

# İnterlökin-6 ve interlökin-18 gen polimorfizmlerinin ve plazma düzeylerinin kolorektal kanser ile ilişkisi

İrem Bekalp<sup>1</sup>, Badel Arslan Mamur<sup>1</sup>, Didem Derici Yıldırım<sup>2</sup>, Lülüfer Tamer<sup>3</sup>,  
Tahsin Çolak<sup>4</sup>, Nurcan Aras<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin

<sup>2</sup>Mersin Üniversitesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, Mersin

<sup>3</sup>Mersin Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin

<sup>4</sup>Mersin Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Mersin

## Özet

**Amaç:** Gastrointestinal sistemin en sık görülen kanser türlerinden olan kolorektal kanser, kansere bağlı ölüm nedenleri arasında dördüncü sırada bulunmaktadır. Bu kanser türünde erken teşhis, tedavinin prognozu açısından önemlidir ve dolaşımdaki inflamatuvar sitokinlerin prognostik amaçla biyomarker olarak kullanılabilirliği bildirilmektedir. Bu amaçla, *interlökin-6 (IL-6)* -174 G/C ve *interlökin-18 (IL-18)* -607 C/A polimorfizmleri ve plazma düzeylerinin kolorektal kanser ile ilişkisi araştırıldı. **Yöntem:** Çalışma kolorektal kanserli 96 hasta ve kontrol grubu 96 sağlıklı bireyden oluşmaktadır. Hasta ve kontrol gruplarının polimorfizmleri Real-Time PZR kullanılarak belirlenmiştir. IL-6 ve IL-18'in plazma düzeyleri ise ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. **Bulgular:** *IL-6 G/C (rs1800795)* ve *IL-18 C/A (rs1946518)* polimorfizmlerine ait genotip sıklıkları karşılaştırıldığında kolorektal kanser hastaları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır ( $p<0.001$ ). Plazma düzeyleri açısından ise IL-6 kolorektal kanserli hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Ancak, IL-18 plazma düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p<0.966$ ). *IL-6* ve *IL-18* genotiplerinin kombine etkisiyle KRK gelişme olasılığını saptamak için, her iki genin hasta ve kontrol gruplarındaki genotip kombinasyonları ile KRK oluşumu arasındaki ilişki kıyaslanmıştır. GC ve CA ( $p<0,0001$ ) ile CC ve CA ( $p<0.023$ ) genotip kombinasyonlarında her iki genin heterozigot olduğu durumlarda KRK gelişimi açısından risk oluşturabileceği saptanmıştır. **Sonuç:** İnterlökin-6 ve interlökin-18'in kolorektal kanser gelişiminde rolü olabilir. Ayrıca bu sitokinlerin plazma düzeyleri erken tanı için kullanılabilir.

**Anahtar Sözcükler:** IL-6; IL-18; kolorektal kanser; plazma düzeyi; SNP

---

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2014;7(2)

Geliş tarihi: 29.09.2014

Kabul tarihi: 13.12.2014

Yazışma Adresi: Prof. Dr. Nurcan Aras, MEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD Mersin, Tlf (cep): 0541 845 19 64, Tlf (iş): 0 324 361 06 84/1129, E-posta: dr.nurcan.aras@gmail.com

## Association of the polymorphisms and plasma level of interleuken-6 and interleuken-18 genes with colorectal cancer

### Abstract

**Aim:** Colorectal cancer, the most widely seen type of cancer of the gastrointestinal system, is also the fourth most common cause of death among cancer diseases. Early diagnosis of this type of cancer is important for prognosis and it is reported that the use of inflammatory cytokines in circulation might be useful as a prognostic biomarker. For this purpose, in this study, association of *interleukin-6 (IL-6)*-174 G/C and *interleukin-18 (IL-18)* -607 C/A polymorphisms and plasma levels with colorectal cancer was investigated. **Method:** This study was consist of 96 patients with colorectal cancer and 96 healthy individuals as control group. The polymorphisms of the patients and healthy volunteers groups were investigated by Real-Time PCR. The plasma levels of IL-6 and IL-18 were determined by ELISA method. **Results:** Upon comparison of the genotype rates of IL-6 G/C (rs1800795) and IL-18 C/A (rs1946518) polymorphisms, a statistically significant difference was found between the patient and the control groups ( $p<0.001$ ). Plasma levels of IL-6 were significantly higher in the group of patients with colorectal cancer ( $p<0.001$ ). However, no statistically significant difference was found among the plasma levels of IL-18 in the control group ( $p<0.966$ ). In order to determine the likelihood of developing CRC due to the combined effects of IL-6 and IL-18 genotypes, the association of genotype combinations of both genes in patients and control group with CRC development was investigated. In such cases that GC- CA and CC-CA genotype combinations exist and both genes are heterozygous, it was determined that there might be a risk of CRC development. **Conclusion:** Interleukin-6 and interleukin-18 may play a role in the development of colorectal cancer. In addition, the plasma levels of these cytokines can be used for early diagnosis.

