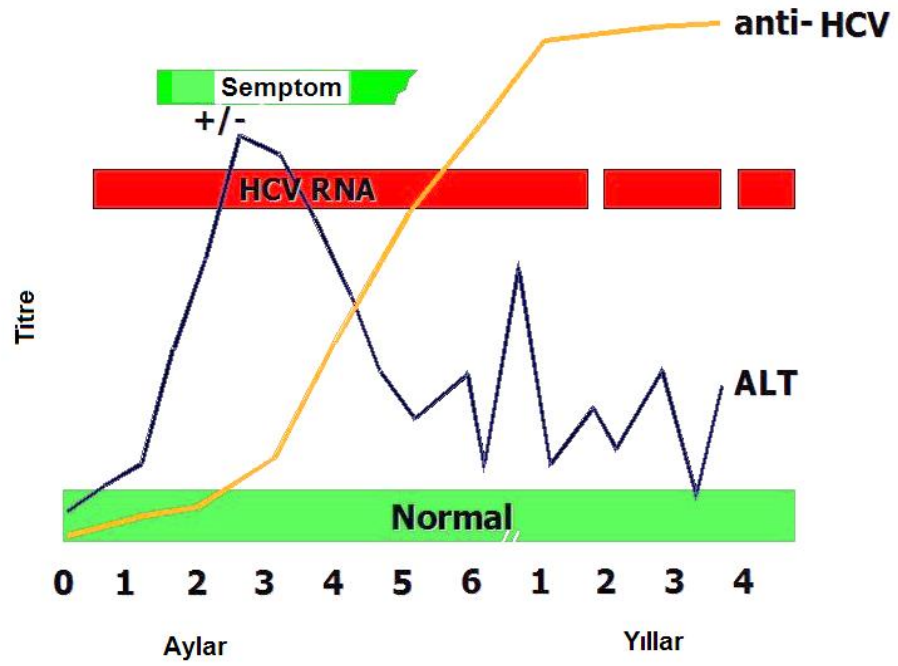
2.2.5.3. Virolojik Testler

HCV RNA (Gerçek zamanlı PCR): Virüs alındıktan 1-2 hafta içinde genellikle saptanmaktadır. Viremiyi göstermek açısından kalitatif RNA testleri yeterli olmakla birlikte, tedavi planlanan hastalarda ve tedavi takibinde HCV RNA kantitatif olarak belirlenmelidir. RT-PCR, dallı zincirli PCR ve benzer tekniklerle genomun tespiti ve kantitasyonu, HCV tanısının doğrulanması ve antiviral ilaç tedavisinin başarısının izlenmesinde altın standarttır. Genetik yöntemlerin suşa özgüllüğü daha azdır ve seronegatif kişilerde HCV RNA'sını tespit edebilmektedir. Tedavi alan hastaların çoğunda 6 ay içinde HCV RNA negatifleşmektedir (Şekil 7) (33, 51).

En az 6 aydır anti-HCV ve HCV-RNA pozitifliği olan kişilerde KHC tanısı konulur. Bazı KHC olgularında tek başına HCV-RNA pozitifliği olabilir (Şekil 8) (33).



Şekil 7. İyileşme ile sonuçlanan akut HCV enfeksiyonu (52).



Şekil 8. Akut HCV enfeksiyon sonrası kronik HCV enfeksiyonuna ilerleme (52)

Viral genotip testleri: Tedavi süresi ve tedaviye yanıt olasılığını belirlemek için tedavi öncesi genotip ve subtip tayini yapılmalıdır (33).

2.2.5.4. Radyolojik Testler (Ultrasonografi)

2.2.5.5. Fibrozis evresinin belirlenmesi

Başlangıçta noninvazif metodlarla (Fibroscan Elastografi, MRI elastografi Biyomarkerlar (Fibrotest, APRI vb.) saptanmaktadır. Fibrozis derecesi noninvaziv yöntemlerle saptanamayan (yapılamadığı veya klinik durumla uyumsuz sonuçlandığı durumlarda) veya ilave etyolojisi olan hastalarda karaciğer biyopsisi önerilmektedir (33, 49).

2.3. Sitokinler

Sitokinler, küçük proteinler (5-20 kilodalton (kDa) ağırlığında) olup yüksek afiniteli reseptörlerine bağlanarak, parakrin ve otokrin tarzda bölgesel etki gösteren hücre içi sinyal proteinleridir. Makrofajlar, lenfositler, mast hücreleri, endotelial hücreler, fibroblastlar ve stromal hücreler sitokin sentezleme kapasitesine sahiptir. Genellikle çakışan fonksiyonlara sahip olup, birçok sitokin tek bir etkinlik gösterirken; tek bir sitokin birden fazla hücre tipine etki ederek çok sayıda etkinliğe neden olabilmektedir. Bir sitokin, diğer sitokinlerin sentezini etkileyebilmektedir. Sitokinler immün yanıtta ihtiyaç duyulduğunda üretilmektedirler ve depolanmazlar. Sentezleri gen transkripsiyonu tarafında başlatılır ve mRNA'ları kısa ömürlüdür.

Sitokinleri kodlayan genler, birbirinden çok az farklı ama biyolojik olarak önemli aktiviteye sahip proteinler elde etmek için varyantlar üretebilmektedirler. Enfeksiyon, inflamasyon, kanser ve travma durumlarında reseptörleri aracılığıyla konak immün cevabını düzenlemektedirler (11, 53, 54)

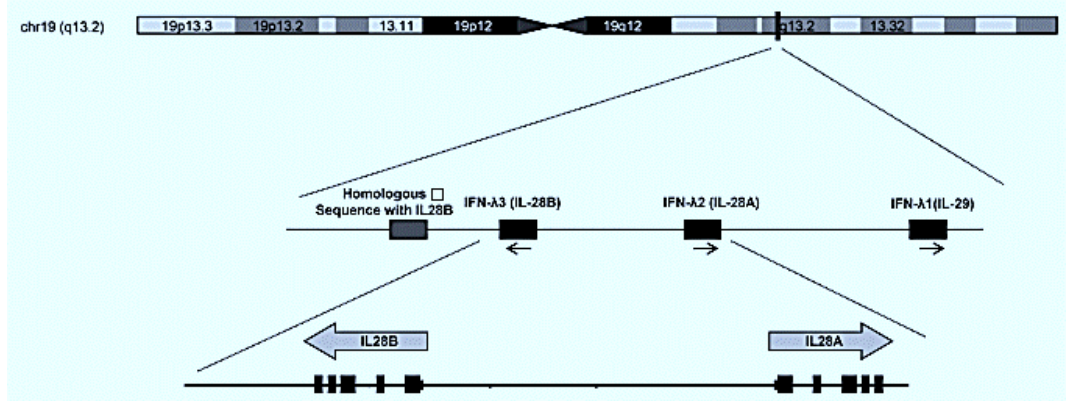
Sitokinler fonksiyonlarına veya kaynağına göre farklı kategoriler halinde gruplandırılabilirler. Doğal immün yanıtta TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, tip 1 interferonlar (IFN- α ve IFN- β) etkin sitokinler iken, kazanılmış immün yanıtta IL-2, IL-4, IL-5, TGF- β ve IFN- γ oldukça önemlidir. T helper 1 hücreler IL-2, IL-12, IFN- γ ve TNF- α sentezleyerek hücrel immün cevabı düzenlerlerken; T helper 2 hücreler tarafından salınan TGF β , IL-4, IL-10, IL-13 ve IL-28 gibi sitokinler humoral immün cevabın düzenlenmesinden sorumludur (11, 54).

Sitokinler paylaşılan yapısal homolojileri gözönüne alınarak ailelere sınıflandırılabilirler. IL-1 ailesi, Tip 1 sitokin (hematopoetin) ailesi, Tip 2 sitokin (interferon) ailesi, TNF ailesi, IL-17 ailesi ve kemokinler olarak sınıflandırılan altı ailenin üyeleri birbirine homoloji gösteren reseptörlere bağlanmakta ve hücrel yanıtları etkin kılmak amacıyla benzer sinyal yollarını kullanarak biyolojik etkilerini gerçekleştirmektedirler (53).

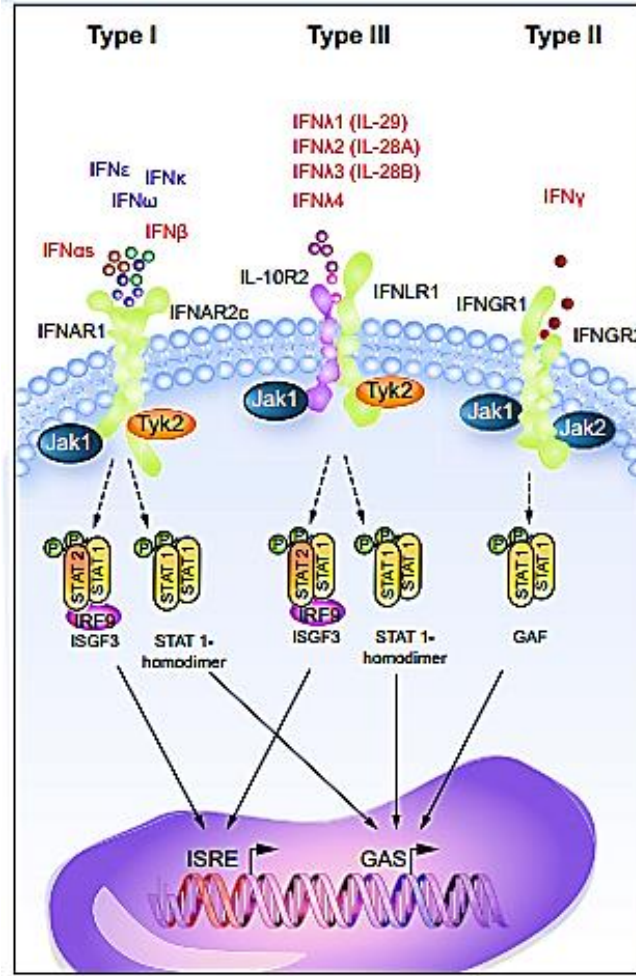
HBV enfeksiyonlarında birçok sitokin görev almaktadır. IL-28, IL-10 gibi sitokinler enfeksiyonun seyrini değiştirebilmektedirler. Her ne kadar bu sitokinlerin enfeksiyon patogeneziindeki rolleri tam olarak bilinmese de kronik HBV enfeksiyonu ile önemli sitokinleri kodlayan genlerdeki polimorfizm arasındaki ilişki araştırılmaktadır (11).

IL-28B: Interlökin 28B (Interferon $\lambda 3$), *IL-28B* geni tarafından kodlanan sınıf 2 sitokindir. *IL-28A*, *IL-28B* ve *IL-29* genleri kromozom 19q13 olarak haritalanan kromozomal bölgede yerleşik olup birbiriyle ilişkili sitokinleri eksprese etmektedirler. IFN λ proteinleri, *IL-28A*, *IL-28B* ve *IL-29* genleri tarafından kodlanır (Şekil 9). IL28, IL-28A reseptörü (IFN λ R1) ve IL10RB (receptor binding) reseptörüne bağlanarak tip 1 IFN ve IL-10 ailesi arasında da ilişkiyi sağlayabilir. Tip III interferonlar (IFN $\lambda 1$ (IL29), IFN $\lambda 2$ (IL-28A) ve IFN $\lambda 3$ (IL-28B) şeklinde adlandırılan) virüsle enfekte hücreler ve doğal immün sistemin merkezi hücreleri makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından üretilmektedir. Viral enfeksiyonlar bu gen ailesinin ekspresyonunu uyarabilmektedir. Bu IFN'ler ortak reseptör sinyali üzerinden iletimi sağlamaktadırlar. Viral enfeksiyonlar da virüse ait patojenle ilişkili moleküler patternler (PAMP) ile uyarılan TLR bağımlı yolak ve RIG-1'in uyardığı sitozolik yolak anahtar transkripsiyon faktör NF- κ B ve interferon regülatör faktör (IRF) 3'ü uyarmaktadırlar. Aktif haldeki NF- κ B ve IRF3, Tip 1 ve 3 IFN genlerinin promoterlerinde yanıt elementlerine bağlanmaktadır. IFN'lar, yüzlerce genin transkripsiyonel olarak aktive edilmesiyle antiviral etkiye neden olmaktadır. IFN'lar hücre yüzeyinden nükleusa sinyaller göndermek için JAK-STAT yolağını kullanmaktadır. Tüm IFN'lar STAT1'i uyarak ISG'leri aktive etmektedirler. Tip I ve III IFN'lar ayrıca STAT1, STAT2 ve IRF9 yolağını içeren *interferon ile uyarılmış gen faktör 3 (ISGF3)*'ü aktive ederek *interferon ile uyarılmış yanıt elementlerine (ISRE)* bağlanmaktadır (Şekil 10). IFN λ 'lar, kronik hepatit hastalarında ISG uyarımı açısından oldukça önemlidir. Viral

enfeksiyonlarda mononükleer hücrelerin IL-28 ve IL-29 üretimini tetiklediğini ve bunun da viral enfeksiyona karşı koruma sağladığını gösterilmiştir (8, 11, 42).



Şekil 9.Kromozom 19 üzerinde IFNλ genlerinin lokalizasyonu (55).



Şekil 10. IFN sinyalizasyonu ve JAK-STAT yolağı (42).

2.4. Polimorfizm

2.4.1. Genome Genel Bakış

Ortalama 75-100 trilyon hücreye sahip olan yetişkin bir insanın her bir somatik hücresi, bir haploid seti anneden (22+X/X), bir haploid seti babadan (22+X/Y) olmak üzere toplam 46 tane diploid (2n) sıkı paketlenmiş ‘kromozom’ denilen DNA dizisine sahip olup, organizmaya ait bu DNA dizi bilgisinin bütününe ‘genom’ denilmektedir (56). 22 tane otozomal kromozom ve 1 tane cinsiyet (X/Y)

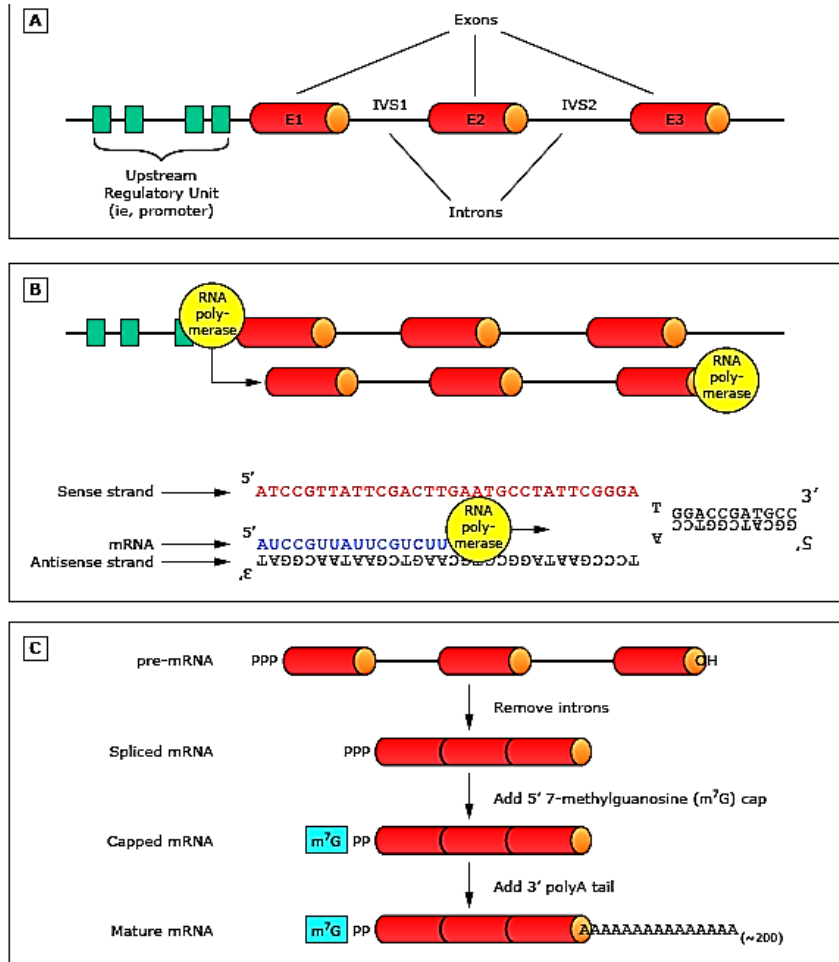
kromozomundan oluşan insan üreme hücrelerindeki (yumurta veya sperm) haploid genom, yaklaşık 3.5 milyar baz dizisine sahiptir. DNA yapısındaki bazlar Adenin (A), Timin (T), Guanin (G) ve Sitozin (S) olup, bir baz ve şekerin (deoksiriboz), bir fosfat grubuna bağlanmasıyla oluşan yapıya nükleotid denmektedir. Çift sarmallı ve lineer yapıda olan DNA molekülünde, birbirine anti paralel iki DNA ipliğindeki adenin timinle ve sitozin guaninle eşleşerek hidrojen bağlarıyla bir arada tutulmakta ve pH=4-11 arasında kararlı bir yapıda bulunmaktadır (57, 58).

Kalıtımın temeli olan ve DNA'nın en küçük birimini oluşturan gen, kromozomda birbiri ardına düzenlenmektedir. İnsan genomu ortalama 20.500 gen içermektedir. Bir genin topladığı bilginin bir protein molekülünde ifade edilmesine 'gen ekspresyonu' denilmektedir (56, 59).

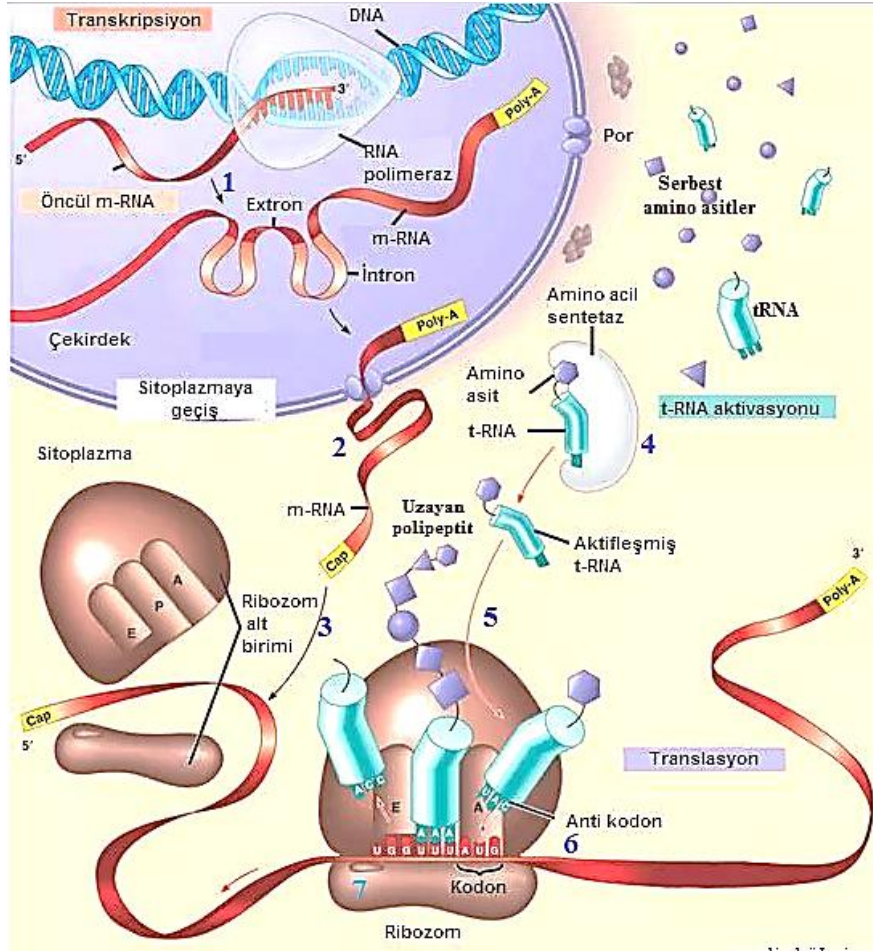
Protein aminoasitlerin oluşturduğu peptid dizilerinden meydana gelir. Aminoasitler bir merkezi karbon ile birbirine bağlı amino ve karboksil grubu içerir. İnsanda, merkezi karbon ile bağlantılı özel yan zincirlerle birbirinden ayırt edilebilen 20 farklı aminoasit türü vardır. Doğrusal polipeptid zinciri, bir aminoasitin amino grubunun diğerinin karboksil grubuna bağlanmasıyla oluşur. Her aminoasit kodon denilen üç ardışık baz tarafından kodlanır. Dört RNA bazı ve her bir kodondaki üç baz pozisyonu ile toplam 64 olası kodon vardır. Aminoasitlerin çoğu için birden fazla kodon bulunmaktadır. Ayrıca, UAA, UGA, UAG olmak üzere üç tane stop kodonu vardır. Normalde proteinin özgülüğünü belirleyen aminoasit sayısı ve sırasındaki değişiklik, proteinin net elektrik yükünü değiştireceğinden bu durum proteinin yapı ve fonksiyonuna *olumlu*, *nötr* veya *olumsuz* şekillerde yansiyabilir (57, 58).

DNA kalıbındaki genetik yazılımın RNA zincirine aktarılmasına **transkripsiyon** denir. Transkripsiyon işlemi, hedef genden birkaç yüz baz çifti yukarda bulunan *promotor* denilen spesifik DNA dizilerine *enhancer (arttırıcı)* ve *transkripsiyon faktörlerinden* oluşan başlangıç faktörlerinin bağlanmasıyla başlar. RNA polimeraz protein kodlayan mRNA'yı sentezlemek üzere bu bölgeye bağlanır. DNA dizisindeki adenin timinle; sitozin guaninle düzenli bir şekilde eşleşmektedir. DNA'ya ait iki iplikten sadece sense (5'-3') ipliği protein sentezlemek için DNA koduna sahiptir. Anti-sense DNA ipliği (3'-5') ise istenen RNA sentezi için kalıp olarak görev görür. Bir DNA dizisinden RNA sentezleme işlemi olan transkripsiyon, ekzonlar ve intronlardan oluşan doğrusal bir pre-mRNA zincirinin senteziyle sonuçlanır. Pre-mRNA'ya ait intronlar eksize edilir ve ekzon uçları splicing (birleştirme) denilen işlemle biraraya getirilir; 5' ucuna metillenmiş guanin (Gm-cap), 3' ucuna adenin zincirleri (poliadenilasyon) eklenir ve proteinler için olgun, kararlı mRNA oluşur. Bu olaya **RNA Processing (RNA İşlenmesi)** denir (Şekil 11). mRNA molekülü, protein sentezi için nukleustan endoplazmik retikuluma geçer ve burada protein sentezi için kalıp görevi görür. Bu olaya **translasyon** denir. Translasyon, ribozomal proteinlerin (ökaryotik inisiasyon faktörleri-eIFs) mRNA 5' ucuna bağlanmasıyla başlar. İlk aşamada, eIFs 1A ve eIF 3 başlatıcı faktörleri, 40S'lik ribozomal alt birime bağlanarak, GTP ile kompleks halde bulunan eIF 2 ve başlatıcı metiyonil tRNA'nın da bu komplekse dahil olması sağlanır. Ökaryotik mRNA ribozomal proteinler aracılığıyla ribozoma taşınır. 40S'lik ribozomal alt birim daha sonra AUG (Adenin, Urasil, Timin) başlatıcı kodonunu bulmak için mRNA molekülünü tarar. AUG başlatıcı kodonuna

ulaşıldığında, başlatıcı faktörlerin yardımıyla GTP hidrolizi tetiklenerek, 60S'lik ribozomal alt birim 40S'lik birim ile birleşerek 80S'lik başlama kompleksi oluşur. Ribozomun büyük alt ünitesinde bulunan P bölgesinde, metiyonin taşıyan tRNA yerleşmiş ve mRNA üzerindeki ilk kodon AUG ile eşleşmiş durumdadır. Bu esnada ribozomun A bölgesi ve buna karşılık gelen ikinci kodon boş durumdadır. Uygun amino-açıl tRNA, ribozomun A bölgesinde kodonla kompleks yapınca, yüksek enerjili GTP hidrolizi ile protein sentezi devam eder. Ribozom, aminoasitleri polipeptid zincirine ekler ve mRNA üzerinde bir kodon ilerler. Bu hareket esnasında ribozomun A bölgesinde bulunan peptidil tRNA P bölgesine gelir. Yüksüz RNA, P bölgesinden E bölgesine geçer. Ribozomun A bölgesi diğer amino-açıl tRNA'nın bağlanması için hazır hale gelmiş olur. Stop kodonuna kadar devam eden polipeptid zincir elongasyonu ribozomun A bölgesinde kesilir (Şekil 12) (57, 58).



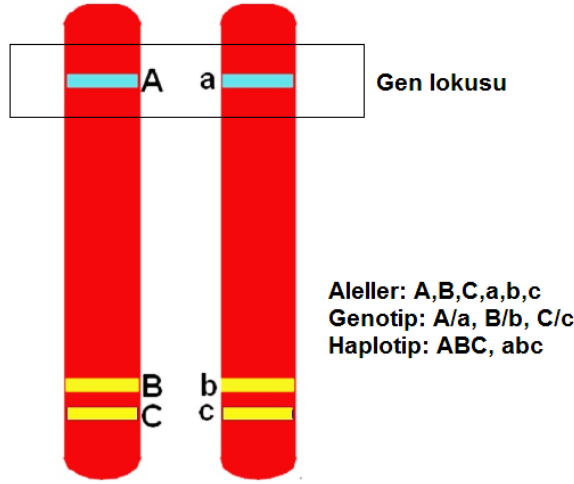
Şekil 11. A) Genomun yapısı B) Transkripsiyon C) Post-transkripsiyonel modifikasyon (57).



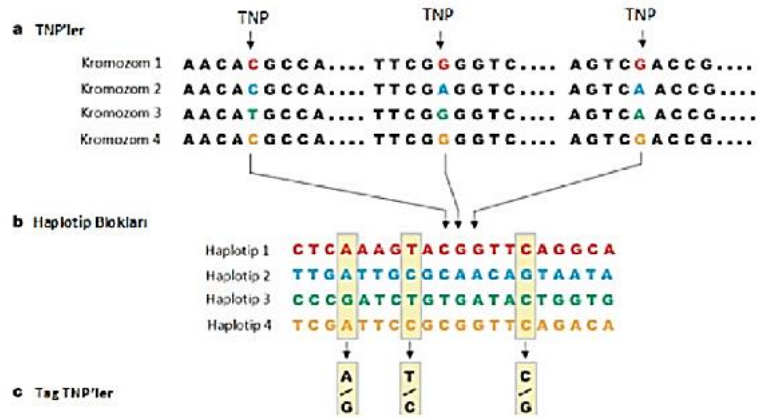
Şekil 12. Ökaryotik bir hücrede transkripsiyon ve translasyon(60).

Homolog (eş) kromozomlar üzerinde aynı bölgede yer alan, aynı genin kodlanmasından sorumlu birbirine alternatif DNA dizilerine ‘allel’ denilmektedir. Genlerin kromozomlar üzerindeki fiziki haritası ise ‘lokus’ olarak belirtilmektedir. Bir kişide belirli bir lokusta birbirinin aynı allellere sahip olunması *homozigotluk*, birbirinden farklı allellere sahip olunması ise *heterozigotluk* olarak isimlendirilmektedir. Kromozomlar üzerinde birbirleriyle sıkıca bağlı lokuslardaki allel kombinasyonları *haplotip* olarak ifade edilmektedir (Şekil 13,14). Haplotipler birbirlerine çok yakın yerleşimli olup, aralarında rekombinasyon büyük ölçüde

olası değildir ve bu lokuslardaki alleller sonraki kuşaklara birlikte aktarılmaktadır (57, 61, 62).



Şekil 13.Kromozom çiftinde allel, genotip ve haplotip modeli(63).



Şekil 2. TNP, Haplotype, Tag TNP

a. TNP'ler: 4 farklı insana ait aynı lokasyonda dört kromozomal bölgedeki TNP'ler. Dizinin çoğunluğu aynı olmasına rağmen varyasyonun olduğu 3 farklı baz gösterilmiştir. Her TNP 2 allel olasılığına sahiptir. 1. TNP'te C ve T allelleri mevcuttur.

b. Haplotype Blokları: Haplotype blokları yanyana TNP'lerin kombinasyonudur. Örnek olarak 20 TNP bloğu temsili olarak gösterilmektedir, panel a'daki 3 temsili TNP b'de işaretlenmiştir. Bu panelde popülasyon üyeleri genelde 1-4 haplotipini göstermektedir.

c. Tag TNP'ler: Bu 20 TNP içerisinde 3 tanesi 4 Haplotypei benzersiz olarak tanımlamaktadır. Eğer bir kromozomda A-T-C deseni var ise bu örnek haplotip1 olarak saptanır. (The International HapMap Project, December 2003).

Şekil 14. TNP, Haplotype, Tag TNP(64).

Genomun yaklaşık %1,5’u gen kodlayan bölge olup, transkripsiyon ve translasyon ile eksprese edilen fonksiyonel DNA dizilerini oluşturmaktadır (57). İnsan Genom Projesinin 2003 yılında tamamlanması ve DNA temel baz dizisinin elde edilmesiyle herhangi iki kişinin genomunun %99,9 aynı olduğu, genomun ancak %0,1’inin bireyler arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir (64). Birçok gen için, genellikle bir popülasyondaki bireylerin çoğunda mevcut olan yabancı tip (wild-type) veya yaygın allel olarak isimlendirilen tek bir hakim allel vardır ki normal allel olarak da bilinmektedir (65).

