

# Romatizmal Kalp Kapak Hastalığı Olan Türk Hastalarda *IL-1Ra* VNTR Gen Polimorfizminin İlişkisi Üzerine Bir Çalışma

A Study on the Relationship of *IL-1Ra* VNTR Gene Polymorphism in Turkish Patients with Rheumatic Heart Disease

Ayşegül Başak Akadam-Teker<sup>1</sup> , Erhan Teker<sup>2,3</sup> 

<sup>1</sup>Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Giresun, Türkiye

<sup>2</sup>Giresun Üniversitesi A. İlhan Özdemir Eğitim Araştırma Hastanesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Giresun, Türkiye

<sup>3</sup>Dr. Ali Menekşe Göğüs Hastalıkları Hastanesi Giresun, Türkiye

ORCID ID: A.B.A.T. 0000-0003-3618-0560; E.T. 0000-0002-0234-7548

**Cite this article as:** Akadam-Teker AB, Teker E. Romatizmal kalp kapak hastalığı olan Türk hastalarda *IL-1Ra* VNTR gen polimorfizminin ilişkisi üzerine bir çalışma. Experimed 2021; 11(3): 189-94.

## ÖZ

**Amaç:** Romatizmal kalp kapak hastalığının (RKKH)'da dahil olduğu çeşitli otoimmün ve kronik enflamatuvar hastalıklarda, *IL-1* reseptör antagonisti (*IL-1Ra*) A2 allelinin uzun süreli ve şiddetli proenflamatuvar bağışıklık cevabıyla ilişkili olabileceği yönünde çalışmalar bulunmaktadır. Ancak, RKKH patogenezinde *IL-1Ra* varyantının ilişkisi ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı, Türk hastalarda *IL-1Ra* rs2234663 değişken sayıda ardışık yineleme (VNTR) varyantları ile RKKH duyarlılığı ve/veya hastalığın şiddeti arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu vaka-kontrol çalışmasında (165 RKKH/300 kontrol) *IL-1Ra* VNTR için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile genotipleme yapılmıştır.

**Bulgular:** Hastalar ve kontroller arasında genotip ve allel frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ( $p < 0,001$ ). A1 allel frekansı, RKKH hastalarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p = 0,004$ ; OR=3,821; %95 GA=1,459-10,005). A3 allel frekansı hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış göstermiştir ( $p = 0,034$ ; OR=2,536; %95 GA=1,045-6,152). Şiddetli ve hafif kapak hasarı olan hastalar arasında genotip dağılımları istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı bulunmuştur ( $p = 0,031$ ). A2 alleli şiddetli kapak hasarı olan hastalarda hafif kapak hasarı olan hastalara göre istatistiksel olarak yüksek olarak tespit edilmiştir ( $p = 0,003$ ).

**Sonuç:** *IL-1Ra* VNTR rs2234663 varyantlarının Türk toplumunda RKKH açısından duyarlı bireylerin tanımlanmasında kullanılabilecek uygun bir biyobelirteç olabileceği önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** IL-1Ra, rs2234663, polimorfizm, romatizmal kalp kapak hastalığı, romatizmal ateş

## ABSTRACT

**Objective:** There are studies that suggest that the *IL-1* receptor antagonist (*IL-1Ra*) A2 allele may be associated with a long-term and severe proinflammatory immune response in various autoimmune and chronic inflammatory diseases, including rheumatic valvular heart disease (RVHD). However, studies on the relationship of the *IL-1Ra* variant in the pathogenesis of RVHD are very limited. The aim of this study was to investigate whether there is a relationship between *IL-1Ra* rs2234663 variable number tandem repeat (VNTR) variants and RVHD susceptibility and/or disease severity in Turkish patients.

**Material and Method:** In this case-control study (165 RVHD/300 controls), we genotyped *IL-1Ra* VNTR using the polymerase chain reaction (PCR) method.

**Results:** There was a statistically significant difference in genotype and allele frequencies between patients and controls ( $p < 0.001$ ). The A1 allele frequency was found to be significantly higher in RVHD patients compared to the control group ( $p = 0.004$ ; OR=3.821; 95% CI=1.459-10.005). The A3 allele showed a statistically significant increase in the patient group compared to the control group ( $p = 0.034$ ; OR=2.536; 95% CI=1.045-6.152). Genotype distributions were statistically significantly different between patients with severe and mild valve damage ( $p = 0.031$ ). The A2 allele was statistically higher in patients with severe valve damage compared to patients with mild valve damage ( $p = 0.003$ ).

