



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TÜRK POPÜLASYONUNDA SİTOKİN SİNYAL SUPRESÖR (SOCS)-1
1478 CA/DEL GEN POLİMORFİZMİ İLE HEPATİT B ENFEKSİYONUNUN
SEYRİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Dr. İbrahim HAYEK

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2009



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TÜRK POPÜLASYONUNDA SİTOKİN SİNYAL SUPRESÖR (SOCS)-1
1478 CA/DEL GEN POLİMORFİZMİ İLE HEPATİT B ENFEKSİYONUNUN
SEYRİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Dr. İbrahim HAYEK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof.Dr. Macit GÜLTEN

BURSA – 2009

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
Summary	iv
Giriş	1
Kronik Hepatit B Virüs Enfeksiyonu	1
İnsan DNA'sının özellikleri ve işlevleri	15
Sitokin sinyal süpresörleri.....	19
Gereç ve Yöntem	28
Bulgular	33
Tartışma ve Sonuç	40
Kaynaklar	44
Teşekkür	51
Özgeçmiş	52

ÖZET

Kronik hepatit B enfeksiyonu tüm dünyada 360 milyondan fazla insanı etkilemektedir. Hepatit B virüs enfeksiyonu sonucunda akut hepatit, inaktif taşıyıcı, kronik hepatit oluşabileceği gibi, hafif bir hastalık sonucu iyileşme de oluşabilmektedir. Enfeksiyonun değişik klinik tablolar sergilemesi genel olarak virüse ait faktörlerden ziyade immün sisteminin ölçsüz yanıt vermesinden kaynaklanmaktadır. İmmün sistem regülasyonunu sağlayan ve bu ölçsüz yanıtı engelleyen önemli proteinlerden biri sitokin sinyal supresör (SOCS)-1 proteindir. SOCS-1'in fonksiyonunu değiştirebilecek mutasyon ya da polimorfizm neticesinde hepatit B virüsüne karşı gelişecek aşırı immün yanıtı bağı olarak karaciğerde ciddi hasar oluşabilmektedir.

Biz çalışmamızda, Türk popülasyonunda, SOCS-1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi ile hepatit B enfeksiyonunun seyri arasında bir ilişki olup olmadığını ortaya koymayı amaçladık.

Çalışmaya, 35 kronik hepatit B enfeksiyonlu, 36 inaktif hepatit B taşıyıcısı alındı, kontrol grubu olarak 45 geçirilmiş hepatit B bireyleri dahil edildi. Çalışmaya katılan hastalarda SOCS-1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi, polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizmi (PZR-RFLP) yöntemi ile tayin edildi.

Kronik hepatit B hastalarında CA/CA; 14 (%40), CA/DEL: 21(%60), DEL/DEL: 0, İnaktif hepatit B taşıyıcılarında; CA/CA: 18 (%50), CA/DEL:18 (%50), DEL/DEL: 0, ve geçirilmiş hepatit B bireylerinde; CA/CA: 24 (%53.3), CA/DEL: 19 (%42.2), DEL/DEL: 2 (%4.5) genotipleri saptandı. Kronik hepatit B hastalarının SOCS-1 1478 CA/DEL gen polimorfizm genotipleri sıklığı, inaktif hepatit B taşıyıcı hastaları ve geçirilmiş hepatit B bireyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı.

Sonuç olarak, SOCS-1 1478 polimorfizmi ile hepatit B seyri arasında her hangi bir ilişki bulunmadı. Bu konuda daha kesin bir sonuca varmak için Türkiye de daha fazla vaka sayısı içeren çalıŐmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Kronik hepatit B, SOCS-1 1478 CA/DEL, Gen polimorfizm.

SUMMARY

Association of SOCS-1 1478 CA/DEL Gene Polymorphisms with Outcomes of HBV Infection in Turkish Population

Hepatitis B virus (HBV) infection affects more than 360 million people all around the world. Some individuals can develop acute HBV infection and achieve complete immune clearance of virus, yielding a life-long immunity, while others can develop chronic HBV infection or asymptomatic carrier. The outcomes of hepatitis B infection is more related to the host immoderate immune response than viral factors. Suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS-1) is one of the most important protein that regulates the immun system by preventing it from the overreactivity. Any mutation or polymorphism that changes the SOCS-1 function, may be harmful to the liver because of exaggerate immune response.

The aim of our study is to investigate whether there is a relationship between the outcome of hepatitis B and SOCS-1 gene polymorphism.

35 chronic hepatitis B patients, 36 asymptomatic carriers and 45 spontaneously recovered from HBV infection subjects as a control group were enrolled in this study. All the subjects were analyzed for SOCS-1 1478 CA/DEL polymorphism by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

The overall frequencies in chronic hepatitis B were 14 (%40) CA/CA, 21 (%60) CA/DEL and 0 DEL/DEL genotypes. The frequencies for asymptomatic carriers were 18 (%50) CA/CA, 18 (%50) CA/DEL and 0 DEL/DEL genotypes. The frequencies in spontaneously recovered from HBV infection subjects were 24 (%53.3) CA/CA, 19 (%42.2) CA/DEL and 2 (%4.5) DEL/DEL genotypes. These differences between three groups were not statistically significant.

In conclusion in Turkish population, there were no differences in frequencies of SOCS-1 1478 CA/DEL polymorphism and the outcomes of

hepatitis B. In order to achieve exact results studies with larger populations are required for SOCS-1 polymorphisms.

Key Words: Chronic hepatitis B, SOCS-1 CA/DEL 1478, Gene polymorphism.

GİRİŞ

Kronik Hepatit B Virüs Enfeksiyonu

Hepadnaviridea ailesine ait, insanlarda enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahip en küçük DNA virüsü olan Hepatit B virüsü (HBV), etkeninin tanımlandığı 1965 yılından günümüze kadar dünyada halen önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Dünyada yaklaşık 2 milyar kadar kişi HBV ile enfektedir. Karaciğer sirozu ve hepatosellüler karsinomun önde gelen nedenlerinden olan bu virüsü halen dünyada 360 milyon kadar kişi taşımaktadır ve halen her yıl bir milyon kadarı bu enfeksiyona bağlı karaciğer hastalığı nedeniyle ölmektedir. Karaciğer transplantasyonu uygulananların yaklaşık %10-15 'i HBV'ya bağlı olduğu gösterilmiştir (1, 2).

Epidemiyoloji

Hepatit B Virüsü (HBV) akut hepatitin yanı sıra kronik hepatit, karaciğer sirozu ve hepatosellüler karsinoma yol açması nedeniyle tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir halk sağlığı sorunudur. HBV enfeksiyonunun dünyadaki dağılımı coğrafi bölgelere göre %0,1-20 arasında farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar nedeniyle dünya, HBsAg pozitifliği oranı %2 altındaysa düşük, %2 ile %8 arasındaysa orta ve %8 üstündeyse yüksek endemik bölge olarak değerlendirilir (3). Hepatit B virüsü yüzey antijeni (HBsAg) pozitifliği oranı Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Kuzey Avrupa ülkelerinde %0.1-0.2 iken bu oran Afrika ve Uzak doğu'da %10-15 civarındadır (4). Avrupa Birliği ülkelerinde ise bu oranın % 0.2-8 arasında değişmektedir (5). Ülkemizde 1972 yılından günümüze dek donörler, donör dışı normal popülasyon, çocuklar ve risk grupları gibi çeşitli gruplarda HBsAg seroprevalanslarının araştırıldığı çok sayıda çalışma yayınlanmıştır. Bu araştırmalardan elde edilen verilere göre, Türkiye'deki HBsAg taşııcılığı bölgeden bölgeye değişmek üzere %3.9-12.5 olarak belirlenmiştir, ortalama %4-5 civarındadır. Batı bölgelerinde %2-4, Doğu, Güneydoğu Anadolu bölgelerinde %4-8 civarındadır. Güneydoğu Anadolu bölgesinden, özellikle

Diyarbakır ve çevre illerde bu oran genellikle %10'un üzerinde olduğu bildirilmektedir. HBsAg pozitifliği yaşla paralel olarak artmakta ve 12-15 yaşlarında tepe düzeylere ulaşmaktadır. Bu sonuçlara göre Türkiye orta derecede endemik bir bölgede bulunmakta ve Türkiye'de 3.5 milyon civarında taşıyıcı bulunduğunu göstermektedir (6).

Kan donor çalışmaları HBsAg pozitifliğinin ülkemizde yıllar içinde azaldığını göstermektedir. Bu azalmanın donör tarama programlarının iyileştirilmesi, aşılama veya belkide daha önemlisi 1986 den itibaren tek kullanımlık tıbbi malzeme kullanımı ve artan toplum bilinci ile oluştuğu düşünülebilir (7).

Bulaşma Yolları

HBV'nin 4 ana bulaşma şekli vardır

1. Enfekte kan ya da vücut salgıları ile parenteral temas (perkütan).
2. Cinsel temas.
3. Enfekte anneden yeni doğana bulaşma (perinatal–vertikal).
4. Enfekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temas (horizontal).

HBV'nin bulaşmasında mevsim ve yaş faktörleri rol oynamaz. Enfeksiyonun yayılmasında su ve gıdaların önemi yoktur, çünkü fekal-oral yolla HBV bulaşmaz. Oral yolla bulaşma ancak enfekte kanın hasarlanmış oral mukozaya temas etmesiyle gerçekleşebilir. Virüs geçişinde göz ve bütünlüğü bozulmuş deri de önemli rol oynar (8).

Perkütan bulaşma, HBV enfeksiyonunda en önemli bulaşma yollarından biridir. Virüsün perkütan inokülasyonu, kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu, hemodiyaliz, endoskopi, kolonoskopi, solunum cihazı gibi tıbbi aletlerin kullanımı, akupunktur uygulaması, aynı enjektörün farklı bireylerde kullanımı ve dövme yaptırmayla olmaktadır. Virüs insan vücudu dışında yedi günden uzun süre canlı kalabildiği için kanla enfekte jilet, tıraş makinesi, diş fırçasılar da bulaş kaynağı olabilir, günlük eşyaların ortak kullanımı da perkütan bulaşmaya neden olabilir (8).

Kan ve kan ürünleri dışında semen, tükürük, idrar, feçes, ter gözyaşı, vaginal salgılar, sinoviyal sıvılar, beyin omurilik sıvısı ve kordon kanında da virüs varlığı gösterilmiştir (8, 9). Sivrisinek ve tahtakurusu gibi kan emicilerin

pasif olarak virüsü transfer ettikleri bilinmektedir. Ancak HBV bu gibi vektörlerin hücrelerinde replike olmadığından bu durumun epidemiyolojik önemi yoktur (8).

Cinsel temasla bulaşma, genital sekresyonlar kandan daha az virüs içerler. Fakat cinsel temas sırasında mukoza bütünlüğü bozursa kolaylıkla bulaşma olmaktadır. Homoseksüeller arası cinsel temas en riskli yoldur. Akut veya kronik hastaların eşleri, birden fazla heteroseksüel partneri olanlar, hayat kadınları, homoseksüeller bu yolla bulaşmada riskli grubu oluştururlar (8, 10).

Enfekte anneden yeni doğana bulaş (**perinatal-vertikal**): HBV'nün uterus içinde geçişi nadirdir (%2) (11). HBsAg ve HBeAg pozitif anneden geçiş %70-90 iken, HBsAg pozitif fakat HBeAg negatif anneden doğan bebeklerde risk düşük olup bu oran %5-20'dir (11, 12). Annenin taşıyıcı olması dışında, hamileliğin üçüncü trimesteri veya doğum sonrası iki ay içinde geçirilen akut hepatit B'de bu tip bulaşmaya neden olur (11). Anneden çocuğa geçiş doğum sırası veya sonrasında enfekte maternal sıvılarla temas, vajinal kanaldan geçiş sırasında anne kanı yutulması, plasenta hasarı sonucu maternal kanın fetal dolaşıma karışması ile olur. Perinatal bulaşmada eğer anne HBeAg pozitif ise kronikleşme %90, negatif ise kronikleşme %40-70 civarındadır (13). HBV anne sütünde bulunur ancak bebekte enfeksiyona yol açmaz. Ama meme başında çatlak varsa bulaşma olabilir, bu durumda immünizasyonla koruma mümkündür (8).

Enfekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temas (Horizontal) mekanizması tam olarak bilinmese de horizontal bulaşmada perkütan, perinatal ve cinsel temas yoktur. Ülkemizde en yaygın bulaşma şekli horizontal bulaşmadır (6). Horizontal bulaşta aile içi bulaş oldukça önemli olup, bunun yanında bakım evi, anaokulu, kreş, yatılı okul, yurt, hapisane gibi kalabalık ortamlarda yaşam, kötü hijyen ve düşük sosyoekonomik düzey gibi nedenlerle HBV bulaş oranı artmaktadır. Horizontal geçişte cilt lezyonları, diş fırçası, tırnak makası gibi kanla kontamine olabilecek araçlar veya ısırık (tükürük yoluyla) önemli rol oynar. Bununla birlikte, bugün artık

horizontal geçiş için parenteral ve seksüel geçişe göre daha uzun zaman gerektiği bilinmektedir (14).

HBV Genom Yapısı

HBV küçük, zarflı bir DNA virüsüdür ve diğer DNA virüslerinden farklı bazı özellikler taşımaktadır. Viral genom yaklaşık 3200 nükleotitten oluşan oldukça küçük ve kısmen çift ($\approx\%70$), kısmen tek iplikli ($\approx\%30$) çembersel DNA'dan oluşur ve ikozahedral bir kapsid içerisinde bulunur; bunun dışında da üç farklı yüzey antijenini taşıyan lipid yapıllı zarf yer alır. HBV bir DNA virüsü olmasına karşın Revers Transkriptaz (RT) enzimi kodlar ve RNA aracısı üzerinden replike olur. HBV enfekte hücre çekirdeğinde bir minikromozom şeklinde bulunan ve kovalent bağlı çembersel DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA) adı verilen replikasyon ve transkripsiyon aracısı moleküle dayanan karmaşık bir replikasyon stratejisine sahiptir. Zarflı bir virüs olmasına rağmen eter, düşük pH, ısı, dondurma ve çözmeye oldukça dirençlidir. Bu özellikler virüsün kişiden kişiye geçişteki etkinliğine katkıda bulunur ve dezenfektan direncini sağlar (15,16).

HBV genotipleri; tüm genom dizisinde $\%8$ 'i; S geninde ise $\%4$ 'ü aşan farklılık taşıyan varyantlar olarak tanımlanır. Buna göre HBV genomu A'dan H'ye 8 majör genotip oluşturmaktadır. Bunun dışında HBs antijeninin yapısal farklılıklarına göre HBV serotipleri de tanımlanmıştır. Ortak "a" determinantı taşıyan HBV serotipleri günümüzde 9 grupta incelenmektedir. S geninin dizi analizi hem genotipleri hem serotipleri tanımlayabilmesine karşın, genotipler ve serotipler tam olarak birbiri ile örtüşmemekte, serotip benzerlikleri genetik ilişkiyi doğrulamamaktadır.

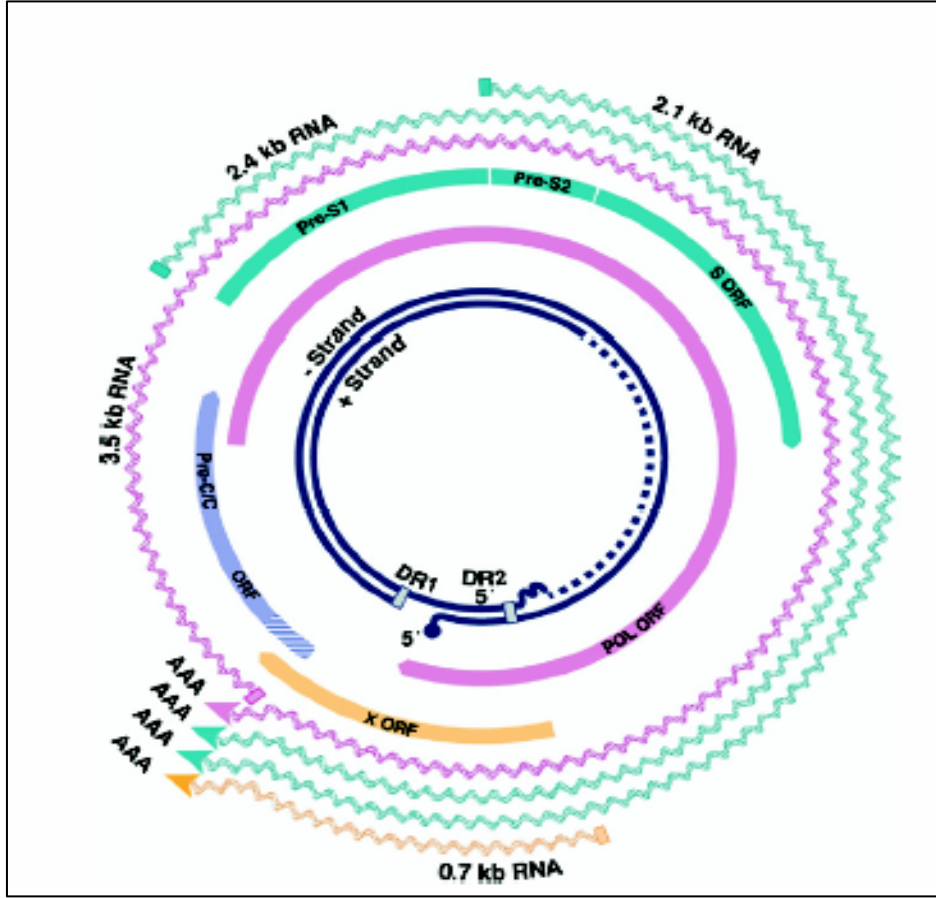
Virüsün coğrafi dağılımı ile genotiplerin serotipe göre daha uyumlu olduğu ve moleküler epidemiyolojik çalışmalar için genotiplerin kullanımının daha yararlı olduğu belirlenmiştir. Farklı genotiplerle ko-infeksiyon ve genotipler arası rekombinasyon olasılığı da çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (17, 18).

