

Marzena Drozd-Dąbrowska¹, Maria Gańczak¹, Ewa Karpińska²

CONCERNS RELATED TO CCR5 GENE DELTA 32 MUTATION ROLE IN HEPATITIS B VIRUS INFECTION

WĄTPLIWOŚCI ZWIĄZANE Z ROLĄ MUTACJI DELTA 32 GENU CCR5 W ZAKAŻENIU WIRUSEM ZAPALENIA WĄTROBY TYPU B

¹Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Zakład Epidemiologii i Zarządzania

²Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Klinika Chorób Zakaźnych, Hepatologii i Transplantacji Wątroby

ABSTRACT

STUDY OBJECTIVE. A literature review to analyze potential evidence regarding the influence of $\Delta 32$ CCR5 gene mutation on resistance to/clinical recovery from HBV infection.

METHODS. Literature search, covering the period 1996-2017, was performed using Medline. Comparative between-studies analysis was conducted with regard to reliability as well as statistical and clinical significance of results.

RESULTS. Data on the influence of $\Delta 32$ CCR5 mutation on the course of HBV infection are sparse and results obtained in various scientific studies are not consistent. As the example, heterozygosity for CCR5/CCR5 $\Delta 32$ in healthy Iranian blood donors was greater than in cases with chronic HBV infection; in the American study on Caucasian subjects who had been infected with HBV CCR5 $\Delta 32$ reduced the risk of developing a persistent HBV infection by nearly half. Conversely, the Indian study revealed that heterozygosity for CCR5/CCR5 $\Delta 32$ was more often present in patients with chronic hepatitis B than in healthy controls. However, there were some methodological errors found in previously published studies such as limited sample size and/or incorrect selection of controls; this could influence the fact that results were not heterogeneous.

CONCLUSIONS. The evidence for potential association of CCR5 gene $\Delta 32$ mutation on HBV infection in regard to the resistance to HBV infection or recovery from an HBV infection are insufficient. Previously conducted studies presented the lack of results' consistency, possibly due to between-population differences in the context of genetic determinants, ethnic and geographical origin, as well as methodological errors. There is an urgent need to conduct further, methodologically correct studies on larger populations from different regions, including Polish subjects.

Keywords: *HBV infection, CCR5, CCR5 $\Delta 32$, mutation, frequency*

STRESZCZENIE

CEL PRACY. Analiza piśmiennictwa pod kątem dowodów na powiązanie między występowaniem mutacji $\Delta 32$ genu CCR5 a odpornością na zakażenie HBV/prawdopodobieństwem wyzdrowienia klinicznego po zakażeniu.

MATERIAŁ I METODY. Materiał badawczy stanowiły dane z piśmiennictwa zgromadzone w bazie MEDLINE w latach 1996-2017. Analizy porównawcze przeprowadzono pod kątem wiarygodności i statystycznej/klinicznej istotności wyników.

WYNIKI. Przeprowadzono dotychczas niewiele badań epidemiologicznych dotyczących wpływu mutacji CCR5 $\Delta 32$ na przebieg zakażenia HBV, a uzyskane wyniki nie są spójne. Dla przykładu, w badaniu przeprowadzonym wśród Irańczyków zaobserwowano, że heterozygoty CCR5 $\Delta 32$ występowały istotnie statystycznie częściej u zdrowych krwiodawców w porównaniu z chorymi z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu B, zaś badanie przeprowadzone w USA wśród pacjentów rasy kaukaskiej zakażonych HBV wykazało, że heterozygoty CCR5 $\Delta 32$ miały dwukrotnie większą szansę uzyskać wyzdrowienie kliniczne w porównaniu do osób, nieposiadających tej delecji. Odmiennie wyniki uzyskano badając populację hinduską: heterozygoty CCR5

Δ32 występowały istotnie statystycznie częściej u przewlekle zakażonych HBV w porównaniu do zdrowych. Opublikowane badania zawierały jednak błędy metodologiczne pod postacią zbyt małej liczebności badanej próby i/lub niewłaściwego doboru grup badanych, co mogło wpływać na niejednorodność uzyskanych wyników. **WNIOSKI.** Dowody na istnienie powiązania między mutacją Δ32 genu CCR5 a zakażeniem HBV, wskazujące na większą odporność na zakażenie lub ochronny efekt w odniesieniu do wyzdrowienia klinicznego są niewystarczające. Brak spójności uzyskanych wyników może być związany z różnicami badanych populacji w kontekście ich uwarunkowań genetycznych, pochodzenia etnicznego i geograficznego oraz uchybieniami w stosowanych metodach badawczych. Konieczne wydaje się przeprowadzenie dalszych, poprawnych metodologicznie badań na dużych grupach pacjentów z różnych populacji, także z populacji polskiej.

Słowa kluczowe: zakażenie HBV, CCR5, CCR5 Δ32, mutacja, częstość

INTRODUCTION

Hepatitis B virus (HBV) is one of the most widespread infections in the world. According to current data, up to 2 billion people, that is one-third of the world's population, have evidence of a past HBV infection, or are currently HBV infected. Around 240 million, which is 3.6% of the world's population, is chronically infected with HBV. This means that HBs antigen (HBsAg) is present within the serum of the individual for a period greater than 6 months. Around 600,000 people die annually as a result of complications associated with an HBV infection, this being in the main due to decompensated cirrhosis or hepatocellular carcinoma (1).

The prevalence of chronic HBV cases varies from country to country. There are 3 epidemic zones, made up of low, intermediate or high HBV prevalence areas. In 2014 there were 2763 new cases of hepatitis B with an incidence rate of 7.18 per 100,000 (2).

HBV infection features vary in their clinical manifestation, as well as in symptoms severity, both in chronic and acute cases, from asymptomatic carriers, through mild forms to serious life-threatening fulminant hepatitis and to chronic liver failure. Although research has been carried out for over a century, the contributors to the poor clinical response have yet to be clearly defined. The results of previous research have pointed out that the HBV infection outcome is dependent on the host's immune system in the main, based on data that revealed that nearly 95% of infected newborns result in chronic HBV infection, while this number is only 3-5% among adults (3).