**Conclusion:** *IL-1Ra* VNTR can be recommended as a suitable biomarker that can be used to identify susceptible individuals in terms of RVHD susceptibility in the Turkish population.

**Keywords:** IL-1Ra, rs2234663, polymorphism, rheumatic valvular heart disease, rheumatic fever

**Sorumlu Yazar/Corresponding Author:** Ayşegül Başak Akadam-Teker **E-posta:** aba2904@hotmail.com

**Başvuru/Submitted:** 06.05.2021 **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 18.05.2021

**Son Revizyon/Last Revision Received:** 01.06.2021 **Kabul/Accepted:** 01.06.2021



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

## GİRİŞ

Romatizmal kalp kapak hastalığı (RKKH) otoimmün bir hastalıktır. Romatizmal ateş (RA), A grubu  $\beta$ -hemolitik streptokokların neden olduğu boğaz enfeksiyonundan sonra antijenler ile konak doku proteinleri arasındaki moleküler taklitten kaynaklanır (1-3). RA'nın en ciddi belirtilerinden olan kardit, hastaların %30-45'inde ilk atak sırasında gelişebileceği de, RKKH çoğunlukla tekrarlayan semptomatik akut RA epizodlarına bağlı kümülatif kapak hasarından kaynaklanmaktadır (4,5). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde oldukça ciddi bir sağlık problemi haline gelen RKKH, çocuklarda ve genç yetişkinlerde kalp yetmezliğinin önde gelen nedeni olup, sakatlık ve/veya erken ölüme sonuçlanabilir. RKKH'da, hastalar kalp yetmezliği ile başvurana kadar tespit edilememektedir. Bu aşamadaki hastalar için tek tedavi seçeneği olan ameliyat ciddi komplikasyonlara sahiptir. Bu ciddi komplikasyonların önlenmesinde nüfusun RKKH için taranması ve duyarlı bireylerin belirlenmesi hastalığın erken teşhis, hedefe yönelik tedavi seçeneklerinin uygulanması için uygun biyobelirteçlerin belirlenmesi oldukça önem arz etmektedir. Diğer yandan,  $\beta$  hemolitik grup A streptokok enfeksiyonuna maruziyet sonrasında bireylerin yaklaşık olarak %3-6'sında RKKH gelişmektedir ve bu durum özellikle son zamanlarda yapılan çalışmalarda bireyler arasındaki genetik farklılıklara atfedilmektedir (6-8). Hastalığın patofizyolojisi henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da çok sayıda sitokin geni RKKH ile ilişkilendirilmiştir. Enflamasyona karşı konak yanıtının ürünleri olan sitokinler, enfeksiyonlara karşı savunmada önemli rol oynamaktadır. Enfeksiyonlar sırasında sitokinler, bağışıklık tepkisinin temel araçlarıdır ve bir dizi uyarıcı veya inhibe edici düzenleyici sinyaller açığa çıkararak çeşitli bağışıklık sistemi hücreleri üzerinde etki gösterirler. Sitokin genlerinde meydana gelen varyasyonların sitokin üretimini ve salgılanmasını etkileyerek bireyin hastalığa olan yatkınlığını, hastalığın şiddetini ve hasta tedaviye yanıtını da etkilediği bilinmektedir. RA/RKKH hastalarında *TNF- $\alpha$* , *IL-1*, *IL-6*, *IFN- $\gamma$* 'nin de dahil olduğu proenflamatuvar sitokinlerin plazma seviyelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (9-12). Bizim de 2018 yılında yapmış olduğumuz çalışma verileri *IFN- $\gamma$*  varyantları ve RKKH arasındaki ilişkiyi belgeler niteliktedir (13). İnterlökin-1 (*IL-1*) gen kümesi, proenflamatuvar sitokin grubundan *IL-1 $\alpha$* , *IL-1 $\beta$*  ve bunların rekabetçi inhibitörü *IL-1 reseptör antagonistini (IL-1RA)* ifade eden genler kromozom 2 üzerinde yerleşmiştir (14). *IL-1Ra* geni intron 2'de değişken sayıda ardışık yinelenmelere (VNTR) sahip bölgeler içermekte olup bu varyasyon hem *IL-1Ra* hem de *IL-1 $\beta$*  üretiminde kantitatif farklılıklara neden olabilmektedir (15,16). *IL-1Ra* A2 alleli, uzun süreli ve daha şiddetli