

Kronik Hepatit B veya C Hastalarında IL28B Polimorfizmleri ve Plazma IL28B Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Investigation of the Relationship Between IL28B Polymorphisms and Plasma IL28B Levels in Patients with Chronic Hepatitis B or C

Zeynep KOÇ KURALAY¹(ID), Esra TUĞ²(ID), Işıl FİDAN³(ID)

¹ Palandöken Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Erzurum.

¹ Palandöken State Hospital, Clinic of Medical Microbiology, Erzurum, Turkey.

² Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara.

² Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Ankara, Turkey.

³ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

³ Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

*Bu proje, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından 01/2017-07 proje numarası ile desteklenmiştir. Bu çalışma, Avrupa Klinik Viroloji Derneği Kongresi [European Society for Clinical Virology (ESCV)] (23-26 Eylül 2018, Yunanistan)'nde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Makale Atfı: Koç Kuralay Z, Tuğ E, Fidan I. Kronik hepatit B veya C hastalarında IL28B polimorfizmleri ve plazma IL28B düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2021;55(3):374-388.

ÖZ

İnterlökin 28B'yi (IL28B) kodlayan genin bazı tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), insanlarda hepatit B ve C virüsleri ile enfekte olmaya ve kronikleşmeye karşı duyarlılığı artırabilmektedir. Çalışmamızda hepatit B virüsü (HBV) veya hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonu olan hastalarda IL28B geninde rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 SNP'lerinin prevalansını araştırmak ve bu polimorfizmlerin plazma IL28B düzeyleri ile ilişkisini belirlemek amaçlanmıştır. Bu amaçla HBV ile enfekte 64 hasta, HCV ile enfekte 66 hasta ve 70 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. SNP'ler, 'TaqMan SNP Genotyping Assay (ThermoFisher Scientific, ABD)' kullanılarak gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Rt-PCR) ile belirlenmiştir. Plazma IL28B düzeyleri 'Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)' ile ölçülmüştür. HBV ile enfekte hastalarda rs12980275AG genotipi ve G alel (sırasıyla, $p=0.003$ ve $p=0.04$) ile rs12979860CT genotipi ve T alelinin frekansları (sırasıyla, $p=0.01$ ve $p=0.04$) düşük sıklıkta bulunmuştur. HCV ile enfekte hastalarda ise rs8099917TG genotipi ve G alel sıklıkları ($p=0.04$) daha yüksek ve TGG haplotipi istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p=0.04$). Ortalama IL28B plazma düzeyleri, kontrol grubunda HBV veya HCV ile enfekte hasta gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0.001$ ve $p=0.01$). Bununla birlikte rs12980275AG genotipine sahip olan HBV ile enfekte hastalarda plazma IL28B düzeylerinin diğer genotiplere göre anlamlı fark gösterdiği saptanmıştır ($p=0.0001$) ve bu hastaların viral yüklerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir ($<10^5$ IU/ml). Çalışma sonuçlarına göre, rs12979860CT ve rs12980275AG genotiplerinin HBV enfeksiyonunun kronikleşmesini önlemede rol oynayabileceği, rs8099917TG genotipinin ise HCV enfeksiyonunun kronik enfeksiyona dönüşmesine katkıda bulunabileceği ifade edilebilir.

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Esra Tuğ, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, 06500 Beşevler, Ankara, Türkiye **Tel (Phone):** +90 (312) 202 46 45, **E-posta (E-mail):** esratug@hotmail.com

Bu çalışmayla, rs8099917 polimorfizmi için G aleli varlığının kronik HCV enfeksiyonu açısından bir risk aleli olarak değerlendirilebileceği ve TGG haplotipinin kronik HCV enfeksiyonuna duyarlılığı artırmada güçlü bir prediktif etki gösterebileceği izlenmiştir. HBV veya HCV ile enfekte hastalarda prognostik önemi nedeniyle tedaviden önce IL28B genotiplerinin değerlendirilmesi önerilmektedir. HBV enfeksiyonunda, artmış plazma IL28B düzeyleri ile viral replikasyonun sınırlandırılması yoluyla koruyucu bir etki gösterdiği düşünülen rs12980275AG genotipi iyi bir prognostik faktör olarak kullanılabilir. Bu polimorfizmler, HBV veya HCV ile enfekte hastaların klinik sonuçlarını tahmin etmek, enfeksiyonun kronikleşmesini ve komplikasyonlarını önlemek için tedbir almak ve daha ileri araştırmalarla yeni moleküler hedefli tedaviler geliştirmek için biyobelirteçler olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: *İnterlökinler; IL28B; hepatit; hepatit B virüsü; hepatit C virüsü; tek nükleotid polimorfizmi.*

ABSTRACT

Some single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the gene encoding interleukin 28B (IL28B) may increase susceptibility to infection and chronicity in humans with hepatitis B and C viruses. In our study, we aimed to investigate the prevalence of rs12979860, rs8099917 and rs12980275 SNPs in IL28B in patients with hepatitis B (HBV) or hepatitis C Virus (HCV) infection and to determine the relationship of these polymorphisms with plasma IL28B levels. For this purpose, 64 HBV-infected and 66 HCV-infected patients and 70 healthy individuals were included in the study. The SNPs were investigated by real time PCR (Polimerase Chain Reaction, Rt-PCR) using TaqMan SNP Genotyping Assay. The plasma levels of IL28B were detected by 'Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)'. The frequencies of the rs12980275AG genotype and G allele ($p=0.003$ and $p=0.04$, respectively), and the rs12979860CT genotype and T allele ($p=0.01$ and $p=0.04$, respectively) were lower in HBV-infected patients. In HCV-infected patients, the rs8099917TG genotype and G allele frequencies ($p=0.04$) were higher and the TGG haplotype showed a statistically significant difference ($p=0.04$). The mean of IL28B plasma levels were higher in the control group than the HBV or HCV-infected patient groups ($p=0.001$ and $p=0.01$, respectively). However, HBV-infected patients with the rs12980275AG genotype showed a significant difference in plasma IL28B levels compared to the other genotypes ($p=0.0001$) and these patients had lower viral loads ($<10^5$ IU/ml). According to the results of the study, it can be stated that rs12979860CT and rs12980275AG genotypes may play a role in preventing the chronicity of HBV infection, while rs8099917TG genotype may contribute to the transformation of HCV infection into chronic infection. In this study, it was observed that the presence of the G allele for the rs8099917 polymorphism could be evaluated as a risk allele for chronic HCV infection and that the TGG haplotype could have a strong predictive effect on increasing susceptibility to chronic HCV infection. It is recommended to evaluate the genotypic distribution of IL28B before treatment because of its prognostic significance in HBV or HCV infected patients. In HBV infection, the rs12980275AG genotype which is thought to have a protective effect by limiting viral replication with increased plasma IL28B levels, can be used as a good prognostic factor. These polymorphisms could be used as biomarkers to predict the clinical consequences of the patients infected with HBV or HCV, to take precautions to prevent the chronicity of the infection and its complications, and to develop new molecular targeted therapies with further research.