Cell response plays a major role in the response to HBV infection, and is composed of natural killer cells (NK), T cytotoxic lymphocytes, dendritic cells and macrophages. These cells have protein CCR5 receptors for RANTES chemokines (regulated on activation, T-expressed and secreted), MIP-1α and MIP-1β (macrophage inflammatory protein). The chemokines connect to the CCR5 receptors to activate immune cell migration. Therefore, it is possible that the CCR5 receptors play a vital role in immunological response during an infection (4,5).

WSTĘP

Zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu B (HBV) jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych zakażeń na świecie. Według aktualnych danych aż 2 miliardy osób, czyli jedna trzecia mieszkańców globu, miała immunogeny kontakt z wirusem i była lub jest zakażona HBV. Obecnie około 240 milionów, czyli 3,6% populacji globu jest przewlekle zakażonych HBV. Oznacza to, iż w surowicy krwi tych osób stwierdza się dodatni antygen HBs (HBsAg) przez okres dłuższy niż 6 miesięcy. Na skutek powikłań związanych z zakażeniem HBV corocznie umiera około 600 tysięcy osób, głównie z powodu pozapalnej marskości wątroby oraz raka wątrobowokomórkowego (HCC) (1).

W zależności od procentowego odsetka przewlekle zakażonych HBV w stosunku do ogólnej liczby mieszkańców danego regionu, powierzchnię naszego globu można podzielić na 3 obszary epidemiczne: o wysokim, średnim i niskim stopniu zakażeń HBV.

W Polsce, która należy do rejonów o średniej endemiczności zakażeń HBV, w 2014 roku zarejestrowano ogółem 2763 nowe przypadki wirusowego zapalenia wątroby typu B (wzw B); zapadalność wynosiła 7,18 na 100 tys. mieszkańców (2).

Zakażenie HBV cechuje się różnorodnością przebiegu klinicznego i nasileniem objawów zarówno w fazie przewlekłej zakażenia, jak i w fazie ostrej: od bezobjawowych, łagodnych postaci do ciężkich zagrożających życiu. Przyczyny tego stanu rzeczy nie są do końca poznane, pomimo badań prowadzonych od ponad pół wieku. Większość danych wskazuje na to, iż odpowiedź na zakażenie HBV zależy głównie od układu odpornościowego gospodarza, o czym może świadczyć fakt, że 95% zakażonych noworodków ulega przewlekłemu zakażeniu, w porównaniu do 3-5% osób zakażonych w dorosłym wieku (3).

W odpowiedzi na zakażenie HBV główną rolę odgrywa odporność komórkowa. Wchodzące w jej skład komórki NK (*natural killers*), limfocyty T cytotoksyczne, komórki dendrytyczne i makrofagi posiadają receptory białkowe CCR5 dla chemokin RANTES (*regulated on activation, T-expressed and secreted*), MIP-1α oraz

The CCR5 receptor gene is located on the short arm of chromosome 3 (3p21.31). There are a number of CCR5 gene polymorphisms. Mutation in the guise of a CCR5 deletion $\Delta 32$ results in the creation of a non-functional receptor or a decrease in its expression on the surface of the immunological response cells. This polymorphism, known to be associated with susceptibility to infectious and inflammatory diseases, such as osteomyelitis, pre-eclampsia, systemic lupus erythematosus, juvenile idiopathic arthritis, rheumatoid arthritis (6).

Previous publications have shown the vital role of CCR5 as a co-receptor for the HIV virus and its entrance to lymphocytes T CD4+. The presence of the CCR5 co-receptor on the surface of these helper lymphocytes is crucial for HIV to enter cells and cause infection. The presence of CCR5 deletion $\Delta 32$ is connected with a resistance to HIV-1. In homozygous carriers of a mutant allele of CCR5 $\Delta 32/\Delta 32$ there is no risk of infection, while in the case of heterozygous CCR5 wild type/ $\Delta 32$ the risk of infection is significantly lowered (7,8).

It has been suggested that the CCR5 receptor might also play a role in other viral infections, such as influenza, CMV, HSV1 infections or in chronic hepatitis C (4).

Initial study results indicate that it may be possible that a CCR5 $\Delta 32$ mutation could modify an immunological response after vaccination against hepatitis B. In a study carried out by *Ganczak et al.* a statistically significant difference in anti-HBs titres between $\Delta 32/\Delta 32$ homozygotes and other CCR5 genotypes were found in patients one month after the third dose of hepatitis B vaccine was administered (9).

The study objective was a literature review to analyze any potential evidence regarding the influence of the CCR5 $\Delta 32$ mutation on resistance to HBV or clinical recovery from HBV infection.

The study objectives was a literature review to analyze potential evidence regarding the influence of $\Delta 32$ CCR5 gene mutation on resistance to HBV or clinical recovery from HBV infection.

MATERIALS AND METHODS

The authors compared CCR5 $\Delta 32$ frequency, both worldwide and within Poland. In addition a comparison of study outcomes was carried out to identify associations between this mutation and resistance to HBV or clinical recovery from HBV infection. Eighteen research papers were found on the frequency of CCR5 $\Delta 32$ mutation from Poland and from the rest of the world, 3 were excluded due to the small population size or repetitions found within the articles concerning the same population. With

MIP-1 beta (*macrophage inflammatory protein*). Chemokiny te, łącząc się z receptorami CCR5, pobudzają komórki i aktywują ich migrację. Dlatego podejrzewa się, że receptor CCR5 odgrywa ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej podczas zakażenia (4,5).