bir proenflamatuvar bağışıklık tepkisi ile ilişkilendirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda, *IL-1Ra* A2 homozigotların RKKH dahil olduğu otoimmün ve kronik enflamatuvar durumlarla bağlantılı olabileceği bildirilmiştir (17,18). Ancak, RKKH patogenezinde *IL-1Ra* varyantının ilişkisi ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Biz çalışmamızda, Türk toplumunda *IL-1Ra* varyantları ile RKKH duyarlılığı ve/veya hastalığın şiddeti arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemeyi amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma popülasyonumuz, Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi kardiyoloji polikliniği tarafından takip edilen baskın mitral darlığı ve hafif-orta derecede mitral yetersizliği ve eşlik eden darlıklı hafif-orta ikinci veya üçüncü kapak hastalığı olan 165 kadın RKKH hastasından (yaş: 50,14 $\pm$ 13,99) ve ekokardiyografide kalp kapak hastalığı tespit edilmeyen, otoimmün hastalığı olmayan, ailede RKKH öyküsü olmayan sağlıklı (yaş: 49,72 $\pm$ 12,80) 300 kadın kontrolden oluşmaktadır. Çalışmaya dahil edilmeden önce her hasta ve kontrolden bilgilendirilmiş onam alınmıştır. Tüm hastalar transtorasik ekokardiyografi ile 2015 Jones kriterlerine göre RKKH tanısı açısından tekrar değerlendirilmiştir (19). Kapak hasarının ciddiyeti, mitral balon valvotomi (MBV) endikasyonları ve mitral kapak replasmanı (MVR), ACC/AHA/ASE 2003 Ekokardiyografinin Klinik Uygulaması İçin Kılavuz Güncellemesi 2008'e göre değerlendirilmiştir. Kapak lezyonları, ekokardiyografi ile teşhis edilen romatizmal kalp kapak hastalığı, mitral darlık ve/veya yetersizlik ve eşlik eden hafif-orta dereceli ikinci veya üçüncü kapak hastalığı ile ilişkilidir. Çalışmamızda, dejeneratif aort darlığı olan hastalar göz ardı edilmemiştir. Şiddetli kapak hasarı olan MBV ve/veya MVR olan hastaların klinik ve ekokardiyografik verileri geriye dönük olarak ekokardiyografik verilerden değerlendirilmiştir. Fonksiyonel kapasite New York Kalp Cemiyeti'nin (NYHA) sınıf II – III semptomları, istirahatte pulmoner arter sistolik basıncı >50 mm Hg, mitral kapak alanı <1,5 cm<sup>2</sup>, hiç olmayan veya hafif-orta mitral yetersizliği olan hastalar ve sol atriyal pıhtısı olmayan ve MBV için uygun kapak morfolojisinin uygun olduğuna karar verilmiştir. Fonksiyonel kapasitesi NYHA sınıf III – IV, mitral kapak alanı <1,5 cm<sup>2</sup> ve pulmoner arter sistolik basıncı >50 mm Hg olan ve orta ila şiddetli mitral yetersizliği olan hastalar MVR gerekliliğinin göstergesi olarak alınmıştır. Hastalar şiddetli kapak hastalığı (SKH), (n:122, %73,9; yaş: 48 $\pm$ 13) veya hafif kapak hastalığı (HKH), (n:43, %26,06; yaş: 49 $\pm$ 13) olarak kategorize edilmiştir. SKH grubu, MBV ve/veya MVR öyküsü olan hastalardan veya SKH'lı hastalardan ve MVR adaylarından oluşmaktadır. Hastaların 30'unda başlangıçta MVR, 60'ında (%36,36) MBV, 26'sında (%15,15) daha sonra MVR gelişti ve 54'ü (%32,72) MVR için adaydı. HKH grubu, fiziksel muayeneler ve ekokardiyografik veriler yoluyla hafif-orta şiddetli kapak hastalığı belirtileri nedeniyle tıbbi takipte olan asemptomatik hastalardan oluşuyordu. Ekokardiyografik bulgulara göre; hastalık başvurusundaki hastaların temel özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur. Bu çalışmadaki tüm işlemler, kurumsal ve/veya Ulusal Araştırma Komitesinin Etik Standartlarına ve Helsinki Bildirgesine uyumlu olarak gerçekleştirilmiştir (20). Çalışmamız Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınan (Etik Kurul No: KAEC-121) etik kurul kararınca gerçekleştirilmiştir.

