

Nazal polipozis'e eşlik eden IL5 (-746), IL6 (-174) ve IL18 (-607) gen polimorfizimleri

Association of the IL5 (-746), IL6 (-174) and IL18 (-607) gene polymorphisms in nasal polyposis

Mahmut Huntürk Atilla¹, Sibel Özdaş², Sibel Baştımur¹, Talih Özdaş³, Sami Engin Muz¹, Isilay Oz¹, İpek Canatar²

¹Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Yenimahalle Eğitim ve Araştırma Hastanesi, KBB Kliniği, Ankara, Türkiye

²Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Adana, Türkiye

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Adana Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, KBB Kliniği, Adana, Türkiye

ÖZ

GİRİŞ ve AMAÇ: Nazal polipozis (NP), nazal mukozanın en sık karşılaşılan patolojik değişikliği olup, mukozal inflamasyon ile karakterize iyi huylu kronik bir hastalıktır. Bu çalışmada, NP hastalarında yaygın olarak gözlenen İnterlökin (IL)5, IL6 ve IL18 gen promotor bölgesinde yer alan sırasıyla -746 C/T, -174 G/C ve -607 C/A tek nükleotidlik polimorfizimleri (SNPs) ile NP arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

YÖNTEM ve GEREÇLER: Çalışmaya 87 NP'li hasta ve 76 kontrol olmak üzere 163 hasta dahil edilerek, polimorfizimler Snap-Shot ile genotiplendirildi. SNP'lerin bağlantı dengesizliğini değerlendirmek, allel, genotip ve haplotip frekanslarının analizi için bir lojistik regresyon modeli olan SNPStats kullanıldı. MDR ile polimorfizimlerin birbiriyle ve klinik değişkenlerle arasındaki etkileşimler değerlendirildi.

BULGULAR: Çalışmamızda, IL5 ve IL18 SNP'lerinin varlığı, majör allellerinin ve CC genotiplerinin frekansı NP'de yüksekti (sırasıyla, $P < 0.001$ ve $P < 0.001$; $P < 0.001$ ve $P < 0.001$; $P = 0.023$ ve $P = 0.006$). Ayrıca IL18 SNP, aspirin intoleransı ve astmatik NP'lilerde daha sık gözlemlendi ($P = 0.013$ ve $P = 0.045$). Bununla birlikte IL5-IL6-IL18 CGC haplotipinin frekansı NP'li hasta grubunda yüksekti ($P < 0.0001$). MDR analizi ile tespit edilen en iyi tek-lokus modeline göre IL18 CC genotipinin, iki-lokus modeline göre IL5_IL18'in majör allelli içeren diplotiplerinin artmış-NP riski ile ilişkili olduğu bulundu ($P = 0.006$, $P < 0.0001$). IL5 genotiplerinin ve IL5_IL6 diplotiplerinin NP'de risk paterni IL18'in genotipine bağlı olduğu gözlemlendi ($P < 0.0001$). Ayrıca NP-pozitif aile öyküsüne sahip bireylerin 16-kat artmış NP riski taşıdığı gözlemlenmiştir ($P = 0.0004$).

TARTIŞMA ve SONUÇ: Sonuç olarak, çalışmamız IL5 (-746) ve IL18 (-607) polimorfizimlerinin nazal polipozis için predispozan faktörler olduğunu göstermiştir. Nazal polipoziste IL5 (-746) ve IL18 (-607) SNP'lerinin gen aktivitesi üzerindeki sonuçlarını araştıran ileri fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Nazal polipozis, IL5, IL6, IL18, Snap-Shot, MDR, SNPStats

ABSTRACT

INTRODUCTION: Nasal polyposis (NP) is a benign chronic disease characterised by mucosal inflammation. In this study, to investigate the relationship between -746 C/T, -174 G/C and -607 C/A single nucleotide polymorphisms (SNPs) which are Interleukin (IL) 5, IL6 and IL18 gene promoter and NP

METHODS: A total 163 patients of 87 with NP and 76 controls were included in the study, and genotyped with Snap-Shot. SNPStats, a logistic regression model, MDR.

RESULTS: In our study, the presence of IL5 and IL18SNPs, the frequency of major alleles CC genotypes were significantly higher in the patient group (respectively $P < 0.001$ ve $P < 0.001$; $P < 0.001$ ve $P < 0.001$; $P = 0.023$ ve $P = 0.006$). In addition, IL18SNP was observed more frequently in patients with NP with aspirin intolerance and asthma ($P = 0.013$, $P = 0.045$). However, the frequency of IL5-IL6-IL18 CGC haplotype was high in the patient group with NP ($P < 0.0001$). According to the best single-locus model detected by MDR analysis, IL18 CC genotype was found to be associated with increased-NP risk of IL-5_IL18 containing major alleles according to the two-locus model ($P = 0.006$, $P < 0.0001$). IL5 genotypes and IL5_IL6 diplotypes were observed to be linked to the genotype of IL18, risk pattern in NP ($P < 0.0001$). It was also observed that individuals with NP-positive family history had a 16-fold increased risk of NP ($P = 0.0004$). However, a synergistic interaction was observed between IL18 genotypes and the clinical variable aspirin intolerance ($P < 0.0001$).

DISCUSSION AND CONCLUSION: The polymorphisms IL5 (-746) and IL18 (-607) may be predisposing factors for nasal polyposis.

Keywords: Nasal polyposis, IL5, IL6, IL18, Snap-Shot, MDR, SNPStats

İletişim / Correspondence:

Uzm. Dr. Mahmut Huntürk Atilla
Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Yenimahalle Eğitim ve Araştırma Hastanesi, KBB Kliniği, Ankara, Türkiye
E-mail: mhunturkatilla@gmail.com
Başvuru Tarihi: 17.09.2020
Kabul Tarihi: 26.10.2021

Doi: 10.5505/ktd.2021.75983
Mahmut Huntürk Atilla :0000-0001-6400-5888
Sibel Özdaş: 0000-0003-4610-2785
Sibel Baştımur: 0000-0001-8727-6445
Talih Özdaş: 0000-0003-3651-1892
Sami Engin Muz: 0000-0002-4255-4939
Isilay Oz: 0000-0002-7380-4566
İpek Canatar: 0000-0001-9448-8112

GİRİŞ

Nazal polipozis (NP), burun ve paranasal sinüs mukozasının epitel tabakasında proliferasyon, glanduler hiperplazi, bazal membran kalınlaşması, stromada hücre infiltrasyonu, ödem ve fokal fibrozisi ile karakterize iyi huylu kronik bir hastalıktır (1). Populasyonun %1-%4 ünü etkilemekte ve sıklıkla astım, aspirin sensitivitesi ve allerji ile ilgisi bulunmaktadır (2).

Nazal polipozisin etyolojisi ve patogenezi tam olarak açıklanamamakla birlikte son çalışmalar hastalığın çeşitli etyolojik faktörlerden etkilenen multifaktöriyel bir hastalık olduğunu kuvvetli biçimde desteklemektedir (1). NP dokusunun gelişiminde, sebebi ne olursa olsun (virüs, bakteri, mantar gibi mikroorganizmalar ya da silier diskinezi, anatomik bozukluk gibi hava akımına bağlı değişiklikler) kronik persistan inflamasyonun tartışılmaz bir major faktör olduğu bilinmektedir. İnflamasyon, epitel hücreleri ve fibroblastları aktive ederek farklı sitokin profilleri oluşturup proinflamatuvar hücrelerin zincirleme aktivasyonuna neden olur (3). Polip dokusu, sadece mast hücrelerini ve eozinofilleri içermez; bunun yanı sıra mononükleer hücreleri, fibroblastları, epitelial hücreleri ve bu hücrelerden salınan bazı kimyasal mediyatörleri, sitokinleri, büyüme faktörleri ve endotelial reseptörleri içeren bir tür inflamasyondur (4). Sitokinler, aktive lenfositler, makrofajlar ve inflamasyonda görev alan diğer hücreler tarafından sentezlenirler. Hücrelerarası etkileşimde, hücresel farklılaşmada ve doku tamirinde görevli bu mediyatörler mesaj alışverişinden sorumlu maddeler olup, peptit yapıdadırlar. Hedef hücrede kendi reseptörlerine bağlanarak etki gösterirler (5). İnflamatuvar bir yanıt olan NP'de sitokin dengesinin anahtar rolü göz önüne alındığında, hastalık patogenezi sitokinleri kodlayan gen faaliyetleri önem kazanmıştır (6-9).

Çeşitli genetik faktörler kronik inflamatuvar hastalıkların şiddetini değiştirerek, hastalık fenotipinin ortaya çıkışını etkilemektedir. İnsan genom projesinin tamamlanmasıyla, genetik faktörlerle ilgili bilgimiz artmış ve tek nükleotid polimorfizm (SNP) veya mikrosatellit polimorfizmlerin (özellikle düzenleyici bölgelerde yer alan) hastalık fenotipleri ile yakın ilişkide oldukları ve genlerin ifade düzeyini değiştirme yoluyla hastalıkların şiddetini değiştirebildikleri gözlenmiştir (10). NP gelişimi ile ilgili yapılan çalışmalarda: HLA (11), Tümör Nekroz Faktörü (TNF) (12), IL-1A (13) genlerine ait SNP'ler ile NP gelişimi arasında bir ilişki tespit edilmiştir. NP dokusuna ait gen ekspresyon profilleri ile ilgili çalışmalarda, kontrole kıyasla birçok genin ekspresyonunda farklılaşma olduğu bildirilmiştir

(14, 15). Gen ekspresyonundaki sapmalardan sıklıkla genotipik varyasyonlar sorumludur.