**Keywords:** *IL-6*; *IL-18*; colorectal cancer; plasma level; SNP

### Giriş

Kolorektal kanser (KRK) ülkemizde akciğer kanseri ve meme kanserini takiben üçüncü sırada yer almaktadır. Görülme sıklığı %7.7 olup ve her yıl 1.2 milyon yeni tanı ve 600 000 ölüm gerçekleşmektedir.<sup>1,2</sup> Hastaların %59'u erkek, % 41'i kadındır. Erkeklerde, akciğer ve mide kanserinden sonra üçüncü sırada yer alırken, kadınlarda meme, deri, mide ve over kanserini takiben beşinci sırada yer almaktadır.<sup>1</sup> Erken tanı ve tedavide önemli gelişmeler olmasına rağmen 5 yıllık sağkalım halen %65'ten azdır.<sup>2</sup> Kolorektal kanser multifaktöriyel bir hastalık olup hastalığın gelişiminde birçok çevresel faktör ve genler etkilidir. Bunlar arasında; dengesiz beslenme, aşırı alkol tüketimi, tütün kullanımı, obezite, fiziksel aktivitenin azlığı ve uyku problemleri etkili etiyojik faktörler arasında sayılabilir.<sup>3</sup> Sporadik kolorektal kanser riski ile spesifik gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarla prognozun

ilerlemesinin altında yatan moleküler mekanizmalar anlaşılmağa başlamıştır.<sup>4</sup> Kolon kanserlerinin bazı alt tiplerinde bağışıklık sisteminin başlatıcı etkisi olduğu düşünölmekte ve kolon kanseri biyolojisinin değeriendirilmesinde dolaşımdaki sitokin ve sitokin reseptör düzeylerinin tanı ve pragnostik amaçla biyomarker olarak kullanılabileceği bildirilmektedir.<sup>5</sup>

Sitokinler, hücre-hücre iletişimine yardım eden düşük moleköl ağırlıklı proteinler olarak tanımlanırlar.<sup>6</sup> Hedef hücrelerdeki kendilerine ait spesifik ligandlara bağlanarak etki ederler. Bağlanma ile başlayan sinyal transdüksiyonu ve ikinci haberci iletimi gen aktivasyonu, mitotik bölünme, büyüme ve farklılaşma, migrasyon veya apoptoza neden olur.<sup>7</sup> Sitokinler, inflamatuvar cevapta ve kanser patogeneğinde önemli rol oynarlar ve bu gruba en iyi örneklerden birisi interlökin-6 (IL-6)'dır.<sup>8</sup> İmmün ve inflamatuvar olayların oluşumunda anahtar

rolü üstlenen tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökin-1'e (IL-1) cevap olarak üretilir.<sup>8</sup> IL-6'nın deregüasyonu sonucu inflamatuvar hastalıkların şiddeti artabilir ve kanser gelişiminin hızlanmasına neden olabilir.<sup>9</sup> Esas olarak vasküler endotelial hücreler, mononükleer fagositler, fibroblastlar, aktive T lenfositler ile serviks tümörlerinden salınır.<sup>6</sup> IL-6 görevini JAK adı verilen reseptörler aracılığı ile yapar<sup>8</sup> IL-6/JAK sinyali, kanserli hastalarda kalıcı STAT-3 aktivasyonu sağladığı için önemlidir. Kalıcı STAT-3 aktivasyonu hayatta kalma, anjiogenez, invazyon ve tümör gelişiminde etkilidir.<sup>9</sup> Serumda yükselmiş IL-6 seviyesi, prostat, mesane, kolon ve meme kanseri başta olmak üzere birçok kanserle ilişkilendirilmiştir.<sup>10</sup> İnterlökin-18 (IL-18), interlökin-1 ailesinden pro-inflamatuvar bir sitokindir, interferon gama indükleyici bir faktör olarak tespit edilmiştir. Ağırlıklı olarak makrofajlardan ve dentritik hücrelerden salınır. Multifaktöriyel bir sitokindir, hem pro-kanser hem anti-kanser etkileri araştırma konusu olmuştur.<sup>11</sup> Artmış IL-18 üretiminin belirli kanserlerin ortaya çıkmasında etkili olduğu belirlenmiştir. Serum IL-18 seviyesi hepatoselüler karsinomada önemli bir prognostik faktör olarak kullanılmaktadır. Bunların dışında IL-18'in apoptozun indüksiyonuna ve anjiogenezin inhibisyonuna aracılık ettiği belirlenmiştir.<sup>11</sup>

Bu çalışmada *IL-6* genini -174 G/C polimorfizmi ile *IL-18* geninin -607 C/A polimorfizmi ve plazma düzeyleri farklılıklarının kolorektal kanser için genetik bir yatkınlık oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır.