### IL-1Ra Genotip Analizi

Çalışmaya dahil edilen olgulardan alınan periferik kandan ticari kit (Roche high pure isolation kit, Germany) ile DNA izole edilmiş, saflık tayini yapılmış, ve DNA düzeyi hesaplandıktan sonra çalışma zamanına kadar +4°C'de saklanmıştır. *IL-1Ra* gen bölgesinin amplifikasyonu için klasik polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ve F: 5'-CTCAGCAACTCTCTAT-3' R: 5'-TCCTG-GTCTGCAGGTAA-3' oligonükleotidleri kullanılmıştır. 86 bp'lik

**Tablo 1.** Çalışma gruplarına ait karakteristik bilgiler.

Parametreler	Yaş (yıl)	
<b>Kontrol (n=300)</b>	49,72±12,80	p=0,757
<b>Hasta (n=165)</b>	50,14±13,39	
<b>Hasta sınıflandırması</b>	<b>n (%)</b>	
<b>Mitral kapak lezyonları</b>		
HKH	49±13	43 (%26,06)
SKH	48±13	122 (%73,9)
Mitral kapak	128 (%77,5)	
Mitral Kapak + Aort Kapak	37 (%22,4)	
<b>Kapak replasmanı (KR)</b>		
KR+	65 (%39,3)	
KR-	100 (%60,6)	
<b>Valvuloplasti (VP)</b>		
VP+	87 (%52,7)	
VP-	78 (%47,2)	
Ortalama değerler, Student's t-testi kullanılarak hastalar ve kontroller arasında karşılaştırılmıştır. Niteliksel veriler ki-kare testi ile analiz edilmiştir. Veriler ortalama±S.D ve n (%) olarak sunulmuştur. HKH: Hafif kapak hasarı. SKH: Şiddetli kapak hasarı.		

VNTR içeren *IL-1Ra* geninin intron 2'si içindeki polimorfik bölge için PZR protokolü; 95°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyonu takiben; 35 döngü halinde 95°C'de 45 saniye denatürasyon, 55°C'de 45 saniye bağlanma, 72°C'de 45 saniye uzama aşamaları ve takibinde son olarak 72°C'de 10 dakika olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde UV altında görüntülenerek genotiplendirme yapılmış ve tekrar sayısına göre alleller karakterize edilmiştir (17). A1 allel (dört tekrar) 410 bp, A2 allel (iki tekrar) 240 bp, A3 allel (beş tekrar) 500 bp'dan oluşmaktadır.

### İstatistiksel Analiz

Bu çalışmanın istatistiksel analizi SPSS 20 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tüm allel ve genotip frekansları doğrudan sayma ile hesaplanmıştır. Hardy-Weinberg dengesi (HWE), Arlequin V3.0 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır (21). Genotip ve allellerin görülme sıklığının gruplar arası farklılıklarının değerlendirilmesinde ki kare ( $\chi^2$ ) testi kullanılmıştır. Gruplar arası risk etkeninin belirlenmesi için odds oranı (OR) ve %95 güven aralığı (%95 GA) verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık sınırı  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

### BULGULAR

Çalışmamıza 465 kadın (165 hasta + 300 kontrol) birey dahil edilmiştir. Hasta (yaş: 50,14±13,39) ve kontrol (yaş: 49,72±12,80) grupları arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. RKKH hastalarında ve kontrollerde *IL-Ra* VNTR genotip ve allel frekansları Tablo 2'de gösterilmektedir. Hasta grubunda Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlenmiştir ( $\chi^2=4,32$ ;  $p=0,645$ ). Bununla birlikte, A1/A1 genotipi RKKH'ya yatkınlık ile ilişkili olduğundan, hasta popülasyonunda homozigotluk artışının HWE'den sapmaya neden olan seçimden kaynaklanıyor olabileceği varsayılabilir. Çalışmaya dahil edilen hasta ve

