



Araştırma

Kronik Hepatit B Hastaları ve Asemptomatik Hepatit B Taşıyıcılarında İnterlökin 10 (IL-10) Sitokin Polimorfizmi*

Handan CEBECİ¹, Mehmet SÖKMEN², Nurgül CEREN², Rıza ADALETİ², E. Çiğdem KASPAR³, May KORACHI¹

¹Yeditepe Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü,

²Haydarpaşa Numune Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı,

³Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik, İSTANBUL

*Bu çalışma 5th APASL *Single Topic Conference*, 17-20 Mayıs 2009, İstanbul'da poster olarak sunulmuştur

ÖZET

Dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri Hepatit B virüsü (HBV)'na maruz kalmış olup, bunların 400 milyon kadarında kronik hepatit B hastalığı olduğu düşünülmektedir. Hepatit B hastalığı kronikleştiğinde tedavi edilmediği takdirde ilerleyerek karaciğer sirozu ve karaciğer kanserine neden olurken, hepatit B taşıyıcılarının (inaktif hepatit B enfeksiyonu) çoğunda semptomlara rastlanmamakta ve bireyler sağlıklı görünmektedir. HBV erişkin insanlara bulaştığında %5-10 civarında kronikleşirken yenidoğan ve erken çocukluk çağlarında bulaştığında ise çok daha yüksek oranlarda kronikleşme görülmektedir. Kronik hepatit B enfeksiyonu hastanın immun sistemini devreye sokarak belirli immun cevapların oluşmasına neden olmaktadır. Bu cevaplar ise kişinin genetik yapısına bağlı olarak farklılıklar göstermektedir.

Bu çalışmanın amacı, HBV taşıyıcılarının genetik yapılarındaki farklılıkların immun cevabın gelişmesini sağlayan sitokinlerden interlökin-10'un (IL-10) düşük veya yüksek miktarda salgılanmasına neden olması sonucu, kişide hepatit B hastalığının kronik veya asemptomatik olarak görülmesine etkili olup olmadığını araştırmaktır.

Araştırmada 18 kronik hepatit B hastası, 17 hepatit B taşıyıcısı ve 34 sağlıklı kontrol gruplarındaki bireylerin -1082, -819 ve -592 konumlarındaki IL-10 sitokin polimorfizmleri incelenmiştir. Bunun için amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi - polimeraz zincir reaksiyonu (ARMS-PCR) uygulanmıştır. Elde edilen veriler, -1082 konumundaki AA ve AG genotiplerinin kronik hepatit B hastaları ve asemptomatik taşıyıcılar arasında anlamlı bir farklılık yarattığını göstermiştir (sırasıyla, $p = 0.009$ ve 0.003). Ayrıca, sağlıklı kontrollerde ve asemptomatik taşıyıcılarda A1A haplotipi daha sık görülürken, kronik hepatit B hastalarında ACC haplotipinin daha yaygın olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, bu çalışmada HBV taşıyıcılarının kronik hepatit B hastalığı geliştirmesi ya da asemptomatik taşıyıcı olması ile IL-10 sitokininde görülen genetik farklılıkların ilişkili olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Kronik hepatit B, hepatit B taşıyıcısı, ARMS-PCR, interlökin 10, sitokin.

SUMMARY

Interleukin 10 (IL-10) Cytokine Polymorphism in Patients with Chronic Hepatitis B and in Asymptomatic Hepatitis B Carriers

About one-third of the world's population is infected with the hepatitis B virus (HBV); 400 million of them are considered to have chronic hepatitis B infection. Chronic hepatitis B may lead to cirrhosis and hepatocellular carcinoma, whereas most hepatitis B carriers (inactive hepatitis B infection) present no symptoms and are healthy individuals. While 5-10% adult cases with HBV become chronic, this rate is higher in newborns and early childhood periods. Chronic hepatitis B infection leads to certain immune responses by activating the immune system of the patient. These responses vary with respect to individuals' genetic structures.

The aim of the present study was to determine whether interleukin-10 (IL-10), which improves the immune response, affected the course of hepatitis B infection, such as chronic or asymptomatic, because of high or low levels of IL-10 due to different genetic structures of HBV carriers.

In the present study, IL-10 cytokine polymorphisms at -1082, -819 and -592 positions were investigated in 18 chronic hepatitis B patients, 17 HBV carriers and 34 healthy controls. Amplification refractory mutation system - polymerase chain reaction (ARMS-PCR) was performed.

