

Araştırma Makalesi

**IL18 -137 G/C ve -607 C/A Gen Polimorfizmleri ile
Kronik Hepatit B Arasındaki İlişki**

**Relationship Between IL18 -137 G/C and -607 C/A Gene Polymorphisms
and Chronic Hepatitis B**

Sevim KARAKAŞ ÇELİK¹, Gülay BÖREKÇİ², Özlem KANDEMİR³, Serap YALIN⁴,
Mehmet BERKÖZ⁵, İrem BEKALP⁶, Nurcan ARAS⁶

¹Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak

²Mersin Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Mersin

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

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

⁵Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Mersin

⁶Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Mersin

Özet

Amaç: Hepatit B virus (HBV) enfeksiyonu ve enfeksiyonu takiben ortaya çıkan patolojik değişimler oldukça ciddi sonuçları olan global bir sağlık sorunudur. IL18, HBV gibi enfeksiyöz organizmalara karşı immün sistemin regülasyonunda oldukça önemli rol oynayan bir sitokindir. Yapılan son çalışmalar IL18 genindeki varyasyonların IL18 gen ekspresyonunu etkilediğini göstermiştir. Bu çalışmada IL18 gen polimorfizmleri (rs1946518, rs187238) ile kronik HBV enfeksiyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Yöntem: Kronik hepatit B hastası olan 113 birey ve kontrol grubu olarak seçilen 71 bireyin IL18 gen polimorfizmi polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular: IL18 -137 G/C polimorfizmi için genotip frekansları hasta grubunda GG, GC ve CC genotipleri sırasıyla %33.6, %50.4 ve %15.9 kontrol grubunda ise %32.0, %46.5 ve %18.3 olarak saptanmıştır. IL18 -607 C/A polimorfizmi için ise CC, CA ve AA genotip frekansları hasta grubunda %55.8, %34.5 ve %9.7; kontrol grubunda ise %62, %31 ve %7 olarak bulunmuştur. IL18 polimorfizmlerinin genotip dağılımlarının gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir (sırasıyla p=0.66, p=0.85).

Sonuç: Elde edilen bu sonuçlar IL18 gen -137 G/C and -607 C/A gene polimorfizmi ile kronik Hepatit B arasında anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir. Ancak daha büyük ölçekli çalışmalar IL-18 -137 G/C and -607 C/A gene polimorfizminin kronik hepatit B patogenezinin anlaşılmasında faydalı olabilir.

Anahtar Sözcükler: interlökin 18; polimorfizm; hepatit B

Abstract

Aim: Hepatitis B virus (HBV) infection and its sequelae are now recognized as serious problems globally. IL-18 is a cytokine that play an important role in the regulation of immune response against infectious organisms, including HBV. Recently, several studies have shown that genetic variations in IL-18 gene influence expression of IL18 gene. We aimed to elucidate the relationship between IL18 gene polymorphisms (rs1946518, rs187238) and HBV infection.

Method: Using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method, IL18 gene polymorphisms were studied in 113 hepatitis B patients and 71 control subjects.

Results: For IL18 -137 G/C polymorphism, the frequencies of GG, GC and CC genotypes were detected as 33.6%, 50.4% and 15.9% in the patient cases, and 32.0%, 46.5% and 18.3% in the controls. For IL18 -607 C/A polymorphism, genotype frequencies of CC, CA and AA were found to be 55.8%, 34.5% ve 9.7% in the patient cases and 62%, 31% and 7% in the controls. The genotype distribution of the IL18 polymorphisms was not statistically significant between the groups (p=0.66, p=0.85, respectively).

Conclusion: These results showed that there was no relationship between IL18 gene polymorphisms and chronic hepatitis B. However, larger-scale studies may be beneficial in understanding the role of IL-18 -137 G/C and -607 C/A gene polymorphisms in the pathogenesis of chronic hepatitis B.