**Tablo 2.** Hasta ve kontrol gruplarına ait genotip ve allel dağılımları.

Genotip	A1/A1	A1/A2	A1/A3	A2/A2	A3/A3			
<b>Hasta (n=165)</b>	71 (%43,0)	79 (%47,9)	10 (%6,1)	3 (%1,8)	2 (%1,2)			
<b>Kontrol (n=300)</b>	155 (%51,7)	104 (%34,7)	19 (%3,0)	32 (%10,7)	0 (%0,0)			
<b>P değeri</b>	<b>&lt; 0,001</b>							
<b>Allel frekansları</b>								
	A1 (+)	A1 (-)	A2 (+)	A2 (-)	A3 (+)	A3 (-)	A4 (+)	A5 (+)
<b>Genel (n=465)</b>	0,56	0,44	0,29	0,71	0,03	0,97	0,0	0,0
<b>Hasta (n=165)</b>	0,97	0,03	0,49	0,50	0,073	0,92	0,0	0,0
<b>Kontrol (n=300)</b>	0,89	0,10	0,45	0,54	0,03	0,97	0,0	0,0
<b>X<sup>2</sup></b>	8,7476		0,814		4,507			
<b>P Değeri</b>	<b>0,004</b>		0,367		<b>0,034</b>			
Veriler n (%) olarak sunulmuştur. <b>Kalın</b> değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0,05$ ). n: örnek sayısı. Tüm alleller allel frekansları şeklinde sunulmuştur.								

kontrol gruplarında 86-bp'lik tekrar sayısının farklılıklarına göre yalnızca üç IL1-Ra VNTR alleli (A1,A2,A3) gözlenmiştir. Türk toplumunda bu allellerin genel popülasyondaki frekans dağılımları diğer popülasyonlara benzerlik göstermektedir. A1 (%56,9) en yaygın alleldir, ardından A2 (%29,9) ve A3 (%3,2) nadir allel olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalar ve kontroller arasında genotip ve allel frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlenmiştir ( $p<0,001$ ). A1 alleli, RKKH hastalarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,004$ ; OR=3,821; %95 GA=1,459-10,005). A2 alleli hasta ve kontrol grubu arasında önemli bir fark göstermezken ( $p=0,8367$ ; OR=1,191; %95 GA=0,814-1,743) A3 alleli tüm hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış göstermiştir ( $p=0,034$ ; OR= 2,536; %95 GA=1,045-6,152).

Hasta grubumuzun tamamı kapak hasarı açısından incelendiğinde, şiddetli ve hafif kapak hasarı olan hastalar arasında genotip dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p=0,031$ ).

Hafif ve şiddetli kapak hasarı olan hastalarda *IL-Ra* VNTR alleli ve genotip frekansları Tablo 3'de gösterilmektedir. A2 alleli şiddetli kapak hasarı olan hastalarda hafif kapak hasarı olan hastalara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ( $p=0,003$ ). A1 ve A3 alleli iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemiştir (sırasıyla, FE=1,000;  $p=0,050$ ). *IL-Ra* VNTR alleli ve genotip frekansları kapak replasmanı ve valvüloplasti açısından incelendiğinde gruplar arasında fark bulunmamıştır (data gösterilmemiştir).

## TARTIŞMA

*IL-1* reseptör antagonisti, *IL1- $\alpha$*  ve *IL1- $\beta$*  ile rekabet halinde *IL-1* reseptörlerine bağlanabilen, böylece aktivitelerini inhibe eden ve

*IL-1* ile ilişkili çeşitli immün ve enflamatuvar aktiviteleri modüle edebilen önemli bir anti-enflamatuvar sitokindir (22,23). *IL-1Ra* geninde (*IL1-RN*), intron 2'de üç potansiyel protein bağlanma bölgesi içeren 86 baz çifti tekrarı olan bir VNTR bulunmaktadır. Bu bağlanma bölgesi potansiyel transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesinde bulunur ve bu nedenle bu bölgedeki polimorfizmlerin fonksiyonel sonuçlara sahip olması beklenir (24,25). Çalışmalar, RA/RKKH'ya yatkınlığın büyük ölçüde genetik faktörler tarafından belirlendiğini göstermiştir. Bu nedenle, RKKH'ya yatkınlıkla ilişkili konakçı genetik belirteçlerin belirlenmesi, duyarlı bireylerin saptanması için yararlı olabilir. Diğer yandan RKKH ve *IL-1Ra* varyasyonu ile ilişkili yapılan çalışmalar hem çok sınırlıdır, hem de sonuçları çelişkilidir. Bu nedenle, çalışmamızda Türk toplumunda bu varyasyonun RKKH ile ilişkisini belirlemeyi amaçladık. Çalışmamız, Türk popülasyonu için RKKH'da *IL1-Ra* polimorfizminin etkisini gösteren ilk çalışmadır. Hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımları açısından anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Settin ve arkadaşları, 50 Mısırlı çocukta yapmış oldukları çalışmada A1/A1 genotipi ve mitral kapak hastalığı arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (17). Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla uyumlu olarak A1 allelinde hasta grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak artış tespit edilmiştir ( $p=0,003$ ). Bu bulgular, Azevedo ve arkadaşları tarafından 84 Brezilyalı RA hastasında A1 taşıma oranı ile A1/A1 genotipi arasında negatif bir ilişkinin bildirildiği çalışma verileri ile çelişmektedir (26). Bu durum, bir genin işlevinin genomik bağlamına bağlı olduğu ve aynı genin farklı ırklarda farklı ifade modellerine sahip olabileceği şeklinde açıklanabilir. İkinci bir adım olarak hasta grubumuzu şiddetli ve hafif kapak hasarı olan hastalar şeklinde ayırdığımızda uzun süreli enflamasyonla ilişkili olduğu bilinen A2 allelinin varlığı şiddetli kapak hasarı olan hastalarda istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ( $p=0,003$ ). Bulgularımız, Rehman ve arkadaşları-

