



Aktif Tüberkülozlu Türk Hastalarda Sitokin Sinyali Baskılayıcı Gen Polimorfizmlerinin Değerlendirilmesi

Evaluation of Cytokine Signal Suppressor Gene Polymorphisms in Turkish Patients with Active Tuberculosis

© Leyla Ersoy¹, © Ahmet Ata Özçimen², © Mahmut Ülger³, © Mukadder Çalıköğlü⁴, © Gönül Aslan¹

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

²Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

³Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

⁴Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

Atıf: Ersoy L, Özçimen AA, Ülger M, Çalıköğlü M, Aslan G. Evaluation of Cytokine Signal Suppressor Gene Polymorphisms in Turkish Patients with Active Tuberculosis. Turk J Immunol 2021;9(3):114-9

Geliş Tarihi: 18.05.2021

Kabul Tarihi: 26.08.2021

Sorumlu Yazar: Ahmet Ata Özçimen, Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye
Tel.: +90 532 350 52 39 **E-posta:** aozcimen01@gmail.com **ORCID:** orcid.org/0000-0002-8871-8943

Öz

Amaç: Küresel bir sağlık sorunu olmaya devam eden tüberküloz (TB), çevresel faktörler ve konakçı genetik faktörlerinin etkisindedir. Bu çalışmada TB'li hastalarda sitokin sinyali baskılayıcı (*SOCS*)-1 geni promotör bölgesinde yer alan -1478CA/del (rs33989964) ve ekson-2 bölgesinde bulunan 1335G/C (rs11549428) tek nükleotid polimorfizmlerinin (*single nucleotide polymorphism* - SNP) TB'ye yatkınlık ya da direnç durumuyla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya, klinik örneğinin kültüründe *Mycobacterium tuberculosis* kompleks izole edilen 90 TB hastası ile kontrol grubu olarak 90 sağlıklı kan donörü dahil edildi. Araştırılan SNP'lerin belirlenmesi için polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon parça uzunluk polimorfizm yöntemleri kullanıldı.

Bulgular: *SOCS*-1 geni promotör bölgesinde bulunan -1478CA/del SNP'si, hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Hardy-Weinberg dengesinde bulunurken, gruplar arasında allel sıklığı ($p=0.327$) ve genotip dağılımı ($p=0.291$) bakımından anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. *SOCS*-1 geni ekson-2'de bulunan 1335G/C SNP analizine göre hasta ve kontrol grubunun tamamında C alleli bulundu, istatistiksel değerlendirme yapılmadı.

Sonuç: Çalışma sonucunda *SOCS*-1 geninde bulunan SNP'ler ile TB'ye direnç ya da duyarlılık arasında ilişki saptanmadı. Bu çalışma için araştırılması gereken *SOCS*-1 geni üstünde farklı polimorfizmlerin de olabileceği akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis*, tüberküloz, tek nükleotid polimorfizmi, *SOCS*-1, PZR-RFLP

Abstract

Objective: Tuberculosis (TB), which continues to be a global health problem, is under the influence of environmental factors and host genetic factors. In this study, -1478CA/del (rs33989964) located in the cytokine signal suppressor (*SOCS*)-1 gene promoter region and 1335G/C (rs11549428) located in the exon-2 region of single nucleotide polymorphisms (*single nucleotide polymorphism* - SNP) in TB patients. It was aimed to investigate the relationship between susceptibility or resistance to TB.

Materials and Methods: The study included 90 TB patients with *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated in the culture of clinical specimens and 90 healthy blood donors as a control group. Polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) methods were used to determine the investigated SNPs.

Results: -1478CA/del SNP was found in Hardy-Weinberg balance in the patient and healthy control group. There was no statistically significant relationship between the groups in terms of allele frequency ($p=0.327$) and genotype distribution ($p=0.291$). According to the PCR-RFLP results of 1335G/C SNP, the presence of the C allele was detected in all patient and control groups, statistical evaluation could not be performed.