Keywords: interleukin 18; polymorphism; hepatitis B

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2014;7(1):30-34

Geliş tarihi : 09.09.2014

Kabul tarihi : 15.10.2014

Yazışma adresi : Dr.Sevim KARAKAŞ ÇELİK, Bülent Ecevit
Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Zonguldak

Tel : 0505 6655450

Faks : 0372 2610264

E-posta : sevimkarakas@hotmail.com

Giriş

Kronik viral hepatitler dünyadaki başlıca sağlık sorunlarından biridir. Kronik hepatit B (KHB), siroz ve hepatosellüler karsinoma gibi komplikasyonlara yol açması nedeniyle önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Dünyada 400 milyon kişi hepatit B ile enfektedir (1). Enfeksiyonunun doğal seyri oldukça değişkendir. Bazı hastalar bütün yaşamları boyunca virüsü taşımalarına karşın hiçbir karaciğer fonksiyon bozukluğu göstermezken, bazılarında kısa süre içerisinde karaciğer yetmezliğine kadar ilerleyebilir. Hepatit B enfeksiyonu (HBV)'nda kronikleşmeye giden süreçte ne gibi faktörlerin etkili olduğu ve enfeksiyonun hangi bireyde serokonversiyonla sonuçlanacağı, hangi bireyde kronikleşeceği şu an için tam olarak açıklanamamaktadır. Fakat son yapılan çalışmalarda hepatit B virüs enfeksiyonlarında karaciğerdeki enflamasyon ve hasardan virüsün kendisinden ziyade virüsle enfekte hücrelerin oluşturduğu hücresel tip immün yanıtın önemli olduğuna yönelik bulgular mevcuttur (2-4). Sitokinler immün sistemin aktivasyonu, doğal ve kazanılmış bağışıklıktaki rolleri nedeni ile hücresel immün yanıtta dolayısıyla HBV enfeksiyonunun patogenezinde oldukça büyük öneme sahiptir (5). Sitokin üretimi genetik olarak düzenlenmektedir ve sitokin genlerindeki polimorfizmler transkripsiyonel aktiviteyi etkileyerek sitokin üretiminde kişisel varyasyonlara yol açmaktadır (6-8). HBV ile enfekte hastalarda, hastalığın şiddeti ile ilişkili olabilen sitokin gen polimorfizmlerinin belirlenmesi, viral hepatitlerin prognozu hakkında önemli ipuçları verebilir. İnterlökin (IL) 18, T hücreleri ve doğal öldürücü (Naturel Killer; NK) hücrelerinden interferon (IF) üretimini tetiklediğinden ilk çalışmalarda IF- indükleyici faktör olarak adlandırılmış ve yardımcı T hücreleri tip 1 (Th1) yanıtta oldukça önemli rol oynadığı belirlenmiştir (9). Ancak sonraki yıllarda yapılan çalışmalar IL-18'in aynı zamanda IL-4 ve IL-13 gibi yardımcı T hücreleri tip 2 (Th2) sitokinlerin üretimini de indüklediğini göstermiştir (10). Viral hepatite karşı immün yanıtta Th1 hücrelerden salınan IL-2, TNF- α ve INF- baskın ise viral çoğalma etkin bir şekilde önlenirken; Th2 hücrelerden salınan sitokinler (IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13) baskın olduğunda ise viral çoğalma ve hastalığın kronikleşmesi söz konusu olmaktadır. Dolayısı ile Th1 ve Th2 dengesi, hepatit enfeksiyonlarında hastalığın gidişatını, (akut veya kronik) etkileyebilmektedir (11-13). IL18'in ise hem Th1 hem de Th2 yanıtta etkili olduğu göz önünde bulundurulduğunda (10) HBV enfeksiyonunun patogenezinde oldukça önemli rol oynadığı ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada IL-18 genindeki -607 C/A ve -137 G/C polimorfizmi ile kronik hepatit B arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Çalışmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğinde kronik hepatit B

tanısı alan 113 hasta ile kontrol grubu olarak HBsAg, anti-HBc, anti-HBs, anti-HCV ve anti-HIV'i negatif olan 71 sağlıklı kişiden oluşan, toplam 184 kişi alındı. Çalışma öncesi Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi yerel etik kurulundan onay alınıp tüm hastalar çalışma ile ilgili ayrıntılı olarak bilgilendirilmiş, çalışma esnasında Helsinki Bildirgesi'ne uyulmuştur.

Genotip Analizi

IL-18 genindeki -137 G/C (rs187238) ve -607 C/A (rs1946518) polimorfizmleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemleriyle belirlendi.