HBV genomu dört açık okuma çerçevesi (open reading frame, ORF) oluşturacak şekilde organize olmuştur. Bunlardan en büyüğü olan *Po1*, viral

polimerazı kodlar. Zarf yapılarına ait ORF da *Pol* ORF'si içinde yer alır. Özyapı (core, C) ve X ORF'leri de zarf ORF'si ile kısmi olarak üst üste binmiş şekilde bulunur. cccDNA yapısı tüm viral transkriptler için kaynak oluşturur ve virusa ait 3.5- (pre-genomik RNA), 2.4, 2.1 ve 0.7-kb'lik mRNA'lar cccDNA kalıp alınarak sentezlenir. Viral RNA'ların ekspresyonu sırasıyla enhancer II / bazal core, büyük yüzey antijeni (L) ve majör yüzey antijeni (S) ve enhancer I / X geni promotorları tarafından kontrol edilir (19).

HBV zarf proteinleri, karboksi terminalinde yer alan 225 aminoasitleri ortak olan küçük HBs antijeni (SHBs Ag; p24 ve gp27), orta HBs antijeni (MHBs Ag; gp33 ve gp36) ve büyük HBs antijeni (LHBs Ag; p39 ve gp42)'den meydana gelmektedir. Her üç zarf proteini, S domaininde yer alan sistein grupları arasında oluşan disülfid bağlarıyla stabilize edilen glikozile, tip 2 transmembran proteini özelliği gösterir. 42 nm'lik enfeksiyöz Dane partiküllerinde her üç bileşen de yer alır. HBV genomunun yapısı Şekil-1'de gösterilmiştir (20).

L ve M antijenleri, yaklaşık eşit miktarlarda bulunur ve birlikte virion zarfındaki proteinlerin %30'unu meydana getirir. S antijeni ise virion zarfının ana proteini şeklinde karşımıza çıkar. HBV yüzey antijenleri enfekte hücrelerden enfektif virion miktarının yaklaşık 100 katı oranında salınan, non-enfektif filamentöz ve sferik yüzey antijeni partiküllerinin de yapısını oluştururlar. Bu sferik ve filamentöz partiküller, enfekte kişilerin plazmasında mililitrede birkaç yüz mikrogram düzeylerinde bulunabilmekte ve partiküllerin antikorlarıyla oluşturduğu komplekslerin HBV ile enfekte kişilerde izlenen immün kompleks reaksiyonlarından sorumlu olduğu bilinmektedir (15, 21, 22).



Şekil-1: HBV genomunun yapısı (20).

Viral özyapı (core) ve polimeraz gen ürünleri, kapsid proteinlerinden (HBcAg) nükleokapsid oluşumu ve viral DNA replikasyonunda görev alır. Core proteinlerinin subviral ikozahedral partikülleri meydana getirmesi için; protein ünitelerinin disülfid bağları ile stabilize edilerek dimerleşmesi ve dimerlerin bir çekirdek yapı oluşturması gereklidir. Viral polimeraz polipeptidi de amino ve karboksi terminallerinde yer alan iki domainin bir bağlantı bölgesi (spacer) ile ayrılması şeklinde sentezlenmektedir. Polimerazın terminal protein adı da verilen amino terminali, pre genomik RNA'nın paketlenmesi ve DNA sentezi için priming görevini üstlenirken; karboksi terminali ise revers transkriptaz ve RNaz H aktivitesinden sorumludur.

Hepadnavirüs polimerazları enzimatik aktiviteleri için çeşitli hücrel faktörlere ihtiyaç göstermektedir (15, 23, 25). HBe antijeni (HBeAg) pre-

core/core bölgesinden sentezlenen ürünün proteolizi ile meydana getirilir. HBeAg'in ilk bölümü molekülün endoplazmik retikulum lümenine taşınması için bir sinyal peptidi görevini yaparken, karboksi terminalinden 29 aminoasidin golgi aygıtında çıkarılması sonrasında olgunlaşan HBeAg kana salınır. HBx proteini ise 14 indirekt etkiyle viral ve bazı hücrel genlerin transkripsiyonunu arttırabilme özelliği taşır (15, 24, 25).

HBV Genotipleri

HBV yapısal proteinlerindeki aminoasit varyasyonlarına göre dokuz farklı subtip ayrılmaktadır. Subtipler özellikle HBsAg'deki antijenik determinantlara göre sınıflandırılmaktadır. Bütün HBV izolatlarında HBsAg'nin 124-147'nci aminoasitleri arasında ve birkaç epitopun konformasyonu ile oluşmuş majör immunojenik bölge bulunmaktadır. Diğer iki majör subtip ise d/y ve r/w determinantlarıdır. d/y HBsAg'nin 122 nci r/w ise 160 ıncı aminoasitin epitoplarında karşılıklı olarak bulunmaktadır (26, 27). Sentez sırasında 519 uncu nükleotiddeki değişime bağlı olarak HBsAg'nin 122 nci aminoasitinde bulunan lizinin arginin ile yer değiştirmesi durumunda "d" determinanti "γ" determinantına dönüşmektedir. Aynı şekilde 633 üncü nükleotidin sorumlu olduğu 163 üncü aminoasitdeki lizinin arginin ile yer değiştirmesi durumunda "w" determinanti "r" ye dönüşmektedir (26).

Majör subtiplerdeki belirlenen dört kombinasyonun yanı sıra aminoasitlerdeki immunojenik farklılıklar ile 10 farklı serotipi tanımlanmıştır. HBV'nun, her birinin birbirinden %8'den çok nükleotid farklılığı gösterdiği A'dan H'ye sekiz genotipi vardır. Her bir genotip içindeki varyant, aynı genotip içindeki bir başka varyantdan en fazla %8 oranında farklılık gösterir (28). HBV genotipleri farklı coğrafik dağılım göstermektedir (26).

Epidemiyolojik çalışmalarda genotip A Batı Avrupa ve Kuzey Amerika'da, genotip B Kuzey ve Güneydoğu Asya'da, genotip C Asya ve Pasifik'de, genotip D Güney Avrupa (Akdeniz ülkeleri ve Orta Doğu), genotip E Afrika, genotip F Güney Amerika ve Alaska, genotip G bazı Avrupa şehirleri ve Kuzey Amerika, genotip H ise Orta Amerika'da olduğu belirtilmiştir. Ülkemizde diğer Akdeniz çevresi ülkelerde olduğu gibi genotip D ile enfeksiyon hakimdir (29, 30). Serolojik subtip ise ayw'dur.

Ayrıca son yıllarda yapılan araştırmalarda viral genotipler ile enfeksiyonun klinik özelliklerindeki farklılıklar arasında ilişkisi olduğu belirtilmiştir. Örneğin genotip C'nin (%60) Hepatosellüler karsinoma (HSK) oluşturma olasılığının genotip B'den (%38) daha fazla olduğu belirlenmiştir (27,29).

Viral Replikasyon

HBV'nin insan hepatositlerine tutunma ve giris için kullandığı yüzey molekülleri henüz kesin olarak bilinmemektedir. Ancak LHBs Ag'nin amino terminalinde bulunan pre-S1 bölgesinin hedef hücreye tutunmada en önemli göreve sahip epitoplari içerdii saptanmiştır. Ayrıca HBV zarf proteinlerini bağlayan çeşitli hücreyel ligandlar da tesbit edilmiştir. Hücreye tutunmada etkin görevi üstlenen pre-S1 bölgesinde tutunma aktivitesinden sorumlu kısım 21-47 aminoasitler olarak tanımlanmiş, bu bölgenin virüsün Hep G2 tutunması için gerekli ve yeterli olduğu saptanmiştir. Daha sonra yapılan mutageniz çalışmalarımda ise bu epitop içerisinde yer alan ve hücreye tutunmada kritik rol oynayan QLDPAF dizisi tanımlanmiştir. QLDPAF dizisinin birçok viral, bakteriyel ve hücreyel proteinlerde bulunan bir epitop olması, ayrıca bu ve benzeri dizileri taşıyan proteinlerin hücreye tutunma ve membran füzyonu olaylarında görev alması; birçok mikroorganizma tarafından hedef hücrelere bağlanmak için benzer moleküllerin kullanıldığını işaret etmektedir.

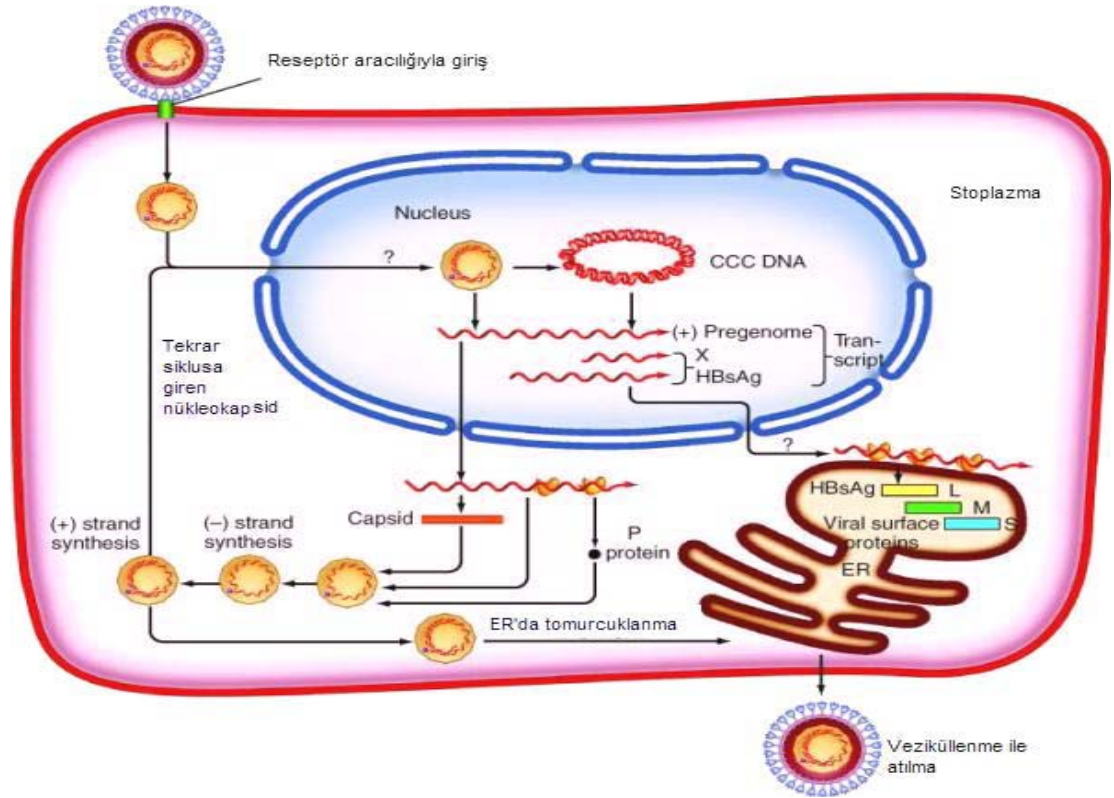
HBV'nin organ ve doku özgülüğünün belirlenmesinde QLDPAF dizisi dışında yer alan pre-S1 kısımlarının etkili olduğu bilinmektedir. Diğer ilginç bir nokta ise oldukça iyi korunmuş bir viral protein olan X proteininin de amino terminalinde benzer QLDPAR dizisi taşımasıdır. Bu bölgenin pre-S1 tutunma bölgesi ile olan benzerliği, proteininin de hücreye tutunmada rol oynaması olasılığını akla getirmektedir. Viral pre-S1 bölgesi hücreye tutunma için ana epitoplari taşısa da, tutunma basamağında pre-S1 dışında ikinci bir epitopun da rolü olduğu saptanmiştir. Laboratuarda hazırlanan çeşitli partiküllerin hepatositlere tutunma etkinliği açısından karşılaştırıldığında, virüsün hepatositlere tutunması ve hücreye girişi sürecinde birçok epitopun farklı düzeylerde rol oynadığı ve tüm yüzey

antijeni yapılarına sahip parçacıkların en yüksek aktiviteyi gösterdiği saptanmıştır. Tutunma sonrasında virüs zarfı ve hücre membranı arasında füzyon meydana gelir ve nükleokapsid sitoplazmaya salınır. Kapsidin parçalanması ile viral genomik DNA ve polimeraz çekirdeğe taşınır (31-33).

HBV virionları baskın olarak tüm negatif iplik ve kısmi olarak tamamlanmış pozitif iplikli çembersel DNA genomu (relaxed circular DNA, rcDNA) taşır. In situ priming mekanizması ile oluşmuş az miktarda lineer DNA'da HBV virionlarında yer alabilmektedir. Replikasyon döngüsünün başlangıcı ile iki form da cccDNA'ya dönüştürülür. Bu basamak viral genom replikasyonunun ilk ve en önemli aşamasıdır. cccDNA oluşumunun enfekte hepatositlerde virüs inokülasyonundan sonraki ilk 24 saatte meydana geldiği saptanmıştır. cccDNA yapısının oluşması için negatif DNA ipliğine kovalent olarak bağlanmış olan RT enzimi yerinden ayrılmakta, pozitif iplikçik tamamlanmakta ve her iki DNA molekülü birbirine ligasyon reaksiyonu ile bağlanmaktadır. Bu aşamalarda hücresel DNA tamir enzimleri ile viral RT enziminin birlikte rol aldığına, ayrıca virüs özyapısının çekirdeğe taşınmasında Core ve RT proteinlerinin etkili olduğuna işaret eden veriler bulunmaktadır. cccDNA HBV'nin hepatositlerde persistansında etkili olan moleküldür ve virüsün antiviral tedavi sonrasında izlenen reaktivasyonlarından sorumludur. cccDNA molekülünün meydana gelişi viral DNA'nın nükleer membrandan transportu ile çekirdeğe ulaşması sonrasında virüsa ait transkripsiyonlar hücresel RNA polimerazlar tarafından başlatılmaktadır. Viral RNA'lardan virüsa ait proteinler; nükleokapsi proteini ya da HBcAg (3.5 kb RNA'dan), HBe antijeni (3.5 kb RNA'dan), viral polimeraz (3.5 kb RNA'dan), zarf proteinleri (2.4 ve 2.1 kb RNA'dan) ve X proteini (0.7 kb RNA'dan) sentezlenir. Viral transkriptlerin oluşmasında hücreye ait transkripsiyon faktörleri de rol oynamaktadır. Nükleokapsid ve polimeraz proteinlerinin sentezlendiği 3.5 kb RNA, viral genomik DNA için kalıp olan pregenomik RNA olarak da replikasyonda görev alır (34).

Viral genomik DNA'nın sentezi için RT pre-genomik RNA'nın 5' ucuna bağlanır ve bu kompleks nükleokapsid içine paketlenir; böylece nükleokapsid içinde revers transkripsiyon ve viral DNA'nın sentezi başlar.

Burada viral RT'nin kendisi primer görevi yaparak DNA sentezini başlatır. Negatif iplikli DNA oluştuktan sonra RT enzimi RNaz H aktivitesi ile pregenomik RNA'yı parçalar ve pozitif iplikli sentezine başlar. Kısmi çift iplikli DNA molekülü oluştuğunda nükleokapsid partikülleri, endoplazmik retikuluma tomurcuklanma ile zarf yapılarını kazanmalarına imkân sağlayacak olgunlaşma sürecine girerler. Oluşan nükleokapsidlerin bir kısmı, hücre çekirdeğine geri dönerek hücre içindeki cccDNA kopya havuzunu artırma işlevi yapabilmektedir. Core proteinlerinin LHBs Ag amino terminali kısmına bağlanmaları partiküllerin endoplazmik retikulundan tomurcuklanmasına neden olur. Her üç zarf proteinlerini içeren virionlar endoplazmik retikulum'dan golgi kompleksine taşınır. Bu aşamalar sırasında zarf proteinlerinin glikozilasyonu tamamlanır ve olgun virion kan dolaşımına salınır (33, 34). HBV replikasyonu Şekil-2'de şematik olarak verilmektedir.



Şekil-2: HBV'nin yaşam ve replikasyon döngüsü (35).