Keywords: *Interleukins; hepatitis; hepatitis B virus; hepatitis C virus; single nucleotide polymorphisms.*

GİRİŞ

Hepatit B virüsü (HBV) ve hepatit C virüsünün (HCV) akut ve kronik enfeksiyonlar, hepatik steatoz, karaciğer sirozu, karaciğer yetmezliği ve hepatoselüler karsinom gibi ciddi komplikasyonlarla da ilişkili olabildiği bilinmektedir^{1,2}. Ancak HBV veya HCV ile enfekte olmuş bazı hastaların iyileşmesi, bazılarında ise hastalığın kronik seyretmesinin nedeni her zaman gündeme gelen bir soru olmuştur. Bu nedenle virolojik ve immünolojik faktörlere ek olarak konağın genetik faktörlerinin de hepatitin prognozu üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir³. Viral enfeksiyonların kronikleşmesini ve komplikasyonlarını önlemek

için konak faktörlerinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Son yıllarda, sitokin genlerindeki tek nükleotit polimorfizmleri [Single Nucleotide Polymorphisms (SNP)] gibi konak faktörlerinin, enfeksiyonun seyrinde rolü olduğu fikri önem kazanmıştır⁴⁻⁶. Sitokin genlerindeki SNP'lerin, sitokin üretimini etkileyerek konağın viral enfeksiyonlara karşı immün tepkisinin belirlenmesinde rol aldığı ve bu yolla viral enfeksiyonun prognozuna ve antiviral tedaviye yanıtta katkıda bulunabildiği düşünülmektedir³. Birçok çalışmada araştırmacılar, HBV veya HCV ile enfekte hastaların sitokin genlerinde birden fazla polimorfizm tespit etmiş ve bu polimorfizmlerin spontan viral temizlenmenin yanı sıra tedaviye yanıtta rolüne odaklanmıştır^{2,4,5}.

Kromozom 19q13.2'de lokalize olan interlökin 28B geni (IL28B), diğer adıyla interferon lambda 3 geni (IFNL3) (Gen ID: 282617)⁷, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi bağışıklık hücreleri tarafından viral proteinlere yanıt olarak üretilen IL28B sitokininini kodlamaktadır^{3,8,9}. Tüm genom ilişkilendirme çalışmaları [Genome-Wide Association Studies (GWAS)] ile IL28B genindeki SNP'lerin, HBV veya HCV enfeksiyonunda spontan viral temizlenme, viral hepatitli hastaların tedavisinin optimizasyonu ve prognozu, hatta tedavi edilmeyen hastalarda karaciğerin fibrozise ilerlemesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir¹⁰. Bu nedenle, IL28B polimorfizmlerinin, hepatitli hastalarda prognostik ve öngörülü bir biyo-belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmektedir¹¹.

Bu çalışmada, HBV veya HCV ile enfekte hastalarda ve sağlıklı gruplarda IL28B genindeki rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 polimorfizmlerinin alelik ve genotipik dağılımlarının saptamasının yanı sıra IL28B genotipleri ile plazma düzeyleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi ve IL28B polimorfizmlerinin HBV veya HCV enfeksiyonlarının kronik enfeksiyona dönüşmesi ile olası ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Karar no: 2017-31 ve Tarih: 19.01.2017) ve Helsinki Bildirgesinde ifade edilen ilkelere göre yapıldı. Çalışma Nisan-Aralık 2017 tarihleri arasında Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarımızda HBV veya HCV pozitif olarak saptanan hastalar ve sağlıklı gönüllü bireylerden oluşturuldu. Bu amaçla, HBV enfeksiyonu olan 64 hasta (31 kadın ve 33 erkek; ortalama yaş 51.75 ± 12.92 yıl), HCV enfeksiyonu olan 66 hasta (36 kadın ve 30 erkek; ortalama yaş 49.68 ± 17.61 yıl) ve kontrol grubu olarak hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), hepatit B çekirdek antikor (anti-HBc), HCV enfekte hastanın serumunda virüse özgül antikorların (anti-HCV) ya da doğrudan vireminin (HCV-RNA) varlığı ve anti-hepatit D virüsü antikor (anti-HDV) negatif olan, ayrıca serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri normal sınırlarda olan 70 sağlıklı birey (33 kadın ve 37 erkek; ortalama 53.08 ± 16.27 yaş) çalışmaya alındı. Sağlıklı kontrol grubundaki bireylerin 31 (%44)'inde daha önce hepatit B aşısı uygulandığını gösteren tek başına Anti-HBs pozitifliği bulunmaktaydı. Kontrol grubundaki diğer bireyler (%56) hepatit B açısından seronegatif olarak belirlendi.

Hastaların en az altı ay boyunca HBsAg testinin pozitif olması ve serumda HBV DNA'sı belirlenerek HBV enfeksiyonu varlığının doğrulanması, kronik hepatit B hasta grubuna dahil edilme kriterleri olarak kullanıldı. Kronik hepatit C hasta grubu için ise altı aydan uzun süre serumda HCV RNA'sının saptanabilmesi çalışmaya dahil edilme kriteri olarak kabul edildi. İnsan immün yetmezliği virüsü (Human Immunodeficiency Virus, HIV) koenfeksiyonu olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Ortalama serum ALT düzeyleri kontrol grubunda 38 ± 43 IU/L iken, HBV veya HCV ile enfekte hastalarda sırasıyla 56 ± 45 IU/L ve 70 ± 37 IU/L olarak belirlendi.

IL28B Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

DNA izolasyonu: İçerisinde etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) bulunan tüplere hastalardan alınan 10 cc periferik venöz kandan DNA izolasyon kiti "QIAamp DNA blood mini kit" (QIAGEN, Almanya) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda genomik DNA'lar izole edildi. Qubit™ dsDNA HS test kiti [Qubit 1X dsDNA High-Sensitivity Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, ABD)] ile elde edilen genomik DNA konsantrasyonları belirlendi.

Rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 Polimorfizmlerinin Belirlenmesi: "TaqMan SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, ABD)" kullanılarak üretici firmanın belirlediği protokoller doğrultusunda gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Rt-PCR) yapıldı. Örnek başına kullanılan Rt-PCR karışımının içeriği 0.5 µl primer/ prob, 5 µl TaqMan 2X PCR karışımı, 3.75 µl RNAz içermeyen su ve 0.75 µl kalıp DNA ile toplam reaksiyon hacmi 10 µl olacak şekilde hazırlandı. IL28B genindeki rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 SNP'lerin alel ve genotip bilgileri ile primer dizileri Tablo 1'de verilmiştir.

