










# TÜRKİYE POPÜLASYONUNDA HLA-DQ POLİMORFİZMLERİNİN HEPATİT B VİRÜS ENFEKSİYONU İLE İLİŞKİSİ

## ASSOCIATION OF HLA-DQ POLYMORPHISMS WITH HEPATITIS B VIRUS INFECTION IN TURKISH POPULATION

Bülent ÇAKAL<sup>1</sup> , Muzaffer ARIKAN<sup>2</sup> , Alp ATASOY<sup>3</sup> , Bilger ÇAVUŞ<sup>3</sup> , Mehveş PODA<sup>4</sup> ,  
Mesut BULAKÇI<sup>5</sup> , Mine GÜLLÜOĞLU<sup>6</sup> , Mehmet DEMİRCİ<sup>7</sup> , Filiz AKYÜZ<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Türkiye

<sup>2</sup> Istanbul Medipol University, Research Institute for Health Sciences and Technologies, Regenerative and Restorative Medicine Research Center, Istanbul, Türkiye

<sup>3</sup> Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Division of Gastroenterohepatology, Department of Internal Medicine, Istanbul, Türkiye

<sup>4</sup> Istanbul University, Aziz Sancar Institute for Experimental Medical Research, Department of Genetics, Istanbul, Türkiye

<sup>5</sup> Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Radiology, Istanbul, Türkiye

<sup>6</sup> Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Pathology, Istanbul, Türkiye

<sup>7</sup> Kırklareli University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Kırklareli, Türkiye

ORCID ID: B.Ç. 0000-0002-1254-844X; M.A. 0000-0001-5162-2000; A.A. 0000-0003-1791-897X; B.Ç. 0000-0003-2203-4255; M.P. 0000-0002-1957-6072; M.B. 0000-0003-0993-6465; M.G. 0000-0002-3967-0779; M.D. 0000-0001-9670-2426; F.A. 0000-0001-7498-141X

Citation/Atf: Cakal B, Atasoy A, Cavus B, Poda M, Bulakci M, Gulluoglu M, et al. Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2022;5(3):186-192. <https://doi.org/10.26650/JARHS2022-1142531>

### ÖZ

#### Amaç

Konak genetik faktörleri hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonunun doğal seyri ve HBV ilişkili karaciğer hastalıklarının gelişme riski ile progresyonu üzerinde etkili olabilmektedir. Bu çalışmada HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerinin HBV doğal klirensi, viral yük ve HBV ile ilişkili karaciğer hasarı gelişimi ile ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

#### Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 150 kronik hepatit B (KHB) hastası ile kontrol grubu olarak 58'i kronik hepatit C (KHC) ve 82'si farklı klinik endikasyonlar nedeniyle karaciğer biyopsi işlemi gerçekleştirilen 140 hasta dâhil edildi. HLA-DQ rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 genotip ve polimorfizmlerinin belirlenmesinde TaqMan SNP genotiplendirme yöntemi kullanıldı.

#### Bulgular

KHB'li ve kontrol grubundaki hastaların HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 genotip ve allel frekansları arasında farklılık tespit edildi ( $P<0,05$ ). HLA-DQ rs9272105 AA genotip ve A allel varlığı, hepatit B yüzey antijen (Hepatitis B surface antigen; HBsAg) klirensi ve karaciğer hasarı ile ilişkiliydi ( $p<0,05$ ). HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 ise HBV klirensi ve hastaların histolojik sonuçlarıyla ve ayrıca rs9272105 de dâhil hastaların viral yükleriyle ilişkili değildi.

#### Sonuç

HLA-DQ rs9272105 AA genotip ve A allel gerek HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi gerekse HBV ilişkili karaciğer hasarının gelişmesi için risk faktördür.

**Anahtar Kelimeler:** Hepatit B virüs, HLA-DQ, genetik polimorfizm, sero-konversiyon, hastalık progresyonu

### ABSTRACT

#### Objective

Host genetic factors can affect the natural course of hepatitis B virus (HBV) infection and the risk of development and progression of HBV-related liver diseases. The aim of this study is to evaluate the role of the HLA-DQ gene polymorphisms rs9272105, rs2856718 and rs9275572 with HBV natural clearance, viral load and the development of HBV associated liver injury.

#### Materials and Methods

The study included 150 patients with chronic hepatitis B (CHB) and 140 patients as the control group, 58 of whom had chronic hepatitis C (CHC) and 82 of whom had undergone a liver biopsy due to different clinical indications. The HLA-DQ gene rs9272105, rs2856718 and rs9275572 polymorphisms were genotypes in liver samples using the hybridization probe assay.

#### Results

A difference was found between the HLA-DQ gene rs9272105, rs2856718 and rs9275572 genotype and allele frequencies of the patients with CHB and the control group ( $P<0,05$ ). The HLA-DQ rs9272105 AA genotype and presence of A allele were associated with hepatitis B surface antigen (HBsAg) clearance and liver injury ( $p<0,05$ ). In contrast, the HLA-DQ genes rs2856718 and rs9275572 were not associated with HBV clearance and patients' histological outcomes, nor with patients' viral load, including rs9272105.