Conclusion: As a result of our study, no relationship was found between SNPs investigated in the *SOCS*-1 gene region and resistance or susceptibility to TB. For this study, it should be kept in mind that there may be different polymorphisms on the *SOCS*-1 gene, which is not the subject of our research but needs to be investigated.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, tuberculosis, single nucleotide polymorphism, *SOCS*-1, PCR-RFLP

ORCID: L.Ersoy 0000-0002-9528-7766, A.A.Özçimen 0000-0002-8871-8943, M.Ülger 0000-0001-6649-4195, M.Çalıköğlü 0000-0001-6645-4652, G.Asan 0000-0002-1221-7907

Giriş

Tüberküloz (TB) başta akciğerler olmak üzere vücudun farklı bölgelerinde tutulum yapabilen bir enfeksiyon hastalığıdır.^[1] Hastalığın etkeni olan *M. tuberculosis* (M. tb), dünyadaki en başarılı patojenlerden biridir.^[2] Dünya Sağlık Örgütü küresel TB raporuna göre,^[1] 2019 yılında yaklaşık 1.2 milyon kişinin TB nedeniyle hayatını kaybettiği ve dünya nüfusunun %23'ünün M. tb ile latent olarak enfekte olduğu bildirilmiştir. Enfekte bireylerin ise sadece %5-10'unda yaşamın ilerleyen yıllarında hastalığın klinik formu gelişir. Bu durum latent TB'nin aktif TB'ye ilerlemesinde genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin katkısı olduğunu göstermektedir.^[3]

TB immüno-patogenezinde önemli rol oynayan pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokinlerin dengede olması hastalığın seyri açısından önemlidir.^[4] Bu dengenin sağlanmasında, sitokin sinyalinin negatif düzenleyicileri olan ve 8 üyesi [SOCS 1-7 ve CISH (*cytokine-inducible SH2-containing protein*)] bulunan sitokin sinyal süpresör (SOCS) ailesi etkin rol almaktadır.^[5] SOCS-1, doğuştan gelen ve kazanılmış bağışıklık dahil olmak üzere sitokin aracılı homeostazın bir düzenleyicisidir.^[6] M. tb enfeksiyonuna karşı koruyucu immün yanıt, sitokinler tarafından regüle edilen konakçı T-hücreleri ve makrofajlar arasındaki etkileşime bağlıdır. CD4⁺ T-hücreleri tarafından salınan interferon gamma (IFN- γ), TB enfeksiyonunun önlenmesinde kilit rol oynamaktadır. IFN- γ 'nin makrofaj ve dendritik hücrelerden salınan tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve interlökin (IL)-12 sitokinleri ile etkileşimi hastalığa karşı koruyucu immünitenin temelini oluşturmaktadır. T regülatör hücreleri tarafından salınan IL-10 ve transforming büyüme faktörü beta (TGF- β), IFN- γ 'nin aksine hastalığın ilerlemesine neden olan anti-enflamatuvar sitokinlerdir.^[7] Tüm bu sitokinlerin üzerinde negatif düzenleyici etkiye sahip SOCS ailesi üyeleri, birçok enflamatuvar hastalıkta olduğu gibi TB enfeksiyonunda da konağın immün yanıtının düzenlenmesinde etkin rol oynamaktadır.^[5] SOCS aile üyesi olan CISH'nin bazı varyantlarının çocuklarda^[8] TB'ye yatkınlıkla, ayrıca sıtma, bakteriyemi^[9,10] ve hepatit B virüsü enfeksiyonu^[9,11] gibi çeşitli bulaşıcı hastalıklara duyarlılıkla ilişkili olduğu, SOCS-3'ün bazı varyantlarının ise TB'li hastalarda^[12] yaş ve cinsiyet bağımlı olarak TB'ye yatkınlıkla yüksek oranda ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada, SOCS'nin enflamatuvar tepkileri düzenlemedeki temel rolü göz önüne alındığında, *SOCS-1* genindeki SNP'lerin, TB ile ilişkili olabileceği düşünüldü ve klinik örneğinin kültüründe *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBK) üremesi tespit edilen TB'li hastalarda *SOCS-1* geni promotör bölgesinde bulunan -1478 CA/del ve ekson2'de bulunan 1335 G/C SNP'lerinin TB'ye yatkınlık ya da dirençle ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınarak gerçekleştirildi (no: 2017/288; tarih: 05.10.2017).

Çalışmaya Ekim 2017-Ekim 2018 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na klinik örneği gönderilen ve kültüründe MTBK üremesi tespit edilen 90 TB hastası dahil edildi. İzolatların saflık kontrolü için preparat hazırlandı ve Ehrlich-Ziehl-Neelsen boyama yöntemiyle boyama yapıldı. Saf olduğu belirlenen izolatların MTBK-tüberküloz dışı mikobakteri ayrımı TB Ag MPT64 hızlı tanı testi ile yapıldı. Test sonucu MTBK saptanan 90 hasta ile 90 sağlıklı kontrol, toplam 180 kişinin bilgilendirilmiş onamları alındı ve çalışmaya dahil edildi. Hasta grubu, bilinen başka kronik ya da enflamatuvar bir hastalığı olmayan bireylerden, kontrol grubu ise donör sorgulama formuna göre parenteral taşınan hastalıklar bakımından hiçbir risk faktörüne sahip olmayan, daha önce TB tanısı ve tedavisi almamış, donör tarama testi negatif olan kişilerden oluşturuldu. Kontrol grubunun cinsiyet ve yaş ortalamalarının hasta grubu ile uyumlu olmasına dikkat edildi. Katılımcılardan 3-4 mL periferik kan örneği, içerisinde antikoagülan (EDTA) bulunan tüplere alındı.