Haplotip Analizi

Bağlantı eşitsizliği (Linkage Disequilibrium, LD) analizi SNPStats programı (<https://www.snpstats.net/start.htm>) kullanılarak yapıldı. Haplotip frekansları, yüksek tahmin değerine sahip olan ve iyi uyum gösteren (%90-98) beklenti-maksimizasyon (expectation-maximization, EM) algoritması kullanılarak SNPStats yazılımı ile uygulandı.

IL28B Düzeylerinin Tespiti

Plazma örneklerinde IL28B düzeyleri, üretici firmanın protokolüne göre ELISA (Elabscience, ABD) ile belirlendi.

Tablo 1. IL28B Geni rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 SNP'lerinin Erişim Numarası (SNP ID), Primer Dizileri, Kromozom 19 Üzerindeki Konumu, Alel ve Genotipleri (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)

SNP ID	Dizi	Pozisyon	Alel	Genotipler
rs8099917	TTTTGTTTTCTTTCTGTGAGCAAT[G/T]	39252525T>G	G/T	TT/TG/GG
	TCACCC AAA TTG GAACCATGCTGTA			
rs12979860	TGAACCAGGGAGCTCCCCGAAGGCG[C/T]	39248147C>T	C/T	CC/CT/TT
	GAACCAGGGTTGAATTGCACTCCGC			
rs12980275	TGAGAGAAGTCAAATTCCTAGAAAC[A/G]	39241143A>G	A/G	AA/AG/GG
	GACGTGTCTAAATATTTGCCGGGT			

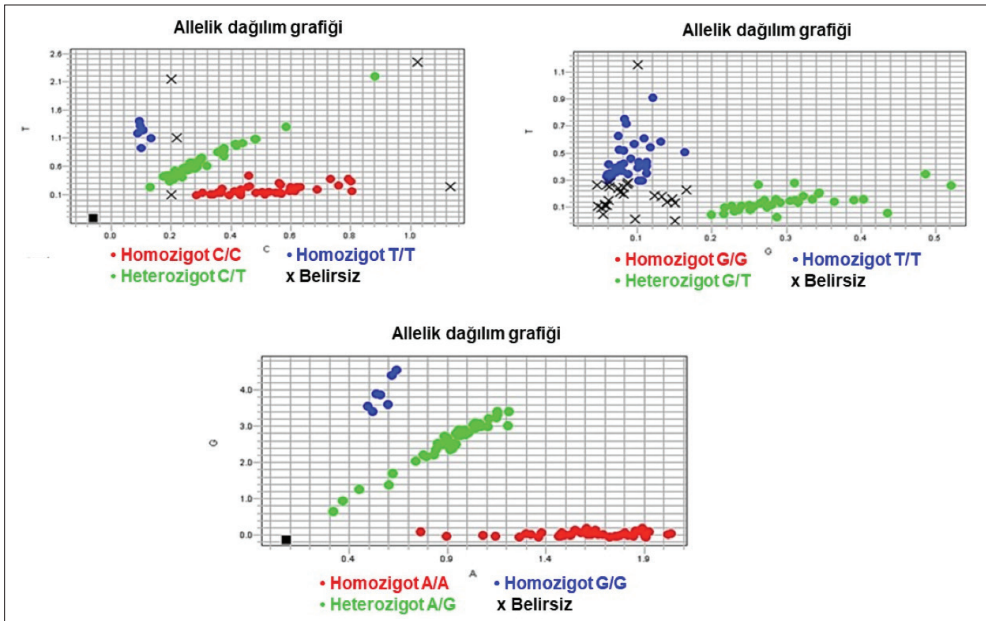
İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS.20 sürümü kullanılarak yapıldı. Kategorik değişkenler frekans (%) olarak ifade edildi. Gruplar arasında alelik ve genotipik frekanslardaki farklılıklar ile rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesine göre durumunu değerlendirmek için ki-kare (χ^2) testi kullanıldı. Gruplardaki sitokin düzeyleri tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak analiz edildi. Bonferroni testi post-hoc analiz olarak kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen tüm hasta ve kontroller için rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 SNP'lerine ait Rt-PCR verilerinin grafik gösterimi Şekil 1'de verilmiştir. Çalışma gruplarımızda rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 SNP'lerinin her biri için elde edilen genotiplerin toplamı bire eşit olup, genotipik ve alelik dağılımı Hardy-Weinberg eşitliği kriterini karşıladığı izlenmiştir ($p > 0.05$). Dolayısıyla, araştırılan polimorfizmler açısından genotipik dağılımların çalışma grubumuzda kararlı olduğu belirlenmiştir.

Kronik HBV hasta ve kontrol gruplarımızda rs12979860 CC/CT/TT genotipleri sırasıyla %54.7/%37.5/%7.8 ve %34.3/%57.1/%8.6 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre rs12979860CC ve CT genotipleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p = 0.01$); rs12979860 C aleli HBV ile enfekte hastalarda ve T aleli kontrol grubunda en yaygın alel olarak saptanmıştır ($p = 0.04$). Rs12980275 AA/AG/GG genotip oranları hasta ve kontrol gruplarında sırasıyla %59.4/%32.8/%7.8 ve %35.3/%58.8/%5.9



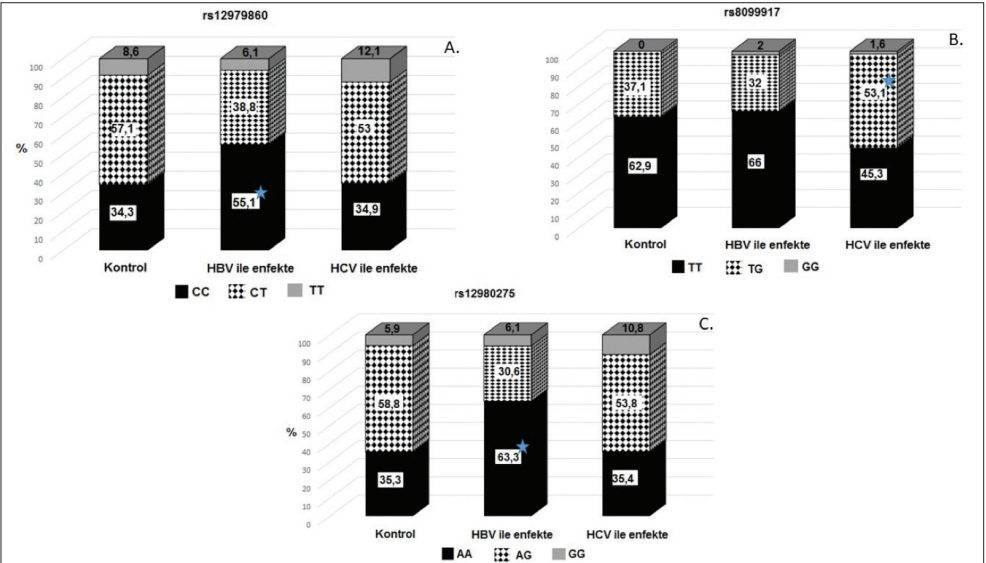
Şekil 1. Kronik HBV veya HCV hasta grupları ve kontrol grubunun IL28B polimorfizmlerine ait Rt-PCR ile belirlenen alelik dağılımları (A. rs12979860, B. rs8099917, C. rs12980275).

olarak belirlenmiştir ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulunmuştur ($p=0.003$). Ayrıca, rs12980275 G alel sıklığı kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ($p=0.04$). Rs8099917 polimorfizminde gruplar arasında genotipik dağılım sırasıyla %64.5/%33.9/%1.6 ve %62.9/%37.1/0 olup, genotipik ve alelik dağılım açısından fark saptanmamıştır.