İmmünopatogenez

Kronik HBV enfeksiyonlarında meydana gelen karaciğer hasarı çoğu kez immün sistem ve HBV ile enfekte hepatositlerin etkileşimine bağlıdır (36). İnterferon alfa, beta, gama; tümör nekrozis faktör (TNF)-alfa gibi antiviral sitokinler virüsün temizlenmesinde önemli rol oynarken, enfekte hepatositlerin sitotoksik T lenfositlerince ortadan kaldırılması, hem virüsün temizlenmesine hem de süregelen karaciğer hasarına katkıda bulunur. Akut, kendi kendini sınırlayan HBV enfeksiyonu izlenen kişilerde; birçok viral epitopa karşı poliklonal ve multispesifik mononükleer hücre aktivasyonu görülmektedir.

Bu yanıtta MHC sınıf II bağımlı CD4+ yardımcı T lenfositleri ve CD8+ sitotoksik T lenfositleri rol oynamaktadır. Akut enfeksiyonda, tip I CD4+ T hücre yanıtı daha baskın gözlenmektedir (36, 37). Kronik HBV enfeksiyonu durumunda ise sitotoksik T lenfosit yanıtı genellikle düşük düzeydedir. Kronik B hepatiti izlenen kişilerde IL-4, IL-5, IL-10 salgılanması ile karakterize tip 2 yardımcı T lenfosit yanıtı fazla olmakta, sonuç olarak humoral yanıtı yönlendirilmiş bir bağışıklık söz konusu olmaktadır. İntrahepatik yerleşim gösteren, HBV spesifik sitotoksik T lenfositleri kronik enfeksiyonlarda da saptanmakta ve enfeksiyonun alevlenmelerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Buna karşın kronik B hepatitinde, hücre sel sitotoksik yanıt virüsü temizlemekte yetersiz kalmaktadır (38, 39).

HBV'nin, konaktan temizlenmesinde, adaptif bağışık yanıt kadar doğal bağışıklık mekanizmaları da önem taşımaktadır. Doğal bağışıklık mekanizmalarının aktivasyonu, HBV enfeksiyonunun ilk dönemlerinde gerçekleşir. Virüs replikasyonundaki baskılanma, tipik olarak T lenfositlerin en yüksek düzeyde infiltrasyonu ve karaciğer hasarının başlamasından daha önce gerçekleşmektedir. Bu veriler, doğal bağışıklığın, enfekte kişilerdeki viral replikasyonun baskılanmasındaki önemi ve virüsa karşı immün yanıtındaki rolüne dikkati çekmektedir (36, 40).

Virüsün persistansı veya temizlenmesinde konağın immün cevabı anahtar role sahiptir. Çünkü poliklonal sitotoksik T lenfositlerin cevabı virüsün temizlenmesi ile yakından ilişkilidir (41). Bu immün cevap genetik

olarak belirlenir ve bu cevapta sitokinler, SOCS ailesi önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu molekülleri kodlayan genler, insan genomundaki en polimorfik moleküllerdir ve hepatit B enfeksiyonunun seyrinde etkilidir.

Hepatit B Virus Enfeksiyonunda Klinik

Akut enfeksiyonun seyri inkübasyon dönemi, preikterik dönem, ikterik dönem ve konvelasan dönem olmak üzere dört kategoride incelenebilir (42). Akut hepatit B enfeksiyonunun inkübasyon dönemi 4-28 hafta olarak belirlenmiştir, fakat çoğu vakada bu aralık 60-180 gündür. HBV enfeksiyonunun 4 yaşın altındaki çocuklarda %90, 30 yaşın üzerindeki yetişkinlerde ise 2/3 oranında asemptomatik geçirildiği bildirilmektedir (43). Akut HBV enfeksiyonuna özgül, diğer akut viral hepatit sebeplerinden ayrımı sağlayan klinik bulgu yoktur (44).

Semptomatik akut hepatit B hafif ve anikterik veya daha ciddi ve ikterle birlikte olabilir. Sklerada ikter, serum bilirubin düzeyi %2.5-3 mg üstünde olunca gerçekleşir. Bulantı, kusma, grip benzeri şikayetler, halsizlik ve yorgunluk, sağ üst kadranda ağrı en belirgin semptomlar arasındadır (45). Preikterik dönemdeki bu semptomlar genellikle 3-10 gün sürer. Bu dönemde ayrıca iştahsızlığa eşlik eden yemek ve sigara tiksintisi hepatiti akla getirecek semptomlar arasındadır. Sarılığın başlaması ve koyu idrar çıkması ile ikterik dönem başlar. Hastaların bir kısmında birkaç gün süren hafif kaşıntı oluşur, nadiren kaşıntı uzayabilir, idrar koyu, dışkı açık veya çamur rengindedir. Sarılığın süresi genellikle 1-3 hafta sürer, nadiren 4 haftayı geçer (42,43). Fizik muayenede, minimal nonspesifik bulgulara rastlanabileceği gibi, sarılık ve genellikle hassasiyetin de eşlik ettiği hepatomegali (%10), splenomegali (%5) ve lenfadenopati (%5) saptanabilir.

Akut ve kronik hepatit B seyri esnasında glomerülonefrit, mikst kriyoglobulinemi, agamaglobulinemi, raynoud fenomeni, büllöz formasyon, guillian barre sendromu, poliarteritis nodosa gibi genellikle immun kompleks fenomenini yansıtan ekstrahepatik bulgulara da rastlanabilir (46). Akut hepatit B kliniğinde görülebilen uzamış klinik seyrinde, hafif semptomlar, anormal fizik ve laboratuvar bulgularını içeren hastalık süresi, 3-4 aydan 12

aya kadar sürebilir. Uzamış klinik seyir olağan seyir olabileceği gibi, hepatit D virusu ile koenfeksiyon veya kronikleşme hatırd tutulmalıdır.

Akut hepatit B'nin seyrinde bir diğer olası durum fulminan hepatittir. Fulminan hepatit, karaciğer yetmezliğinin ve ensefalopatinin eşlik ettiği ciddi bir formudur. Bu vakalarda mortalite çok yüksektir. İkter başladıktan genellikle 2 hafta içerisinde veya semptomları takiben ilk 8 hafta içerisinde gelişen hepatik ensefalopati, fulminan gidişin ilk bulgusu olabilir. Uykuya meyil, dalgınlık hali ve komaya kadar gidebilen bilinç değişiklikleri, fizik muayenede flapping tremor, karaciğerde küçülme, serum transaminazlarında ani azalma, oligüri, azotemi ve asit önemli bulgulardır. Ayrıca ateş, lökositoz ve hemorajiler ortaya çıkabilir (42, 43, 46). Kronik hepatit B sıklıkla sessiz bir hastalıktır. Teşhis genellikle donör olarak kan verme esnasında veya rutin kan taraması sırasında HBsAg pozitif bulunduğu ve serum transaminazlarında orta derecede yükseklik tespit edildiği zaman konabilir. En önemli semptom yorgunluktur. Diğer semptomlar bulantı, üst abdominal ağrı, kas ve eklem ağrıları şeklindedir. Ayrıca hastalarda anksiyete başta olmak üzere bir takım psikiyatrik semptomlar, endişe hali, düşüncelerini yoğunlaştıramama, uykusuzluk ve depresyon görülebilir (47).

Kronik hepatit B enfeksiyonunda dolaşımda HBsAg ve Anti-HBs kompleksleri, damar duvarında kriyoproteinler ve HBsAg demonstre edilebilir. Poliarteritis nodosa, vaskülitik döküntü, glomerülonefrit, ateş, poliartralji gibi ekstrahepatik hastalıklar görülebilir (42, 43).

Kronik Hepatit B Enfeksiyonunun seyri dört faza ayrılabilir:

Birinci faz (İmmüntolerans dönemi): HBV'ye karşı bir immüntolerans söz konusudur. Özellikle HBV enfeksiyonunu perinatal yolla alanlarda ve ayrıca erken çocukluk döneminde (<10 yaş) horizontal yolla alanlarda belirgin olarak görülmektedir. Çocukluk ve erişkin dönemde alınan HBV enfeksiyonlarında immüntolerans fazı kısa sürelidir veya yoktur. HBsAg, HBeAg pozitifliği, yüksek HBV DNA düzeyi ve düşük karaciğer hasarı ile karakterizedir. Bu faz genellikle 10-30 yıl kadar sürer, bu süre

boyunca spontan HBeAg kaybı oranı çok düşük olur: ilk 3 yılda %2, 20 yıldan sonra ise sadece %15'dir (48, 49).

İkinci faz (İmmün klirens/HBeAg pozitif Kronik Hepatit B): Geç çocukluk (10-18) yaş, adolesan ve genç erişkin döneminde alınan akut HBV enfeksiyonları iyileşmeyip kronikleştiğinde HBeAg pozitif kronik hepatit B tablosunu oluşturmaktadır. Ayrıca perinatal yolla alınan HBV enfeksiyonu, uzun süreli immüntolerans döneminden sonra üçüncü dördüncü dekadlarda HBeAg pozitif kronik hepatit B'ye dönüşebilmektedir (48). Sürekli antijen ekspresyonu nedeniyle oluşan immün yanıtı bağlı fazlaca ve devamlı hepatosit harabiyeti olmaya başlar. Karaciğerde belirgin inflamasyon vardır. Bu dönem ne kadar uzun sürerse kronik aktif hepatite ve siroza gidiş riski ve hızı artar (49). Bu faz HBeAg pozitifliği, yüksek veya dalgalanan serum HBV DNA düzeyleri, persistan veya intermittant alanin aminotransferaz (ALT) yükselmeleri ve de karaciğer biyopsisinde aktif inflamasyonla karakterizedir (48).

Bu dönemin önemli bir sonucu HBeAg serokonversiyonudur. HBeAg kaybolması genellikle transaminazlarda görülen alevlenmeler ile olur. Yüksek transaminaz düzeylerinin, konak immün yanıtının ciddi ve dolaylı bir göstergesi olduğuna inanılmaktadır. Tetikleyen ya viral yükteki bir artış ya da viral antijenlerin sunumundaki değişikliktir. HBeAg serokonversiyonu olan olguların çoğunluğunda inaktif HBsAg taşıyıcılığına dönüşmektedir. Alevlenmeler, erkeklerde kadınlardan daha sık olur. Tüm alevlenmeler HBeAg serokonversiyonu ve serumda HBV DNA kaybı ile sonlanmaz ve tekrarlayan nekroinflamasyon atakları siroz ve hepatosellüler kanser gelişme riskini arttırır. Bu dönemde yıllık spontan HBeAg serokonversiyonu oranı %8-15'dir. HBeAg serokonversiyonu olan olguların yaklaşık %5'inde ise HBeAg negatif kronik hepatit B olguları gelişmektedir. Bu olguların ALT düzeyleri sürekli yüksek veya dalgalanmalar halinde seyretmektedir (49, 50).

Üçüncü faz (İnaktif HBsAg taşıyıcılığı): HBeAg negatif, anti-HBe pozitif, ALT normal ve HBV DNA negatif veya düşük düzeyde pozitiftir. Bazı vakalarda HBsAg pozitif kalmasına rağmen virus replikasyonu durmuştur. Karaciğerde nekroinflamatuvar aktivite azalmıştır. Bu hastaların bazılarında

HBsAg de negatifleşir. Kronik HBV enfeksiyonunda HBsAg negatifleşme oranı yılda %0.5-2'dir (48,49).

Dördüncü faz (HBV replikasyonunun reaktivasyonu/HBeAg negatif kronik hepatit B): Bu faz anti-HBe pozitifliği, saptanabilir HBV DNA düzeyleri ve devam eden nekroinflamasyonla karakterizedir. İnaktif HBsAg taşıyıcılarının reaktivasyonu sonucu veya HBeAg pozitif kronik hepatit B'den HBeAg negatif kronik hepatit B oluşumuyla gerçekleşmektedir. Aynı zamanda anti-HBe pozitif veya mutant HBV olarak da isimlendirilmektedir. %10-30 olguda HBeAg serokonversiyonuna rağmen HBV DNA düzeyinde yükselme ve karaciğer hastalığında yükselme görülür. Bu durum sıklıkla HBeAg eksprese edemeyen HBV varyantlarının seçilmesiyle oluşur. HBeAg negatif kronik hepatitlerde spontan remisyon olasılığı düşüktür (50). Serum HBV DNA düzeyleri HBeAg pozitif hastalardan daha düşüktür ve ALT seviyelerinde dalgalanmalar gözlenir. Bu hastaların yaklaşık %30'unda başvuru sırasında normal ALT seviyeleri olabilir, bu nedenle inaktif HBsAg taşıyıcılarından ayırımının yapılması gerekir (51,52).

İnsan DNA'sının Özellikleri ve İşlevleri

İnsan genomu 3 milyar baz çifti taşımaktadır. DNA molekülünde bu bazlar, 5 karbonlu bir şeker olan deoksiriboz ve fosfat grubu ile, şeker fosfat moleküllerinin iskelet kuruluşunda nükleotid molekülleri birimleri halinde dizilirler. Yaklaşık iki metre uzunluğundaki DNA 46 kromozom şeklinde paketlenerek hücre bölünmesiyle yavru hücrelere aktarılır.

DNA'da bilginin şifrenmesi 4 nükleotid ile yapılmaktadır. Bu nükleotidlerin farklılığı içerdikleri bazların farklılığından kaynaklanmaktadır. Adenin ve guanin pürin; sitozin ve timin pirimidin bazlarıdır (A, G, C, T). Şekerin 5' karbonuna trifosfat, 1' karbonuna da baz bağlıdır. DNA'da nükleotidlerin dizilimi fosfat grubunun bir sonraki nükleotide 3' karbonundan bağlanması şeklindedir ve karşısında ters paralel uzanan diğer dal ile bazlar arasındaki hidrojen bağları ile oluşur. Bu şekilde DNA molekülünün fosfodiester bağları ile oluşmuş sağa dönüşümlü A-helikal yapısı oluşur. Bu

yapıda fosfat grupları sulu dış yüzeyde, hidrofobik bazlar ise molekülün iç kısmında yer alırlar. Molekülün bir dönüşümü 10 nükleotid içerir. DNA dallarının kopyası daima 5'→3' yönünde, RNA sentezi (transkripsiyon) ise 3'→5' yönünde gerçekleşir. Molekül yapısında bilgi şifresi olarak kullanılacak tek değişken bazlardır. Şeker-fosfat zinciri aynı şekilde tekrarlar.

Kalitsal Maddenin Organizasyonu

İnsanda diploid kromozom sayısı 46 olup, bunlardan iki tanesi X ve Y olarak adlandırılan **gonozom**lardır. Diğer kromozomlar **otozom** olarak anılmaktadır. Kromozomlar anne ve babadan mayoz bölünme sonucu serbest dağılan 23 kromozomluk takımlar halinde gamet hücreleri ile gelirler. Her kromozom çiftler halinde bulunurken üzerlerinde taşıdıkları genlerin yerleri sabittir. Herhangi bir genin kromozom üzerinde bulunduğu özel noktaya **lokus** adı verilir. Genlerde aynı karakteristik özelliği kodlayan, fakat farklı kodlar taşıdığı için farklı özelliklerin ortaya çıkmasını sağlayan genlerden her birine ise **alel** denilmektedir.

Erkeklerde X ve Y üzerindeki hariç her gen çiftler (aleller) halinde bulunur. Genler potansiyel olarak ürün veren aktif bölgelerdir. Ancak oluşan ürünle DNA üzerinde yer alan nükleotid dizilimleri arasında bire bir ilişki yoktur. Genomun %10 kadarı ürün kodlayan bölgeler (exon) iken, kodlama yapmayan intron'larla gen kesintiye uğrar.

Gen Mutasyonları

DNA üzerinde yer alan genlerdeki yapı veya diziliş değişiklikleridir. Bütün bir gen ya da genin bir bölümünün değişikliği uzunluk mutasyonu olarak adlandırılır. Bunun dışında tek bir bazda da değişim olasıdır. Bunlara nokta mutasyonu denir.

1. Uzunluk Mutasyonları

Bir bölgenin delesyonu (kayıbı), duplikasyonu (iki kopya çıkması) ya da insersiyonu (katılması) şeklinde olabilir. Mitozda kardeş kromatidler arasında ya da mayozda homolog kromozomlar arasındaki yanlış eşleşme sonucu meydana gelen eşit olmayan "cross-over" uzunluk mutasyonlarının en sık nedenidir. Böyle bir parça değişimi sonucu, eşleşen iki DNA

molekülünden bir tanesinde kayıp olurken, diğer molekülde aynı bölgenin duplikasyonu oluşmaktadır.

Diğer önemli bir mekanizma da gen dönüşümüdür. Mayozda homolog maternal ve paternal kromozomlar arasındaki cross-overlar heterodupleksler (iki farklı zincirin oluşturduğu çifte sarmal) oluştururlar. Maternal ve paternal DNA dizileri arasında bazı farklılıklar olduğunda heterodupleks yapılar yanlış eşleşmiş bazlar da içerebilir. Gen dönüşümü, DNA onarım mekanizmasının bu yanlış eşleşmeleri düzeltmesi esnasında örneğin, paternal dal üzerindeki bazı dizileri çıkarıp yerine maternal daldan dizileri kalıp alarak (ya da tam tersi) onarması ile oluşur. Burada cross-over sonrası değişime giren parçalardan birisinin tamamen kaybı, buna karşın bir ebeveyn kökenli alelinin her iki molekülde bulunması söz konusudur.