The AA and AG genotypes at position -1082 was significantly different ($p= 0.009$ and 0.003 , respectively) between chronic hepatitis B patients and HBV carriers. Haplotype analysis revealed that the ATA haplotype was more prevalent in healthy controls and HBV carriers, whereas ACC was more prevalent in chronic hepatitis B patients.

In conclusion, the present study concluded that the genetic differences in IL-10 cytokines might be associated with the course of HBV infection.

Keywords: Chronic hepatitis B, hepatitis B carriers, ARMS-PCR, IL-10, cytokine

GİRİŞ

Hepatit B aşıları oldukça koruyucu olmalarına rağmen, Hepatit B virusu (HBV) enfeksiyonu küresel bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir. Dünyada yaklaşık iki milyar insanın bu virusa maruz kaldığı ve bunların dört yüz milyonunun kronikleştiği ayrıca her yıl 10-30 milyondan fazla insanın da bu virüsle bir şekilde enfekte olduğu açıklanmıştır (1, 2). Kronik hepatit B hastalarının yüzde beşi her yıl siroz ya da karaciğer kanserine yakalanarak, bu hastalıktan veya komplikasyonlarından dolayı hayatını kaybetmektedir (3, 4).

HBV enfeksiyonunda, virusun genotipi ve taşıyıcının genetik immun yapısı, gerek klinik seyirde ve gerekse tedaviye yanıtta önem taşımaktadır (5). Sitokinler immun sistemi düzenlemede önemli rol oynarlar. Sitotoksik T lenfositlerinin (CTL), makrofajların, doğal öldürücü hücrelerin (NK) ve granülositlerin aktif hale geçmesi, büyümesi ve farklılaşması gibi fonksiyonları da içeren çok geniş çalışma alanlarına sahiptirler. Çoklu allel genetik polimorfizmlerin insanlarda çeşitli sitokinlerin ekspresyonunu ve üretimini etkileyebileceği gösterilmiştir (6). Ayrıca, bu polimorfizmlerin çoğunun otoimmun ve bulaşıcı hastalıklar

üzerinde rol oynadığı belirtilmiştir (7). Sitokin polimorfizmlerini etkileyen bazı faktörler, taşıyıcının virusa verdiği tepkiyi ve HBV enfeksiyonunun sonuçlarını kontrol etmektedir. Yapılan araştırmalar, sitokin sentez seviyelerinin düşük veya yüksek oluşunun, bazı sitokin genlerinin promotör bölgelerindeki tek nükleotid polimorfizmleriyle ilişkili olduğunu göstermiştir (8). Bu sitokin gen polimorfizmlerinin, HBV enfeksiyonundan doğan karaciğer hastalıklarının derecesiyle ve hastalığın gelişme mekanizmasıyla bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (9).

IL-10 gen polimorfizminde belirlenmiş bölgelerin başında -1082 (A/G), -819 (C/T) ve -592 (A/C) biallelik bölgeleri gelmektedir. Bu bölgelerdeki bağlantılardan yola çıkılarak üç haplotip kurulmuştur: ATA, GCC ve ACC (8). GCC yüksek seviye, ACC orta, ATA ise düşük seviye IL-10 sentezini tetikleyen haplotipler olarak belirlenmiştir (10, 11). Daha önce Çin (12, 13), Kore (14, 15) ve Japonya'da (16, 17) yapılan çalışmalarda, bu üç bölgedeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNPs) ve haplotiplerin hepatit B enfeksiyonunun sonuçlarıyla bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada IL-10 sitokininin -1082 (A/G), -819 (C/T) ve -592

(A/C) pozisyonlarındaki polimorfizmlerinin, kronik hepatit B hastaları ve asemptomatik taşıyıcıları arasındaki bağlantıları ilişkilendirilmiştir.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Örnekleri

Çalışmada 18 kronik hepatit B hastası, 17 asemptomatik hepatit B taşıyıcısı ve 34 sağlıklı kontrol içeren 3 grup incelenmiştir. Kan örnekleri, Haydarpaşa Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. çalışma retrospektif olarak gerçekleştirilmiş ve kan örneklerinden analiz için etik komite ve bireylerin onayları alınmıştır. Örnek kriterleri şu şekildedir:

a. Kronik Hepatit B Hastaları

Kronik hepatit B'li hastalarda en az 6 ay boyunca hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) ve anti-HBc (total) pozitif ve serum HBV DNA seviyeleri millilitrede en az 5 pg olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda normalin üzerinde serum alanin amino-transferaz (ALT) ve aspartat amino-transferaz (AST) seviyeleri görülmüştür.