Interlökin-18 (IL-18), IL1 sitokin ailesinden, doğuştan gelen ve kazanılmış immünitede rol oynayan önemli bir proinflamatuvar sitokindir. IL18 -656 G/T, -607 C/A, -137 G/C, bilinen en yaygın IL18 gen promotor SNP'leri olup, sistemik lupus eritematosusun (SLE) ile ilişkili oldukları raporlanmıştır (16). Ayrıca bu promotör varyantların sağlıklı bireylerden izole edilen periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) tarafından üretilen IL-18 protein düzeylerinde farklılıklara neden olduğu bildirilmiştir (17). Yapılan bazı çalışmalarda da IL18 (-607 C/A) gen polimorfizmi ile allerjik rinit ve astım arasında ilişki bulunmuştur (18,19).

IL6, inflamasyonun özgül olmayan sitokinlerindedir. IL6 ile yapılan bir çalışmada -174 G/C polimorfizmi araştırılmış ve astım ile nazal polipli hastalarda GG genotipinin frekansı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (20).

IL5, myeloid ve lenfoid hücrelerin üretim ve fonksiyonlarının kontrolünde rol oynayan çeşitli hücre tipleri üzerinde pek çok etki gösterebilen bir sitokindir. IL5, eozinofil aktivasyonunda oldukça önemli olduğundan, IL5 geninin NP oluşumunda kilit rolü olduğu düşünülmektedir (21). Çin toplumunda yapılan bir çalışmada IL5'in promotor bölgesinin -746. Pozisyonundaki C/T nükleotid değişikliğinin frekansı kontrole kıyasla otoimmün hastalarında yüksek bulunmuştur (22).

Bu çalışmada, NP hastalarında yaygın olarak gözlenen IL5, IL6 ve IL18 gen promotor bölgesinde yer alan sırasıyla -746 C/T, -174 G/C ve -607 C/A SNP'leri ile NP arasındaki ilişkiyi araştırmayı hedefledik.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma Grubu

Bu çalışma Yenimahalle Eğitim ve Araştırma Hastanesi KBB kliniğinde yapılan prospektif kontrollü klinik bir çalışmadır. Çalışmaya 87 NP'li hasta (52 erkek, 35 kadın, yaş ortalaması 37.8) ve 76 kontrol (40 erkek, 36 kadın, yaş ortalaması 38.5) olmak üzere 163 hasta dahil edildi. Hastalar burun tıkanıklığı, burun akıntısı, koku alma bozukluğu, baş ağrısı ve yaşam kalitesinin düşüklüğü şikayetleri ile kliniğe başvurmuşlardır. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps (EPOS), kriterlerine göre iki ya da daha fazla semptom varlığı ve nazal endoskopik muayenede poliplerin bilateral olarak orta meatusda gözlenmesi ile NP teşhis edildi (23). Son dört hafta içinde akut üst solunum yolu enfeksiyonu geçirmiş, kistik fibrözisli, inverted papillomlu, fungal sinüzitli ve antrokoanal polipli hastalar çalışmadan dışlandı. Astım varlığı, NP-pozitif aile öyküsü ve aspirin

duyarlılığı hasta anamnezinde sorgunlandı ve prick deri testi ile alerji varlığı değerlendirildi (24).

Sinonazal hastalığı, inflammatory hastalığı, kanser, sepsis veya diğer herhangi bir kronik hastalık öyküsü bulunmayan, farklı bir şikayetle (baş ağrısı, geniz akıntısı gibi) kliniğe başvuran 76 sağlıklı gönüllü birey kontrol grubuna dahil edildi. Ayrıca nasal endoskopik muayene ile rinosinüzit ve NP yokluğu doğrulandı

Tüm katılımcılar çalışma hakkında bilgilendirildi ve yazılı onamları alındı. Çalışma protokolü lokal bir etik kurulu tarafından onaylandı (Onay No. 99950669/136).

Genotiplendirme

DNA izolasyonu: Hasta ve sağlıklı kontrolden EDTA'lı tüpe 200 µl periferik kan örneği alınmış ve PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) aşamasına kadar -20 0C saklandı. DNA izolasyonları, QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen Inc.) kullanılarak yapıldı.

PCR: SNP, SNaPshot® multiplex kiti (Applied Biosystems Inc.) kullanılarak belirlendi. Her bir SNP için üç adet primer tasarlanmış olup, ikisi PCR, diğeri ise SNaPshot® reaksiyonu içindi. IL5 (-746) C/T, IL6 (-174) G/C ve IL18 (-607) C/A için primer dizileri ve ürün bant uzunlukları tablo 1'de gösterildi. Her örnek için üç PCR hazırlanmış ve reaksiyon karışımı; 17.8µl dH2O, 0.5µl dNTP (10µM), 1µl ileri primer (5µM) ve 1µl geri primer (5µM), 0.2µl SuperHotTaq DNA polimeraz (Bioron Inc.), 2.5µl 10x Taq tamponu (Bioron Inc.) ve 2µl kalıp DNA (20-50ng/µL)'dan oluşmuştur.

PCR termal döngü koşulları: sırasıyla, 95 0C'de başlangıç denatürasyonu (1 döngü/10 dakika), 95 0C'de denatürasyon (35 döngü/45 saniye), 60 0C'de annealing (35 döngü/45 saniye), 72 0C'de ekstansiyon (35 döngü/45 saniye) ve 72 0C'de son uzatmadan (1 döngü/10 dakika) oluşmuştur. PCR ürünü amplifiye DNA fragmentleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildi.

Pürifikasyon: SNaPshot® reaksiyonu öncesi her bir örneğe ait PCR ürünleri birleştirildi ve pürifiye edildi. Pürifikasyon için NucleoFast® 96 PCR kiti (Macharey-Nagel GmbH) kullanıldı.

SNaPshot® Reaksiyonu: Pürifiye PCR ürünleri, üretici firmanın protokollerine göre SNaPshot® reaksiyonunda alındı ve ABI 3130 (Applied Biosystems Inc.) kapiller elektroforez cihazında yürütüldü. Genotipler, elde edilen elektroforegramların GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems Inc.) yazılımında incelenmesi ile belirlendi.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 16.0 paket programı (Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi; sürüm 11.0, SSPS Inc, Chicago, IL, ABD)

kullanıldı. Genotip frekanslarının Hardy-Weinberg dengesi (HWE) ile uyumlu olup olmadığı χ^2 testi ile test edildi (25). Çalışmanın örneklem büyüklüğü ve istatistiksel gücü, Genetic Power Calculator (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/gpc/>) ile hesaplandı.

Hasta ve kontrol grubu arasındaki genotiplerin ve klinik parametrelerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare ve Fisher kesin testi kullanıldı. SNPS'lerin bağlantı dengesizliğini allel, genotip ve haplotip frekanslarının analizi için bir SNP'lerin bağlantı dengesizliği (Linkage disequilibrium; LD), allel, genotip ve haplotip frekanslarının analizi için bir lojistik regresyon modeli olan SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/index.php?module=Snpstats>) kullanıldı (26). Bu web tabanlı program ile varyetelerin eş baskın (kodominant), dominant ve çekinik kalıtım modellerinde sahip olduğu risk oranları (OR) ve %95 güven aralığıyla (% 95 CI) ifade edildi. Tüm analizler için $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bir veri madenciliği yaklaşımı olan Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) (www.epistasis.org) version 1.0.0 yazılım programı ile çalışma grubundaki bireylerin sahip olduğu fenotipik değişkenler ile taşıdıkları genotipler arasındaki olası etkileşimleri açıklamak için kullanıldı. Ayrıca MDR ile NP'e duyarlılıkta rol oynayacak olası gen-gen ve SNP-SNP etkileşimleri de tanımlanmıştır (27, 28). MDR, parametrik olmayan değişkenlerin varlığında ve başlıca belirgin bir faktörü eksikliğinde kontrollü genetik çalışmalarda kalıtım modelinden bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimleri tespit etmek için tasarlanmış bir yöntemdir (29, 30). MDR, genotip-fenotip'lerin, gen-gen'lerin ve SNP-SNP'lerin tüm olası kombinasyonları ile modeller oluşturur. Oluşturulan tüm modelleri 10-kat çapraz doğrulama ile değerlendirerek, maksimum test doğruluğu sahip en iyi modeli seçer (31).

BULGULAR

Çalışma grubu yaş dağılımı ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla, $P = 0.601$; $P = 0.359$). Kontrole kıyasla NP'li hasta grubunda pozitif aspirin intoleransı, alerji varlığı ve NP-pozitif aile öyküsü frekansı belirgin bir şekilde yüksekti (sırasıyla; $P < .001$, $P = 0.040$, $P < .001$). Tablo 2'de çalışma grubunun klinik karakteri özetlendi.

Çalışmaya katılan toplam 163 birey IL5, IL6 ve IL18 genlerinin promotor bölgesinde yer alan sırasıyla, -746 C/T, -174 G/C ve -607 C/A polimorfizmleri açısından Snapshots ile tarandı. Çalışma grubunda kontrole ait genotip frekansları HWE ile uyumlu bulundu (sırasıyla, $P = 0.093$, $P = 0.051$ ve $P = 0.069$) (Tablo 3).