Bir ya da birkaç nükleotidin DNA'ya katılmasına **insersiyon** adı verilir. Eğer katılan baz sayısı 3 ise tek kodon ve tek aminoasit değişikliğine yol açar. Aminoasidin protein içindeki yerine bağlı olarak çok ciddi sonuçlara yol açmayabilir. Ancak bir ya da iki baz katılımı, değişimin olduğu noktadan itibaren kodonların kaymasına ve tüm protein yapısının değişmesine yol açacağından çok daha ciddi sonuçlar doğurmaktadır. Böyle kodon kaymasına neden olan değişimlere çerçeve kayması değişimler denilmektedir.

Bir ya da birkaç nükleotidin kaybolmasına **delesyon** adı verilir. Aynı insersiyondaki gibi bir ve iki bazın delesyonları da çerçeve kayması değişimlere yol açar.

2. Nokta Mutasyonları

DNA molekülü üzerindeki tek bir bazın değişimidir. Bu tür değişimlerin etkileri çok çeşitli olabilir. DNA molekülü içinde bir bazın yerine başka bir bazın gelmesine **baz değişimi** denir. İlk replikasyondan sonra baz çifti değişimi ile sonuçlanır. Transisyon ve transversiyon adı verilen iki farklı mekanizma ile gerçekleşir.

Ortam PH'sındaki değişiklikler, bazların keto formundan enol formuna ya da amino formundan imino formuna dönüşmesine yola açar. Bu durumda farklı eşleşmeler olur. Örneğin G'deki değişiklik sonucu G-C yerine G-T

eşleşmesi olur. Bunu izleyen replikasyonda timin karşısına adenin geleceğinden o bölgede G-C çifti yerine A-T çifti yerleşmiş olur. Böylece, bir primidin yerine diğer bir primidin ve bir pürin yerine diğer bir pürin gelmiş olur. Bu değişime transisyon adı verilir.

Pürin yerine primidin ve primidin yerine pürin geçmesi ile oluşan değişikliğe ise transversiyon denir. Normal koşullarda keto durumunda olan timin, amino durumundaki adenin ile eşleşir (T-A çifti). Enol formuna geçen timin diğer bir timin ile eşleşebilir. Böylece T-T eşleşmesi ile girilen replikasyondan sonra bağı oluşturan timinlerden keto formda olanının karşısına adenin gelecektir (A-T çifti). Bunun sonunda T-A çifti A-T çifti ile yer değiştirmiş olur. Bu tür değişimler DNA'nın üç boyutlu yapısında değişiklik yapmadıkları için onarım sistemlerinin gözetiminden kaçarak kalıcı hale geçebilirler.

Mutasyonların Fenotipe Etkileri

Oluşan değişimlerin fenotipe etkileri değişimin tipine ve yerine bağlı olarak farklılık gösterirler. Fenotipe olan etkilerine göre değişimler şu şekilde özetlenebilir.

1. Letal Değişimler

Varlıkları yaşama bağdaşmayan değişimlerdir. Yaşamsal fonksiyonları ilgilendirirler. DNA polimeraz ya da onarım enzimlerini kodlayan genlerin değişimleri letal değişimlerdir.

2. Morfolojiyi Değiştiren Değişimler

Bireyin dış görünüşünü değiştiren değişimlerdir. Albinizm, gen defekti ile oluşan bir hastalıktır ve morfolojik değişiklik yaratır.

3. Biyokimyasal Reaksiyonları Değiştiren Değişimler

Morfolojide belirgin bir değişiklik yaratmaksızın, biyokimyasal yollarda bozukluklara yol açarlar. Metabolizma hastalıklarının çoğu bu şekilde oluşurlar.

4. Sessiz Değişimler

DNA üzerindeki her değişim bir fonksiyon bozukluğuna yol açmaz. Fonksiyonlarda herhangi bir bozukluk yaratmayan değişimlere sessiz değişimler denir. **Polimorfizme** neden oldukları kabul edilir.

- Baz değişimi ile oluşan yeni kodon eskisi ile aynı aminosidi kodluyorsa,
- Bir değişimin etkisini diğer bir değişim ortadan kaldırıyorsa,
- Daha önceden oluşan bir değişiklik yeni bir değişikle normale döndürölmüşse,
- Değişiklik kodlanmayan dizilerde ise,
- Değişiklik sonucu proteine yanlış olarak giren aminoasit proteinin aktif bölgesinde değilse ve proteinin üç boyutlu yapısını, fonksiyonunu etkileyecek şekilde değiştirmiyorsa, bu tür değişimler sessiz değişimlerdir.

Polimorfik DNA Bölgeleri

Bireyden bireye farklılık gösterip tüm kalıtım kurallarına uyan dizilerdir. Bu şekilde oluşmuş genotipik farklılık bir değişimle beraber meydana gelmekle birlikte, bir hastalık fenotipinden sorumlu değildir.

Sitokin Sinyal Süpresörleri

Sitokin Sinyal İletisi

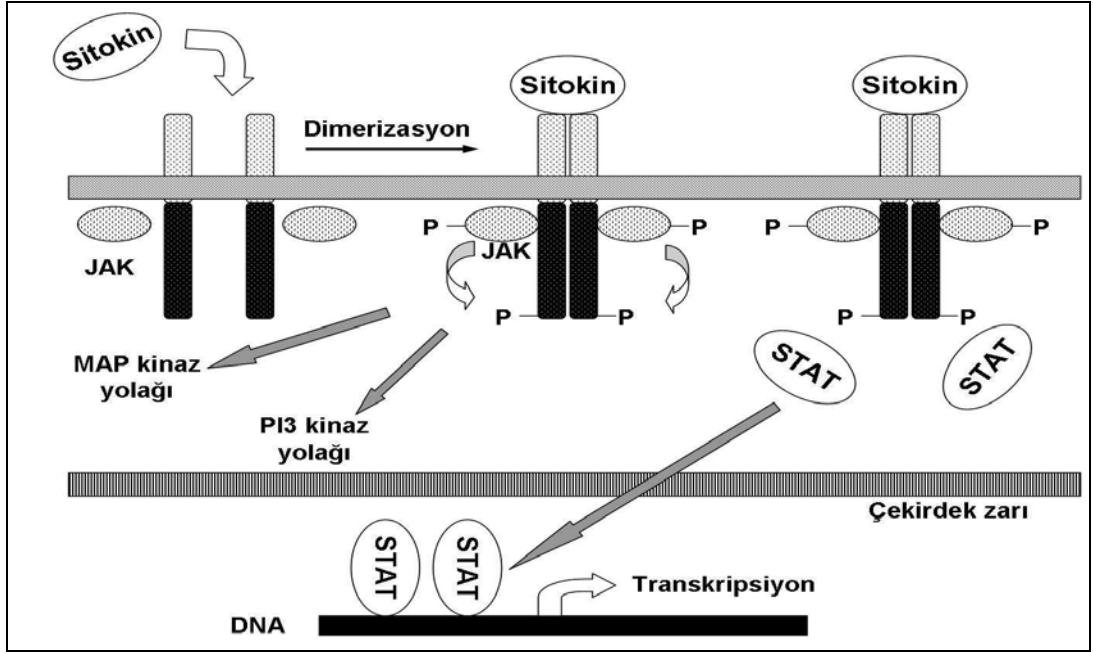
Sitokinler immün sistem hücrelerinin yanı sıra birçok diğer organ sistemlerinin yaşamını, proliferasyonunu, farklılaşmasını ve işlevsel aktivitesini etkileyen salgısal glikoproteinlerdir.

Sitokinlerin (interleukinler, interferonlar ve hemoproteinler) işlevlerini yerine getirebilmeleri için öncelikle hedefleri olan hücrelerin yüzeyindeki reseptörlere bağlanması gerekir. Bu bağlanmayla reseptör dimerize olur ve reseptörle ilişkili proteinler ailesinin üyeleri olan dört Janus tirozin kinaz'dan (JAK1, JAK2, JAK3 ve Tyk2) birine yanaşır (Şekil-3) (53). Bu yanaşma olayı (Janus Tyrosine Kinase) JAK'ların çapraz fosforilasyonuna ve tirozin kinazların aktivasyonuna yol açar. Aktive JAK sitokin reseptörünü fosforile eder ve ardından çeşitli sinyal yolları aktive edilir. Bunlar transkripsiyon sinyal iletilicileri ve aktive edicileri (Signal Transducers and Activators of Transcription; STAT), MAP kinaz ve fosfoinositol 3-kinaz yollarıdır.

STAT ailesi STAT1, STAT 2, STAT 3, STAT 4, STAT 5a, STAT 5b ve STAT 6 olmak üzere yedi üyeden oluşur. Bunlar hem sinyal ileticiler hem de transkripsiyon faktörleri olarak işlev görür. Örnek; İnterferon-gamma JAK1 ve JAK2'ye bağlanarak STAT1 aktive eder ve İL-6 alfa zincir reseptör ve gp130'a bağlanarak JAK1 ve STAT3 aktive etmektedir. STAT proteinleri sitoplazmada yer alır ve yanaştıkları fosforillenmiş reseptörlerdeki tirozine doğru hareket eder ve sonra JAK'lar tarafından fosforile edilir. Fosforile STAT'lar sitoplazmaya salınıp homo veya hetero-dimerler oluşturulduktan sonra nükleus içine göç eder. Burada ilgili genlerin promoter bölgesindeki özgül DNA sekanslarına bağlanarak gen transkripsiyonunu başlatır. STAT'lar işlevsel olarak ise iki gruba ayrılır (54). STAT2, STAT4 ve STAT6'dan oluşan grup T hücre gelişiminde ve interferon (IFN)- γ sinyalizasyon yolunda rol oynar. STAT1, STAT3 ve STAT5'den oluşan diğer grup ise büyüme hormonu (Growth Hormon; GH), prolaktin ve eritropoetin sinyalinde yer alır. Bu gruptakiler hücre döngüsünün ve apoptozisin önemli regülatörleridir. Bunların regülasyonundaki bozukluklar malign hücre çoğalmasına katkıda bulunur (55). Ayrı sitokinler bir veya daha fazla JAK'ı aktive edebilir. JAK/STAT sinyal ileti yolağı çeşitli düzeylerde regüle edilir. Bu düzenlenme fizyolojik olarak önemlidir. Çünkü GH-aracılı sinyalizasyon düzensizse gigantizm, veya STAT5 aktivasyonu kontrol edilemezse lenfoproliferatif bozukluklar gibi ciddi durumlar söz konusu olabilir (54,56).

JAK/STAT sinyal yolağını regüle eden başlıca mekanizmalar:

- 1) Sitokin sinyal supresörleri (Supressors of Cytokine Signalling; SOCS) ile inhibisyon
- 2) Sitozolik ve nükleer tirozin fosfatazlarla aktive sinyal proteinlerinin defosforilasyonu
- 3) Reseptör internalizasyonu ve degradasyonuna yol açan defosforile reseptörlerin ubiquitinasyonu
- 4) Aktive STAT'ların protein inhibitörlerinin (Protein inhibitors of activated STAT; PIAS) etkisiyle STAT'ların DNA'ya bağlanma afinitesinin azalmasıdır.



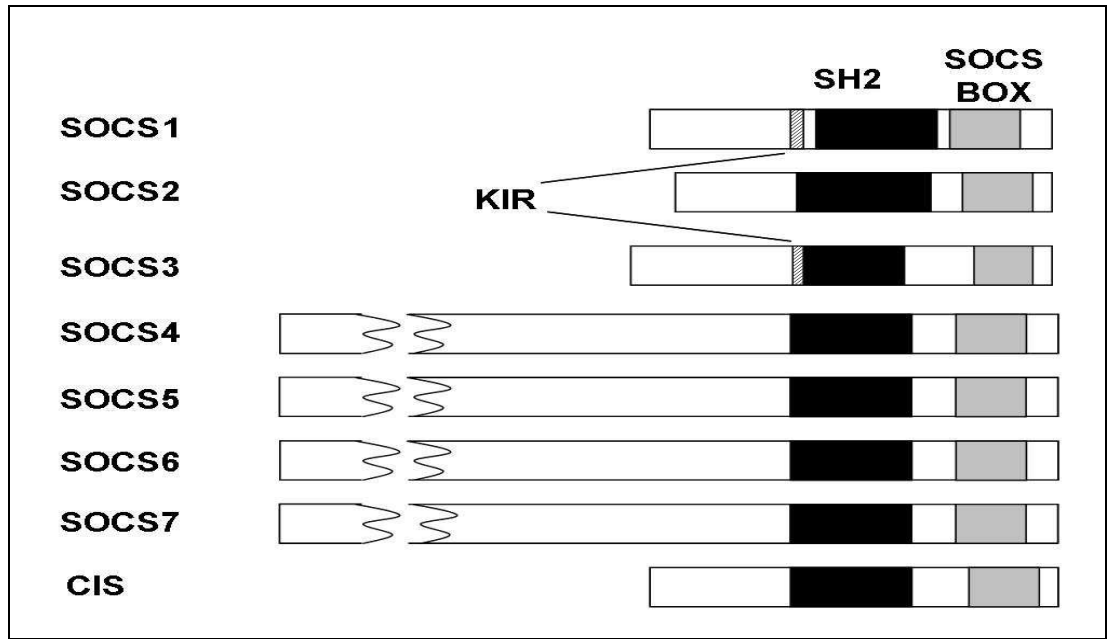
Şekil-3: JAK/STAT sinyal yolağı (53).

Sitokin Sinyal Süpresörleri

Sitokin sinyal supresör (Suppressor of Cytokine Signalling SOCS) ve sitokin uyarılabilir src hemoloji-2 (GİS) intrasellüler proteinler, immün sistemine sinyaline göre sitokinleri regüle eder ve ekspresyonları sadece JAK/STAT yolağı ile indüklenir. Uyarılmamış hücrelerde JAK'lar ve STAT'lar aktif değildir ve tipik olarak SOCS genleri de bu hücrelerde eksprese edilmezler. CIS ve SOCS 1-7 proteinlerinden oluşan SOCS ailesi üyelerinin ortak özellikleri src hemoloji-2 (SH2)-domain, değişen uzunluklarda aminoterminal domen, SOCS-box adı verilen 40-aminoasit motifinden oluşan karboksiterminal domainden oluşmalarıdır (Şekil-4) (56). Tüm aile üyeleri arasında sekans homolojisi olmasına rağmen (özellikle SOCS box ve SH2 domende) CIS1 ile SOCS2, SOCS1 ile SOCS3, SOCS4 ile SOCS5, ve de SOCS6 ile SOCS7 arasında daha yakın homolojiler mevcuttur. Ayrıca, SOCS1 ve SOCS-3'te diğerlerinden farklı olarak SH2-domaine bitişik kinaz inhibitör bölgesi (Kinase inhibitory Region; KIR) bulunmaktadır.

Hem SH2 domain hem de SOCS-box, sitokin reseptörüne veya JAK'lara bağlanarak ve sinyal iletisini direkt olarak zayıflatarak ya da proteozomlarda ubiquitin-aracılı degradasyon için reseptör komplekslerini

hedef olarak uygun işlevlerin gerçekleşmesinde rol alır. SOCS proteinlerinden dördünün (CIS ve SOCS 1-3) fizyolojik işlevleri diğer kalan dört SOCS proteinine göre (SOCS 4-7) daha iyi ortaya konulabilmiştir. CIS ve SOCS1-3'ü kodlayan genlerin ekspresyonu bazal durumdayken düşüktür, fakat JAK/STAT yolağını aktive eden sitokinler tarafından hızla uyarılır. Bu da STAT yolağının negatif regülasyonuna yol açar.



Şekil-4: SOCS proteinlerinin moleküler yapıları (53).

1. SOCS-1

SOCS-1 SH2 domaini ile direkt olarak JAK'larla etkileşerek onların tirozin kinaz aktivitesini inhibe edebilir (57). Ayrıca SOCS-1'in tip-I İFN reseptör ve İFN- γ reseptörüne de direkt olarak bağlabildiği ve böylece çok düşük düzeylerde SOCS-1 ekspresyonları olduğunda bile IFN sinyalini baskılayabildiği rapor edilmiştir (58,59). SOCS-1 ekspresyonu STAT yolağını aktive eden sitokinlerin yanı sıra insülin, lipopolisakkarid (LPS), CpG DNA ve diğer bazı moleküller tarafından da indüklenebilir (60).