Sonuçlarımıza göre HCV ile enfekte hasta ve kontrol gruplarının genotipik dağılımı rs12979860 için sırasıyla, %34.9/%53.1/%12.1 ve %34.3/%57.1/%8.6; rs12980275 için sırasıyla, %35.4/%53.8/%10.8 ve %35.3/%58.8/%5.9 olup gruplar arasında genotip ve alel dağılımları açısından fark izlenmemiştir. Çalışmamızda rs8099917 polimorfizminde ise, hasta ve kontrol gruplarının sırasıyla, %45.3/%53.1/%1.6 ve %62.9/%37.1/0 genotip dağılımları arasında anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.04$); ayrıca, G alel frekansının hasta grubunda daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p=0.04$).

Kronik HBV ve HCV hastaları ile kontrol gruplarının rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 genotipik dağılımları, Şekil 2'de grafik olarak gösterilmiştir. Kronik HBV hastalarında rs12979860CC ve rs12980275AA genotiplerinin kontrol grubundan fazla olduğu, kronik HCV hastalarında ise rs8099917TG genotipinin kontrol grubuna göre fazla olduğu izlenmiştir.

Kronik HBV hastaları viral yük durumuna göre yüksek ($>10^5$ IU/ml) ($n=16$) ve düşük ($<10^5$ IU/ml) ($n=33$) viral yüke sahip kronik HBV hastaları olarak iki gruba ayrılmıştır. Gruplar arasında ve kontrol grubuna göre rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 genotip ve alel frekansları açısından fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Viral yük durumuna göre pozitif ($n=31$) ve negatif ($n=35$) olarak iki gruba ayrılan kronik HCV enfeksiyonlu



Şekil 2. Çalışma gruplarında IL28B polimorfizmlerinin genotipik dağılımlarının grafik gösterimi.

* $p<0.05$. A. rs12979860; B. rs8099917; C. rs12980275.

hastaların rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 genotip ve alel frekansları değerlendirildiğinde viral yük pozitif ve negatif gruplar arasında genotip ve alel frekansları açısından fark bulunmazken ($p > 0.05$), viral yük negatif hastalarda rs8099917TG genotip ve G aleli kontrol grubundan daha yüksek sıklıkta saptanmıştır (sırasıyla $p = 0.03$ ve $p = 0.04$). Kronik HCV hastalarının viral yük durumuna göre rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 genotip ve alel frekansları Tablo II’de gösterilmiştir.

Çalışma gruplarımızda rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 SNP’leri için belirlenen haplotiplerden sekiz tanesi, %5’ten fazla frekansa sahip bulunmuştur. Rs12979860C, rs8099917T ve rs12980275A alelleri en yaygın görülen aleller olarak saptanmıştır (“wild type alel”), böylece en sık görülen haplotip olan CTA referans olarak kabul edilmiştir. Hasta grubunda belirlenen haplotipler ve HBV grubu haplotipleri görülme sıklığına göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark görülmezken, HCV ile enfekte hasta grubunda TGG haplotipi kontrol grubuna ve HBV ile enfekte hasta grubuna göre önemli ölçüde sık bulunmuştur (sırasıyla $p = 0.04$ ve $p = 0.02$). HBV veya HCV ile enfekte hastalar ve kontrol gruplarında IL28B haplotip frekansları Tablo III’te gösterilmiştir.

Kronik HBV veya HCV hasta gruplarında ortalama plazma IL28B düzeyleri benzer bulunmuştur (sırasıyla 49.19 ± 7.17 ; 60.30 ± 12.88) ancak kontrol grubunun ortalama plazma IL28B düzeyi (136.64 ± 172.11) kronik HBV veya HCV hasta gruplarına göre daha yüksek saptanmıştır (sırasıyla $p = 0.001$ ve $p = 0.01$). Kronik HBV veya HCV ile enfekte hasta ve kontrol gruplarında serum IL28B düzeyleri Şekil 3’te gösterilmiştir.

Kronik HBV hastalarında IL28B genotipleri ile plazma IL28B düzeylerinin korelasyonu Tablo IV’te gösterilmiştir. Serum ortanca IL28B değerine göre 35 pg/ml ’nin üzerindeki IL28B düzeyleri yüksek IL28B değeri olarak kabul edilmiş olup¹², rs12980275AG genotipine sahip olan kronik HBV hastalarının plazma IL28B düzeylerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p = 0.0001$). Ek olarak, plazma IL28B düzeylerinin daha yüksek olduğu belirlenen rs12980275AG genotipine sahip HBV ile enfekte hastaların viral yüklerinin daha düşük olduğu ($< 10^5 \text{ IU/ml}$) gözlemlenmiştir. HBV ile enfekte hastalarda plazma IL28B düzeyleri ile rs12979860 ve rs8099917 genotipleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p > 0.05$). Benzer olarak, HCV ile enfekte hastalarda IL28B genotipleri ve plazma IL28B düzeyleri arasında ilişki gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Çalışmamızda kronik HBV hastalarında rs12979860CC ve rs12980275AA genotiplerinin, HCV hastalarında ise rs8099917TG genotipinin kontrol grubuna göre daha yüksek sıklıkta olduğu gözlemlenmiştir. HCV hasta grubunda TGG haplotipi, HBV hasta grubu ve kontrol grubuna göre daha yaygın görülmüştür. Hasta gruplarının plazma IL28B düzeyleri kontrol grubundan daha düşük olmakla birlikte, rs12980275AG genotipine sahip HBV hastaları diğer genotiplere göre daha yüksek plazma IL28B düzeyine ve daha düşük viral yüke sahip bulunmuştur. Ayrıca viral yük negatif olan HCV hastalarında rs8099917TG genotipi ve G aleli kontrol grubuna göre daha yüksek sıklıkta olmasına rağmen plazma IL28B düzeyi ile ilişkisi gösterilememiştir.