IL5 ve IL18 genlerinin promotor bölgesindeki SNP varlığı açısından gruplar arasında fark gözlemlendi (sırasıyla hasta/kontrol için $P < 0.001$ ve $P < 0.001$). Kontrolle kıyasla IL-18 SNP, aspirin intoleransı ve astımı olan hastalarında daha sık gözlemlendi (sırasıyla, $P = 0.013$ ve $P = 0.045$) (Tablo 2).

IL5 (-746) için T allel ve bu alleleli genotip frekansları overdominant hariç tüm kalıtım modellerinde NP'li hasta grubuna kıyasla kontrolde istatistiksel olarak yüksek bulundu (hepsi için $P < 0.05$). Kümülatif olarak IL5 (-746) CT ve TT genotiplerinin CC'ye kıyasla NP'ye karşı koruyuculukla ilişkili olduğu gözlemlendi (CT için: OR 1.600, CI 4.953, $P = 0.022$ ve TT için: OR 1.783, CI 5.948, $P = 0.010$). IL6 (-174) için minör allel ve bu alleleli taşıyan genotip frekansları tüm kalıtım modellerinde gruplar için benzerdi (hepsi için $P > 0.05$). Ayrıca kümülatif olarak; IL6 (-174) resesif homozigot, heterozigot genotip ile yabancı tip genotip frekansları açısından da hasta ve kontrol grubu benzerdir (GC için: OR 0.736, CI 2.087, $P = 0.328$ ve CC için: OR 0.059, CI 1.061, $P = 0.922$). IL18 (-607) için A allel ve bu alleleli taşıyan genotip frekansları overdominant hariç tüm kalıtım modellerinde NP'li hasta grubuna kıyasla kontrolde istatistiksel olarak yüksek bulundu (hepsi için $P < 0.05$) Kümülatif olarak IL18 (-607) CA ve AA genotiplerinin CC'ye kıyasla NP'ye karşı koruyuculukla ilişkili olduğu gözlemlendi (CA için:

OR 1.199, CI 3.316, $P = 0.028$ ve AA için: OR 1.560, CI 4.757, $P = 0.004$) (Tablo 4).

Haplotip analizine göre, IL5 (-746), IL6 (-174), IL18 (-607) için CGA, TGA ve TGC, TCA ve TCC haplotip frekanslarının kontrol grubunda ve CGC haplotip frekansının ise NP'li hastalarda yüksek olduğu gözlemlendi (hepsi için $P < 0.05$) (Table 5).

MDR analizi ile olası tüm kombinasyonlardan oluşturulan her model değerlendirildi ve NP ön-tanısında kullanılabilir en iyi tek, iki ve üç-locuslu model bulundu. En iyi tek-locus modele göre, IL18 CC genotipi 1.88-kat artmış NP riskine eşlik eder (Figür 1). En iyi iki-locus modele göre, IL5_IL18'nin genotip kombinasyonlarından CC+CC, CT+CC ve CT+CT diplotipleri sırasıyla 2.6-kat, 1.3-kat ve 2.3-kat artmış-NP riskine eşlik eder (Figür 2). En iyi üç-locus modele göre, IL5_IL6_IL18'nin genotip kombinasyonlarından CC+GG+CC, CC+CC+CC, CC+CG+CC, CC+CG+CA, CT+GG+CC, CT+GG+CA ve CT+CG+CC ve CT+CG+CA triplotipleri sırasıyla, 2.6-kat, ∞-kat, 1.6-kat, ∞-kat, 1.3-kat, 2.6-kat, 4-kat ve ∞-kat artmış NP riskine eşlik eder (Figür 3A, 3B). En iyi tek değişkenli modele göre, NP-pozitif aile öyküsü olan bireylerin 16-kat artmış NP riskine sahip olduğu gözlemlendi (Figür 4). IL18 CC, CA genotiplerini taşıyan, aspirin intoleransı ve NP-pozitif aile öyküsü olan bireylerin ise ∞-kat artmış NP riskine sahip olduğu gözlemlendi (Figür 5).

Table 1. Genotiplendirmede kullanılan primer setleri

Gen	Primer	Nükleotid sekansı (5'-3')	Ürün boyutu (bp)
IL5 (-746)	F	TGCAGTTGAGGTAGGATTAGGGTCAC	676
	R	GTTAATACATCATTGCCCCACATTTC	
	SNP	ACTGACTGACTGACTGATCCTGCTGCTCATGAACAGAATACATA	
IL6 (-174)	F	TGTC AAGACATGCCAAAAGTGCTGAG	222
	R	AAATCTTTGTTGGAGGGTGAGGGTG	
	SNP	ACTGACTGACTGACTGACTGACTGAACTTTTCCCCTAGTTGTGTCTTGC	
IL18 (-607)	F	TAGGTCAGTCTTGTATCATTCCAG	532
	R	AAAGCACCTCCTTAGTCCATTAGAAGC	
	SNP	ACTGACTGACTGACTGACTGACTTGACCACACGGATACCATCATTAGAATTTTAT	

IL5= İnterlökin 5 (koloni uyarıcı faktör, eozinofil); IL6= İnterlökin 6 (interferon, beta 2); IL18= İnterlökin 18 (interferon-gamma indükleyici faktör); bp= baz çifti; F= İleri primer; R= Geri primer

SNP ID= Tek nükleotid polimorfizm erişim numarası veya NCBI dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>).

Table 2. Çalışma popülasyonunun karakteristiği

Değişkenler	NP'li Hastalar (n:87)	Kontrol (n:76)	P#	P≠		
				IL5 (-746)	IL6 (-174)	IL18 (-607)
Hasta/Kontrol				<0.001†	0.367†	<0.001†
Yaş (yıl) (ortalama ± SD)	37.83 [9.258; 21-56]	38.59 [9.321; 21-58]	0.601*	0.899*	0.018*	0.446*
Cinsiyet, n (%)						
Erkek	52 (60)	40 (53)	0.359†	0.636†	0.238†	0.126†
Kadın	35(40)	36 (47)				
Aspirin intoleransı (+), n (%)	17 (20)	2 (3)	<0.001†	0.526†	0.588**	0.013†
Astım (+), n (%)	28 (32)	15 (20)	0.051†	0.712†	0.129†	0.045†
Alerji (+), n (%)	30 (35)	14 (20)	0.040†	0.535†	0.268†	0.173†
NP-pozitif aile öyküsü (+), n (%)	16 (18)	1 (1)	<0.001†	0.969†	0.348**	0.724†

Değerler medyan ± SD veya sayılar (%) olarak sunuldu; SD= Standart sapma; NP= Nazal polipozis

†Unpaired değişkenlerin karşılaştırılması için X2 ve sürekli değişkenler için Student t-testinden kullanıldı.

*Mann-Whitney U t-testi,

** Fisher's Exact testi hasta/kontrol için,

P# değeri hasta/kontrol için,

P≠ değeri değişkenler/SNP'ler için

Table 3. Hasta ve kontrolde IL5, IL6 ve IL18 gen polimorfizmleri için genotipik tarama

Gen	Gen Erişim Numarası	SNP ID	Lokus	Allel değişimi	MAF			**P HWE	Genotip (%)
					Hasta	Kontrol	*Veritabanı		
IL5	NM_000879	rs206981 2	-746	G[C/T]T	0.22	0.40	0.1412/707	0.093	0.12
IL6	NM_000600	rs180079 5	-174	A[G/C]A	0.17	0.14	0.4535/227	0.051	0.09
IL18	NM_001243211	rs194651 8	-607	A[C/A]A	0.26	0.47	0.4079/2043	0.069	0.17

IL5= İnterlökin 5 (koloni uyarıcı faktör, eozinofil); IL6= İnterlökin 6 (interferon, beta 2); IL18= İnterlökin 18 (interferon-gamma indükleyici faktör)

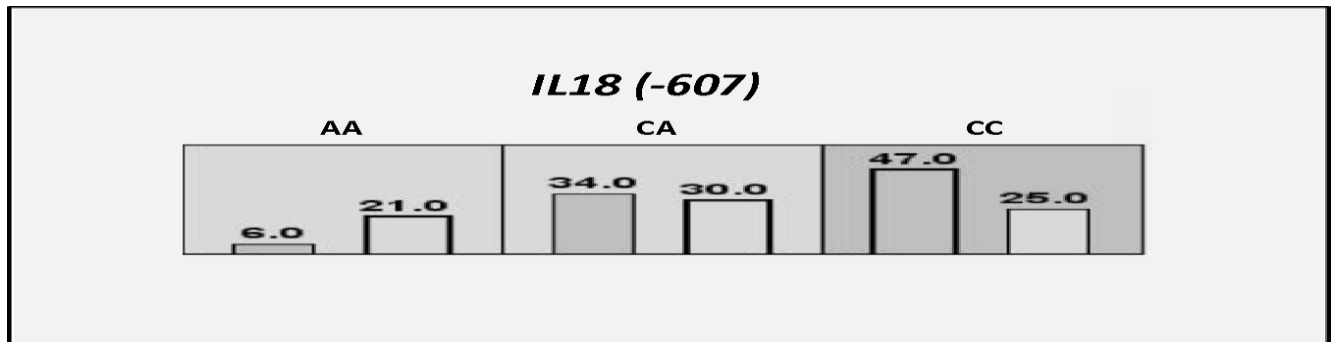
MAF= Minör allel frekansları; HWE= Hardy-Weinberg dengesi;

SNP ID= Tek nükleotid polimorfizm erişim numarası veya NCBI dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>);

*HapMap veritabanlarından MAF (<http://www.hapmap.org>) veya NCBI dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>);

**P değeri HWE kontrol için.

Not= "MAF/Minör Allel Sayımı: G= 0. 0.4535/22710". Bu, rs200327820 için, minör allelin 'G' olduğu ve 1000 Genom faz 1 popülasyonunda %45.35'lik bir frekansa sahip olduğu ve 1088 kişinin (veya 2176 kromozomun) örnek popülasyonunda 'G'nin 22710 kez gözlemlendiği anlamına gelir.