In vitro çalışmalar SOCS-1'in IL-6, IFN- γ , IL-12 ve IL-4 gibi çeşitli sitokinler tarafından aktive edilen farklı sinyal ileti yollarını inhibe edebildiğini göstermiştir. Yani, SOCS-1'in bu düzenleyici özellikleri tek bir özel sitokin

sinyal ileti yoluyla sınırlı değildir (61-63). SOCS-1 eksik farelerde gelişme geriliği ve ağır lenfositopeni olduğu, T-hücreleri aşırı aktivasyonu, karaciğer nekrozu, majör organlara makrofaj infiltrasyonu ve doğduktan sonraki 3 hafta içinde çoklu organ yetersizliğine bağlı ölüm görülmüştür (64,65). Hem SOCS1 hem de IFN- γ bulunmayan farelerin ise sadece SOCS-1 eksik farelerin gösterdiği letal fenotipe sahip olmadığı rapor edilmiştir (66). Bu durum IFN- γ regülasyonunun SOCS-1 tarafından düzenlendiğini ve kontrolsüz IFN- γ aktivitesinin letal fenotipin gelişmesine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

2. SOCS-2

SOCS-2'nin GH reseptörü ile sinyal iletilişinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (56). Aktive GH reseptörünün SHP2-bağlanma bölgesine bağlandığı ve IGF-1 geninin transkripsiyonu için gerekli olan aktive GH reseptör yolağının son molekülünden biri olan STAT5b'nin fosforilasyonu ve aktivasyonunu önlediği gösterilmiştir (67,68). SOCS2 eksik hale getirilen farelerde visseral organlarda büyüme ve gigantizm ortaya çıktığı ve doğumu izleyen 3. ayda kontrol hayvanlarından %30-40 daha ağır oldukları rapor edilmiştir". İlginç olarak SOCS2'nin aşırı ekspresyonu GH sinyalini arttırmaktadır, ve SOCS2 transgenik farelerde hafif bir gigantizm gelişmektedir (69). Bu bulgular SOCS2'nin GH sinyalini düzenlemede daha karmaşık dual rolünün olduğunu göstermektedir. Nitekim düşük düzeydeki SOCS2'nin tüm GH ile indüklenen STAT5 aktivasyonunu inhibe etmesine karşın yüksek konsantrasyonlarının sinyal aktivitesini arttırdığı titrasyon deneyleri ile gösterilmiştir. Yine ilginç olarak SOCS2 hem GH hem de insülin-benzeri büyüme faktörü-1 (insulin-like growth factor-1; IGF-1) reseptörlerine bağlanır, fakat sadece GH tarafından direkt olarak indüklenebilmektedir (68-70).

3. SOCS-3

SOCS-1 ve SOCS-3 ortak yapısal özellikler göstermelerine rağmen etki mekanizmaları farklılık göstermektedir. JAK'ı direkt olarak bağlayarak inhibe eden SOCS-1'den farklı olarak SOCS-3, sadece gp130 gibi reseptörlerin varlığında JAK'ı inhibe edebilmektedir (71). Ayrıca, SOCS-3'ün

önce reseptörle yüksek afiniteli etkileşiminden sonra JAK'a bağlandığı hipotezi de ileri sürülmektedir (72). SOCS-3 eksikliği embriyonik dönemde ölümcüldür (73). SOCS-3'ün miyeloid hücrelerde ve hepatositlerde ekspresyonları engellenerek yapılan çalışmalarda, SOCS-3 eksikliğinin IL-6'ya yanıt olarak STAT-3'ün aktivasyonunda uzamaya yol açtığı gösterilmiştir (74,75). In vivo SOCS-3'ün sinyal komponenti olarak gp130'u kullanan IL-6-LIF ailesi sitokinlerin inhibitörü olduğu için, enflamasyonun negatif düzenleyicisi olabileceği düşünülmektedir (58).

4. CIS

CIS'in reseptörlerin STAT5-bağlayan bölgesini maskeleyerek eritropoetin (EPO), IL-2, IL-3, GH ve prolaktin sinyal iletisini inhibe ettiği in vitro deneylerde gösterilmiştir (76). STAT5a ve STAT5b eksik farelerde görülen laktasyon olamama ve büyüme geriliği gibi durumlar CIS-transgenik farelerde de gözlenmiştir (77).

5. SOCS 4-7

SOCS-4'den 7'ye kadar olan SOCS proteinleri ile ilgili bilgiler sınırlıdır ve in vivo veriler bulunmamaktadır. Ancak, SOCS5'in IL-6 ile indüklendiği ve IL-4'ü inhibe ettiği; SOCS6'nın MAP-kinaz, protein-kinaz B ve insülin resptör substrat-1 (insulin-receptor substrate-1; IRS-1) aktivasyonunu inhibe ettiği in vitro testlerle gösterilmiştir (78).

SOCS Proteinleri ve Hastalıklar

1. SOCS-1 Proteinin Kansere Gelişimindeki Rolü

Çeşitli insan kanser hücre dizileri ve primer solid tümörlerde (beyin, meme, akciğer, mide, kolon, pankreas, prostat ve baş-boyun) STAT proteinlerinin sürekli aktivasyonu rapor edilmiştir (79-81). Birçok kanserde ve transforme hücre dizilerinde STAT3 persistan olarak aktive edilmektedir. STAT3'ün hücre kültüründeki aktivasyonu ya transformasyon için gerekli bir durumdur (transformasyonu artırır) ya da apoptozun bloke edilmesi ile ilişkilidir. STAT3 ve STAT5, tümör gelişimi ve progresyonu ile güçlü bir ilişki göstermektedir (80). STAT1'in aktivasyonu ise çoğalmanın durdurulması ile ilişkili olup tümör baskılayıcı olarak kabul edilebilir. STAT5a/b'nin süreğen aktivasyonu lösemi ve lenfoma da gösterilmiştir (82). Böylece JAK/STAT

sinyalinin baskılanması veya önlenmesi sadece hücre çoğalmasını bloke ederek ve apoptoza sebep olarak değil, tümörlerin kemoterapi ve radyoterapiye duyarlılığını arttırarak da kanser tedavisi için uygun olabilir (60).

SOCS proteinlerinin kanser gelişimindeki rolleri büyüme faktörlerine aşırı cevaplılık göstermeleri ve onkogeneizde rol alan çeşitli sitokinler tarafından modüle edilmeleri ile ilişkili olabilir. Hepatosellüler karsinoma, miyeloma ve mide adenokarsinom hücrelerinde SOCS-1 ekspresyonunun hipermetilasyon sonucu azaldığı rapor edilmiştir (83,84). Aynı zamanda SOCS1 ekspresyonunun lösemi, lenfoma ve multipl miyelom gibi hematolojik malignitelerdeki IFN direnci ile de ilişkili olduğu bulunmuştur (85,86). Hipermetilasyon dışında SOCS-1 gen silinmeleri ve mutasyonları da lenfomaların gelişmesinde rol oynamaktadır (87,88).

SOCS1 ekspresyonunun düşük olduğu ya da olmadığı durumlarda JAK2 daha fazla aktive olarak hücre proliferasyonunu arttırabilir.

2. Enflamatuvar ve Alerjik Hastalıklarda SOCS-1 Proteini

SOCS proteinleri özellikle sitokinlerin aracılık ettiği immün düzenleyici işlevlerde rol aldıkları için enflamatuvar hastalıkların patogeneizinde yer almaları beklenebilir. Gerçekten SOCS-1 eksik farelerde oluşturulan otoimmün artrit modelinde eklem enflamasyonu ve hasarının arttığı gözlenmiştir (89, 90). Romatoid artrit'li hastaların kanından izole edilen CD4+ T hücrelerinin de sağlıklı kontrollerden daha yüksek düzeyde SOCS-1 ve düşük düzeyde SOCS3 ekprese ettikleri rapor edilmiştir (91). Zimosan ile artrit oluşturulan STAT1-/-farelerde sinoviyal SOCS-1 ekspresyonunun belirgin olarak düştüğü ancak SOCS-3 ekspresyonunda değişiklik olmadığı gösterilmesi SOCS-1'in özellikle STAT1'in kontrol ettiği eklem enflamasyonunda altta yatan mekanizmalardan biri olabileceğini düşündürmektedir (92). Ancak, SOCS-1'in eklem enflamasyonu ve artritteki rolleri henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

3. SOCS Proteinleri ve Yeni Terapötik Yaklaşımlar

SOCS proteinleri kullanılarak sitokin sinyallerinin baskılanması özellikle enflamatuvar hastalıkların tedavisinde ve transplantasyon sonrası

rejeksiyonun önlenmesinde yararlı olabilir. Bir diğer yaklaşım çeşitli küçük molekül SOCS protein mimetiklerinin kullanımınıdır. Bunlardan biri olan tirozin kinaz inhibitör peptid (TKIP) JAK2 aracılı STAT1 fosforilasyonunu inhibe ederek etkili olmaktadır (93). Bu peptidin farelerde deneysel alerjik ensefalomyelit gelişimini önlediği ve STAT3 aktivasyonu görülen prostat kanseri hücre dizisinde proliferasyonu baskıladığı ortaya konmuştur (93,94). Üçüncü bir yaklaşım ise küçük engelleyici RNA (small interfering RNA; siRNA) gibi teknolojileri veya dominant negatif SOCS proteinleri kullanarak SOCS gen ekspresyon düzeylerinin aşağı çekilmesi ve böylece anti-viral veya antitümöral aktiviteyi kuvvetlendirmek için sitokin sinyalinin artırılmasıdır. Dendritik hücrelerde (DH) SOCS ekspresyonunun siRNA ile baskılanması DH-temelli tümör asıllarının antitümöral etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir (95). SOCS1 siRNA'nın sistemik uygulanması ise farelerde gözlenen B16 tümörlerinin küçülmesine neden olmuştur (96).

Son 10 yılda SOCS proteinlerinin yapısı ve fonksiyonları ile ilgili hızla artan bilgilerimiz göstermiştir ki SOCS proteinleri sadece basit negatif düzenleyiciler olmayıp aynı zamanda immün sistemde sitokin sinyal şebekesinin düzenlenmesinde de yer alan moleküllerdir. Bununla beraber SOCS proteinlerinin in vivo işlevleri henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu proteinlerin hastalık ve sağlıktaki rollerinin daha ayrıntılı olarak ortaya konması birçok hastalığın tedavisi için daha etkili yaklaşımların geliştirilmesi için önem taşımaktadır.

4. SOCS-1 Proteini ve Enfeksiyon

SOCS-1 hem tip I hem de tip II IFN sinyalini inhibe eden bir protein olduğu için IFN'ların faydalı anti-viral ile zararlı enflamatuvar etkilerinin denge de tutulmasında önemli bir rol alır. Gerçekten de SOCS-1 eksik hücreler ve SOCS-1^{-/-} fareler viral enfeksiyonlara dirençlidir (58). SOCS-1'in pankreas β hücrelerinde ve kardiyak miyozitlerde aşırı eksprese edildiğinde, sırasıyla coxsackie virus tarafından indüklenen diabetes mellitus ve kardiyomiyopati ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (97,98).

Kardiyak miyozitlerde SOCS-1 inhibe edildiğinde enteroviral enfeksiyonlarla oluşturulan akut kardiyak hasara karşı direnç oluştuğu

gösterilmiştir (98). SOCS-1 eksik farelerin plasmodium gibi hücre içi parazitlere karşı da dirençli olduğu ortaya konmuştur (99). Bunun nedeni SOCS1 eksik fare makrofajlarının IFN- γ 'ya aşırı duyarlılık göstermesinden olabilir. İlginç olarak SOCS1 ekspresyonu canlı toxoplasma gondii tarafından direkt olarak artırılabilir ve enfekte hücrelerde IFN- γ sinyalinin inhibe edilmesinde rol alabilir (100). Bu durum, SOCS-1'in parazitler tarafından indüksiyonunun doğal immün yanıtta kaçış mekanizmalarından biri olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmanın Amacı

Hepatit B virüs enfeksiyonu sonucunda akut hepatit, inaktif taşıyıcı, kronik hepatit oluşabileceği gibi, hafif bir hastalık sonucu iyileşme de oluşabilmektedir. Enfeksiyonun değişik klinik tablolar sergilemesi genel olarak virüse ait faktörlerden ziyade immün sisteminin ölçsüz yanıt vermesinden kaynaklanmaktadır. Immün sistem regülasyonunu sağlayan ve bu ölçsüz yanıtı engelleyen önemli proteinlerden biri SOCS-1 proteindir. SOCS-1'in fonksiyonunu değiştirebilecek mutasyon ya da polimorfizm neticesinde hepatit B virüsüne karşı gelişecek aşırı immün yanıtta bağlı olarak karaciğerde ciddi hasar oluşabilir.

Kronik hepatit B de SOCS-1'in aşırı ekspresyonunun, fibrozisle ilişkisi gösterilmiş olup (101), muhtemelen bu durum SOCS-1 polimorfizmine bağlı olabilir. Bu bağlamda Hepatit B seyrindeki farklılıkların sebeplerinden birisinin de SOCS-1 gen polimorfizmi olabileceğini düşündük.

Bu çalışmanın amacı, Türk popülasyonundaki kronik hepatit B hastalarındaki, inaktif hepatit B taşıyıcılarındaki ve geçirilmiş hepatit B bireylerindeki SOCS-1 1478 CA/DEL polimorfizm tiplerinin (major homozigot CA/CA, minor homozigot DEL/DEL, heterozigot CA/DEL) ilişkisinin araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta Seçimi

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı ve Genel Dahiliye tarafından takip edilen, 36 kronik hepatit B enfeksiyonlu ve 35 inaktif hepatit B taşıyıcısı çalışmaya alındı, kontrol grubu olarak 45 geçirilmiş hepatit B bireyleri çalışmaya dahil edildi. Altı ayın üzerinde HBsAg (+) olan, HBV DNA düzeyi 2000 IU/ml altında olan, transaminaz seviyeleri sürekli normal seyreden, HBeAg negatif, anti HBe pozitif ve yapıldı ise, karaciğer biyopsisinde nekroinflammatuar skoru 4'ün altında olan hastalar inaktif hepatit B taşıyıcısı olarak tanımlanırken, 6 ayın üzerinde HBsAg pozitifliği olan, HBV DNA düzeyi 2000 IU/ml üzerinde olan, transaminaz seviyeleri sürekli veya intermittan yüksek seyreden ve karaciğer biyopsisinde kronik hepatit bulguları olan nekroinflammatuar skor 4'ün üstünde olan hastalar kronik hepatit B enfeksiyonu olarak tanımlandı. Anti HBs pozitif, HBsAg negatif, Anti HBc İg G pozitif ve transaminaz seviyeleri sürekli normal olan bireyler geçirilmiş hepatit B olarak tanımlandı.

Çalışmaya; sistemik hastalığı (Diyabetis Mellitus, Koroner Arter Hastalığı, Kalp Yetmezliği, Non-Alkolik Steatohepatit, Otoimmün Hepatit, Kronik Akciğer Hastalıkları, Malign Hastalıkları, Kollajen Doku Hastalıkları, Hepatosellüler Karsinoma, ve Metabolik Hastalıkları) olmayan, anti HCV (-) , anti HDV (-) ve anti HIV (-) bireyler alındı. Çalışmaya günde 20 gram ve üzerinde alkol alanlar hariç tutuldu.

Çalışma Helsinki Deklarasyonu'na uygun olarak yürütülmüştür ve U.Ü.T.F Etik Kurulundan onay alınmıştır. Araştırmaya dahil edilen tüm kişiler çalışma hakkında bilgilendirildi, bu amaçla hazırlanan aydınlatılmış onam formu okutularak, onayları alındı. Bu 3 grubdaki bireyler çalışmaya davet edilip, moleküler inceleme için kan örnekleri alındı. Tüm gönüllülerden çalışma için etilendiaminotetraenoik asit'li (EDTA) tüpe yaklaşık 2 cc alınan

kan örnekleri -20 derecede çalışma gününe kadar saklandı. Alınan tam kan örnekleri Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı İmmünoloji Bilim Dalı laboratuvarında QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN) kullanarak DNA izole edilip çalışıldı.

DNA izolasyonu

DNA izolasyonuna başlamadan önce yapılan hazırlıklar:

- Tam kan örnekleri 15-25°C oda sıcaklığında alındı
- Su banyosu veya ısı bloğu 56°C'a ayarlandı
- Elüsyon işlemi için Buffer AE oda sıcaklığına getirildi
- Buffer AW1 ve buffer AW2 protokolüne göre hazırlandı.
- Buffer AL içinde kristallenme varsa 56°C 'de inkübe edildi.

NOT: Tüm santrüfuj basamakları oda sıcaklığında yapılmıştır.

1. 20 µl Protease1,5 ml eppendorf tüp içerisine dağıtıldı.
2. 200 µl kan eklendi
3. Örnek üzerine 200µl Buffer AL eklenerek, 15 saniye vortekslendi.
4. 56°C'de 10 dakika inkübe edildi.
5. Tüp kapaklarının iç tarafındaki damlaları tüpün içine almak için kısaca santrüfuj edildi.
6. 200µl ethanol (96 -100%) eklenip 10 saniye vortekslenerek kısaca santrüfuj edildi. Tüplerin içindeki karışım QIAGEN spin kolona aktarıldı. Tüplerin kapağı kapandıktan sonra 6000xg (8000 rpm) hızda 1 dakika santrüfuj edildi. Spin kolonun yerleştiği tüp atıldı. QIAamp spin kolon temiz 2ml'lik collection tüpe yerleştirildi.
7. QIAGEN spin kolon dikkatlice açılarak tüplerin içine 500µl Buffer AW1 eklendi. Tüplerin kapağı kapandıktan sonra 6000xg (8000 rpm) hızda 1 dakika santrüfuj edildi. Spin kolonun yerleştiği tüp atıldı. QIAamp spin kolon temiz 2ml'lik collection tüplere yerleştirildi.
8. QIAGEN spin kolon dikkatlice açılarak kolon üzerine içine 500µl Buffer AW2 eklendi. Tüplerin kapağını kapattıktan sonra 20,000xg (14,000 rpm) hızda 3 dakika santrüfuj edildi. Spin kolonun

yerleştiği tp atıldı. QIAamp spin kolon temiz 2ml'lik collection tüpe yerleştirildi.