2004 yılından sonra yeni nesil dizileme teknolojileri ile tüm genomdaki varyasyonların netleştirilebilmesi için büyük ölçekli genom dizilim verisine ihtiyaç duyulmuş ve bu amaçla ‘1000 Genom Projesi’ kapsamında beş ana popülasyon grubunda (Avrupa, Doğu Asya, Batı Afrika ve Amerika kökenli popülasyonlar) özellikle genomik bölgede yer alan %95’in üzerinde ve allel frekansı %1 ve üzerinde olan varyantların (polimorfizm) karakterizasyonu çalışılmıştır. Ayrıca DNA’nın kodlama bölgesinde %0,1’in altında olan allel frekansları da kataloglanmıştır (64).

2.4.2. Genetik Varyasyonlar

İnsan genomu, normal hücresel fonksiyonların devamı için gerekli tüm genetik bilgiye sahiptir. Bu nedenle, DNA diziliminin varyasyonları hücre ve organların normal fonksiyonunu etkilemenin yanı sıra bireyler arasında fiziksel özelliklerin değişimine de katkıda bulunur (57).

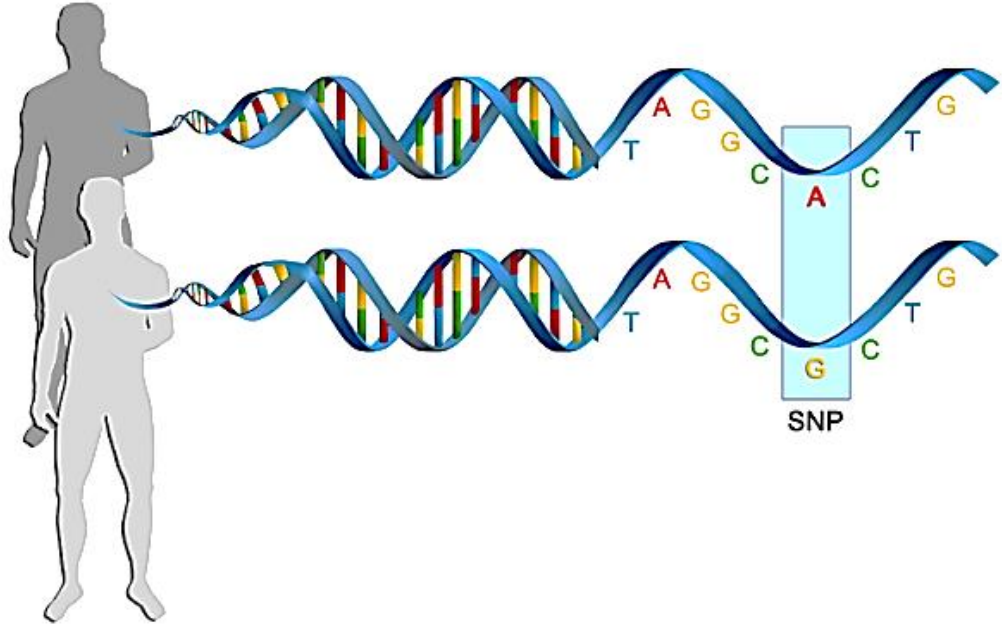
Sürekli hasar ve onarım döngüsünde olan genomik DNA'daki çoğu hasarlar çeşitli tamir mekanizmalarıyla onarılmaktadır. Tamir mekanizmalarındaki başarısızlık genetik varyasyonların çoğunun ana nedenidir (66).

Genetik varyasyonlar üç alt gruba ayrılabilir (57):

- Yapısal (kromozomal) varyasyonlar
 - Kopya Sayısı Varyasyonu (KSV)
 - Kromozomal Translokasyonlar ve İnversiyonlar
- Epigenetik varyasyonlar
- DNA dizilim varyasyonları
 - İnsersiyon ve Delesyonlar
 - Tekrar dizileri
 - Tek nükleotid polimorfizmi (TNP= Single Nucleotide Polymorphism SNP)

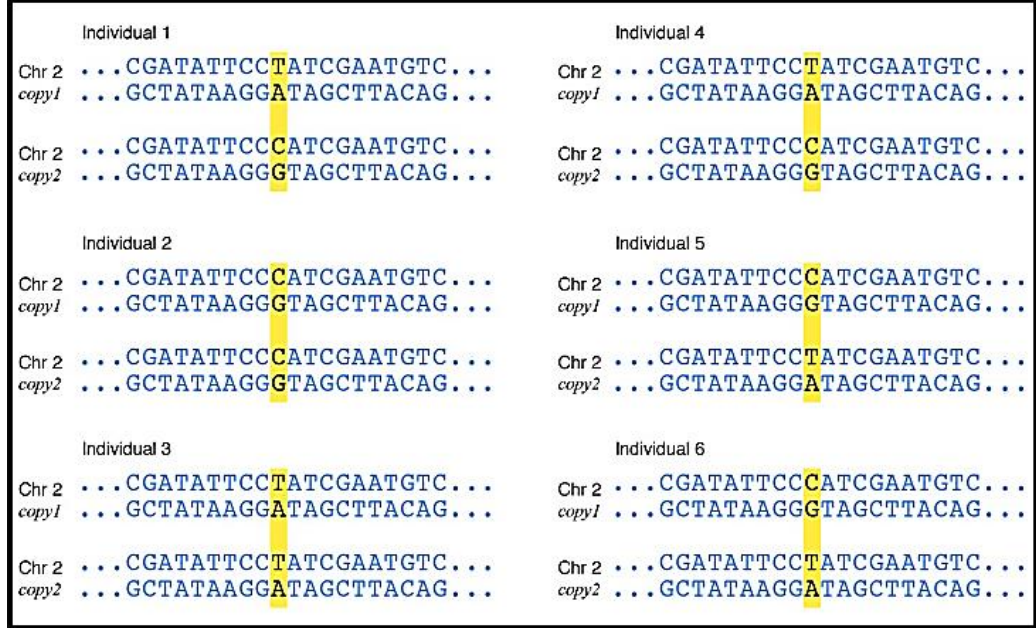
2.4.2.1. Tek nükleotid polimorfizmi (TNP=SNP)

Bir popülasyonda bir gen lokusunda iki veya daha fazla nispeten yaygın allel (frekansı % 1'in üzerinde olan allel) varlığında bu lokusta polimorfizm olduğu söylenir (Şekil 15,16). TNP'leri genomda en sık görülen DNA varyasyonları olup, ortalama olarak her 200 ila 300 baz çiftinde bir gözlenir, ancak TNP'lerinin genomdaki dağılımı eşit değildir (57-59, 66). Bununla birlikte, TNP olarak kabul edilen çoğu varyant allel popülasyonda yeterince sık olmayıp, bazıları sadece tek bir ailede bulunacak kadar nadirdir ve "özel" allel olarak bilinir (65).



Şekil 15. Tek Nükleotid Polimorfizmi (TNP-SNP)(67).

Mutasyon ve **polimorfizm** anlam olarak birbirine çok yakın olmakla birlikte popülasyonda %1 veya daha fazla sıklıkta görülen DNA dizi varyasyonları **polimorfizm** olarak, %1'den daha nadir olanlar ise **mutasyon** olarak sınıflandırılmaktadır, ancak bu varyasyonun ne tür bir değişikliğe neden olduğu, genomun ne kadar büyük bir kısmının bu değişikliğe dahil olduğu ve birey üzerinde kanıtlanabilir bir etkiye sahip olup olmadığı da bu ayrımın değerlendirilmektedir (58, 65, 66).



Şekil 16. Kromozom 2'ye ait bireyler arasında tek nükleotid polimorfizmi(68).

1000 Genom Projesi kapsamında beş atasal gruptan (Batı Afrika, Doğu Asya, Güney Asya, Avrupa ve Amerika) 26 popülasyondan 2500 kişinin genom dizileri açığa çıkarılmıştır. Sonuçta bu projede **81 milyon TNP**, 3,4 milyon insersiyon ve delesyon ve 68 bin daha büyük yapısal varyantlar olmak üzere farklı genomik varyantların kataloglanması sağlanmıştır. Farklı popülasyonlardan bireylerin nadir ve sık görülen varyantlarda farklı profiller taşıdığı ve düşük frekanslı varyantların dikkate değer oranda coğrafik farklılaşma gösterdiği belirlenmiştir (64, 69).

2.4.2.1.1. Tek nükleotid polimorfizm tipleri

Standart diziye sahip tek bir allelin olmadığı, standart kabul edilebilecek 2, 3 ve daha fazla referans DNA dizisi varlığında polimorfizm olarak kabul edilen bu

varyantlarının çoğunun zararsız olduğu düşünölmektedir. Ancak bunların içinde hastalığa yatkın hale getiren, ilaç duyarlılığını değiştiren patojenik varyantlar da vardır (66).

Genetik varyasyonlar, DNA'nın protein kodlayan ve kodlamayan bölgelerinde, ekzon-intron bağlantı bölgelerinde (splays bölge), promotor dizilerinde veya regölatör genlerde bulunabilir. Patojenik olan varyantlar, genellikle DNA'nın küçük bir kısmını kapsayan kodlama dizisinde ya da regölatör dizilerde görölmekle birlikte, doğrudan bir hastalığa neden olmaktan ziyade hastalığa yatkınlığı değiştirirler (66).

Yanlış anlamlı (missense) varyasyon: Bir protein kodlayan gen dizisindeki tek bir nükleotid değişimi kodlanan aminoasiti değiştirebilir (nonsinonim varyasyon) ya da değiştirmez (sinonim, sessiz varyasyon). Nonsinonim varyasyonun etkisi kısmen yeni ve eski aminoasit arasındaki kimyasal farklılıklara bağlıdır. Asidik, bazık, polar ya da nonpolar yapıdaki bir aminoasidin aynı sınıftan bir aminoasitle yer değiştirmesi daha az etki oluşturmaktadır (66).

Bazı aminoasitler belirli bir proteinin işleyişi (bir enzimin aktif bölgesi) için kritiktir. Bazıları proteinin üç boyutlu yapısının korunmasında önemlidir. Globöler proteinlerde nonpolar aminoasitler üç boyutlu yapıda iç tarafa yerleşmeye meyilli olup, dizideki herhangi bir varyasyon üç boyutlu yapıyı etkileyebilir. Ancak çoğu aminoasit değişimi genel olarak protein fonksiyonunu etkilemez (66).

Anlamsız (nonsense) varyasyon: Varyasyon sonucu aminoasit kodlayan bir kodonun stop kodona dönüşmesi, mRNA transkriptinin translasyonunun erken sonlanmasına neden olmakta ve genin ifadenmesini önlemektedir (66).

Sessiz (sinonim) varyasyon: Gerçekleşen tek nükleotid değişimi üretilen aminoasidi değiştirmedigi için herhangi bir fenotipik etki oluşturmaz. Ekzon-intron bağlantı bölgeleri ve regülatör bölgelerdeki varyasyonlar ise splayisingi etkileyebilir (66).

Ekzon-intron bağlantı (splays) bölge varyasyonları: Splays bölgeleri hemen hemen değişmez dizilere (5'-ucunda GU, 3'-ucunda AG) sahip olup, bu bölgedeki bir nükleotid değişimi ekzon-intron kesim bölgesinin splaysozomlar tarafından tanınmasını önleyerek normal pre-mRNA splayisingini kesintiye uğrattır. İntron dizisi içindeki herhangi bir varyasyon ile genellikle gerçek splays bölgesinin gücü azalır (splayising regülatörlerinin etkisiyle) ve bitişik kriptik splays bölgesi devreye girebilir. Kriptik splays bölgesi primer transkript içinde bulunan gerçek splays bölgesine benzeyen diziler olup, ancak onlar kadar iyi tanımlanmamışlardır. Bu tür varyasyonlar intron bölgesinin kısmi ya da tamamen değişmesine veya ekzon atlamaya neden olabilmektedir (57, 66).

Çerçeve kayması (frameshift) varyasyonları: Başlangıç kodonu AUG ile başlayan translasyonel okuma çerçevesi dizisinde kodonu tamamlayıcı sayıda olmayan (3 ve katları) eklemeler ve çıkarmalar çerçeve kaymasına neden olur. Böylece, erken stop kodonu devreye girerek translasyonu erken sonlandırabilir veya oluşan hatalı protein proteolitik yıkıma uğrayabilir (66).

Gen ekspresyon düzeyini etkileyen varyasyonlar: Regülatör dizide bir varyant, transkripsiyon faktörleri, enhancerlar, silencerlar gibi transkript ilişkili proteinlerin bağlanma afinitelerini etkileyerek genin transkripsiyon düzeyini değiştirebilir. Gen ürünü normal olsa bile çok az ya da çok fazla üretilerek fenotipe yansıyabilir. Bu durum promotor bölge nükleotid değişimlerinde sıklıkla görülür (57, 66).

2.4.2.1.2. Hastalıklara duyarlılıkta TNP ve önemi

Tek nükleotid polimorfizmleri doğrudan hastalığa neden olmamakla beraber, kişinin belli bir hastalığa olan yatkınlığını etkileyebilmektedirler (64). Alzheimer hastalığına kalıtsal duyarlılıkla ilişkili genlerden biri olan APOE (Apolipoprotein E) geni bu durumu açıklamak açısından önemlidir. E2, E3 ve E4 olmak üzere üç olası allele sahip olan APOE geni, dört ekzon ve üç introndan oluşmaktadır. Hastalığa karşı koruma sağladığı düşünülen APOE2 alleli popülasyonda nadir olup, C→T (Arg158Cys) nokta mutasyonuna sahiptir. APOE3 alleli (Cys112, Arg158) popülasyonda daha yaygın bulunup, hastalığa karşı nötral etkiye sahiptir. APOE4 allelinde T→C (Cys112Arg) nokta mutasyonu bulunur ve popülasyonda bulunma sıklığı %25-30'dur. Alzheimer hastalığı için tanı testinin ve APOE genotipleri popülasyon taramasının klinik faydalarının değerlendirildiği verilere göre; 65-74 yaş aralığındaki Alzheimer hastalıklı bireylerde demans oranı yaklaşık %60 ve bu bireylerde E2/E4 veya E3/E4 allel sıklığı yaklaşık %75 iken, E4/E4 allel sıklığı yaklaşık %98 olarak; Alzheimer hastalığının görülme sıklığı %3 olan aynı yaş grubundaki asemptomatik bireylerde, E2/E4 ve E3/E4 allel sıklığı

yaklaşık %6 ve E4/E4 allel sıklığı yaklaşık %23 olarak bildirilmiştir (65). Ancak bu durum E4/E4 alleleline sahip bireylerde her zaman Alzheimer gelişeceği ve E2/E2 alleleline sahip bireylerde hiçbir zaman Alzheimer hastalığı ortaya çıkmayacağı anlamına gelmemektedir(64).

Kompleks hastalıklarda hastalık olasılığı birçok gendeki birçok varyantın kombinasyonu ile birlikte belirli çevresel faktörlerin varlığı ile belirlenmektedir (70). Dolayısıyla kompleks hastalıklarda tek bir TNP'nin sınırlı etkisi nedeniyle, ilişkili birçok genin kombinasyon etkisinin değerlendirildiği genetik profile bakılmalıdır (71).

Genetik haritalama tekniği ile yapılan **genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS)**, insan genomuna yayılmış birden fazla genetik varyantın tamamındaki **genetik belirteçleri** hızlı bir şekilde eş zamanlı tarama imkanı sağlamaktadır. Genomda farklı sıklıklarda ve boyutlarda görülen varyasyonlar, gen bölgelerinin yerlerini konumlandırmada güçlü birer araç olarak kullanılmakta ve bu nedenle *genetik belirteç (marker)* olarak adlandırılmaktadır (64, 70-72).

Alzheimer hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar, obezite, diyabet gibi mendelyen kalıtım modelinin izlenmediği kompleks, multifaktöriyel veya poligenik kalıtım gösteren hastalıkların genetik etyolojisinin araştırılmasında kullanılan GWAS sonucunda oluşturulan TNP haritaları oldukça önemlidir. Son birkaç yılda koroner arter hastalığı, tip 2 diyabet, inme, multipl skleroz, meme kanseri, bipolar bozukluk, romatoid artrit ve Alzheimer hastalığı gibi kompleks

hastalıklarla ilişkili olan birçok gen GWAS ile başarılı bir şekilde tanımlanmıştır (64, 70, 71).

İlişkilendirme çalışmaları genellikle vaka- kontrol çalışmaları olup, belirli bir genetik varyasyonun sağlıklı kabul edilen kontrol gruplarına göre hastalardaki sıklığı değerlendirilmektedir. Belirli hastalıklarda önemli ölçüde daha sık görülen varyasyonların kendilerinin doğrudan hastalığa neden olmayıp hastalıkla ilişkili olduğu düşünülür ve hastalıkla ilgili güçlü bir belirteçtir (71, 72). Bu şekilde, 1400'den fazla tekrarlanabilir genetik lokusu içeren 100.000'den fazla TNP'nin binlerce hastalık ve özellik ile ilişkisi kataloglamıştır (70).

Hastalıkları önleme, tespit ve tedavi etme konularında araştırmacılara yeni stratejiler sunma amacı olan GWAS, özellikle astım, diyabet, obezite, kalp hastalıkları, zihinsel hastalıklar gibi sık görülen kompleks hastalıklara ait genetik varyasyonların araştırılması açısından önemlidir. Ayrıca elde edilen verilerin analizi ile 'kişisel tıp' adı verilen tüm sağlık sorunlarının bireysel düzeyde en etkin yolla çözülmesi amaçlanmaktadır. Bu doğrultuda yapılacak olan araştırmalar, hasta olan kişinin en kısa sürede, en etkin yollarla tedavi edilmesini, hastalığa yakalanmadan gelecekte kendisinde oluşabilecek hastalıkların ön görülmesini, bu hastalıklara karşı 'kişisel koruyucu tıbbın' geliştirilmesini sağlayacaktır (64, 72). Ayrıca GWAS, potansiyel klinik kullanımları dışında yeni patofizyolojik mekanizmalara ışık tutabilir (71).

2.4.2.1.3. TNP ve Farmakogenetik önemi

Famakogenomik: Bir ilaca cevapta genoma ait yapıların rolünü belirtir (73).

Farmakogenetik: Bir ilaca verilen yanıtta genetik varyasyonun rolünü belirten farmakogenomiğin bir alt dalıdır. DNA polimorfizmi veya kodlayıcı bölge varyantlarını belirtir (73).

İlaç-ilaç etkileşimleri, ilaç-gıda etkileşimleri, cinsiyet, yaş, hastalık durumu, gebelik gibi birçok faktörlerin yanı sıra genetik faktörler de kişiler arasında ilaçlara cevabın değişkenlik göstermesine neden olur. Bu nedenle bir hastalığın teşhisi, önlenmesi ve tedavisi ile ilgili kararlar alınırken kişinin genetik profilinin belirlenmesi oldukça önemlidir (73).

Bir ilaca yanıtta farmakogenetik etkiler ilacın farmakolojik özelliklerini etkilemesine dayanılarak ayrılır:

İlaç farmakokinetiği üzerine etki

Farmakokinetik: İlacın Emilimi, dağılımı, dokuya geçmesi, biotransformasyonu ve atılımı şeklinde vücudun ilaca etkilerini belirtir. İlaç metabolize eden enzimleri ve ilaç transport proteinlerini etkileyen genetik varyasyonların ilaca olan etkisini araştırmaktadır (73)

Sitokrom P450 ailesi ilaç metabolize eden enzimlerin tipik örneği olup, farklı sitokrom izoenzimlerini kodlayan 58 farklı insan sitokrom geni gösterilmiştir. Sitokrom enzim aktivitesi genetik ve çevresel faktörlerden etkilenecek, aşırı hızlı

metabolizanlar, hızlı metabolizanlar, normal metabolizanlar ve zayıf metabolizanlar olarak dört şekilde aktivite gösterir (73).

Farmakodinami üzerine etki

Farmakodinami: Bir ilacın tedavi hedefine biyokimyasal ve fizyolojik etkileridir. İlacın vücuda etkilerini belirtir. Genetik varyasyonlar, ilaç hedefini veya hedefin bileşenlerini etkileyerek ilaç etkisini değiştirebilirler (73).

İlaç emilimini, metabolizmasını ve aktivasyonunu reseptör düzeyinde etkileyen genetik faktörlerin açığa çıkarılması ve kişisel tıbbi yaklaşım, ilaç dozunu belirleme yanı sıra yan etkileri azaltma açısından oldukça önemlidir. Bu durum morbidite ve mortaliteyi azaltmaya yönelik olup maliyet düşürücü etkinliğe de sahiptir (73).

2.4.2.1.4. TNP lokalizasyon tanımlanması

‘rs’ numarası: Bir referans SNP numarası veya “rs”, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (The National Center for Biotechnology Information, NCBI) tarafından, aynı lokalizasyonda bulunan SNP'lerin bir grubuna (veya kümesine) atanan bir tanımlama etiketidir. NCBI’e gönderilen birden fazla SNP (kısaca “ss” olarak adlandır, her birine tek bir ss sayısı verilir) aynı pozisyonda ise, bu ss sayıları bir refSNP kümesine (kısaca “rs” olarak adlandırılır) geçirilir. rs numarası her bir TNP’i için spesifiktir. Bir rs numarası bir dizi üzerinde bir veya daha fazla pozisyona sahip olabilir (tekrarlanan bölgede bulunan TNP’i gibi). Bir birey için

bir genotipe atıfta bulunulduğunda, rs sayısı ile birlikte gözlenen alleller de (yani A/A, A/T veya T/T) belirtilmelidir (74).

Lokalizasyon: TNP'lerinde nükleotid değişimini belirtirken, referans dizinin değişim olan nükleotidinin sayısı yazılır. Daha sonra değişen nükleotidler belirtilir. Değişiklikler ">" sembolü ile gösterilir. Örneğin; 1997G> T tanımı, 'referans dizinin 1997. nükleotidinde 'G'nin 'T' ile yer değiştirmesini' ifade etmektedir (75, 76).

2.4.2.1.5. Genom proje veritabanları

İnsan Genom Projesi ile ortaya çıkan verilerin bilgisayar ortamına taşınmasıyla 1988 yılında NCBI kurulmuştur. Böylece, bünyesinde TNP'leri ve diğer varyasyonların tutulduğu (Database of Short Genetic Variations-dbSNP, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>) NCBI veri tabanı oluşturulmuştur (64).

Genom verilerinin tüm detaylarıyla bir arada tutulduğu en önemli ve kapsamlı veri tabanlarından bir diğeri Ensembl (EBI), "The European Bioinformatics Institute" (EMBL-EBI) projesidir. Bu veri tabanında 3 milyar bazlık insan genom bilgileri diğer mevcut biyolojik verilerle birleştirilerek internet üzerinden herkesin kullanımına sunulmaktadır. Sürekli güncellenen bilgilerle mevcut veriler, karşılaştırmalı genomik, varyasyonlar ve düzenleyici verileri içerecek şekilde genişletilmektedir (64).

Genome Browser (University of California, Santa Cruz, UCSC) insan genomu ve diğer birçok organizma genomu için resmi, referans ve taslak DNA

dizilerini içeren bir veri tabanıdır. Buradan tek nükleotit varyasyonlarına, bilinen gen dizilerine, tahmini gen dizilerine, genlerin ekspresyonları ile ilgili bilgilere, türler arası karşılaştırmalı bilgiye ve daha birçoğuna erişilebilmektedir (64).

2.4.2.1.6. TNP analiz yöntemleri

PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism-Parça Uzunluk Kesim Polimorfizmi) yöntemi

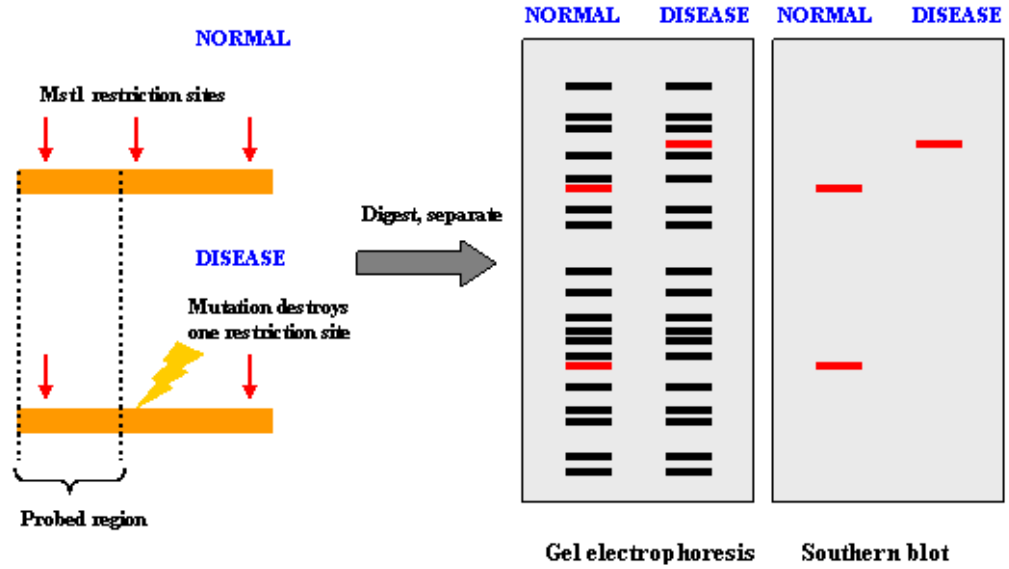
Genetik varyasyon ve mutasyonların nedenini araştırmak için kullanılan nispeten basit, ucuz ve doğru konvansiyonel bir tekniktir (77).

PCR-RFLP yöntemi, restriksiyon endonükleaz (RE) enzimlerinin keşfedilmesi sonrasında rekombinant DNA teknolojisindeki gelişmeler ile kullanılmaya başlanmıştır. Herhangi bir doku materyalinden elde edilen genomik DNA'ların fragmentlere ayrılmasına dayanan bu yöntemde kullanılan RE enzimleri, çift iplikli DNA'da özgül nükleotid dizilerini tanıyarak DNA'nın her iki ipliğini bu DNA dizilerinin içindeki spesifik bir bölgeden veya yakın bölgelerden kesmektedir. RE enzimlerinin büyük bir kısmı bakterilerden, çok az kısmı da virüs ve ökaryotlardan izole edilmiştir (58, 78).

Kandan izole edilen genomik DNA, jel elektroforezi ile kontrol edildikten sonra ilgilenilen DNA kısımlarına özgül komplementer diziler içeren primerler yardımıyla PCR kullanılarak çoğaltılır. PCR ile çoğaltılan bölge uygun RE enzimleri ile kesilir. Polimorfik bölgenin PCR ile çoğaltılıp RE enzimi ile kesilmesi

sonucu elde edilen DNA parçaları etidyum bromid ile boyanmış poliakrilamid ya da agaroz jelde yürütüldükten sonra ultraviyole ışığı altında incelenir ve büyüklüklerine göre analiz edilir (Şekil 17) (58, 78).

Genomdaki TNP'ler, bir RE enziminin kesim bölgesini ortadan kaldırabildiği gibi yeni bir kesim bölgesi de oluşturabilmektedir. RFLP, RE enzimleri kesim noktalarında oluşan varyasyonlar nedeniyle gerçekleşen parça uzunluklarındaki farklılıkların analizine dayalı bir yöntemdir (64). Örnek olarak, bir TNP bölgesine ait ATGTGAGTCACTACTCTCAA **C/T** ATTGCCATGCCCCCTGCCTTA kısmi dizideki T alleli spesifik bir RE enzim kesim bölgesi iken; C alleli için bu durum söz konusu değildir. Dolayısıyla, bu TNP bölgesine sahip PCR ürünü C alleli varlığında RE enzimi için spesifik kesim bölgesi olmadığından kesilemeyecek ve oluşacak enzim kesim ürünleri uzunluk farklılıkları gösterecektir. Kesim işlemi sonrasında yapılan jel elektroforezinde T alleleline sahip bireylerde iki DNA bandı, C alleleline sahip bireylerde tek DNA bandı ve heterozigot bireylerde üç DNA bandı görülecektir (79).

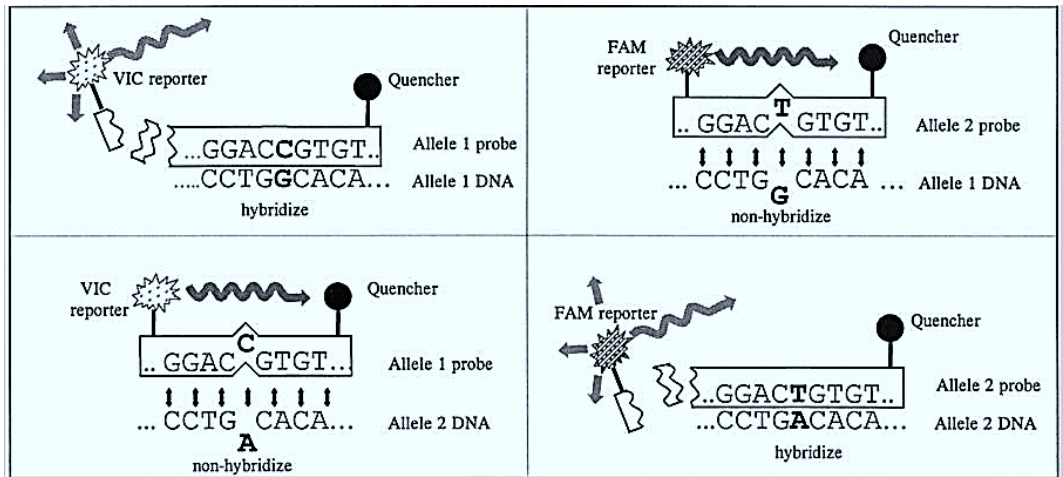


Şekil 17. PCR-RFLP yöntemi ile genotip tayini(80).