Genomik DNA Eldesi ve Genotipleme

EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinden genomik DNA eldesi "Purelink Genomic DNA Mini Kit" (İnvitrogen K1820-02) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA örnekleri çalışma yapılmaya kadar -20°C'de saklandı. SNP varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve restriksiyon parça uzunluk polimorfizm (RFLP) yöntemi ile araştırıldı. Araştırılan gen bölgeleri için kullanılan primerler, kesim enzimleri ve ürün uzunlukları Tablo 1'de gösterilmiştir. Elde edilen kesim ürünleri, 0.5 µg/mL etidyum bromür içeren %2'lik agaroz jelde 120 volta 40 dakika elektroforeze tabi tutulduktan sonra ultraviyole ışığı altında görüntüledi. Tespit edilen bant paternleri moleküler ağırlık standardı ile kıyaslandı ve büyüklükleri belirlenerek hasta ve kontrol grupları için genotip dağılımları tespit edildi.

İstatistiksel Analiz

Hasta ve kontrol gruplarında, aside dirençli bakteri (ARB) pozitif ve ARB negatif gruplarında, cinsiyete göre genotip ve allel ilişkilerinin incelenmesinde ki-kare testi kullanıldı. Genotiplerin dengede olup olmadığı Hardy-Weinberg testi ile kontrol edildi. Cinsiyetin gruplara göre dağılımında ki-kare testi, yaşın gruplara göre ortalamasının karşılaştırılmasında ise Student's t-testinden yararlanıldı. Yaş için normallik kontrolü Shapiro-Wilk testi ile yapıldı. Bütün analizlerde istatistiksel anlamlılık seviyesi p<0.05 olarak kabul edildi.

Tablo 1. *SOCS-1* gen bölgeleri, primerler ve dizileri, kesim enzimleri, ürün uzunlukları.

| <i>SOCS-1</i> gen bölgesi | Primerler | Nükleotid dizisi (5'-3') | PZR ürün uzunluğu (baz çifti) | Kesim enzimi | Kesim ürün uzunluğu (baz çifti) | Kaynak |
|---------------------------|--------------------|---|-------------------------------|--------------|---|--------|
| -1478CA/del (rs33989964) | -1478-F -1478-R | TGTCGTCCAGCTGCACCTC ACCACAGGCTTCAGAGGAAC | 250 | DdeI | CA/CA; 145, 105 CA/del; 250, 145, 105 Del/del;250 | 13 |
| 1335G/C (rs11549428) | 1335-F 1335-R | GCTGCTGGAGCACTACGTG CCAGATACAGTTAAGCTGCTAC | 439 | Hpy188III | C/C; 185, 180, 74 G/C; 439, 185, 180, 74 G/G; 439 | 14 |

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen hastaların 70'i (%76) erkek, 20'si (%24) kadın ve yaş ortalamaları 39.38±17.54 olarak saptandı. Cinsiyet ortalamaları bakımından hasta grubu ile uyumlu olan sağlıklı kontrol grubunun 73'ü (%81.1) erkek, 17'si (%18.8) kadını ve yaş ortalamaları 31.39±11.90 idi. Erkek hastaların 65'inde (%72.2) akciğer TB'si, 5'inde akciğer dışı TB tespit edilirken kadın hastaların 16'sında (%17.7) akciğer TB'si, 4'ünde (%2.2) akciğer dışı TB saptandı. Toplamda 81 hasta akciğer TB'si ve 9 hasta da akciğer dışı [eklem TB (1), granülomatöz mastit (1), TB lenfadenit (1), TB plörezi (3), larinks TB (2), yumuşak doku TB (1)] TB tanısı konuldu. Hastaların 85'inin yeni tanı aldığı, 5'inin nüks hasta olduğu belirlendi. Mikroskopik inceleme sonucunda ise 58 hastada ARB pozitifliği tespit edildi.