IL-18 geni -137 G/C (rs187238) ve -607 C/A (rs1946518) polimorfizmlerinin tespiti için sırasıyla Forward; 5'-ATG CTT CTA ATG GAC TAA GGA-3' ve Reverse; 5'-GTA ATA TCA CTA TTT TCA TGA ATT-3' ile Forward; 5'-GCC CTC TTA CCT GAA TTT TGG TAG CCC TC ile Reverse; 5'-AGA TTT ACT TTT CAG TGG AAC AGG AGT CC primerleri kullanıldı. PCR işlemi, 20-100 ng DNA, 100 μ M dNTPs, 20 pmol primer, 1.5 mM MgCl₂, (NH₄)SO₄'lı 1 x PCR buffer (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) ve 1 Unite Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas) içerecek şekilde distile su ile 25 μ L hacminde gerçekleştirildi. PCR şartları, 95°C'de 3 dakika ilk denatürasyondan sonra, 35 siklus; 95°C'de 45 saniye denatürasyon, ve 72°C'de 1.5 dakika sentez (extension) ve 1 siklus 72°C'de 7 dakika son sentez olacak şekilde yapıldı. IL18 -137 G/C polimorfizmi için primer bağlanma (annealing) ısısı 50°C'de 45 saniye, -607 C/A polimorfizmi için ise 60°C'de 30 saniye olarak gerçekleştirildi. RFLP işleminde; -137 G/C polimorfizmi için uygun primerler kullanılarak elde edilen 10 μ L PCR ürünü 10 U EcoRI (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) restriksiyon enzimi ile 37°C'de 16 saat inkübe edildi. -607 C/A polimorfizmi için ise 10 μ L'lik PCR ürünü 10 U TruI (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) restriksiyon enzimi ile 65°C'de 4 saat inkübe edildi. Kesim sonucu elde edilen PCR ürünleri %3'lük agaroz jelde yürütülerek değerlendirildi.

İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 19.0 paket programında ki-kare ve binary lojistik regresyon analizi testleri kullanılarak değerlendirildi ve p \leq 0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

2010-2012 tarihleri arasında yürütülen çalışmaya KHB'li 113 hasta ile kontrol grubu olarak ta 71 sağlıklı birey alınmıştır. Çalışma grubunun sosyo-demografik özelliklerine bakıldığında; KHB tanısı alan hastaların yaş ortalaması 41.25 \pm 10.75 olup, 48'si kadın, 65'i erkek hastadan oluşmaktadır. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 35.13 \pm 18.71 olup 31 kadın, 40 erkekten oluşmaktadır.

KHB ile IL18 -137 polimorfizmi arasındaki ilişki incelendiğinde; GG, GC ve CC genotipi sırasıyla hasta grubunda %55.8, %34.5 ve %9.7; kontrol grubunda ise %62, %31 ve %7 olarak bulunmuştur. Kronik hepatit B ile IL18 -607 polimorfizmi arasındaki ilişki incelendiğinde ise hasta grubunda CC, CA ve AA genotipleri sırasıyla %33.6, %50.4 ve %15.9 kontrol grubunda ise %32.0, %46.5 ve %18.3 olarak saptanmıştır; kronik hepatit B grubu genotip frekansları kontrol grubu ile

kıyaslandığında her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (sırasıyla $p=0.66$, $p=0.85$; Tablo 1 ve 2). Benzer şekilde kronik hepatit B hastalarının IL18 geni -137 ve -607 polimorfizmleri alel frekansları kontrol grubu ile kıyaslandığında da anlamlı bir farklılık görülmemiştir (sırasıyla, $p=0.38$, $p=1$). Ayrıca kronik hepatit B ile IL18 haplotipleri arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p=0.77$; Tablo 3).