b. Asemptomatik Taşıyıcılar

HBV bulaşmış ancak hiçbir belirti göstermeyen bireyler, normal düzeyde serum ALT ve AST seviyelerine sahip ve anti-HBe pozitif hastalar asemptomatik taşıyıcılar grubuna dahil edilmiştir.

c. Kontrol Grubu

HBsAg negatif, karaciğer fonksiyonları normal, akut/kronik hepatit B geçmişi ya da HBV aşısı olmamış bireyler kontrol grubunda yer almıştır.

Hepatit C, D ya da HIV ile enfekte olmuş, karaciğer hastalığı bulunan, 3 aydan uzun süredir düzenli ilaç kullanan ya da otoimmün hepatit belirtisi gösteren bireyler çalışmaya katılmamıştır.

DNA Ekstraksiyonu

Genomik DNA'lar; numunelerden alınan 200 µL periferik kandan, Qiagen (İngiltere) DNA izolasyon kiti kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda ekstrakte edilmiştir. Hücre zarı ve hücrenin diğer kısımları, Proteinaz K ve liziz tamponu ile 56°C'de inkübe edilerek parçalanmıştır. Genomik DNA, yıkama tampon solüsyonuyla saflaştırıldıktan sonra elüsyon tamponu ile elde edilmiştir.

Genotip Belirleme

IL-10 polimorfizminin -1082 (A/G) ve -819 (C/T) pozisyonlarındaki genotipleri, amplifikasyon refrakter mutasyon sistemi polimeraz zincir reaksiyonu (ARMS-PCR) ile belirlenmiştir. -819 pozisyonundaki tek nükleotid polimorfizmi (C/T) ile -592 pozisyonundaki polimorfizm (A/C) ile karşılıklı bağlantısı -819 T alleli ile -592 A alleli, -819 C alleli ile -592 C alleli şeklinde olduğundan -592 pozisyonundaki alleller için ek çalışma yürütülmemiştir.

2.5 µL 10X Tsg Reaction Buffer (Bio Basic, Kanada), 2.5 µL 20 mM MgSO₄ (Bio Basic, Kanada), 0.5 µL 10 mM dNTP (Sigma Aldrich, ABD), 0.15 µL Tsg DNA Polymerase (Bio Basic, Kanada), kontrol amacıyla 0.5 µL HGH (Human growth hormone) ve 14.85 µL distile su ile toplamda 21 µL PCR mastermix hazırlanmıştır. 2 µL örnek DNA ve 2 µL spesifik primerler (reserve ve forward) mastermix'e ilave edilmiştir. PCR, PCR Thermal Cycler'da (Mycycler, UK) gerçekleştirilmiştir. PCR aşamaları 96°C'de 10 s, 63°C'de 60 s, ardından 96°C'de 10 s, 56°C'de 30 s ve 72°C'de 30 s süren 20 döngü olacak şekilde ayarlanmıştır. PCR ürünleri etidyum bromürle boyandıktan sonra %2'lik agaroz jelde yürütülerek incelenmiştir.

İstatistiksel Analiz

Genotip sonuçları SPSS Statistical Analysis Package 16 (SPSS, Inc., Chicago, IL) yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. IL-10 allelleri, genotipleri ve haplotipleri Chi-Square test kullanılarak karşılaştırılmıştır. P değeri 0.05'ten küçük olan analizler anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

18 kronik hepatit B hastasının, 17 asemptomatik HBV taşıyıcısının ve 34 sağlıklı kontrolün -1082 (A/G) ve -819 (G/C) pozisyonlarındaki allelik dağılımları analiz edilmiş ve veriler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen genotip ve haplotip dağılımları analiz edilerek tablolar oluşturulmuştur (Tablo 1, 2 ve 3). -1082 pozisyonundaki genotip dağılımlarının asemptomatik taşıyıcı/kronik hasta ve kronik hasta/sağlıklı kontrol karşılaştırmalarında hiçbir anlamlı farklılık görülmezken ($p > 0.05$), -1082'deki AA genotipinin üçlü karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık elde edilmiştir. AA genotipi asemptomatik taşıyıcılarda hiç görülmezken, sağlıklı kontrol grubunda ve kronik hepatit B hastalarında anlamlı oranlarda görülmüştür (sırasıyla % 32.4 ve % 11.1, $p = 0.013$, Tablo 1).