Tek Nükleotid Polimorfizmi Sonuçları

PZR-RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonrası oluşan bant paternleri değerlendirildi. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarına ait genotip dağılımları ve allel sıklıkları Tablo 2'de verildi. *SOCS-1* geni -1478 CA/del SNP'si için hasta (p=0.160) ve kontrol (p=0.790) grubunda genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesinde bulunurken, hasta ve kontrol gruplarının allel (p=0.327) ve genotip (p=0.291) dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği saptandı (p>0.05). Sitokin sinyalinin düzenlenmesinden sorumlu olan bu gen bölgesinde CA allelinin hasta (%62) ve kontrol (%60) grubunda daha sık olduğu saptandı (Tablo 2). *SOCS-1* geni ekson-2 bölgesinde varlığı araştırılan 1335 G/C tek nükleotid polimorfizmi hem hasta hem de kontrol grubunda C/C genotipinde bulundu. Gruplar aynı genotipe sahip oldukları için istatistiksel değerlendirme yapılamadı (Tablo 2).

Araştırılan *SOCS-1* gen bölgelerinde bulunan SNP'lere ait PZR ürünlerinin %1'lik, kesim ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüleri Şekil 1'de verildi.

Hasta örneklerinin ARB sonuçlarına göre yapılan dağılımında ARB pozitif (p=0.054) ve ARB negatif (p=0.930) grupların genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesinde iken gruplar arasında genotip dağılımı (p=0.243) ve allel sıklığı (p=0.396) bakımından istatistiksel olarak

anlamlı bir ilişki saptanmadı (p>0.05). SNP sonuçlarına göre CA alleli'nin hem ARB pozitif grupta (%67.2) hem de ARB negatif grupta (%61) daha sık olduğu tespit edildi.

Akciğer TB tanısı almış olan 81 hasta ARB sonuçlarına göre değerlendirildiğinde ise ARB pozitif ve ARB negatif grupların genotip dağılımı bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edildi (sırayla; p=0.060 ve p=1.00). Benzer şekilde her iki grupta da -1478 CA/del polimorfizm varlığı bakımından allel (p=0.391) ve genotip (p=0.288) dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (p>0.05).

Cinsiyete göre yapılan istatistiksel analizde, kadın hasta (p=0.260) ve kontrol (p=0.200) grubunda genotip dağılımı ile erkek hasta (p=0.310) ve kontrol (p=0.360) grubunda genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesinde bulundu. Her iki cinsiyetin de genotip dağılımı (kadın p=0.904; erkek p=0.252) ve allel sıklığı (kadın p=0.721; erkek p=0.336) bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği tespit edildi.

Cinsiyete göre yapılan bu değerlendirmede, hem kadınlarda hem de erkeklerde kontrol ve hasta gruplarında CA allelinin daha sık olduğu saptandı.