Gerçek zamanlı PCR yöntemi

Gerçek zamanlı PCR yöntemi, amplifikasyon ve tespiti aynı anda belirlemeyi sağlayan bir yöntemdir. PCR ile çoğaltılan DNA'nın eş zamanlı olarak sensitif ve spesifik kantitasyonuna dayanan gerçek zamanlı PCR yöntemi, TNP'lerinin yüksek verimle genotiplendirilmesinde oldukça etkilidir (81, 82). Bu yöntemde PCR çoğaltımının görünür hale getirilmesi ve monitorize edilmesini sağlayan floresan isaretleli prob ve boyalar (TagMan probe gibi) ile polimorfizmin tespiti yanı sıra sayısal değerlere ulaşılabilmesi avantajı sağlanmaktadır. Kolay dizaynı ve optimizasyonu ile standart protokolü olmasından dolayı bu yöntem, hem allelik diskriminasyon hem de ekspresyon profilinin oluşturulmasında kolaylıkla kullanılmaktadır (82).

TagMan yöntemi, çoğaltılmak istenilen DNA'ya komplementer olan ve floresan işaretlenmiş tek zincirli bir prob içermektedir. TNP analizinde normal ve mutant allele uyum gösteren iki farklı TagMan probu kullanılmaktadır. Floresan işaretli probun 5' ucunda "reporter boya" (mutant allele için VIC; normal allele için FAM) ve 3' ucunda "quencher boya" (TAMRA) bağlıdır. 3' uçtaki baskılayıcı TAMRA boyası 5' uçtaki FAM/VIC boyasının sinyal oluşturmalarını engellemektedir. Amplifikasyon sırasında her bir prob TNP'nin iki allelinden birine bağlanır. Probun bağlı olduğu bölgeye gelindiğinde Taq DNA polimeraz enzimi 5'→3 ekzonükleaz aktivitesi ile FAM/VIC'i probdan ayırmaktadır (Şekil 18). Hedef bölgede hibridize olmuş problemlerin amplifikasyonu arttıkça, reporter boyanın açığa çıkmasıyla birlikte ışımaya doğrusal olarak artmakta ve bu artış cihaz tarafından eş zamanlı olarak tespit edilmektedir. Mutant ya da normal allelin, heterozigot ya da homozigot bulunmasına bağlı olarak elde edilen sonuçlar yorumlanmakta, hasta ve kontrol grubunun allelik dağılımı ve genotipleri belirlenmektedir (81, 82).



Şekil 18. RT-PCR ile DNA amplifikasyonu(83).

DNA dizileme yöntemi

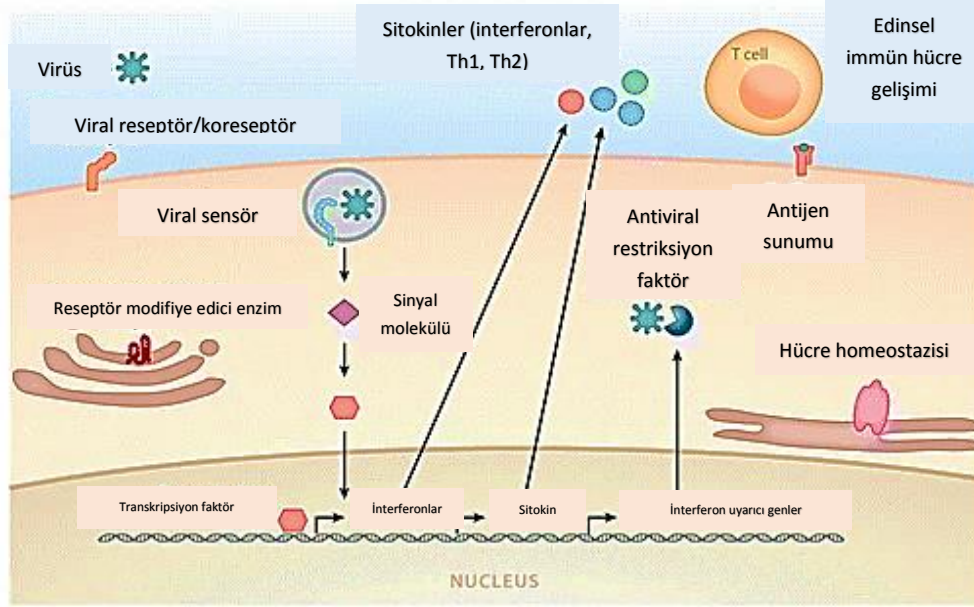
Otomatik DNA dizileme için günümüzde floresan dideoksi zincir sonlandırma (Sanger) yöntemi kullanılmaktadır. ‘Yeni nesil’ ya da ‘kitlesel paralel’ dizileme yöntemleri denenme ve geliştirilme aşamasındadır. Yeni nesil dizileme yöntemlerinden pirosekanslama, yüksek doğruluk, kullanım kolaylığı ve tekrarlanabilirlik özelliklerinden dolayı oldukça avantajlıdır. Kitlesel paralel dizileme yöntemi ise yüksek duyarlılık, doğruluk ve genotipleme performansı ile tek bir çalışmada birden fazla örnekten binlerce TNP’nin analiz edilebilmesi açısından önemlidir (61, 84, 85).

Microarray yöntemi

DNA microarray’leri belirli bir pozisyonadaki bir genom dizisinin, nükleik asit hibridizasyon yöntemi ile belirlenmesinde kullanılabilmektedir. SNP microarray’ler bireylerde ve popülasyonlarda genetik varyasyonu belirlemek için kullanılan özel bir çeşit DNA microarray tipidir. Adli tıp çalışmalarında, genetik çeşitlilik ve genetik hastalığa yatkınlıktan sorumlu olduğu düşünülen TNP’leri belirlemede kullanılabilmektedir. Gen ekspresyon düzeyinin ölçülmesine imkan sağlaması önemli avantajlarından. Microarray yöntemi ile kısa sürede ve pratik olarak binlerce genin analizi otomasyona dayalı sistemlerde yüksek doğrulukla yapılabilmektedir. Bu yöntem ile elde edilen sonuçların geçerliliği, tekrarlanabilirliği ve günlük hayatta uygulanabilirliği konusunda çalışmalar hızla devam etmektedir (86).

2.4.2.2. Viral enfeksiyonlar ve TNP

Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları ve aday gen yaklaşımları ile viral enfeksiyonlara karşı duyarlılığın veya direncin değişimine etki eden insan gen varyantları tanımlanmaktadır. Tanımlanan genetik faktörler arasında virüs giriş reseptörlerini kodlayan genler, reseptör modifiye edici enzimler ve doğal ve edinsel immünite ile ilişkili proteinler bulunmaktadır (şekil 19). Viral hastalıklara duyarlılık veya dirençle ilişkili genler fonksiyonel olarak sınıflandırılabilir. Enfeksiyona dirençle ilgili gen varyasyonları genellikle virüs giriş reseptörleri, koreseptörler ve reseptör modifiye edici enzimlerle ilişkilidir. Spesifik sitokinlerin çok veya az üretimine neden olan varyantlar ise sıklıkla viral hastalığın şiddeti üzerine etkilidir. Virüsün tanınması, viral yanıt için gereken sinyaller ve T hücre cevabının başlaması gibi viral enfeksiyona doğal ve edinsel immün yanıtta genetik varyasyonlar birçok viral enfeksiyonun şiddetinin değişmesi ile ilişkilidir. İmmünite ilişkili genlerin çoğu insanlarda oldukça polimorfiktir (87).



Şekil 19. Spesifik viral hastalıklara duyarlılık veya dirençle ilişkili genetik varyantların genel kategorisi. Viral hastalıkların konak genetik belirleyicileri, ilişkili proteinlerin farklı hücresel fonksiyonları temel alınarak sınıflandırılmaktadır(87).

Viral enfeksiyonlara duyarlılık veya dirençle ilişkili genetik faktörlerin tanımlanmasında aday gen yaklaşımı stratejisi başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Aday genler *in vitro* deneylerle veya tüm genom yaklaşımları (GWAS) gibi büyük çaplı genetik taramalarla belirlenen biyolojik uygunluğa göre seçilmektedir. Yakın zamanda kullanıma giren bir başka yaklaşım da tüm ekzon dizilemedir (whole exome sequencing). Ancak bu teknik kodlanmayan bölge DNA varyantlarının tanımlanmasında uygun değildir (87).

Viral enfeksiyonlara duyarlılık veya direnç gelişimiyle ilişkili olan insan genetik varyantları hakkındaki bilgilerimiz giderek artmakla birlikte, bu varyantların etkilerinin nedensel mekanizmaları hala birçok durumda tam açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu durum, kişiselleştirilmiş aşı ve tedavi geliştirilmesi ile

virüs direnci, kontrolü ve eradikasyonu açısından da oldukça önem taşımaktadır (87).

IL-28B (IFNλ3) geni ve polimorfizmleri

IL-28B (Interleukin 28B) geni 19. kromozomun uzun kolunda q13.2 bant bölgesinde bulunmakta olup, IFNλ3 (Interferon Lambda-3) geni olarak da bilinmektedir (8,11). *Altı ekzondan oluşan IL-28B geni, Tip I interferonlarla ilişkili bir sınıf II sitokin reseptör ligandıdır. Bu ligandlar, JAK/STAT sinyal sistemlerinin aktive edilmesi ve mikrobiyal defansa cevapta kritik bir rol oynamaktadırlar (88).*

IFNλ, güçlü antiviral yanıtları oluşturmak için JAK-STAT ortak reseptör sinyal sistemi üzerinden çalışmaktadır. Üretim merkezi dendritik hücreler olup, IFNλ reseptörleri hepatositler ve B hücrelerinde eksprese edilmektedir. *In vitro* ve *in vivo* modeller ile IFNλ'ların, HBV ve HCV virüsleri dahil olmak üzere birçok viral enfeksiyonu kontrol etmede rol oynayan immün yanıtta önemli olduğu, hepatosit hücrelerinde ise HBV ve HCV replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (42, 89-91).

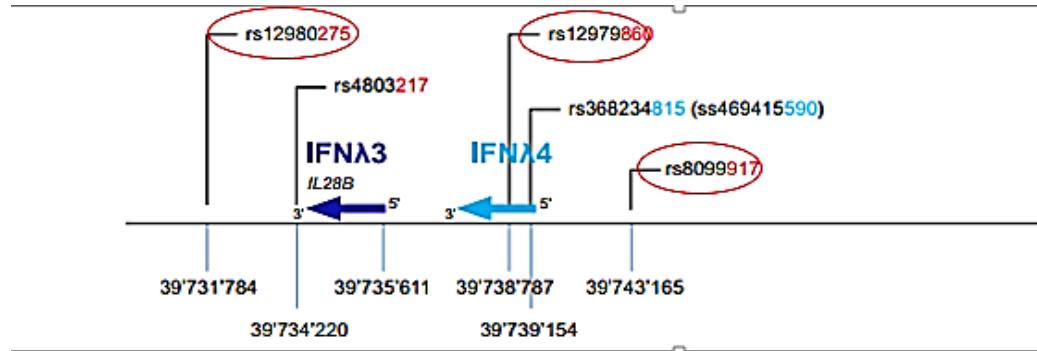
Kromozom 19 üzerinde *IL-28B* gen yakınlarında tanımlanmış pek çok TNP bulunmaktadır. Bu TNP'ler içinde çalışmamızda araştırılan rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'leri Şekil 20'de gösterilmiştir.

rs12979860, *IL-28B* geninde bilinen ilk TNP olup, genin upstream bölgesinde yerleşiktir. HCV ile enfekte olmuş hastalarda antiviral tedavinin

etkinliği, enfeksiyonun spontan klirensi ve tedaviye yanıtta prognostik bir faktör olduğu düşünölmektedir (8, 92, 93).

rs8099917, *IL-28B* geninin upstream bölgesinde yerleşiktir. rs12979860 polimorfizmi ile birlikte kalıcı viral yanıtın güçlü belirteçlerindendir. Aynı zamanda tedavi sırasında erken viral kinetikle de sıkı ilişkili oldukları düşünölmektedir (13, 93).

rs12980275, *IL-28B* geninin downstream bölgesinde yerleşik olup, az sayıda çalışmada hepatitlerle ilişkisi araştırılmıştır. Kalıcı viral yanıtla ilişkili olduğunu gösteren meta-analizler bulunmakla birlikte, mekanizması henüz net değildir. Karaciğer yağlanması ile ilişkisi de araştırılmaktadır (93-95).



Şekil 20. Kromozom 19'da IFN-λ3/4 gen lokusu ve tanımlanmış TNP'ler(42).

Minör Allel Frekansı (MAF); tanımlanan TNP'lerinin popölasyonda nadir görölen allellerinin frekansıdır. Toplumda yaygın görölen polimorfizmi nadir varyantlardan ayırmak için kullanılmaktadır. Belirli bir popölasyonda ikinci en yaygın allelin meydana geldiği frekansı belirtmektedir. Ortak genetik varyasyonları tanımlamak için insan genetik varyasyonlarının en detaylı kataloğunu geliştirmeyi

amaçlayan 1000 Genome Projesinde 0,05 (% 5) veya daha yüksek bir MAF olan polimorfizmler hedeflenmiştir. Mayıs 2013'te yayınlanan 1000 Genom Projesi Faz 3 verilerine göre rs12979860 polimorfizmi T alleli, rs8099917 polimorfizmi G alleli, rs12980275 polimorfizmi G alleli minör allelleri oluşturmaktadır (64, 96).

2.4.2.2.1. HBV enfeksiyonları ve TNP

HBV enfeksiyonunun klinik ilerlemesi bireyler arasında oldukça farklılık göstermektedir. HBV enfeksiyonunun oluşum riskini, klinik ilerlemesini, persistan HBV enfeksiyonuna ve HCC'ye ilerlemeyi, aşıya veya tedaviye verilen yanıtı, anneden bebeğe HBV geçişine duyarlılığı etkileyen birçok konak genetik faktörleri tanımlanmakla birlikte, çalışmalarda enfeksiyonun prognozu üzerine konak genetik faktörlerinin olası etkileri ile ilişkili tutarsız sonuçlar bulunmaktadır. Çalışılan etnik grupların farklılığı bu duruma neden olabilmektedir (11, 31, 97).

Sitokinler, antioksidan enzimler (nitrik oksit sentaz, manganez süperoksit dismutaz, glutatyon S-transferaz) ve düzenleyici proteinler (örn. kemokin reseptörü 5 (CCR5), D vitamini reseptörü (VDR), östrojen reseptörü, mannoz bağlama lektini) HBV enfeksiyonu klinik seyrinde rol oynayabilir ve bu proteinleri kodlayan genlerin polimorfizmleri çeşitli çalışmalarda değerlendirilmektedir (98). Endojen mediyatörleri kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin, hastalar arasındaki klinik farklılıkların altında yatan neden olabileceği düşünülmektedir (31).

Majör histokompatibilite kompleksinde (**MHC**) yer alan HLA sınıf I ve II genlerindeki genetik varyasyonların HBV enfeksiyonları üzerindeki rolü, enfekte

bireylerde kapsamlı olarak incelenmiştir. HLA sınıf II varyasyonlarının özellikle persistan HBV enfeksiyonu, hastalığın ilerlemesi ve HBV ilişkili HCC ile güçlü bir bağlantısı olduğu gösterilmiştir (97).

Bir transkripsiyon faktörü olan *STAT4* geninin ürününün, interlökin-12 ve tip I IFN'dan IFN- γ üretimini artırarak immün yanıtta kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. *STAT4*'ün üçüncü intronunda bulunan bir TNP'nin, HBV ilişkili HCC riskini artırdığı gösterilmiştir (97).

2012 yılında HBV için reseptör olarak tanımlanan *SLC10A1* (*NTCP*) geni, enfeksiyona yanıtı düzenlemede potansiyel rolünden dolayı yeni bir aday gen olarak gösterilmiştir. Asya populasyonlarında bulunan bir *SLC10A1* varyantı (S267F) KHB enfeksiyonuna dirençle ilişkilendirilmiştir. Hidrofilik yapıdan hidrofobik yapıya değişim *SLC10A1*-ligand etkileşimlerini, dolayısıyla HBV'nün hücre içine girişini etkileyebilmektedir (87).

Sitokinler hücrelere viral bağlanmada, enfeksiyona konak immün cevabın düzenlenmesinde, karaciğerde patolojik değişikliklerin gelişmesinde ve antiviral tedavinin etkinliğinde rol oynamaktadırlar. Sitokin ve kemokin reseptörlerinin genlerine ait TNP'leri ile HBV enfeksiyonuna duyarlılık veya enfeksiyonun doğal seyri arasındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Sitokin gen polimorfizmlerinin HBV'ye karşı inflamatuvar yanıt sırasındaki sitokin düzeyini değiştirdiği ve böylece kronik HBV enfeksiyonunun klinik seyrini etkilediği düşünülmektedir (98). Özellikle, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-28B, IFN- γ , TNF- α , TGF- $\beta 1$ gibi sitokinleri kodlayan genlerin polimorfizmleri ile VDR

ve CCR5 gibi düzenleyici moleküller, HBV enfeksiyonlarının farklı tablolarından sorumlu olabilmektedirler (11, 31).

IL-8: IL-8, mitojenik ve anjiyogenik fonksiyonları ile kronik enflamatuvar hastalıklar ve tümörler ile ilişkilendirilmiştir. IL-8 genine ait polimorfizmin HBV ile ilişkili siroz için koruyucu olabileceğini belirten çalışmalar bulunmaktadır (31).

IL-6: HBV enfeksiyonuna karşı immün yanıtı düzenleyen önemli bir sitokindir. KHB enfeksiyonlarında IL-6 düzeyi anlamlı olarak artmaktadır. Ancak, bazı çalışmalarda KHB ile IL-6 gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir (31).

IL-28B: Hepatositlerde HBV replikasyonunu azalttığından KHB hastalarında potansiyel yeni bir tedavi ajanı olduğu d ş n lmektedir. *IL-28B* genindeki bazı polimorfizmlerin IL-28B fonksiyonlarını düzenleyerek viral yükü ve karaciğer inflamasyonunu azalttığı ve HBV enfeksiyonunun ilerlemesini önlediği bilinmektedir. Bazı  alışmalarda, *IL-28B* genindeki bazı TNP'leri kalıcı virolojik yanıt ve HBV klirensi ile ilişkili bulunurken, bazıları bunu desteklememiştir. Bir kısım araştırmacı, TNP'lerinin karaciğer naklinden sonra karaciğer fonksiyon bozukluğu veya HBV enfeksiyon rekürrensi açısından iyi bir prediktif faktör olabileceğini ileri sürmektedir. Bazı çalışmalarda da kronik HBV enfeksiyonunda *IL-28B* polimorfizminin IFN tedavi gidişatının güvenilir bir belirleyicisi olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçların genetik alt yapı, etnik grupların farklılığı, örneklem b y kl ğu, uygulanan tedavi rejimleri ve çalışılan populasyonun heterojen olması nedeniyle farklılık gösterebileceği tahmin

edilmektedir (11, 31). *IL-28B* geni polimorfizmlerinin kronik HBV enfeksiyonuna duyarlılığı ve HCC gelişim riskini etkileyebildiği de düşünülmektedir (99).

HBV gibi yaygın görülen enfeksiyonlarda hastalığın gidişatının belirlenmesi, aşıya ve tedaviye verilen yanıtı etkileyen genetik alt yapının anlaşılması yanı sıra kronik hepatit veya HCC gelişme riski bulunan kişilerin tespit edilerek hastalık oluşmadan bu risk faktörlerinin elimine edilmesi ve yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesi ile önleyici ve koruyucu yaklaşımların planlanması halk sağlığı açısından önem arz etmektedir (31).

2.4.2.2.2. HCV enfeksiyonları ve TNP

Akut HCV enfekte hastalar %50-90 asemptomatik olup %15'i kendiliğinden iyileşmekte, %70'inde virüs persiste kalmakta ve kronik enfeksiyon gelişmektedir. Kronik fazda kendiliğinden HCV klirensi zordur; 10-40 yılda hastaların %20'sinde siroza ilerleme olabilmektedir. Hastalarda karaciğer yetmezliği (%6) ve HCC (%1-4) gelişme riski artmaktadır (10, 42, 48). Benzer risk faktörlerine sahip bireylerde HCV enfeksiyonunun karaciğer hastalığına ilerleme oranları değişkenlik göstermekte ve genetik alt yapının bu duruma katkı sağladığı düşünülmektedir (93).

HIV/HCV koinfekte hastalarda yapılan bir çalışmada, farklı biyolojik fonksiyonlarda sorumlu olduğu bilinen sitokin (*IFNλ3*, *IFNλ4*, *TNF*, *IL15* ve *CXCL9-11*) ve sitokin reseptör genleri (*IL7R* ve *TLR8*) ile metabolizma ile ilişkili

genlerdeki (*PNPLA3* ve *GSTM1*) TNP'lerinin enfeksiyonun karaciğer hastalığına ilerlemesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (93).

PNPLA3 (*Patatin-Like Phospholipase Domain-Containing Protein 3*) geni yağ ve karaciğer dokularında lipaz aktivitesine sahip bir protein sentezlemektedir. Kronik karaciğer hastalığında karaciğer fibrozisi ile ilişkilendirilmiştir. *PNPLA3* geninde fonksiyon kaybına neden olan rs738409 polimorfizmi, HCV enfeksiyonlu hastalarda progresif karaciğer fibrozisine ilerlemeyi hızlandırabilmektedir (93, 100).

FTO (*Fat Mass- and Obesity- Associated*) geninin fizyolojik fonksiyonu tam bilinmemekle birlikte, vücudun enerji ve kilo dengesini sağlama görevi olduğu düşünülmektedir. *FTO* geni rs9939609 polimorfizminde, A allelinin genin ekspresyonunu artırarak metabolik hastalıklara yatkınlık oluşturduğu gösterilmiştir (93, 101).

TNF- α (*Tumor Necrosis Factor-Alpha*) geninin hepatik stellat hücrelerini uyarak karaciğer fibrozisini etkileyebildiği bilinmektedir. Bu gendeki rs361525 polimorfizmi A allelinin bazı çalışmalarda yüksek siroz riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (93, 102).

TLR-8 (*Toll-Like Receptor 8*), bağışıklık sisteminin kritik bir parçası olup, evrimsel olarak korunmuş bir gendir. Çift iplikli RNA yapısını tanıyan hücre içi reseptörleri kodlayarak vücudun RNA virüslerinden temizlenmesinde rol alır. *TLR-8*'in doğal immün yanıtın değişimi ve HCV enfeksiyonuna duyarlılıkla ilgili olduğu düşünülmektedir (93, 103, 104).

IL-28B (IFNλ3) genindeki polimorfizmlerin (rs8099917, rs12979860 ve rs12980275) keşfi, kronik HCV enfeksiyonunda pegylated interferon alpha (PegIFNα) ve ribavirin (RBV) kombinasyon tedavisine cevabın yanı sıra kendiliğinden ya da tedavi ile indüklenmiş HCV klirensi ile ilişkili olan konak-virüs iletişimde ve hastalığın kronikleşmesinde etkili olduğu bilinen genetik faktörler, kişisel IFN cevabını daha iyi anlamamızı sağlamıştır (105-107). Karaciğer hastalığının ilerlemesinde çevresel ve viral faktörler yanı sıra ilgili genetik polimorfizmlerin belirlenmesi hastalığın seyrini izleme ve tedavi seçimi için bireysel stratejilerin planlanması açısından önemlidir (48, 93).

Bu çalışmada, Türk toplumunda *IL-28B* gen polimorfizminin HBV ve HCV enfeksiyonunun gidişatına etkisi ve *IL-28B* serum düzeyi ile HBV ve HCV enfeksiyonunun ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler, Sarf Malzeme, Cihazlar

Q1Asymphony DSP Virus/Patojen Midi Kit (Qiagen GmbH, Qiagen Strasse 1, ALMANYA)

Artus HCV QS-RGQ Kiti (Qiagen GmbH, Qiagen Strasse 1, ALMANYA)

Artus HBV QS-RGQ Kiti (Qiagen GmbH, Qiagen Strasse 1, ALMANYA)

QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, ALMANYA)

Qubit® dsDNA HS Assay Kit (Molecular probes by Life Technologies, ABD)

TagMan 2X Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, ABD)

Nuclease Free Water (Geneall Biotechnology, KORE)

Real Time SNP Problemleri

rs8099917 (Applied Biosystems by Life Technologies, ABD)

rs12979860 (Applied Biosystems by Life Technologies, ABD)

rs12980275 (Applied Biosystems by Life Technologies, ABD)

Human IL-28B (Interleukin 28B) ELISA Kit (Elabscience, ABD)

Steril distile su (Biochrom, ALMANYA)

Otomatik pipet seti (Capp, DANİMARKA)

10 µl steril pipet ucu (Capp, DANİMARKA)

100 µl steril pipet ucu (Capp, DANİMARKA)

200 µl steril pipet ucu (Capp, DANİMARKA)

1000 µl steril pipet ucu (Capp, DANİMARKA)

1000 ml mezür (Borucam, İstanbul, TÜRKİYE)

Reaktif Küveti (Origami, Capp, DANİMARKA)

1,5 ml mikrotüp (Capp, DANİMARKA)
1,5 ml mikrosantrifüj tüp (Biologix, ÇİN)
2 ml toplayıcı tüp (Qiagen GmbH, ALMANYA)
QIAamp Mini Spin Column (Qiagen, ALMANYA)
0,5 ml Qubit® assay tüpleri (Life Technologies, ABD)
0,1 ml PCR kuyucuklu 96'lık mikropalak (Applied Biosystems by Life Technologies, ABD)
Vortex (MRC Mini Centrifuge, ALMANYA)
Isı bloğu (Benchmark Digital Heat Block, ABD)
Santrifüj cihazı (Hettich Zentrifugen, ALMANYA)
The Applied Biosystems® StepOnePlus™ (Applied Biosystems, ABD) Real Time PCR
ELISA yıkayıcı (Mindray, ÇİN)
ELISA okuyucu (Tecan, İSVİÇRE)

3.2. Hasta Grupları

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Moleküler Viroloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerden Nisan-Aralık 2017 tarihleri arasında HBV DNA veya HCV RNA rutin analizi için soğuk zincire uygun şekilde EDTA'lı Vacutainer tüpü ile gönderilen periferik venöz kan örneklerinden 1 ml alınarak DNA izolasyonu ve ardından RT-PCR yöntemiyle TNP analizi yapılmak üzere -80°C'de saklandı. Kalan kısım 3000 rpm'de 3-5 dk santrifüj edildikten sonra plazma kısmı alınarak, 700 µl plazma örneği HBV DNA veya HCV RNA kantitatif RT-PCR (qRT-PCR) çalışılmak

üzere; 100 µl plazma örneği ELISA yöntemiyle IL-28B sitokin düzeyini belirlemek üzere ayrıldı. Toplu şekilde çalışılmak üzere örnekler DNAaz ve RNAaz içermeyen steril tüplerde -80°C’de saklandı.

HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu hastaya ait 130 örnek ile sağlıklı kontrol grubuna ait 70 örnek çalışma kapsamına alındı. Tüm çalışma örnekleri aşağıdaki özelliklere göre 5 gruba ayrıldı (Tablo 3-4):

1. Grup: KONTROL GRUBU 70 ÖRNEK

2. Grup: KRONİK HEPATİT B (KHB) ENFEKSİYONLU 49 HASTA

3. Grup: ASEMPTOMATİK KRONİK HBV TAŞIYICISI 15 HASTA

4. Grup: VİRAL YÜK POZİTİF KRONİK HCV ENFEKSİYONLU 31 HASTA

5. Grup: VİRAL YÜK NEGATİF KRONİK HCV ENFEKSİYONLU 35 HASTA

Tablo 3. Kontrol grubuna ait özellikler

Kontrol grubu n=70			
Alt gruplar	Seronegatif n=24	Enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanmış n=29	Aşı ile bağışıklık kazanmış n=17
Viral belirteçler	En az 6 aydır HBsAg (-) Anti HCV (-)	HBsAg (-) Anti HBs (+) Anti HBc (+)	HBsAg (-) Anti HBs (+) Anti HBc (-)

Tablo 4. HBV ile enfekte veya kronik HCV enfeksiyonlu hastalara ait özellikler

	HBV ile enfekte hasta n=64		Kronik HCV enfeksiyonlu hasta n=66	
Alt grupları	Kronik hepatit B enfeksiyonlu n=49	Asemptomatik kronik HBV taşıyıcısı n=15	Viral yük pozitif kronik HCV n=31	Viral yük negatif kronik HCV n=35
Viral belirteçler ve moleküler özellikler	HBsAg (+) HBV DNA >2000 IU/ml HBeAg (+) ya da (-) Anti HBe (+) ya da (-) Anti HIV (-) Anti HCV (-)	HBsAg (+) HBV DNA <2000 IU/ml veya negatif HBeAg (-) Anti HBe (+) Anti HIV (-) Anti HCV (-)	En az 6 aydır Anti HCV (+) HCV RNA (+) HBsAg (-) Anti HIV (-)	En az 6 aydır Anti HCV (+) HCV RNA (-) HBsAg (-) Anti HIV (-)

Hasta gruplarına ait özel tanımlar:

1. Kronik HBV enfeksiyonlu hastalar, **düşük viral yük (<10⁵ IU/ml)** ve **yüksek viral yük (>10⁵ IU/ml)** olarak alt gruplara ayrıldı.
2. Kronik hepatit B enfeksiyonlu ve asemptomatik KHB taşıyıcı hastalar için '**HBV ile enfekte hasta**' tanımı kullanıldı.
3. Viral yük pozitif kronik HCV ve viral yük negatif kronik HCV hastaları için ise '**kronik HCV enfeksiyonlu hasta**' tanımı kullanıldı.
4. Kronik HCV enfeksiyonlu hastalar ve HBV ile enfekte hastaların hepsine ise '**viral hepatitli hasta**' tanımı kullanıldı.

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 19.01.2017 tarih ve 01 karar no. ile onay verilmiştir.