Tablo 1. Kronik HBV ile IL18 rs187238 gen polimorfizmi arasındaki ilişki

IL 18 -137 G/C Polimorfizmi	Genotip	Kontrol grubu n=71 (%)	Hasta grubu n=113 (%)	p	OR (%95 CI)
	GG	44 (62)	63 (55.8)	0.66	Referans
	GC	22 (31)	39 (34.5)		1.238 (0.647-2.370)
	CC	5 (7)	11 (9.7)		1.537 (0.499-4.733)
	Alel	Kontrol grubu n=142 (%)	Hasta grubu n=226 (%)	p	OR (%95 CI)
G	110 (77.5)	165 (73)	0.38	Referans	
C	32 (22.5)	61 (27)		1.271 (0.778-2.077)	

Tablo 2. Kronik HBV ile IL18 rs1946518 gen polimorfizmi arasındaki ilişki

IL 18 -607 C/A Polimorfizmi	Genotip	Kontrol grubu n=71 (%)	Hasta grubu n=113 (%)	p	OR (95 % CI)
	CC	25 (32.0)	38 (33.6)	0.85	Referans
	CA	33 (46.5)	57 (50.4)		1.136 (0.586-2.204)
	AA	13 (18.3)	18 (15.9)		0.911 (0.380-2.183)
	Alel	Kontrol grubu n=142 (%)	Hasta grubu n=226 (%)	p	OR (95 % CI)
C	83 (58.5)	133 (58.8)	1.0	Referans	
A	59 (41.5)	93 (41.2)		1.017 (0.664-1.557)	

Tablo 3. Kronik HBV ile IL18 -137/-607 haplotipleri arasındaki ilişki

Haplotip Analizi	IL18 -137/-607	Kontrol grubu n=142 (%)	Hasta grubu n=226 (%)	p	OR (95 % CI)
	G/C	58 (40.8)	88 (38.9)	0.77	Referans
	G/A	52 (36.6)	77 (34.1)		0.976 (0.602-1.583)
	C/C	25 (17.6)	45 (19.9)		1.186 (0.657-2.142)
	C/A	7 (4.9)	16 (7.1)		1.506 (0.584-3.888)

Tartışma

Siroz ve hepatosellüler karsinomunun en sık nedeni olan HBV enfeksiyonu, dünyanın ve ülkemizin önemli sağlık problemlerindedir (14). Klinik araştırmalar kronik Hepatit B'nin patogeneğinde Th1 ve Th2 sitokinler arasındaki dengenin rol oynadığını ortaya koymuştur ve IL-18 Th1/Th2 dengesinde oldukça önemli bir mediatördür (10-13). IL-18, IL-1 sitokin ailesinin proinflatuar bir üyesi olup HBV virüsünün temizlenmesinde ve hastalık patogeneğinde oldukça önem taşımaktadır (15). McGuinness ve ark. (16) IL-18 seviyesinin viral hepatit hastalarında yükseldiğini ve karaciğer hasarının genişliği ile korele olduğunu göstermişlerdir. Ek olarak *in vivo* çalışmalarda IL-18'in transgenik farelerde karaciğerdeki HBV replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (16).

Giedraitis ve ark. (18) IL-18 geninde -656, -607, -137, +113 ve +127 olmak üzere 5 tane polimorfizm saptamış ve bu polimorfizmler arasında özellikle promoter bölgedeki -607 ve -137. pozisyondaki polimorfizmlerinin IL-18 ekspresyonunu etkilediğini ve ona bağlı zincirleme immünolojik fonksiyonlar arasında fonksiyonel açıdan farklılıklar yarattığını göstermişlerdir. IL18-137. pozisyondaki G>C transversiyonunun H4TF1 nükleer faktör bağlanma bölgesini değiştirdiği ve -607. pozisyondaki C>A transversiyonunun ise cAMP cevap elementi bağlanma proteininin (CREB) bağlanma bölgesinde hasara yol açtığı belirlenmiştir. Bu varyasyonları taşıyan bireylerde IL18 promoter aktivitesinin düşük olması nedeni ile IL-18 üretiminin düşük olduğu gösterilmiş olup bu polimorfizmlerin romatoid artrit, SLE, tip 1 diabetes ve HCV enfeksiyonu ile ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (19-21). Ayrıca IL-18 gen polimorfizminin Hepatit B ile ilişkisi de birçok etnik popülasyonda gösterilmekle (22-24) birlikte Türkiye'de yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada IL-18 gen polimorfizmleri ile hepatit B arasındaki ilişki araştırılmış ancak hepatit B ile IL-18 gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