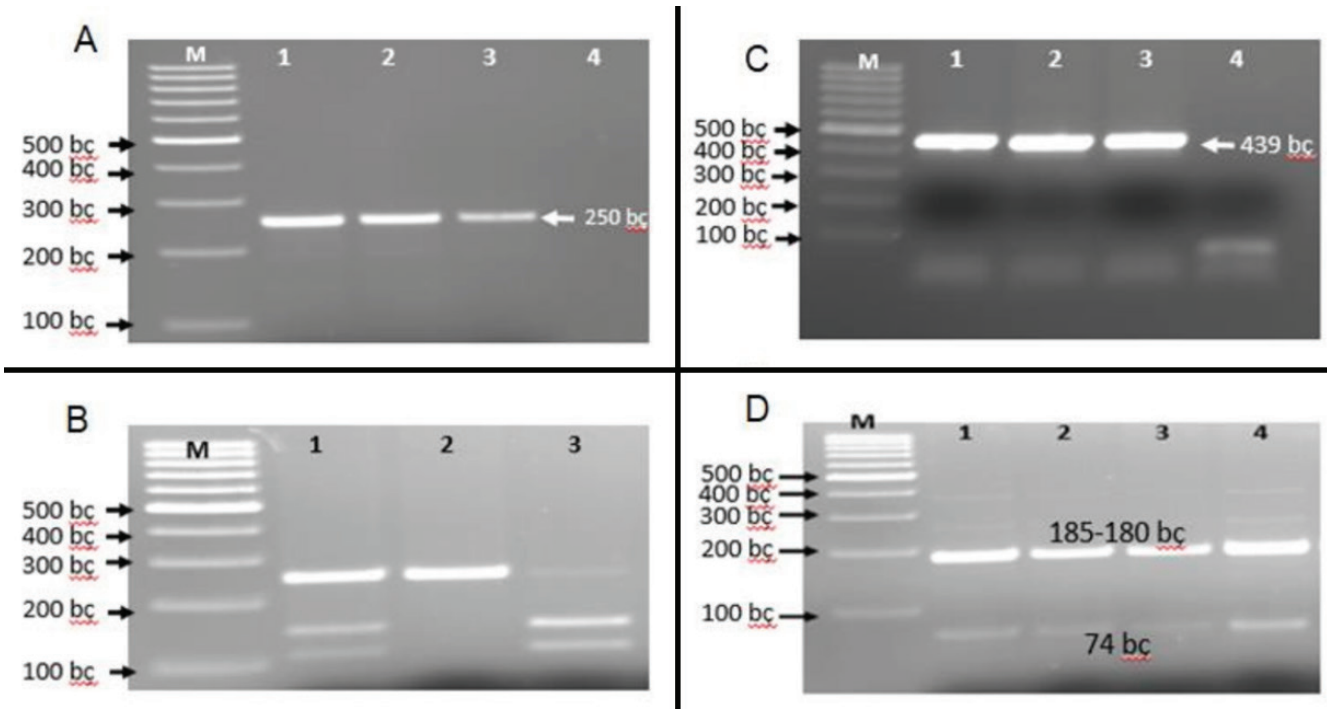
Tartışma

Küresel TB insidansındaki azalmaya rağmen Sahra Altı Afrika, Güneydoğu Asya ve Batı Pasifik ülkeleri başta olmak üzere; TB yükünde önemli bir artış görülmektedir. Ülkemizde ise TB yükü, yürütülen "Doğrudan gözetimli tedavi" ve hasta takip stratejileri sayesinde küresel insidansın oldukça altında kalmaktadır (16/100.000). Fakat COVID-19 salgını TB'nin küresel yükünü azaltmada son zamanlarda kaydedilen ilerlemeyi tersine çevirmekle tehdit etmektedir.^[1] TB-konak arasında genetik ilişkiye dayalı birçok çalışma mevcuttur.^[3,15,16] Yaptığımız bu çalışmada *SOCS-1* geni promotör ve ekson2 bölgelerinde bulunan SNP'lerin TB'ye yatkınlık ya da dirençle ilişkisi ilk kez araştırılmıştır.

SOCS ailesi üyelerinden sitokinle indüklenen SH2 domaini (*CISH*) ve *SOCS-3* genlerinde bulunan bazı SNP'lerin TB'ye duyarlılıkla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Afrika ve Asya topluluklarında *CISH* geninde tespit edilen

Tablo 2. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarındaki -1478 CA/del ve 1335 G/C SNP'lerinin genotip dağılımı ve allel sıklıkları

| Polimorfizm bölgesi | Hasta grubu (n=90) | Kontrol grubu (n=90) | p | Risk oranı | %95 Güvenilirlik aralığı | p |
|---------------------|--------------------|----------------------|-------|------------|--------------------------|-------|
| -1478 CA/del | | | | | | |
| Genotip | | | | | | |
| CA/CA | 35 (%38.9) | 33 (%36.7) | | Referans | | |
| CA/del | 47 (%52.2) | 42 (%46.6) | 0.291 | 1.055 | 0.561-1.985 | 0.868 |
| del/del | 8 (%8.9) | 15 (%16.7) | | 0.503 | 0.188-1.341 | 0.169 |
| Allel | | | | | | |
| CA | 117 (%65) | 108 (%60) | 0.327 | 0.888 | 0.527-1.239 | 0.328 |
| del | 63 (%35) | 72 (%40) | | | | |
| 1335 G/C | | | | | | |
| Genotip | | | | | | |
| G/G | - | - | | | | |
| G/C | - | - | | | | |
| C/C | 90 (%100) | 90 (%100) | | | | |

**Şekil 1.** PZR-RFLP ürünlerinin agaroz jel elektroferez görüntüsü Kuyu M: 100 baz çifti DNA moleküler ağırlık standardı (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, SM0241, Thermo Scientific).

A) SOCS-1 geni promotör -1478 CA/del tek nükleotid polimorfizmi PZR görüntüsü (Kuyu 1,2,3: 250 bç'lik amplifikasyon ürünleri, 4: Negatif kontrol)
 B) SOCS-1 geni promotör -1478 CA/del tek nükleotid polimorfizmi Ddel RFLP ürünleri [Kuyu 1: CA/del Heterozigot (250 bç + 145 bç + 105 bç), Kuyu 2: del/del homozigot (250 bç), Kuyu 3: CA/CA homozigot (145 bç + 105 bç)]
 C) SOCS-1 geni ekson2 1335 G/C tek nükleotid polimorfizmi PZR görüntüsü (Kuyu 1,2,3: 439 bç'lik amplifikasyon ürünleri, 4: Negatif kontrol)
 D) SOCS-1 geni ekson2 1335 G/C tek nükleotid polimorfizmi Hpy188III RFLP ürünleri (Kuyu 1-4: C/C homozigot (185 bç + 180 bç - 74 bç))