Tablo 1. Sağlıklı kontroller, kronik hepatit B hastaları ve asemptomatik taşıyıcılar üzerine -1082 pozisyonundaki polimorfizm dağılımları

Polimorfizmler	Sağlıklı Kontroller	Kronik Hepatit B	Asemptomatik Taşıyıcılar	P değerleri
AA	% 32.4	% 11.1	% 0.0	0.013*
AG	% 61.8	% 88.9	% 100.0	0.003*
GG	% 5.9	% 0.0	% 0.0	0.346

*: anlamlı. P değerleri 0.05'ten küçük olanlar anlamlı olarak değerlendirildi.

Aynı zamanda bu gruplarda AG genotipi analiz edildiğinde de anlamlı bir farklılık elde edilmiştir. Asemptomatik taşıyıcıların tamamı bu genotipi taşırlarken, kronik hepatit B hastaları %88.9 oranında ve sağlıklı kontroller de % 61.8 oranında

bu genotipi taşımaktadırlar ($p=0.003$, Tablo 1). IL-10'un -819 pozisyonundaki genotip dağılımlarının ne ikili karşılaşmalarında ne de üçlü analizinde hiçbir anlamlı sonuç elde edilmemiştir ($p>0.05$, Tablo 2).

Tablo 2. Sağlıklı kontroller, kronik hepatit B hastaları ve asemptomatik taşıyıcılar üzerine -819 pozisyonundaki polimorfizm dağılımları

Polimorfizmler	Sağlıklı Kontroller	Kronik Hepatit B	Asemptomatik Taşıyıcılar	P değerleri
CC	% 0.0	% 0.0	% 0.0	Sonuç yok
CT	% 85.3	% 100	% 94.1	0.180
TT	% 14.7	% 0.0	% 8.7	0.180

*: anlamlı. P değerleri 0.05'ten küçük olanlar anlamlı olarak değerlendirildi.

Haplotip analizlerine bakıldığında; GCC haplotipinin analizinde anlamlı bir farklılık görülmezken ($p>0.05$), ATA ve ACC haplotiplerinin üçlü analizlerinde anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. ATA haplotipi asemptomatik taşıyıcı ve sağlıklı kontrol gruplarında yaklaşık %50 oranında bulunurken, kronik hepatit B hastalarında yalnızca %5 oranında görül-

müştür ($p=0.0001$, Tablo 3). ACC haplotipinin dağılımı bu üç grupta analiz edildiğinde ise oldukça anlamlı bir farklılık elde edilmiştir ($p=0.0001$, Tablo 3). Bu haplotip asemptomatik taşıyıcılarda hiç görülmezken, kronik hepatit B hastalarında % 50 ve sağlıklı kontrol grubunda %14.7oranında varolduğu belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Sağlıklı kontroller, kronik hepatit B hastaları ve asemptomatik taşıyıcılar üzerine haplotip dağılımları

Haplotip	Sağlıklı Kontroller	Kronik Hepatit B	Asemptomatik Taşıyıcılar	P değerleri
ATA (düşük)	% 48.5	% 5.6	% 50	0.000*
GCC (yüksek)	% 27.9	% 44.4	% 44.1	0.136
ACC (orta)	% 14.7	% 50	% 0.0	0.000*

*: anlamlı. P değerleri 0.05'ten küçük olanlar anlamlı olarak değerlendirildi

TARTIŞMA

IL-10 immun cevabı baskılayıcı özelliğiyle dikkat çekmesine rağmen, aynı zamanda B hücrelerinin fonksiyonunu ve humoral cevabı artırdığı bildiril-

miştir (18, 19). Bu nedenle IL-10 sitokini kronik hepatit B üzerinde kompleks bir rol oynadığı düşünülmektedir. Özellikle promotör bölgelerde bulunan IL-10 varyasyonları HBV enfeksiyonu ve

hastalığın ilerlemesinde önemli rol oynadığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (12, 14, 16). Bu çalışmada, IL-10 sitokininin -1082 (A/C) ve -819 (C/T) pozisyonlarındaki polimorfizmlerin HBV enfeksiyonuyla olan bağlantıları incelenmiştir. Daha önceki çalışmalarda IL-10'un -1082 pozisyonundaki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) HBV enfeksiyonunun kronikleşmesini tetiklediği Fransız (21), Afro-Amerikan (22) ve Japon (16) popülasyonlarında ortaya konmuştur. Ancak, SNP analizleri tek başına varyasyonların karmaşık yapısını açıklamada yeterli olmadığı bir gerçektir. Bu nedenle haplotip analizleri, HBV enfeksiyonu gibi birçok faktörden etkilenen hastalıklarda daha anlamlı ve doğru sonuçlar sunmaktadır (23).