Figür 1. MDR analizinde hasta ve kontrol için IL18 (-607)'nin genotiplerin dağılımı. Tek-lokuslu modele göre, IL18 (-607)'nin genotiplerinin kontrole kıyasla NP ön-tamında %53.99 doğrulukla kullanılabilir. IL18 CC 1.88-kat artmış NP riskine eşlik eder. Her bir genotipe sahip kontrol grubundaki birey sayısı sağda, hasta sayısı ise soldaki histogram ile gösterilmektedir. Açık renkli alanlar düşük riskli genotipi gösterirken, koyu renkli alanlar ise yüksek riskli olarak sınıflandırılan genotipi göstermektedir (TBA: 0.53, CVC 8/10, OR 2.397, CI 1.2667-4.5358, P= 0.006). NP= Nazal polipozis

Table 4. Hasta ve kontrolde IL5, IL6 ve IL18 gen polimorfizmlerinin genotip ve allel frekansları

SNPs	Genotip/Allel	Hasta (n:87)	Kontrol (n:76)	Model	OR (%95 CI)	Arındırılmış OR (%95 CI)*	P**
		n (%)	n (%)				
IL5 (-746)	CC	51 (59)	31 (41)	Kodominant	1.00 (referans)	1.00 (referans)	8e-04
	CT	33 (38)	29 (38)		1.45 (0.74-2.82)	1.47 (0.75-2.87)	
	TT	3 (3)	16 (21)		8.77 (2.36-32.57)	8.71 (2.34-32.42)	
	CC	51 (59)	31 (41)	Dominant	1.00 (referans)	1.00 (referans)	0.023
	CT-TT	36 (41)	45 (59)		2.06 (1.10-3.84)	2.08 (1.11-3.90)	
	CC-CT	84 (97)	60 (79)	Resessif	1.00 (referans)	1.00 (referans)	3e-04
	TT	3 (3)	16 (21)		7.47 (2.08-26.77)	7.37 (2.05-26.48)	
	CC-TT	54 (62)	47 (62)	Overdominant	1.00 (referans)	1.00 (referans)	0.980
	CT	33 (38)	29 (38)		1.01 (0.54-1.90)	1.03 (0.54-1.94)	
	--	-	-	Log-additif	2.19 (1.36-3.55)	2.20 (1.36-3.57)	9e-04
T‡	0.22	0.40				< 0.001	
IL6 (-174)	GG	64 (74)	61 (80)	Kodominant	1.00 (referans)	1.00 (referans)	0.360
	GC	16 (18)	8 (11)		0.52 (0.21-1.31)	0.54 (0.21-1.37)	
	CC	7 (8)	7 (9)		1.05 (0.35-3.17)	1.03 (0.33-3.21)	
	GG	64 (74)	61 (80)	Dominant	1.00 (referans)	1.00 (referans)	0.310
	GC-CC	23 (26)	15 (20)		0.68 (0.33-1.43)	0.69 (0.32-1.47)	
	GG-GC	80 (92)	69 (91)	Resessif	1.00 (referans)	1.00 (referans)	0.790
	CC	7 (8)	7 (9)		1.16 (0.39-3.47)	1.15 (0.37-3.55)	
	GG-CC	71 (82)	68 (89)	Overdominant	1.00 (referans)	1.00 (referans)	0.150
	GC	16 (18)	8 (11)		0.52 (0.21-1.30)	0.54 (0.22-1.35)	
	--	-	61 (80)	Log-additif	0.87 (0.53-1.43)	0.86 (0.52-1.45)	0.570
C‡	0.17	0.14				0.135	
IL18 (-607)	CC	47 (54)	25 (32)	Kodominant	1.00 (referans)	1.00 (referans)	5e-04
	CA	34 (39)	30 (40)		1.66 (0.83-3.31)	1.78 (0.88-3.60)	
	AA	6 (7)	21 (28)		6.58 (2.35-18.41)	7.56 (2.62-21.78)	
	CC	47 (54)	25 (33)	Dominant	1.00 (referans)	1.00 (referans)	0.006
	CA-AA	40 (46)	51 (67)		2.40 (1.27-4.54)	2.59 (1.35-4.97)	
	CC-CA	81 (93)	55 (72)	Resessif	1.00 (referans)	1.00 (referans)	3e-04
	AA	6 (7)	21 (28)		5.15 (1.95-13.59)	5.65 (2.10-15.20)	
	CC-AA	53 (61)	46 (60)	Overdominant	1.00 (referans)	1.00 (referans)	0.960
	CA	34 (39)	30 (40)		1.02 (0.54-1.91)	1.05 (0.55-1.97)	
	--	-	-	Log-additif	2.29 (1.45-3.61)	2.45 (1.53-3.93)	2e-04
A‡	0.26	0.47				< 0.001	

IL5= İnterlökin 5 (koloni uyarıcı faktör, eozinofil); IL6= İnterlökin 6 (interferon, beta 2); IL18= İnterlökin 18 (interferon-gamma indükleyici faktör)
n (%)= Frekans; SNP= Tek nükleotid polimorfizmi; OR= Risk oranı; CI= Güven aralığı

* Yaş ve cinsiyetten arındırılmış

**χ²testi

‡ Riskli allel.

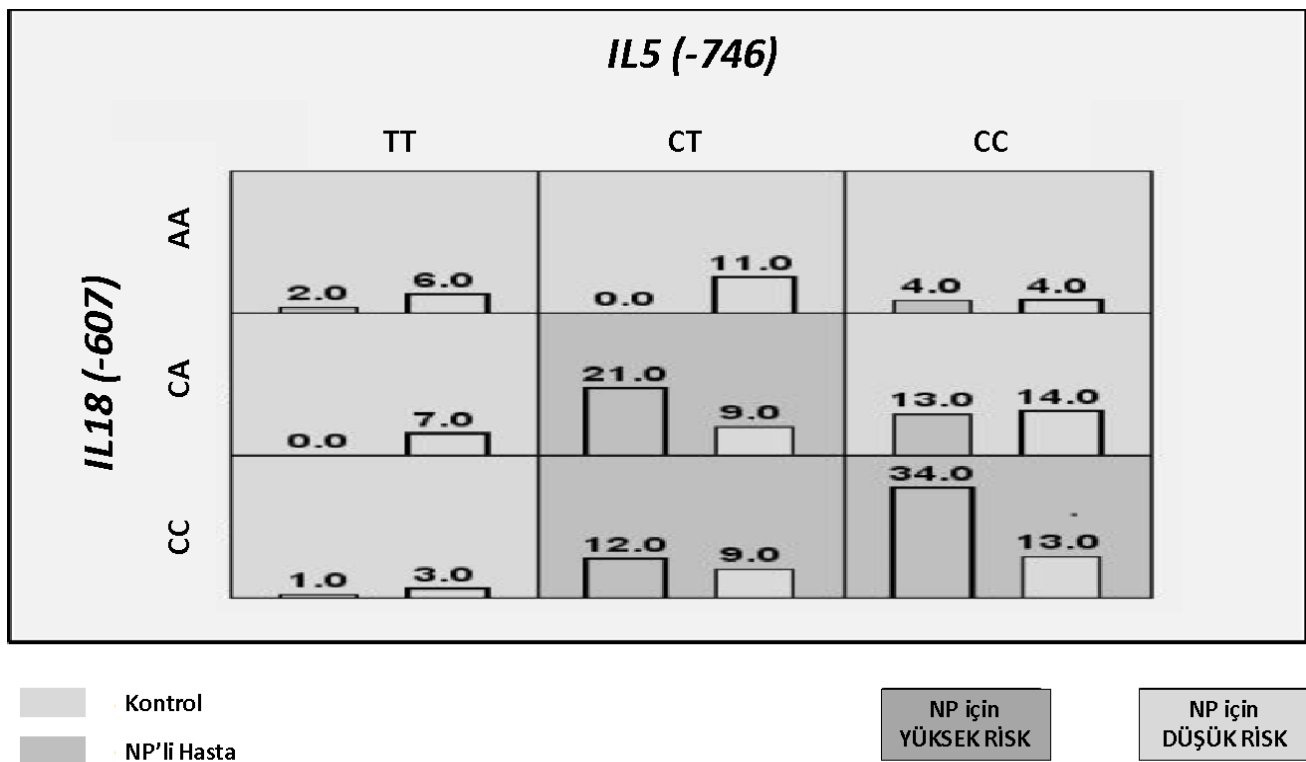
Table 5. Hasta ve kontrolde *IL5*, *IL6* ve *IL18* gen polimorfizmlerinin haplotip frekansları