**Tablo 3.** Şiddetli ve hafif kapak hasarı olan hastalarda genotip ve allel dağılımları.

Kapak hasarı								
Genotip	A1/A1	A1/A2	A1/A3	A2/A2	A3/A3			
SKH (n=122)	47 (%38,5)	66 (%54,1)	5 (%4,1)	3 (%2,5)	1 (%0,8)			
HKH (n=43)	24 (%55,8)	13 (%30,2)	5 (%11,6)	0 (%0,0)	1 (%2,3)			
P değeri	0,031							
Allel fraksiyonu								
	A1 (+)	A1 (-)	A2 (+)	A2 (-)	A3 (+)	A3 (-)	A4 (+)	A5 (+)
SKH (n=122)	0,96	0,03	0,56	0,43	0,049	0,95	0,0	0,0
HKH (n=43)	0,97	0,02	0,30	0,69	0,14	0,86	0,0	0,0
X <sup>2</sup>	0,098		8,814		3,849			
P değeri	FE=1,000		0,003		0,050			

Kalın değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ). Niteliksel veriler ki-kare testi ile analiz edilmiştir. n: örnek sayısı. Veriler n (%) olarak sunulmuştur. Tüm alleller allel fraksiyonu şeklinde sunulmuştur. HKH: Hafif kapak hasarı. SKH: Şiddetli kapak hasarı.

nın *IL-1Ra* A2 allelini homozigot taşıyanlarda, RKKH ile ilişkisini bildiren bulguları ile benzerlik göstermektedir (27). Diğer yandan, Çin kökenli Tayvanlı hastalarda *IL-1Ra* VNTR'nin hastalığın şiddeti ile ilişkisinin olmadığı sonucunu bulan Chou ve arkadaşlarının sonuçları ile çelişmektedir (28).

Bulgularımıza göre, A1 alleli RKKH'a yatkinlıkla ilişkili iken A2 allelinin kapak hasarının şiddeti açısından önemli olduğunu düşündürmektedir. Ancak, bu çalışmada ele alınması gereken bazı sınırlamalar vardır. Çalışmamız; 2019-2020 yılları arasında Giresun Üniversitesi kardiyoloji polikliniğine başvuran RKKH hastalarından oluşmaktadır. Bu dönem içerisinde kliniğe başvuru yapan hasta popülasyonu kadın ağırlıklıdır. Bu nedenle istatistiksel güce ulaşmayan erkek hasta popülasyonu çalışmadan çıkarılmıştır. Bu nedenle cinsiyet ve *IL-1Ra* VNTR arasındaki ilişkiyi belirleyemedik. İkinci sınırlılığımız, vücut kitle indeksi, enflamasyonla ilişkili biyokimyasal belirteç düzeyleri (CRP, ASO gibi) bulunmadığı için karşılaştırma ve korelasyon yapılamamıştır. Ek olarak, serum *IL-1Ra* seviyeleri ölçülemedi. Çalışmamızdaki diğer sınırlılığımız, nispeten küçük olan örneklem büyüklüğümüzdür. *IL-1Ra* VNTR polimorfizminin RKKH gelişimi üzerinde etkisi olup olmadığını belirlemek için çalışmanın daha büyük örneklem grubunda (hasta ve kontrol grupları) yürütülmesi gerekmektedir. Bu nedenle, daha güvenilir sonuçlar elde etmek için *IL-1Ra* ekspresyon seviyeleri ve RKKH riski üzerindeki etkileri dahil olmak üzere daha büyük örneklem büyüklüğünde daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

## SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamız, *IL-1Ra* VNTR'nin RKKH'nın patogeneze katkısının olduğunu doğrulamaktadır. Bireyleri RKKH'a duyarlı hale getiren *IL-1Ra* VNTR polimorfizmi, RKKH ile ilişkili morbidite ve mortaliteyi azaltmak için profilaktik müdahaleden fayda sağlayacak duyarlı bireylerin belirlenmesi için uygun bir biyobelirteç olarak önerilebilir. Ancak, bu konudaki mekanizmayı tam olarak açıklığa kavuşturmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bizim çalışmamız, ileride yapılacak çalışmalar için bir ön veri niteliği taşımaktadır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Etik Komite Onayı:** Çalışmamız Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınan (Etik Kurul No: KAEK-121) Etik Kurul kararınca gerçekleştirilmiştir.

**Yazar Katkıları:** Çalışma Konsepti - A.B.A.T., E.T.; Veri Analizi/Yorumlama - A.B.A.T.; Yazma: A.B.A.T.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi - A.B.A.T., E.T.; Son Onay ve Sorumluluk - A.B.A.T., E.T.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Ofisi tarafından desteklenmiştir (SAĞ-BAP-A-270220-04)

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Ethics Committee Approval:** Our study was carried out by the decision of the Ethics Committee of Giresun University Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee (Ethics Committee No: KAEK-121).

**Author Contributions:** Conception/Design of Study - A.B.A.T., E.T.; Analysis and/or Interpretation - A.B.A.T.; Drafting Manuscript - A.B.A.T.; Critical Revision of Manuscript - A.B.A.T., E.T.; Final Approval and Accountability - A.B.A.T., E.T.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflict of interest to declare.

**Financial Disclosure:** This study was supported by Giresun University Scientific Research Project Office (SAĞ-BAP-A-270220-04).

## KAYNAKÇA/REFERENCES

1. Cunningham MW. Rheumatic fever, autoimmunity, and molecular mimicry: the streptococcal connection. *Int Rev Immunol* 2014; 33(4): 314-9. [CrossRef]
2. Guilherme L, Kalil J, Cunningham M. Molecular mimicry in the autoimmune pathogenesis of rheumatic heart disease. *Autoimmunity* 2006; 39(1): 31-9. [CrossRef]
3. Poomarimuthu M, Elango S, Solomon PR, Soundarapandian S, Mariakuttikan J. Lack of Association Between TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10 Gene Polymorphisms and Rheumatic Heart Disease in South Indian Population. *Fetal and Pediatric Pathology* 2018; 37: 309-8. [CrossRef]
4. Marijon E, Mirabel M, Celermajer DS, Jouven X. Rheumatic heart disease. *Lancet* 2012; 10: 953-4. [CrossRef]
5. Guilherme L, Kalil J. Rheumatic fever: from sore throat to autoimmune heart lesions. *Int Arch Allergy Immunol* 2004; 134: 56-64. [CrossRef]
6. Carapetis JR, Currie BJ, Mathews JD. Cumulative incidence of rheumatic fever in an endemic region: a guide to the susceptibility of the population? *Epidemiol Infect* 2000; 124: 239-44. [CrossRef]
7. Guilherme L, Ramasawmy R, Kalil J. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: genetics and pathogenesis. *Scand J Immunol* 2007; 66: 199-207. [CrossRef]
8. Engel ME, Stander R, Vogel J, Adeyemo AA, Mayosi BM. Genetic susceptibility to acute rheumatic fever: a systematic review and meta-analysis of twin studies. *PLoS One* 2011; 6 (9): e25326. [CrossRef]
9. Toor D, Vohra H. Immune responsiveness during disease progression from acute rheumatic fever to chronic rheumatic heart disease. *Microbes Infect* 2012; 14: 1111-7. [CrossRef]
10. Guilherme L, Kalil J. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: cellular mechanisms leading autoimmune reactivity and disease. *J Clin Immunol* 2010; 30: 17-23. [CrossRef]
11. Col-Araz N, Pehlivan S, Baspınar O, Oguzkan-Balci S, Sever T, Balat A. Role of cytokine gene (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-6, and IL-10) polymorphisms in pathogenesis of acute rheumatic fever in Turkish children. *Eur J Pediatr* 2012; 171: 1103-8. [CrossRef]
12. Van Deventer SJ. Cytokine and cytokine receptor polymorphisms in infectious disease. *Intensive Care Med* 2000; 26: 98-102. [CrossRef]