3.3. HBV-DNA ve HCV-RNA varlığı

3.3.1. Nükleik asit ekstraksiyonu

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Moleküler Viroloji Laboratuvarında, HBV-DNA veya HCV-RNA qRT-PCR rutin analizi için gönderilen ve -80°C’de tutulan plazma örnekleri oda sıcaklığına getirildikten sonra vortekslendi. Viral nükleik asitlerin tam otomatik ve eşzamanlı saflaştırılması için manyetik partikül teknolojisinin kullanıldığı QIASymphony DSP Virus/Patojen Midi Kit (QIAGEN, Almanya) ekstraksiyon kiti kullanılarak QIASymphony SP cihazında üretici firmanın önerileri doğrultusunda nükleik asit ekstraksiyonu gerçekleştirildi.

3.3.2. HBV-DNA tespiti ve kantitasyonu

Saflaştırılan örneklerin in vitro amplifikasyonu için Artus HBV QS-RGQ Kiti (QIAGEN, Almanya) ile RT-PCR cihazı kullanılarak (Rotor-Gene Q, Corbett Research, Avusturya) üretici firmanın önerileri doğrultusunda HBV-DNA amplifikasyonu ve kantitasyonu gerçekleştirildi. Bu diagnostik test kiti, HBV genomunun 134 bp kor bölgesinin amplifikasyonunu spesifik olarak gerçekleştirmektedir. Her çalışmada, 5 kantitasyon standardı ve bir negatif kontrol örneği kullanılarak floresan ışımaya miktarındaki artışla PCR ürünlerinin varlığı belirlendi. Testin analitik duyarlılığı 10,2 IU/ml, lineer aralığı 31,6-2x10⁷ IU/ml’dir.

3.3.3. HCV-RNA tespiti ve kantitasyonu

Saflaştırılan örneklerde Artus HCV QS-RGQ Kiti (QIAGEN, Almanya) kullanılarak RT-PCR cihazında (Rotor-Gene Q, Corbett Research, Avusturya) üretici firmanın önerileri doğrultusunda HCV-RNA'nın in vitro amplifikasyonu ve kantitasyonu gerçekleştirildi. Bu diagnostik test kiti ile ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak HCV genomunun 240 bp'lik bir bölgesinin spesifik amplifikasyonu sağlanmaktadır. Her PCR çalışmasında, 4 kantitasyon standardı ve bir negatif kontrol örneği kullanılarak floresan ışıma miktarındaki artışla PCR ürünlerinin varlığı belirlendi. Testin analitik duyarlılığı 21 IU/ml, lineer aralığı 35,0-1,77x10⁷ IU/ml'dir.

3.4. *IL-28B* gen polimorfizminin belirlenmesi

3.4.1. Genomik DNA İzolasyonu

3.4.1.1. Spin Kolon Yöntemi ile Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu

EDTA'lı tüplerde -80°C'de tutulan 1000 µl kan örnekleri oda sıcaklığına getirildi.

QIAamp DNA Blood Mini Kiti (QIAGEN, Almanya) ile üretici firma önerileri doğrultusunda izolasyon işlemi aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

1. 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 20 µl QIAGEN Proteaz (Proteinaz K) solüsyonu konuldu.
2. Üzerine 200 µl kan örneği eklendi.

3. 200 µl buffer AL ilave edilerek mikrosantrifüj tüpünün kapağı kapatıldı ve maksimum hızda 15 sn vortekslendi ve önceden hazırlanan ısı bloğunda 56°C’de 10 dk inkübe edildi.
4. Mikrosantrifüj tüpü 3-4 sn santrifüj edildi.
5. Üzerine 200 µl etanol (%96-100) eklendi ve maksimum hızda 15 sn vortekslendikten sonra 3-4 sn santrifüj edilerek karışımın tüpün altına toplanması sağlandı.
6. Karışım 2 ml toplayıcı tüp içerisine yerleşik spin kolona (QIAamp Mini Spin Column, Qiagen, ALMANYA) aktarıldı. Spin kolon 8000 rpm’de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilerek hücresel artıkların pellet oluşturması sağlandı. Bu kısım atıldıktan sonra spin kolon, 2 ml toplayıcı tüpe yerleştirildi.
7. Spin kolonların üzerine 500 µl buffer AW1 eklendi ve 8000 rpm’de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi. Toplayıcı tüp altındaki sıvı atıldı ve spin kolon 2 ml’lik yeni bir toplayıcı tüpe yerleştirildi.
8. Spin kolonların üzerine 500 µl buffer AW2 eklendi. 14000 rpm’de 2 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi. Toplayıcı tüp altındaki sıvı atıldı ve spin kolon yeni bir 2 ml’lik toplayıcı tüpe yerleştirildi ve 14000 rpm’de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi.
9. Toplayıcı tüpteki sıvı atılarak spin kolon temiz 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve üzerine 200 µl buffer AE eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika bekletildikten sonra 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilerek genomik DNA elde edildi.

3.4.1.2. Genomik DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Örneklerdeki genomik DNA konsantrasyonunu belirlemek için Qubit® dsDNA HS Assay (Life Technologies, ABD) Kiti kullanıldı ve sonuçlar Qubit 2.0 Fluorometer (Invitrogen, ABD) cihazı ile ölçüldü.

Qubit® dsDNA HS Assay Kiti floresan ölçümüne dayanarak DNA konsantrasyonunu doğru ve kolay şekilde belirleyen bir sistemdir. Test 10 pg/μL to 100 ng/μL arasındaki konsantrasyonları yüksek doğrulukla ölçmektedir (108).

1. 0,5 ml ince duvarlı Qubit® assay tüpleri (500 tüp, Life Technologies) standartlar (2 standart) ve her bir örnek için bir tane olacak şekilde hazırlandı.

2. Her standart ve örnek için ayrı 200 μl çalışma solüsyonu Qubit® dsDNA HS Reagent 1/200 oranında Qubit® dsDNA HS Buffer'da seyreltilerek (1 örnek için 1 μl Qubit® dsDNA HS Reagent; 199 μl Qubit® dsDNA HS Buffer) plastik bir tüpe hazırlandı.

3. Her standart ve örnek için Qubit® assay tüpün son hacmi 200 μl olacak şekilde (190 μl çalışma solüsyonu, 10 μl Qubit dsDNA HS Standart 1; 190 μl çalışma solüsyonu, 10 μl Qubit dsDNA HS Standart 2; 199 μl çalışma solüsyonu, 1 μl örnek) hazırlandı.

4. Tüm tüpler 2-3 sn vortekslelendikten sonra oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.

5. Standart 1 ve 2 sırayla Qubit 2.0 Fluorometer cihazına yerleştirildi. Her biri için okuma tamamlanınca (yaklaşık 3 saniye) cihaz iki standart arasındaki ilişkiye dayalı bir konsantrasyon verisi oluşturdu.

6. Örneklerle ait tüpler sırayla Qubit 2.0 Fluorometer cihazında numune haznesine yerleştirildi. “Curve-fitting” algoritmasına göre örneklerin konsantrasyonu belirlendi.

3.4.2. rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 Tek Nükleotid

Polimorfizmlerinin (TNP) RT-PCR Yöntemi ile Belirlenmesi

Tek nükleotid polimorfizmlerinin belirlenmesi için TagMan SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, ABD) Real Time PCR kiti kullanıldı. Çalışma yapılınca kadar Real Time PCR Kitinin TagMan 2X Universal PCR Master Mix bileşeni +4°C’de; diğer bileşenlerin tümü -20°C’de bekletildi.

3.4.2.1.Yöntemin Esasları

TagMan SNP Genotyping Assay Real Time PCR Kiti çeşitli floresan boyalar yardımıyla TNP’leri saptamaya olanak sağlamaktadır. Bu yöntemde, PCR’ın aşamalarından biri olan uzatma (extension) sırasında çift işaretli bir floresan probunu parçalamak için Taq Polimeraz’ın 5’-ekzonükleaz aktivitesinden yararlanılır. Çoğaltılmak istenilen DNA’ya komplementer normal ve mutant allele uyum gösteren ve floresanla işaretlenmiş iki farklı TagMan probu kullanılır. Floresan işaretli probun 5' ucunda “reporter (raportör) boya” (Mutant allel için

VIC; Normal allel için FAM) ve 3' ucunda "quencher (baskılayıcı) boya" (TAMRA) bağlıdır. 3' uçtaki baskılayıcı TAMRA boyası, 5' uçtaki FAM/VIC boyasının sinyal oluşturmalarını engellemektedir. Amplifikasyon sırasında her bir prob TNP'nin iki allelinden birine bağlanır. PCR'ın primer uzatma (extension) aşamasında probun bağlı olduğu bölgeye gelindiğinde Taq DNA polimeraz enzimi 5'→3 ekzonükleaz aktivitesi ile FAM/VIC'i probdan ayırmakta ve bu sırada reporter, quencher'ın baskılayıcı etkisinden kurtulduğu için floresan sinyal açığa çıkmaktadır. Hedef bölgede hibridize olan problemlerin amplifikasyonu arttıkça ışıma doğrusal olarak artmakta ve bu artış cihaz tarafından eş zamanlı olarak hassas bir biçimde tespit edilmektedir. Elde edilen sonuçlar, mutant ya da normal allelin heterozigot ya da homozigot bulunmasına bağlı olarak yorumlanmakta, hasta ve kontrol grubunun genotipleri ve allelik dağılımları belirlenmektedir.

3.4.2.2. Kitin Çalışma Prensipleri

TagMan SNP Genotyping Assay Real Time PCR kiti ile *IL-28B* gen bölgesinde analiz edilen rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'lerine ait veriler Tablo 5'te bulunmaktadır.

HotStar Taq DNA Polimeraz enzimi "thermus aquaticus" isimli yüksek ısıya dayanıklı bir bakteriden elde edilen enzim olup, 94 kDa'luk rekombinant DNA polimerazın modifiye edilmiş bir formudur. Bu enzimin 95°C'de 15 dakika süresince yapılan inkübasyon sonucunda aktif forma dönüşme özelliği ile işlem sırasında çıkabilecek sorunların önüne geçilmektedir (110).

Tablo 5. rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'lerinin verileri(109)

TNP	Dizi	Pozisyonu	Genotipler	Alleller	VIC	FAM
rs8099917	TTTTGTTTTCCTTTCTGTGAGCA AT[G/T]TCACCCAAATTGGAACC ATGCTGTA	39252525T>G	TT/TG/GG	G/T	G	T
rs12979860	TGAACCAGGGAGCTCCCCGAAG GCG[C/T]GAACCAGGGTTGAATT GCACTCCGC	39248147C>T	CC7CT/TT	C/T	C	T
rs12980275	TGAGAGAAGTCAAATTCCTAGA AAC[A/G]GACGTGTCTAAATATT TGCCGGGGT	39241143A>G	AA/AG/G G	A/G	A	G

Optimizasyon işlemlerinde sadece DNA miktarı üzerinde değişimlerle optimal DNA miktarı belirlendi. Standart termal döngü kullanıldı.

3.4.2.3. Protokol

Tüm kit bileşenleri kullanmadan önce oda ısısına getirildi. Her bir örnek için hazırlanan PCR karışımı Tablo 6'da bulunmaktadır. Çalışılacak örnek sayısı kadar 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne hazırlanan karışım homojenize edildikten sonra her bir reaksiyon için 9,25 µl olacak şekilde 96 kuyucuğa dağıtıldı. Son olarak örnek DNA'ları her bir kuyuya numara sırasıyla pipetaj yapılarak eklendi. Negatif kontrol için DNA örneği yerine "nükleaz free su" kullanıldı. Kontaminasyonu önlemek için üzerleri özel mikropalak kapatıcısı ile sıkıca kapatılarak The Applied Biosystems® StepOnePlus™ (Applied Biosystems, ABD) Real Time PCR Sistem cihazına yerleştirildi.

Tablo 6. RT-PCR Reaksiyonu bileşenleri

Reaksiyon karışımı	Kullanılan Miktar (µl)*
Primer/Probe Mix	0,5 µl
TagMan 2X Universal PCR Master Mix	5 µl
Nükleaz free su	3,75 µl
Örnek DNA	0,75 µl
Toplam Hacim	10 µl

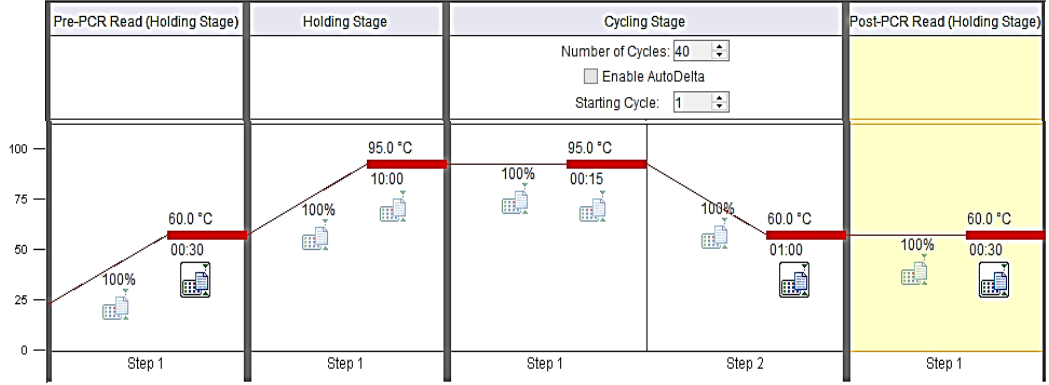
* Değerler yalnızca bir örnek için verilmiştir.

3.4.2.4. Sistemin Programlanması

Hazırlanan örnekler rs8099917, rs12979860 ve rs12980275 analizi için “The Applied Biosystems® StepOnePlus™ (Applied Biosystems, ABD) Real Time PCR Sistem” cihazına yerleştirildi. PCR koşulları; 60°C 30 sn., 95°C 10 dk., 95°C 15sn., 60°C 1 dk. olacak şekilde gerçekleştirildi. Son iki basamak 40 döngü olarak yapıldı (Tablo 7, Şekil 21).

Tablo 7. RT-PCR Döngüleri

Basamaklar		Hedef Isı	Süre	Döngü
Pre PCR plak okuma		60°C	30 sn	
Polimeraz enzim aktivasyonu		95°C	10 dk	Bekleme
PCR	Denatürasyon	95°C	15 sn	40
	Bağlanma/Uzatma	60°C	1 dk	40
Post PCR plak okuma		60°C	30 sn	



Şekil 21. İncelenen üç TNP bölgesi için Real Time PCR Protokolü (111).

Sistemin doğru çalışabilmesi için;

Çalışmaya ‘ad’ verildikten sonra ‘Genotipleme’ işlemi işaretlendi. TagMan Reaktifleri ile Standart hızda (~ 2 saat) bir çalışma olacağı bilgileri kontrol edildi. Çalışılacak olan TNP ‘rs’numarası girilerek kaydedildi. Allel 1 ve Allel 2 bilgileri kaydedildi. Kullanılacak filtre çiftleri seçildi (VIC ve FAM). Örnek ve negatif kontrol içeren kuyucuklar tanımlandı. Her bir kuyucuktaki reaksiyon volümü bilgileri kaydedildi. Standart termal döngü bilgileri kontrol edildikten sonra 96 kuyucuklu mikroplyet cihaza yerleştirilerek reaksiyon başlatıldı.

3.4.2.5. Analiz

Sonuçların analizi SDS software version 2.3 (ABI/Life Technologies) ile gerçekleştirildi. Allel farklılık grafikleri, GraphPad Prism version 5.0’da oluşturuldu.

3.5. ELISA Yöntemi ile IL-28B Sitokin Düzeyinin Belirlenmesi

Human IL-28B (interleukin 28B) ELISA Kit (Elabscience, ABD) kullanılarak sandviç ELISA yöntemiyle çalışmaya alınan plazma örneklerinde IL-28B konsantrasyonu araştırıldı.

3.5.1. Reaktiflerin Hazırlanması

1. Tüm reaktifler kullanım öncesi oda sıcaklığına getirildi.
2. **Yıkama Tamponu:** 30 ml konsantre yıkama tamponu distile su ile 750 ml'ye tamamlandı.
3. **Biyotinle İşaretlenmiş Antikor Çalışma Solüsyonu:** Stok tüp kullanılmadan önce santrifüj edildi. 120 µl konsantre Biyotinle İşaretlenmiş Antikor üzerine 12 ml Biyotinle İşaretlenmiş Antikor Diluent eklenerek 1/100 oranında bir çalışma solüsyonu elde edildi.
4. **Konsantre HRP Konjugat Çalışma Solüsyonu:** 120 µl konsantre HRP Konjugat üzerine 12 ml HRP Konjugat Diluent eklenerek 1/100 oranında bir çalışma solüsyonu elde edildi.
5. **Standart Çalışma Solüsyonu:** Standart 10000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Üzerine 1,0 ml Referans Standart&Sample Diluent solüsyonu eklendi. 10 dakika kadar yukarı aşağı hareketlerle tamamen çözünmesi sağlandı. 1000 pg/ml çalışma solüsyonu hazırlanmış oldu. Seri dilüsyonlar ile bir dilüsyon gradienti oluşturuldu: 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 0 pg/ml.

6. **Dilüsyon Yöntemi:** 7 tane 1,5 ml'lik mikrotüp hazırlandı. Her tüpe 500 µl Referans Standart&Sample Diluent solüsyonu eklendi. Madde 5'te hazırlanan 1000 pg/ml'lik çalışma solüsyonundan 500 µl pipetle alındı ve ilk tüpe eklenerek karıştırıldı ve 500 pg/ml'lik çalışma solüsyonu elde edilmiş oldu. Aynı şekilde ilk tüpten 500 µl pipetle alınarak sıradaki tüpe aktarıldı ve bu tüpte 250 pg/ml'lik çalışma solüsyonu elde edilmiş oldu. Bu yöntemle 6 tüp seri dilüsyon oluşturuldu; 7. tüpe sadece 500 µl Referans Standart&Sample Diluent solüsyonu eklendi ve "blank" olarak kullanıldı.

3.5.2. ELISA Aşamaları

1. IL-28B'ye spesifik antikorlarla kaplı 96 kuyucuklu mikro ELISA plakları kullanıldı.
2. Oda sıcaklığındaki örnekler numara sırasına göre dizildi.
3. Seri dilüsyon yöntemi ile hazırlanan standart çalışma solüsyonları 100'er µl ilk 8 kuyucuğa eklendi. Örnekler numara sırasıyla 100'er µl diğer kuyucuklara eklendi. Plak üzeri özel bir kapatıcı ile kapatıldı ve 37°C'de 90 dakika inkübe edildi.
4. Yıkama yapılmadan her kuyucuktaki sıvı mikropipet ile uzaklaştırıldı. 100 µl Biotinle İşaretlenmiş Antikor Çalışma Solüsyonu kuyucuklara eklendi. Plak üzeri özel bir kapatıcı ile kapatıldı. Hafifçe sallayarak karıştırıldı. 37°C'de 1 saat inkübe edildi.

5. Yıkama cihazına yerleştirilen plak her bir kuyucuk her defasında 350 µl yıkama tamponu ile yıkanacak şekilde 3 kez yıkandı. Yıkama sonrası sert şekilde kurutma kağıdı ile kurutuldu ve kalan su damlacıkları uzaklaştırıldı.

6. 100 µl HRP Konjugat Çalışma Solüsyonu kuyucuklara eklendi. Plak üzeri özel bir kapatıcı ile kapatıldı. 37°C’de 30 dakika inkübe edildi.

7. Yıkama cihazına yerleştirilen plak her bir kuyucuk her defasında 350 µl yıkama tamponu ile yıkanacak şekilde 5 kez yıkandı. Yıkama sonrası sert şekilde kurutma kağıdı ile kurutuldu ve kalan su damlacıkları uzaklaştırıldı.

8. 90 µl Substrate Reagent kuyucuklara eklendi. Plak üzeri özel bir kapatıcı ile kapatıldı. Işıktan koruyarak 37°C’de 15 dakika inkübe edildi. Bu aşama sonunda kuyucuklarda mavi renklenmeler başladı.

9. 50 µl Stop Solüsyonu kuyucuklara eklendi. Kuyucuklarda mavi renklenmeler sarı renklenmelere dönüştü. Plak ışıktan korunarak hemen 15 dakika önceden açılarak ısıtılan ELISA okuyucu cihazına yerleştirildi.

3.5.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Kuyucuklarda oluşan absorbans değerleri, ELISA okuyucusunda 450 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülerek değerlendirildi. Standart eğri, IL-28B standartları kullanılarak oluşturuldu. Örneklerle ait IL-28B düzeyleri, standart eğri üzerinde işaretlenerek, sitokin düzeyleri pg/ml cinsinden belirlendi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonunda elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS software version 20 analiz programı kullanılarak yapıldı. Parametrik değişkenler ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi. Gruplar arasında *IL-28B* geni rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmleri genotip, allel ve haplotip frekanslarının karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi. OR (odds ratio=göreceli olasılıklar oranı) ve %95 CI (güven aralığı) değerleri binary lojistik regresyon testleri kullanılarak analiz edildi. Gruplar arasında *IL-28B* plazma düzeylerinin karşılaştırılmasında ise ANOVA testi (one-way analysis of variance) kullanıldı. Post Hoc analiz için Bonferroni testi uygulandı. $p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

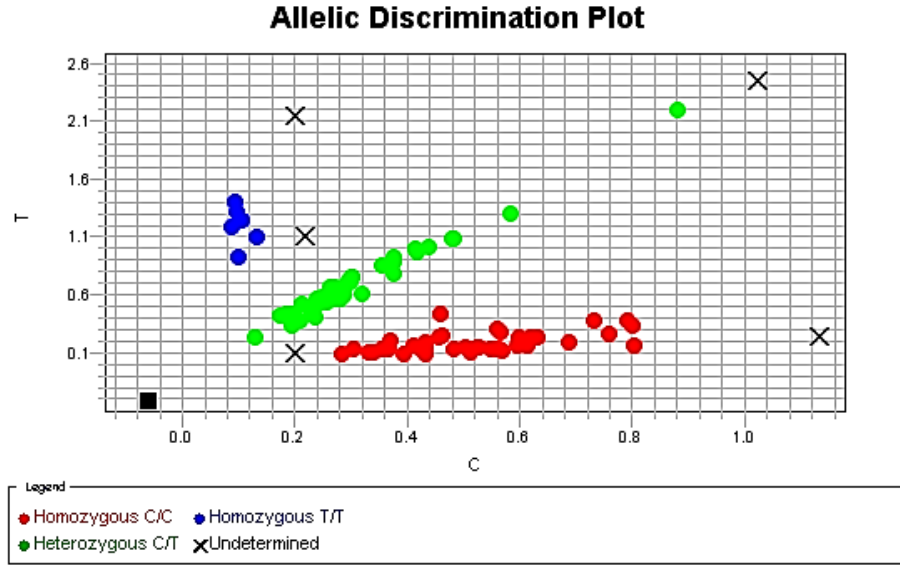
Çalışma gruplarımıza ait cinsiyet, yaş, ALT, AST değerleri Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. Kontrol ve hasta gruplarının demografik verileri

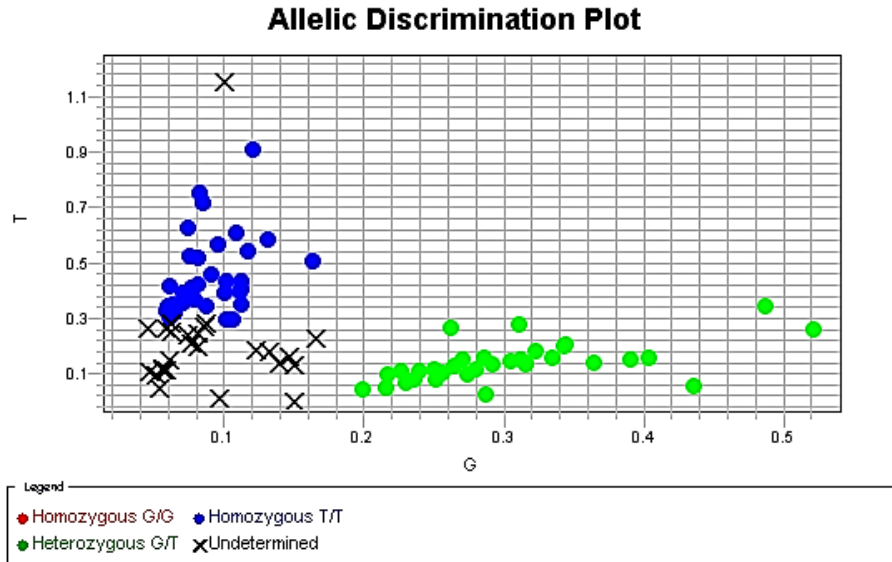
	Kontrol n=70 (%)	Kronik hepatit B enfeksiyonlu n=49 (%)	Aseptomatik kronik HBV taşıyıcısı n=15 (%)	Viral yük pozitif kronik HCV n=31 (%)	Viral yük negatif kronik HCV n=35 (%)
Cinsiyet	33 (47,1) Kadın 37 (5,9) Erkek	25 (51) Kadın 24 (49) Erkek	6 (40) Kadın 9 (60) Erkek	13 (42) Kadın 18 (58) Erkek	23 (65,7) Kadın 12 (34,3) Erkek
Yaş	53,08 ± 16,27	45,18 ± 13,58	58,33 ± 12,26	47 ± 21,41	52,37 ± 13,81
ALT (IU/L)	38 ± 43	59 ± 104	34 ± 21	77 ± 53	23 ± 18
AST (IU/L)	31 ± 22	43 ± 60	37 ± 21	74 ± 108	26 ± 13

Yaş, ALT, AST değerleri Ortalama±Standart Sapma şeklinde hesaplanmıştır.

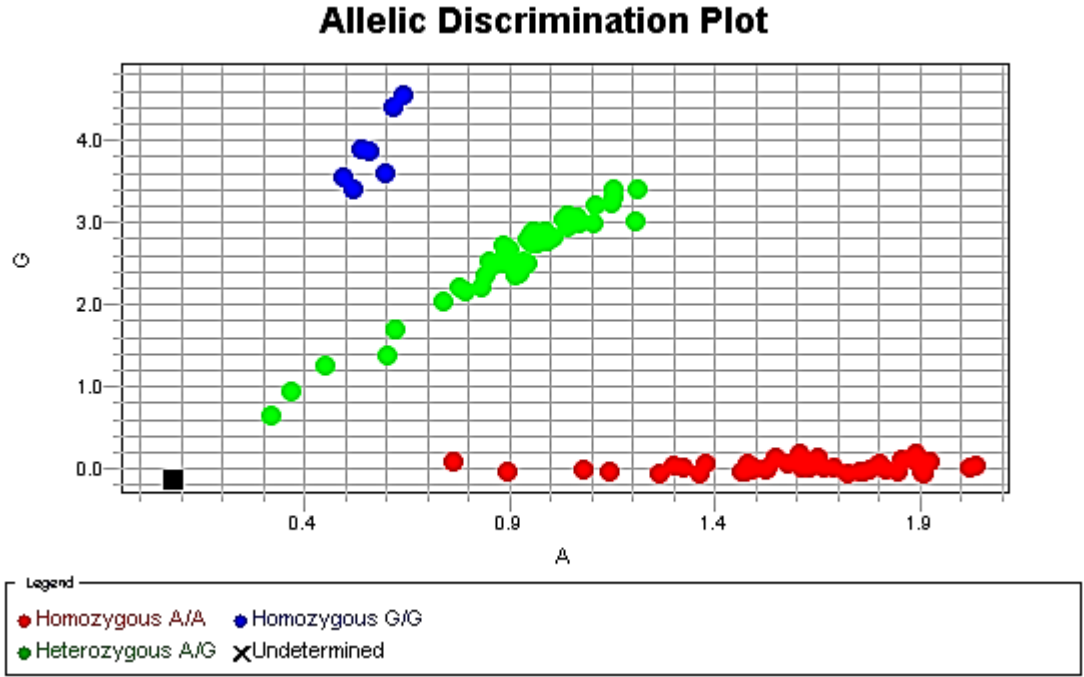
IL-28B geni rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerine ait genotiplerin, RT-PCR cihazından elde edilen sonuçlarına ait grafikler Şekil 22-24’de gösterilmiştir.



Şekil 22. *IL-28B* rs12979860 polimorfizmine ait genotiplerin sonuç grafiği. C/C (kırmızı) doğal genotip olup, C/T (yeşil) heterozigot, T/T (mavi) homozigot genotipleri göstermektedir. (The Applied Biosystems® StepOnePlus™ (Applied Biosystems, Singapur) gerçek zamanlı PCR cihazı kullanılmıştır).



Şekil 23. *IL-28B* rs8099917 polimorfizmine ait genotiplerin sonuç grafiği. T/T (mavi) doğal genotip olup, T/G heterozigot, G/G (yeşil) homozigot genotipleri göstermektedir. (The Applied Biosystems® StepOnePlus™ (Applied Biosystems, Singapur) gerçek zamanlı PCR cihazı kullanılmıştır).



Şekil 24. *IL-28B* rs12980275 polimorfizmine ait genotiplerin sonuç grafiği. A/A (kırmızı) doğal genotip olup, A/G (yeşil) heterozigot, G/G (mavi) homozigot genotipleri göstermektedir. (The Applied Biosystems® StepOnePlus™ (Applied Biosystems, Singapur) gerçek zamanlı PCR cihazı kullanılmıştır).

1. Kontrol grubu ile viral hepatitli hastalar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

Çalışmamızda kontrol grubu ile viral hepatitli hastalar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 9’da gösterilmiştir. rs12980275AG genotipi kontrol grubunda viral hepatitli hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek olarak bulunmuştur ($p=0,04$). Kontrol grubu ile viral hepatitli hastalar arasında rs12979860 ve rs8099917 polimorfizmleri genotip ve allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır.