No	Haplotipler			Haplotip frekansları			OR (95% CI)*	**P
	<i>IL5</i> (-746)	<i>IL6</i> (-174)	<i>IL18</i> (-607)	Kümülatif	Hasta	Kontrol		
1	C	G	C	0.4221	0.5357	0.3121	1.00 (referans)	---
2	C	G	A	0.5892	0.1027	0.2234	3.20 (1.50 - 6.86)	0.0032
3	T	G	A	0.7296	0.1086	0.1845	2.24 (1.11 - 4.55)	0.026
4	T	G	C	0.8405	0.0806	0.1353	2.57 (1.09 - 6.05)	0.032
5	C	C	C	0.9274	0.1006	0.0547	0.28 (0.08 - 1.06)	0.062
6	T	C	A	0.9647	0.0162	0.0573	11.56 (1.80 - 74.22)	0.011
7	T	C	C	0.9829	0.0187	0.0243	18.94 (18.50 - 19.38)	<0.0001
8	C	C	A	1	0.0369	0.0085	0.45 (0.04 - 5.82)	0.54

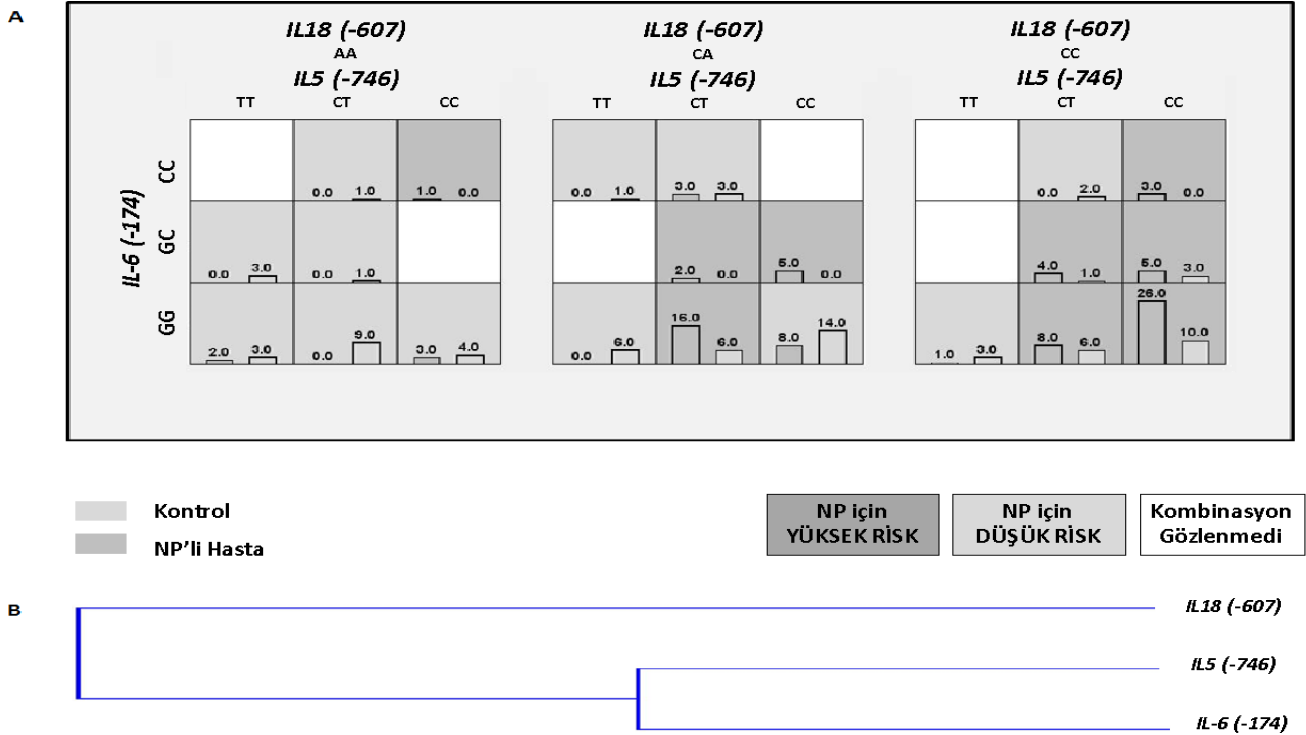
OR= Risk oranı; CI= Güven aralığı

*Lojistik regresyon modelinde.

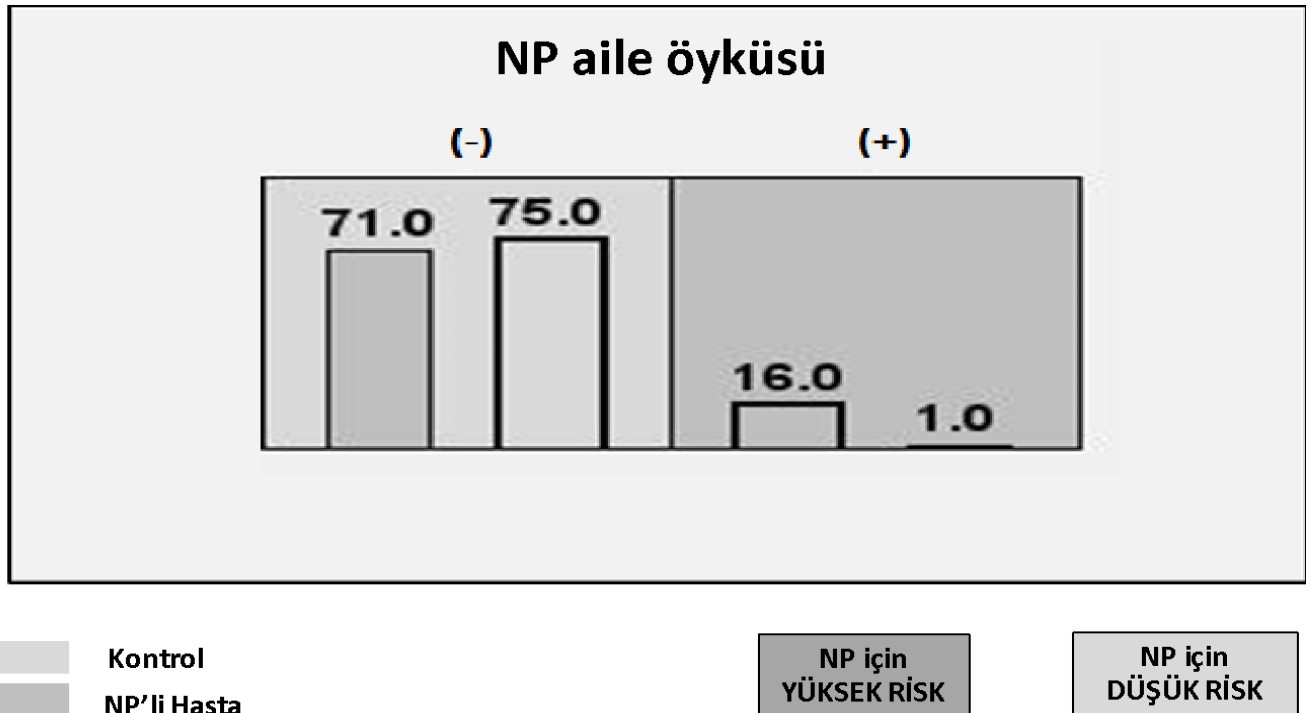
**Global haplotip ilişkisi P-değeri= <0.0001