13. Teker E, Akadam-Teker AB, Ozturk O, Eronat AP, Yalin K, Golcuk SE, et al. Association Between the Interferon Gamma 874 T/A Polymorphism and the Severity of Valvular Damage in Patients with Rheumatic Heart Disease. *Biochem Genet* 2018; 56: 225-34. [\[CrossRef\]](#)
14. Hirsch E, Irikura VM, Paul SM, Hirsh D. Functions of interleukin 1 receptor antagonist in gene knockout and overproducing mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93 (20): 11008-13. [\[CrossRef\]](#)
15. Tarlow JK, Blakemore AI, Lennard A, Solari R, Hughes HN, Steinkasserer A, et al. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum Genet* 1993; 91(4): 403-4. [\[CrossRef\]](#)
16. Vamvakopoulos JE, Taylor CJ, Morris-Stiff CJ, Green C, Metcalfe S. The interleukin-1 receptor antagonist gene: a single-copy variant of the intron 2 variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism. *Eur J Immunogenet* 2002; 29(4): 337-40. [\[CrossRef\]](#)
17. Settin A, El-Baz HA, Saber I. Gene polymorphisms of TNF- $\alpha$ -308, IL-10-1082, IL-6-174 and IL-RaVNTR related to susceptibility and severity of rheumatic heart disease. *Pediatr Cardiol* 2007; 28: 363-71. [\[CrossRef\]](#)
18. Witkin SS, Gerber S, Ledger WJ. Influence of Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism on disease. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 204-9. [\[CrossRef\]](#)
19. Gewitz MH, Baltimore RS, Tani LY, Sable C A, Shulman ST, Carapetis J, et al. Revision of the Jones Criteria for the Diagnosis of Acute Rheumatic Fever in the Era of Doppler Echocardiography: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 2015; 131: 1806-18. [\[CrossRef\]](#)
20. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2013; 310(20): 2191-4. [\[CrossRef\]](#)
21. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 2005; 1: 47-50. [\[CrossRef\]](#)
22. Patterson D, Jones C, Hart I, Bleskan J, Berger R, Geyer D, et al. The human interleukin-1 receptor antagonist (IL1RN) gene is located in the chromosome 2q14 region. *Genomics* 1993; 15: 173-6. [\[CrossRef\]](#)
23. Carapetis J, Beaton A, Cunningham MW, Guilherme L, Karthikeyan G, Mayosi BM et al. Acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Nat Rev Dis Primers* 2016; 2: 15084. [\[CrossRef\]](#)
24. Tarlow JK, Blakemore AI, Lennard A, Solari R, Hughes HN, Steinkasserer A et al. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum Genetic* 1993; 91(4): 403-4. [\[CrossRef\]](#)
25. Al-Tahhan M, Etewa RL, El Behery MM. Association between circulating interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) levels and IL-1 $\beta$  C-511 T polymorphism with cervical cancer risk in Egyptian women. *Mol Cell Biochem* 2011; 353: 159-65. [\[CrossRef\]](#)
26. Azevedo PM, Bauer R, Caparbo F, Silva CA, Bonfa E, Pereira RM. Interleukin-1 receptor antagonist gene (IL1RN) polymorphism possibly associated to severity of rheumatic carditis in a Brazilian cohort. *Cytokine* 2010; 49: 109-13. [\[CrossRef\]](#)
27. Rehman S, Akhtar N, Saba N, Munir S, Ahmed W, Mohyuddin A, et al. A study on the association of TNF-a-308, IL-6-174, IL-10-1082 and IL-1RaVNTR gene polymorphisms with rheumatic heart disease in Pakistani patients. *Cytokine* 2013; 61: 527-31. [\[CrossRef\]](#)
28. Chou HT, Tsai CH, Chen WC, Tsai FJ. Lack of association of genetic polymorphisms in the interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4, and interleukin-10 genes with risk of rheumatic heart disease in Taiwan Chinese. *Int Heart J* 2005; 46: 397-406. [\[CrossRef\]](#)