Gen dla receptora CCR5 znajduje się na krótkim ramieniu chromosomu 3 (3p21.31). Gen ten cechuje się występowaniem polimorfizmów. Mutacja pod postacią delecji CCR5 $\Delta 32$ skutkuje powstaniem niefunkcjonalnego receptora lub obniżeniem jego ekspresji na komórkach odpowiedzi immunologicznej. Uważa się, że ten polimorfizm odgrywa rolę w kształtowaniu odpowiedzi na zakażenie, a także w przebiegu niektórych chorób o podłożu zapalnym, jak zapalenie szpiku, toczeń układowy, młodzieńcze czy reumatoidalne zapalenie stawów (6).

Wcześniejsze publikacje pokazują istotną rolę receptora CCR5 jako ko-receptora dla wirusa HIV i jego wejścia do limfocytów T CD4+. Obecność ko-receptora CCR5 na powierzchni limfocyta pomocniczego jest konieczna, aby wirus HIV mógł wniknąć do wnętrza komórki i wywołać zakażenie. Występowanie delecji CCR5 $\Delta 32$ jest związane z opornością na zakażenie HIV-1. Oporność ta może być całkowita u homozygot $\Delta 32/\Delta 32$ i nie istnieje wtedy ryzyko zakażenia, bądź też częściowa u heterozygot $\Delta 32$, gdzie to ryzyko jest znacznie zmniejszone (7,8).

Istnieją doniesienia, że receptor CCR5 może odgrywać rolę także w innych zakażeniach wirusowych, na przykład wirusem grypy, cytomegalii, opryszczki, czy HCV (4).

Wstępne wyniki badań wskazują na możliwość wpływu występowania mutacji CCR5 $\Delta 32$ na odpowiedź immunologiczną po szczepieniu przeciwko HBV. W badaniach *Gańczak i wsp.* stwierdzono, że miesiąc po trzeciej dawce szczepionki przeciw HBV w surowicy osób będących homozygotami CCR5 $\Delta 32$ istotnie częściej nie wykrywano ochronnego miana przeciwciał anti-HBs (9). Ponieważ w odniesieniu do roli mutacji $\Delta 32$ genu CCR5 w kształtowaniu odporności na zakażenie HBV czy prawdopodobieństwa wyzdrowienia klinicznego po zakażeniu tym wirusem wyniki badań nie są jednoznaczne, celem pracy była krytyczna analiza piśmiennictwa dotyczącego tych zagadnień.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem analizy było zestawienie częstości występowania mutacji CCR5 $\Delta 32$ na świecie i w Polsce oraz porównanie wyników badań, dotyczących związku tej mutacji z występowaniem przewlekłego zakażenia HBV czy też prawdopodobieństwem wyzdrowienia klinicznego po zakażeniu. Analizę przeprowadzono w oparciu o anglojęzyczną literaturę dostępną w bazach Medline i Science Direct z lat 1996 - 2017. Do wyszukiwania użyto następujących haseł: HBV infection, CCR5, $\Delta 32$, frequency. Znalaziono 18 artykułów na temat częstości występowania mutacji CCR5 $\Delta 32$ na świecie i w Polsce,

regard to the relationship between the CCR5 Δ 32 mutation and HBV infection or clinical recovery from this infection, 31 publications were found, but only 6 fulfilled the research question. These publications presented a description of observational studies; due to their small number, all were included in the analysis, regardless of methodology.

RESULTS

CCR5 Δ 32 mutation distribution

A number of studies demonstrated that Δ 32 deletion in exon 1 (Δ 32 mutation) demonstrates polymorphism among different ethnic groups and populations from various geographical areas. The frequency of this mutation in the European population is 5-14% (the highest being in the Nordic population, the lowest being found in the south-east Mediterranean region), while it is rare among African and Asian populations (8,10); the frequency was identified in 10-15% of Caucasians (11). It has been suggested that the CCR5 Δ 32 mutation was spread with the Vikings (12), hence its frequency is highest in northern European countries, such as: Denmark–12.9%, Sweden 12.7%, Great Britain 12.3%, Lithuania–11.5%, with a declining trend in the south of the continent, for example: Bosnia and Herzegovina–9.5%, Croatia–7.1%, Spain–7.0%, Italy–5.0%, Serbia 4.6% (13,14). In the south-west part of Germany CCR5 Δ 32 frequency accounts for 9.2% of the population, 10.8% in Russia, 10.8% in the Czech Republic and 14.4% in Slovakia (13,15,16).

In Poland, the largest survey which considered CCR5 Δ 32 distribution in the population was carried out by *Jagodziński et al.* in 2000. The study determined the frequency of CCR5 Δ 32 mutation among 861 healthy blood donors from 16 provinces in Poland, with the mean frequency of 10.9%. The mutation occurred more frequently in eastern and western provinces and the least often – in the central part of the country (17). Other studies, which were conducted in 2008-2009, show the frequency homozygote alleles Δ 32/ Δ 32 in the West Pomeranian Region at 0.8-5.0% (3,9,18,19).

The mutation is less prevalent outside Europe, low frequencies of CCR5 Δ 32 were reported among the inhabitants of Brazil–4-5.4%, Iran–1.5-4%, Tunisia–1.3-3.8%, Jordan–0.6-2.7% and the United Arab Emirates–0.2%. No homozygotes Δ 32/ Δ 32 were found in the majority of these countries (6,20,21,22,23). In the study by *Zare-Bidaki et al.*, concerning the Iranian population, significant differences in the frequency of CCR5 Δ 32 mutation were found in relation to the examined groups (patients with different illnesses) and to the regions (23).

CCR5 Δ 32 mutation was not found within the populations of Cameroon and Korea. In China a different

3 odrzucono ze względu na małą liczbę badanych lub powtarzające się dane, dotyczące tej samej populacji. W temacie związku polimorfizmu genu CCR5 z zakażeniem HBV i klinicznym wyzdrowieniem po tym zakażeniu znaleziono 31 artykułów, z których tylko 6 odpowiadało na postawione pytanie. Publikacje te przedstawiały opis badań obserwacyjnych; ze względu na niewielką ich liczbę do analizy włączono wszystkie badania, bez względu na zastosowaną metodologię.