Tablo II. Viral Yük Pozitif ve Negatif Kronik HCV Hastaları ile Kontrol Grubunun rs12979860, rs8099917 ve rs12980275 Genotip ve Alel Frekansları Arasındaki İlişki									
IL28B polimorfizm	Kontrol n= 70 (%)	Hasta* n= 1 (%)	OR	%95 GA	p	Hasta** n= 35 (%)	OR	%95 GA	p
rs12979860									
Genotip									
CC	24 (34.3)	10 (32.3)	1	Referans		13 (37.1)	1	Referans	
CT	40 (57.1)	16 (51.6)	1.042	0.408-2.662	0.93	19 (54.3)	1.140	0.479-2.717	0.76
TT	6 (8.6)	5 (16.1)	0.200	0.124-2.022	0.46	3 (8.6)	1.083	0.232-5.061	1
Alel									
C	88 (62.9)	36 (58)	1	Referans		45 (64.3)	1	Referans	
T	52 (37.1)	26 (42)	1.222	0.664-2.249	0.51	25 (35.7)	0.940	0.517-1.708	0.84
rs8099917									
Genotip									
TT	44 (62.9)	15 (51.7)	1	Referans		14 (40)	1	Referans	
TG	26 (37.1)	13 (44.8)	0.682	0.281-1.655	0.49	21 (60)	0.394	0.171-0.903	0.03
GG	0 (0)	1 (3.5)	-	-	0.26	0 (0)	-	-	-
Alel									
T	114 (81.4)	43 (74.1)	1	Referans		49 (70)	1	Referans	
G	26 (18.6)	15 (25.9)	1.530	0.740-3.161	0.33	21 (30)	1.879	0.966-3.655	0.04
rs12980275									
Genotip									
AA	24 (35.3)	11 (36.7)	1	Referans		12 (34.3)	1	Referans	
AG	40 (58.8)	14 (46.7)	1.310	0.513-3.345	0.57	21 (60)	0.952	0.398-2.276	0.91
GG	4 (5.9)	5 (16.6)	0.367	0.082-1.637	0.25	2 (5.7)	1.000	0.160-6.255	1
Alel									
A	88 (64.7)	36 (60)	1	Referans		45 (64.3)	1	Referans	
G	48 (35.3)	24 (40)	1.222	0.654-2.283	0.63	25 (35.7)	1.019	0.558-1.860	0.74

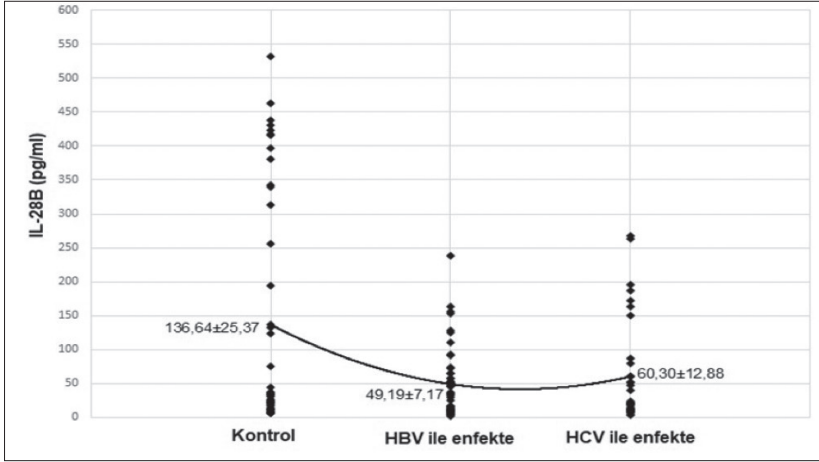
*Viral yük pozitif kronik HCV hastalar; **Viral yük negatif kronik HCV hastalar; OR: Olasılık ("Odds Ratio"); GA: Güven aralığı.

Bağışıklık sistemini aktive ederek antiviral etkinlik gösterdiği bilinen IL28B polimorfizmlerinin, hastalardaki tedavi yanıtı ile ilişkisi nedeniyle kronik HBV veya HCV enfeksiyonunun prognozunda önemli rol oynadığını ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır. Viral hepatitin klinik gidişatı ile IL28B varyasyonları arasındaki ilişki hakkında çelişkili raporlar

Tablo III. Viral Hepatitli Hastalar ve Kontrollerde IL28B Haplotip Sıklıklarının Karşılaştırılması

Haplotipler	HBV + HCV vs. Kontrol			HBV vs. Kontrol			HCV vs. Kontrol			HBV vs. HCV						
	Kontrol Haplotip n= 277 (%)	Hasta* Haplotip n= 468 (%)	HCV Haplotip n= 275 (%)	OR	%95 GA	p	OR	%95 GA	p	OR	%95 GA	p				
CTA	63 (22.7)	112 (23.9)	56 (20.9)	1	Reference	56 (29)	1	Reference	1	Reference	Reference					
TTC	44 (15.9)	61 (13)	24 (12.4)	1.282	0.781-2.105	0.32	1.630	0.882-3.011	0.11	37 (13.8)	1.057	0.600-1.862	0.84	0.649	0.344-1.222	0.18
TTA	41 (14.8)	58 (12.3)	24 (12.4)	1.257	0.758-2.083	0.37	1.519	0.818-2.820	0.18	34 (12.7)	1.072	0.600-1.914	0.81	0.706	0.372-1.339	0.28
CTG	40 (14.5)	56 (12.7)	22 (11.4)	1.270	0.763-2.114	0.35	1.616	0.858-3.043	0.13	34 (12.7)	1.046	0.584-1.871	0.88	0.647	0.337-1.242	0.19
TGG	24 (8.7)	54 (11.9)	17 (8.8)	0.790	0.446-1.399	0.41	1.255	0.612-2.573	0.53	37 (11.1)	0.577	0.308-1.080	0.04	0.459	0.232-0.910	0.02
CGA	22 (7.9)	47 (10)	20 (10.4)	0.832	0.460-1.506	0.54	0.978	0.483-1.478	0.95	27 (10.1)	0.724	0.371-1.413	0.34	0.741	0.373-1.472	0.39
TGA	22 (7.9)	39 (8.3)	15 (7.8)	1.003	0.547-1.840	0.99	0.667	0.312-1.426	0.48	24 (9)	0.815	0.412-1.611	0.55	0.625	0.297-1.315	0.21
CGG	21 (7.6)	41 (8.7)	15 (7.8)	0.911	0.495-1.676	0.76	1.224	0.585-2.645	0.56	26 (9.7)	0.718	0.364-1.415	0.33	0.577	0.276-1.204	0.14

*HBV veya HCV ile enfekte toplam hasta haplotipini yansıtmaktadır. Vs. ("versus"): karşılaştırma yapılan grupları göstermektedir. OR: Olasılık ("Odds Ratio"); GA: Güven aralığı.