### Gereç ve Yöntemler

Çalışma grubu, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalına başvurarak kolorektal kanser tanısı almış olan 96 hasta (34 kadın ve 62 erkek) ile ailesinde kanser hikayesi olmayan 96 (39 kadın 57 erkek) sağlıklı gönüllüden oluşturulmuştur. Çalışma Mersin Üniversitesi Etik Kurulundan 2011/66 nolu

kararla onay almıştır. Hem hasta hem de kontrol grubundaki bireylerden çalışmaya dahil olmayı kabul ettiklerine dair etik kurulda belirtilen yönergelere uygun hazırlanmış bilgilendirilmiş onam formunu doldurmaları ve imzalamaları istenmiştir.

### DNA izolasyonu ve genotiplendirme

Hasta ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerden DNA izolasyonu için, 6-7 ml'lik venöz kan 1 ml %2 'lik etilendimetiltetraasetik asit (EDTA) içeren, 15 ml'lik santrifüj tüplerine konulmuştur. DNA izolasyonuna kadar +4°C de saklanmış olup DNA eldesi High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, İsviçre) ile yapılmıştır. Elde edilen DNA'lardan *IL-6* ve *IL-18* polimorfizmlerine ait gen bölgelerinin çoğaltılması, genotiplendirilmesi ve analizleri Bioneer ExiCycler96 Model Real Time PZR cihazı ve ExiData V3.54.8 yazılımı (Bioneer, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### Real Time-PZR Reaksiyon ortamının hazırlanması

Real time PZR reaksiyon miksi 96 kuyucuklu saydam polipropilen tabağın (plate) kuyucuklarına dağıtılmıştır. Hazırlanan karışımın kontamine olup olmadığını belirlemek için her bir reaksiyon tabağında örnek DNA içermeyen negatif kontrol kuyucuğu kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı kuyucuklara dağıtıldıktan sonra real time PZR film ile kuyucukların üzeri kaplanmıştır. Isı bloğuna yerleştirilen plate daha önceden hazırlanan yürütme metodu şablon dosyası açılarak reaksiyon başlatılmıştır. Yaklaşık iki buçuk saat süren deneyin ardından genotip tayini yapılmıştır. Her bir polimorfizm için; 43 µl, PZR Grade Water, 5 µl Örnek DNA'sı (Yaklaşık 50 ng/uL), 1 µl, Primer/Prob Seti (10 pmol/uL), 1 µl, qPCR PreMix (İçeriği: Taq DNA Polimeraz, 10X reaction buffer, Dye (Xylene Cyanole), Stabilizer (sorbitol), Tween 20, dNTP. (Bioneer AccuPower GreenStar qPCR PreMix Kat No: K-6210, ABD ) Real Time PZR şartları kullanılmıştır. (Primer özellikleri ve PZR şartları tablo1 ve tablo2' de gösterilmiştir).

**Tablo 1.** Kullanılan primerler ve sekansları.

Primerler	Sekansları	Uzunluk (bp)
<b>IL-6: polimorfizm -174G/C</b>		
Forward Primer: IL-6-174G/C_F	5'-CGACCTAAGCTGCACTTTTCC-3'	21
Reverse Primer: IL-6-174G/C_R	5'-GGGCTGATTGGAAACCTTATTAAGATTG-3'	28
<b>IL-18: polimorfizm -607 C/A</b>		
Forward Primers: IL-607_F	5'-GTTGCAGAAAGTGTA AAAATTATTAC-3'	26
Reverse Primer : IL-607_R	5'-TAACCTCATT CAGCACTTCC-3'	20

**Tablo 2.** Real Time PCR şartları ve gerekli malzemeler

Q-PCR Reaksiyon Karışımı		Reaksiyon Hacmi
Örnek	Negatif Kontrol	5ml
	Örnek DNA	5ml
	Forward Primer	1ml
	Revers Primer	1ml
	PCR Grade Su	43ml
	Toplam	50ml
Basamak	Sıcaklık	Çalışma Zamanı
Line1: pre-denatürasyon	95	5 dakika
Line2: denatürasyon	95	5 saniye
Line3: annealing&extension	60	40 saniye
Scan	Hedef boya/filtre: FAM/TAMRA	

### *Biyokimyasal parametrelerin ölçümü*

Önceden santrifüj edilip hazırlanmış ve ölçüm gününe kadar -80 derecede muhafaza edilmiş olan plazma örnekleri, oda ısısına (20-25°C) gelene kadar bekletildikten sonra analiz edilmiştir. Bu çalışmada IL-6 ve IL-18'in plazma düzeyleri ELISA (kantitatif sandviç enzim bağlı immünoassay) yöntemiyle ELISA Kit (invitrogen, ABD) kullanılarak mikroELISA cihazında (DSX™ Four-Plate Automated ELISA Processing System, Dynex Technologies, Virginia, ABD) ölçülmüştür.