WYNIKI

Rozpowszechnienie mutacji CCR5 Δ 32

Badania pokazały, że delecja 32 nukleotydu w exonie 1 genu kodującego CCR5 (mutacja CCR5 Δ 32) wykazuje polimorfizm w różnych grupach etnicznych i w populacjach różnych rejonów geograficznych. Występuje u 5–14% Europejczyków (najczęściej w populacji norwedgej, najrzadziej wśród mieszkańców południowo-wschodniego regionu basenu Morza Śródziemnego), ale rzadko u Afrykanów i Azjatów (8,10). Została zidentyfikowana u około 10-15% osób rasy kaukaskiej (11). Istnieje teoria mówiąca, że mutacja CCR5 Δ 32 rozprzestrzeniła się wraz z Wikingami (12), dlatego jej częstość jest największa w krajach północnej Europy, jak: Dania, gdzie wynosi 12,9%, Szwecja 12,7%, Wielka Brytania 12,3%, Litwa 11,5%, z tendencją malejącą w krajach położonych na południu kontynentu, na przykład: Bośnia i Hercegowina – 9,5%, Chorwacja 7,1%, Hiszpania 7%, Włochy 3-5%, Serbia 4,6%, Cypr 2,8%, Grecja 2,4% (13,14). W południowo-zachodniej części Niemiec częstość CCR5 Δ 32 wynosi 9,2%, w Rosji 10,8%, w populacji Czech 10,8%, Słowacji 14,4% (13,15,16).

W populacji polskiej największe badanie dotyczące rozpowszechnienia mutacji CCR5 Δ 32 przeprowadzili *Jagodziński i wsp.* w 2000 roku. Zbadano w nim występowanie mutacji CCR5 Δ 32 wśród 861 zdrowych dawców krwi ze wszystkich województw, obliczając średnią jej częstość dla Polski na poziomie 10,9%. Mutacja występowała częściej w województwach wschodnich i zachodnich, najrzadziej - w położonych w centrum (17). Na podstawie badań przeprowadzonych w latach 2008-2009 częstość występowania homozygot CCR5 Δ 32/CCR5 Δ 32 w populacji mieszkańców województwa zachodniopomorskiego oszacowano na poziomie 0,8-5% (9,18,19).

Poza Europą mutacja nie jest tak rozpowszechniona. Niską częstość CCR5 Δ 32 stwierdzono wśród mieszkańców Brazylii–4-5,4%, Iranu–1,5-4%, Tunezji–1,3-3,8%, Jordanii–0,6-2,7% i Zjednoczonych Emiratów Arabskich–0,2%. W większości tych krajów nie stwierdzono występowania homozygot CCR5 Δ 32/CCR5 Δ 32 (6,20,21,22,23). W badaniu *Zare-Bidaki i wsp.*, dotyczącym Iranu, pokazano istotne różnice w częstości występowania mutacji CCR5 Δ 32 w zależności od badanych grup (pacjenci z różnymi schorzeniami) oraz w zależno-

frequency of this mutation, dependent on the ethnic origin of inhabitants, was reported. Single cases of CCR5 Δ 32 were found in only one of the three examined groups, in the Uyghur; in the other ethnic groups, Han and Mongol, this mutation was absent (24,25,26).

The biggest comparative study of CCR5 Δ 32 mutation frequency, covering 87 countries, was conducted by *Solloch et al.*, with 1.3 million blood samples collected from potential hematopoietic stem cell donors from Germany, Great Britain and Poland and included into the study. The country of origin was declared by the donors themselves. According to the outcomes presented in the study, the frequency of CCR5 Δ 32 mutation ranged from 16.4% in the Norwegian population to 0.0% in the Ethiopian. This mutation was the most frequent in the countries of North Europe and Asia, with a gradual decline found in South-Eastern countries, which is consistent with the results of previous studies (20).

The influence of CCR5 Δ 32 mutation on the course of HBV infection

a. The influence of CCR5 Δ 32 mutation on the virus infection

The study conducted by *Abdolmohammadi et al.* in Iran, in 2016, confirmed the influence of CCR5- Δ 32 mutation on the course of HBV infection (tab. I); 812 individuals were included in the study: 357 with HBV infection (HBsAg and PCR HBV DNA test positive) and 455 healthy blood donors (mean age – 35 years). The inclusion criteria for the control group were: HBsAg negativity, lack of renal, endocrine, autoimmune, liver and cardio-vascular disorders; 1.4% of heterozygotes and no CCR5 Δ 32 homozygotes were found in this group. There were 11.2% CCR5 wild type/ Δ 32 heterozygotes and 1.5% Δ 32/ Δ 32 homozygotes among controls. On the basis of this evidence, the authors concluded that in the Iranian population, in conjunction with the higher frequency of CCR5 Δ 32 among healthy controls, the CCR5 Δ 32 polymorphism may have a protective effect in resistance to HBV infection (27). A serious limitation of this study was to include controls with excluded persistent HBV infection, but without information regarding their potential previous contact with the virus. So it is unknown if the CCR5 Δ 32 mutation has a protective effect on resistance to HBV infection (anti-HBc total negative individuals) or on the risk of progression to a persistent form of HBV infection (anti-HBc total positive, HBsAg negative individuals).

Khorramdelazad et al. reported lack of statistically significant differences in the frequency of CCR5 Δ 32 mutation among chronic hepatitis B patients versus healthy individuals (controls) in south-east Iran (tab. I); 60 patients and 60 controls (HBsAg and HBeAg negative) were included into the research.

ści od regionu, w którym badania były prowadzone (23).