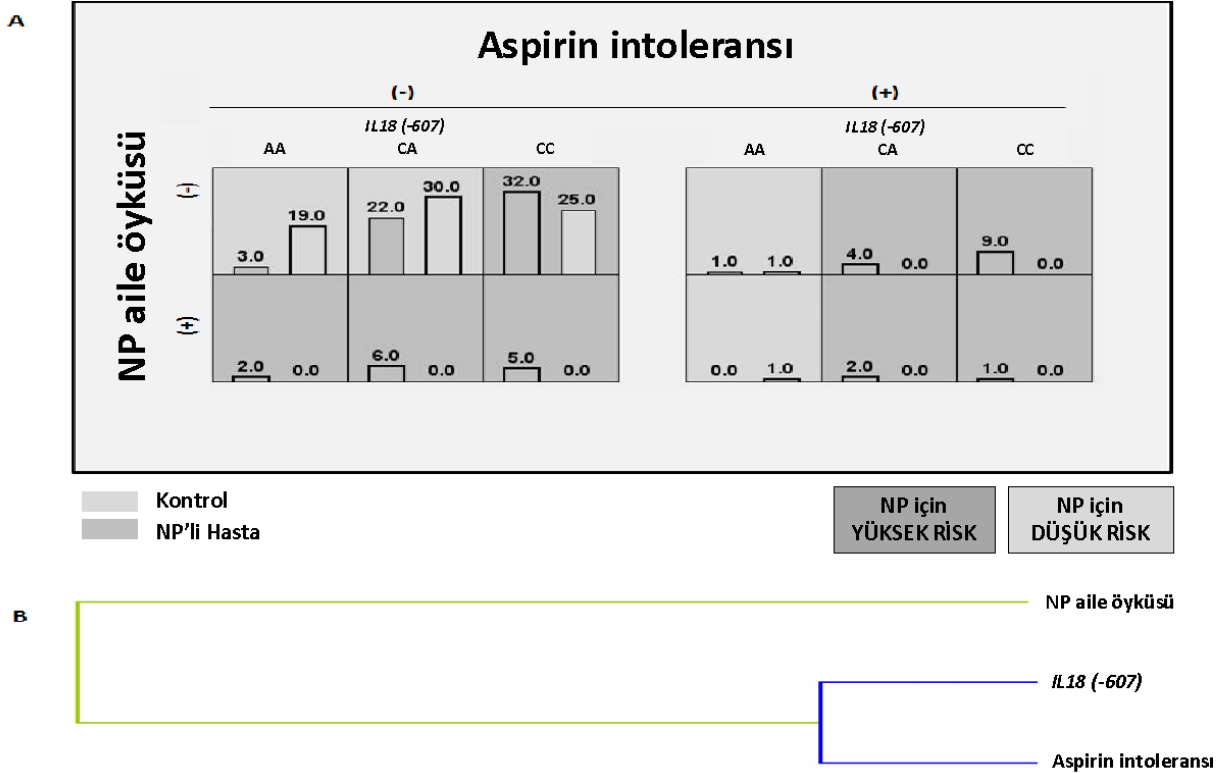
Figür 2. MDR analizinde hasta ve kontrol için *IL5* (-746) ve *IL18* (-607)'nin genotip kombinasyonlarının dağılımı. İki-locustlu modele göre *IL5* (-746) ve *IL18* (-607)'nin genotip kombinasyonlarının kontrole kıyasla NP ön-tanısında %63.8 doğrulukla kullanılabilir. *IL5* *IL18*, sırasıyla CC+CC, CT+CC ve CT+CT diplotipleri sırasıyla 2.6-kat, 1.3-kat ve 2.3-kat artmış NP riskine eşlik eder. Her bir diplotipe sahip kontrol grubundaki birey sayısı sağda, hasta sayısı ise soldaki histogram ile gösterilmektedir. Daha açık renkli alanlar düşük riskli diplotipi gösterirken, daha koyu renkli alanlar ise yüksek riskli olarak sınıflandırılan diplotipi göstermektedir. *IL5* (-746) için yüksek ve düşük risk paterni, *IL18* (-607) genotipine bağlı olarak değişmektedir. (TBA: 0.638, CVC 10/10, OR 4.86, CI 2.470-9.572, P<0.0001). NP= Nazal polipozis



Figür 3. MDR analizinde hasta ve kontrol için IL5 (-746), IL6 (-174) ve IL18 (-607)'nin genotip kombinasyonlarının dağılımı. A. Üç-locuslu modele göre IL5 (-746), IL6 (-174) ve IL18 (-607)'nin genotip kombinasyonlarının kontrole kıyasla NP ön-tanısında %68 doğrulukla kullanılabilir. IL5_IL6_IL18, sırasıyla CC+GG+CC, CC+CC+CC, CC+CG+CC, CC+CG+CA, CT+GG+CC, CT+GG+CA ve CT+CG+CC ve CT+CG+CA triplotipleri sırasıyla, 2.6-kat, ∞-kat, 1.6-kat, ∞-kat, 1.3-kat, 2.6-kat, 4-kat ve ∞-kat artmış NP riskine eşlik eder. Her bir triplotipe sahip kontrol grubundaki birey sayısı sağda, hasta sayısı ise soldaki histogram ile gösterilmektedir. Daha açık renkli alanlar düşük riskli triplotipi gösterirken, daha koyu renkli alanlar ise yüksek riskli olarak sınıflandırılan triplotipi göstermektedir. IL5 (-746) ve IL6 (-174) diplotipi için yüksek ve düşük riskli paterni, IL18 (-607) genotipine bağlı olarak değişmektedir (TBA: 0.680, CVC 10/10, OR 7.91, CI 3.8894-16.1215, P< 0.0001). B. Dendrogram, IL5 (-746), IL6 (-174) ve IL18 (-607)'nin arasındaki etkileşimlerin doğasını göstermektedir. Diğer etkileşimlere kıyasla IL5 (-746) ve IL6 (-174) polimorfizmleri arasında en güçlü sinerjistik etkileşim gözlemlendi. NP= Nazal polipozis



Figür 4. MDR analizinde hasta ve kontrol için “NP aile öyküsü” değişkeninin dağılımı. NP-pozitif aile öyküsü varlığı kontrole kıyasla 16-kat artmış NP riskle ilişkili olup, %55 doğrulukla NP ön-tanısında kullanılabilir. NP-pozitif aile öyküsü ve NP-negatif aile öyküsü sırasıyla (+) ve (-) olarak ifade edilmiştir. Her bir “NP aile öyküsü” değişkeni için kontrol grubundaki birey sayısı sağda, hasta sayısı ise soldaki histogram ile gösterilmektedir. Açık renkli alanlar düşük riskli değişkeni gösterirken, koyu renkli alanlar ise yüksek riskli değişkeni göstermektedir (TBA 0.550, CVC 6/10, OR 16.90, CI 2.1824-130.7935, P= 0.0004). NP= Nazal polipozis



Figür 5. MDR analizinde hasta ve kontrol için ve IL18 (-607) genotipi ile “Aspirin intoleransı” ve “NP aile öyküsü” değişkenlerinin kombinasyonlarının dağılımı. A. NP-pozitif aile öyküsü ile NP-negatif aile öyküsü sırasıyla (+) ve (-), Aspirin intoleransı varlığı ile yokluğu (+) ve (-) olarak ifade edilmiştir. IL18 (-607) CC, CA genotiplerinin, “Aspirin intoleransı (+) ve “NP-pozitif aile öyküsü (+)” değişkenlerinin birlikte kontrole kıyasla ∞ kat artmış NP riski ile %65.08 doğrulukla NP ön-tanısında kullanılabilir. IL18 (-607) genotiplerinin, “Aspirin intoleransı (+) veya (-)” ve “NP aile öyküsü (+) veya (-)” değişkenlerinin oluşturduğu kombinasyonlar için kontrol grubundaki birey sayısı sağda, hasta sayısı ise soldaki histogram ile gösterilmektedir. Daha açık renkli alanlar düşük riskli değişkeni gösterirken, daha koyu renkli alanlar ise yüksek riskli değişkeni göstermektedir. “NP aile öyküsü (+)/(-)” değişkeni için yüksek ve düşük riskli paterni IL18 (-607) genotipine ve “Aspirin intoleransı (+)/(-)” değişkenine bağlı olarak değişmektedir (TBA 0.650, CVC 10/10, OR 4.78, CI 2.466-9.289, P< 0.0001). B. Dendrogram, IL18 (-607) genotipi ile “Aspirin intoleransı (+)/(-)” ve “NP aile öyküsü (+)/(-)” değişkenlerinin arasındaki etkileşimlerin doğasını göstermektedir. Diğer etkileşimlere kıyasla , IL18 (-607) genotipi ile “Aspirin intoleransı (+)/(-)” değişkeni arasında en güçlü sinerjistik etkileşim gözlemlendi. NP= Nazal polipozis

TARTIŞMA

Bu çalışmada, yaygın IL5 (-746), IL6 (-174) ve IL18 (-607) polimorfizmleri ile NP arasındaki ilişki araştırıldı. IL5 ve IL18 polimorfizmlerinin, NP için artmış risk taşıdığı bulunmuştur. IL5 genotiplerinin ve IL5_IL6 diplotiplerinin nazal polipozisde yüksek- veya düşük-riskli olarak sınıflandırılmasında, IL18 genotipinin belirleyici olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla IL5 ve IL18 SNP'lerinin her ikisi içinde C allel ve CC genotip frekanslarının NP'li hastalarda yüksek olduğu gözlenirken, IL6 için hasta ve kontrol grubu arasında fark olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte MDR analizinde, IL18 SNP ve aspirin intoleransı varlığı birlikte sinerjistik bir etkileşim göstermiştir. Bu etkileşime göre IL18 SNP ve aspirin intoleransı birlikte nazal polipozisin ön-tanısında %53.99 doğrulukla kullanılabilirliği ve özellikle IL18 CC genotipi 1-88 kat-artmış NP riski ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, NP-pozitif aile öyküsüne sahip bireylerin 16-kat artmış NP riski taşıdığı gözlenmiştir. IL5-IL6-IL18 için CGC haplotipini; IL5_IL18 için CC+CC, CT+CC, CT+CT diplotiplerini; IL5_IL6_IL18 CC+GG+CC,

CC+CC+CC, CC+CG+CC, CC+CG+CA, CT+GG+CC, CT+GG+CA, CT+CG+CC ve CT+CG+CA triplotiplerini taşıyan bireylerin nazal polipozise yakalanma riskine sahip olduğu gözlenmiştir.

Nazal mukozada kronik inflamatuvar yanıt nazal polip oluşumundan sorumludur (1,3) Pek çok inflamatuvar hücre, sitokin, büyüme faktörü nazal mukozada ödem gelişiminden ve inflamasyondan sorumludur. NP'lerde inflamasyondan esas olarak sorumlu hücreler arasında eozinofiller, lökositler, mast hücreleri ve lenfositler bulunur (4). Sitokinler; aktive lenfositler, makrofajlar ve inflamasyonda görev alan diğer hücreler tarafından sentezlenerek, bağışıklık yanıtının oluşmasında önemli rol oynayan geniş bir ailedir (5). SNP'lerin varlığı, hastalıktan koruyuculuk, hastalığa yatkınlık, hastalık şiddetinde artış gibi çeşitli fenotiplere eşlik eder, bu nedenle SNP'ler, hastalık teşhisi, hastalık-yatkınlık taraması ve diğer uygulamalarda oldukça kullanışlı araçlardır (32). Promotör bölgelerine ait SNP'ler gen transkripsiyonunun düzenleyici elementlerinin aktivitesini değiştirerek, hastalık etiolojisini etkileyebilmektedir (33).