Tablo 9. Kontrol grubu ile viral hepatitli hastalar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Kontrol n=70 (%)	Viral hepatitli hasta n=130 (%)	OR	%95CI	<i>p</i> değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	24 (34,3)	58 (44,6)	1	Referans	
CT	40 (57,1)	59 (45,4)	1,638	0,879-3,053	0,11
TT	6 (8,6)	13 (10)	1,115	0,380-3,278	1
Allel					
C	88 (62,9)	175 (67,3)	1	Referans	
T	52 (37,1)	85 (32,7)	0,822	0,535-1,263	0,37
rs8099917					
Genotip					
TT	44 (62,9)	69 (54,8)	1	Referans	
TG	26 (37,1)	55 (43,6)	0,741	0,407-1,351	0,32
GG	0 (0)	2 (1,6)	-	-	0,52
Allel					
T	114 (81,4)	193 (76,6)	1	Referans	
G	26 (18,6)	59 (23,4)	1,340	0,800-2,246	0,26
rs12980275					
Genotip					
AA	24 (35,3)	61 (47,3)	1	Referans	
AG	40 (58,8)	56 (43,4)	1,815	0,974-3,384	0,04
GG	4 (5,9)	12 (9,3)	0,847	0,249-2,887	1
Allel					
A	88 (64,7)	178 (69)	1	Referans	
G	48 (35,3)	80 (31)	0,824	0,531-1,279	0,38

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

2. Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hastalar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki.

Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hastalar arasında 3 Tek Nükleotid Polimorfizmi (TNP) genotip ve allel frekansı arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 10'da gösterilmiştir. rs12979860CT genotipi ve T alleli kontrol grubunda HBV ile

enfekte hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,01$ ve $p=0,04$). rs12979860CC genotipi ise, hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek belirlenmiştir ($p=0,01$) (Tabloda gösterilmemiştir). rs12980275AG genotipi ve G alleli kontrol grubunda HBV ile enfekte hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,003$ ve $p=0,04$). rs12980275AA genotipi ise HBV ile enfekte hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeylerde yüksek olarak belirlenmiştir ($p=0,006$) (Tabloda gösterilmemiştir).

Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hasta grubu arasında rs8099917 polimorfizmi genotip ve allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır.

Tablo 10. Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hastalar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Kontrol n=70 (%)	HBV ile enfekte hasta n=64 (%)	OR	%95CI	p değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	24 (34,3)	35 (54,7)	1	Referans	
CT	40 (57,1)	24 (37,5)	2,431	1,177-5,019	0,01
TT	6 (8,6)	5 (7,8)	1,458	0,380-5,592	0,51
Allel					
C	88 (62,9)	94 (73,4)	1	Referans	
T	52 (37,1)	34 (26,6)	0,612	0,364-1,031	0,04
rs8099917					
Genotip					
TT	44 (62,9)	40 (64,5)	1	Referans	
TG	26 (37,1)	21 (33,9)	1,126	0,550-2,305	0,74
GG	0 (0)	1 (1,6)	-	-	0,48
Allel					
T	114 (81,4)	101 (81,5)	1	Referans	
G	26 (18,6)	23 (18,5)	0,998	0,536-1,859	1
rs12980275					
Genotip					
AA	24 (35,3)	38 (59,4)	1	Referans	
AG	40 (58,8)	21 (32,8)	3,016	1,446-6,289	0,003
GG	4 (5,9)	5 (7,8)	1,267	0,309-5,191	0,73
Allel					
A	88 (64,7)	97 (75,8)	1	Referans	
G	48 (35,3)	31 (24,2)	0,586	0,343-1,001	0,04

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

3. Kontrol grubu ile kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki.

HBV ile enfekte hastalar, kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar ve asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları olarak iki alt gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubu ile kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar

arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 11’de gösterilmiştir. rs12979860CT genotipi ve T alleli kontrol grubunda kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,02$ ve $p=0,04$). rs12980275AG genotipi ve G alleli kontrol grubunda kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek olarak belirlenmiştir (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,004$). rs8099917 polimorfizminde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 11. Kontrol grubu ile kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Kontrol n=70 (%)	Kronik hepatit B enfeksiyonlu n=49 (%)	OR	%95CI	<i>p</i> değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	24 (34,3)	27 (55,1)	1	Referans	
CT	40 (57,1)	19 (38,8)	0,368	1,091-5,141	0,02
TT	6 (8,6)	3 (6,1)	2,250	0,507-9,993	0,27
Allel					
C	88 (62,9)	73 (74,5)	1	Referans	
T	52 (37,1)	25 (25,5)	0,580	0,328-1,024	0,04
rs8099917					
Genotip					
TT	44 (62,9)	31 (66)	1	Referans	
TG	26 (37,1)	15 (32)	1,221	0,557-2,675	0,61
GG	0 (0)	1 (2)	-	-	0,42
Allel					
T	114 (81,4)	77 (82)	1	Referans	
G	26 (18,6)	17 (18)	0,968	0,492-1,904	1
rs12980275					
Genotip					
AA	24 (35,3)	31 (63,3)	1	Referans	
AG	40 (58,8)	15 (30,6)	3,444	1,551-7,647	0,002
GG	4 (5,9)	3 (6,1)	1,722	0,352-8,437	0,69
Allel					
A	88 (64,7)	77 (78,6)	1	Referans	
G	48 (35,3)	21 (21,4)	0,500	0,275-0,908	0,004

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

4. Kontrol grubu ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

Kontrol grubu ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 12’de gösterilmiştir. Kontrol grubu

ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında çalışılan 3 TNP genotip ve allel dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır.

Tablo 12. Kontrol grubu ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Kontrol n=70 (%)	Asemptomatik kronik HBV taşıyıcısı n=15 (%)	OR	%95CI	p değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	24 (34,3)	8 (53,3)	1	Referans	
CT	40 (57,1)	5 (33,3)	2,667	0,782-9,092	0,10
TT	6 (8,6)	2 (13,4)	1,000	0,167-5,985	1
Allel					
C	88 (62,9)	21 (70)	1	Referans	
T	52 (37,1)	9 (30)	0,725	0,309-1,702	0,59
rs8099917					
Genotip					
TT	44 (62,9)	9 (60)	1	Referans	
TG	26 (37,1)	6 (40)	0,886	0,283-2,775	0,83
GG	0 (0)	0 (0)	-	-	-
Allel					
T	114 (81,4)	24 (80)	1	Referans	
G	26 (18,6)	6 (20)	1,096	0,407-2,952	0,80
rs12980275					
Genotip					
AA	24 (35,3)	7 (46,7)	1	Referans	
AG	40 (58,8)	6 (40)	1,944	0,584-6,470	0,27
GG	4 (5,9)	2 (13,3)	0,583	0,088-3,880	0,62
Allel					
A	88 (64,7)	20 (66,7)	1	Referans	
G	48 (35,3)	10 (33,3)	0,917	0,397-2,116	0,27

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

5. Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

IL-28B polimorfizminin, kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar ve asemptomatik kronik HBV taşıyıcılık durumu arasındaki etkisi değerlendirilmiştir. Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcı gruplar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 13’de gösterilmiştir. Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcı gruplar arasında çalışılan 3 TNP genotip ve allel dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır.

Tablo 13. Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Kronik hepatit B enfeksiyonlu n=49 (%)	Asemptomatik kronik HBV taşıyıcı n=15 (%)	OR	%95CI	p değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	27 (55,1)	8 (53,3)	1	Referans	
CT	19 (38,8)	5 (33,3)	0,888	0,251-3,138	0,85
TT	3 (6,1)	2 (13,4)	2,250	0,318-15,901	0,58
Allel					
C	73 (74,5)	21 (70)	1	Referans	
T	25 (25,5)	9 (30)	0,799	0,324-1,972	0,80
rs8099917					
Genotip					
TT	31 (66)	9 (60)	1	Referans	
TG	15 (32)	6 (40)	1,378	0,414-4,588	0,75
GG	1 (2)	0 (0)	-	-	1
Allel					
T	77 (82)	24 (80)	1	Referans	
G	17 (18)	6 (20)	0,883	0,313-2,492	0,79
rs12980275					
Genotip					
AA	31 (63,3)	7 (46,7)	1	Referans	
AG	15 (30,6)	6 (40)	1,771	0,506-6,199	0,51
GG	3 (6,1)	2 (13,3)	2,952	0,412-21,133	0,27
Allel					
A	77 (78,6)	20 (66,7)	1	Referans	
G	21 (21,4)	10 (33,3)	0,545	0,222-1,341	0,27

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

6. Yüksek viral yüklü kronik hepatit B ile düşük viral yüklü kronik hepatit B enfeksiyonlu gruplar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar yüksek viral yük ($>10^5$ IU/ml) ve düşük viral yük ($<10^5$ IU/ml) olarak iki alt gruba ayrılarak 3 TNP açısından karşılaştırılmıştır ve 3 TNP'ye ait genotip ve allellerin HBV replikasyonu üzerine etkisi değerlendirilmeye çalışılmıştır. Yüksek viral yüklü kronik hepatit B ile düşük viral yüklü kronik hepatit B enfeksiyonlu gruplar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 14'de gösterilmiştir. İki grup arasında 3 TNP genotip ve allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 14. Yüksek viral yüklü kronik hepatit B ile düşük viral yüklü kronik hepatit B enfeksiyonlu gruplar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Yüksek viral yüklü kronik hepatit B n=16 (%)	Düşük viral yüklü kronik hepatit B n=33 (%)	OR	%95CI	<i>p</i> değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	9 (56,25)	18 (54,5)	1	Referans	
CT	6 (37,5)	13 (39,4)	1,083	0,309-3,802	0,90
TT	1 (6,25)	2 (6,1)	1,000	0,080-12,557	1
Allel					
C	24 (60)	49 (74,2)	1	Referans	
T	16 (40)	17 (25,8)	1,922	0,830-4,448	1
rs8099917					
Genotip					
TT	9 (60)	22 (68,8)	1	Referans	
TG	6 (40)	9 (28,1)	0,614	0,169-2,233	0,45
GG	0 (0)	1 (3,1)	-	-	-
Allel					
T	22 (78,6)	53 (82,8)	1	Referans	
G	6 (21,4)	11 (17,2)	1,314	0,432-3,995	0,85
rs12980275					
Genotip					
AA	9 (56,25)	22 (66,7)	1	Referans	
AG	6 (37,5)	9 (27,3)	0,612	0,169-2,233	0,45
GG	1 (6,25)	2 (6)	0,818	0,066-10,196	1
Allel					
A	24 (75)	53 (80,3)	1	Referans	
G	8 (25)	13 (19,7)	1,359	0,498-3,709	0,73

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

Sonuç olarak bu çalışmada, rs12980275AG genotipi kontrol grubunda viral hepatitli hasta grubuna göre ($p=0,04$), rs12979860CT genotipi ve T alleli kontrol grubunda HBV ile enfekte hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,01$ ve $p=0,04$). rs12979860CC genotipi kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek olarak belirlenmiştir

($p=0,038$) (Tabloda gösterilmemiştir). Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hasta grubu arasında rs8099917 polimorfizmi genotip ve allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır. rs12980275AG genotipi ve G alleli kontrol grubunda HBV ile enfekte hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,003$ ve $p=0,04$). rs12979860CT genotipi ve T alleli kontrol grubunda kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,02$ ve $p=0,04$). rs8099917 polimorfizminde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. rs12980275AG genotipi ve G alleli kontrol grubunda kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,004$). rs12980275AA genotipi kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek tespit edilmiştir ($p=0,005$) (Tabloda gösterilmemiştir). Kontrol grubu ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında; kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcı gruplar arasında; yüksek viral yüklü kronik hepatit B ile düşük viral yüklü kronik hepatit B enfeksiyonlu gruplar arasında çalışılan 3 TNP genotip ve allel dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır.

7. Kontrol grubu ile kronik HCV enfeksiyonlu hastalar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

Kontrol grubu ile kronik HCV enfeksiyonlu hastalar arasında 3 TNP genotip ve allel frekansı arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 15’de gösterilmiştir. rs8099917 TG genotipi ve G alleli kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,04$ ve $p=0,04$). Kontrol grubunda ise rs8099917TT genotipi ve T alleli anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,04$ ve $p=0,04$) (Tabloda gösterilmemiştir). rs12979860 ve rs12980275 polimorfizmleri genotip ve allel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 15. Kontrol grubu ile kronik HCV enfeksiyonlu hastalar arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Kontrol n=70 (%)	Kronik HCV enfeksiyonlu hasta n=66 (%)	OR	%95CI	p değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	24 (34,3)	23 (34,9)	1	Referans	
CT	40 (57,1)	35 (53)	1,095	0,528-2,273	0,80
TT	6 (8,6)	8 (12,1)	0,719	0,216-2,394	0,59
Allel					
C	88 (62,9)	81 (61,4)	1	Referans	
T	52 (37,1)	51 (38,6)	1,066	0,653-1,740	0,80
rs8099917					
Genotip					
TT	44 (62,9)	29 (45,3)	1	Referans	
TG	26 (37,1)	34 (53,1)	0,504	0,252-1,008	0,04
GG	0 (0)	1 (1,6)	-	-	0,40
Allel					
T	114 (81,4)	92 (71,9)	1	Referans	
G	26 (18,6)	36 (28,1)	1,716	0,966-3,047	0,04
rs12980275					
Genotip					
AA	24 (35,3)	23 (35,4)	1	Referans	
AG	40 (58,8)	35 (53,8)	1,095	0,528-2,273	0,80
GG	4 (5,9)	7 (10,8)	0,548	0,141-2,123	0,38
Allel					
A	88 (64,7)	81 (62,3)	1	Referans	
G	48 (35,3)	49 (37,7)	1,109	0,673-1,828	0,68

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

8. Kontrol grubu ile viral yük pozitif kronik HCV arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

Kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubu viral yük pozitif kronik HCV ve viral yük negatif kronik HCV olarak iki alt gruba ayrılarak değerlendirilmiştir. Kontrol

grubu ile viral yük pozitif kronik HCV arasında 3 TNP genotip ve allel frekansları arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 16’da gösterilmiştir. İki grup arasında 3 TNP’ye ait genotip ve allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 16. Kontrol grubu ile viral yük pozitif kronik HCV arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Kontrol n=70 (%)	Viral yük pozitif kronik HCV n=31 (%)	OR	%95CI	p değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	24 (34,3)	10 (32,3)	1	Referans	
CT	40 (57,1)	16 (51,6)	1,042	0,408-2,662	0,93
TT	6 (8,6)	5 (16,1)	0,200	0,124-2,022	0,46
Allel					
C	88 (62,9)	36 (58)	1	Referans	
T	52 (37,1)	26 (42)	1,222	0,664-2,249	0,51
rs8099917					
Genotip					
TT	44 (62,9)	15 (51,7)	1	Referans	
TG	26 (37,1)	13 (44,8)	0,682	0,281-1,655	0,49
GG	0 (0)	1 (3,5)	-	-	0,26
Allel					
T	114 (81,4)	43 (74,1)	1	Referans	
G	26 (18,6)	15 (25,9)	1,530	0,740-3,161	0,33
rs12980275					
Genotip					
AA	24 (35,3)	11 (36,7)	1	Referans	
AG	40 (58,8)	14 (46,7)	1,310	0,513-3,345	0,57
GG	4 (5,9)	5 (16,6)	0,367	0,082-1,637	0,25
Allel					
A	88 (64,7)	36 (60)	1	Referans	
G	48 (35,3)	24 (40)	1,222	0,654-2,283	0,63

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

9. Kontrol grubu ile viral yük negatif kronik HCV arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

Kontrol grubu ile viral yük negatif kronik HCV arasında 3 TNP genotip ve allel frekansları arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 17’de gösterilmiştir. rs8099917TG genotipi ve G alleli viral yük negatif kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,03$ ve $p=0,04$). Kontrol grubunda ise rs8099917TT genotipi ve T alleli anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,03$ ve $p=0,04$) (Tabloda gösterilmemiştir). rs12979860 ve rs12980275 polimorfizmleri genotip ve allel frekansları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır.

Tablo 17. Kontrol grubu ile viral yük negatif kronik HCV arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Kontrol n=70 (%)	Viral yük negatif kronik HCV n=35 (%)	OR	%95CI	<i>p</i> değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	24 (34,3)	13 (37,1)	1	Referans	
CT	40 (57,1)	19 (54,3)	1,140	0,479-2,717	0,76
TT	6 (8,6)	3 (8,6)	1,083	0,232-5,061	1
Allel					
C	88 (62,9)	45 (64,3)	1	Referans	
T	52 (37,1)	25 (35,7)	0,940	0,517-1,708	0,84
rs8099917					
Genotip					
TT	44 (62,9)	14 (40)	1	Referans	
TG	26 (37,1)	21 (60)	0,394	0,171-0,903	0,03
GG	0 (0)	0 (0)	-	-	-
Allel					
T	114 (81,4)	49 (70)	1	Referans	
G	26 (18,6)	21 (30)	1,879	0,966-3,655	0,04
rs12980275					
Genotip					
AA	24 (35,3)	12 (34,3)	1	Referans	
AG	40 (58,8)	21 (60)	0,952	0,398-2,276	0,91
GG	4 (5,9)	2 (5,7)	1,000	0,160-6,255	1
Allel					
A	88 (64,7)	45 (64,3)	1	Referans	
G	48 (35,3)	25 (35,7)	1,019	0,558-1,860	0,74

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

10. Viral yük pozitif kronik HCV ile viral yük negatif kronik HCV grupları arasında *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

Viral yük pozitif kronik HCV ve viral yük negatif kronik HCV hasta grupları arasında 3 TNP'ye ait genotip ve allel frekansları arasındaki ilişkiye ait veriler Tablo 18'de gösterilmiştir. *IL-28B* gen bölgesinin HCV viral

replikasyonuna etkisine bakılmıştır. rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmleri genotip ve allel frekansları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

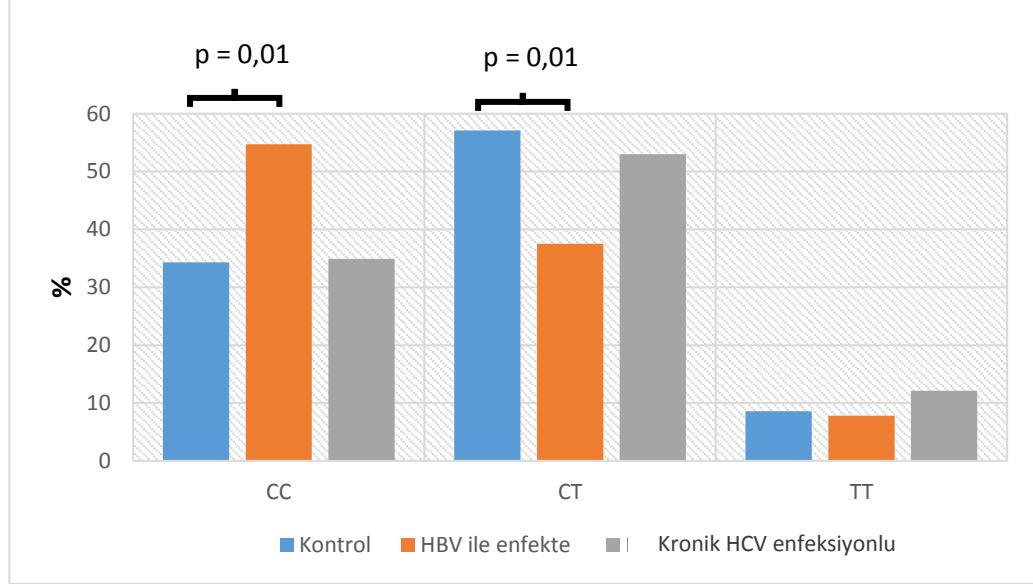
Tablo 18. Viral yük pozitif kronik HCV ile viral yük negatif kronik HCV grubunda *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları arasındaki ilişki

<i>IL-28B</i> polimorfizm	Viral yük pozitif kronik HCV n=31 (%)	Viral yük negatif kronik HCV n=35 (%)	OR	%95CI	<i>p</i> değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	10 (32,3)	13 (37,1)	1	Referans	
CT	16 (51,6)	19 (54,3)	0,913	0,317-2,634	0,86
TT	5 (16,1)	3 (8,6)	0,462	0,088-2,408	0,43
Allel					
C	36 (58)	45 (64,3)	1	Referans	
T	26 (42)	25 (35,7)	1,300	0,644-2,624	0,58
rs8099917					
Genotip					
TT	15 (51,7)	14 (40)	1	Referans	
TG	13 (44,8)	21 (60)	1,731	0,634-4,726	0,28
GG	1 (3,5)	0 (0)	-	-	1
Allel					
T	43 (74,1)	49 (70)	1	Referans	
G	15 (25,9)	21 (30)	0,814	0,374-1,774	0,74
rs12980275					
Genotip					
AA	11 (36,7)	12 (34,3)	1	Referans	
AG	14 (46,7)	21 (60)	1,371	0,476-3,974	0,55
GG	5(16,6)	2 (5,7)	0,367	0,059-2,292	0,39
Allel					
A	36 (60)	45 (64,3)	1	Referans	
G	24 (40)	25 (35,7)	1,200	0,589-2,444	0,74

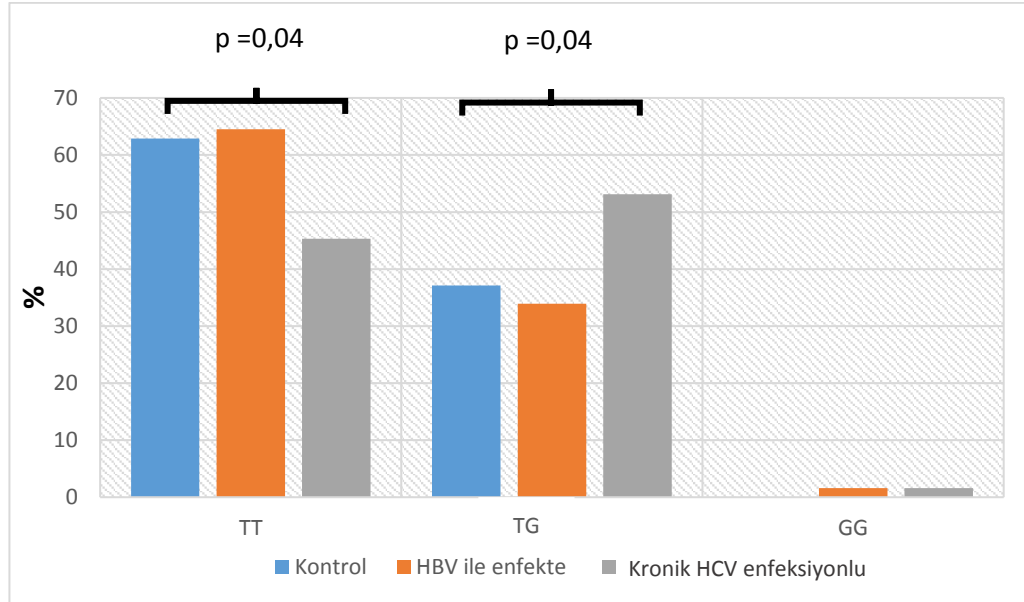
OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

Sonuç olarak bu çalışmada, rs8099917TG genotipi ve G alleli kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,04$ ve $p=0,04$). Kontrol grubunda ise rs8099917TT genotipi ve T alleli anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,04$ ve $p=0,04$) (Tabloda gösterilmemiştir) rs12979860 ve rs12980275 polimorfizmleri genotip ve allel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Kontrol grubu ile viral yük pozitif kronik HCV arasında 3 TNP'ye ait genotip ve allel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. rs8099917 TG genotipi ve G alleli viral yük negatif kronik HCV hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,03$ ve $p=0,04$). rs8099917 TT genotipi kontrol grubunda viral yük negatif kronik HCV enfeksiyonlu hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek bulunmuştur ($p=0,04$) (Tabloda gösterilmemiştir). rs12979860 ve rs12980275 polimorfizmleri genotip ve allel frekansları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır. Viral yük pozitif kronik HCV ve viral yük negatif kronik HCV hasta grupları arasında rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmleri genotip ve allel frekansları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

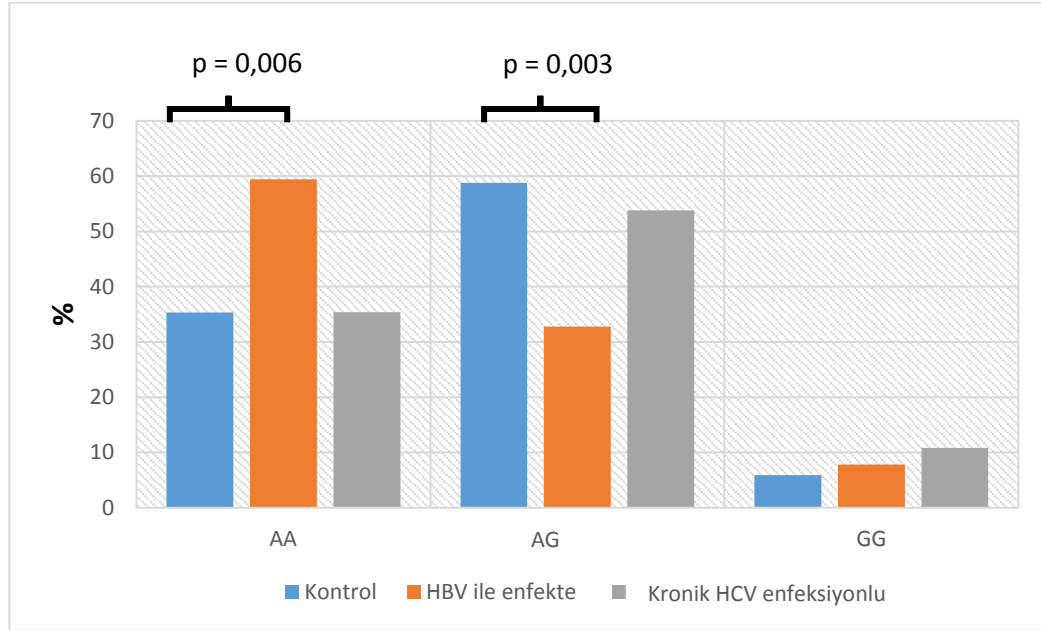
Kontrol grubu, HBV ile enfekte veya kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geni rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip dağılımının grafikleri Şekil 25-27'de gösterilmiştir.



Şekil 25. Kontrol grubu, HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geni rs12979860 polimorfizmi genotip dağılımı.



Şekil 26. Kontrol grubu, HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geni rs8099917 polimorfizmi genotip dağılımı.



Şekil 27. Kontrol grubu, HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geni rs12980275 polimorfizmi genotip dağılımı.

11. Kontrol grubu ile HBV ile enfekte veya kronik HCV enfeksiyonlu hasta grupları arasında *IL-28B* geni rs12979860 (C/T), rs8099917 (T/G) ve rs12980275 (A/G) polimorfizmlerinin haplotip frekansları arasındaki ilişki

rs12979860 C/T, rs8099917 T/G ve rs12980275 A/G polimorfizmleri *IL-28B* geninde birbirlerine çok yakın olup, aralarında rekombinasyon büyük ölçüde olası değildir ve bu lokuslardaki alleller aileden birlikte geçmektedirler. Böyle, kromozomlar üzerinde birbirleriyle sıkıca bağlı lokuslardaki allel kombinasyonlarına *haplotip* denir. Çalışmamızda 3 TNP'ye ait haplotip analizi de yapılmıştır. Kontrol grubu, HBV ile enfekte veya kronik HCV enfeksiyonlu hasta gruplarında rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerine ait %5'in üzerinde frekansa sahip sekiz tane *IL-28B* haplotipi gösterilmiştir (Tablo 19, 20). rs12979860 'C' alleli, rs8099917 'T' alleli, rs12980275 'A' alleli doğal alleller

olduğundan CTA haplotipi ‘referans’ olarak alınmıştır. ‘CTA’haplotipinin tüm gruplarda en yüksek dağılımda olduğu tespit edilmiştir.

IL-28B haplotip analizi sonrasında kontrol grubu ile HBV ile enfekte veya kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubu arasında haplotip frekansı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hastalar arasında tüm haplotipler açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır. TGG haplotipi kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir ($p=0,04$).