Mutacji CCR5 Δ 32 nie wykryto w populacji Kamerunu i Korei. W Chinach natomiast stwierdzono różną częstość mutacji CCR5 Δ 32 w zależności od pochodzenia etnicznego mieszkańców. Pojedyncze przypadki CCR5 Δ 32 występowały w jednej z trzech badanych grup etnicznych, to jest wśród Uyghur. W pozostałych dwóch: Han i Mongol mutacja ta nie występowała (24,25,26).

Największe porównawcze badanie częstości występowania mutacji CCR5 Δ 32, obejmujące 87 krajów, przeprowadziła *Solloch i wsp.* Do badania włączono 1,3 miliona próbek krwi, pochodzących od potencjalnych dawców szpiku z Niemiec, Wielkiej Brytanii i Polski. Kraj pochodzenia określano na podstawie deklaracji badanych osób. Według przedstawionych w badaniu wyników częstość mutacji CCR5 Δ 32 wahała się od 16,4% w populacji norweskiej do 0% u Etiopczyków. Mutacja CCR5 Δ 32 występowała najczęściej w krajach północnej Europy i Azji, z tendencją spadkową w kierunku ich południowo-wschodnich części, co jest zgodne z wynikami wcześniejszych badań (20).

Wpływ mutacji CCR5 Δ 32 na przebieg zakażenia HBV

a. Wpływ mutacji CCR5 Δ 32 na zakażenie się wirusem

W badaniu przeprowadzonym w 2016 roku w Iranie przez *Abdolmohammadi i wsp.* potwierdzono wpływ występowania CCR5 Δ 32 na przebieg zakażenia HBV (tab. I). Do badania włączono 812 osób (357 zakażonych wirusem HBV – HBsAg dodatni, dodatni test PCR HBV DNA) oraz 455 zdrowych dawców krwi (średni wiek - 35 lat). Jako kryteria włączenia do grupy kontrolnej przyjęto ujemny HBsAg, brak zaburzeń endokrynologicznych, autoimmunologicznych i sercowo-naczyniowych oraz chorób wątroby. W grupie chorych stwierdzono 1,4% heterozygot CCR5 Δ 32 i żadnej homozygoty. W grupie zdrowych było 11,2% heterozygot i 1,5% homozygot mutacji Δ 32. Na podstawie tych wyników autorzy sformułowali wniosek, że w populacji Irańczyków, w związku z wyższą częstością występowania CCR5 Δ 32 wśród zdrowych, osoby posiadające tę mutację mają większą szansę na uniknięcie zachorowania na wzv typu B (27). Poważnym ograniczeniem tego badania było włączenie do grupy kontrolnej osób, u których wykluczono co prawda przewlekłą postać zakażenia HBV, jednak nie podano informacji o ich ewentualnym wcześniejszym kontakcie z tym wirusem. Nie wiadomo zatem, czy mutacja CCR5 Δ 32 chroni przed zakażeniem HBV (osoby anti-HBc total negatywne) czy też przed rozwinięciem przewlekłej postaci zakażenia (osoby anti-HBc total dodatnie, HBsAg ujemne).

Khorramdelazad i wsp., badając mieszkańców południowo-wschodniego Iranu, stwierdzili natomiast brak istotnych statystycznie różnic pod względem występowania CCR5 Δ 32 wśród przewlekle zakażonych

Table I. A review of epidemiological studies on the influence of a CCR5 Δ 32 mutation on HBV infection.
Tabela I. Przegląd badań epidemiologicznych dotyczących wpływu polimorfizmu CCR5 Δ 32 na przebieg zakażenia HBV.

Author (reference)	Year	Country	Number of participants	Studied group	Control group	Results/Conclusions
The influence of a CCR5 Δ32 mutation on HBV resistance						
<i>Abdolmohammadi et al.</i> (27)	2016	Iran	812	357 chronically HBV infected	455 healthy blood donors (negative HBsAg)	CCR5 Δ 32 homozygote was not found in any of the HBV infected, there were in 7 healthy people (1,5%). Heterozygotes were found In 5 HBV infected individuals (1.4%) vs 51 healthy (11.2%); p<0.03. Individuals with CCR5 Δ 32 were more resistant to HBV infection.
<i>Khorramdelazad et al.</i> (28)	2013	South-East Iran	120	60 chronically HBV infected	60 healthy individuals	CCR5 Δ 32 mutation was not found in any of the HBV infected, there were 3 CCR5 Δ 32 heterozygotes in the healthy group. There was a lack of statistically significant differences among the studied groups.
<i>Suneetha et al.</i> (29)	2006	India	622	214 chronically HBV infected	408 healthy individuals	CCR5 Δ 32 heterozygotes were significantly more frequent among those infected with HBV than among healthy individuals. No homozygotes.
The influence of the CCR5 Δ32 mutation on clinical recovery						
<i>Safari et al.</i> (30)	2013-2014	East Iran	180	60 chronically HBV infected	120 individuals who recovered from HBV	No homozygotes CCR5 Δ 32 found among cases. 1 heterozygote Δ 32 found among controls.
<i>Thio et al.</i> (11)	2006	USA, Caucasians	526	190 chronically HBV infected	336 individuals who recovered from HBV	CCR5 Δ 32 heterozygotes significantly more frequent among those who had recovered from HBV infection than those without this deletion.
<i>Ahn et al.</i> (25)	2006	Korea	698	349 chronically HBV infected	106 not HBV infected; 243 individuals, who recovered from HBV	CCR5 Δ 32 mutation was not found in any of the studied individuals.

The controls were matched according to age, sex and socio-economic status. The CCR5 Δ 32 mutation was not found among chronically infected, while there were three CCR5 wild type/ Δ 32 heterozygotes (1.0%) among controls. Statistically significant between-group differences were not found in this study, probably due to the low number of participants and small fraction of individuals presenting the mutation. However, the authors emphasize the low CCR5 Δ 32 mutation frequency in the south-east Iranian population (28).