Yürütülen bu çalışmanın sonucunda, ele alınan hasta ve kontrol gruplarında özellikle IL-10 üretiminde etkili olan -1082 pozisyonundaki varyasyonların HBV enfeksiyonuyla anlamlı bir ilişkisi olduğu görülmüştür. Özellikle -1082 pozisyonundaki AA ve AG genotiplerinin sağlıklı bireyler ile hasta bireyler arasındaki dağılımının anlamlı olduğu görülmüştür. Hiçbir asemptomatik taşıyıcı AA genotipi taşımazken, ele alınan bireylerin tamamının AG genotipine sahip olduğu bulunmuştur. Elde edilen bu bulgular, AA genotipinin hepatit B hastalığının klinik ilerleyişindeki etkisini bildiren önceki araştırmaları destekler niteliktedir (20).

Çalışmamızın bulguları, ATA haplotipinin sağlıklı kontrollerde ve asemptomatik taşıyıcılarda, ACC haplotipinin ise kronik Hepatit B hastalarında daha yaygın olduğunu göstermiştir. Bu bulgularla bağlantılı olarak, ACC haplotipi Çin popülasyonunda yapılan bir çalışmada kronik hepatit B hastalarıyla ilişkilendirilirken, ATA haplotipinin asemptomatik taşıyıcılarla anlamlı bir bağlantısının olduğu gösterilmiştir (13). Diğer bir araştırmada ise, Japon popülasyonunda, ATA haplotipinin asemptomatik taşıyıcılarla güçlü bir bağlantısının olduğu belirtilmiştir (16). IL-10, enflamasyonu hafifletme rolüne sahiptir ve düşük oranda üretimi güçlü bir enflamasyon ile düşük HBV replikasyonuna neden olmaktadır. Bu bilgi, düşük üretici olan ATA haplotipinin asemptomatik taşıyıcılarda büyük oranda görülmesini açıklamaya yardımcı olabilecek niteliktedir (20). Ancak Takakura ve arkadaşları (24) tarafından bu fikirle çelişen bazı bulgular elde edilmiştir. ATA haplotipi kronik hepatit B hastalarında, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında daha büyük oranda görülmüştür. Ayrıca, başka bir araştırmada, Tayvan popülasyonunda bu hastalıkla IL-10 arasında hiçbir anlamlı bağlantıya rastlanılmamıştır (25).

Bu farklılıklar popülasyona veya örnek gruplarının farklılığına göre hastalık metabolizmasının değişiklik gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, IL-10 varyasyonları ile HBV enfeksiyonunun ilerleyiş mekanizmasının ilişkili olduğu sonucu bulunmuştur. Bu çalışma, Türk popülasyonu üzerine yapılmış IL-10 gen polimorfizmiyle kronik hepatit B enfeksiyonu yatkınlığı arasındaki bağlantının incelendiği ilk kapsamlı araştırmadır. Buradan elde edilen bilgiler, bireylerin genetik yapıları ile HBV enfeksiyonunun kronik veya asemptomatik olarak gelişeceği hakkında fikir sahibi olma ve daha kısa sürede tedavi ve önlem alınması açısından oldukça önemli adımlar atılmasını sağlamıştır.