5 SNP'nin bakteriyemi, TB ve malarya riskini artırdığı görülmüştür.^[9,17,18]

Çalışmamızda -1478CA/del SNP'sinin TB'li hastalar ile kontrol grubu arasında genotip dağılımı ve allel sıklığının anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiş, CA allel

sıklığının hem hasta (%65) hem de kontrol grubunda (%60) del aleline göre daha sık olduğu görülmüştür. Ülkemizde farklı hasta grupları yapılmış ve -1478CA/del SNP'sinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur^[13,19] ve bu çalışmalarda CA allel sıklığının bulgularımıza benzer olduğu bildirilmiştir. Fakat uzak doğu ülkelerinde yapılan

bazı çalışmalarda^[14,20] CA allelinin del alleleline göre hasta ve kontrol gruplarında çok daha baskın olduğu (sırasıyla, %89/%93 ve %84/%86) bildirilmiştir. Ayrıca -1478CA/del SNP'sinin SOCS-1'i transkripsiyonel seviyede artırdığı ve fonksiyonel bir polimorfizm olduğu da Harada ve ark.'nın^[20] astımlı hastalar ile yapılan çalışmasında bildirilmiştir. Allel sıklığındaki bu farklı oranların ve heterojen genotip dağılımının (CA/CA; CA/del; del/del) etnik ve coğrafi farklılıklardan kaynaklanıyor olması muhtemeldir.

Çalışmamızda -1478CA/del için mRNA ifade düzeyi araştırılmamış olup, -1478CA/del ifade düzeyinin inaktif sistemik lupus eritramatosus (SLE) hastalarında aktif SLE hastalarına göre daha düşük düzeyde olduğu ve hastalığın klinik şiddetinde etkisi olabileceği bildirilmiştir.^[6] Çalışmada CA/del genotip dağılımının bulgularımıza benzerlik gösterdiği ve yine CA alelinin hem hasta hemde kontrol grubunda del aleline göre daha sık olduğu tespit edilmiştir.^[6]

TB hastalarında, SOCS aile üyelerinin mRNA ekspresyon profilleri aktif TB, latent TB ve sağlıklı kontrol gruplarında değerlendirilmiştir.^[5] SOCS-3 mRNA seviyesinin aktif TB'li hastalarda anlamlı oranda yüksek, SOCS-2, -4, -5, -6, -7, ve CIS mRNA seviyesinin anlamlı oranda düşük olduğu bildirmiştir. SOCS-1 ifadesinin gruplar arasında anlamlı değişim göstermediği tespit edilmiştir. Etnik köken ve coğrafi farklılıkların genetik çalışmalarda farklı sonuçlara yol açabildiği bilinmektedir. Masood ve ark.'nın^[7] SOCS-1 ifade düzeyinin TB ile ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında, akciğer ve akciğer dışı TB'li hastalar ve sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılmıştır. Akciğer TB'li hastalar orta dereceli ve ilerlemiş akciğer TB'li olarak, akciğer dışı TB'li hastalar da orta derece yayılmış ve çok yaygın hastalık tablosu bulunanlar olarak gruplanmıştır. Sonuç olarak, SOCS-1 mRNA seviyesi, orta ve şiddetli akciğer TB'li ve çok yaygın akciğer dışı TB'li hastalarda yüksek düzeyde tespit edilmiş ve hastalığın şiddeti ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.

TB ile ilişkisini araştırdığımız bir diğer SNP 1335G/C idi. Hem hasta hem de kontrol grubumuzun tamamında C alleli tespit edildi ve istatistiksel bir değerlendirilme yapılamadı. Benzer bulgular Chan ve ark.'nın^[6,12] çalışmalarında da bildirilmiş olup bu çalışmalarda hem hasta hem kontrol grubunda C allel varlığı saptanmıştır. Zaorska ve ark.'nın^[21] bulgularına göre ise hasta ve kontrol grubunda GG genotipi baskın bulunmuştur. Bu SNP açısından farklı coğrafyalarda genotip dağılımının homojen (GG, CC) olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak hastalar klinik özelliklerine ve laboratuvar bulgularına göre değerlendirildiğinde, akciğer (n=81) ve akciğer dışı TB (n=9) gruplarındaki hasta sayıları, yeni tanı almış hasta (n=85) ve nüks hasta sayıları (n=5)