HBV i zdrowych (grupy kontrolnej) (tab. I). Do badania włączyli 60 pacjentów z przewlekłym zakażeniem HBV i 60 osób zdrowych, niezakażonych HBV (HBsAg oraz HBe Ag ujemne). Osoby z grupy kontrolnej dobrano parami pod względem wieku, płci i statusu socjo-ekonomicznego. W grupie badanej mutacja CCR5 Δ 32 nie występowała, natomiast znaleziono trzy osoby (1%) w grupie zdrowych, które były heterozygotami CCR5 Δ 32. Stwierdzona różnica nie była istotna statystycznie, prawdopodobnie ze względu na małą liczbę

Different results have been found in India by *Suneetha et al.* (Tab. I). The frequency of CCR5 wild type/ Δ 32 heterozygosity was significantly higher among chronic hepatitis B patients in comparison to healthy controls: 9 (4.2%) vs 3 (0.73%). There were 214 chronic hepatitis B patients (confirmed by histological examination, HBsAg positive for more than six months, quantitative HBV DNA test positive) and 408 age- and sex-matched healthy controls without previous liver disease and HBV/HCV-negative (29).

b. The influence of CCR5 Δ 32 mutation on the clinical recovery

The last published study concerning the influence of the CCR5 Δ 32 mutation on clinical recovery from HBV infection, is a case-control study, conducted within the East Iranian population by *Safari et al.* (Tab. I). Sixty patients with chronic HBV infection were compared in terms of CCR5 Δ 32 frequency to 120 individuals who had recovered from an HBV infection ((HBsAg negative, anti-HBc positive). Among the study participants no CCR5 Δ 32 homozygote was found; only one CCR5 Δ 32 heterozygote was found in the control group (30).

A study carried out by *Thio et al.* (Tab. I) on American Caucasians showed that CCR5 Δ 32 heterozygote had twice the chance to eliminate HBV than in comparison to those without this mutation (OR=1.9). This study included 526 men (median age of 31.5 years), where each person with HBV persistence was matched to two individuals who had recovered from an HBV infection; 69% of participants were HIV positive. Eight out of nine patients who were homozygous for CCR5 Δ 32 mutation recovered from an HBV infection (OR=0.25). The result was statistically insignificant and was probably due to the low number of homozygotes in the sample (11).

In the Korean study conducted by *Ahn et al.*, three cohorts were investigated: 349 "chronic carriers", 243 "spontaneously recovered" and 106 "unexposed" (Tab. I). CCR5 Δ 32 mutation was not found in any of individuals but interestingly, another CCR5 polymorphism (59029G/CCR5 59353T) was found which might be related to the HBV virus elimination by infected patients (25). This is in line with the results of the previous study carried out by *Chang et al.* conducted among individuals who recovered from HBV infection (HBsAg negative, anti-HBc total and anti-HBs positive) and chronic hepatitis B patients (HBsAg and anti-HBc total positive, anti-HBs negative) (31).

DISCUSSION

In summary, epidemiologic studies regarding the influence of a CCR5 Δ 32 mutation on HBV infection resistance or the elimination of this virus (clinical recovery from HBV infection) are rather scant or

badanych oraz mały odsetek osób z mutacją. Autorzy podkreślają jednak, iż w populacji południowo-wschodniego Iranu CCR5 Δ 32 występuje z niewielką częstością (28).

Odmienne wyniki uzyskali w Indiach *Suneetha i wsp.* (tab. I). W swoim badaniu stwierdzili, że heterozygoty CCR5 Δ 32 występowały istotnie statystycznie częściej u osób przewlekle zakażonych HBV w porównaniu do zdrowych (grupy kontrolnej): 9 (4,2%) vs 3 (0,73%). W grupie badanej było 214 osób z przewlekłym HBV (potwierdzonym histologicznie, z dodatnim HBsAg, utrzymującym się powyżej 6 miesięcy i wykrywalnym HBV DNA), a w grupie kontrolnej 408 zdrowych, u których wykluczono wcześniejsze choroby wątroby oraz zakażenie HBV i HCV. Osoby z obu grup były dobierane parami pod względem wieku i płci (29).

b. Wpływ mutacji CCR5 Δ 32 na wyzdrowienie kliniczne

Ostatnio opublikowanym badaniem na temat wpływu CCR5 Δ 32 na wyzdrowienie kliniczne w zakażeniu HBV jest badanie kliniczno - kontrolne, przeprowadzone przez *Safari H i wsp.* w populacji wschodniego Iranu (Tab. I). Porównano pod względem częstości występowania mutacji CCR5 Δ 32 60 osób z przewlekłym zakażeniem HBV (HBsAg dodatni > 6 miesięcy) oraz 120 osób z przebyłym zakażeniem HBV (HBsAg ujemny, anti-HBc dodatnie). Wśród uczestników badania nie wykryto żadnej homozygoty CCR5 Δ 32 i tylko jedną heterozygotę CCR5 Δ 32 w grupie kontrolnej (30).

Badanie *Thio i wsp.* (Tab. I) na osobach rasy kaukaskiej mieszkających w USA pokazało, że w odniesieniu do pacjentów zakażonych HBV heterozygoty CCR5 Δ 32 miały dwa razy większą szansę uzyskać wyzdrowienie kliniczne w porównaniu do osób, które tej delecji w genie CCR5 nie posiadały (OR=1,9). Badanie przeprowadzono na 526 mężczyznach (mediana wieku 31,5 roku), gdzie jednej osobie przewlekle zakażonej HBV przyporządkowano dwie, u których po zakażeniu HBV uzyskano wyzdrowienie kliniczne, przy czym 69% badanych było zakażonych HIV. Z dziewięciu osób, które były homozygotami CCR5 Δ 32 osiem wyzdrowiało z zakażenia HBV (OR=0,25). Najprawdopodobniej ze względu na małą liczebność homozygot w próbie wynik nie był istotny statystycznie (11).