KAYNAKLAR

1. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997; 337: 1733-45.
2. Tassopoulos NC, Papaevangelou GJ, Sjogren MH, Roumeliotou-Karayannis A, Gerin JL, Purcell RH. Natural history of acute hepatitis B surface antigen-positive hepatitis in Greek adults. *Gastroenterology* 1987; 92: 1844-50.
3. Hepatitis B Foundation, Statistics, 2009, <http://www.hepb.org/hepb/statistics.htm>
4. Yuen MF, Kato T, Mizokami M, et al. Clinical outcome and virologic profiles of severe hepatitis B exacerbation due to YMDD mutations. *J Hepatol* 2003; 39: 850-855.
5. Xu XW, Lu MH, Tan DM. Association between tumour necrosis factor gene polymorphisms and the clinical types of patients with chronic hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 52-56.
6. Korachi M, Pravica V, Barson AJ, Hutchinson IV, Drucker DB. Interleukin 10 genotype as a risk factor for sudden infant death syndrome: determination of IL-10 genotype from wax-embedded postmortem samples. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004; 42: 125-9.
7. Falleti E, Fabris C, Toniutto P, et al. Genetic polymorphisms of inflammatory cytokines and liver fibrosis progression due to recurrent hepatitis C. *J Interferon Cytokine Res* 2007; 27: 239-46.
8. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997; 24: 1-8.
9. Migita K, Sawakami-Kobayashi K, Maeda Y, et al. Interleukin-18 promoter polymorphisms and the

- disease progression of Hepatitis B virus-related liver disease. *Transl Res.* 2009; 153: 91-6.
10. Crawley E, Kay R, Sillibourne J, Patel P, Hutchinson I, Woo P. Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1101-8.
 11. Edwards-Smith CJ, Jonsson JR, Purdie DM, Bansal A, Shorthouse C, Powell EE. Interleukin-10 promoter polymorphism predicts initial response of chronic hepatitis C to interferon alfa. *Hepatology* 1999; 30: 526-30.
 12. Zhu QR, Ge YL, Gu SQ, et al. Relationship between cytokines gene polymorphism and susceptibility to hepatitis B virus intrauterine infection. *Chin Med J (Engl)* 2005; 118: 1604-9.
 13. Peng XM, Huang YS, Ma HH, Gu L, Xie QF, Gao ZL. Interleukin-10 promoter polymorphisms are associated with the mode and sequel of HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Liver Int* 2006; 26: 326-33.
 14. Shin HD, Park BL, Kim LH, et al. Interleukin 10 haplotype associated with increased risk of hepatocellular carcinoma. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 901-6.
 15. Cheong JY, Cho SW, Hwang IL, et al. Association between chronic hepatitis B virus infection and interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphisms. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1163-9.
 16. Miyazoe S, Hamasaki K, Nakata K, et al. Influence of interleukin-10 gene promoter polymorphisms on disease progression in patients chronically infected with hepatitis B virus. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2086-92.
 17. Migita K, Miyazoe S, Maeda Y, et al. Cytokine gene polymorphisms in Japanese patients with hepatitis B virus infection - association between TGF-beta 1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2005; 42: 505-10.
 18. Liu M, Cao B, Zhang H, Dai Y, Liu X, Xu C. Association of interferon-gamma gene haplotype in the Chinese population with hepatitis B virus infection. *Immunogenetics* 2006; 58: 859-64.
 19. Osna N, Silonova G, Vilgert N, et al. Chronic hepatitis C: T-helper1/T-helper2 imbalance could cause virus persistence in peripheral blood. *Scand J Clin Lab Invest* 1997; 57: 703-10.
 20. Gao QJ, Liu DW, Zhang SY, et al. Polymorphisms of some cytokines and chronic hepatitis B and C virus infection. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5610-9.
 21. Richardet JP, Scherman E, Costa C, Campillo B, Bories PN. Combined polymorphisms of tumour necrosis factor alpha and interleukin-10 genes in patients with alcoholic hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 673-9.
 22. Truelove AL, Oleksyk TK, Shrestha S, et al. Evaluation of IL10, IL19 and IL20 gene polymorphisms and chronic hepatitis B infection outcome. *Int J Immunogenet* 2008; 35: 255-64.
 23. de Bakker PI, Yelensky R, Pe'er I, Gabriel SB, Daly MJ, Altshuler D. Efficiency and power in genetic association studies. *Nat Genet* 2005; 37: 1217-23.
 24. Takakura M, Tokushige K, Matsushita N, Hashimoto E, Shiratori K. Possible involvement of cytokine gene polymorphisms in fulminant hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1271-7.
 25. Li C, Zhi-Xin C, Li-Juan Z, Chen P, Xiao-Zhong W. The association between cytokine gene polymorphisms and the outcomes of chronic HBV infection. *Hepatol Res* 2006; 36: 158-66.

YAZIŞMA ADRESİ

Dr. May KORACHI

Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık
Fakültesi

Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

İSTANBUL

e-mail: mkorachi@yeditepe.edu.tr