istatistiksel değerlendirme için uygun bulunmamıştır. Bundan dolayı bu grupların TB'ye genetik yatkınlık bakımından allel sıklığı ve genotip dağılımı için karşılaştırmaları yapılamamıştır. Hastalar ARB sonuçlarına göre değerlendirildiğinde allel sıklığı (p=0.396) ve genotip dağılımları (p=0.243) bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Akciğer TB'li hastalar (n=81) da yine ARB sonuçlarına göre iki gruba ayrıldığında, allel sıklığı (p=0.391) ve genotip dağılımları (p=0.288) yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. TB-SOCS-1 SNP ilişkisi son olarak cinsiyetler bakımından değerlendirildiğinde, erkek ve kadınlarda, hasta ve kontrol grubunda allel sıklığı ve genotip dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Polimorfizm çalışmalarının anlamlı olabilmesi için çalışma grubu oldukça geniş tutulmalıdır, bu çalışmanın en önemli kısıtlılığı da az sayıda hasta ile yapılmış olmasıdır. SOCS ailesinin sitokin sinyal düzenlemesindeki etkisi ve sitokinlerin TB immünolojisindeki payı da göz önünde bulundurularak, daha geniş bir hasta grubu ile SOCS ailesinin diğer üyeleri ve TB ilişkisinin araştırılması gerekmektedir.

Sonuç

Enflamatuvar hastalıklarda önemli rol oynayan, pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin korunmasında etkin olan SOCS proteinleri, sitokinler arasındaki bu dengenin hücresel düzeyde sağlanmasında görevlidir.^[22] TB'ye yatkınlık ile SOCS-1 gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırdığımız bu çalışmada, SOCS-1 promotör bölgesinde bulunan ve fonksiyonel etkinliği tespit edilmiş olan -1478 CA/del SNP'si ve ekson-2 bölgesinde bulunan 1335 G/C SNP'nin varlığı araştırılmıştır. Sonuç olarak hastalığa yatkınlıkla bu SNP'lerin arasında anlamlı bir ilişkisi tespit edilememiştir. SOCS-1 mRNA ifadesi düzeyinde yapılacak ileri çalışmalara gereksinim vardır. Bu çalışma sonucunda araştırılması gereken SOCS-1 geni üstünde farklı polimorfizmlerin de olabileceği akıld tutulmalıdır.

Teşekkür: Bu çalışmaya 2018-1-TP2-2827 numaralı proje ile destek veren Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine ve çalışmanın istatistiksel analiz kısmında yardımlarını esirgemeyen Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıp Eğitimi Anabilim Dalı Öğr. Gör. Asena Ayça Özdemir'e teşekkür ederiz.

Etik

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınarak gerçekleştirildi (no: 2017/288; tarih: 05.10.2017).

Hasta Onayı: Test sonucu MTBK saptanan 90 hasta ile 90 sağlıklı kontrol, toplam 180 kişinin bilgilendirilmiş onamları alınmış ve çalışmaya dahil edilmiştir.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Konsept: G.A., A.A.Ö., Dizayn: A.A.Ö., M.Ü., L.E., Veri Toplama veya İşleme: L.E., Analiz veya Yorumlama: G.A., M.Ç., A.A.Ö., M.Ü., L.E., Literatür Tarama: G.A., M.Ü., L.E., Yazan: L.E.

Çıkar Çatışması: Yazarlar makalenin içeriği ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar herhangi bir yerden finansal destek almamışlardır.