W badaniach koreańskich, przeprowadzonych przez *Ahn i wsp.* badano trzy kohorty: 349 osób z przewlekłym zakażeniem HBV, 243 osoby, które przebyły zakażenie HBV i 106 osób, które nigdy nie były zakażone HBV (Tab. I). U żadnego z badanych nie stwierdzono mutacji CCR5 Δ 32, ale interesujące jest to, że według autorów inny polimorfizm CCR5 (59029G/CCR5 59353T) może być związany z eliminacją wirusa u pacjentów zakażonych HBV (25). Wniosek ten jest zgodny z wcześniej-

controversial. Some of these studies suffer from methodological errors, which may be an additional factor influencing the differences observed in results obtained by the authors.

The influence of a CCR5 Δ 32 mutation on HBV resistance

While planning epidemiologic studies, an accurate recruitment of cases and controls remains essential. From a methodological perspective, to compare the newly infected and healthy individuals would be the best approach regarding surveys which determine the influence of a CCR5 Δ 32 mutation on HBV infection susceptibility. A selection which includes only chronic hepatitis B cases tends to exclude infected individuals with clinical recovery from HBV infection, as well as patients who died due to a number of complications. Assuming the protective effect of the CCR5 Δ 32 mutation on clinical recovery from HBV infection, such a selection of cases would possibly result in excluding a large number of individuals with this mutation from the study. However, it should be pointed out that any inclusion of newly HBV infected individuals (e.g. anti-HBc IgM positive) may be difficult due to asymptomatic infections, which are quite common.

In addition, the studies suffered from a selection bias regarding controls. Individuals were recognized as healthy due to their HBsAg negativity (e.g. selected blood-donors) or selection criteria for controls were not clear (only a general statement that "HBV infection have been excluded"). Of note, a control group which includes individuals recognized as healthy on the basis of their HBsAg negativity is perceived as less adequate. HBsAg negativity in controls may indicate a lack of current infection. However, it does not differentiate between those who have recovered from HBV (the clinical recovery), and those who have never been infected.

Selection bias presented in the studies refers not only to controls but also cases. These two aspects do not allow epidemiologists to correctly determine the cause-and-effect association between the CCR5 Δ 32 mutation and the probability of HBV infection.

The low frequency of the CCR5 Δ 32 mutation creates another serious problem, possibly influencing the number of surveys which remains relatively small. The frequency of this mutation differs regarding various populations, geographic locations and ethnic groups; however, generally it is relatively rare. Therefore, to obtain statistically significant results, a large sample (preferably including a few thousand participants) would need to be planned, with a subsample of several dozen individuals with the CCR5 Δ 32 mutation. Of note, no CCR5 Δ 32 mutation in either the patient or control group has been reported in a number

szym badaniem *Chang i wsp.*, przeprowadzonym na 377 osobach, przydzielonych do dwóch grup: pacjentów, którzy samoistnie wyeliminowali HBV (HBsAg ujemny, anti-HBc dodatnie, anti-HBs dodatnie) oraz przewlekle zakażonych HBV (HBsAg dodatni, anti-HBc dodatnie, anti-HBs ujemne) (31).

DYSKUSJA

Podsumowując omówione wyżej badania epidemiologiczne, dotyczące wpływu mutacji CCR5 Δ 32 na możliwość zakażenia i eliminację wirusa w zakażeniu HBV (wyzdrowienie kliniczne), należy podkreślić, że przeprowadzono ich dotychczas niewiele, a uzyskane w tych badaniach wyniki są sprzeczne. Część z omawianych badań zawiera niedoskonałości metodologiczne, co może dodatkowo wpływać na obserwowane różnice w wynikach uzyskanych przez poszczególnych autorów.

Wpływ mutacji CCR5 Δ 32 na zakażenie się wirusem

W planowaniu badań epidemiologicznych ważny jest właściwy dobór uczestników do grupy badanej i kontrolnej. W odniesieniu do badania wpływu mutacji CCR5 Δ 32 na możliwość zakażenia się HBV, najlepsze pod względem metodologicznym byłoby porównanie grupy osób nowo zakażonych HBV i grupy osób zdrowych. Zawężenie przypadków jedynie do osób przewlekle zakażonych HBV wyłącza z tej grupy osoby, które uległy zakażeniu i klinicznie wyzdrowiały oraz osoby, które zmarły z powodu powikłań, spowodowanych przez to zakażenie. Zakładając, że posiadanie mutacji CCR5 Δ 32 może mieć pozytywny wpływ na wyzdrowienie po zakażeniu HBV, taki dobór grupy przypadków spowoduje najprawdopodobniej, że nie uwzględnimy w niej znaczącej liczby osób z mutacją CCR5 Δ 32. Niemniej, należy zaznaczyć, że włączenie nowych przypadków zakażenia HBV (np. osoby anti HBc IgM dodatnie) jest trudne do zrealizowania w praktyce ze względu na częsty przebieg bezobjawowy tego zakażenia.

We wszystkich trzech analizowanych publikacjach grupę kontrolną dla osób przewlekle zakażonych HBV stanowiły osoby uznawane za zdrowe jedynie na podstawie stwierdzenia, że były HBsAg ujemne (wybrane na przykład spośród dawców krwi) lub kryteria doboru osób do grupy kontrolnej nie były jasno sprecyzowane (ogólne stwierdzenie, że wykluczono zakażenie HBV). Grupa kontrolna składająca się z osób, uznanych za zdrowe na podstawie ujemnego HBsAg jest mniej adekwatna, ponieważ samo niewykrycie antygeny HBs u osób z kontroli świadczy o braku aktualnego zakażenia HBV, nie dając jednoznacznej odpowiedzi czy są to osoby, które wyzdrowiały po zakażeniu HBV (w sensie wyzdrowienia klinicznego), czy też takie, które nigdy się z tym wirusem nie zetknęły.

of studies (25). A meta-analysis of published research would be helpful in the context of the small sample sizes observed in previous studies; it may also increase result precision. However, the heterogeneity of the populations and studied groups could be a limitation regarding studies on the CCR5 Δ 32 mutation and its influence on HBV infection recovery.