Şekil 3. Kronik HBV veya HCV ile enfekte hasta ve kontrol gruplarında plazma IL28B düzeyleri (Ortalama \pm Ss).

Tablo IV. HBV ile Enfekte Hastalarda IL28B Genotipleri ile Plazma IL28B Düzeylerinin Korelasyonu

	Plazma IL28B yüksek düzeyleri (%)	Plazma IL28B düşük düzeyleri (%)	OR	%95 GA	p
rs12979860					
Genotipler					
CC	40.7	65.2	1	Referans	
CT	51.9	26.1	0.314	0.092-1.078	0.62
TT	7.4	8.7	0.733	0.380-5.592	0.77
rs8099917					
Genotipler					
TT	70.3	56.5	1	Referans	
TG	29.7	43.5	1.827	0.569-5.869	0.30
GG	1	0	-	-	-
rs12980275					
Genotipler					
AA	20.8	80.8	1	Referans	
AG	70.8	11.5	0.042	0.09-0.201	0.0001
GG	8.4	7.7	0.238	0.027-2.126	0.170.17

>35 pg/ml: Yüksek IL28B plazma düzeyi olarak kabul edilmiştir.

olmasına rağmen, konağın genetik yapısının HBV veya HCV gibi bulaşıcı hastalıklara yatkınlığın kontrol edilmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir¹³.

Çalışmamızda HBV ile enfekte hastalarda rs12979860CT genotipi ve T aleli ile rs12980275AG genotipi ve G aleli, kontrol grubuna göre daha düşük sıklıkta bulunmuş-

tur. Bu oranlar Karataylı ve arkadaşları¹⁴ ile Kim ve arkadaşları¹⁵ tarafından bildirilen sonuçlarla uyumludur. Bununla birlikte, Al-Qahtani ve arkadaşları¹⁶ rs12979860CC genotipinin sağlıklı bireylerde daha yüksek sıklıkta olduğunu, Heidari ve arkadaşları¹⁷ ise kronik HBV hastalarında rs12979860 genotiplerinin sağlıklı bireylerle benzer sıklıkta olduğunu bildirmiştir. Dolayısıyla etnik farklılıkların, bu varyasyonların sıklığındaki değişkenliklerin önemli bir nedeni olduğu söylenebilir. Zaman içinde farklı etnik gruplar arasındaki evlilikler ile genotipik varyasyonlar toplumlar arasında birbirine yakın oranlara ulaşabilse de kapalı toplumlarda genotipik varyasyonların sıklıkları diğer popülasyonlara göre farklar gösterebilmektedir.

Literatürdeki son bulgulara göre, IL28B rs12979860 polimorfizminin, interferon tedavisine yanıt ve HCV'den spontan viral temizlenme ile ilişkili olduğu bilinmektedir^{18,19}. Bu polimorfizmin, sitokinlerin ekspresyonu ve üretimi yoluyla enfeksiyonun seyri ve hastalığın prognozu üzerinde bir etkiye sahip olabileceği ve böylece HCV enfeksiyonuna karşı konak direnci üzerinde nedensel bir etkisi bulunduğu ileri sürülmektedir²⁰. Thompson ve arkadaşları²¹ tarafından kronik HCV enfeksiyonu bulunan Afrikalı Amerikalılar, Hispanikler ve beyaz ırk olmak üzere üç etnik grupta rs12979860 genotipleri bildirilmiştir. Bu durum, çalışmamız sonuçlarıyla karşılaştırıldığında beyaz ırktaki genotipik dağılım sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. Nosotti ve arkadaşlarının²² da İtalyan ve beyaz ırk popülasyonlarında elde ettiği genotipik dağılımlar çalışmamız sonuçlarımızla benzerken, Afrika toplumundaki hastaların sonuçlarından farklı bulunmuştur. Rustemoglu ve arkadaşları²³ sağlıklı bireylerde, HCV ile enfekte hastalara göre rs12979860CC genotipi ve C alelinin daha yüksek sıklıkta olduğunu istatistiksel olarak göstermiştir. Nosotti ve arkadaşları²² da rs12979860CC genotipinin Beyaz ırkta, Afrikalılarda ve Türk ırkında sürekli virolojik tepkinin bir göstergesi olabileceğini ileri sürmektedirler. Çalışmamızda ise rs12979860CC genotipi ve C aleli, HCV hasta ve kontrol gruplarında birbirine benzer bulunmuştur. Kronik HBV hasta grubumuzda %54.7 olarak belirlenen rs12979860CC sıklığı bu hipotezi destekler niteliktedir.

Karataylı ve arkadaşları¹⁴ ile Kim ve arkadaşları¹⁵ sonuçlarımızla benzer olarak, rs12980275AG genotipinin sağlıklı veya HBV enfeksiyonunun spontan olarak temizlendiği bireylerde daha yüksek sıklıkta olduğunu istatistiksel olarak göstermektedirler (sırasıyla $p=0.019$, $p=0.018$ ve $p=0.003$). Bu sonuçlara göre, rs12980275AG genotipinin duyarlı toplumlarda HBV enfeksiyonunun kronikleşmesinin önlenmesine katkı sağladığı düşünülebilir.

Kronik HCV hasta grubunda, rs8099917TG genotip ve G alel frekansları daha fazlaydı (sırasıyla $p=0.04$ ve $p=0.04$). HCV ile enfekte grupta rs8099917TG genotipinin, kontrol grubunda ise rs8099917TT genotipinin daha yüksek sıklıkta bulunması Rustemoglu ve arkadaşlarının²³ genotip frekanslarıyla benzerlik göstermiştir. Garcia ve arkadaşları²⁴ da sonuçlarımızla benzer olarak, HCV enfeksiyonu olan hastalarda rs8099917TT genotipi ve T alelinin sağlıklı bireylere göre daha düşük sıklıkta olduğunu (sırasıyla $p=0.043$ ve $p=0.0009$), GG genotipi ve G alelinin ise daha yüksek sıklıkta olduğunu bildirmiştir (sırasıyla