### *İstatistiksel analiz*

Kolorektal kanserli hastalar ile kontrol grubundaki kişilere ait *IL-6* ve *IL-18* gen polimorfizmlerinin ve plazma seviyelerinin KRK ile arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla kontrol grubunda Hardy Weinberg dengesinin sağlandığı durumda Ki-kare testinden yararlanılmıştır. Anlamli ilişkiler için odds oranı (%95 güven aralığı) hesaplanmıştır. Kategorik veriler sayı yüzde, sürekli veriler ise ortalama±standart sapma cinsinden özetlenmiştir. Analizler SPSS v.11.5 ve MedCalc v.11.5.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır.  $p < 0.05$  için sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

### **Bulgular**

#### *KRK görülme sıklıklarının yaş ve cinsiyete göre dağılımı*

KRK hastalarının 62'si erkek (%64.6) ve 34'u kadın (%35.4) olup yaş ortalamaları  $56.96 \pm 12.93$  olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu bireyin 39'u kadın (%40.6) 57'si erkek (%59.4), yaş ortalamaları  $52.56 \pm 13.78$  olup, yaş değerleri bakımından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p=0.005$ ). Hasta grubunun yaş değerleri kontrole göre daha yüksek bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları cinsiyet dağılımı bakımından incelendiğinde ise anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p=0.552$ ).

#### *IL-6 ( rs1800795) polimorfizmine ait allel ve genotip sıklıklarının kontrol grubu ile hastalar arasındaki dağılımı ve KRK ile ilişkisi*

Yapılan istatistiksel analizde; kontrol grubunun *IL-6* polimorfizmi açısından "Hardy Weinberg" dengesinde olduğu saptanmıştır ( $p=0.686$ ). Hasta grubunda ise popülasyonun "Hardy Weinberg" dengesinde olmadığı saptanmıştır ( $p < 0.001$ ) (Tablo 3). Kontrol grubunun dengede olduğundan dolayı allel sıklıkları hesaplanmış, C alleli ve G alleli sırasıyla hastalarda %50, %50, kontrol grubunda ise %51, %49 olarak bulunmuştur ( $p=0.918$ ).

*IL-6* G/C (*rs1800795*) polimorfizmine ait genotip oranları karşılaştırıldığında KRK hastaları ile kontrol grubu arasında genotip dağılımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0.001$ ). GC genotipinin görülme sıklığı, kontrol grubunda KRK hastalarına göre fazla saptanmıştır. KRK hastaları ve kontrol grubundaki bireylere ait genotip sıklıkları incelendiğinde ise GG genotipinin görülme sıklığı hastalarda %41.7 kontrol grubunda %27.1, GC genotipinin görülme sıklığı; hastalarda %16.7 kontrol grubunda %47.9, CC genotipinin görülme sıklığı ise hastalarda %41.7, kontrol grubunda ise %25 olarak bulunmuştur.

*IL-6* için genotip dağılımları bakımından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmıştır ( $p < 0.001$ ). GC genotipine sahip bireylerin hasta olma olasılığı kontrol grubuna göre 0.208 kat daha azdır [OR=0.208, (0.097-0.447),  $p < 0.001$ ]. GC genotipi, kontrol grubunda hasta grubundan daha fazla görülmüş olup, sağlıklı bireylerde KRK riskini azalttığı belirlenmiştir. *IL-6* için allel dağılımları bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p=0.918$ ). (Tablo 4.)

**Tablo3.** *IL-6* HardyWeinberg denge kontrolü

	Genotipler	Gözlenen değer	Beklenen değer	p
Hasta	CC	40	24	<b>&lt;0.001</b>
	GC	16	48	
	GG	40	24	
Kontrol	CC	26	25.01	0.686
	GC	46	47.98	
	GG	24	23.01	

**Tablo 4.** *IL-6* (1800795) polimorfizmi allel ve genotip oranlarının, kontrol ve hasta grubu arasındaki dağılımı ( n: allel ve genotip sayısı )

IL-6	Kontrol		KRK		P
	n	%	n	%	
<i>Allelleri ve Genotip Frekansları</i>					0.918
G Allel Frekansı	94	49	96	50	
C Allel Frekansı	98	51	96	50	
GG Genotip Frekansı	24	27.1	40	41.7	<b>0.001</b>
GC Genotip Frekansı	46	47.9	16	16.7	
CC Genotip Frekansı	26	25	40	41.7	

*IL-18 (C/A) polimorfizmine ait genotip sıklıklarının kontrol grubu ile hastalar arasındaki dağılımı ve KRK ile ilişkisi*

Yapılan istatistiksel analizde; kontrol grubunun *IL-18 (C/A rs1946518)* polimorfizmi açısından "Hardy Weinberg" dengesinde olmadığı saptanmıştır ( $p<0,001$ ). Hasta grubunun ise "Hardy Weinberg" dengesinde olduğu saptanmıştır ( $p=0,103$ ). (Tablo5). Kontrol grubu dengede olmadığından *IL-18 (C/A rs1946518)* polimorfizmi için allel frekansları hesaplanamamıştır.