9. 20,000xg (14,000 rpm) hızda 1 dakika santrfj edildrek, Spin kolonun yerleştiği tp atıldı. QIAGEN spin kolon 1.5 ml'lik ependorf tüplere yerleştirildi.
10. QIAGEN spin kolonu dikkatlice açılarak 200µl Buffer AE kolonun tam ortasına gelecek şekilde aktarıdı. Kolonun kapağı kapatılarak, oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi. 6000xg (8000 rpm) hızda 1 dakika kadar santrifüj edildi.
11. İzole edilen örneklerde, spektrofotometre ile yapılan ölçümlerde DNA konsantrasyonu 15- 40 ng/µl olarak bulundu.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

SOCS-1 polimorfizmi (1478CA/DEL) PZR-RFLP yöntemi ile tayin edildi. Bunun için promotor bölgesi ileri; (5'-TGTCGTCCAGCTGCACCTC-3'), ve geri primerler; (5'-ACCACAGGCTTCAGAGGAAC-3') ile amplifiye edildi. Reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde karışıma; 10 mM dNTP, 25 mM MgCl₂, 1X PCR tamponu 2,2 U Taq DNA Polymerase enzimi (Sigma-Aldrich Inc. Missouri USA) 0,5 µM ileri ve geri primer PCR karışımına eklendi. Hazırlanan karışıma 2'şer µl DNA eklenerek termal döngü cihazına (Applied Biosystems) yerleştirildi. Termal döngü ısıları tablo 1'te ayrıntılı olarak verilmiştir

Tablo-1: PZR için kullanılan ıs döngüleri program.

Aşama	SOCS1
İlk Denatürasyon	95°C 2 dakika
Denatürasyon	94°C 30 saniye
Bağlanma	69°C 30 saniye
Uzatma	72°C 30 saniye 37s
Son Uzatma	72°C 10 dakika

Elde edilen PCR ürünleri 0,5 X TBE tamponu (Tris-Borik asit-EDTA) içinde etidyum bromür (EtBr) içeren %2'lik agaroz jelde değerlendirildi. PCR ürününün 8 µl'si ile 2 µl yükleme tamponu karıştırıldı ve jel kuyularına yüklendi. Elektroforezde 100 volt'da 20 dakika süre ile elektrik akımı uygulandı. PCR ürünlerine ait bantlar transilüminatör üzerinde ultraviyole ışığı altında değerlendirildi

PZR-restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri (Restriction Fragment Length Polymorphisms-PZR-RFLP)

SOCS-1 1478 CA/DEL allellerini saptamak için Ddel (restriksiyon)* enzimi kullanıldı. RFLP deneyinde 11 µl PCR ürünü, 0,22 µl (500 U) RE, 2,1 µl RE tamponu ve 7,68 µl steril su ile toplam 21 µl hacim içerisinde 37°C'de geceboyu inkübasyona bırakıldı.

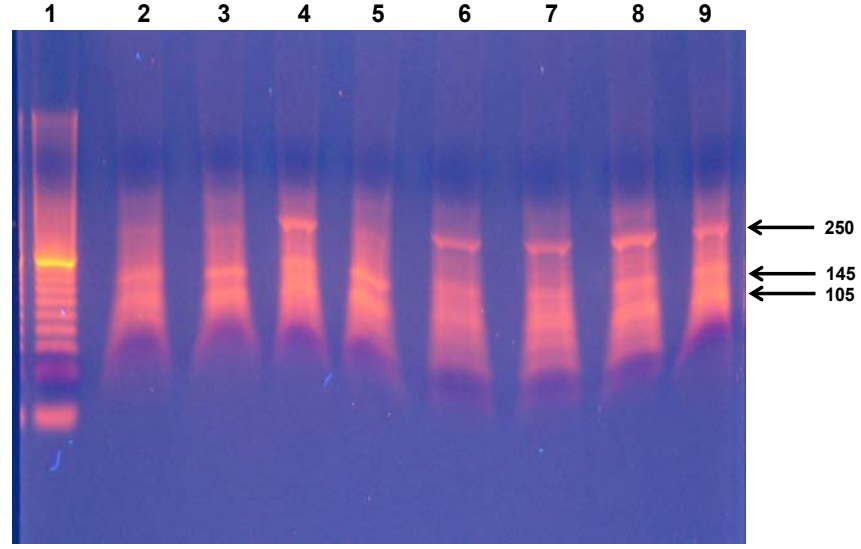
Jel Elekteforez

Amplifiye edilmiş restriksiyon enzimi ile kesiminden sonra elde edilen DNA'nın ürünleri, EtBr içeren %2'lik agaroz jel ile elektroforezde 100 volt'da 15 dakika süreyle yürütüldü. Tablo 2'te restriksiyon enzimlerinin çalışma ısıları ve oluşan kesim ürünlerinin büyüklükleri görülmektedir Elde edilen PCR jel görüntülerin bilgisayar ortamında kayıt edildi. Jel ultraviyole ışık altında immünolog tarafından değerlendirildi (Şekil-5).

Tablo-2: Polimorfizmler için çoğaltılan PZR ürün büyüklüğü, uygun restriksiyon şartları ve kesim ürünleri.

Gen polimorfizmi	PZR ürün büyüklüğü	İnkübasyon ısısı	Restriksiyon enzimi	Kesim ürünleri
SOCS-1 1478CA>del	250	37°C	<i>DdeI</i> *	CA:142 bç 108bç DEL:250bç

* HpyF31 (Ddel) Fermentas



Şekil-5: SOCS-1 promotor bölgesinde delesyon mutasyonu RFLP jel görüntüsü. Bu jelde 2, 3 ve 5 sütunları major homozigot (CA/CA), 4, 6, 7, 8 ve 9 heterozigot (CA/DEL) göstermektedir.

İstatistiksel Analiz

Hastaların verileri daha önceden hazırlanan çalışma formlarına kaydedildi. Daha sonra bu formlardaki verilerin kantitatif değerler olarak istatistiksel analizleri yapıldı. İstatistiksel hesaplamalar SPSS for Windows 13.0 (Statistical Package for the Social Sciences INC. Chicago, USA) programı kullanılarak yapıldı.

Kantitatif değerler ortalama \pm standart sapma olarak belirtildi. İki den fazla grubun parametrik olmayan verilerinin karşılaştırılmasında “Kruskal Wallis” testinden yararlanıldı. Bu test sonucunda anlamlı farklılık bulunan grupları tespit etmek için iki grup karşılaştırmalarında “Mann Whitney U” testi kullanıldı. Ayrıca kategorik değişkenlerin gruplar arası farklılığı Pearson ve Fisher’in Kikare testleriyle değerlendirildi. Tüm bu istatistiksel çalışmalarda p değerinin <0.05 olması anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı ve Genel Dahiliye Bilim Dalı tarafından takip edilen, 35 kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta ve 36 inaktif hepatit B taşıyıcı hasta çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarak 45 geçirilmiş hepatit B bireyleri çalışmaya dahil edildi.

Gruplar arasında yaş ortalaması, cinsiyet dağılımı ve vücut kitle indeksi (VKİ) açısından önemli fark saptanmadı ($p>0.05$). Kronik hepatit B hastalarının yaş ortalaması; 38.65 ± 15.16 , kadın/erkek oranı 40/60, ortalama VKİ'si 24.82 ± 3.6 , inaktif hepatit B taşıyıcı hastaların yaş ortalaması; 44.38 ± 12.2 , kadın/erkek oranı 44/56, ortalama VKİ'si 26.47 ± 6.3 ve geçirilmiş hepatit B bireylerin yaş ortalaması; 45 ± 11.46 , kadın/erkek oranı 64/36, VKİ'si 27.07 ± 4.6 bulundu (Tablo-3).

Tablo-3: Kronik hepatit B'li hastaların, İnaktif hepatit B taşıyıcı hastaların ve geçirilmiş hepatit B bireylerin Yaş Ortalaması, Cins ve VKİ dağılımı.

	Kronik hepatit B (n=35)	İnaktif hepatit B taşıyıcısı (n=36)	Geçirilmiş hepatit B (n=45)	<i>p</i> değeri
Yaş Ortalaması	38.65±15.16	44.38±12.2	45±11.46	>0.05
Cins (Kadın/Erkek)	14/21	16/20	29/16	>0.05
VKİ	24.82±3.16	26.47±6.3	26.06±4.6	>0.05

Gruplar arasında sigara ve alkol içme oranı açısından istatistiksel fark bulunmadı ($p>0.05$). Kronik hepatit B hastalarının sigara içme oranı; %28,

alkol içme oranı; 8, İnaktif hepatit B taşıyıcı olanların sigara içme oranı; 27, alkol içme oranı; 14 ve Geçirilmiş hepatit B bireylerin sigara içme oranı; 35, alkol içme oranı 15 bulundu (Tablo-4).

Tablo-4: Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastaların, İnaktif hepatit B taşıyıcı hastaların ve Geçirilmiş hepatit B bireylerin sigara ve alkol içme oranı.

	Kronik hepatit B (n=35)	İnaktif hepatit B taşıyıcısı (n=36)	Geçirilmiş hepatit B (n=45)	P değeri
Sigara (içen/içmeyen)	10/25	10/26	16/29	>0.05
Alkol (içen/içmeyen)	2/33	5/31	7/38	>0.05

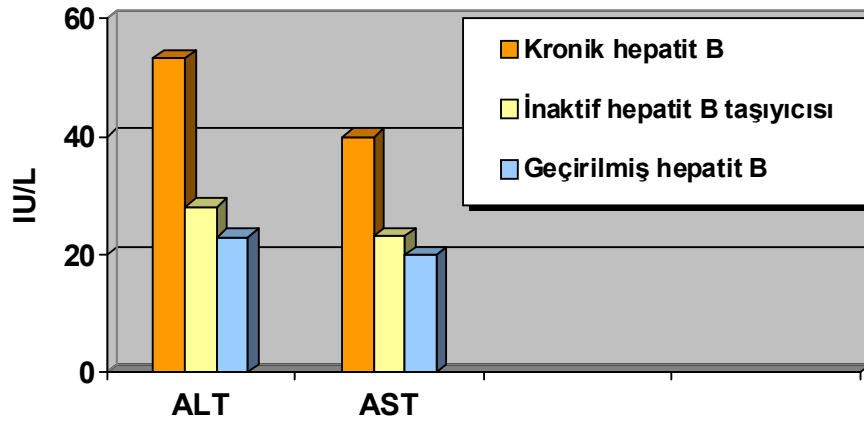
Gruplar arasında hepatit bulaşma yolu açısından anlamlı bir fark rastlanmadı ($p>0.05$). Kronik hepatit B hastalarının %40'ı aile içi, %2.9' u cinsel temas, %2.9'u kan transfüzyonu ve %54.2'si bilinmeyen yolla, İnaktif hepatit B taşıyıcı olanların %36.1'i aile içi, %2.8'i cinsel temas, %5.6'sı kan transfüzyonu ve %55.5'i bilinmeyen yolla ve geçirilmiş hepatit B bireylerin %15.5'i aile içi, %0'ı cinsel temas, %2.2'si kan transfüzyonu ve %82.3'u bilinmeyen yolla bulaştığını saptadık (Tablo-5).

Tablo-5: Gruplar arasında hepatit bulaşma yolu açısından anlamlı bir fark rastlanmadı.

	Kronik hepatit B (n=35)	İnaktif hepatit B taşıyıcısı (n=36)	Geçirilmiş hepatit B (n=45)
Aile içi	14	13	7
Cinsel temas	1	1	0
Kan transfüzyon	1	2	1
Bilinmeyen	19	20	37

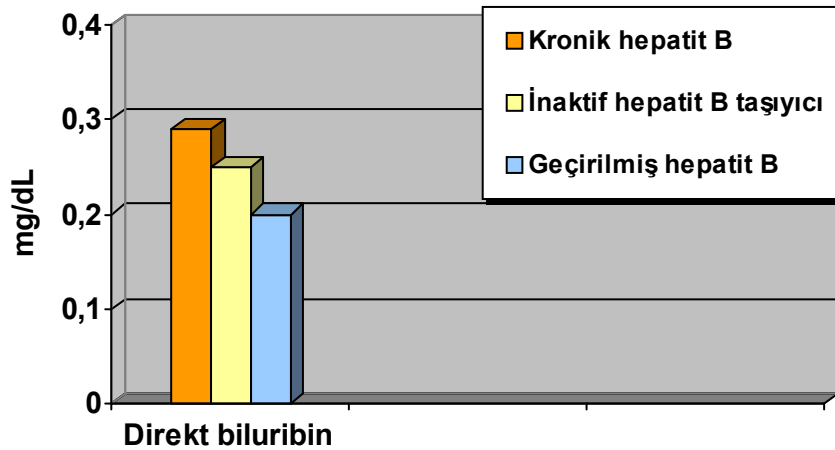
Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastaların ALT ve AST ortalama değerleri, geçirilmiş hepatit B bireylerinin ve inaktif hepatit B taşıyıcı hastalarının ortalama değerlerine göre anlamlı olarak daha yüksek saptandı ($p<0.001$).

Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastaların ortalama ALT değerleri; 53.25 ± 34.9 , AST ortalama değerleri 39.9 ± 29.7 , İnaktif hepatit B taşıyıcı olanların ALT ortalama değerleri; 28.2 ± 17.9 , AST ortalama değerleri 23.25 ± 7.6 ve Geçirilmiş hepatit B bireylerin ALT ortalama değerleri; 23.06 ± 13.5 , AST ortalama değerleri 20.13 ± 8.7 saptandı (Şekil-6, Tablo-6).



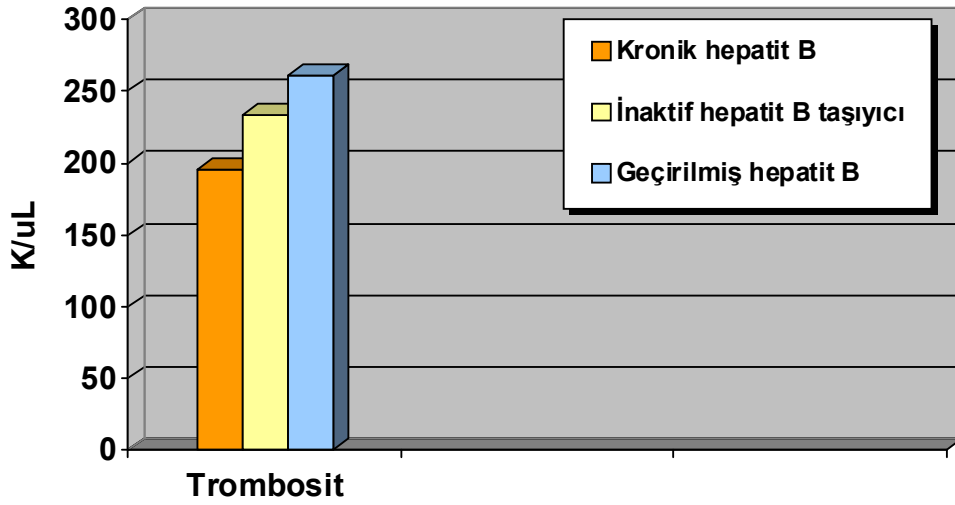
Şekil-6: Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastaların ALT ve AST ortalama değerleri, geçirilmiş hepatit B bireylerine ve inaktif hepatit B taşıyıcı hastalarına göre istatistiksel açısından daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$).

Kronik hepatit B'li hastaların direkt bilirubin ortalama değerleri, geçirilmiş hepatit B bireylerine ve inaktif hepatit B taşıyıcı hastalarına göre istatistiksel açısından daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Kronik hepatit B hastalarının direkt bilirubin ortalama değeri; 0.29 ± 0.13 , inaktif hepatit B taşıyıcı hastaların direkt bilirubin ortalama değeri; 0.25 ± 0.13 ve geçirilmiş hepatit B bireylerin direkt bilirubin ortalama değeri; 0.20 ± 0.13 bulundu (Şekil-7, Tablo-6).