$p= 0.0001$ ve $p= 0.0008$). Sonuçlarımız ve literatürdeki çalışmalar²³⁻²⁵ göz önünde bulundurulduğunda rs8099917 SNP'nde G aleli, kronik HCV enfeksiyonu açısından bir risk aleli olarak değerlendirilebilir. Ayrıca çalışma sonuçlarımız ve literatürdeki²⁶⁻²⁸ bulgular, rs8099917TT genotipi ve T alelinin virüsten temizlenme ve iyi prognoz ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Birden fazla SNP'in kombine etkilerini değerlendirmek açısından haplotip analizi önem arz etmektedir. Hepatit gibi multifaktöriyel hastalıklarda özellikle haplotip analiziyle daha doğru ve güvenilir sonuçlar elde edilebilmektedir²⁹. Kronik HBV hastalarında TGG haplotipinin, yüksek viral yük ve yüksek serum ALT düzeyleri nedeniyle viral replikasyon ve hepatik enflamasyonla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir, ayrıca hepatit B ile ilişkili hepatosellüler karsinom gelişmesinde etkili olduğu da bildirilmiştir^{5,29}. Buradan yola çıkarak yaptığımız haplotip analizinde kronik HBV hastalarında haplotipler arasında herhangi bir fark gözlenmezken, HCV ile enfekte hastalarda TGG haplotipi hem kontrol grubuna göre hem de HBV hastalarına göre yüksek sıklıktaydı ($p= 0.04$ ve $p= 0.02$). Literatürdeki bulgular^{5,23-28} ve sonuçlarımız, TGG haplotipinin HCV enfeksiyonları açısından duyarlılığı artıran güçlü bir prediktif etki gösterdiğini düşündürmektedir. Bu nedenle haplotip bazlı ilişkilendirme çalışmaları bu hastalarda kritik görünmektedir.

Kronik HBV veya HCV hastalarında IL28B genotiplerinin plazma IL28B düzeyleriyle ilişkisi hakkında çelişkili bulguların varlığına rağmen, IL28B polimorfizmlerinin gen ekspresyon düzeyleri ve sitokin üretimini etkileyebileceği kuvvetle vurgulanmaktadır^{5,8,16,30,31}. Li ve arkadaşları⁵ rs12979860CC, rs8099917TT ve rs12980275AA genotiplerine sahip olan kronik HBV hastalarında, plazma IL28B düzeylerinin önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ve artmış IL28B ekspresyonunun hastalarda düşük hepatit B viral yüküyle de korelasyonunu bildirmişlerdir. İnaktif HBV hastalarında yüksek plazma IL28B düzeylerinin rs12979860CC genotipiyle bağlantılı olduğu belirtilmiştir³⁰. Çalışmamızda HBV veya HCV hepatitli hastalarda kontrol grubuna göre plazma IL28B düzeylerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir (sırasıyla $p= 0.001$ ve $p= 0.01$). Ayrıca, rs12980275AG genotipine sahip olan HBV hastalarının diğer genotiplere göre plazma IL28B düzeyleri daha yüksek ($p= 0.0001$) iken, viral yüklerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle IL28B ekspresyonunun viral hepatiti önleyici bir rol oynayabileceği, özellikle rs12980275AG genotipi varlığında plazma IL28B düzeylerinin viral replikasyonun sınırlandırılması yoluyla HBV enfeksiyonunda koruyucu bir etki gösterebileceği ve böylece iyi prognostik faktör olarak kullanılabilir. Kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda ise rs12979860 SNP'de C aleli varlığının daha yüksek IL28A/B üretimi sağlayarak viral temizlenmeye katkıda bulunabileceği ve bu şekilde HCV enfeksiyonunun kendiliğinden gerilemesi üzerinde rol oynadığı ileri sürülmektedir³⁰. Ancak bir başka çalışmada plazma IL28B düzeyleri ile rs12979860 ve rs12980275 SNP'leri arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı, rs8099917GG genotipine sahip HCV ile enfekte hastaların GT ve TT genotiplerine göre daha yüksek plazma IL28B düzeylerine sahip olduğu belirtilmiştir¹⁶. Sonuçlarımıza göre HCV ile enfekte hastalarda IL28B genotipleri ile plazma IL28B düzeyleri arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. Literatürdeki ve sonuçlarımızdaki bu ayrılıklar etnik fark-

lılıklardan, epigenetik değişikliklerden ve çalışma gruplarının büyüklüğünden kaynaklanabileceği gibi obezite veya nikotin, alkol ve kimyasallar gibi çeşitli maruziyetlerin yer aldığı komorbid durumlar nedeniyle de olabilir. Bu nedenle, HBV ya da HCV ile enfekte hastalarda IL28B gibi immün aktiviteden sorumlu genlerin genotipik ve alelik dağılımını belirlemenin, bu kompleks enfeksiyöz hastalıkların tedavi etkinliği ve kronikliği açısından etkili mekanizmaların anlaşılmasında önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız, Türkiye’de HBV veya HCV ile enfekte hastalarda IL28B genotipik dağılımları, haplotip analizleri ve plazma IL28B düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı ilk çalışma olma özelliğindedir. Çalışma grubumuzdaki tüm hastaların kronik viral hepatitli olması nedeniyle viral temizlenmenin spontan gerçekleştiği hastaları değerlendirememiş olmamız bu araştırmanın önemli kısıtlamalarından biridir; diğeri ise örneklem büyüklüğüdür. Bu nedenle farklı coğrafik bölgelerde ve kendiliğinden iyileşen hastalar da dahil edilerek daha büyük gruplarda elde edilebilecek bulgular, sonuçların genelleştirilmesi açısından önemlidir.

Sitokin üretimini ve işlevini etkileyen genlerin polimorfizmleri gibi genetik faktörler, genel antiviral immün tepkinin gerçekleşmesi ve konak duyarlılığının oluşmasında veya viral hepatite dirençte önemli bir rol oynamaktadır. Kronik viral hepatitli hastalarda hastalığın progresyonunun sadece IL28B polimorfizmleriyle ilişkili olmadığı, aynı zamanda viral, konak ve çevresel olmak üzere birçok faktörle ilişkili olabileceği bilinmektedir. Ancak IL28B varyasyon analizleri viral hepatit duyarlılığındaki değişkenliğin daha iyi anlaşılmasını sağlayacağı gibi kronik viral hepatitin tanı ve prognozunu belirlenmesi için bir biyolojik belirteç olarak da kullanılabilir. HBV enfeksiyonunda, rs12980275AG genotipi varlığında, artmış IL28B ekspresyonunun viral replikasyonun sınırlandırılması ve viral hepatitin önlenmesi yoluyla iyi bir prognostik faktör olarak kullanılabileceği ön görülebilir. Bu polimorfizmlerin yakın gelecekte kronik viral hepatitlerin gen terapileri için potansiyel hedefler olarak hizmet edebileceği de düşünülebilir. Ancak genler arası ilişkiler ve gen-çevre etkileşimi göz önüne alındığında, polimorfizmler ile enfeksiyöz hastalıkların karmaşık ilişkilerini açığa çıkaracak, farklı etnisiteden büyük gruplarda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Karar No: 2017-31 ve Tarih: 19.01.2017).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Schadler S, Hildt E. HBV life cycle: entry and morphogenesis. *Viruses* 2009; 1(2): 185-209.
2. Zhang X, Hou J, Lu M. Regulation of hepatitis B virus replication by epigenetic mechanisms and microRNAs. *Front Genet* 2013; 4: 202.
3. Moudi B, Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H. Impact of host gene polymorphisms on susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Infect Genet Evol* 2016; 44: 94-105.