*IL-8 C/A (rs1946518) polimorfizmine ait genotip oranları karşılaştırıldığında kontrol ve hasta grubu arasında anlamlı bir ilişki gözlenmiştir ( $p=0.001$ ). CA genotipinin görülme sıklığı hastalarda kontrol grubuna göre fazla saptanmıştır. CC genotipinin görülme sıklığı hastalarda %28.1, kontrol grubunda %42.7, CA genotipinin görülme sıklığı hastalarda %41.7, kontrol grubunda %5.2, AA genotipinin görülme sıklığı ise hastalarda %30.2 iken kontrol grubunda %52.1 olarak bulunmuştur. (Tablo6).*

**Tablo 5.** *IL-18* HardyWeinberg denge kontrolü

	Genotipler	Gözlenen değer	Beklenen değer	p
Hasta	AA	29	25.01	0.103
	CA	40	47.98	
	CC	27	23.01	
Kontrol	AA	50	28.71	<b>&lt;0.001</b>
	CA	5	47.58	
	CC	41	19.71	

**Tablo 6.** *IL-18* Polimorfizmi genotip sıklıklarının kontrol ve hasta grubu arasındaki dağılımı ( n: allel ve genotip sayısı )

IL-18 <i>Genotip Frekansları</i>	Kontrol		KRK		p
	n	%	n	%	
AA Genotip Frekansı	50	52.1	29	30.2	<b>0.001</b>
CA Genotip Frekansı	5	5.2	40	41.7	
CC Genotip Frekansı	41	42.7	27	28.1	

***KRK'li Hastalarda IL-6 ve IL-18'in Biyokimyasal Analizi***

ELISA ölçümleri sonucunda IL-6 değerleri hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde daha yüksek bulunmuştur. ( $p<0.001$ ). IL-18 değerleri bakımından hasta ve kontrol grubu değerleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0.966$ ). (Tablo 7)

***KRK Gelişiminde IL-6 ve IL-18 Genlerinin Kombine Etkisi***

*IL-6* ve *IL-18* genotiplerinin ortak etkisiyle KRK gelişme olasılığını saptamak için, her iki genin hasta ve kontrol gruplarındaki genotip kombinasyonları ile KRK oluşumu arasındaki ilişki

kıyaslanmıştır. Her iki gruptaki genlerin yabancıl (wild) tiplerinin kombinasyonu referans grup olarak kabul edilerek homozigot ve heterozigot bireylerdeki risk araştırılmıştır. Bu amaçla *IL-6* GG, GC, CC ile *IL-18* CC, CA, AA genotipleri kombine edilmiştir. GC ve CA ( $p<0.0001$ ) ile CC ve CA ( $p<0.023$ ) genotip kombinasyonlarında her iki genin heterozigot olduğu durumlarda KRK gelişimi açısından risk oluşturabileceği saptanmıştır. *IL-6* GC ile *IL-18* CA kombinasyonunda KRK riski 44.231 kat artmaktadır [OR: 44.231(5.355-365.305) ]. *IL-6* CC ile *IL-18* CA kombinasyonunda ise KRK riski 7.077 kat artmaktadır [OR: 7.077(1.303-38.436)]. (Tablo8)

**Tablo 7.** Biyokimyasal Parametrelerin Gösterimi

Sitokinler	Kontrol	Hasta	p
	Ort.±Sd	Ort.±Sd	
IL-6	12.03±37.63 p/gm	33.24±97.53 p/gm	<b>0.001</b>
IL-18	476.98±299.05 p/gm	561.37±484.28 p/gm	0.966

**Tablo 8.** *IL-6* ve *IL-18* genotip sıklıkları ile kolorektal kanser gelişme riski arasındaki ilişki

IL-6	IL-18	Kontrol n (%)	Hasta n (%)	OR (Güven Aralığı)	p
GG	CC	23 (%24.0)	13 (%13.5)	1 (Referans)	-
GG	CA	3 (%3.1)	7 (%7.3)	4.128 (0.908-18.760)	0.066
GG	AA	14 (%14.6)	4 (%4.2)	0.505 (0.137-1.860)	0.305
GC	CC	7 (%7.3)	7 (%7.3)	1.769 (0.507-6.169)	0.371
GC	CA	*0 (%0.0)	25 (%26.0)	44.231 (5.355-365.305)	<b>&lt;0.0001</b>
GC	AA	9 (%9.4)	14 (%14.6)	2.752 (0.936-8.094)	0.066
CC	CC	11 (%11.5)	7 (%7.3)	1.126 (0.351-3.615)	0.842
CC	CA	2 (%2.1)	8 (%8.3)	7.077 (1.303-38.436)	<b>0.023</b>
CC	AA	27 (%28.1)	11 (%11.5)	0.721 (0.271-1.914)	0.511