IL-18 gen polimorfizminin HBV enfeksiyonuna yakınlıkla ilişkili olup olmadığı ile ilgili farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalardan elde edilen veriler oldukça çelişkilidir. Migita ve ark. (22) yaptıkları çalışmada -607 AA genotipinin hepatit B'ye karşı koruyucu etki yaptığını (OR, 0.41) gösterirken -607 AG genotipinin (OR, 2.07) ise hepatit riskini 2.07 kat arttırdığını göstermiştir. Ayrıca -607 AA genotipinin ve -137 C allelinin HBV'ye bağlı karaciğer hasarına karşı koruyucu etki yaptığını göstermiştir. Zhang ve ark. (23) ise -137 C alelinin HBV enfeksiyonuna karşı koruyucu rol oynadığını (OR, 1.80) belirtirken IL18 geninin -607. pozisyonundaki polimorfizmi ile HBV enfeksiyonu arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir. Aynı çalışmada ayrıca, C/C haplotipi ile (-137. pozisyonda C ve -607. pozisyonda C olması) hepatit B arasında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. IL18 -607 C/A polimorfizmi ile hepatit B arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken yüksek

viral yüke sahip grupla kıyaslandığında düşük viral yüke sahip grupta -607 AA genotip sıklığının daha düşük olduğu tespit edilmiş ve HBV-DNA replikasyonunun önlenmesi ile AA genotipinin ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmadan farklı olarak Hirankarn ve ark. (24) ise -607 AA polimorfizmi ile HBV enfeksiyonu arasında ilişki olduğunu ortaya koymakla birlikte -137. pozisyondaki polimorfizm ile HBV enfeksiyonu arasında anlamlı bir ilişki bulamamıştır. Haplotip analizi sonucunda ise G/A haplotipinin (-137. pozisyonda G ve -607. pozisyonda A olması) HBV riskini 1.47 kat arttırdığını göstermişlerdir (OR, 1.47). Bizim çalışmamızda ise haplotipler ile HBV enfeksiyonu arasında anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmalar arasındaki bu farklılığın etnik varyasyonlardan kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, yaptığımız çalışmada kronik hepatit B ile IL-18 -137 G/C ve -607 C/A gen polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır. Ancak IL-18 gen polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonlarındaki rolünün belirlenebilmesi için taşıyıcı, kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinoma gibi farklı risk gruplarını içeren daha büyük ölçekli çalışmaların faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Busca A, Kumar A. Innate immune responses in hepatitis B virus (HBV) infection. *Virology* 2014;11:22.
2. Fernan A, Cayzer CJR, Cooksley GE. HBsAg-induced antigen specific T and B lymphocyte responses in chronic hepatitis B virus carriers and immune individuals. *Clin Exp Immunol* 1989;76(2):222-6.
3. Wang J, Cai Y, Ji H, Feng J, Ayana DA, Niu J, Jiang Y. Serum IL-33 levels are associated with liver damage in patients with chronic hepatitis B. *J Interferon Cytokine Res* 2012;32(6):248-53.
4. Ye Y, Xie X, Yu J, Zhou L, Xie H, Jiang G, Yu X, Zhang W, Wu J, Zheng S. Involvement of Th17 and Th1 effect or responses in patients with Hepatitis B. *J Clin Immunol* 2010;30(4):546-55.
5. Das A, Maini MK. Innate and adaptive immune responses in hepatitis B virus infection. *Dig Dis* 2010;28(1):126-32.
6. Shafia S, Dilafroze, Sofi FA, Rasool R, Javeed S, Shah ZA. Rheumatoid arthritis and genetic variations in cytokine genes: a population-based study in Kashmir Valley. *Immunol Invest* 2014;43(4):349-59.
7. Birbian N, Singh J, Jindal SK, Sobti RC. High risk association of IL-4 VNTR polymorphism with asthma in a North Indian population. *Cytokine* 2014;66(1):87-94.
8. Warlé MC, Farhan A, Metselaar HJ, Hop WC, Perrey C, Zondervan PE, Kap M, Kwekkeboom J, Ijzermans JN, Tilanus HW, Pravica V, Hutchinson IV, Bouma GJ. Are cytokine gene polymorphisms related to in vitro cytokine production profiles? *Liver Transpl* 2003;9(2):170-81.