Tablo 19. Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hastalar arasında *IL-28B* geni rs12979860 (C/T), rs8099917 (T/G) ve rs12980275 (A/G) polimorfizmlerinin haplotip frekansları arasındaki ilişki

	Kontrol n=277 (%)	HBV ile enfekte hasta n=193 (%)	OR	%95CI	<i>p</i> değeri
Haplotipler					
CTA	63 (22,7)	56 (20,9)	1	Referans	
TTG	44 (15,9)	24 (12,4)	1,630	0,882-3,011	0,11
TTA	41 (14,8)	24 (12,4)	1,519	0,818-2,820	0,18
CTG	40 (14,5)	22 (11,4)	1,616	0,858-3,043	0,13
TGG	24 (8,7)	17 (8,8)	1,255	0,612-2,573	0,53
CGA	22 (7,9)	20 (10,4)	0,978	0,483-1,478	0,95
TGA	22 (7,9)	15 (7,8)	0,667	0,312-1,426	0,48
CGG	21 (7,6)	15 (7,8)	1,224	0,585-2,645	0,56

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI,güven aralığı

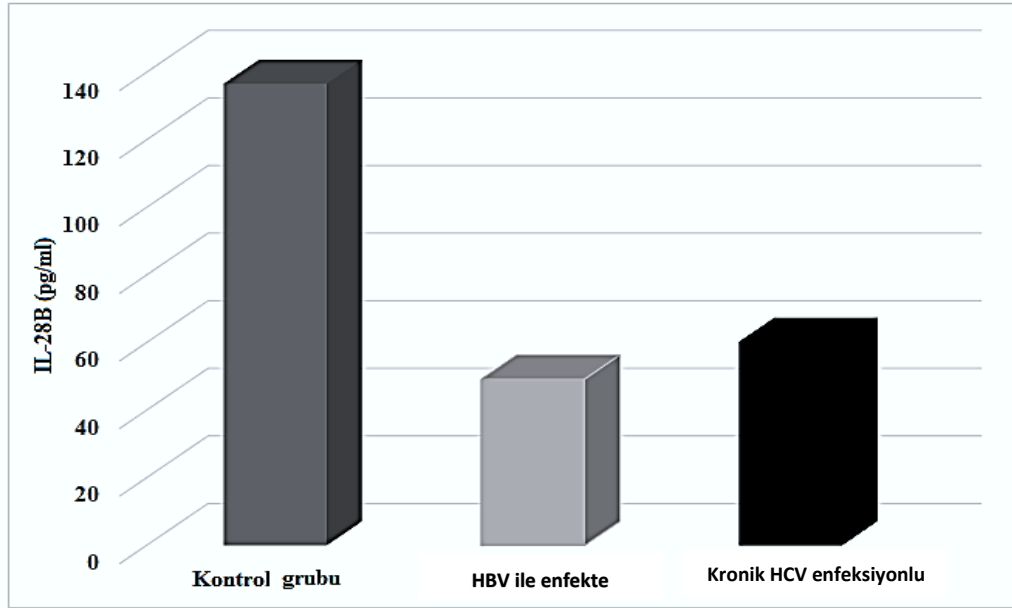
Tablo 20. Kontrol grubu ile kronik HCV enfeksiyonlu hastalar arasında *IL-28B* geni rs12979860 (C/T), rs8099917 (T/G) ve rs12980275 (A/G) polimorfizmlerinin haplotip frekansları arasındaki ilişki

	Kontrol n=277 (%)	Kronik HCV enfeksiyonlu hasta n=275 (%)	OR	%95CI	p değeri
Haplotipler					
CTA	63 (22,7)	56 (29)	1	Referans	
TTG	44 (15,9)	37 (13,8)	1,057	0,600-1,862	0,84
TTA	41 (14,8)	34 (12,7)	1,072	0,600-1,914	0,81
CTG	40 (14,5)	34 (12,7)	1,046	0,584-1,871	0,88
TGG	24 (8,7)	37 (11,1)	0,577	0,308-1,080	0,04
CGA	22 (7,9)	27 (10,1)	0,724	0,371-1,413	0,34
TGA	22 (7,9)	24 (9)	0,815	0,412-1,611	0,55
CGG	21 (7,6)	26 (9,7)	0,718	0,364-1,415	0,33

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

12. Serum *IL-28B* düzeyleri ve çalışma grupları arasında dağılımı

Çalışmamızda, *IL-28B* plazma düzeyleri, kontrol grubunda HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek olarak belirlenmiştir (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,01$) (Şekil 28).



Şekil 28. Kontrol grubu, HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu gruplarda serum IL-28B düzeyleri (pg/ml).

Kontrol grubunda plazma IL-28B düzeyleri; kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta, asemptomatik kronik HBV taşıyıcı, viral yük pozitif kronik HCV ve viral yük negatif kronik HCV alt gruplarına göre daha yüksek olarak tespit edilmiştir (Tablo 21, Şekil 29).

Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar ve asemptomatik kronik HBV taşıyıcı gruplara ait örneklerde plazma IL-28B düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha düşük olarak tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,015$ ve $p=0,047$).

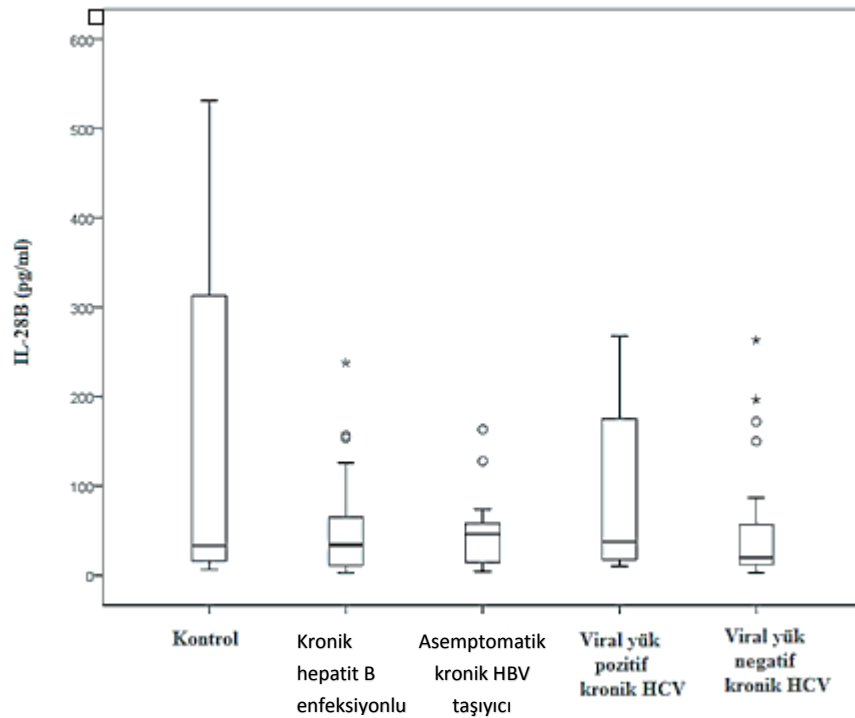
Viral yük pozitif kronik HCV örneklerinde IL-28B plazma düzeyleri kontrol grubuna göre düşük düzeylerde bulunsa da fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=1$). Viral yük negatif kronik HCV örneklerinde IL-28B plazma

düzeyleri ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha düşük olarak tespit edilmiştir ($p=0,024$) (Şekil 29).

Tablo 21. Kontrol grubu ve kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta, asemptomatik kronik HBV taşıyıcı, viral yük pozitif kronik HCV ve viral yük negatif kronik HCV gruplarında serum IL-28B düzeyleri

	Kontrol	Kronik hepatit B enfeksiyonlu	Asemptomatik kronik HBV taşıyıcı	Viral yük pozitif kronik HCV	Viral yük negatif kronik HCV
IL-28B	136,64±172,11	50,63±56,16	46,85±41,75	92,14±99,37	50,87±67,32

Plazma IL-28B düzeyleri Ortalama±Standart Sapma şeklinde hesaplanmıştır



Şekil 29. Kontrol grubu ve kronik hepatit B enfeksiyonlu, asemptomatik kronik HBV taşıyıcı, viral yük pozitif kronik HCV ve viral yük negatif kronik HCV gruplarında serum IL-28B düzeylerinin grafik olarak gösterimi (pg/ml)

13. HBV ile enfekte veya kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları ile yüksek *IL-28B* ve düşük *IL-28B* plazma düzeyleri arasındaki ilişki

Çalışmamızda HBV ile enfekte veya kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmine ait genotipler ile yüksek *IL-28B* plazma düzeyi (>35 pg/ml) ile düşük *IL-28B* plazma düzeyi (<35 pg/ml) arasındaki ilişki de değerlendirilmiştir (Tablo 22, 23). HBV ile enfekte hastalarda rs12980275AG genotipine sahip olanlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek *IL-28B* plazma düzeyi tespit edilmiştir ($p=0,0001$). Yüksek *IL-28B* plazma düzeyi tespit edilen AG genotipine sahip HBV ile enfekte hastalarda daha düşük viral yük ($<10^5$ IU/ml) saptanmıştır. Diğer genotiplerle *IL-28B* plazma düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır (Tablo 22). Kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubunda üç polimorfizme ait genotipler ile *IL-28B* plazma düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark tespit edilmemiştir (Tablo 23).

Tablo 22. HBV ile enfekte hastalarda *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları ile yüksek IL-28B ve düşük IL-28B serum düzeyleri arasındaki ilişki

	Yüksek IL-28B plazma düzeyi (%)	Düşük IL-28B plazma düzeyi (%)	OR	%95CI	p değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	40,7	65,2	1	Referans	
CT	51,9	26,1	0,314	0,092-1,078	0,62
TT	7,4	8,7	0,733	0,380-5,592	0,77
rs8099917					
Genotip					
TT	70,3	56,5	1	Referans	
TG	29,7	43,5	1,827	0,569-5,869	0,30
GG	1	0	-	-	-
rs12980275					
Genotip					
AA	20,8	80,8	1	Referans	
AG	70,8	11,5	0,042	0,09-0,201	0,0001
GG	8,4	7,7	0,238	0,027-2,126	0,17

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

Yüksek IL-28B: >35 pg/ml (IL-28B plazma düzeyi ortanca değeri)

Tablo 23. Kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları ile yüksek IL-28B ve düşük IL-28B serum düzeyleri arasındaki ilişki

	Yüksek IL-28B plazma düzeyi (%)	Düşük IL-28B plazma düzeyi (%)	OR	%95CI	<i>p</i> değeri
rs12979860					
Genotip					
CC	50	30,5	1	Referans	
CT	41,7	56,5	2,229	0,497-9,997	0,29
TT	8,3	13	2,571	0,209-31,710	0,45
rs8099917					
Genotip					
TT	69,2	45,5	1	Referans	
TG	30,8	54,5	2,700	0,636-11,467	0,17
GG	0	0	-	-	-
rs12980275					
Genotip					
AA	16,7	48,3	1	Referans	
AG	66,7	41,4	0,214	0,021-2,187	0,16
GG	16,6	10,3	0,214	0,010-4,477	0,28

OR, odds ratio (göreceli olasılıklar oranı); CI, güven aralığı

Yüksek IL-28B: >35 pg/ml (IL-28B plazma düzeyi ortanca değeri)

5. TARTIŞMA

Dünya genelinde yaygın morbidite ve mortalite nedeni olarak bilinen HBV ve HCV viral hepatitlerde enfeksiyonların oluşum riski, prognozu, kronik enfeksiyona ve/veya HCC'ye ilerlemesi, aşıya veya tedaviye verilen yanıt ve anneden bebeğe geçişe duyarlılığı etkileyen birçok konak genetik faktörü tanımlanmıştır (31). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları ve aday gen yaklaşımları ile viral enfeksiyonlara karşı duyarlılığın veya direncin gelişmesine etki eden faktörlerden olan **virüslerin hücreye giriş reseptörlerini kodlayan genler ve reseptör modifiye edici enzimler ile doğal ve edinsel immüniteyle ilişkili proteinlerin** genetik varyantları tanımlanmıştır (87).

Çalışmamızda, Türk toplumunda *IL-28B* geninde kodlanan proteinin fonksiyonunu etkilediği düşünülen rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'lerinin klinik olarak farklı HBV ve HCV hepatit tablolarında genotip ve allel dağılımları araştırılarak, farklı klinik tabloların *IL-28B* gen TNP açısından kontrol grubu ile karşılaştırması yapılmış ve istatistiksel ilişkisi değerlendirilmiştir. *IL-28B* geninde rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'lerinde genotip ve allel dağılımlarının belirlenmesi yanı sıra haplotip analizi de yapılmıştır. Aynı zamanda, çalışma grupları arasında *IL-28B* plazma düzeyi istatistiksel anlamlılık açısından değerlendirilmiştir. Çalışmamızda HBV veya HCV enfeksiyonlu hastalarda rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'ne ait genotipler ile yüksek *IL-28B* plazma düzeyi (>35 pg/ml) ve düşük *IL-28B* plazma düzeyi (<35 pg/ml) arasındaki ilişki de incelenmiştir.

Çalışmamızda kontrol grubu ile viral hepatitli hastalar arasında rs12979860 ve rs8099917 TNP'lerinde genotip ve allel frekansı açısından anlamlı fark bulunmadığı halde ($p>0,05$), rs12980275AG genotipi kontrol grubunda viral hepatitli hasta grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek olarak belirlenmiştir ($p=0,04$). Allel dağılımı açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir (Tablo 9).

Çalışmamızda, HBV ile enfekte hastalarda rs12979860 CC/CT/TT genotip dağılımı sırasıyla %54,7; %37,5; %7,8; rs8099917 TT/TG/GG genotip dağılımı %64,5; %33,9; %1,6 ve rs12980275 AA/AG/GG genotip dağılımı %59,4; %32,8; %7,8 olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda rs12979860 CC/CT/TT genotip dağılımı sırasıyla %34,3; %57,1; %8,6; rs8099917 TT/TG/GG genotip dağılımı %62,9; %37,1; %0; rs12980275 AA/AG/GG genotip dağılımı %35,3; %58,8; %5,9 olarak tespit edilmiştir. Buna göre, kontrol grubunda rs12979860CT genotipi ve T alleli HBV ile enfekte hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,01$ ve $p=0,04$). HBV ile enfekte hastalarda ise rs12979860CC genotipi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek olarak belirlenmiştir ($p=0,01$). Kontrol grubu ile HBV ile enfekte hasta grubu arasında rs8099917 TNP genotip ve allel frekansı açısından anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). rs12980275AG genotipi ve G alleli HBV ile enfekte hasta grubuna göre kontrol grubunda anlamlı düzeylerde daha yüksek tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,003$ ve $p=0,04$) (Tablo 10). rs12980275AA genotipi ise HBV ile enfekte hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeylerde yüksek olarak belirlenmiştir ($p=0,006$) (Tabloda gösterilmemiştir).

HBV ile enfekte hasta grubunu, asemptomatik kronik HBV taşıyıcı ve kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar olarak alt gruba ayırdığımızda, kontrol grubu ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında 3 TNP açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı görülmektedir ($p>0,05$) (Tablo 12). Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda, rs12979860CT genotipi ve T alleli kontrol grubunda (sırasıyla $p=0,02$ ve $p=0,04$) (Tablo 11), rs12979860CC genotipi ise hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek tespit edilmiştir ($p=0,038$) (Tabloda gösterilmemiştir). Bu durumda, rs12979860CT genotipi ve T alleli duyarlı toplumlarda HBV enfeksiyonunun kronikleşmesinden koruyucu bir faktör; CC genotipi ise kronik hepatit B enfeksiyonuna yatkınlığı artıran bir faktör olarak düşünülebilir. rs8099917 TNP'nde ise iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). rs12980275AG genotipi ve G alleli kontrol grubunda (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,004$) (Tablo 11), rs12980275AA genotipi ise kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde belirlenmiştir ($p=0,005$) (Tabloda gösterilmemiştir). Kronik hepatit B enfeksiyonu ile asemptomatik kronik HBV taşıyıcıları arasında; yüksek viral yüklü kronik hepatit B ($>10^5$ IU/ml) ile düşük viral yüklü kronik hepatit B ($<10^5$ IU/ml) grupları arasında çalışılan 3 TNP'nin genotip ve allel dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 13,14). Çalışmamızda kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda rs12979860 ve rs12980275 TNP'lerinin genotip ve allel dağılımları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı iken, asemptomatik kronik HBV taşıyıcı grup ile kontrol arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 12).

Karataylı ve ark.nın (112) persistan HBV ile enfekte 482 hastada DNA dizi analizi yöntemiyle yaptıkları benzer çalışmada, rs12979860 ve rs12980275 TNP'lerine ait genotip dağılımları kontrol grubunda çalışmamızla uyumlu olarak bulunmuştur. HBV ile enfekte hastalar açısından ise çalışmamızda rs12979860CC genotipi ve rs12980275AA genotipi daha yüksek oranlarda saptanmıştır (Tablo 10). Çalışma grupları arasındaki bu farklılık, hasta sayılarının farklı olmasına bağlanabilir. Karataylı ve ark. persistan hepatit B hastalarda rs12979860CT genotipini kontrollerden farklı bulmazken ($p=0,056$), çalışmamızda rs12979860CT genotipi ve T alleli kontrol grubunda (sırasıyla $p=0,01$ ve $p=0,04$) ve rs12979860CC genotipi HBV ile enfekte hasta grubunda anlamlı düzeylerde yüksek tespit edilmiştir ($p=0,01$) (Tablo 10). Karataylı ve ark. çalışmamızla benzer olarak rs12980275AG genotipini kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı belirlemişlerdir ($p= 0,019$). Bu sonuçlarla ilişkili olarak, rs12980275AG genotipinin duyarlı toplumlarda HBV enfeksiyonunun kronikleşmesini önleyen bir faktör olarak etki gösterebileceği düşünülebilir. Ayrıca çalışmamıza göre rs12980275AA genotipi, kronik HBV enfeksiyonuna yatkınlığı artıran bir faktör olarak değerlendirilebilir. Çalışmamız rs12979860, rs8099917, rs12980275 TNP'lerinin kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda kontrol grubuna göre genotip ve allel dağılımlarının farklılıklarının değerlendirilmesi açısından Karataylı ve ark. nın çalışmalarıyla benzerlik göstermekle beraber, IL-28B plazma düzeylerinin genotipler ile ilişkisi ve gruplar arasında haplotip farklılıklarının araştırılması açısından farklılık göstermektedir.

Demirtürk ve ark. (113) kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta, asemptomatik taşıyıcı ve enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanmış toplam 99 bireyde rs12979860 TNP'nin genotipik dağılımlarını araştırdıkları çalışmalarında, rs12979860CC genotipini kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda en düşük (%34,9), enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanmışlarda (%63,6) en yüksek oranda tespit etmiş, ancak anlamlı fark belirtmemişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızdaki rs12979860CC genotipi için kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda tespit ettiğimiz %55,1'lik ve kontrol grubundaki %34,3'lük oranlardan farklılık göstermektedir (Tablo 11). Demirtürk ve ark.'nın çalışmalarında kontrol grubu olarak sadece enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanmış bireylerin kullanılmış olması, çalışmamızda ise kontrol grubunun enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanmış bireylerin yanı sıra aşılı ve seronegatif bireylerden oluşması, ayrıca her iki çalışmada araştırmaya dahil edilen hasta sayısındaki farklılığın çalışma sonuçlarındaki uyumsuzlukların nedeni olabileceğini düşünmekteyiz.

Yapalı ve ark. (114) inaktif HBsAg taşıyıcılarında rs12979860 CC/CT/TT genotip dağılımını araştırdıkları çalışmalarında sonuçlarımızla uyumlu olarak, rs12979860CT genotipinin oranını kontrol grubunda yüksek belirlemişlerdir. Kandemir ve ark. (115) asemptomatik taşıyıcılardaki rs12979860 CC/CT/TT genotip dağılımını çalışmamızla uyumlu olarak kontrol grubundan farklı bulmamışlardır. Fakat çalışmamızda kontrol grubundaki rs12979860CT genotipi ve T alleli kronik hepatit B enfeksiyonlu gruba göre anlamlı düzeylerde yüksek iken (Tablo 11), Kandemir ve ark.'nın çalışmalarında anlamlı fark bulunmamıştır. Kandemir ve ark.'nın kontrol grupları seronegatif bireylerden oluşurken,

çalışmamızda seronegatif bireyler kontrol grubunun yaklaşık 1/3'ünü oluşturmaktadır. Çalışma sonuçları arasındaki fark hasta sayısının ve kontrol grubunun farklı özellikte oluşundan kaynaklanmış olabilir.

Türkiye’de HBV ile enfekte hastalarda *IL-28B* geninin rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP’leri genotip frekansları açısından yapılmış çalışmalarda elde edilen veriler Tablo 24’de verilmiştir.

Tablo 24. Türkiye’de yapılan bazı çalışmalarda KHB enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geni polimorfizmlerinin genotip dağılımı

	Karataylı ve ark. (%) (112)	Demirtürk ve ark. (%) (113)	Kandemir ve ark. (%) (115)	Çalışmamız (%)	
	Persistan HBV enfeksiyonlu	Kronik hepatit B enfeksiyonlu	Kronik hepatit B enfeksiyonlu	Kronik hepatit B enfeksiyonlu	HBV ile enfekte (asemptomatik kronik HBV taşıyıcı ve kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta)
rs12979860					
Genotip					
CC	45,4	34,9	43,2	55,1	54,7
CT	42,5	48,8	44,6	38,8	37,5
TT	12,1	16,3	12,2	6,1	7,8
rs8099917					
Genotip					
TT	-	-	-	66	64,5
GT	-	-	-	32	33,9
GG	-	-	-	2	1,6
rs12980275					
Genotip					
AA	41,9	-	-	63,3	59,4
GA	45,4	-	-	30,6	32,8
GG	12,7	-	-	6,1	7,8

* Çalışılmayan/sunulmayan veriler “-” işareti ile gösterilmiştir.

Dünyada literatürlerde *IL-28B* gen polimorfizmi ile ilgili değişik bölgelerde yapılan çalışmalarda Çin, Japon, Kore, Tayvan gibi toplumlardan bahsederken

‘Asyalılar’ tanımlaması; Meksika, Küba, Porto Riko, Orta Amerika ve diğer Latin Amerika ülkeleri için ise ‘Hispanikler’ tanımlaması kullanılmıştır.

IL-28B gen polimorfizminin HBV enfeksiyonunun prognozuyla ilişkisi dünyada ilk olarak Peng ve ark. (116) tarafından Çin’de çalışılmış olup, genotip dağılımı etnik köken ayrılığı nedeniyle çalışmamızdaki sonuçlardan farklılık göstermektedir. Çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu olarak araştırmacılar, HBV viral yükü ile genotip dağılımı açısından anlamlı fark tespit etmemişlerdir.

Çin’de yapılan diğer bir çalışmada (117) ise kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda, seronegatif birey ve spontan viral klirens ile iyileşen bireylere göre rs12979860CC (%93,5) genotipi ve C alleli istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur. Aynı araştırmada kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda rs8099917TT (%94,1) genotipi ve T alleli ile rs12980275AA (%91,1) genotipi seronegatif gruba göre anlamlı düzeylerde daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda rs8099917 TNP açısından kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark bulunmazken, rs12979860CC genotipi ve rs12980275AA genotipi bu çalışmayla uyumlu olarak kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda anlamlı düzeylerde yüksek olarak belirlenmiştir (Tabloda gösterilmemiştir). Dolayısıyla, elde edilen veriler rs12979860CC ve rs12980275AA genotiplerinin HBV enfeksiyonunun kronikleşmesine etki gösterebilecek faktörler olabileceği düşüncesini kuvvetlendirmektedir.

Li ve ark. (14) tarafından yine Çin toplumunda yapılan bir çalışmada kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta grubu ile enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanmış

bireyler ve seronegatif bireylerden oluşan kontrol gruplarında rs12979860C, rs8099917T ve rs12980275A allel sıklıkları daha yüksek bulunmakla birlikte, gruplar arasında istatistiksel fark belirlenmemiştir. Çalışmamızda da kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda rs12979860C, rs8099917T allelleri, rs12980275 TNP'nde ise A alleli daha yüksek sıklıkta belirlenmiş, rs12979860C ve rs12980275A allelleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak fark göstermiştir (Tablo 11). Sonuçlarımıza göre rs12979860C alleli ve rs12980275A allelinin duyarlı toplumlarda HBV enfeksiyonunun kronikleşmesine etki eden bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Li ve ark. nın yaptığı çalışmada bu allellerin Asya toplumlarında yüksek oranlarda görülmesi, Asya toplumlarının HBV enfeksiyonu açısından yüksek endemik bölgede yer alması durumunu açıklanabilir. Ancak araştırmacıların yaptığı çalışmada gruplar arasında istatistiksel fark bulunamaması TNP'ler dışında *IL-28B* genini modifiye edici genler veya başka genetik faktörlerin de HBV enfeksiyonunun prognozunu etkileyebileceğini düşündürmektedir.

İran'da Heidari ve ark. (118) tarafından kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda yapılan çalışmada rs12979860 CC/CT/TT ve rs8099917 TT/TG/GG genotipleri kontrol grubuna göre istatistiksel fark göstermemiştir. Çalışmamızda ise rs12979860CT genotipi ve T alleli kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek tespit edilirken, rs8099917 TNP gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir (Tablo 11). Kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta grubunda Heidari ve ark.nın çalışmasına göre rs12979860CT genotipi (%48) yüksek oranda iken, çalışmamızda rs12979860CC genotipi (%55,1) daha yüksek oranda belirlenmiştir (Tablo 11). Her iki çalışmada da rs8099917 TNP'nin genotip

dağılımı uyumlu bulunmakla birlikte, çalışmalar arasındaki rs12979860 TNP açısından görülen farklılık etnik köken ve hasta sayılarına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir.

Brezilya’da HBV enfeksiyonlu hastalarda yapılan çalışmada (119) rs12979860 ve rs8099917 TNP genotip ve allel frekansı enfeksiyonu geçirerek bağışıklık kazanmış kontrol grubuna göre fark göstermemiştir. Çalışmamızda ise rs12979860CT genotipi ve T alleli kontrol grubunda anlamlı düzeylerde yüksek tespit edilirken, rs8099917 TNP gruplar arasında fark göstermemiştir (Tablo 10). Brezilya’da yapılan çalışmaya göre HBV enfeksiyonlu hastalarda rs12979860CT genotipi yüksek oranda (%41,5) iken, çalışmamızda rs12979860CC genotipi daha yüksek oranda (%54,7) belirlenmiştir (Tablo 10). Her iki çalışmada da rs8099917 TNP’nin genotip dağılımı uyumlu bulunmakla birlikte, çalışmalar arasındaki rs12979860 TNP açısından görülen farklılığın etnik köken, hasta sayıları ve kontrol grubunun heterojen oluşuna bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini düşünmekteyiz.

Al-Qahtani ve ark.ı (120) HBV enfeksiyonlu hastalarda çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu rs12979860 TNP genotip dağılımı tespit etmişlerdir. Ancak, Al-Qahtani ve ark.nın çalışmalarında kontrol grubunda rs12979860CC genotipi yüksek oranda (%61) ve istatistiksel olarak farklı bulunmuşken, çalışmamızdaki kontrol grubunda rs12979860CT genotipi en yüksek oranda (%57,1) saptanmıştır. Çalışmalar arasındaki bu farklılıkların etnik grupların ayrılığından ve hasta sayılarından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Her iki çalışmada da rs8099917 TT/TG/GG genotip dağılımı açısından hasta ve kontrol grupları arasında

istatistiksel fark bulunmamıştır. Al-Qahtani ve ark.nın çalışmasında rs12980275 TNP genotip dağılımı, HBV enfeksiyonlu hastalarda bulgularımızla uyumlu olarak tespit edilmiştir. Kontrol gruplarında ise rs12980275AA genotipi (%57,6) en yüksek oranda tespit edilmesine rağmen çalışmamızda rs12980275AG (%58,8) genotipi en yüksek olarak belirlenmiştir. Her iki çalışmada da rs12980275AA genotipi HBV ile enfekte hastalarda, rs12980275G alleli ise kontrol grubunda istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (Tablo 10). Bu sonuçlara göre, rs12980275G alleli duyarlı toplumlarda HBV enfeksiyonunun kronikleşmesini önleyici, rs12980275AA genotipi ise HBV enfeksiyonunun kronikleşmesine yatkınlığı arttıran bir etken olabilir.

Dünyada farklı popülasyonlarda HBV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geninin rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'leri genotip frekansları açısından yapılmış çalışmalardan elde edilen veriler Tablo 25'de verilmiştir.

Tablo 25. Dünya’da yapılan bazı çalışmalarda KHB enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geni polimorfizmlerinin genotip dağılımı

	Peng ve ark. (116)	Kim ve ark. (117)	Li ve ark. (14)	Heidari ve ark. (118)	Da Silva Conde ve ark. (119)	Al- Qahtani ve ark. (120)	Çalışmamız (%)	Çalışmamız (%)
	Çin	Çin	Çin	İran	Brezilya	Suudi Arabistan	Kronik hepatit B enfeksiyonlu	HBV ile enfekte (asemptomatik kronik HBV taşıyıcı ve kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta)
rs12979860								
Genotip								
CC	88,2	93,5	87,6	30,3	32,3	55	55,1	54,7
CT	-	6,5	-	48	41,5	34	38,8	37,5
TT	-	0	-	21,7	26,2	11	6,1	7,8
rs8099917								
Genotip								
TT	-	94,1	88,6	54,8	56,9	73,5	66	64,5
GT	-	5,9	-	39,4	35,4	22,7	32	33,9
GG	-	0	-	5,8	7,7	3,8	2	1,6
rs12980275								
Genotip								
AA	-	91,1	88,1	-	-	63	63,3	59,4
GA	-	8,9	-	-	-	31	30,6	32,8
GG	-	0	-	-	-	6	6,1	7,8

* Çalışılmayan/sunulmayan veriler “-” işareti ile gösterilmiştir.

Çalışmamızda, kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda rs12979860 CC/CT/TT genotip dağılımı sırasıyla %34,9; %53 ve %12,1; rs8099917 TT/TG/GG genotip dağılımı sırasıyla %45,3; %53,1 ve %1,6; rs12980275 AA/AG/GG genotip dağılımı ise sırasıyla %35,4; %53,8 ve %10,8 olarak bulunmuştur (Tablo 15). Kronik HCV enfeksiyonlu hastaları viral yük pozitif ve viral yük negatif olarak iki alt gruba ayırdığımızda; viral yük pozitif kronik HCV hastalarında rs12979860 CC/CT/TT genotip dağılımı sırasıyla %32,3; %51,6 ve %16,1; viral yük negatif kronik HCV hastalarında %37,1; %54,3 ve %8,6 olarak belirlenmiştir. rs8099917

TT/TG/GG genotip dağılımı viral yük pozitif kronik HCV hastalarında %51,7; %44,8 ve %3,5; viral yük negatif kronik HCV hastalarında %40, %60 ve %0 olarak hesaplanmıştır. rs12980275 AA/AG/GG genotip dağılımı ise viral yük pozitif kronik HCV hastalarında %36,7; %46,7; %16,6; viral yük negatif kronik HCV hastalarında %34,3; %60 ve %5,7 şeklinde tespit edilmiştir (Tablo 16-17). Viral yük pozitif ve viral yük negatif olan kronik HCV hasta grupları arasında rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'lerinin genotip ve allelik dağılımları istatistiksel fark göstermemiştir (Tablo 18). Kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubunda rs8099917TG genotipi ve G alleli istatistiksel olarak anlamlı iken (sırasıyla $p=0,04$ ve $p=0,04$), kontrol grubunda ise rs8099917TT genotipi ve T alleli anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p=0,04$ ve $p=0,04$). rs12979860 ve rs12980275 TNP'leri genotip ve allel frekansları açısından kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel fark tespit edilmemiştir (Tablo 15). Kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda, HBV ile enfekte hastalardan farklı olarak, rs8099917 TNP'inde kontrol grubu ile fark saptanmışken, rs12979860 ve rs12980275 TNP'leri açısından fark tespit edilmemiştir. Viral yük pozitif kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda rs8099917TG genotipi ve G alleli kontrol grubuna göre daha yüksek oranda olmakla birlikte, istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Benzer olarak, viral yük pozitif kronik HCV hastaları ve kontrol grubu arasında rs12979860 ve rs12980275 TNP'lerinin genotip ve allel dağılımları arasında da fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 16). Viral yük negatif kronik HCV hastaları ve kontrol grubu arasında rs12979860 ve rs12980275 TNP'lerinin genotip ve allel dağılımları arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Viral yük negatif kronik

HCV hastalarında rs8099917TG genotipi ve G alleli istatistiksel olarak farklı iken (sırasıyla $p=0,03$ ve $p=0,04$), kontrol grubunda ise rs8099917TT genotipi ve T alleli yüksek oranda tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,03$ ve $p=0,04$) (Tablo 17). Elde edilen sonuçlara göre, rs8099917TG genotipi ve G alleli HCV enfeksiyonunun kronikleşmesine katkı sağlayan, TT genotipi ve T alleli ise duyarlı toplumları HCV enfeksiyonunun kronikleşmesinden koruyan bir faktör olarak etki gösteriyor olabilir.