\* '0' gözlenen için gerekli düzeltme yapılmıştır. (0.5 eklenerek program tarafından hesaplanmıştır)

### Tartışma

Kolon kanserinin biyolojik açıdan değerlendirilmesinde dolaşımdaki sitokin düzeylerinin ve polimorfizmlerinin kanser hastalarında tanı ve prognostik amaçla

biyomarker olarak kullanılabileceği belirtilmektedir.<sup>5</sup> IL-6 ve IL-18'in anormal üretiminin kanser patogeneze katkıda bulunabileceği ve tedavi sürecinde klinik sonuçları etkileyebileceği öne sürülmüştür.<sup>12</sup> Bu sitokinlerin seviyelerinin



meme, yumurtalık, prostat, akciğer, serviks kanseri, multiple myelom, renal hücreli karsinom, özofagal, gastrik, ovaryum, kolon, deri, hepatoselüler ve kolanjiyo karsinom, baş ve boyun kanserleri de dahil olmak üzere birçok kanser türünde arttığı rapor edilmiştir.<sup>5,13</sup>

Literatür taraması sonucunda Türk toplumunda şimdiye kadar yapılan polimorfizm çalışmalarında, KRK'li hastalarda *IL-6* ve *IL-18* polimorfizmini ve plazma düzeylerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

*IL-6 -174 G/C* polimorfizminde GC genotipine sahip bireylerin hasta olma olasılığının, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 0.208 kat daha az olduğu görülmektedir. Çalışma grubumuzda GC genotipi KRK'e yakalanmada koruyucu bir genotip gibi görülmektedir. Slattery ve ark.'nın<sup>14</sup> 1579 kolon kanserli, 1977 sağlıklı bireyde ve 794 rektal kanserli, 1005 sağlıklı bireyde yapmış oldukları çalışmada *IL-6 -174 G/C* polimorfizminin GG genotipinin kolon kanseri riskini azalttığını fakat rektal kanser riskini arttırdığını belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise kolorektal kanser olarak ele aldığımız hasta grubunda GG genotipinin (%41.7) kontrol grubuna göre (%25) daha fazla olduğu gösterilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Kun-Yun ve ark.'nın<sup>13</sup> Tayvan popülasyonunda 454 KRK'li hastada yaptıkları çalışmada, kolorektal kanserli hastalarda G alleli taşıyan (GG, GC) genotiplerin G alleli taşımayan (CC) genotiplere göre daha düşük seviyede karsinoembriyonik antijen ürettiklerini belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise GC (G allel taşıy) genotipine sahip bireylerin KRK'e yakalanma riski 0.208 kat az bulunmuştur. Kolorektal kanserlerle ilgili olarak söz konusu genlerin polimorfizm çalışmaları kısıtlı olduğu için farklı kanser türleri ele alınarak incelendiğinde C alleli taşıyan bireylerin kansere yakalanma riskinin arttığı görülmüştür.<sup>15-17</sup>

Bu çalışmada plazma örneklerinde *IL-6* düzeyi değerlendirildiğinde; hasta grubunda 33.24±97.53 p/gm, kontrol grubunda ise 12.03±37.63 p/gm olduğu

gözlenmiş ve *IL-6* değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Grivennikov ve ark.'nın<sup>18</sup> kolorektal adenomlu hastalarla yaptıkları çalışmada *IL-6*'nın artmış serum seviyesinin kolorektal adenom gelişme riskini arttırdığı ve bu artışın kötü prognozla ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Kemik ve ark.'nın<sup>8</sup> 89 karaciğer metastazlı kolon kanseri hastasında ve 90 metastazı olmayan kolon kanseri hastasında yaptıkları çalışmaya göre metastazı olanlarda *IL-6* düzeyinin daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Kolorektal kanserlerde yapılan serum düzeyi çalışmaları çalışmamızdaki gibi yüksek bulunmuştur.<sup>8,18</sup> *IL-6*'nın artmış serum düzeyinin KRK riskini arttırdığı söylenebilir.