Artmış IL-5, IL-6 ve IL-18 seviyelerinin NP ile ilişkili olabileceği bildirilmiş (21, 34-36). Ayrıca

IL6 geninin promotor bölge SNP'lerinin polip formasyonunda önemli olabileceği bildirilmiştir (2). Ancak bildiğimiz kadarıyla şimdiye kadar literatürde, IL5, IL6 ve IL18 gen promotorunun sırasıyla, -746, -174 ve -607 SNP'leri, SNP-SNP ve fenotip-SNP etkileşimleri ile NP arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada, Türk popülasyonunda 87 NP'li hasta ve 76 gönüllü-sağlıklı kontrolde IL5 (-746), IL6 (-174) ve IL18 (-607) polimorfizmlerinin varlığı, allel, genotip, haplotip frekansları ve onların genotipik kombinasyonları araştırıldı.

Çalışmamızda, IL5, IL6 ve IL18 gen promotor polimorfizmlerinin hastalığın klinik heterojenitesi ile ilişkisi de araştırılmış olup, IL-18 SNP varlığı, aspirine duyarlı ve astımatik NP'li hastalarda sık gözlenmiştir. Ayrıca ailesinde nazal polipozis olan bireylerin NP riskinin 16-kat arttığı tespit edilmiştir. Kim ve arkadaşları yaptıkları çalışmada IL18 (-607) polimorfizminin aspirine duyarlı akut kutanöz inflamasyonun gelişmesine katkıda bulunarak, ürtiker riskini artırdığını bildirilmiştir (37). Bu çalışmada, IL18 (-607) polimorfizmi ve aspirin intoleransı arasında güçlü bir sinerjistik ilişki gözlenmiştir.

Birçok karşılaştırmalı çalışma, kontrole kıyasla NP dokularında IL-5 konsantrasyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir (21, 38). IL-5'nin yüksek ekspresyonu, nazal poliplerin oluşumu ve gelişimi ile yakından ilişkili olabilir (21, 34). IL5 (-746) C allel varlığı otoimmün hastalığında artmış IL-5 miktarı ile ilişkili bulunmuş olup, alerjik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (39,40). Çalışmamızda IL5 (-746) C allel frekansı hasta grubunda oldukça yüksek ve CC genotipinin artmış NP-riski ile ilişkili olduğu gözlemlendi. Ayrıca çalışmamızda IL5 ve IL18 arasında güçlü bir sinerjistik ilişki gözlenmiş olup, IL5 (-746)'nın nazal polipozisde yüksek veya düşük riskli olarak sınıflandırılmasında IL18 (-607) genotipinin belirleyici olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan farklı çalışmalar, IL-6 seviyesinin ve IL6 (-174) GG genotip frekansının nazal polip grubunda kontrollerden daha yüksek olduğu gözlenmiştir (2,35). Ancak çalışmamızda nazal polipozis ile kontrol grubu arasında IL6 (-174) polimorfizmi varlığı, allel ve genotip sıklığı açısından fark gözlenmedi.

Yapılan çalışmalarda, kontrole kıyasla nazal polipli hastalarda IL18 gen ifadesinin mRNA ve protein seviyesinin oldukça yüksek olduğu raporlanmıştır (36, 41, 42). Birçok klinik çalışma grubu, IL18 gen promotörler SNP'leri ile çeşitli hastalıklar arasındaki ilişkiyi kapsamlı bir şekilde araştırmış ve bu varyantları hastalık patogenezleri ile ilişkilendirilmiştir (16,19). IL18 (-656)'nin artmış immünoglobulin (Ig)E seviyesi, yaygın alerjenlere spesifik duyarlılaşma ve mevsimsel

alerjik rinit ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bildirilmiş, ancak NP ile ilişkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır (43). IL18'de, -607 lokusundaki CC genotipinin promotor bölge aktivitesini modüle ederek, IL-18 protein üretimini arttırarak SLE aktivitesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (44). Giedraitis ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, IL18 (-607) A alleli'nin bir cAMP'ye duyarlı reseptör bağlanma yerini değiştirebileceğini ve IL18 transkripsiyonunda bir azalmaya neden olabileceğini bildirmiştir (45). Çalışmamızda IL18 (-607) C allel frekansı hasta grubunda oldukça yüksek olup, bu polimorfizm varlığında nazal polipozis olasılığının %53.99 ve CC genotipinin artmış NP-riski ile ilişkili olduğu gözlemlendi. Literatür göz önüne alındığında, IL18 (-607) CC genotipinin gen aktivitesini modüle ederek NP riskini artırdığını düşünmekteyiz.

Çalışma grubunda, IL5 (-746), IL6 (-174) ve IL18 (-607) polimorfizmleri için haplotiplerin sıklığı hesaplanmış ve bazı haplotiplerin frekanslarının hasta ve kontrol grubunda istatistiksel açıdan farklı olduğu tespit edilmiştir. Veriler, CGC haplotipini taşıyan bireylerin diğer olası haplotipleri taşıyanlara göre daha fazla nazal polipozise yakalanma riskine sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmamız ile tespit ettiğimiz ve artmış NP-riskine eşlik eden IL5-IL6-IL18 CGC haplotipinin, allel frekans analiz bulgularımızda gözlenen ve artmış NP-riski ile ilişkili IL5 ve IL18 SNP'lerinin her ikisi içinde C allellerini içermesi verilerimizin paralellliğini göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda MDR analizinde oluşturulan kombinasyonlar içerisinde en iyi iki-lokus modele göre, IL5_IL18'nin genotip kombinasyonlarından CC+CC, CT+CC ve CT+CT diplotiplerinin; en iyi üç-lokus modeline göre ise, IL5_IL6_IL18 CC+GG+CC, CC+CC+CC, CC+CG+CC, CC+CG+CA, CT+GG+CC, CT+GG+CA ve CT+CG+CC ve CT+CG+CA triplotiplerinin nazal polip için risk teşkil ettiği anlaşılmıştır. Bununla birlikte iki- ve üç-lokus modelinde NP riskine eşlik eden genotip kombinasyonları içerisinde, genotip frekans analiz bulgularımızda kontrolde sık gözlenen IL5 (-746) TT ve IL18 (-607) AA genotiplerinin yer almaması oldukça dikkat çekicidir. Çalışmamızda kullandığımız istatistiksel analiz yöntemleri ile elde ettiğimiz data; haplotiplerin, diplotiplerin, triplotiplerin tek bir SNP'le karşılaştırıldığında daha fazla hastalık veya fenotiplerle bağlantı gösterebileceği ve klinikte tek bir SNP'ten daha güçlü bir prediktif değeri olabileceği hipotezini desteklemektedir (46).

Populasyon genetiği çalışmaları için örneklem sayısı verinin doğruluğu ve güvenilirliği için önemlidir (48). Bu nedenle çalışma grubumuzdaki birey sayısı potansiyel limitlerimizdendir. Ayrıca NP'li hastalarda IL5, IL6 ve IL18 mRNA ve/veya

protein seviyeleri ve/veya SNP'lerin transkriptler üzerindeki etkisi çalışmamızda değerlendirilmemiştir. Genlerin promotor bölgesine ait nükleotid değişimleri genin transkripsiyonel yeteneği üzerinde, gen ifadesinin seviyesini etkileyerek, inflamatuvar yanıtın şiddetini değiştirebileceğini düşünüyoruz.

SONUÇ

Çalışmamız IL5 (-746) ve IL18 (-607) polimorfizmlerinin nazal polipozis için predispozan faktörler olduğunu göstermiştir. Bu SNP varyasyonları, nazal polipozis patogenezinde rol oynayan inflamatuvar yolların gösterilmesine ışık tutabilir. Nazal polipoziste IL5 (-746) ve IL18 (-607) SNP'lerinin gen aktivitesi üzerindeki sonuçlarını araştıran ileri fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onayı: Etik onay alındı.

Turgut Özal Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu (21/02/2014- 299950669/136)

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Finansal Destek: Finansal destek yoktur.

Hasta Onamı: Bu çalışma Yenimahalle Eğitim ve Araştırma Hastanesi KBB kliniğinde yapılan prospektif kontrollü klinik bir çalışmadır.

KAYNAKLAR

1. Larsen K, Tos M. The estimated incidence of symptomatic Nasal polyps. *Acta Otolaryngol* 2002;122(2):179-182,
2. Stankovic KM, Goldsztein H, Reh DD, Platt MP, Metson R. Gene expression profiling of nasal polyps associated with chronic sinusitis and aspirin-sensitive asthma. *Laryngoscope* 2008;118(5):881-9.
3. Önerci M, Nazal Polipozis, Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi, Ankara, 2006;66-70.
4. Kowalski ML, Lewandowska A, Wozniak J, Makowska J, Jankowski A. Inhibition of Nasal polyp mast cell and eosinophil activation by desloratidine. *Allergy*, 2005;60(1):80-85.
5. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines In, Parslaw T.G, Stites O.P, Terr A.I, Imoden J.B, Eds. *Lange Medical Immunology*. 10th Ed, New York, Lange Medical Books/McGraw Hill, 148B, 167, 2001.
6. Hedman J, Kaprio J, Poussa T, Nieminen M. Prevalence of asthma, aspirin intolerance, Nasal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. *International Journal of Epidemiology* 1999;28:717-22.