Kaynaklar

- World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis Report Executive summary WHO 2020. [\[CrossRef\]](#)
- MacDonald EM, Izzo AA. Tuberculosis Vaccine Development—Its History and Future Directions In: Ribon W, ed. Tuberculosis-Expanding Knowledge. (1st ed). Croatia; IntechOpen; 2015;123-43. [\[CrossRef\]](#)
- Wei Z, Wenhao S, Yuanyuan M, Yang L, Daming Z, Jiangchun X, et al. A single nucleotide polymorphism in the interferon- γ gene (IFNG+ 874 T/A) is associated with susceptibility to tuberculosis. *Oncotarget*. 2017;8(31):50415. [\[CrossRef\]](#)
- Domingo-Gonzalez R, Prince O, Cooper A, Khader SA. Cytokines and Chemokines in Mycobacterium tuberculosis Infection. *Microbiol Spectr*. 2016;4(5):10.1128/microbiolspec.TBTB2-0018-2016. doi: 10.1128/microbiolspec.TBTB2-0018-2016. [\[CrossRef\]](#)
- Lee SW, Liu CW, Hu JY, Chiang LM, Chuu CP, Wu LSH, et al. Suppressors of cytokine signaling in tuberculosis. *PloS One*. 2017;12:e0176377. doi: 10.1371/journal.pone.0176377. [\[CrossRef\]](#)
- Chan HC, Ke LY, Chang LL, Liu CC, Hung YH, Lin CH, et al. Suppressor of cytokine signaling 1 gene expression and polymorphisms in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2010;19(6):696-702. [\[CrossRef\]](#)
- Masood KI, Rottenberg ME, Salahuddin N, Irfan M, Rao N, Carow B, et al. Expression of M. tuberculosis-induced suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1, SOCS3, FoxP3 and secretion of IL-6 associates with differing clinical severity of tuberculosis. *BMC Infect Dis*. 2013;13:13. [\[CrossRef\]](#)
- Sun L, Jin YQ, Shen C, Qi H, Chu P, Yin QQ, et al. Genetic contribution of CISH promoter polymorphisms to susceptibility to tuberculosis in Chinese children. *PLoS One*. 2014;9(3):e92020. doi: 10.1371/journal.pone.0092020.
- Zhao L, Chu H, Xu X, Yue J, Li H, Wang M. Association between single-nucleotide polymorphism in CISH gene and susceptibility to tuberculosis in Chinese Han population. *Cell Biochem Biophys*. 2014;68:529-34. [\[CrossRef\]](#)
- Khor CC, Vannberg FO, Chapman SJ, Guo H, Wong SH, Walley AJ, et al. CISH and susceptibility to infectious diseases. *N Engl J Med*. 2010;362:2092-101. [\[CrossRef\]](#)
- Tong HV, Toan NL, Song le H, Kreamsner PG, Kun JF, Tp V. Association of CISH -292A/T genetic variant with hepatitis B virus infection. *Immunogenetics*. 2012;64:261-5. [\[CrossRef\]](#)
- Lin CJ, Lee SW, Liu CW, Chuu CP, Kao YH, Wu LS. Polymorphisms of suppressor of cytokine signaling-3 associated with susceptibility to tuberculosis among Han Taiwanese. *Cytokine*. 2019;114:11-7. [\[CrossRef\]](#)
- Öz Gül Ö, Cander S, Gül CB, Budak F, Oral B, Ersoy C. Cytokine signal suppressor (SOCS) 1-1478 CA/del gene polymorphism in Turkish patients with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol*. 2017;37(7):896-901. [\[CrossRef\]](#)
- Chan HC, Ke LY, Liu CC, Chang LL, Tsai WC, Liu HW, et al. Increased expression of suppressor of cytokine signaling 1 mRNA in patients with rheumatoid arthritis. *Kaohsiung J Med Sci*. 2010;26:290-8. [\[CrossRef\]](#)
- Tong X, Chen L, Liu S, Yan Z, Peng S, Zhang Y, et al. Polymorphisms in HLA-DRB1 gene and the risk of tuberculosis: a meta-analysis of 31 studies. *Lung*. 2015;193(2):309-18. [\[CrossRef\]](#)
- Li HT, Zhang TT, Zhou YQ, Huang QH, Huang J. SLC11A1 (formerly NRAMPI) gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006;10(1):3-12. [\[CrossRef\]](#)
- Cooke GS, Campbell SJ, Sillah J, Gustafson P, Bah B, Sirugo G, et al. Polymorphism within the interferon- γ /receptor complex is associated with pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174(3):339-43. [\[CrossRef\]](#)
- Periasamy S, Dhiman R, Barnes PF, Paidipally P, Tinnereim A, Bandaru A, et al. Programmed death 1 and cytokine inducible SH2-containing protein dependent expansion of regulatory T cells upon stimulation with mycobacterium tuberculosis. *J Infect Dis*. 2011;203(9):1256-63. [\[CrossRef\]](#)
- Hartavi M, Nak SG, Oral B, Deligönlü A. No association between the SOCS-1 -1478CA/del polymorphism and ulcerative colitis in Turkish subjects. *Mol Biol Rep*. 2014;41(10):6505-8. [\[CrossRef\]](#)
- Harada M, Nakashima K, Hirota T, Shimizu M, Doi S, Fujita K, 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. [\[CrossRef\]](#)
- Zaorska K, Ostalska-Nowicka D, Kempisty B, Nowicki M, Zabel M. Association of SOCS1, SOCS3 and SOCS5 polymorphisms and steroid response in children with idiopathic nephrotic syndrome. *J Nephrol Ren Transplant*. 2014;6(1):13-26. [\[CrossRef\]](#)
- Delgado-Ortega M, Marc D, Dupont J, Trapp S, Berri M, Meurens F. SOCS proteins in infectious diseases of mammals. *Vet Immunol Immunopathol*. 2013;151(1-2):1-19. [\[CrossRef\]](#)