*IL-18* 'in promotör bölgesinde bulunan C/A polimorfizmi kanser ve inflamatuvar hastalıklarda marker olarak kullanılan önemli polimorfizmlerden biridir.<sup>19</sup> Promotör bölgedeki bu polimorfizmin, promotörün çalışmasını değiştirdiği ve transkripsiyonu arttırdığı belirlenmiştir.<sup>20</sup> Bu noktadan yola çıkarak yapılan bu çalışmada *IL-18* geninin -607 C/A polimorfizminde CA genotipine sahip olan bireylerin KRK'e yakalanma olasılığının kontrol grubuna göre 12.14 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Nikiteas ve ark.'nın<sup>21</sup> Yunanistan popülasyonunda 84 KRK'li ve 89 sağlıklı bireyle yapmış oldukları çalışmada kolorektal kanserli hastalarda *IL-18 -607 C/A* polimorfizmini araştırmışlar ve AA, AC ve CC genotip frekanslarını hastalarda sırasıyla %1.4, %56 ve %22.6 olarak, kontrol grubunda ise sırasıyla %24.7, %36 ve %39.3 olarak bulmuşlardır ve CA heterozigot genotipinin CC homozigot genotipinden 3 kat daha fazla KRK gelişiminde etkili olduğunu belirlemişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise; genotip frekansları hastalarda sırasıyla %30.2, %41.7 ve %28.1 olarak kontrol grubunda ise sırasıyla %52.1, %5.2 ve %42.7 olarak bulunmuştur. Allel sıklıkları etnik ve coğrafik olarak değişiklik gösterebilmektedir. Nikiteas ve ark.<sup>21</sup> ile uyumlu olarak, CA heterozigot genotipinin KRK riskini 12.4 kat arttırdığı belirlenmiştir.

Qin ve ark.'nın<sup>22</sup> Çin popülasyonunda 170 KRK'li ve 160 sağlıklı bireyde yapmış oldukları çalışmada KRK ile -607 C/A polimorfizmi arasında bir ilişki bulamamış ancak -137 G/C polimorfizmi ile yaptıkları çalışmada ise anlamlı sonuç elde etmişlerdir. Hastalık riskinin C allel taşıyanlarda G allel taşıyanlara göre 1.814 kat daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Yaptığımız çalışma Nikiteas ve ark.'nın<sup>21</sup> yaptıkları çalışma ile uyum göstermekte ancak Qin ve ark.'nın<sup>22</sup> yaptıkları çalışma ile uyum göstermemektedir. Bunun nedeni Türk popülasyonunun, Yunan popülasyonuna çevresel ve genetik olarak Çin popülasyonundan daha çok benzerlik göstermesi olabilir.

Kolorektal kanserlerde bu konuda yapılan çalışmalar kısıtlı olduğu için farklı kanser türlerini incelediğimizde *IL-18* gen polimorfizmlerinin farklı sonuçlar gösterdiği gözlenmiştir, bu farklılığın *IL-18* geninin hem proapoptotik hem antiapoptotik özeliğinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.<sup>20,23,24</sup>

Plazma örneklerinde *IL-18* düzeyi değerlendirildiğinde hasta grubunda 561.37 p/gm±484.24 p/gm kontrol grubunda ise 476.98 p/gm±299.05 p/gm olarak bulunmuştur. *IL-18* değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen, değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Merendino ve ark.'nın<sup>25</sup> İtalyan popülasyonunda KRK'li 18 hastada ve sağlıklı 18 birey ile yaptıkları çalışmada serum *IL-18* düzeylerini ölçmüş ve bizim çalışmamıza göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Bu farklılığın sebebinin çalışma grubunu oluşturan hasta ve kontrol sayısındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda 96 hasta ve 96 sağlıklı birey olmak üzere toplam 192 birey çalışılmıştır.

Sonuç olarak KRK'ler genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı multifaktöriyel kanserler olması nedeniyle bu faktörlerin hasta ve kontrol grubunda ne derece etkili olduğu bilinmemektedir. Bunun yanı sıra *IL-6* ve *IL-18*

polimorfizmleriyle beraber KRK etiolojisinde rol alan diğer genlerle birlikte daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılarak daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Polimorfizm çalışmaları kanser tedavisini yönlendirebilmesi açısından da önem taşımaktadır.

Çalışmamızda değerlendirmeye aldığımız örneklem genişliğinin büyük olmamasından dolayı allel frekansı ve genotip dağılımları ile hastalık durumu arasındaki ilişki popülasyonu yansıtmayabilir. Bu nedenle anlamlı bulduğumuz ilişkilerin doğrulanması açısından bu araştırmadan bağımsız daha geniş bir örneklem grubunda bulguların tekrarlanması faydalı olacaktır.

### Kaynaklar

1. Büyükdoğan M. Kolorektal Kanserde Genetik ve Etiyolojik Faktörler. *Selçuk Tıp Derg* 2009;25 (3):171-80.
2. Walter V, Jansen L, Hoffmeister M, Brenner H. Smoking and survival of colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. *Annals of Oncology* 2014; 25(8):1517-25.
3. Durko L, Malecka-Panas E. Lifestyle Modifications and Colorectal Cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2014;10:45-54.
4. Saygılı G. Kolorektal Karsinomlarda Siklooksijenaz-2 (Cox-2) Enziminin Boyanma Paterni Ve Yaygınlığının Prognostik Parametrelerle Karşılaştırılması. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Uzmanlık tezi. İstanbul, 2007.
5. Heike K, Rainer P. Serum interleukin-6 level in colorectal cancer patients- a summary of published results. *Int. Journal Colorectal Dis* 2010; 25(2): 135-40.

6. Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P, Thuwajit C, Hermoso M A. Chronic Inflammation and Cytokines in the Tumor Microenvironment. *Journal of Immunology Research* 2014;2014:149-85.
7. Bidwell J, Keen L, Gallagher G. Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes and Immunity* 1999; 1(1): 3-19.
8. Kemik Ö, Kemik A.S, Dülger A.C, Hasırcı İ, Daştan E, Bartın MK, Purisa S, Tüzün S. Karaciğer Metastazlı Kolon Kanserli Hastalarda İnterlökin-6 Düzeyleri. *Van Tıp Dergisi* 2010;17 (2): 42-5.
9. Lesina M, Wörmann S. M, Neuhöfer P, Song L, Algül H. Interleukin-6 in inflammatory and malignant diseases of the pancreas. *Seminars in Immunology* 2014;26(1): 80-7.
10. Neurath MF, Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.*2011; 22(2): 83-9.
11. Palma G, Barbieri A, Bimonte S, Zappavigna S, Caraglia M, Ascierio PA, Ciliberto G, Arra C. Interleukin 18: Friend or foe in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta* 2013;1836(2):296-303.
12. Tangkijvanich P, Thong-ngam D, Mahachai V, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Role of serum interleukin-18 as a prognostic factor in patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(32): 4345-9.
13. Kun-Yun Y, Ying-Ying L, Ling-Ling H, Jim-Ray C, Rei-Ping Tang. The -174 G/C Polymorphism in Interleukin-6 (IL-6) Promoter Region is Associated with Serum IL-6 and Carcinoembryonic Antigen Levels in Patients with Colorectal Cancers in Taiwan. *J Clin Immunol* 2010;30(1): 53-9.
14. Slattery ML, Wolff RK, Herrick JS, Caan BJ, Potter JD. IL6 genotypes and colon and rectal cancer. *Cancer Causes Control* 2007;18(10): 1095-105.
15. Gangwar R, Mittal B, Mittal RD. Association of interleukin-6-174G>C promoter polymorphism with risk of cervical cancer. *Int J Biol Markers* 2009; 24(1): 11-58.
16. Noqueira de Souza NC, Brenna SM, Campos F, Syrjänen KJ, Baracat EC, Silva ID. Interleukin-6 polymorphisms and the risk of cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* .2006; 16(3): 1278-82.
17. Vairaktaris E, Yiannopoulos A, Vylliotis A, Yapijakis C, Derka S, Vassiliou S, Nkenke E, Serefoglou Z, Ragos V, Tsigris C, Vorris E, Critselis E, Avgoustidis D, Neukam FW, Patsouris E. Strong association of interleukin-6-174 G>C promoter polymorphism with increased risk of oral cancer. *Int J Biol Markers* 2006; 21(4): 246-50.
18. Grivennikov SI, Michael K. Inflammatory cytokines in cancer: tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage. *Ann Rheum Dis* 2011;(70): 104-8.
19. Samur M, Akbulut H. Kolorektal Karsinogenes ve Hereditör Durumlar. *Hematoloji- Onkoloji* 2003;5(3): 115-21.
20. Lopez PS, Vazquez RCF, Martin J, Sánchez E, Tallada M, Garrido F, Cózar JM, Ruiz-Cabello F. Impact of interleukin-18 polymorphisms-607 and -137 on clinical characteristics of renal cell carcinoma patients. *Human Immunology* 2010; (71): 309-13.

21. Nikiteas N, Yannopoulos A, Chatzitheofylaktou A, Tsigris C. Heterozygosity for Interleukin-18 -607 A/C Polymorphism is Associated with Risk for Colorectal Cancer. *Anticancer Research* 2007; (27): 3849-54.
  
22. Qin AQ, Li RK, Yang CM, Li RK, Yang CM, Huang FD, Huang ZY, Guo HJ. Association of the IL-18 gene polymorphism with susceptibility to colorectal cancer. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. 2012;15(4): 400-3.
  
23. Farjadfar A, Mojtahedi Z, Ghayumi M A, Erfani N, Haghshenas MR, Ghaderi A. Interleukin-18 promoter polymorphism is associated with lung cancer: A case-control study. *Acta Oncologica* 2009;48(7): 971- 6.
  
24. Wang Q, Zheng L, Yang HL, Bao J. Correlation of serum IL-18 level and IL-18 gene promoter polymorphisms to the risk of cervical cancer. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2008;28(5): 754-7.
  
25. Merendino RA, Ruello A, Cascinu S, Ferlazzo B, Bene A, Bonanno D, Quattrocchi P, Caristi N, Gangemi S. Influence of 5-fluorouracil and folinic acid on interleukin-18 production in colorectal cancer patients. *Int J Biol Markers* 2002;17(1): 63-6.