9. Okamura H, Tsutsi H, Komatsu T, Yutsudo M, Hakura A, Tanimoto T, Torigoe K, Okura T, Nukada Y, Hattori K, Akita K, Namba M, Tanabe F, Konishi K, Fukuda S, Kurimoto M. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature* 1995;378(6552):88-91.
10. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001;12(1):53-72
11. Bertoletti A, D'Elis MM, Boni C, De Carli M, Zignego AL, Durazzo M, Missale G, Penna A, Fiaccadori F, Del Prete G, Ferrari C. Different cytokine profiles of intraphepatic T cells in chronic hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Gastroenterology* 1997;112(1):193-9.
12. Maini MK, Boni C, Ogg GS, King AS, Reignat S, Lee CK, Larrubia JR, Webster GJ, McMichael AJ, Ferrari C, Williams R, Vergani D, Bertoletti A. Direct ex vivo analysis of hepatitis B virus-specific CD8(+) T cells associated with the control of infection. *Gastroenterology* 1999;117(6):1386-96.
13. Thimme R, Wieland S, Steiger C, Ghayeb J, Reimann KA, Purcell RH, Chisari FV. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol* 2003;77(1):68-76.
14. Kemal Celen M, Tekin Koruk S, Aygen B, Dal T, Karabay O, Tosun S, Koksall I, Turgut H, Onlen Y, Balik I, Yildirim N, Sinan Dal M, Ayaz C, Tabak F. The characteristics of patients with chronic hepatitis B in Turkey. *Med Glas (Zenica)* 2014;11(1):94-8.
15. Penna A, Del Prete G, Cavalli A, Bertoletti A, D'Elis MM, Sorrentino R, D'Amato M, Boni C, Pilli M, Fiaccadori F, Ferrari C. Predominant T-helper 1 cytokine profile of hepatitis B virus nucleocapsid-specific T cells in acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 1997;25(4):1022-7.
16. McGuinness PH, Painter D, Davies S, McCaughan GW. Increases in intrahepatic CD68 positive cells, MAC387 positive cells, and proinflammatory cytokines (particularly interleukin 18) in chronic hepatitis C infection. *Gut* 2000;46(2):260-9.
17. Kimura K, Kakimi K, Wieland S, Guidotti LG, Chisari FV. Interleukin-18 inhibits hepatitis B virus replication in the livers of transgenic mice. *J Virol* 2002;76(21):10702-7.
18. Giedraitis V, He B, Huang WX, Hillert J. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *J Neuroimmunol* 2001;112(1-2):146-52.
19. Wen D, Liu J, Du X, Dong JZ, Ma CS. Association of Interleukin-18 (-137G/C) Polymorphism with Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus: A Meta-Analysis. *Int Rev Immunol* 2014;33(1):34-44.
20. Tavares NA, Santos MM, Moura R, Araújo J, Guimarães R, Crovella S, Brandão L. Interleukin 18 (IL18) gene promoter polymorphisms are associated with type 1 diabetes mellitus in Brazilian patients. *Cytokine* 2013;62(2):286-9.
21. Bouzgarrou N, Hassen E, Schvoerer E, Stoll-Keller F, Bahri O, Gabbouj S, Cheikh I, Maamouri N, Mammi N, Saffar H, Trabelsi A, Triki H, Chouchane L. Association of interleukin-18 polymorphisms and plasma level with the outcome of chronic HCV infection. *J Med Virol* 2008;80(4):607-14.
22. Migita K, Miyazoe S, Maeda Y, Daikoku M, Abiru S, Ueki T, Yano K, Nagaoka S, Matsumoto T, Nakao K, Hamasaki K, Yatsuhashi H, Ishibashi H, Eguchi K. Cytokine gene polymorphisms in Japanese patients with hepatitis B virus infection--association between TGF-beta1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2005;42(4):505-10.
23. Zhang PA, Wu JM, Li Y, Yang XS. Association of polymorphisms of interleukin-18 gene promoter region with chronic hepatitis B in Chinese Han population. *World J Gastroenterol* 2005;11(11):1594-8.
24. Hirankarn N, Manonon C, Tangkijvanich P, Poovorawan Y. Association of interleukin-18 gene polymorphism (-607A/A genotype) with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Tissue Antigens* 2007;70(2):160-3.