4. Cheng CH, Lin CC, Chen HL, Lin IT, Wu CH, Lee YK, et al. High frequencies of a favorable IL-28B rs8099917 polymorphism and the clinical implications in patients with HCV in one multiracial area of Taiwan. *Kaohsiung J Med Sci* 2017; 33(10): 510-5.
5. Li W, Jiang Y, Jin Q, Shi X, Jin J, Gao Y, et al. Expression and gene polymorphisms of interleukin 28B and hepatitis B virus infection in a Chinese Han population. *Liver Int* 2011; 31(8): 1118-26.
6. Zhang QX, Li SL, Yao YQ, Li TJ. Association between interleukin-21 gene polymorphisms (rs12508721) and HBV-related hepatocellular carcinoma. *Int J Immunogenet* 2016; 43(3): 151-8.
7. National Centre for Biotechnology Information (NCBI). Gene. IFNL3 interferon lambda 3 [Homo sapiens (human)]. Available on: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/282617> (Accessed date: 26.01.2021).
8. Alborzi A, Hashempour T, Moayedi J, Musavi Z, Pouladfar G, Merat S. Role of serum level and genetic variation of IL-28B in interferon responsiveness and advanced liver disease in chronic hepatitis C patients. *Med Microbiol Immunol* 2017; 206(2): 165-74.
9. Heim MH, Thimme R. Innate and adaptive immune responses in HCV infections. *J Hepatol* 2014; 61(Suppl 1): S14-25.
10. Boglione L, Cusato J, Cariti G, Di Perri G, D'Avolio A. Role of IL28B genotype in the liver stiffness increase in untreated patients with chronic hepatitis C. *Infect Genet Evol* 2017; 53: 195-8.
11. Kelly C, Klenerman P, Barnes E. Interferon lambdas: the next storm. *Gut* 2011; 60(9): 1284-93.
12. Shi X, Chi X, Pan Y, Gao Y, Li W, Yang C, et al. IL28B is associated with outcomes of Chronic HBV infection. *Yonsei Med J* 2015; 56(3): 625-33.
13. Qin S, Wang J, Zhou C, Xu Y, Zhang Y, Wang X, et al. The influence of interleukin 28B polymorphisms on the risk of hepatocellular carcinoma among patients with HBV or HCV infection. *Medicine* 2019; 98(38): e17275.
14. Karataylı SC, Bozdayı M, Karataylı E, Öztürk T, Hussein AA, Albayrak R, et al. Interleukin-28 gene polymorphisms may contribute to HBsAg persistence and the development of HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Liver Int* 2015; 35(3): 846-53.
15. Kim SU, Song KJ, Chang HY, Shin EC, Park JY, Kim DY, et al. Association between IL28B polymorphisms and spontaneous clearance of hepatitis B virus infection. *PLoS One* 2013; 8(7): e69166.
16. Al-Qahtani AA, Al-Anazi MR, Abdo AA, Sanai FM, Al-Hamoudi WK, Alswat KA, et al. Genetic variation in interleukin 28B and correlation with chronic hepatitis B virus infection in Saudi Arabian patients. *Liver Int* 2014; 34(7): e208-16.
17. Heidari Z, Moudi B, Mahmoudzadeh-Sagheb H, Hashemi M. The correlation between interferon lambda 3 gene polymorphisms and susceptibility to hepatitis B virus infection. *Hepat Mon* 2016; 16(3): e34266.
18. Shi X, Chi X, Pan Y, Gao Y, Li W, Yang C, et al. IL28B is associated with outcomes of chronic HBV infection. *Yonsei Med J* 2015; 56(3): 625-33.
19. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009; 41(10): 1100-4.
20. Mousavi Nasab SD, Ahmadi Vasmehjani A, Kaghazian H, Mardani R, Zali F, Ahmadi NA, et al. Association of IL28B (IFNL3) rs12979860 mRNA levels, viral load and liver function among HCV genotype 1a patients. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2019; 12(Suppl 1): 156-62.
21. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, Ge D, Fellay J, Shianna KV, et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2010; 139(1): 120-9.
22. Nosotti L, Petrelli A, Genovese D, Catone S, Argentini C, Vella S, et al. Distribution of IL28B polymorphism in a cohort of Italians and immigrants with HCV infection: association with Viraemia, stage of fibrosis and response to treatment. *J Immigr Minor Health* 2017; 19(4): 876-82.
23. Rüstemoğlu A, Yalçın D, Günel Ö, Çelik B, Barut Ş, Ateş Ö. Interleukin 28B rs12979860CT, rs12980275GA, rs8099917GT and TT genotypes are the Predictors of Rapid Viral Response in Hepatitis C Virus-Infected Patients. *Viral Hepat J* 2016; 22(3): 97-102.

24. Garcia RF, Moreira S, de Araújo Ramos AL, Ferreira LE, de Mattos AA, Tovo CV, et al. Interleukin 28B-related polymorphisms: a pathway for understanding hepatitis C virus infection? *World J Gastroenterol* 2013; 19(42): 7399-404.
25. Al-Qahtani A, Al-Anazi M, Abdo AA, Sanai FM, Al-Hamoudi W, Alswat KA, et al. Correlation between genetic variations and serum level of interleukin 28B with virus genotypes and disease progression in chronic hepatitis C virus infection. *J Immunol Res* 2015; 2015: 768470.
26. Dong ZX, Zhou HJ, Xiang XG, Guo SM, Zhuang Y, Zhao GD, et al. IL28B genetic variations are associated with treatment response of patients with chronic hepatitis C in a Chinese Han population. *J Dig Dis* 2013;16(2): 90-7.
27. Sarrazin C, Susser S, Doehring A, Lange CM, Müller T, Schlecker C, et al. Importance of IL28B gene polymorphisms in hepatitis C virus genotype 2 and 3 infected patients. *J Hepatol* 2011; 54(3): 415-21.
28. Mah YH, Liu CH, Chen CL, Tseng TC, Liu CJ, Chen PJ, et al. Prevalence and clinical implications of IL28B genotypes in Taiwanese patients with chronic hepatitis C. *J Formos Med Assoc* 2016; 115(11): 953-60.
29. Ren S, Lu J, Du X, Huang Y, Ma L, Huo H, et al. Genetic variation in IL28B is associated with the development of hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61(9): 1433-9.
30. Honda M, Sakai A, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, et al. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterol* 2010; 139(2): 499-509.
31. Langhans B, Kupfer B, Braunschweiger I, Arndt S, Schulte W, Nischalke HD, et al. Interferon-lambda serum levels in hepatitis C. *J Hepatol* 2011; 54(5): 859-65.