#### Conclusions

It has been suggested that the HLA-DQ rs9272105 AA genotype and the A allele are risk factors for both the persistence of HBV infection and the development of HBV-related liver damage.

**Keywords:** Hepatitis B Virus, HLA-DQ, genetic polymorphism, seroconversion, disease progression

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Bülent ÇAKAL E-mail: bulentcakal@yahoo.com

Başvuru/Submitted: 08.07.2022 • Revizyon Talebi/Revision Requested: 07.09.2022 • Son Revizyon/Last Revision Received: 06.10.2022 •

Kabul/Accepted: 10.10.2022



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

## GİRİŞ

Hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu kronik aktif hepatit, siroz, hepatoselüler karsinoma (HSK), gibi progresif seyirli mortalite ve morbidite oranı yüksek klinik sonuçları ve ayrıca mevcut terapötiklerin tedavi etkinliklerinin de sınırlı olması nedeniyle hala tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olarak güncelliğini korumaktadır (1, 2).

Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri ile ilişkili oldukları karaciğer hastalıklarının progresyonu üzerinde konak faktörleri ile virüse ait faktörlerin karşılıklı etkileşimi belirleyici olabilmektedir. Kromozom 6p21'de lokalize doku uygunluk kompleksinin (major histocompatibility complex, MHC) kodladığı insan lökosit antijenleri (human leukocyte antigens, HLA) anti viral immün yanıtın oluşması ve sürdürülmesinde önemli bir yer tutar. HBV enfeksiyonunun kontrolü ve klinik sonuçları konak immün yanıtları ile ilişkilidir. Antijen sunucu hücreler (ASH) tarafından eksprese edilen HLA, antijenik peptidlerin tanınması ve T lenfositlerine sunumunu da içeren immün fonksiyonları nedeniyle anti-viral immün yanıtların yönü, şiddeti ve yoğunluğunun oluşması ve belirlenmesinde merkezi role sahiptirler. Nihayetinde; genom boyu ilişkilendirme çalışmalarından (genome-wide association study (GWAS) elde edilen veriler insan HLA genlerini içeren tek nükleotid polimorfizmleri (single nucleotide polymorphisms; SNP) gibi konak genetik faktörlerinin kronik viral hepatitlerin doğal seyri ve klinik sonuçları ile ilişkili olduğu yönündedir (3, 4). Bu açıdan HLA-DQ gen polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonuna duyarlılık ve spontan klirensi ile HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi ve ayrıca HBV ilişkili siroz ve HSK gibi ileri karaciğer hasarı gelişme riski ve progresyonuyla ilişkili olabileceği rapor edilmektedir (5-7).

HLA-DQ gen rs2856718, rs9275572-A ve rs9272105 polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonun doğal klirensi, klinik sonuçları ile HBV ilişkili siroz ve HSK gibi ileri düzeydeki karaciğer hasarları gelişme riski ile ilişkili olabildiği rapor edilmektedir. Bu açıdan HLA-DQ allel rs2856718-G ve rs9275572-A HBV enfeksiyonuna karşı yararlı olarak değerlendirilmektedir (8-10). Buna karşın HLA-DQ rs9272105-A allel varlığının ise HBV ilişkili siroz ve HSK gibi karaciğer hasarı gelişme riski ile hastaların klinik seyri ve klinik sonuçları üzerinde olumsuz etkileri nedeniyle tercih edilmeyen genotipler olarak değerlendirilmektedir (8,11). Bununla birlikte bu polimorfizmlerin HBV enfeksiyonunun doğal seyri, klinik ve histolojik sonuçları üzerindeki etkileri konusunda nihai bir uzlaşma yoktur.

Bu çalışmada, HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonuna duyarlılık, HBSAg'nin spontan klirensi ve viral yük ile HBV ilişkili karaciğer hasarı gelişimi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TSA-2018-30611 proje numarası ile desteklenmiştir. Çalışmanın etik onayı İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi etik kurulu tarafından verilmiştir (No: 2018/895). Katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

## Hastalar ve klinik materyal

Bu çalışma 150'si kronik hepatit B (KHB), 58'u kronik hepatit C (KHC) ile 82'ü viral hepatit etkenleri dışında farklı klinik endikasyonlar nedeniyle karaciğer parankim biyopsisi işlemi gerçekleştirmiş toplam 290 hasta ile bu hastaların karaciğer doku örneklerinden ticari bir kit (QIAamp DNA Mini kit, Qiagen GmbH, Hilden, Germany) kullanılarak elde edilmiş olan total DNA örneklerini içermekteydi. 58'u KHC ve 82'si non-viral karaciğer hastalığı tanımlanan kontrol grubundaki toplam 140 hastanın HBSAg'i seronegatifdi. KHB'li hastaların ve non-viral karaciğer hastalığı tanımlanan tüm hastaların anti-HCV antikorları seronegatifdi. Ve ayrıca tüm hastaların anti-human immunodeficiency virus (HIV) antikorları da seronegatifdi.