7. Drake-Lee AB, Nazal polyps. In, Scott-Brown's Otolaryngology, Kerr AG, Groves J (eds.), London, Butterworths, 1987;147-53.
8. Settupane GA, Chafee FH, Nazal polyps in asthma and rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1977;59:17-21.
9. Mukherjee AB, Zhang Z, Chilton BS. Uteroglobin, a steroid-inducible immunomodulatory protein that founded the Secretoglobulin superfamily. *Endocrine Reviews* 2007;28: 707-725.
10. Szepietowski P, Gaudray P. FcεRI beta, a candidate gene for atopy, is located in 11q13 between CD20 and TCN1. *Genomics* 1994;19:399-400.
11. Moloney JR, Oliver RT. HLA antigens, Nasal polyps and asthma. *Clinical Otolaryngol* 1980;5(3):183-9.
12. Erbek SS, Yurtcu E, Erbek, S, Atac FB, Sahin FI, Cakmak O. Proinflammatory Cytokine Single Nucleotide Polymorphisms in Nasal Polyposis. *Archives of Otolaryngology- Head and Neck Surgery* 2007;133:705-9.
13. Karjalainen J, Joki-Erkkilä VP, Hulkkonen J, Pessi T, Nieminen MM et al. The IL1A genotype is associated with nasal polyposis in asthmatic adults. *Allergy* 2003;58(5):393-6.
14. Mfuna-Endam L, Zhang Y, Desrosiers MY. Genetics of rhinosinusitis. *Current Allergy And Asthma Reports* 2011;11(3):236-46.
15. Fritz SB, Terrell JE, Conner ER, Kukowska-Latallo JF, Baker R et al. Nasal mucosal gene expression in patients with allergic rhinitis with and without Nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003;112(6):1057-63.
16. Sánchez E, Palomino-Morales RJ, Ortega-Centeno N, Jiménez-Alonso J, González-Gay MA et al. Identification of a new putative functional IL18 gene variant through an association study in systemic lupus erythematosus. *Hum Mol Genet* 2009;18:3739-3748.
17. Khripko OP, Sennikova NS, Lopatnikova JA, Khripko JI, Filipenko ML, Khrapov EA, Gelfgat EL, Yakushenko EV, Kozlov VA, Sennikov SV. Association of single nucleotide polymorphisms in the IL-18 gene with production of IL-18 protein by mononuclear cells from healthy donors. *Mediat Inflamm* 2008;309721.
18. Lee HM, Park SA, Chung SW, Woo JS, Chae SW, Lee SH, Kang HJ, Hwang SJ. Interleukin-18/-607 gene polymorphism in allergic rhinitis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006;70(6):1085-8.
19. Lachheb J, Chelbi H, Ammar J, Hamzaoui K, Hamzaoui A. Promoter polymorphism of the IL-18 gene is associated with atopic asthma in Tunisian children. *Int J Immunogenet* 2008;35(1):63-8.
20. Kosugi EM, de Camargo-Kosugi CM, Hirai ER, Mendes-Neto JA, Gregorio LC, Guerreiro-da-Silva

- ID, Weckx LL, Interlökin-6 -174 G/C promoter gen polimorfizminin nazal polipozis ve astım. *Rinoloji* 2013;51(1):70-6.
- 21.Migita M, Yamaguchi N, Mita S, Higuchi, S, Hitoshi Y, Yoshida Y, Tomonaga M, Matsuda I, Tominga A, Takatsu K. Characterization of the human IL-5 receptors on eosinophils. *Cellular Immunology* 1991;133:484-97.
- 22.Zhu W, Liu N, Zhao Y, Jia H, Cui B, Ning G. Association analysis of polymorphisms in IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, and IL-13 with Graves' disease. *J Endocrinol Invest* 2010;33(10):751-5.
- 23.Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, Cohen, N, Cervin A, Douglas R, Gevaert P, Georgalas C, Goossens H, Harvey R, Hellings P, Hopkins C, Jones N, Joos G, Kalogjera, L, Kern B, Kowalski M, Price D, Riechelmann H, Schlosser R, Senior B, Thomas M, Toskala E, Voegels R, Wang de Y, and Wormald, PJ. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinology Supplement* 2012;23:1-299.
- 24.Darsow U, Vieluf D, Ring J. Atopy patch test with different vehicles and allergen concentrations: an approach to standardization. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95(3):677-684.
- 25.Trikalinos TA, Salanti G, Khoury MJ, Ioannidis JP. Impact of violations and deviations in Hardy-Weinberg Equilibrium on postulated gene-disease associations. *Am J Epidemiol* 2006;163:300-309.
- 26.Sole X, Guino E, Valls J, Iñiesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006;22(15):1928-1929.
- 27.Naushad SM, Pavani A, Digumarti RR, Gottumukkala SR, Kutala VK. Epistatic interactions between loci of one-carbon metabolism modulate susceptibility to breast cancer. *Mol Biol Rep* 2011;38(8):4893-901.
- 28.Yang JK, Zhou JB, Xin Z, Zhao L, Yu M, Feng JP, Yang H, Ma YH. Interactions among related genes of renin-angiotensin system associated with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2010;33:2271-2273.
- 29.Ritchie MD, Hahn LW, Roodi N, Bailey LR, Dupont WD, Parl FF, Moore JH. Multifactor-Dimensionality Reduction Reveals High-Order Interactions among Estrogen-Metabolism Genes in Sporadic Breast Cancer. *Am J Hum Genet* 2001;69(1):138-147.
- 30.Hahn LW, Ritchie MD, Moore JH. Multifactor Dimensionality Reduction Software for Detecting Gene-Gene and Gene-Environment Interactions. *Bioinformatics* 2003;19(3):376-382.
- 31.Ritchie MD, Hahn LW, and Moore JH. Power of Multifactor Dimensionality Reduction for Detecting Gene-Gene Interactions in the Presence of Genotyping Error, Missing Data, Phenocopy, and Genetic Heterogeneity. *Genet Epidemiol*, 2003;24(2):150-157.
- 32.The international HapMap Consortium. The international HapMap project. *Nature* 2003; 426(6968):789-96.
- 33.Keen LJ. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism. *Transpl Immunol* 2002;10:143-6.
- 34.Kubota K, Takeno S, Taruya T, Sasaki A, Ishino T, Hirakawa K. IL-5 and IL-6 are increased in the frontal recess of eosinophilic chronic rhinosinusitis patients. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2017;46:36.
- 35.Danielsen A, Tynning T, Brokstad KA, Olofsson J, Davidsson A. Interleukin 5, IL6, IL12, IFN-gamma, RANTES and Fractalkine in human nasal polyps, turbinate mucosa and serum. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2006;263(3):282-9.
- 36.Liu RW, Du JT, Liu YF, Liu SX. Expression and role of IL-18 in chronic rhinosinusitis. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 2018;32(7):497-501.
- 37.Kim SH, Son JK, Yang EM, Kim JE, Park HS. A functional promoter polymorphism of the human IL18 gene is associated with aspirin-induced urticaria. *Br J Dermatol* 2011;165(5):976-84.
- 38.Zhao A, Wang H, Wu H, Yang Y, Xu H, Wang D. Quantitative analysis of interleukin-5 mRNA and protein in nasal polyps. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 2014;28:1053-6.
- 39.Inoue N, Watanabe M, Morita M, Tatusmi K, Hidaka Y, Akamizu T, Iwatani Y. Association of functional polymorphisms in promoter regions of IL5, IL6 and IL13 genes with development and prognosis of autoimmune thyroid diseases. *Clin Exp Immunol* 2011;163(3):318-23.
- 40.Kabesch M, Depner M, Dahmen I, Weiland SK, Vogelberg C et al. Polymorphisms in eosinophil pathway genes, asthma and atopy. *Allergy* 2007;62:423-8.
- 41.Zhang G, Jing X, Wang X, Shi W, Sun P, Su C, Zhu M, Yang Z, Yao Z, Yang J. Contribution of the proinflammatory cytokine IL-18 in the formation of human nasal polyps. *Anat Rec (Hoboken)*, 2011;294(6):953-60.
- 42.Yasuda K, Nakanishi K, Tsutsui H. Interleukin-18 in Health and Disease, *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 2;20(3). pii: E649.
- 43.Kruse S, Kuehr J, Moseler M, Kopp MV, Kurz T et al. Polymorphisms in the IL18 gene are associated with specific sensitisation to common allergens and allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:117-122.
- 44.Fouad NA, Baraka EA, Hassan WA. Interleukin-18 gene polymorphisms in systemic lupus erythematosus: relation to disease status. *Egypt J Immunol*, 2014;21(1):1-12.
- 45.Giedraitis V, He B, Huang W-X, Hillert J. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in

expression regulation. Journal of Neuroimmunology 2001;112(1-2):146-152.

46.Stephens JC, Schneider JA, Tanguay DA, Choi J, Acharya T et al. Haplotype variation and linkage disequilibrium in 313 human genes. Science 2001; 293:489-493.

47.Hong EP, Park JW. Sample size and statistical power calculation in genetic association studies. Genomics Inform 2012;10(2):1