Şekil-7: Kronik hepatit B hastaların direkt bilirubin ortalama değerleri, geçirilmiş hepatit B ve inaktif hepatit B taşıyıcı hastalarına göre istatistiksel açısından daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Kronik hepatit B trombosit ortalama sayısı, geçirilmiş hepatit B bireylerin ve inaktif hepatit B taşıyıcı hastalarına göre istatistiksel açılarından daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Kronik hepatit B hastalarının trombosit ortalama sayısı; $195\ 700\pm 11000$, İnaktif hepatit B taşıyıcı olanların trombosit ortalama sayısı; $233\ 300\pm 9000$ ve Geçirilmiş hepatit B bireylerin trombosit ortalama sayısı; $261\ 300\pm 8900$ bulunmuştur (Şekil-8, Tablo-6)



Şekil-8: Kronik hepatit B hastalarının trombosit ortalama sayısı, geçirilmiş hepatit B ve inaktif hepatit B taşıyıcı hastalarına göre istatistiksel açılarından daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

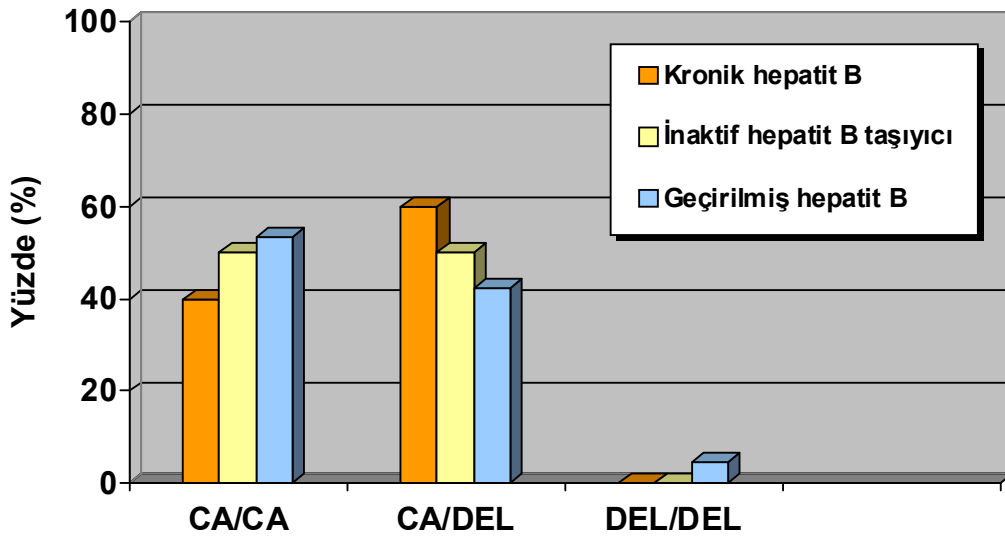
Gruplar arasında; total kolesterol, glukoz, albumin ve INR ortalama değerleri arasında istatistiksel açıdan bir fark rastlanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo-6).

Tablo-6: Kronik hepatit B hastalarının, inaktif hepatit B taşıyıcı hastalarının, ve geçirilmiş hepatit B bireylerin T. Kolesterol, Glukoz, Albumin INR, D.Bil, Trombosit, AST, ALT ortalama değerleri.

	Kronik hepatit B (n=35)	İnaktif hepatit B taşıyıcısı (n=36)	Geçirilmiş hepatit B (n=45)	P değeri
Total Kolesterol Mg/dl	180±28	187±37	189±37	>0.05
Glukoz mg/dl	87.5±10.4	89±17	90.8±9.3	>0.05
Albumin g/dl	4.7±0.38	4.8±0.29	4.8±0.29	>0.05
INR	1.1±0.1	1.04±0.08	1.03±0.08	>0.05
D.Bil mg/dl	0.29±0.13	0.25±0.13	0.20±0.13	<0.05
Trombosit u/ml	195700±11000	233300±9000	261300±8900	<0.05
AST IU/L	39.9±29.7	23.25±7.6	20.13±8.7	<0.05
ALT IU/L	53.25± 34.9	28.2±17.9	23.06±13.5	<0.05

Kronik hepatit B hastalarının SOCS-1 1478 CA/DEL gen polimorfizm genotipleri sıklığı, inaktif hepatit B taşıyıcı hastaları ve geçirilmiş hepatit B bireyleri ile karşılaştırıldığında benzer olarak bulundu ($p>0.05$).

Kronik hepatit B hastalarında CA/CA (major homozigot); 14 (%40), CA/DEL (heterozigot): 21(%60), DEL/DEL (minor homozigot): 0, İnaktif hepatit B taşıyıcılarında; CA/CA: 18 (%50), CA/DEL:18 (%50), DEL/DEL: 0, ve geçirilmiş hepatit B bireylerinde; CA/CA: 24 (%53.3), CA/DEL: 19 (%42.2), DEL/DEL: 2 (%4.5) genotipleri saptandı (Şekil-9).



Şekil-9: Kronik hepatit B hastalarının SOCS-1 1478 CA/DEL gen polimorfizm genotipleri sıklığı, inaktif hepatit B taşıyıcı hastaları ve geçirilmiş hepatit B bireyleri ile karşılaştırıldığında benzerdi ($p>0.05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, Türk popülasyonundaki kronik hepatit B hastalarındaki, inaktif hepatit B taşıyıcılarındaki ve geçirilmiş hepatit B bireylerindeki SOCS-1 1478 CA/DEL polimorfizm tiplerinin hastalık seyri ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlandı.

SOCS-1 1478 CA/DEL gen polimorfizmi ile hepatit B enfeksiyonu seyri arasındaki ilişkisi daha önce araştırılmamıştır. Bu çalışmanın özelliği, hepatit B seyrindeki SOCS-1 gen polimorfizmini literatürde araştıran ilk çalışma olmasıdır.

Yaş, cinsiyet ve VKİ açısından araştırılan kronik hepatit B, inaktif hepatit B taşıyıcısı ve geçirilmiş hepatit B grupları arasında bir fark saptanmamıştır. Hepatit B bulaşma yolu, sigara ve alkol kullanımı açısından üç grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır.

Serumdaki albumin, INR, total kolesterol, açlık glukoz değerleri açısından kronik hepatit B, inaktif hepatit B taşıyıcısı ve geçirilmiş hepatit B grupları arasında bir fark saptanmadı. Kronik hepatit B hastalarında, inaktif hepatit B ve geçirilmiş hepatit B gruplarına göre AST, ALT ve Direkt Bilurubin ortalama değerleri daha yüksek bulunurken, ortalama trombosit sayısı daha düşük bulundu. Kronik hepatit B hastalarının, SOCS-1 1478 CA/DEL gen polimorfizm genotipleri sıklığı, inaktif hepatit B taşıyıcı hastaları ve geçirilmiş hepatit B bireyleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmadı.

Çalışmamızın en güçlü taraflarından birisi, gruplar arasında; yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanım oranları açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bu sonuçlarla da grupların homojen olduğu anlaşılmaktadır. Total kolesterol, açlık glukoz ve VKİ değerleri açısından gruplar arasında bir fark olmaması önemli bir bulgudur. Sonuç olarak; karşılaştırdığımız hasta gruplarında metabolik sendroma bağlı olarak gelişebilecek karaciğer hastalıkları olma ihtimali çok düşüktür. Viral hepatit B'nin Türkiye'de en sık buluşma şeklinin horizontal yol olduğu gösterilmiştir (6). Bizim

çalışmamızda; horizontal yol %29,3 saptanıp literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Üç grup karşılaştırıldığında; albumin ve INR değerleri arasında bir fark olmaması, hastalarda kronik karaciğer hastalığı bulunması açısından fark olmadığını gösterirken; kronik hepatit B grubundaki trombosit değerlerinin diğer iki gruba göre daha düşük olması ve D. Bilirubin değerlerinin daha yüksek olması, bu grubun karaciğer fibrozu geliştirme ve mortalite oranı açısından daha riskli olduğunu göstermektedir. Sirozu ve fibrozisi gösteren invazif olmayan parametreler arasında; trombosit, albumin, D. Bilirubin ve INR değerleri bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda; trombosit değerindeki düşüklüğün, sirozu ve fibrozisi göstermede en önemli parametre olduğu gösterilmiştir (102).

SOCS-1 1478 CA/DEL polimorfizmi şimdiye kadar sadece Japon halkında çalışılmış olup, bu çalışmada, SOCS-1 1478 CA/DEL polimorfizmi, heterozigot astım hastalarında kontrole göre anlamlı şekilde daha sık bulunmuştur (sırasıyla %19, %13) (103). Bizim çalışmamızda; kronik hepatit B hastalarında kontrol grubuna (geçirilmiş hepatit B bireyelerine) göre SOCS-1 1478 CA/DEL polimorfizmi daha sık bulunmasına rağmen (sırayla %60, %42.2) bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır.

Japonya ve Türkiye’de çalışılan SOCS-1 1478 polimorfizmi, iki kontrol grubu arasında ciddi farklılık göstermektedir. Türkiye’de SOCS-1 1478 CA/CA %53.3, CA/DEL %42.2 ve DEL/DEL %4.5 iken Japonya’da CA/CA %86, CA/DEL %13 ve DEL/DEL %1’dir. Bu fark, Türk halkının Japon halkından genetik olarak farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamızda, SOCS-1 1478 CA/DEL polimorfizmi açısından heterozigot kronik hepatit B hastalarında, heterozigot inaktif hepatit B taşıyıcı ve heterozigot geçirilmiş hepatit B bireyelerine göre daha sık görülmesine rağmen bu fark istatistiksel anlam kazanmamıştır (sırasıyla %60, %50 ve %42.2). İstatistiksel fark olmaması, gruptaki vaka sayısının azlığından kaynaklanıyor olabilir.

Hepatit B virüs enfeksiyonu sonucunda inaktif taşıyıcı, akut hepatit, kronik hepatit oluşabileceği gibi, hafif bir hastalık sonucu iyileşme de

oluşabilmektedir (104). Enfeksiyonun değişik klinik tablolar sergilemesi genel olarak virüse ait faktörler ziyade konağın genetik faktörleri ve immün sistemine bağlıdır (105). İmmün sistemde en önemli rol oynayan ise SOCS-1 tarafından regülasyonu sağlanan T hücreleridir. Torisu ve ark. (106) yaptığı bir çalışmada, hepatositlerde SOCS-1 ekspresyonunun yokluğunda apoptozisin aktif hale gelerek fibrozisi arttırdığını göstermiştir. Yapılan çalışmalar; insan vücudundaki enflamasyonun, SOCS-1 tarafından inhibe edildiğini göstermiştir. Zhao ve ark. (101) yaptığı çalışmada ise 45 kronik hepatit B'li hastaya yapılan karaciğer biyopsilerinde SOCS-1 ekspresyonu ile fibrozis ve enflamasyon derecesi arasında pozitif ilişki olduğunu göstermiştir.

Yoshida ve ark. (107) yaptığı çalışmada; SOCS-1 eksik olan farelerin karaciğerinde, inflamasyonun ve fibrozisin daha hızlı ilerleyerek karaciğer yetmezliği geliştiği gösterilmiştir . Karsinojen maddelere bağlı karaciğerde gelişen fibrozis ve enflamasyon, SOCS-1 tarafından süprese edilmektedir (106).

SOCS1 hem Tip I hem de Tip II IFN sinyalini inhibe eden bir protein olup IFN'ların faydalı anti-viral etkileri ile zararlı enflamatuvar etkilerinin dengede tutulmasında önemli bir rol oynar. Gerçekten de SOCS1-eksik hücreler ve SOCS1-/- fareler viral enfeksiyonlara daha dirençlidir. Bunun nedeni SOCS1 eksik fare makrofajlarının IFN-γ'ya aşırı duyarlılık göstermesinden kaynaklanması olabilir (58) .

Hepatit B enfeksiyonuna bağlı karaciğer enflamasyonu, viral etkenler dışında immün sistemin ölçsüz yanıt vermesinden kaynaklanmaktadır. İmmün sistem regülasyonu sağlayan ve bu ölçsüz yanıtı engelleyen önemli proteinlerden biri SOCS-1 proteindir. SOCS-1'in fonksiyonunu değiştirerek mutasyon ya da polimorfizm neticesinde hepatit B virusuna karşı gelişecek aşırı immün yanıtı bağlı olarak karaciğerde ciddi hasar oluşabilmektedir.

Ko ve ark. (108) yaptığı çalışmada HCC hastalarının 107 HBs Ag (-) olgularının %78 inde ve 340 HBs Ag (+) olgularının %52 sinde SOCS-1 hipermetilasyonu saptamışlardır. Bu sonuca göre; HBs Ag (+) HCC hastalarındaki SOCS-1 hipermetilasyonu arasındaki ilişki ters orantılı olarak bulunmuştur.

Hepatit B enfeksiyonundaki gen ekspresyonunun azalması veya hipermetilasyon dışında gen silinmeleri; SOCS-1 mutasyonlarına ya da polimorfizmlerine bağılı olabilir. Hepatit B enfeksiyonunda Şimdiye kadar SOCS-1 polimorfizmi çalışılmamıştır.

Hepatit B seyrindeki farklılıkların, SOCS-1 gen polimorfizmine bağılı olabileceğini dŐşündük. SOCS-1'in kronik hepatit B ekspresyonunun, fibrozisle ilişkili olduğu gösterilmiş olup, muhtemelen bu durum SOCS-1 polimorfizmine bağılı olarak meydana gelmektedir. Çalışmamızda hepatit B seyri ile SOCS-1 1478 CA/DEL polimorfizmi arasında ilişki saptayamamış olmamız hasta sayısının azlığından kaynaklanabileceği gibi SOCS1 1478 CA/DEL dışında başka bir SOCS polimorfizmi (5635-C/T, 5485-G/A, 5162-G/A, 820-G/T, 1125-G/C, 1656-A/G, 5388-C/T ve 3969-C/T) ile de ilişkili olabilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada TŐrk popŐlasyonunda SOCS-1 1478 gen polimorfizmi ile hepatit B seyri arasında ilişki saptanmamıştır. Bu konuda daha kesin bir sonuca varmak için TŐrkiye'den ve dŐnyadan daha fazla sayıda vaka içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, Fleischer R, Lok AS. Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 2007;45:1056–75.
2. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007;45:507–39.
3. Liaw YF. Antiviral therapy of chronic hepatitis B: Opportunities and challenges in Asia. *J Hepatol.*2009;51:403–10.
4. Özdemir S, Kural Sezer E, Sonsuz A, Başaranoğlu M, Şentürk H, Özbay G, Akın P. Ülkemizde asemptomatik "sağlıklı" HBsAg taşıyıcılığı. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 1998; 29:983.
5. Rantala M, van de Laar MJ. Surveillance and Epidemiology of Hepatitis B and C in Europe-a review. *Euro Surveill* 2008;13:18880.
6. Değertekin H. Türkiye’de HBV Epidemiyolojisi ve Bulaşma Yolları. *Hepatit B ulusal uzlaşma kitabı.* 2003. s. 99-110
7. Mıstık R. Ülkemizde Kronik Viral Hepatitlerin epidemiyolojisi. *Klimik* 2007;20:61-3
8. Taşyaran MA. HBV enfeksiyonu epidemiyolojisi. Tekeli E, Balık İ (editörler). *Viral hepatit.* İstanbul: Karakter Color A.Ş; 2003. 121-34.
9. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat* 2004; 11: 97-107.
10. Bilgiç A, Özaçar T. Hepatit B Virusü. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002. 1350-70.
11. Shepard CW, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Epidemiology of Hepatitis B and Hepatitis B virus infection in United States children. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:755–60.
12. Alexander J, Kowdley KV. Epidemiology of Hepatitis B – Clinical Implications. *MedGenMed* 2006;8:13.
13. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *J Hepatol* 2003;39:64–9.
14. Kaya S. Hepatit B Virüsünün Aile içi geçişi. *Viral Hepatit Dergisi* 2006; 11: 49-52.
15. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Bio Rev* 2000; 64:51-68.
16. Bruss V. Envelopment of the hepatitis B virus nucleocapsid. *Virus Res* 2004; 106:199-209.
17. Norder H, Courouce AM, Magnius LO. Molecular basis of hepatitis B virus serotype variations within the four major subtypes *J Gen Virol* 1992; 73:3141-5.
18. Kramvis A, Kew M, Francois G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 2005; 23:2409-23.

19. Ganem D, Schneider R. Hepadnaviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM (eds). *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott- Raven; 2001. 2923-70.
20. Ghany M, Liang TJ. Drug Targets and Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Chronic Hepatitis B. *Gastroenterology*, 2007;132:1574-85.
21. Cooper A, Paran N, Shaul Y. The earliest steps in hepatitis B virus infection. *Biochem Biophys Acta* 2003; 1614:89-96.
22. Heermann K, Kruse HF, Seifer M, Gerlich WH. Immunogenicity of the gene S and Pre-S domains in hepatitis B virions and HBsAg filaments. *Intervirology* 1987; 28:14-25.
23. Crowther RA, Kiselev NA, Bottcher B, et al. Three-dimensional structure of hepatitis B virus core particles determined by electron cryomicroscopy. *Cell* 1994; 77:943-50.
24. Paetzel M, Karla A, Strynadka N, Dalbey R. Signal peptidases. *Chem Rev* 2002; 102:4549-79.
25. Tong S. Mechanism of HBV genome variability and replication of HBV mutants. *J Clin Virol* 2005; 34:134-8.
26. Kay A, Zoulim F. Hepatitis B virus genetic variability and evolution. *Virus Res* 2007;127:164-76.
27. Clarke B, Bloor S. Molecular genotyping of hepatitis B virus. *J Clin Virol* 2002;25:41-5.
28. Badur S. Viral Hepatitler. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S (editörler). *Moleküler Klinik ve Tanısal Viroloji*. Ankara: Güneş Kitapevi; 2004. 175-98.
29. Sunbul M, Leblebicioglu H. Distribution of hepatitis B virus genotypes in patients with chronic hepatitis B in Turkey. *World J Gastroenterol* 2005;11: 1976-80.
30. Bozdayi G, Türkyilmaz AR, Idilman R, Karatayli E, Rota S, Yurdaydin C, Bozdayi AM. Complete genome sequence and phylogenetic analysis hepatitis B virus isolated from Turkish patients with chronic HBV infection. *J Med Virol* 2005; 76:476-81.
31. Cooper A, Paran N, Shaul Y. The earliest steps in hepatitis B virus infection. *Biochem Biophys Acta* 2003; 1614:89-96.
32. Neurath AR, Kent SB, Strick N, Parker K. Identification and chemical synthesis of a host cell receptor binding site on hepatitis B virus. *Cell* 1986; 46:429-36.
33. Kann M, Bischof A, Gerlich WH. In vitro model for the nuclear transport of the hepadnavirus genome. *J Virol* 1997; 71:1310-6.
34. Torresi J, Locarnini S. Antiviral chemotherapy for the treatment of hepatitis B virus infections. *Gastroenterology* 2000; 118: 83-103.
35. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed., Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005;110.