## HLA Gen Polimorfizmi/Genotip Analizi

HLA-DQA1/DRB1 (rs9272105), HLA-DQB1 (rs2856718) ve HLA-DQ'yi (rs9275572) içeren HLA polimorfizmleri standart TaqMan SNP genotipleme deneyi (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) gerçekleştirilerek belirlendi. Elde edilen amplifikasyon eğrileri ve allel ayrımları için StepOne Software (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) programları kullanıldı.

## Anti-HBV antikorlarının ölçümü

HBSAg seronegatif olan kontrol grubu hastaların serum örneklerinde; hepatit B yüzey antikorları (anti-HBs) ve total hepatit B kor antikorları (total anti-HBc) Elecsys Anti-HBs II ve Elecsys Anti-HBc II kit/Cobas e411® (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) kullanılarak üreticinin önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. HBSAg seronegatif ve HBV aşılama geçmişi olmayan, KHC'li hastalar ile non-viral karaciğer hastalığı olan kontrol grubu hastalarda anti-HBc IgG ve anti-HBs varlığı HBSAg seroklirensi olarak tanımlandı.

## Karaciğer Histoloji

KHB ve KHC hastalarına ait karaciğer dokularının histopatolojik değerlendirmesi modifiye Ishak skor sistemi kullanılarak gerçekleştirildi (12). Non-viral kronik karaciğer hastalığı olan hastalara ait patoloji raporları fibrosis, portal ve lobüler enflamasyon, lobüler nekroz, steatoz, kolestaz, safra yolu hasarı gibi histolojik parametreleri içeriyordu.

**Demografik ve klinik laboratuvar verileri:** Hastaların demografik ve diğer klinik laboratuvar verileri hasta dosyaları ve/ya hastanenin elektronik veri kayıt sisteminden elde edildi.

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler IBM SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler arasındaki kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi ve/ya Fisher testi kullanıldı. Bağımsız ve normal dağılmayan değişkenlerin karşılaştırması Kruskal-Wallis veya Mann-Whitney u testi kullanılarak yapıldı. Bağımsız değişkenin ikili bağımlı değişken üzerindeki etkileri lojistik regresyon analizi yapılarak değerlendirildi. SNP'ler arasındaki bağlantı dengesizliği (Linkage Disequilibrium, LD) Haploview programı kullanılarak belirlendi. Hardy-Weinberg

**Tablo 1.** Hastaların demografik, klinik, klinik laboratuvar, virolojik ve histolojik özellikleri

Veri	Kontrol Grup			p
	KHB, n:150	KHC, n:58	Non-viral karaciğer hastalığı, n:82	
Yaş Ort ± SS (yıl)	43,2±13,35	56,00±16,52	47,65±13,81	>0,05
Cinsiyet (E/K)	74/76	19/39	37/45	>0,05
<b>Klinik laboratuvar, Ort±SS</b>				
AST (U/L)	43,56±46,45	52,02±41,61	86,60±115,74	<0,05
ALT (U/L)	76,99±58,68	69,29±10,2	120,12±14,4	<0,05
ALP (U/L)	74,67±27,00	81,28±29,21	193,86±22,0	<0,05
GGT (U/L)	35,63±31,49	58,96±58,1	198,9±24,2	<0,05
Total bilirubin (mg/dl)	0,63±0,49	0,57±0,33	1,46±1,06	>0,05
Direct bilirubin(mg/dl)	0,98±0,35	1,01±0,4	1,28±0,64	>0,05
Indirect bilirubin (mg/dl)	0,36±0,25	0,32±0,22	0,37±0,27	>0,05
INR	1,02±0,12	1,01±0,08	1,00±0,36	>0,05
AFP (ng/ml)	4,39±3,97	3,46±1,54	3,63±3,61	>0,05
Albümin (g/dl)	4,51±0,45	4,43±0,71	4,30±1,68	>0,05
PLT (10 <sup>6</sup> /ml)	232,25±57,86	211,16±36,73	205,2±111,67	>0,05
<b>Viral Faktörler</b>				
Log HBV DNA (IU/mL)	7,96±7,32	U	U	
Log HCV RNA (IU/mL)	U	7,38±8,03	U	
<b>Karaciğer biyopsi endikasyonu/Klinik</b>				
Kronik hepatitis B	150		U	
Kronik hepatitis C	U	58	U	
Metabolik karaciğer hastalığı	U	U	32	
Nedeni bilinmeyen karaciğer enzim yüksekliği	U	U	26	
Kolestatik karaciğer hastalığı	U	U	16	
Siroz	U	U	4	
Vasküler karaciğer hasarı	U	U	4	
<b>Histoloji, Ort±SS</b>				
Enflamasyon (Grade)	4,99±2,86	5,98±2,12	NA	<0,05
Fibrosis (Stage)	2,06±1,32	2,62±1,12	NA	<0,05
NASH	U	U	22	
NAFLD	U	U	10	
Non-spesifik değişiklik*	U	U	28	
Kolestatik karaciğer hastalığı	U	U	14	
Cirrhosis	U	U	4	
Portal hipertansiyon/Venopati	U	U	4	

**AST:** Aspartat aminotransferaz; **ALT:** Alaninaminotransferaz; **ALP:** Alkalen fosfataz; **GGT:** Gama glutamil transferaz; **AFP:** Alfafetoprotein; **PLT:** Trombosit (Platet); **INR:** Protrombin zamanının uluslararası normalleştirilmiş oranı, **NASH:** Non-alkolik steatohepatit, **NAFLD:** Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, **U:** Uygulanamaz.

\*Histopatolojik tanıya yapısal olmayan değişiklikler, fibrosis yokluğu, minimal düzeyde portal ve lobüler enflamatuvar infiltratlar.

dengesi (Hardy–Weinberg Equilibrium, HWE), alel frekansları ve genotip dağılımları ki-kare testi kullanılarak analiz edildi. <0,05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık olarak kabul edildi.

## BULGULAR

### Hastaların demografik, klinik laboratuvar ve histopatolojik özellikleri

Çalışmaya dahil edilen 150'si KHB, 58'i KHC ve 82'si non-viral karaciğer hastalığı olan 130'u erkek 160'u kadın toplam 290 hastanın demografik, klinik, klinik laboratuvar, virolojik ve histopatolojik verileri Tablo 1 özetlenmiştir. KHB ve KHC'li hastaların histolojik olarak enflamasyon derecesi (grade) sırasıyla

4,99±2,86 ve 5,98±2,12, fibrosis evreleri (stage) ise sırasıyla 2,06±1,32 ve 2,62±1,12 olarak tanımlandı. Hasta ve kontrol grubunun karaciğer enzimleri ile KHB ve KHC'li hastaların enflamasyon dereceleri (grade) ve fibrosis evrelerini de (stage) içeren histolojik verileri istatistiksel olarak anlamlı farklılık içermekteydi (Tablo 1). Viral hepatit dışında farklı klinik endikasyonlar nedeniyle karaciğer biyopsisi yapılan hastalarda histopatolojik olarak en fazla rapor edilen bulgu 22'si (%26,8) alkol dışı steatohepatit (Non-alcoholic steatohepatitis; NASH) ve 10'u (%12,2) alkol dışı yağlı karaciğer hastalığı (Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) toplam 32 (%39,0) hasta ile karaciğer yağlanmasıydı.

### HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 genotip ve frekansı

Bu çalışmada HLA-DQ rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 için tespit edilen genotipler ve allel frekansları ile istatistiksel farklılıkları tablo 2' de gösterilmiştir. Gerek KHB'li hastaları içeren çalışma grubu gerekse kontrol grubunun HWE değerleri ve LD dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p>0,05$ ) (Tablo 3 ve Tablo 4). Bu çalışmada KHB'li ve kontrol grubundaki hastaların HLA-DQ genindeki SNP rs9272105, rs2856718 ve rs9275572'nin genotip ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edildi.

KHB'li hastalarda rs9272105 GG genotipi (%13,33) ve G allel (%31,33) frekansı, kontrol grubunun GG genotipi (%22,14) ve G allel (%41,42) frekansından daha düşüktü ( $p<0,05$ ). KHB'li ve kontrol grubunda rs9272105 AA frekansı en yüksek tespit edilen genotip olup, gerek rs9272105 GA gerekse AA genotiplerinin frekanslarının dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. Buna karşın KHB'li hastalarda rs9272105 A allel (%68,67) frekansı kontrol grubunun A allel (%58,58) frekansından daha yüksekti ( $p<0,05$ ).

KHB'li hastalarda rs2856718 GG genotipi (%34,66) ve G allel (%56,0) frekansı kontrol grubunun GG genotipi (%19,28) ve G allel (%43,57) frekansından daha yüksekti ( $p<0,05$ ). KHB ve kontrol grubunda rs2856718 GA frekansı en yüksek tespit edilen genotip olup, gerek rs2856718 GA gerekse AA genotiplerinin frekanslarının dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. Buna karşın KHB'li hastalarda rs2856718 A allel (%44,0) frekansı kontrol grubunun A allel (%56,43) frekansından daha düşüktü ( $p<0,05$ ).

KHB'li hastalarda ve kontrol grupta HLA-DQ gen rs9275572 için frekansı en yüksek tespit edilen genotip GG olup sırasıyla

%54,0 ve %45,71, frekansı en düşük tespit edilen genotip ise AA olup sırasıyla %13,33 ve %10,0 olarak tespit edildi. Her iki grubunda gerek rs9275572 GG ve AA genotipleri gerekse G ve A allel frekansları arasında bir farklılık yoktu ( $p>0,05$ ). Buna karşın KHB'li hastalarda rs9275572 AG genotipinin (%32,66) frekansı kontrol grubunun AG genotipinin (%44,28) frekansından daha düşüktü ( $p<0,05$ ).

### HLA-DQ gen polimorfizmi ve HBsAg seroklirensi

Tablo 5'de HBV temasının gösteren anti-HBc pozitifliği ile birlikte anti-HBs pozitifliği ile karakterize HBsAg seroklirensi tespit edilen 28 hastanın HLA-DQ genotip ve allel frekansları gösterilmektedir. Persistan HBsAg pozitifliği ile karakterize KHB'li hastalarda HLADQ-DR rs9272105 GG genotipi (%13,33) ve G allel (%31,33) frekansı HBsAg seroklirensli grubun GG genotipi (%28,57) ve G allel (%53,57) frekansından daha düşüktü ( $p<0,05$ ). Buna karşın KHB'li hastalarda rs9272105 AA genotipi (%50,67) ve A allel (%68,67) frekansı HBsAg seroklirensli grubun AA genotipi (%21,43) ve A allel (%46,43) frekansından daha yüksekti ( $p<0,05$ ). Bununla birlikte her iki grupta heterozigot rs9272105 GA genotipinin frekansları arasında ise bir farklılık yoktu ( $p>0,05$ ). KHB'li hastalar ile HBsAg seroklirensine sahip hastaların HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 genotip ve allel

frekansları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p>0,05$ ).

**Tablo 2.** KHB ve kontrol hastalarında HLA-DQ gen genotip ve allel frekansı

Genotip/ Allel	KHB, total =150 n(%)	Kontrol total = 140 n(%)	p
<b>rs9272105</b>			
GG	20 (13,33)	31 (22,14)	< 0,05
GA	54 (36,0)	54 (38,57)	<0,05
AA	76 (50,67)	55 (39,28)	<0,05
G	94 (31,33)	116 (41,42)	< 0,05
A	206 (68,67)	164 (58,58)	< 0,05
<b>rs2856718</b>			
GG	52 (34,66)	27 (19,28)	< 0,05
GA	64 (42,66)	68 (48,57)	>0,05
AA	34 (22,66)	45 (32,14)	>0,05
G	168 (56,0)	122 (43,57)	< 0,05
A	132 (44)	158 (56,43)	< 0,05
<b>rs9275572</b>			
AA	20 (13,33)	14 (10,0)	>0,05
AG	49 (32,66)	62 (44,28)	< 0,05
GG	81 (54,0)	64 (45,71)	>0,05
A	89 (29,66)	90 (32,14)	>0,05
G	211 (70,33)	190 (67,86)	>0,05

KHB: Kronik hepatit B

**Tablo 3:** HWE Test Sonuçları

SNP ID	Grup	HWE Test p
rs9272105	KHB	>0,05
	Kontrol	>0,05
rs2856718	KHB	>0,05
	Kontrol	>0,05
rs9275572	KHB	>0,05
	Kontrol	>0,05

HWE: Hardy Weinberg Equilibrium

**Tablo 4:** LD ( $r^2$ ) Sonuçları

	rs9272105	rs2856718	rs9275572
rs9272105	1,000	0,042	>0,05
rs2856718		1,000	>0,05
rs9275572			>0,05

LD: Linkage disequilibrium

### Kronik hepatit B'li hastalarda HLA-DQ polimorfizmi

Tablo 6'da KHB hastaların viral yükleri ve histolojik verileri ile HLA-DQ gen polimorfizmleri karşılaştırılmasını içeren veriler özetlenmiştir. Buna göre KHB'li hastaların HBV DNA düzeyleri ile

HLA-DQ gendeki SNP rs9272105, rs2875618 ve rs9275572'nin genotip frekansları arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmedi ( $p>0,05$ ).

Bu çalışmada HLA-DQ gen rs9272105 AA genotipine sahip hastaların histolojik olarak karaciğer enflamasyon derecesi (grade)  $5,59\pm 3,19$  olup, rs9272105 GG ve GA genotipli hastaların karaciğer enflamasyon derecesinden sırasıyla  $3,70\pm 1,78$  ve  $4,61\pm 2,46$  daha yüksekti ( $p<0,05$ ). Buna karşın HLA-DQ gen rs9272105 AA genotipi dışındaki diğer genotipleri ve ayrıca da HLA-DQ gen rs2875618 ve rs9275572 polimorfizmleri ile hastaların nekro-enflamatuvar aktivite dereceleri (grade) ile fibrosiz evrelerini (stage) içeren histolojik verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenmedi.

## TARTIŞMA

HLA-DQ gen polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonunun sonuçları üzerindeki etkisini değerlendirmeye yönelik yapılan bu çalışmada KHB'li hastalar ile kontrol grubunun HLA-DQ gen SNP rs9272105, rs2856718 ve rs9275572'nin genotipleri ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı.

Bu çalışmada KHB'li hastalarda, kontrol grubu ve HBsAg seroklirensi olan hastalara göre, HLA-DQ rs9272105 GG genotip ve G allel frekansı daha düşük, buna karşın rs9272105 AA genotipi ve A allel frekansı ise HBsAg seroklirensi olan hastalara, A allel frekansı da kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edildi ( $p<0,05$ ) (Tablo 2 ve 5). Çalışmada ayrıca rs9272105 AA genotipinin de KHB'li hastalarda HBV ilişkili karaciğer enflamasyon derecesinde (grade) artış ile ilişkili olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ) (Tablo 4). Bu veriler rs9272105 GG genotip ve G allel varlığının HBV enfeksiyonuna direnç ve HBsAg'nin spontan klirensi ile ilişkili olabileceğine, nihayetinde HBV enfeksiyonuna karşı koruyucu ve yararlı rolüne işaret etmektedir. Buna karşın rs9272105 AA genotipi ve A allel varlığının ise HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi ve HBV ilişkili karaciğer hasarı için bir risk faktör olabileceğine işaret etmektedir. Daha önce yapılan farklı çalışmalarda HLA-DQ rs9272105 AA genotipi ve A allel varlığının HBV ilişkili karaciğer sirozu ve HSK gelişme riski ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (8,13-15). Bununla birlikte, yapılan bir çalışmada HLA-DQ rs9272105'in persistan HBV enfeksiyonu ile ilişkili olmadığı rapor edilmesine karşın, bu çalışmada ilk defa HBV HLA-DQ rs9272105 AA genotipi ve A allel varlığının HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi için risk faktör olabileceği rapor edilmektedir (16).

Bu çalışmada KHB'li hastalar ile kontrol grubunun HLA-DQ gen rs2856718 GG genotip, G ve A allel ile rs9275572 AG genotipinin frekansları arasında farklılık tespit edildi. ( $p<0,05$ ). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte KHB'li hastalarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında rs9275572 A allel frekansının daha düşük, AA ve GG genotip ile G allel frekansının ise daha yüksek oranda olduğu tespit edildi ( $p>0,05$ ), (Tablo 2). Buna karşın HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmleri ile HBsAg seroklirensi ve HBV ilişkili karaciğer hasarı arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 5 ve 6). Çalışmamızdan elde edilen veriler HLA-DQ gen rs2856718 için

G allelden ziyade A allelin ve rs9275572 için ise A allel polimorfizminin HBV enfeksiyonundan korunma ile ilişkili olabileceğine, buna karşın HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi ve histolojik sonuçları üzerinde etkisinin ise sınırlı olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte bazı çalışmalarda bizim bulgularımızın aksine rs2856718 için A allelden ziyade G allelin, rs9275572 için ise bu çalışmanın bulguları tarafından da desteklendiği üzere A allel varlığını içeren HLA gen polimorfizmlerinin HBV'nin doğal klirensi ve kronik HBV enfeksiyon riskinde azalma ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (8,17-19).

**Tablo 5.** KHB ve HBsAg seroklirensli hastalarda HLA-DQ gen genotip ve allel frekansı

Genotip/Allel	KHB, total =150 n(%)	HBsAg seroklirensi, total =28 n(%)	p
<b>rs9272105</b>			
GG	20 (13,33)	8 (28,57)	< 0,05
GA	54 (36,0)	14 (50,0)	>0,05
AA	76 (50,67)	6 (21,43)	< 0,05
G	94 (31,33)	30 (53,57)	< 0,05
A	206 (68,67)	26 (46,43)	< 0,05
<b>rs2856718</b>			
GG	52 (34,66)	6 (21,43)	>0,05
GA	64 (42,66)	12 (42,85)	>0,05
AA	34 (22,66)	10 (35,72)	>0,05
G	168 (56,0)	24 (42,85)	>0,05
A	132 (44)	32 (57,15)	>0,05
<b>rs9275572</b>			
AA	20 (13,33)	3 (10,71)	0,703
AG	49 (32,66)	11 (39,28)	0,496
GG	81 (54,0)	14 (50,0)	0,696
A	89 (29,66)	17 (30,35)	0,920
G	211 (70,33)	39 (69,65)	0,920

KHB: Kronik hepatit B

HLA-DQ rs2856718 ve rs9275572' de içeren HLA-DQ gen polimorfizmlerinin HBV ilişkili siroz ve HSK gelişme riski üzerindeki etkileri hususunda henüz net bir uzlaşma yoktur. Bazı çalışmalarda HLA-DQ rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerinin HBV ilişkili siroz ve HSK gelişimi ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (9,20,21). Buna karşın farklı çalışmalarda ise HLA-DQ polimorfizmlerinin HBV ilişkili karaciğer hasarları üzerinde olumsuz etkilerinin varlığı gösterilmemiştir (10,15,21). HBV enfeksiyonunun kontrolünde hücrel immün yanıtların düzeyi, yönü ve şiddeti belirleyicidir. T hücrelerine antijen sunan molekülleri kodlayan HLA genlerinde meydana gelen polimorfizmler antijenin bağlanma gücünü ve özgüllüğünü etkileyerek HBV'ye karşı T hücre aracılı immün yanıtların yönünü ve şiddetini etkileyebilir. Bu çalışmadan elde edilen veriler de bazı HLA-DQ polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonunun klinik sonuçları ile ilişkili olabileceğine işa-



**Tablo 6.** KHB'li hastaların virolojik ve histolojik sonuçları ile HLA-DQ polimorfizmlerinin karşılaştırılması

Veri	rs9272105			p	rs2856718			p	rs9275572			p
	GG n (%)	GA n (%)	AA n (%)		CC n (%)	CT n (%)	TT n (%)		AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	
	20 (13,33)	54 (36,0)	76 (50,67)		52 (34,66)	64 (42,66)	34 (22,66)		20 (13,33)	49 (32,66)	81 (54,00)	
<b>Viral Faktörler (Ort, SS)</b>												
HBV DNA log <sub>10</sub> IU/ml	6,06±6,6	7,23±7,68	7,46±8,08	>0,05	7,2±7,66	7,47±8,11	7,1±7,56	0,936	7,3±7,66	7,12±7,61	7,41±8,07	>0,05
<b>Histoloji (Ort, SS)</b>												
Enflamasyon (Grade)	3,70±1,78	4,61±2,46	5,59±3,19	<0,05	4,53±2,07	5,4±3,44	4,88±2,61	0,807	5,25±2,59	5,46±3,62	4,62±2,33	>0,05
Fibrozis (Stage)	1,5±1,00	2,00±1,31	2,25±1,36	>0,05	1,84±1,12	2,2±1,4	2,11±1,43	0,426	2,2±1,7	2,34±1,37	1,85±1,15	>0,05