Viral yük pozitif kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda rs12979860 TNP genotip ve allel frekansı açısından çalışmamızda gruplar arasında fark bulunmazken (Tablo 16), Taheri ve ark. (121) hasta grubunda rs12979860TT genotipi ve T allelini, kontrol grubunda ise rs12979860CC genotipini istatistiksel olarak farklı bulmuşlardır. Aydın ve ark. (122) ise sonucumuzla uyumlu olarak rs12979860CT genotipinin kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda en yüksek oranda olduğunu belirlemişlerdir (Tablo 15).

Türkiye’de farklı grupların (121-125) kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda araştırdıkları rs12979860 TNP genotip dağılımları incelendiğinde, sonuçlarımız da dahil olmak üzere, rs12979860CT’nin en yaygın genotip olduğu tüm çalışmalarda görülmektedir. rs8099917 TNP genotip dağılımları için elde ettiğimiz sonuçlar Rüstemoğlu ve ark.nın sonuçlarıyla uyumlu olup, rs8099917TG genotipi en yüksek oranda gözlenmiştir (124). Rüstemoğlu ve ark. çalışmamızdan farklı olarak, rs12979860CC genotipi ve C alleli ile rs12980275GG genotip ve G allelini hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı tespit etmişlerdir. rs8099917TT genotipi ve T alleli ise hem çalışmamızda hem de Rüstemoğlu ve

ark.nın çalışmalarında kontrol grubuna göre kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde düşük olarak saptanmıştır (Tablo 15). Şimşek ve ark. (125) ise aynı hasta grubunda rs8099917TT genotipini yüksek oranda belirlemişlerdir. Çalışmamızda rs12980275 TNP'inde ise Rüstemoğlu ve ark.nın sonuçlarıyla benzer oranlarda genotipik dağılım tespit edilmiştir (Tablo 26).

Literatüre göre Türkiye'de kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* genine ait TNP'lerinin elde edilen genotipik dağılımları Tablo 26'da verilmiştir.

Tablo 26. Türkiye'de yapılan bazı çalışmalarda kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geni polimorfizmlerinin genotip dağılımı

	Şimşek ve ark. (%) (125)	Taheri ve ark. (%) (121)	Aygen ve ark. (%) (123)	Aydın ve ark. (%) (122)	Rüstemoğlu ve ark. (%) (124)	Bu çalışma (%)
rs12979860						
Genotip						
CC	31	32,1	22,6	12,2	24	34,9
CT	54	46,3	52,7	68,3	57	53
TT	15	20,6	24,7	19,5	18	12,1
rs8099917						
Genotip						
TT	50	-	-	-	40	45,3
TG	45	-	-	-	49	53,1
GG	5	-	-	-	10	1,6
rs12980275						
Genotip						
AA	-	-	-	-	26	35,4
AG	-	-	-	-	54	53,8
GG	-	-	-	-	18	10,8

* Çalışılmayan/sunulmayan veriler “-” işareti ile gösterilmiştir.

Mangia ve ark. nın (126) kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda yaptıkları geniş kapsamlı bir çalışmada, Asyalılarda rs12979860CC genotipi (%49,2);

Siyahilerde, Kafkaslarda ve Hispaniklerde çalışmamızla uyumlu olarak CT genotipi en yüksek (sırasıyla %50, %52,2 ve %59) oranlarda saptanmıştır. Thompson ve ark. da (127) Siyahilerde (Afrikan/Amerikan) ve Hispaniklerde rs12979860CT genotipi en yüksek oranda tespit etmişlerdir. Yapılan meta-analizlerde (126-128) Kafkaslarda belirlenen rs12979860 CC/CT/TT genotip dağılımı sonuçlarımızla uyumlu görünmektedir (Tablo 27).

Ahmed el Qantani ve ark. (105) kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda rs12979860 ve rs12980275 TNP'lerinde genotip dağılımını çalışmamızla uyumlu bulmakla birlikte, çalışmamızdan farklı olarak rs12979860CC ve rs12980275AA genotiplerini kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı tespit etmişlerdir. Çalışmamızda kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda rs8099917TG genotipi (%53,1), Ahmed el Qantani ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ise rs8099917TT genotipi (%64,3) oransal olarak yüksek belirlenmiştir (Tablo 27). Her iki çalışmada da kontrol grubunda rs8099917TT genotipi ve T alleli istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Aynı şekilde Garcia ve ark. da (129) rs8099917TT genotipini kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda rs8099917TT genotipi ve T allelinin HCV enfeksiyonunun kronikleşmesini önleyici bir etki gösterebileceği düşünülmektedir.

Kafkas ve Afrika kökenli kronik HCV enfeksiyonlu hastaların değerlendirildiği bir çalışmada, Afrikalılarda rs12979860 CC/CT/TT genotip dağılımı bulgularımızdan farklı iken, Kafkaslarda ise sonuçlarımızla uyumlu olarak belirlenmiştir. rs8099917 TT/TG/GG genotip dağılımı ise Afrikalılarda ve Kafkaslarda sonuçlarımıza yakın bulunmuştur (128). Benzer şekilde, Almanya'da

Sarrazin ve ark. yaptıkları bir başka çalışmada da kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda rs12979860 CC/CT/TT genotip dağılımı sonuçlarımız ile uyumludur (130) (Tablo 27).

Asyalılarda yapılan çeşitli çalışmalarda HCV enfeksiyonlu hasta gruplarında rs12979860CC ve rs8099917TT genotipleri diğer genotiplere oranla oldukça yüksek saptanmıştır (131-134). Tayvan'da yapılan bir çalışmada da sonuçlarımızla uyumlu olarak rs8099917TT genotipi kontrol grubunda kronik HCV enfeksiyonlu gruba göre istatistiksel fark göstermiştir (134).

Dünya genelinde yapılan bazı çalışmalarda kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* gen TNP'lerinin genotipik dağılımları Tablo 27'de verilmiştir. Tüm veriler incelendiğinde kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* gen TNP'lerine ait genotip dağılımlarının etnik kökene bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Ayrıca, sonuçlarımıza göre çalışma gruplarımızdaki genotip dağılımlarının Kafkas kökenli toplumlarla daha fazla benzerlik gösterdiğini söyleyebiliriz.

Tablo 27. Dünya’da yapılan bazı çalışmalarda kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geni polimorfizmlerinin genotip dağılımı

	Mangia ve ark. (%) (126)	Thompson ve ark. (%) (127)	Thompson ve ark. (%) (127)	Thompson ve ark. (%) (127)	Ahmed el Qantani ve ark. (%) (105)	Nosotti ve ark. (%) (128)	Nosotti ve ark. (%) (128)	Sarrazin ve ark. (%) (130)	Yone Han Mah ve ark. (%) (134)	Dong ve ark. (%) (135)	Bu çalışma (%)
	Kafkas kökenli	Kafkas kökenli	Afrikan/A merika kökenli	Hispanik kökenli	Suudi Arabista n	Afrika kökenli	Kafkas kökenli	Almanya	Tayvan	Çin	Türkiye
rs12979860											
CC	33	37	14	29	35,1	35,5	23,8	33,9	-	88.6	34.9
CT	52,2	51	49	48	54,1	35,5	58,1	50,5	-	11.4	53
TT	14,4	12	37	22	10,8	29	18,1	15,6	-	0	12.1
rs8099917											
TT	-	-	-	-	64,3	45,3	40,5	-	81	89.6	45.3
TG	-	-	-	-	20,4	53,1	53,2	-	17,3	10.4	53.1
GG	-	-	-	-	15,3	1,6	6,5	-	1,8	0	1.6
rs12980275											
AA	-	-	-	-	38,6	-	-	-	-	-	35.4
AG	-	-	-	-	48,2	-	-	-	-	-	53.8
GG	-	-	-	-	13,12	-	-	-	-	-	10.8

* Çalışılmayan/sunulmayan veriler “-” işareti ile gösterilmiştir.

Çalışmalar arasında farklı sonuçlar elde edilmesinin; genetik etnik farklılık, çalışma grupları arasındaki heterojenite ve örneklem büyüklüğünün farklılığına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca sigara, alkol ve kimyasallar gibi çeşitli maruziyetlerin yanı sıra, epigenetik faktörler ve obezite gibi multifaktöriyel etkenlerin mevcut genotipin fenotipe yansımaları üzerinde etkisi olabileceği düşünülmektedir.

rs1297960, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin birlikte etkisini anlamak açısından haplotip analizlerinin yapılması önemlidir (61). Bu nedenle çalışmamızda belirlenen TNP'lerinin de haplotip analizleri yapılmış ve çalışma gruplarımızın tümünde CTA haplotipinin en yaygın haplotip olduğu belirlenmiştir. HBV ile enfekte hastalar ile kontrol grubu arasında tüm haplotipler açısından anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 19). Kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda ise kontrol grubuna göre TGG haplotipi istatistiksel olarak farklı tespit edilmiştir ($p=0,04$) (Tablo 20). Bu nedenle, *IL-28B* geninde rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin birlikte incelenmesinin özellikle kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda önem taşıdığı düşünülmektedir. Literatürde, bu konuda bildiğimiz kadarıyla tek çalışma Çin'de HBV kaynaklı HCC gelişen hastalarda yapılmıştır (136). Bu çalışmada rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin haplotip analizinde CTA haplotipinin kontrol grubunda en yaygın haplotip olduğu belirlenmiştir ($p=0,01$). HCC'lu hasta grubunda ise TGG haplotipi daha yüksek oranda olmakla birlikte, istatistiksel fark bulunmamıştır ($p=0,11$). Çalışmamızda TGG haplotipi kronik HCV'li hastalarda yüksek bulunmuş ve kronik HCV gelişmesine katkıda bulunan genotipik bir faktör olabileceği

düşünülmüştür. Çalışmamız HBV veya HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* geni rs1297960, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerine ait haplotip analizinin yapıldığı ilk çalışma olduğundan farklı coğrafi bölgelerde yapılacak yeni çalışmalardan elde edilecek verilerle desteklenmesi uygun olur.

Çalışmamızda ayrıca HBV ile enfekte ve kronik HCV enfeksiyonlu hasta ve kontrol grupları *IL-28B* plazma düzeyleri açısından değerlendirilmiş ve kontrol grubunda *IL-28B* plazma düzeyleri istatistiksel olarak daha yüksek belirlenmiştir (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,01$) (Şekil 28). Kronik HBV ve asemptomatik kronik HBV taşıyıcı gruplara ait örneklerde plazma *IL-28B* düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak daha düşük tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,015$ ve $p=0,047$). Viral yük negatif kronik HCV örneklerinde *IL-28B* plazma düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0,024$). Viral yük pozitif kronik HCV örneklerinde ise *IL-28B* plazma düzeyleri kontrol grubuna göre düşük düzeylerde bulunsa da anlamlı fark belirlenmemiştir ($p=1$) (Şekil 29).

Çin’de kronik HBV enfeksiyonlu hasta ve kontrollerde yapılan bir çalışmada, çalışmamızla uyumlu olarak *IL-28B* serum düzeyleri kronik HBV hastalarında diğer gruplara göre anlamlı düzeylerde daha düşük tespit edilmiştir (14). Çin’de bir başka çalışmada inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrollere kıyasla kronik HBV, siroz ve HCC’lu hastalarda *IL-28B* serum düzeyi istatistiksel olarak daha düşük tespit edilmiştir (91). Alborzi ve ark. tarafından İran’da yapılan bir çalışmada da çalışmamızla uyumlu olarak, *IL-28B* serum düzeyi kronik HCV hastalarında anlamlı düzeylerde daha düşük belirlenmiştir (137). Literatürdeki benzer çalışmalarla birlikte sonuçlarımız değerlendirildiğinde, HBV veya HCV

enfeksiyonlu hasta grubuna göre kontrol grubunda IL-28B serum düzeylerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Dolayısıyla IL-28B serum düzeyinin artması, HBV ve HCV enfeksiyonunun kronikleşmesini engelleyen bir faktör olabilir. Ayrıca, kronik viral hepatit enfeksiyonlarında açığa çıkan viral proteinler dendritik hücrelerle iletişime girerek IL-28B üretimini bozabilir ki böylece düşük olan IL-28B serum düzeyi, antiviral aktivitenin azalması açısından önem göstermektedir (89).

Türk toplumunda HBV veya HCV enfeksiyonlu hastalarda rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmine ait genotipler ile plazma IL-28B düzeyleri arasındaki ilişki ilk defa çalışmamızda değerlendirilmiştir. rs12980275AG genotipine sahip olan HBV ile enfekte hastalarda, GG ve AA genotipine sahip olanlara göre istatistiksel olarak daha yüksek plazma IL-28B düzeyleri tespit edilmiştir ($p=0,0001$) (Tablo 22). IL-28B plazma düzeyi yüksek tespit edilen rs12980275AG genotipine sahip HBV ile enfekte hastalarda viral yükün daha düşük bulunması ve kontrol grubunda AG genotipinin daha yaygın tespit edilmesi nedeniyle, HBV enfeksiyonunda AG genotipinin viral replikasyonu sınırlayarak koruyucu bir etki gösterebileceği ve dolayısıyla iyi prognostik faktör olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubunda ise araştırılan üç polimorfizme ait genotipler ile IL-28B plazma düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark tespit edilmemiştir (Tablo 23).

Kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda yapılan bir çalışmada rs12979860CC, rs8099917TT ve rs12980275AA genotiplerindeki serum IL-28B düzeylerinin diğer genotiplere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (14). Shi

ve ark. da rs12979860CC genotipine sahip kronik HBV hastalarında IL-28B serum düzeylerini istatistiksel olarak daha yüksek belirlemişlerdir (91). Çalışmamızda ise sadece rs12980275AG genotipine sahip HBV ile enfekte hastaların plazma IL-28B düzeylerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. rs12979860 ve rs8099917 polimorfizmleri ile IL-28B plazma düzeyleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (Tablo 22).

HCV hastalarında Alborzi ve ark. sonuçlarımıza benzer olarak, rs12979860 ve rs8099917 polimorfizmleri ile IL-28B serum düzeyleri arasında istatistiksel bir fark tespit etmemişlerdir (137). Langhans ve ark. ise rs12979860C allel taşıyıcılığının serum IL-28A/B düzeylerinin artmasına ve dolayısıyla HCV enfeksiyonunun iyileşmesine katkı sağlayabileceğini bildirmişlerdir (89).

Ahmed el Qantani ve ark. çalışmalarında IL-28B serum düzeyi ile rs12979860 ve rs12980275 TNP'leri arasında anlamlı ilişki bulmazken, rs8099917 TNP'inde G allelinin serum IL-28B düzeylerini heterozigot veya homozigot olması durumuna göre yaklaşık bir kat arttırdığını belirlemişlerdir (105). Çalışmalar arasındaki bu farklılığın etnik köken, hasta sayısı, gruplar arasındaki heterojeniteden kaynaklanıyor olabileceğini düşünmekteyiz.

HBV veya HCV enfeksiyonlu hastalarda IL-28B serum düzeyleri ile *IL-28B* genotipik dağılımları arasındaki ilişkiye dair çelişkili sonuçlar bildirilse de *IL-28B* polimorfizmlerinin gen ekspresyon düzeyini ve IL-28B üretimini etkileyebildiği belirtilmektedir (91, 131, 138). Bu nedenle özellikle tedaviye yön vermesi açısından bu konuda daha çok çalışma yapılması, translasyon ve/veya transkripsiyon

düzeyinde çalışmaların arttırılması ve mekanizmanın açıklanması oldukça önemlidir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre rs12979860CT genotipi ve T alleli ile rs12980275AG genotipi ve G alleli duyarlı toplumları HBV enfeksiyonunun kronikleşmesinden koruyan, rs12979860CC genotipi ve C alleli ile rs12980275AA genotipi ve A alleli ise HBV enfeksiyonunun kronikleşmesine yatkınlığı artıran bir faktör olabilir. Kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda ise rs8099917TT genotipi ve T alleli duyarlı toplumlarda HCV enfeksiyonunun kronikleşmesini önleyebilen, TG genotipi ve G alleli ise HCV enfeksiyonunun kronikleşmesine yatkınlık oluşturan bir etki gösterebilir.

Sonuç olarak, bildiğimiz kadarıyla çalışmamız Türkiye’de kronik HBV hastaları, inaktif HBsAg taşıyıcıları ve kronik HCV hastalarında rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TPN’lerinin genotipik dağılımlarının IL-28B plazma düzeyleri ile birlikte değerlendirildiği, ayrıca HBV veya HCV enfeksiyonlu hastalarda IL-28B yüksek ve düşük plazma düzeyleri arasındaki ilişkinin analiz edildiği ilk çalışma niteliğindedir. HBV veya HCV enfeksiyonlu hastalarda *IL-28B* polimorfizmlerinin klinik tabloda değişkenliğe neden olduğu düşünülmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, farklı etnik kökenli daha geniş gruplarda *IL-28B* ve ilişkili olabilecek diğer sitokin gen polimorfizmlerinin incelenmesi ve fonksiyon çalışmalarının yapılması ile sonraki yıllarda gen polimorfizmlerinin hepatit hastalarında prognozu önceden belirleyecek bir belirteç olarak kullanılabileceğini, hepatit enfeksiyonunun progresyonunu önleyecek tedbirlerin alınmasına katkısının

yanı sıra yeni gen tedavisi seçeneklerinin geliştirilmesine olanak sağlayacak çalışmalara yol gösterebileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Çalışmamızda, Türk toplumunda *IL-28B* rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'lerinin klinik olarak farklı HBV ve HCV hepatit tablolarında genotip ve allel dağılımları araştırılarak, farklı klinik tabloların *IL-28B* gen TNP açısından kontrol grubu ile karşılaştırması yapılmış ve istatistiksel ilişkisi değerlendirilmiştir. *IL-28B* geninde rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'lerinde haplotip analizi de yapılmıştır. Aynı zamanda, çalışma grupları arasında *IL-28B* plazma düzeyi istatistiksel anlamlılık açısından değerlendirilmiştir. Çalışmamızda HBV veya HCV enfeksiyonlu hastalarda rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 TNP'ne ait genotipler ile yüksek ve düşük *IL-28B* plazma düzeyi arasındaki ilişki de incelenmiştir.

Çalışma sonuçlarımıza göre;

rs12979860C aleli ve CC genotipi ile rs12980275A aleli ve AA genotipinin duyarlı toplumlarda HBV enfeksiyonunun kronikleşmesine etki eden bir faktör olabileceği düşünülmektedir.

rs12979860CT genotipi ve T alelinin ise duyarlı toplumları HBV enfeksiyonunun kronikleşmesinden koruyan bir faktör olabileceği düşünülmektedir.

rs12980275AG genotipi ve G aleli duyarlı toplumlarda HBV enfeksiyonunun kronikleşmesini önleyici bir etken olarak rol oynuyor olabilir.

Çalışmamızda, rs8099917 polimorfizmi genotip ve alellerinin HBV enfeksiyonunun farklı klinik tablolarına anlamlı etkisi tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda, rs12979860 ve rs12980275 polimorfizmi genotip ve alellerinin HCV enfeksiyonunun farklı klinik tablolarına anlamlı etkisi olduğuna dair bir sonuç elde edilmemiştir.

rs8099917TG genotipi ve G aleli HCV enfeksiyonunun kronikleşmesine katkı sağlayan, TT genotipi ve T aleli ise duyarlı toplumları HCV enfeksiyonunun kronikleşmesinden koruyan bir faktör olarak etki gösteriyor olabilir.

Çalışmamızda, araştırmaya alınan rs12979860, rs8099917, rs12980275 polimorfizmi haplotiplerinin HBV enfeksiyonunun farklı klinik tablolarına anlamlı etkisi gösterilmemiştir.

rs12979860, rs8099917, rs12980275 polimorfizmi TGG haplotipi HCV enfeksiyonunun kronikleşmesine katkı sağlayan bir faktör olabilir.

Çalışmamızda HBV veya HCV enfeksiyonu farklı klinik tablolarına ait örneklerde değerlendirilen plazma IL-28B sonuçlarına göre kontrol grubunda HBV veya HCV enfeksiyonlu hasta grubuna göre plazma IL-28B düzeyi yüksek olarak belirlenmiştir.

HBV ile enfekte hastalarda rs12980275AG genotipine sahip olanlarda GG ve AA genotipine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde daha yüksek IL-28B plazma düzeyi tespit edilmiştir. Yüksek IL-28B plazma düzeyi tespit edilen AG genotipine sahip HBV ile enfekte hastalarda daha düşük viral yük bulunmasından ve kontrol grubunda AG genotipinin daha yüksek tespit edilmesinden dolayı, AG

genotipinin HBV enfeksiyonunda viral replikasyonu sınırladığı, koruyucu bir etki gösterebileceği ve dolayısıyla iyi prognostik faktör olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Schadler S, Hildt E. HBV life cycle: entry and morphogenesis. *Viruses* 2009;1(2):185-209.
2. Zhang X, Hou J, Lu M. Regulation of hepatitis B virus replication by epigenetic mechanisms and microRNAs. *Front Genet* 2013;4:202.
3. World Health Organization. Global Hepatitis Report, 2017. URL: <http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
4. World Health Organization. World Hepatitis Day 2017, Eliminate hepatitis, 2017. URL: <http://www.who.int/campaigns/hepatitis-day/2017/event/en/> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
5. Gerlich WH. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virol J* 2013;10:239.
6. World Health Organization. Hepatitis C, 2017. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
7. World Health Organization. Regional Office for the Eastern Mediterranean. Regional action plan for the implementation of the global health sector strategy on viral hepatitis 2017-2021, 2017.
8. Altındış M, Tabak F. Hepatit Mikrobiyolojisi. 1.Baskı. İstanbul:İstanbul Tıp Kitabevi;2015.
9. T.C Sağlık Bakanlığı ve Türk Nefroloji Derneği Ortak Raporu. Türkiye' de Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon. Suleymanlar G, Ateş K, Seyahi N, editörler. Ankara:Türk Nefroloji Derneği Yayınları;2015.

10. Pfaller MR. Tıbbi Mikrobiyoloji. Us AD, Başustaoğlu A, editörler. 7.Baskı. Ankara: Pelikan Kitabevi; 2016.
11. Moudi B, Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H. Impact of host gene polymorphisms on susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Infect Genet Evol* 2016;44:94-105.
12. Ekmekçi A, Konaç E, İlke Önen H. Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık [derleme]. *Marmara Medical Journal* 2008:282-95.
13. Cheng CH, Lin CC, Chen HL, Lin IT, Wu CH, Lee YK, et al. High frequencies of a favorable IL-28B rs8099917 polymorphism and the clinical implications in patients with HCV in one multiracial area of Taiwan. *Kaohsiung J Med Sci* 2017;33(10):510-5.
14. Li W, Jiang Y, Jin Q, Shi X, Jin J, Gao Y, et al. Expression and gene polymorphisms of interleukin 28B and hepatitis B virus infection in a Chinese Han population. *Liver Int* 2011;31(8):1118-26.
15. Zhang QX, Li SL, Yao YQ, Li TJ. Association between interleukin-21 gene polymorphisms (rs12508721) and HBV-related hepatocellular carcinoma. *Int J Immunogenet* 2016;43(3):151-8.
16. Aşkar E. Sağlık Çalışanlarında Hepatit B ve Hepatit C Seroprevalansı. Uzmanlık Tezi. İstanbul: Şişli Etfal Eğitim Araştırma Hastanesi, 2006.
17. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(2):351-66.

18. Divrikli DK. İstanbul İlinde Çocukluk Çağında Hepatit B Seroprevalansı ve Kronik Hepatit B İnsidansı. Uzmanlık Tezi. İstanbul:İstanbul Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi,2006.
19. Babanejad M, Izadi N, Najafi F, Alavian SM. The HBsAg Prevalence Among Blood Donors From Eastern Mediterranean and Middle Eastern Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. Hepatitis Monthly 2016;16(3):e35664.
20. Yamazhan T. Hepatit B'den D'ye Hep Güncel Klinik El Kitabı. Kandemir Ö, Danalıoğlu A, editörler. HBV enfeksiyonunda klinik tablolar. İstanbul:Content Ed Net Türkiye,2015;52-7.
21. Yamazhan T. Hepatit B'den D'ye Hep Güncel Klinik El Kitabı. Kandemir Ö, Danalıoğlu A, editörler. HBV enfeksiyonunun epidemiyolojisi. İstanbul:Content Ed Net Türkiye,2015;17-21.
22. Boeijen LL, Hoogeveen RC, Boonstra A, Lauer GM. Hepatitis B virus infection and the immune response: The big questions. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2017;31(3):265-72.
23. Zou ZQ, Wang L, Wang K, Yu JG. Innate immune targets of hepatitis B virus infection. World J Hepatol 2016;8(17):716-25.
24. Kawai T, Akira S. Antiviral signaling through pattern recognition receptors. J Biochem 2007;141(2):137-45.
25. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Temel İmmünoloji, İmmün Sistemin İşlevleri ve Bozuklukları. Camcıoğlu Y, Deniz G, editörler. 4.baskı. Ankara:Güneş Tıp Kitabevi,2015; 320:27-69.

26. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010;140(6):805-20.
27. Zimmermann HW, Seidler S, Nattermann J, Gassler N, Hellerbrand C, Zerneck A, et al. Functional contribution of elevated circulating and hepatic non-classical CD14CD16 monocytes to inflammation and human liver fibrosis. *PLoS One* 2010;5(6):e11049.
28. Boltjes A, Movita D, Boonstra A, Woltman AM. The role of Kupffer cells in hepatitis B and hepatitis C virus infections. *J Hepatol* 2014;61(3):660-71.
29. Zhang JY, Zhang Z, Lin F, Zou ZS, Xu RN, Jin L, et al. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010;51(1):81-91.
30. Mandell, Douglas, and Bennet's Principles and practice of infectious diseases, Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editors. Eighth edition. Elsevier;2015.
31. Tuncbilek S. Relationship between cytokine gene polymorphisms and chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2014;20(20):6226-35.
32. Zeng Z, Guan L, An P, Sun S, O'Brien SJ, Winkler CA, et al. A population-based study to investigate host genetic factors associated with hepatitis B infection and pathogenesis in the Chinese population. *BMC Infect Dis* 2008;8:1.
33. Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği, Viral Hepatit Savaşım Derneği. Türkiye Viral Hepatitler Tanı ve Tedavi Kılavuzu, 2017. URL: <http://www.vhds.org.tr/news/desc/5782/turkiye-viral-hepatitliler-tani-ve-tedavi-kilavuzu-2-7.html> (ulaşım tarihi: 16.04.2018).

34. Kıyan M. Viral Hepatit 2003, Hepatit B virüsü. Tekeli E, Balık İ, editörler. 1.baskı. İstanbul:Deniz Ofset,2003;86-120.
35. Missouri Department of Health and Senior Services, Communicable Disease Investigation Reference Manual. Diseases and Conditions, Hepatitis B. 2008;54:6.
36. Missouri Department of Health and Senior Services, Communicable Disease Investigation Reference Manual. Diseases and Conditions, Hepatitis B. 2008;54:8.
37. Xiao G, Yang J, Yan L. Comparison of diagnostic accuracy of aspartate aminotransferase to platelet ratio index and fibrosis-4 index for detecting liver fibrosis in adult patients with chronic hepatitis B virus infection: a systemic review and meta-analysis. Hepatology 2015;61(1):292-302.
38. Kaya A. Kronik Hepatit C Virus İnfeksiyonu Uzun Süreli İzlem Sonuçları. Tıpta Uzmanlık Tezi. İzmir:Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD,2014.
39. Arhan M. Hepatit B'den D'ye Hep Güncel Klinik El Kitabı. Kandemir Ö, Danalıoğlu A, editörler. İstanbul:Content Ed Net Türkiye,2015;117-25.
40. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. Hepatology 2013;57(4):1333-42.
41. Tosun S. Viral Hepatitlerin Ülkemizdeki Değişen Epidemiyolojisi. Ankem Dergisi 2013;128-34.