36. Colombo M, de Franchis R, Del Ninno E, et al. Hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1991;325:675-80.
37. Arii S, Yamaoka Y, Futagawa S, et al. Results of surgical and nonsurgical treatment for small-sized hepatocellular carcinomas: a retrospective and nationwide survey in Japan. The Liver Cancer Study Group of Japan. *Hepatology* 2000;32:1224-9.
38. Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinoma Hepatocellulaire. Acomparison of lipiodol chemembolization and conservative treatment for unresectable hepatocellular cancer. *N Engl J Med* 1995;332:1256-61.
39. Epstein B, Ettinger D, Leichner PK. Multimodality cisplatin treatment in nonresectable alpha-fetoprotein-positive hepatoma. *Cancer* 1991;67:896- 900.
40. Nagaoka S, Yatsushashi H, Hamada H, et al. The des gamma-carboxy prothrombin index is a new prognostic indicator for hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2003;98:2671-7.
41. Reherrmann B, Fowler P, J. Sidney, at el. The cytotoxic T lymphocyte response to multible hepatitis B polymerase epitopes during and after acute viral hepatitis. *J Exp Med* 1995;181:1047-58.
42. Taşyaran M. Hepatit B virus enfeksiyonunda klinik. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (editörler). *Viral Hepatit 2007*. İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını; 2007. 118-21.
43. Kurt H. Hepatit B virus enfeksiyonu. Balık İ, Tekeli E (editörler). *Viral Hepatit 2003*. Ankara: Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını; 2003. 129-34.
44. Şencan İ, Şahin İ, Sertbaş Y, Balbay Ö, Bulut İ. Kronik hastalığa sahip olanlarda HBV ve HCV seroprevalansı. *Viral Hepatit Dergisi* 2003;8: 111-5.
45. Birengel S. Akut Viral Hepatit B'li Olguların klinik ve muhtemel bulaş yolları açısından değerlendirilmesi. *Viral Hepatit Dergisi* 2003;8: 148-51.
46. Bilgiç A, Özacar T: Hepatit B virusu. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2. cilt. 2. baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002. 1350-67.
47. Balcıoğlu İ, Özdemir S. Kronik hepatitli hastalarda nöropsikiyatrik bulgular. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (editörler). *Viral Hepatit 2005*. Ankara: Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını; 2005. 76-82.
48. Mert A. İnaktif HBsAg taşıyıcılığı. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (editörler). *Viral Hepatit 2007*. İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını; 2007. 148-59.
49. Leblebicioğlu H. Adefovir ve kronik hepatit B'de kullanımı. *Flora* 2004; (Ek 1): 3-10.

50. Keefe E, Dieterich D, Han S, et al. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2:87-106
51. Turgut H, Kaleli İ, Saşar S, Toprak S, Yalçın N. HBeAg negatif kronik hepatit B olgularında seroloji ve klinik önemi. *Viral Hepatit Dergisi* 2004;9 :24-7.
52. Balık İ. Kronik hepatit B' nin seyri ve interferon tedavisi. Balık İ, Tekeli E (editörler). *Viral Hepatit 2003*. Ankara: Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını; 2003. 35-155.
53. Haluk O. Sitokin Sinyal Süpresörleri ve Hastalıklarla ilişkisi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2007, 3:26-32.
54. Calo V, Migliavacca M, Bazan V, et al. STAT proteins: from normal control of cellular events to tumorigenesis. *J Cell Physiol* 2003;197:157-68.
55. Bromberg J. Stat proteins and oncogenesis. *J Clin Invest* 2002;109:1139-42.
56. Greenhalgh CJ, Alexander WS. Suppressors of cytokine signalling and regulation of growth hormone action. *Growth Horm IGF Res* 2004;14:2006.
57. Yasukawa H, Misawa H, Sakamoto H, et al. The JAKbinding protein JAB inhibits Janus tyrosine kinase activity through binding in the activation loop. *Embo J* 1999;18:1309-20.
58. Fenner JE, Starr R, Cornish AL, et al. Suppressor of cytokine signaling 1 regulates the immune response to infection by a unique inhibition of type I interferon activity. *Nat Immunol* 2006;7:33-9.
59. Qing Y, Costa-Pereira AP, Watling D, Stark GR. Role of tyrosine 441 of interferon-gamma receptor subunit 1 in SOCS-1 mediated attenuation of STAT1 activation. *J Biol Chem* 2005;280:1849-53.
60. Tan JC, Rabkin R. Suppressors of cytokine signaling in health and disease. *Pediatr Nephrol* 2005;20:567-75.
61. Dalpke AH, Opper S, Zimmermann S, Heeg K. Suppressors of cytokine signaling (SOCS)-1 and SOCS-3 are induced by CpG-DNA and modulate cytokine responses in APCs. *J Immunol* 2001;166:7082-9.
62. Kawazoe Y, Naka T, Fujimoto M, et al. Signal transducer and activator of transcription (STAT)-induced STAT inhibitor 1 (SSI-1)/suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) inhibits insulin signal transduction pathway through modulating insulin receptor substrate 1 (IRS-1) phosphorylation. *J Exp Med* 2001;193:263-9.
63. Stoiber D, Kovarik P, Cohnen S, Johnston JA, Steinlein P, Decker T. Lipopolysaccharide induces in macrophages the synthesis of the suppressor of cytokine signaling 3 and suppresses signal transduction in response to the activating factor IFN-gamma. *J Immunol* 1999;163:2640-7.
64. Naka T, Tsutsui H, Fujimoto M, et al. SOCS-1/SSI-1-deficient NKT cells participate in severe hepatitis through dysregulated cross-talk

- inhibition of IFN-gamma and IL-4 signaling in vivo. *Immunity* 2001;14:535-45.
65. Marine JC, Topham DJ, McKay C, et al. SOCS1 deficiency causes a lymphocyte-dependent perinatal lethality. *Cell* 1999;98:609-16.
 66. Alexander WS, Starr R, Fenner JE, et al. SOCS1 is a critical inhibitor of interferon gamma signaling and prevents the potentially fatal neonatal actions of this cytokine. *Cell* 1999;98:597-608.
 67. Woelfle J, Billiard J, Rotwein P. Acute control of insulin like growth factor-I gene transcription by growth hormone through Stat5b. *J Biol Chem* 2003;278:22696-702.
 68. Greenhalgh CJ, Metcalf D, Thaus AL, et al. Biological evidence that SOCS-2 can act either as an enhancer or suppressor of growth hormone signaling. *J Biol Chem* 2002;277:40181-4.
 69. Greenhalgh CJ, Bertolino P, Asa SL, et al. Growth enhancement in suppressor of cytokine signaling 2 (SOCS-2)-deficient mice is dependent on signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5b). *Mol Endocrinol* 2002;16:1394-406.
 70. Dey BR, Spence SL, Nissley P, Furlanetto RW. Interaction of human suppressor of cytokine signaling (SOCS)-2 with the insulin-like growth factor-I receptor. *J Biol Chem* 1998;273:24095-101.
 71. Sasaki A, Yasukawa H, Suzuki A, et al. Cytokine-inducible SH2 protein-3 (CIS3/SOCS3) inhibits Janus tyrosine kinase by binding through the N-terminal kinase inhibitory region as well as SH2 domain. *Genes Cells* 1999;4:339-51.
 72. Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nat Rev Immunol* 2007;7:454-65.
 73. Marine JC, McKay C, Wang D, et al. SOCS3 is essential in the regulation of fetal liver erythropoiesis. *Cell* 1999;98:617-27.
 74. Yasukawa H, Ohishi M, Mori H, et al. IL-6 induces an anti-inflammatory response in the absence of SOCS3 in macrophages. *Nat Immunol* 2003;4:551-6.
 75. Croker BA, Krebs DL, Zhang JG, et al. SOCS3 negatively regulates IL-6 signaling in vivo. *Nat Immunol* 2003;4:540-5.
 76. Yoshimura A, Ohkubo T, Kiguchi T, et al. A novel cytokine-inducible gene CIS encodes an SH2-containing protein that binds to tyrosine-phosphorylated interleukin 3 and erythropoietin receptors. *Embo J* 1995;14: 2816-26.
 77. Matsumoto A, Seki Y, Kubo M, et al. Suppression of STAT5 functions in liver, mammary glands, and T cells in cytokine-inducible SH2-containing protein 1 transgenic mice. *Mol Cell Biol* 1999;19:6396-407.
 78. Fujimoto M, Naka T. Regulation of cytokine signaling by SOCS family molecules. *Trends Immunol* 2003;24:659-66.
 79. Catlett-Falcone R, Dalton WS, Jove R. STAT proteins as novel targets for cancer therapy. *Signal transducer and activator of transcription. Curr Opin Oncol* 1999;11:490-6.

80. Bowman T, Garcia R, Turkson J, Jove R. STATs in oncogenesis. *Oncogene* 2000;19:2474-88.
81. Coffey PJ, Koenderman L, de Groot RP. The role of STATs in myeloid differentiation and leukemia. *Oncogene* 2000;19:2511-22.
82. Lin TS, Mahajan S, Frank DA. STAT signaling in the pathogenesis and treatment of leukemias. *Oncogene* 2000;19:2496-504.
83. Yoshikawa H, Matsubara K, Qian GS, et al. SOCS-1, a negative regulator of the JAK/STAT pathway, is silenced by methylation in human hepatocellular carcinoma and shows growth-suppression activity. *Nat Genet* 2001;28:29-35.
84. Galm O, Yoshikawa H, Esteller M, Osieka R, Herman JG. SOCS-1, a negative regulator of cytokine signaling, is frequently silenced by methylation in multiple myeloma. *Blood* 2003;101:2784-8.
85. Sakamoto H, Kinjyo I, Yoshimura A. The janus kinase inhibitor, Jab/SOCS-1, is an interferon-gamma inducible gene and determines the sensitivity to interferons. *Leuk Lymphoma* 2000;38:49-58.
86. Sakai I, Takeuchi K, Yamauchi H, Narumi H, Fujita S Constitutive expression of SOCS3 confers resistance to IFN-alpha in chronic myelogenous leukemia cells. *Blood* 2002;100:2926-31.
87. Weniger MA, Melzner I, Menz CK, et al. Mutations of the tumor suppressor gene SOCS-1 in classical Hodgkin lymphoma are frequent and associated with nuclear phospho-STAT5 accumulation. *Oncogene* 2006;25:2679-84.
88. Melzner I, Weniger MA, Bucur AJ, et al. Biallelic deletion within 16p13.13 including SOCS-1 in Karpas1106P mediastinal B-cell lymphoma line is associated with delayed degradation of JAK2 protein. *Int J Cancer* 2006;118:1941-4.
89. Egan PJ, Lawlor KE, Alexander WS, Wicks IP. Suppressor of cytokine signaling-1 regulates acute inflammatory arthritis and T cell activation. *J Clin Invest* 2003;111:915-24.
90. Ivashkiv LB, Tassioulas I. Can SOCS make arthritis better? *J Clin Invest* 2003;111:795-7.
91. Yamana J, Yamamura M, Okamoto A, et al. Resistance to IL-10 inhibition of interferon gamma production and expression of suppressor of cytokine signaling 1 in CD4+ T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004;6:567-77.
92. De Hooge AS, van de Loo FA, et al. Local activation of STAT-1 and STAT-3 in the inflamed synovium during zymosan-induced arthritis: exacerbation of joint inflammation in STAT-1 gene-knockout mice. *Arthritis Rheum* 2004;50:2014-23.
93. Flowers LO, Subramaniam PS, Johnson HM. A SOCS-1 peptide mimetic inhibits both constitutive and IL-6 induced activation of STAT3 in prostate cancer cells. *Oncogene* 2005;24:2114-20.
94. Mujtaba MG, Flowers LO, Patel CB, Patel RA, Haider MI, Johnson HM. Treatment of mice with the suppressor of cytokine signaling-1 mimetic peptide, tyrosine kinase inhibitor peptide, prevents development of the acute form of experimental allergic

- encephalomyelitis and induces stable remission in the chronic relapsing/remitting form. *J Immunol* 2005;175: 5077-86.
95. Frobose H, Ronn SG, Heding PE, et al. Suppressor of cytokine Signaling-3 inhibits interleukin-1 signaling by targeting the TRAF-6/TAK1 complex. *Mol Endocrinol* 2006;20: 1587-96.
 96. Yang R, Yang X, Zhang Z, et al. Single-walled carbon nanotubes-mediated in vivo and in vitro delivery of siRNA into antigen-presenting cells. *Gene Ther* 2006;13: 1714-23.
 97. Flodstrom M, Maday A, Balakrishna D, Cleary MM, Yoshimura A, Sarvetnick N. Target cell defense prevents the development of diabetes after viral infection. *Nat Immunol* 2002;3:373-82
 98. Yasukawa H, Yajima T, Duplain H, et al. The suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS-1) is a novel therapeutic target for enterovirus-induced cardiac injury. *J Clin Invest* 2003;111:469-78.
 99. Bullen DV, Hansen DS, Siomos MA, Schofield L, Alexander WS, Handman E. The lack of suppressor of cytokine signalling-1 (SOCS1) protects mice from the development of cerebral malaria caused by *Plasmodium berghei* ANKA. *Parasite Immunol* 2003;25:113-8.
 100. Zimmermann S, Murray PJ, Heeg K, Dalpke AH. Induction of suppressor of cytokine signaling-1 by *Toxoplasma gondii* contributes to immune evasion in macrophages by blocking IFN-gamma signaling. *J Immunol* 2006;176:1840-7
 101. Zhao ZX, Cai QX, Peng XM, Chong YT, Gao ZL. Expression of SOCS-1 in the liver tissues of chronic hepatitis B and its clinical
 102. Wai CT, Chee CL, Wee Ailen, et al. Non-invasive models for predicting histology in patients with chronic hepatitis B. *Liver Int* 2006;26:666-72.
 103. Harada M, Nakashima k, Hirota T, et al. Functional polymorphism in the suppressor of cytokine signaling 1 gene associated with adult asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;36:491-6.
 104. Wang FS. Current status and prospects of studies on human genetic alleles associated with hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2003;9:641-4.
 105. Ramezani A, Roshan M, Kalantar E, et al. Association of human leukocyte antigen polymorphism with outcomes of hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23:1716–21
 106. Torisu T, Nakaya M, Watanabe S, et al. Suppressor of cytokine signaling 1 protects mice against Concanavalin A-induced hepatitis by inhibiting apoptosis. *Hepatology* 2008;47:1644-54. significance. *World J Gastroenterol* 2008;14: 607-11.
 107. Yoshida T, Ogata H, Kamio M, et al. SOCS1 is a suppressor of liver fibrosis and hepatitis-induced carcinogenesis. *J Exp Med* 2004;199:1701-7.
 108. Ko E, Kim SJ, Joh JW, Park CK, Park J, Kim DH. CpG island hypermethylation of SOCS-1 gene is inversely associated with HBV infection in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett* 2008;271:240–50.

TEŞEKKÜR

Bu projenin her aşamasında desteğini hissettiğim, engin tecrübeleriyle bilgimi arttıran tez danışmanım, Sayın Prof. Dr. Macit GÜLTEN'e, Gastroenteroloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Selim Giray NAK ve Gastroenteroloji Bilim Dalı'nın kıymetli öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Enver DOLAR, Sayın Prof. Dr. Selim GÜREL ve Sayın Doç. Dr. Murat KIYICI'ya teşekkür ederim. İhtisasım boyunca bizden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Şazi İMAMOĞLU başta olmak üzere İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine ve çalışmamın genetik analizlerini gerçekleştiren Uludağ Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ABD İmmunoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Barbaros ORAL'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca İç Hastalıkları eğitim süresince beraber uyum içerisinde çalıştığımız Dr. Gökhan ÇOLPAN ve Dr. Aycan ACET başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma ve tüm sağlık personeline teşekkür ederim.

Hayatım boyunca varlıklarını, maddi–manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim ve emeklerinin karşılığını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili annem, babam, tanıştığımız günden beri hayatıma anlam katan ve destek olan sevgili eşime ve doğduğu andan itibaren hayatımı güzelleştiren kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

1 Nisan 1976' da Filistin'in Gazze şehrinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Gazze El-Kermal Lisesi'nde tamamlayarak 1994 yılında Türkiye' ye yerleştim. Aynı yıl Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2002 yılında tıp doktoru olarak mezun oldum. 2003 yılında Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı oldum. 2004 yılından beri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.