The influence of the CCR5 Δ 32 mutation on clinical recovery

A comparison of chronic hepatitis B patients and individuals who recovered from an infection (clinical recovery) would be the most credible methodology regarding a survey on a possible influence of the CCR5 Δ 32 mutation on clinical recovery. Such a comparison was done in two of the surveys which were discussed above. However, in a study conducted by *Ahn et al.* CCR5 Δ 32 homozygosity or heterozygosity was not found in any patient (25); *Safari et al.* found only one heterozygous CCR5 Δ 32 mutation in the control group (30). Therefore, on the basis of the study, conducted by *Thio et al.*, a cautious hypothesis that there is a possible association between the CCR5 Δ 32 mutation and a clinical recovery from hepatitis B could be put forward; however, it is the only study published worldwide which reported this association (11).

While discussing the results of previous studies addressing a possible association between the CCR5 Δ 32 mutation and HBV infection elimination, it should be also pointed out that the majority of individuals with a clinical recovery from HBV infection did not present this mutation. Therefore, it should be concluded that such a clinical recovery could be multifactorial. Despite genetic predisposal, most commonly polygenic, environmental factors should also be considered.

According to the results obtained by *Ahmadabadi et al.* and *Sanchooli et al.* it seems that HBV infection and CCR5 gene polymorphisms could change the CCR5 receptors' expression on several effector immune cells and influence the activation and migration of these cells to the infected liver, which may result in disturbances in the elimination of HBV (4,31).

Ahmadabadi et al. demonstrated that the lymphocytes count, including T CD8⁺, was decreased significantly in chronic hepatitis B patients in comparison to healthy controls; CCR5 expressing T CD8 cells were increased in these patients. Additionally, *Sanchooli et al.* found that CCR5 expression regarding NK and T cytotoxic cells was decreased in such patients. However, it was increased concerning T CD8⁺ cells in comparison with controls who eliminated HBV (4).

W żadnym z omawianych badań nie znajdujemy prawidłowo dobranych grup badanych ani kontrolnych, co w konsekwencji nie pozwala na wnioskowanie bezpośrednio o związku przyczynowo-skutkowym pomiędzy występowaniem mutacji CCR5 Δ 32, a prawdopodobieństwem zakażenia HBV.

Innym, ważnym problemem, mającym prawdopodobnie wpływ na małą liczbę przeprowadzonych badań, jest niska częstość występowania mutacji CCR5 Δ 32. Mutacja ta występuje z różną częstością w populacjach różniących się pod względem geograficznym i etnicznym, ale ogólnie można stwierdzić, że jest to zjawisko rzadkie. Dlatego, aby osiągnąć wyniki na poziomie istotności statystycznej, należałoby zaplanować badanie na dużej próbie (najlepiej kilku tysięcy osób), tak aby osoby z CCR5 Δ 32 stanowiły grupę co najmniej kilkudziesięciu osób. W prezentowanych badaniach osoby takie, szczególnie homozygoty, były pojedynczymi przypadkami. Zdarzały się także doniesienia, w których zwracano uwagę na zupełny brak występowania tej mutacji wśród badanych (25). Innym rozwiązaniem problemu, dotyczącego małej liczebności badanych prób byłoby przeprowadzenie metaanalizy istniejących badań i zwiększenie przez to precyzji uzyskanych wyników. Ograniczeniem może być jednak heterogenność populacji i badanych grup.

Wpływ mutacji CCR5 Δ 32 na wyzdrowienie kliniczne

W badaniu wpływu mutacji CCR5 Δ 32 na wyzdrowienie kliniczne po zakażeniu HBV najbardziej wiarygodne pod względem metodologicznym byłoby porównanie grupy osób przewlekle zakażonych HBV oraz grupy osób, które wyeliminowały zakażenie (kliniczne wyzdrowienie). Porównanie tak dobranych grup miało miejsce w omawianych badaniach, jednak w przypadku badania *Ahn i wsp.* nie stwierdzono mutacji CCR5 Δ 32 u żadnego z uczestników, a w badaniu *Safari i wsp.* tylko jedna osoba z grupy kontrolnej była heterozygotą CCR5 Δ 32. Dlatego też, na podstawie badania *Thio i wsp.* można postawić ostrożną hipotezę co do możliwego związku między częstością mutacji CCR5 Δ 32 a wyzdrowieniem klinicznym z zakażenia HBV (11).

Podsumowując przedstawione w artykule dane na temat związku mutacji CCR5 Δ 32 z eliminacją zakażenia HBV trzeba wziąć pod uwagę również fakt, że większość osób, które po zakażeniu HBV osiągnęły wyzdrowienie kliniczne nie posiadało mutacji CCR5 Δ 32. Stąd należy wnioskować, że brak przejścia w przewlekłą postać wzv B po zakażeniu HBV może być uwarunkowana wieloczynnikowo, co oznacza, że oprócz predyspozycji genetycznych, zależnych najczęściej od kilku różnych genów, pewną rolę w przebiegu tego zakażenia odgrywać mogą również czynniki środowiskowe.

CONCLUSIONS

In conclusion, previously published studies did not present evidence regarding a correlation between the CCR5 Δ 32 mutation and chronic hepatitis B. The inconsistent results observed in these studies are possibly due to differences, regarding surveyed populations and their geographic locations as well as ethnic origins, as well as an inadequate methodological approach observed in some of these studies. There is an urgent need to continue studies on a possible association between the CCR5 gene and HBV infection, as well as its clinical implications. However, future surveys should be based on numerous samples with numbers dependent on CCR5 Δ 32 frequency, with paying special attention to methodologically correct sampling.

REFERENCES

1. Stanaway JD, Flaxman AD, