

HBsAg Pozitif Kronik Hepatitlerde HLA Antijenleri

Dr. Orhan ERBAŞ, Dr. Berrin Arısoy ESEN, Dr. Nilgün Sönmez ACAR,
Dr. Jale SOYDİNÇ, Dr. Yaşar ACAR, Dr. Burhan ŞAHİN

Özet: Bu çalışmada 39 HBsAg pozitif kronik hepatit olgusu ve 50 transplantasyon donöründe HLA-A ve B fenotiplerinin dağılımı araştırıldı. HLA-B51 (5) fenotipi ve kontrol grubunda, HLA-B35, HLA-B50 (21) HLA-A11 ve HLA-Aw68 (28) fenotiplerinin sıklığı ise hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$).

Tahmini relatif riski en yüksek (<5) olan HLA-B35'in farklı ırk ve coğrafi bölgelere ait çalışmalarda da saptanmış olması dikkat çekici idi.

Summary: HLA ANTIGENS IN HBsAg POSITIVE CHRONIC HEPATITIS.

In this study the distribution of HLA-A and HLA-B phenotypes in HBsAg positive 39 patients with chronic hepatitis and 50 donors for transplantation is evaluated. The frequency of HLA-B51 (5) phenotype was found higher in the control group where in the patient group HLA-B35, HLA-A11, HLA-w68(28) and HLA-B50(21) phenotypes were found significantly in a higher frequency ($p<0.05$). It was remarkable that HLA-B35 phenotype with the highest relatif risk (<5) was detected in different studies among several geographic regions and several races.

Anahtar kelimeler: Kronik hepatit, HLA antijenleri.

Key words: Chronic hepatitis, HLA antigens.

Hepatit B Virus (HBV) parenteral geçişin sık olduğu, kronikleşmeye eğilim gösteren bir enfeksiyona neden olur. Bu enfeksiyona bağlı kronik karaciğer hastalıkları persistan antijenemi ile ilişkilidir. (1)

Kronik hepatit gelişen olgularda hücrel immün yanıtta yetersizlik saptanmıştır(2). Sağlıklı taşıyıcılarda hücrel immün yanıt çok yetersiz ve karaciğer hasarı yok denecek kadar azdır. Daha iyi hücrel yanıtı sahip olgularda ise hepatosellüler nekroz gelişmekte ancak oluşan yanıt, HBV'nin uzaklaştırılması için yeterli olmamaktadır (3).

HBV ile enfekte hepatositlerin lizisindeki yetersizlik, T supressor hücre fonksiyonundaki artış, sitotoksik lenfositlerde defekt ve hücre membranındaki blokan antikorlarla açıklanmaya çalışıl-

mıştır(4, 5). Enfekte hepatositler üzerindeki viral antijenin sitotoksik T lenfosit tarafından tanınması ancak HLA (insan lökosit antijeni)-klas I antijenlerin varlığında olmaktadır. Hepatositler normal koşullarda HLA-klas I antijeni taşımazlar. Bu antijenlerin kronik HBV enfeksiyonu sırasında hepatosit membranında olduğu düşünülmektedir (6). HLA-Klas I antijenlerinin bulunması ile HBV replikasyonu arasında bir ilişki olduğu, diğer taraftan aktif viral replikasyon sırasında enfekte hepatosit membranında bulunan HBcAg'nin sitotoksik T lenfositler için hedef antijen olabilecekleri de ileri sürülmüştür (7, 8).

Kronikleşmeye neden olan risk faktörlerinden biri de genetik predispozisyonudur. Bu konuda yapılan çalışmalarda HLA-B8'in tek başına veya HLA-B12 ile birlikte kronikleşmede etken olabi-

leceğine değinilmiştir (9, 11). HLA-B8'in kronikleşmede risk faktörü olarak düşünülmesi bu fenotipin bir çok otoimmün hastalıkta rol oynamasından kaynaklanmakta ve HLA-B8 ve B12'nin immün reaktiviteyi artırarak etkili olabileceği düşünülmektedir (12).

Bugün kronikleşmenin virüsün direkt sitopatik etkisinin yanı sıra T hücre bağımlı bir immün reaksiyon olduğu ve HLA antijenlerinin bu reaksiyonun meydana gelmesinde indirekt rol alarak, T hücre yanıtında hedef yapıları oluşturduğu görüşü ağırlık kazanmaktadır. Bu görüşten yola çıkarak bu çalışmada kronik HBV enfeksiyonu ile HLA arasındaki ilişkiyi inceledik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Kasım 1990-Kasım 1991 tarihleri arasında S. B. Ankara Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında yapıldı. HBsAg (+) kronik karaciğer hastalığı (KKH) tanısı ile Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi ve AÜTF Gastroenteroloji Kliniklerinde yatarak tedavi gören 39 hasta ile Organ Nakli ve Yanık Tedavi Hastanesine donör olarak başvuran sağlıklı 50 kişi çalışmaya alındı. Olgularda kronik karaciğer hastalığı tanısı klinik, biyokimyasal, serolojik, sonografik, endoskopik ve bazı olgularda histopatolojik bulgular esas alınarak konuldu.

Hasta ve kontrol grubunda HBsAg, Anti HBc-IgM ELISA ile çalışıldı. Çalışmada Wellcozyme kitleri kullanıldı.

HLA SİSTEMİ: Kopleman bağımlı lenfositotoksisite yöntemi ile çalışıldı (13, 16). "Density gradient separasyon" yöntemi ile lenfosit izolasyonunda Histopaque 1077 (sigma) ve mononükleer hücrelerin hazırlanmasında ise Lympho-Kwik MN (One lambda) kullanıldı. Elde edilen sediment mikrolitrede 2000 hücre bulunacak şekilde Hank solüsyonu (Difco) ile sulandırıldı.

Kompleman bağımlı lenfositotoksisite testinde her hasta için bir HLA-ABC Teresaki plağı (One Lambda: lot no 4) kullanıldı. Test için tavşan komplemanı ve eosin-Y formalin karışımı (stain fix) One Lambda firmasından temin edildi.

Test tamamlandıktan sonra plaklar inverted mikroskopta splitler, çapraz reaksiyonlar ve

public antijenler göz önüne alınarak değerlendirildi. Bir antijenin varlığı belirtilmeden önce reaksiyonun birbirini desteklemek için konan gödelerde eş olmasına dikkat edildi. Her bireyin iki HLA-A, iki HLA-B ve Bw4, Bw6'dan birinin veya ikisinin bulunduğu formülü kaydedildi. Eğer birey tek HLA-A ve/veya HLA-B antijenine sahipse diğeri blank olarak kaydedildi. Çalışmada HLA-A lokusunun 9 public antijeni ile A9, A10 ve Aw19'un splitleri, HLA-B lokusundaki 23 public antijen ve B5, B12, B15, B17, B21 ve B40'ın splitleri araştırıldı.

Sonuçların değerlendirilmesinde tahmini relatif risk ve ki-kare önemlilik testi kullanıldı.

BULGULAR

Hasta ve kontrol grubunda bilinen HLA-A ve B fenotiplerinin dağılımı Tablo-I ve Tablo-II'de gösterilmiştir. HLA-A11 ve HLA-B35 antijenlerinde tahmini relatif risk yüksek ve istatistiksel değerlendirmede fark anlamlı idi. HLA-B51 (5) antijeni ise kontrol grubunda hasta grubuna oranla daha yüksek bulundu.

TARTIŞMA

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda HBV enfeksiyonunda, hepatositlerin yüzeyinde HLA antijenlerinin gösterilmeye başlaması viral hepa-

Tablo I: HLA - A Fenotiplerinin Dağılımı

HLA-A Lokusu	Hasta (n = 39)	Kontrol (n = 50)	Tahmini Relatif Risk
A1	10	10	1.3
A2	11	23	0.5
A3	9	8	1.5
A9	13	14	1.3
A23 (9)	2	1	2.6
A24 (9)	11	13	1.0
A10	8	6	1.9
A25 (10)	-	-	-
A26 (10)	7	6	1.6
Aw34 (10)	1	-	Hesaplanamadı
Aw66 (10)	-	-	-
A11*	8	3	4.0
Aw19	8	16	0.5
A29 (w19)	2	2	1.2
A30 (w19)	1	9	0.1
A31 (w19)	2	2	1.2
A32 (w19)	3	3	1.3
Aw33 (w19)	-	-	-
Aw68 (28) *	4	-	Hesaplanamadı
Aw36	-	-	-

* p < 0.05

Tablo I: HLA - A Fenotiplerinin Dağılımı

HLA-A Lokusu	Hasta (n = 39)	Kontrol (n = 50)	Tahmini Relatif Risk
B5*	8	20	0.4
Bw51 (5) *	5	19	0.2
Bw52 (5)	3	1	4.0
B7	3	8	0.4
B8	1	-	Hesaplanamadı
B12	6	7	1.1
B44 (12)	6	7	1.1
B45 (12)	-	-	-
B13	3	4	0.9
B14	3	1	4.0
B15	3	5	0.6
Bw 62(15)	2	5	0.5
Bw63(15)	1	-	Hesaplanamadı
B16	1	6	0.1
B17	-	-	-
Bw 57(17)	-	-	-
Bw58(17)	-	-	-
B18	6	3	2.8
B21	8	4	2.9
Bw 49(21)	3	4	0.9
Bw50(21)	5	-	Hesaplanamadı
Bw22	6	5	1.6
B27	2	2	1.5
B35 *	18	7	5.2
B37	-	1	0.0
B40	-	-	-
Bw 60(40)	-	-	-
Bw61(40)	-	-	-
Bw41	-	-	-
Bw42	-	1	0.0
Bw47	-	-	-
Bw48	-	-	-
Bw53	2	-	Hesaplanamadı
Bw59	-	-	-
Bw67	-	-	-

* p < 0.05

$$\text{Tahmini Relatif Risk} = \frac{\text{Pozitif hasta} \times \text{Negatif kontrol}}{\text{Negatif hasta} \times \text{Pozitif kontrol}}$$

titlerde T hücre bağımlı immün yanıtın, konağın temel savunma mekanizması olabileceği fikrini ortaya koymuştur (17). Akut viral replikasyon döneminde hepatosit membranında oluşan bu

antijenler, kronik HBV enfeksiyonunda ortaya çıkan T hücre bağımlı immün hepatolizis olayında hedef yapıları oluşturmakta ve infekte hepatositler sitotoksik T hücrelerine duyarlı hale gelmektedir. Sonuç olarak oluşan hepatolizis karaciğer hasarını ortaya çıkarmaktadır. HBV'nin direkt sitopatik etkisinin yanı sıra kronikleşmede konağın immün cevabının rolü de in vitro deneylerle desteklenmiştir (8).

Latin Amerika, Almanya, Yugoslavya ve Avusturya'da yapılan çalışmalarda KKH olan olgularda HLA-B35 fenotipinin sıklığında artış gözlenmiştir (9, 18-23). Çalışmamızda bulunan HLA-B35 görülme sıklığı bu konuda yapılan çalışmalarla uyumludur.

HLA-B15, B17 ve B13 farklı çalışmalarda kronik asemptomatik taşıyıcılarda sık raslanılan fenotipler olarak saptanmıştır (18, 23, 24). Çalışmamızda ise bu antijenler hasta ve kontrol grubunda benzer sıklıkta bulunmuştur.

Çalışmamızda görülme sıklığı anlamlı olarak yüksek bulunan HLA-A11 ve HLA-B50 (21) antijenleri ile ilgili veriler literatürde bulunamamıştır. HLA-A28'den ise bir araştırmada söz edilmiş ancak w68 spliti belirtilmemiştir (23).

Çeşitli ülkelerde yapılan ve KKH'larını kapsayan araştırmalarda tek bir ortak HLA tipi gösterilememiştir. Bilindiği gibi HLA fenotipleri ırk ve coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. İncelenen HLA fenotipinin o populasyonda az sıklıkla görülmesi, fazla örnekle çalışılsa bile, bir tek olgunun sonuçları etkilemesine ve o fenotip ile hastalık arasında belirgin bir ilişki varmış gibi değerlendirilmesine neden olabilir (18). Bu nedenle çalışmamızda görülme sıklığı anlamlı olarak artmış bulunan tüm fenotipler arasında HLA-B35 diğer ülkelerde de saptandığı için en dikkat çekici olanıdır.

KAYNAKLAR

1. Çelik, G.: Akut viral hepatit etkenlerinden Hepatit A ve Hepatit B Virüsü, Klinik 1: 10-19, 1988.
2. Hoofnagle, J. H., Schafer, D. F.: Serologic Markers of Hepatitis B virus infection, Sem Liv Dis., 6(1): 1, 1986.
3. Dudley, F.J. Fox, R. A., Sherlock, S.: Cellular immunity and hepatitis associated antigen liver disease, Lancet, r: 743, 1972.
4. Thomas, H. C., Lok, A. S. F.: The immunopathology of autoimmune and hepatitis B virus-induced chronic hepatitis, Semin. Liver Dis., 41: 347, 1984.
5. Mackay, I. R.: Immunological aspects of chronic active hepatitis, Hepatology, 3: 724-28, 1983.
6. Fukusata, T., Gerber, M. A., Ferrone, S., et al: Expression of HLA Class I antigens on hepatocytes in liver disease, AJP, 123: 264-70, 1986.

7. Montano, L., Hiescher, G. C., Goodall, A. H., et al: Hepatitis B virus and HLA antigen display in the liver during chronic hepatitis B virus infection, *Hepatology*, 2: 557-61, 1982.
8. Chu, C. M., Shyu, W. C., Kuo, R. W., et al: HLA Class I antigen display on hepatocyte membrane in chronic hepatitis B virus infection, It's role in the pathogenesis of chronic type B hepatitis, *Hepatology*, 7: 1311, 1987.
9. Mazzili, M. C., Tarabace, S., Di Raimondo, F., et al: HLA and chronic active hepatitis, *Digestion*, 15: 278-285, 1977.
10. Eddmleston, A. L. W. F., Willims, R.: Inadequate antibody response to HBsAg or supressor T cell defect in developlent of active chronic hepatitis, *Lancet* ii: 1543-45, 1974.
11. Galbraith, R. M., Eddleston, A. L. W. F.y Williams, R., et al: Enhanced antibody response in active chronic hepatitis: relation to HLA-B8 and HLA-B12 and porto-systemic shunting, *Lancet*, i: 67-8, 1977.
12. Lindberg, J., Kaijser, B., Lindholm, A., et al: Humoral immunoreactivity in chronic active hepatitis: Relation to HLA antigens, *Int Archs Allergy Appl Immun*, 58: 75-81, 1979.
13. Stites, D. P., Stobo, J. D., Vivian Wells, J.: Basic and Clinical immunology, Appleton and Lange, Norwalk, 1987, p. 50-65.
14. Daniel, P. S., Abbo, I. T., Basic and Clinical Immunology, Appleton and Lange, Norwalk, 1991, p. 45-61.
15. Albert, E. D., Baur, M. P., Mayr, W. R.: Histocompatibility testing, 1984, Springer, Verlag, 1984.
16. Ferrone, S., Selheim, B. G.: HLA typing: Methodology and Clinical Aspects, CRC Press, 1982, I and II.
17. Drenes, H. P., Hutteroth, T.y Hess, G., et al: Immunoelectron microscopic observations in the inflammatory infiltrates and HLA antigens in hepatitis B and Non-A, Non-B, *Hepatology*, 7 (6): 1317-25, 1985.
18. Patterson, M. J., Houriani, M. R., Mayor, G. H.: HLA antigens and hepatitis B virus, *N Engl J Med*, 297: 1124, 1977.
19. Mota, A. H., Fainbow, H., Terg, R., et al: Association of chronic active hepatitis and HLA-B35 in patients with hepatitis B virus, *Tissue Antigens*, 30: 238-40, 1987.
20. Penner, E., Garahner, G., Dittrich, H., et al: HLA antigens in HBsAg positive chronic active hepatitis, *Tissue Antigens*, 10: 63-74, 1977.
21. Mackay, I. R.: Genetic aspects of immunologically mediated liver disease, *Seminars in Liv Dis*, 4(1): 13-24, 1984.
22. Freudenberg, J., Baumann, H., Arnold, W., et al: HLA in different forms of chronic active hepatitis, *Digestion*, 15: 260-70, 1977.
23. Zong-Pang, F., Hui-fen, C.: The relationship of clinical type of hepatitis B to human leucocyte, *Ch Med J*, 98 (3): 187-190, 1985.
24. Giani, G., Chraramonte, M., Venturi Pasini, C., et al: Hepatitis B surface antigenemia and HLA antigens, *N Engl J Med*, 297: 1056, 1977.