42. Heim MH, Thimme R. Innate and adaptive immune responses in HCV infections. *J Hepatol* 2014;61(1 Suppl):S14-25.
43. von Hahn T, Yoon JC, Alter H, Rice CM, Rehermann B, Balfe P, et al. Hepatitis C virus continuously escapes from neutralizing antibody and T-cell responses during chronic infection in vivo. *Gastroenterology* 2007;132(2):667-78.
44. Falkowska E, Kajumo F, Garcia E, Reinus J, Dragic T. Hepatitis C virus envelope glycoprotein E2 glycans modulate entry, CD81 binding, and neutralization. *J Virol* 2007;81(15):8072-9.
45. Brimacombe CL, Grove J, Meredith LW, Hu K, Syder AJ, Flores MV, et al. Neutralizing antibody-resistant hepatitis C virus cell-to-cell transmission. *J Virol* 2011;85(1):596-605.
46. Timpe JM, Stamataki Z, Jennings A, Hu K, Farquhar MJ, Harris HJ, et al. Hepatitis C virus cell-cell transmission in hepatoma cells in the presence of neutralizing antibodies. *Hepatology* 2008;47(1):17-24.
47. Neumann-Haefelin C, Thimme R. Adaptive immune responses in hepatitis C virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013;369:243-62.
48. Coppola N, Pisaturo M, Sagnelli C, Onorato L, Sagnelli E. Role of genetic polymorphisms in hepatitis C virus chronic infection. *World J Clin Cases* 2015;3(9):807-22.
49. Demir M. Hepatit B'den D'ye Hep Güncel Klinik El Kitabı. Kandemir Ö, Danalıoğlu A, editörler. İstanbul:Content Ed Net Türkiye,2015;143-55.
50. Bahçecioğlu Hİ. Hepatit B'den D'ye Hep Güncel Klinik El Kitabı. Kandemir Ö, Danalıoğlu A, editörler. İstanbul:Content Ed Net Türkiye,2015;133-42.

51. Tille PM. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 13th edition. St.Louis, Missouri: Elsevier;2014.
52. BC Centre for Disease Control. Communicable Disease Control, Hepatitis C. August 2016;1-44.
53. Hawley L, Ziegler RJ, Clarke BL, Johnson AG. Mikrobiyoloji ve İmmunoloji. 1.baskı. Duygu Fındık, editör. İstanbul:İstanbul Tıp Kitabevleri,2014;245.
54. Mayer G. Microbiology and Immunology. Yula E (editör) İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilimdalı, İmmünoloji (Bölüm 13),2016.
55. Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, et al. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. J Clin Microbiol 2011;49(5):1853-60.
56. National Human Genome Research Institute. A Guide to Your Genome, 2007.URL:<https://www.genome.gov/pages/education/allaboutthehumangenomeproject/guidetoyourgenome07.pdf> (ulaşım tarihi: 16.04.2018)
57. Raby BA. Basic principles of genetic disease. Slavotinek A, Tirnauer JS, editörler, 2017. URL: <https://www.uptodate.com/contents/basic-principles-of-genetic-disease> (ulaşım tarihi: 16.04.2018)
58. Lüleyp Ü. Moleküler Genetiğın Esasları. Adana:Nobel Kitabevi;2008.

59. National Human Genome Research İnstitute. Talking Glossary of Genetic Terms. URL: <https://www.genome.gov/glossary/> (ulaşım tarihi: 16.04.2018)
60. URL: <http://biyolojidersim.com/protein-sentezi/> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
61. Tobias ES, Connor M, Ferguson-Smith M. Tıbbi Genetiğın Esasları. Özbek U, editör. 1.baskı. İstanbul:İstanbul Tıp Kitabevi;2014.
62. Kimball JW. Haplotypes: Kimball's Biology Pages,2012. URL: <http://www.biology-pages.info/H/Haplotypes.html> (ulaşım tarihi: 16.04.2018)
63. Zuo L, Wang K, Luo X. Use of diplotypes - matched haplotype pairs from homologous chromosomes - in gene-disease association studies. Shanghai Arch Psychiatry 2014;26(3):165-70.
64. Fidanoğlu P, Belder N, Erdoğan B, İlk Ö, Rajabli F, Özdağ H. Genom Projeleri 5N1H: ne, nerede, ne zaman, nasıl, neden ve hangi popölasyonda? Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi 2014;71(1):45-60.
65. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson and Thompson genetics in medicine. Eighth edition. Philadelphia: Elsevier; 2016.
66. Strachan T, Read A. Human Molecular Genetics. 4th edition. Garland Science, Taylor and Francis Group; 2011.
67. Lonetti A, Fontana MC, Martinelli G, Iacobucci I. Single Nucleotide Polymorphisms as Genomic Markers for High-Throughput Pharmacogenomic Studies. Methods Mol Biol 2016;1368:143-59.
68. URL:<https://unlockinglifescode.org/media/details/455> (ulaşım tarihi:16.04.2018)

69. National Human Genome Research Institute. 1000 Genome Project, 2015. URL: <https://www.genome.gov/27563326/nov3-2015-1000%20genomes-project/nov3-2015-1000-genomes-project/> (ulaşım tarihi:16.04.2018)]
70. Celed3n JC, Hunninghake GM. Principles of complex trait genetics. Raby BA, editor, 2017. URL: <https://www.uptodate.com/contents/principles-of-complex-trait-genetics> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
71. Attia J, Guyatt G. Genetic association studies: Principles and applications. Raby BA, editor, 2017. URL: <https://www.uptodate.com/contents/genetic-association-studies-principles-and-applications> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
72. National Human Genome Research Institute. Genome-Wide Association Studies, 2015. URL: <https://www.genome.gov/20019523/genomewide-association-studies-fact-sheet/> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
73. Tantisira K, Weiss T. Overview of pharmacogenomics. Raby BA, Tirnauer JS, Savarese DMF, edit3rler, 2017 URL: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-pharmacogenomics> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
74. National Center for Biotechnology Information. RefSNPs (rs) Defined, What is a reference SNP, or “rs” ID number? URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK44417/#Content.what_is_a_reference_snp_or_rs_i. (ulaşım tarihi:16.04.2018)]
75. den Dunnen JT, Antonarakis SE. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. Hum Mutat 2000;15(1):7-12.

76. Human Genome Variation Society. Recommendations for the description of sequence variants, 2016. URL: <https://www.hgvs.org/mutnomen/recs.html> (ulaşım tarihi:16.04.2018)]
77. Chuang LY, Cheng YH, Yang CH, Yang CH. Associate PCR-RFLP assay design with SNPs based on genetic algorithm in appropriate parameters estimation. IEEE Trans Nanobioscience 2013;12(2):119-27.
78. Temizkan G, Yılmaz S, Öztürk M, Arı Ş, Ertan H, Topal Sarıkaya A, et al. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. 3.baskı. Temizkan G, Arda N, editörler. Nobel Tıp Kitabevi: İstanbul Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİYOGE M); 2008.
79. Zhang B, Wang Y, Xu X, Guan X, Bai Y. Using PCR-RFLP technology to teach single nucleotide polymorphism for undergraduates. Biochem Mol Biol Educ 2013;41(4):262-6.
80. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techrflp/> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
81. Malkki M, Petersdorf EW. Genotyping of single nucleotide polymorphisms by 5' nuclease allelic discrimination. Methods Mol Biol 2012;882:173-82.
82. Tuba G. Gen Anlatımının Kantitatif Analizi "Real-Time PCR". Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007:763-7.
83. Oliver DH, Thompson RE, Griffin CA, Eshleman JR. Use of single nucleotide polymorphisms (SNP) and real-time polymerase chain reaction for bone marrow engraftment analysis. J Mol Diagn 2000;2(4):202-8.

84. Fakhrai-Rad H, Pourmand N, Ronaghi M. Pyrosequencing: an accurate detection platform for single nucleotide polymorphisms. *Hum Mutat* 2002;19(5):479-85.
85. Zhang S, Bian Y, Chen A, Zheng H, Gao Y, Hou Y, et al. Developmental validation of a custom panel including 273 SNPs for forensic application using Ion Torrent PGM. *Forensic Sci Int Genet* 2017;27:50-7.
86. URL: http://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_microarray.pdf (ulaşım tarihi:16.04.2018).
87. Kenney AD, Dowdle JA, Bozzacco L, McMichael TM, St Gelais C, Panfil AR, et al. Human Genetic Determinants of Viral Diseases. *Annu Rev Genet* 2017;51:241-63.
88. Converse PJ. Interleukin 28B; IL28B, 2014. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim> (ulaşım tarihi: 16.04.2018)]
89. Langhans B, Kupfer B, Braunschweiger I, Arndt S, Schulte W, Nischalke HD, et al. Interferon-lambda serum levels in hepatitis C. *J Hepatol* 2011;54(5):859-65.
90. Robek MD, Boyd BS, Chisari FV. Lambda interferon inhibits hepatitis B and C virus replication. *J Virol* 2005;79(6):3851-4.
91. Shi X, Chi X, Pan Y, Gao Y, Li W, Yang C, et al. IL28B is associated with outcomes of chronic HBV infection. *Yonsei Med J* 2015;56(3):625-33.
92. Lapinski TW, Rogalska-Plonska M, Panasiuk A, Kowalczyk O, Niklinski J, Flisiak R. Impact of rs12979860 polymorphism on liver morphology in chronic HCV infection. *Clin Exp Hepatol* 2015;1(1):12-6.

93. Medrano LM, Jimenez-Sousa MA, Fernandez-Rodriguez A, Resino S. Genetic Polymorphisms Associated with Liver Disease Progression in HIV/HCV-Coinfected Patients. *AIDS Rev* 2017;19(1):3-15.
94. Uygun A, Ozturk K, Demirci H, Oztuna A, Eren F, Kozan S, et al. The association of nonalcoholic fatty liver disease with genetic polymorphisms: a multicenter study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017;29(4):441-7.
95. Zheng H, Li M, Chi B, Wu XX, Wang J, Liu DW. IL28B rs12980275 variant as a predictor of sustained virologic response to pegylated-interferon and ribavirin in chronic hepatitis C patients: A systematic review and meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2015;39(5):576-83.
96. dbSNP Short Genetic Variations. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
97. Matsuura K, Isogawa M, Tanaka Y. Host genetic variants influencing the clinical course of hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 2016;88(3):371-9.
98. de Andrade DR, Jr., de Andrade DR. The influence of the human genome on chronic viral hepatitis outcome. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2004;46(3):119-26.
99. Kimkong I, Chankaew J, Kunanopparat A, Hirankarn N, Tangkijvanich P. Gene polymorphisms of interleukin 28B and the risk to chronic hepatitis B virus infection in Thai. *Tissue Antigens* 2015;85(3):177-81.
100. Rueger S, Bochud PY, Dufour JF, Mullhaupt B, Semela D, Heim MH, et al. Impact of common risk factors of fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut* 2015;64(10):1605-15.

101. Karra E, O'Daly OG, Choudhury AI, Yousseif A, Millership S, Neary MT, et al. A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity. *J Clin Invest* 2013;123(8):3539-51.
102. Yee LJ, Tang J, Herrera J, Kaslow RA, van Leeuwen DJ. Tumor necrosis factor gene polymorphisms in patients with cirrhosis from chronic hepatitis C virus infection. *Genes Immun* 2000;1(6):386-90.
103. Wang CH, Eng HL, Lin KH, Chang CH, Hsieh CA, Lin YL, et al. TLR7 and TLR8 gene variations and susceptibility to hepatitis C virus infection. *PLoS One* 2011;6(10):e26235.
104. Wang CH, Eng HL, Lin KH, Liu HC, Chang CH, Lin TM, et al. Functional polymorphisms of TLR8 are associated with hepatitis C virus infection. *Immunology* 2014;141(4):540-8.
105. Al-Qahtani A, Al-Anazi M, Abdo AA, Sanai FM, Al-Hamoudi W, Alswat KA, et al. Correlation between genetic variations and serum level of interleukin 28B with virus genotypes and disease progression in chronic hepatitis C virus infection. *J Immunol Res* 2015;2015:768470.
106. Aparicio E, Parera M, Franco S, Perez-Alvarez N, Tural C, Clotet B, et al. IL28B SNP rs8099917 is strongly associated with pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy treatment failure in HCV/HIV-1 coinfecting patients. *PLoS One* 2010;5(10):e13771.
107. Rauch A, Rohrbach J, Bochud PY. The recent breakthroughs in the understanding of host genomics in hepatitis C. *Eur J Clin Invest* 2010;40(10): 950-9.

108. Molecular probes by life technologies. Qubit® dsDNA HS Assay Kits User Guide. For use with the Qubit® Fluorometer (all models) Catalog nos. Q32851, Q32854, 2015.
109. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim> (ulaşım tarihi:16.04.2018)
110. Erkal B. Klinefelter Hastalarında PAI-1 Geni Varyantlarının Trombofili Gelişimi Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul:İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik AD,2017.
111. Applied Biosystems. TagMan SNP Genotyping Assays User Guide, Publication Number MAN0009593, 2017. https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0009593_TaqManSNP_UG.pdf (ulaşım tarihi:16.04.2018)
112. Karatayli SC, Bozdayi M, Karatayli E, Ozturk T, Hussein AA, Albayrak R, et al. Interleukin-28 gene polymorphisms may contribute to HBsAg persistence and the development of HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Liver Int* 2015;35(3):846-53.
113. Demirturk N, Aykin N, Cevik F, Koca B, Dogan N, Koken T. [Effect of IL-28B polymorphisms on the natural course of HBV infection]. *Mikrobiyol Bul* 2016;50(1):147-51.
114. Yapali S, Çetintaş A, Salman E, Günsar F, Oruç N, Vardar R, et al. IL28B genotype has no impact on spontaneous hepatitis B surface antigen (HbsAg)clearance in inactive carriers: a long term, case matched retrospective cohort study (abstract). *Journal of Hepatology* 2012;56(492):193.

115. Kandemir O, Fidanci SB, Demir N, Gorur A, Tamer L. Chronic hepatitis B and IL28B rs12979860 polymorphism: preliminary study. *Mol Biol Rep* 2013;40(11):6189-94.
116. 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.
117. Kim SU, Song KJ, Chang HY, Shin EC, Park JY, Kim DY, et al. Association between IL28B polymorphisms and spontaneous clearance of hepatitis B virus infection. *PLoS One* 2013;8(7):e69166.
118. Heidari Z, Moudi B, Mahmoudzadeh-Sagheb H, Hashemi M. The Correlation Between Interferon Lambda 3 Gene Polymorphisms and Susceptibility to Hepatitis B Virus Infection. *Hepat Mon* 2016;16(3):e34266.
119. Conde SR, Rocha LL, Ferreira VM, Monteiro JC, Filgueiras NK, Lins PA, et al. Absence of correlation between IL-28B gene polymorphisms and the clinical presentation of chronic hepatitis B in an Amazon Brazilian population. *Dis Markers* 2014;2014:534534.
120. Al-Qahtani AA, Al-Anazi MR, Abdo AA, Sanai FM, Al-Hamoudi WK, Alswat KA, et al. Genetic variation in interleukin 28B and correlation with chronic hepatitis B virus infection in Saudi Arabian patients. *Liver Int* 2014;34(7):e208-16.
121. Taheri S, Aygen B, Korkmaz K, Yildiz O, Zararsiz G, Canatan H. Characterization of the Interleukin-28B Gene rs12979860 C/T Polymorphism in Turkish Chronic Hepatitis C Patients and Healthy Individuals. *Balkan Med J* 2015;32(2):147-55.

122. Aydın N, Bülbül R, Coşkun A, Öncü S, Kırdar S. Aydın’da Kronik Hepatit C Enfeksiyonlu Hastalarda IL28B (rs12979860) Polimorfizminin Dağılımı ve Tedavi Yanıtına Etkisi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 2018;48(1):14-20.
123. Aygen B, Yildiz O, Akhan S, Gunal O, Taheri S, Zararsiz G, et al. Impact of Interleukin 28B Genotype on the Virological Responses in Chronic Hepatitis C Treatment. *Gastroenterology Res* 2014;7(5-6):123-30.
124. Rüstemoğlu A, Yalçın D, Günal Ö, Çelik B, Barut Ş, Ateş Ö. Interleukin 28B rs12979860 CT, rs12980275 GA, rs8099917 GT and TT genotypes are the Predictors of Rapid Viral Response in Hepatitis C Virus-Infected Patients. *Viral Hepatitis Journal* 2016;22(3):97-102.
125. Simsek H, Alp A, Yilmaz B, Balaban YH, Altun B, Uzun O, et al. The genotype frequencies of IL28B polymorphisms (rs12979860, rs8099917) among Turkish patients with hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012;24(9):1113-5.
126. Mangia A, De Ledinghen V, Bailly F, Brahm J, Keiss J, Valantinas J, et al. IL28B genotype is associated with cirrhosis or transition to cirrhosis in treatment-naive patients with chronic HCV genotype 1 infection: the international observational Gen-C study. *Springerplus* 2016;5(1):1990.
127. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, Ge D, Fellay J, Shianna KV, et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2010;139(1):120-9 e18.
128. Nosotti L, Petrelli A, Genovese D, Catone S, Argentini C, Vella S, et al. Distribution of IL28B Polymorphism in a Cohort of Italians and Immigrants with

HCV Infection: Association with Viraemia, Stage of Fibrosis and Response to Treatment. *J Immigr Minor Health* 2017;19(4):876-82.

129. Garcia RF, Moreira S, de Araujo Ramos AL, Ferreira LE, de Mattos AA, Tovo CV, et al. Interleukin 28B-related polymorphisms: a pathway for understanding hepatitis C virus infection? *World J Gastroenterol* 2013;19(42):7399-404.

130. Sarrazin C, Susser S, Doebling A, Lange CM, Muller T, Schlecker C, et al. Importance of IL28B gene polymorphisms in hepatitis C virus genotype 2 and 3 infected patients. *J Hepatol* 2011;54(3):415-21.

131. Honda M, Sakai A, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, et al. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2010;139(2):499-509.

132. Liao XW, Ling Y, Li XH, Han Y, Zhang SY, Gu LL, et al. Association of genetic variation in IL28B with hepatitis C treatment-induced viral clearance in the Chinese Han population. *Antivir Ther* 2011;16(2):141-7.

133. Lin CY, Chen JY, Lin TN, Jeng WJ, Huang CH, Huang CW, et al. IL28B SNP rs12979860 is a critical predictor for on-treatment and sustained virologic response in patients with hepatitis C virus genotype-1 infection. *PLoS One* 2011;6(3):e18322.

134. Mah YH, Liu CH, Chen CL, Tseng TC, Liu CJ, Chen PJ, et al. Prevalence and clinical implications of IL28B genotypes in Taiwanese patients with chronic hepatitis C. *J Formos Med Assoc* 2016;115(11):953-60.

135. Dong ZX, Zhou HJ, Xiang XG, Guo SM, Zhuang Y, Zhao GD, et al. IL28B genetic variations are associated with treatment response of patients with chronic hepatitis C in a Chinese Han population. *J Dig Dis* 2015;16(2):90-7.
136. Ren S, Lu J, Du X, Huang Y, Ma L, Huo H, et al. Genetic variation in IL28B is associated with the development of hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2012;61(9):1433-9.
137. Alborzi A, Hashempour T, Moayedi J, Musavi Z, Pouladfar G, Merat S. Role of serum level and genetic variation of IL-28B in interferon responsiveness and advanced liver disease in chronic hepatitis C patients. *Med Microbiol Immunol* 2017;206(2):165-74.
138. Rauch A, Kutalik Z, Descombes P, Cai T, Di Iulio J, Mueller T, et al. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology* 2010;138(4):1338-45, 45 e1-7.

ÖZET

HBV ve HCV enfeksiyonları karaciğerin akut veya kronik enflamasyonuna neden olarak, önemli klinik tablolara yol açabilen sağlık sorunlarındandır. HBV ve HCV enfeksiyonlu hastalarda kronikleşmeyi önleyecek faktörlerin belirlenmesi, enfeksiyon kronikleşmeden önce alınabilecek tedbirler açısından oldukça önemlidir. Son yıllarda, HBV ve HCV enfeksiyonlarının klinik seyrini etkileyen konak faktörlerinden sitokin genlerindeki tek nükleotid polimorfizmler büyük önem kazanmıştır.

Çalışmamızda, Türk toplumunda *IL-28B* geninde kodlanan proteinin fonksiyonunu etkilediği düşünülen rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin klinik olarak farklı HBV ve HCV hepatit tablolarında genotip ve alel dağılımlarının belirlenmesi, farklı klinik tabloların *IL-28B* gen polimorfizmi açısından kontrol grubu ile karşılaştırması, değerlendirilen üç polimorfizm bölgesine ait haplotip analizlerinin yapılması, plazma *IL-28B* düzeyi ile HBV ve HCV enfeksiyonunun ilişkisinin belirlenmesi ve HBV veya HCV enfeksiyonlu hastalarda incelenen polimorfizm bölgelerine ait genotipler ile yüksek ve düşük *IL-28B* plazma düzeyi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

IL-28B geni polimorfizm analizi Real Time PCR ile yapılmıştır. Plazma *IL-28B* sitokin düzeyi ELISA yöntemiyle belirlenmiştir.

Çalışma sonuçlarımıza göre, rs12979860CT genotipi ve T aleli ve rs12980275AG genotipi ve G aleli kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeylerde düşük tespit edilmiştir. rs12979860CC ve

rs12980275AA genotipi ise kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek belirlenmiştir. rs8099917TG genotipi ve G aleli kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda kontrol grubuna göre, rs8099917TT genotipi ve T aleli kontrol grubunda kronik HCV enfeksiyonlu hastalara göre anlamlı düzeylerde yüksek saptanmıştır. *IL-28B* haplotip analizinde TGG haplotipi kronik HCV enfeksiyonlu hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda, kontrol grubunda plazma IL-28B düzeyleri HBV ile enfekte veya kronik HCV enfeksiyonlu hastalara göre istatistiksel olarak yüksek tespit edilmiştir. HBV ile enfekte hastalarda, rs12980275AG genotipine sahip olanlarda istatistiksel olarak yüksek IL-28B plazma düzeyi saptanmıştır.

Sonuç olarak, ileri çalışmalarla, *IL-28B* gen polimorfizmlerinin, hepatit hastalarında prognozu önceden belirleyecek bir belirteç olarak kullanılabileceğini, hepatit enfeksiyonunun progresyonunu önlemek için tedbirler alınmasına ve yeni gen tedavisi seçeneklerinin geliştirilmesine olanak sağlayacak çalışmalara yol gösterebileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar sözcükler: *IL-28B* polimorfizmi, HBV enfeksiyonu, HCV enfeksiyonu

8. SUMMARY

Determination of *IL-28B* polymorphism and relationship between viral load in hepatitis B and C infections in Turkish Population

Hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infections are causing to health problems that can lead to important clinical presentations with causing acute or chronic inflammation of the liver. In HBV and HCV infected patients, it is important to determine the factors that lead to chronicity in HBV and HCV infection so that we can take measures to prevent chronic infection. Recently, the host factors single nucleotide polymorphisms (SNP) in cytokine genes that affect the clinical course of the infections become important.

In this study, we aimed to investigate the frequency of Interleukin-28B (*IL-28B*) rs12979860, rs8099917 and rs12980275 SNP in HBV and HCV infection, to compare different clinical presentations with control to analyze haplotypes, to detect *IL-28B* plasma levels and relationship between the SNPs genotypes and *IL-28B* plasma levels among Turkish patients.

IL-28B SNPs were investigated by Real Time PCR. Plasma levels of *IL-28B* were measured by ELISA.

In the study, the rs12979860CT genotype and T allele and the rs12980275AG genotype and A allele were significantly lower in patients with chronic HBV infected patients when compared with controls. The rs12979860CC and rs12980275AA genotype were significantly higher in chronic HBV infected patients when compared with controls. However, the TG genotype and G allele

frequencies of the rs8099917 in patients with HCV infection and rs8099917TT genotype and T allele in controls were significantly higher. According to haplotype analysis, the TGG haplotype was found significantly higher in patients with HCV infection compared with controls. The plasma IL-28B levels were higher in controls compared to patients with HBV or HCV infection. In the HBV infected patients with rs12980275AG genotype detected plasma IL-28B levels significantly higher compared to other genotypes.

In conclusion, we believe that *IL-28B* SNPs could be used as biomarkers for predicting clinical outcomes and be useful to take precautions to prevent progression of hepatitis infection and to improve new gene therapies with further investigations.

Keywords: *IL-28B* polymorphism, HBV infection, HCV infection

9. EKLER


- BEKAMZTLN -



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ**
Etik Komisyonu



Sayı : 77082166-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Işıl FİDAN BALCI
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Tez danışmanı olduğunuz, Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Arş.Gör.Dr.Zeynep KOÇ'un uzmanlık tez çalışması olan "*Türk Toplumunda Hepatit B ve Hepatit C Enfeksiyonunda IL-28B Polimorfizminin ve Viral Yük ile İlişkisinin Belirlenmesi*" adlı çalışması ile ilgili konu Komisyonumuzun 19.01.2017 tarih ve 01 sayılı toplantısında görüşülmüş olup,

İlgilinin çalışmasının yapılacağı Üniversitemiz Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Moleküler Viroloji Laboratuvarları'ndan izin alınması koşuluyla, etik açıdan bir sakınca bulunmadığına oybirliği ile karar verilmiş ve karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Alper CEYLAN
Komisyon Başkanı

Araştırma Kod No: 2017-31

Ek:1 Liste

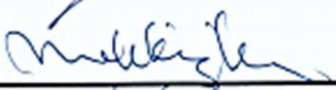
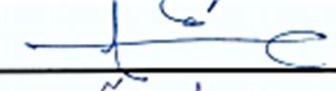
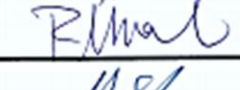
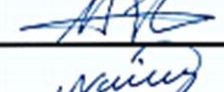
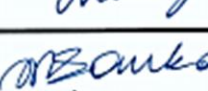
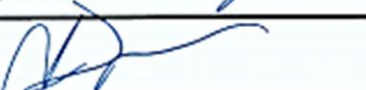
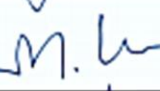
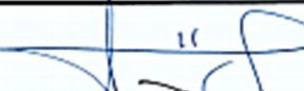
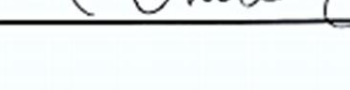
Azıkara
Tel:0 (312) 202 20 57 Faks:0 (312) 202 20 63
İnternet Adresi : <http://etikkomisyon.gazi.edu.tr/>

Bilgi için :Narsel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
ETİK KOMİSYONU KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 19.01.2017

TOPLANTI SAYISI : 01

ADI-SOYADI	İMZA
Prof.Dr.Alper CEYLAN BAŞKAN	
Prof.Dr.Mustafa N.İLHAN BAŞKAN YRD.	
Prof.Dr.Mehmet KÜÇÜKKURT	
Prof.Dr.Fatma GÜMÜŞ	
Prof.Dr.Rahmi ÜNAL	
Prof.Dr.Mehmet Sayın KARACAN	
Prof.Dr.Naciye YILDIZ	
Prof.Dr.Mustafa SARIKAYA	
Prof.Dr.İbrahim DOĞAN	
Prof.Dr.C. Haluk BODUR	
Prof.Dr.Mustafa İLBAŞ	
Prof.Dr.Füsün DEMİREL	
Doç.Dr.Tuncay ÖNDER	

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Zeynep

Soyadı: Koç

Doğum yeri ve tarihi: ANKARA 05.06.1988

Eğitimi

2016-2018 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD

2014-2016 Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD

2006-2013 Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi

2002-2006 Gaziantep Anadolu Lisesi

1994-2002 Kenan Evren İlköğretim Okulu

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti

Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği

Bilimsel Etkinlikleri (yayınlar)

1. Nurullah Çiftçi, **Zeynep Koç**, Hatice Türk Dağı, Nazlım Aktuğ Demir, İnci Tuncer. Bordetella Trematum’ un etken olduğu bir kronik orta kulak infeksiyonu olgusu. *ANKEM derg.*2015;29 (3):122-125
2. Işıl Fidan, Tuğba Çuhadar, **Zeynep Koç**, Gamze Gizem Duman, Ayça Ünal, Resul Karakuş. Anti-Hcv Pozitif Serum Örneklerinde Viremi Oranlarının Ve Anti-HCV Düzeyleri İle İlişkisinin Araştırılması. *ANKEM derg.* 2017;31(1):7-13

3. Işıl Fidan, Tuğba Çuhadar, **Zeynep Koç**, Resul Karakuş. Anti-HCV-Pozitif Örneklerde HBV/HCV Koinfeksiyonu Yaygınlığının Belirlenmesi. KLİMİK derg. 2018; 31(1):16-9.

Ulusal bildirileri

1. Işıl Fidan, Tuğba Çuhadar, **Zeynep Koç**, Resul Karakuş. Anti-HCV Pozitif Örneklerde HBV/HCV Koinfeksiyonu Yaygınlığının Belirlenmesi. 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kasım 2016, Antalya.
2. Işıl Fidan, Tuğba Çuhadar, **Zeynep Koç**, Gamze Gizem Duman, Ayça Ünal, Resul Karakuş. Anti-HCV Pozitif Serum Örneklerinde Viremi Oranlarının ve Anti-HCV düzeyleri ile ilişkisinin araştırılması. 37. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Kasım 2016, Antalya.
3. Işıl Fidan, Sidre Erganiş, **Zeynep Koç**, Resul Karakuş. Pediatrik yaş grubu hasta örneklerinde hepatit B ve hepatit C virus enfeksiyonlarının araştırılması. 4. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. Kasım 2017, Antalya.
4. Işıl Fidan, **Zeynep Koç**, Sidre Erganiş. Yoğun bakım ünitelerinden gönderilen hasta örneklerinde CMV DNA varlığının araştırılması. 4. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. Kasım 2017, Antalya.
5. **Zeynep Koç**, Hande Kahraman Durak, Ayşe Kalkancı, Işıl Fidan. Kronik hepatit B ve hepatit C hasta örneklerinde IL-17A ve IL-23 sitokinlerinde gözlenen değişiklikler ve viral replikasyonla ilişkisi. 4. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. Kasım 2017, Antalya.