ret etmektedir. Buna karşın tanımlanan genetik varyasyonların moleküler düzeyde HBV enfeksiyonuna karşı spesifik immün yanıtları nasıl etkilediği henüz tam olarak aydınlatılmamıştır.

HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerini de içeren çalışmaların sonuçlarına yönelik farklılıklar çalışmaya dahil edilen hastaların klinik özellikleri, HBV epidemiyolojisi ve genotipleri gibi viral faktörler ile çalışma popülasyonun genetik kompozisyonu ve büyüklüğünden kaynaklanabilir. Nihayetinde bu faktörlerin, aynı zamanda bu çalışmadan elde edilen sonuçların farklılığını hem de bu çalışmayı sınırlandıran faktörler olabileceği ifade edilebilir.

Çalışmamızda HLA-DQ gen rs9272105, rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmleri ile HBV DNA düzeyleri arasında önemli bir ilişki saptanmadı. Bu veriler HLA-DQ polimorfizmlerinin HBV'nin viral replikasyon dinamiği üzerine sınırlı etkilerinin olabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte farklı çalışmalarda rs9272105'i de içeren bazı HLA-DQ gen polimorfizmlerinin KHB'li hastalarda viral yük ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (16).

HBV enfeksiyonunun doğal seyri ve ilişkili olduğu karaciğer hastalıklarının gelişmesi ve progresyonu üzerinde virüs ve konak ilişkili faktörler ile çevresel faktörler belirleyici olabilmektedir. Bu çalışmadan elde edilen veriler HLA-DQ gen rs2856718 ve rs9275572 polimorfizmlerinin HBV enfeksiyonunun doğal seyri ve sonuçları üzerinde sınırlı bir etkinliğe sahip olduğuna, buna karşın HLA-DQ gen rs9272105 polimorfizminin ise HBV enfeksiyonunun doğal seyri ve klinik sonuçları üzerinde etkili olabileceğine işaret etmektedir.

Sonuç olarak HLA-DQ rs9272105 AA genotipi ve A allel varlığı HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi ve KHB'li hastalarda HBV ilişkili karaciğer hasarının gelişmesi için bir risk faktördür. Dolayısıyla HLA-DQ rs9272105 AA genotipli KHB'li hastaların HSK gelişimi riski açısından izlenmesi hastaların klinik yönetimi için yararlı olabilir.

**Teşekkür:** İstanbul Tıp Fakültesi Gastroenterohepatoloji Bilim Dalında görevli Sayın Hemşire Nilay ARABACI ve Derya KAYA ile Radyoloji Biriminde görevli Sayın Hemşire Arzu ÖRENTE'e bu projenin gerçekleştirilmesi aşamasındaki bilimsel duyarlılıkları, katkıları ve emeklerinden dolayı şükranlarımı sunarım.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 08.06.2018, No: 2018/895).

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Çalışma Konsepti/Tasarım- B.Ç., F.A.; Veri Toplama- B.Ç., A.A., B.Ç., M.B., M.G.; Veri Analizi/Yorumlama- B.Ç., M.A., M.D., M.P.; Yazı Taslağı- B.Ç.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- B.Ç., M.A., A.A., B.Ç., M.B., M.G., M.D., M.P., F.A.; Son Onay ve Sorumluluk- B.Ç.; Malzeme ve Teknik Destek- B.Ç., M.A., A.A., B.Ç., M.B., M.G., M.D., M.P.; Süpervizyon B.Ç., F.A.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

**Finansal Destek:** Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

**Acknowledgements:** We wish to thank the nurses Nilay ARABACI, Derya KAYA and Arzu ORENTEL from Istanbul Faculty of Medicine to this project for their contributions and efforts.

**Ethics Committee Approval:** This study was approved by Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee (Date: 08.06.2018, No: 2018/895).

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

**Author Contributions:** Conception/Design of Study- B.Ç., F.A.; Data Acquisition- B.Ç., A.A., B.Ç., M.B., M.G.; Data Analysis/Interpretation- B.Ç., M.A., M.D., M.P.; Drafting Manuscript- B.Ç.; Critical Revision of Manuscript- B.Ç., M.A., A.A., B.Ç., M.B., M.G., M.D., M.P., F.A.; Final Approval and Accountability- B.Ç.; Material and Technical Support- B.Ç., M.A., A.A., B.Ç., M.B., M.G., M.D., M.P.; Supervision- B.Ç., F.A.

**Conflict of Interest:** Authors declared no conflict of interest.

**Financial Disclosure:** The authors have no conflict of interest to declare.

## KAYNAKLAR

1. Beasley RP. Hepatitis B virus: The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988;61:1942-56.
2. Dunn R, Wetten A, McPherson S, Donnelly MC. Viral hepatitis in 2021: The challenges remaining and how we should tackle them. *World J Gastroenterol* 2022; 7;28(1):76-951.
3. Xu J, Zhan Q, Fan Y, Yu Y, Zeng Z. Human genetic susceptibility to hepatitis B virus infection. *Infection. Genetics and Evolution* 2021;87:104663. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104663.
4. Zhang Z, Wang C, Liu Z, Zou G, Li J, Lu M. Host Genetic Determinants of Hepatitis B Virus Infection. *Front Genet* 2019;10:696.
5. Zeng Z, Liu H, Xu H, Lu H, Yu Y, Xu X et al, HBV study consortium. Genome-wide association study identifies new loci associated with risk of HBV infection and disease progression. *BMC Med Genomics* 2021;14:84.
6. Graves AM, Viridis F, Morrison E, Álvaro-Benito M, Khan AA, Freund C et al. Human hepatitis B viral infection outcomes are linked to naturally occurring variants of HLA-DOA that have altered function. *J Immunol* 2020 15;205(4):923-35.
7. Song Y, Xia T, Xia X, Zhang A-M. Genetic polymorphisms of the HLA-DP and HLA-DQ genes could influence Hepatitis B virus infection in Yunnan population. *Immunol Invest* 2021;50(1):47-57.
8. Xu T, Zhu A, Sun M, Lv J, Qian Z, Wang X, Wang T, Wang H, et al. Quantitative assessment of HLA-DQ gene polymorphisms with the development of hepatitis B virus infection, clearance, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2018; 9(1):96-109.
9. Lv J, Xu T, Qian Z, Wang H et al. Association between HLA-DQ Gene Polymorphisms and HBV-Related Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterol Res Pract* 2017;2017:7150386. doi:10.1155/2017/7150386.
10. Al-Qahtani A A, Al-Anazi MR, Abdo A A, Sanai FM, Al-Hamoudi W, Alswat KA, et al. Association between HLA variations and chronic hepatitis B virus infection in Saudi Arabian patients. *PLoS ONE* 2014;9(1):e80445. doi: 10.1371/journal.pone.0080445.
11. Xu T, Sun M, Wang H. Relationship between HLA-DQ Gene Polymorphism and Hepatitis B Virus Infection. *Biomed Res Int* 2017;2017:9679843. doi: 10.1155/2017/9679843.
12. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Calleo F, De Groote J, Gaudet F. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22(6):696-9.
13. Kozuka R, Enomoto M, Sato-Matsubara M, Yoshida K, Motoyama H, Hagihara A, et al. Association between HLA-DQA1/DRB1 polymorphism and development of hepatocellular carcinoma during entecavir treatment. *J Gastroenterol Hepatol* 2019;34(5):937-46.
14. Wen J, Song C, Jiang D, Jin T, Dai J, Zhu L, et al. Hepatitis B virus genotype, mutations, human leukocyte antigen polymorphisms and their interactions in hepatocellular carcinoma: a multi-centre casecontrol study. *Sci Rep* 2015;16(5):16489. doi: 10.1038/srep16489.
15. Li S, Qian J, Yang Y, Zhao W, Dai J, Bei J-X et al. GWAS identifies novel susceptibility loci on 6p21.32 and 21q21.3 for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus carriers. *PLoS Genet* 2012;8:e1002791. doi: 10.1371/journal.pgen.1002791.
16. Hsieh AR, Fann CSJ, Lin HC, Tai J, Hsieh SY, Tai DI. Hepatitis B virus persistent infection-related single nucleotide polymorphisms in HLA regions are associated with viral load in hepatoma families. *World J Gastroenterol* 2021;27(37):6262-76.
17. Trinks J, Nishida N, Hulaniuk ML, Caputo M, Tsuchiura T, Marciano S, et al. Role of HLA-DP and HLA-DQ on the clearance of hepatitis B virus and the risk of chronic infection in a multiethnic population. *Liver Int* 2017;37(10):1476-87.
18. Zhang X, Jia J, Dong J, Yu F, Ma N, Li M, et al. HLA-DQ polymorphisms with HBV infection: different outcomes upon infection and prognosis to lamivudine therapy. *J Viral Hepat* 2014;21(7):491-8.
19. Mohammadi H, Alavian SM, Sharafi H. Association of single nucleotide polymorphisms in immune-related genes with spontaneous HBsAg seroconversion: A systematic review and meta-analysis. *Int Immunopharmacology* 2022;110:108982. doi: 10.1016/j.intimp.2022.108982.
20. Ochi Y, Hashimoto S, Kawabe N, Muraio M, Nakano T, et al. HLA-DQ gene polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma and hepatitis B surface antigen in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatol Res* 2017;47(8):755-66.
21. Ji X, Zhang Q, Li B, Dua Y, Yin J, Liu W. Impacts of human leukocyte antigen DQ genetic polymorphisms and their interactions with hepatitis B virus mutations on the risks of viral persistence, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *Infect Genet Evol* 2014;28:201-9.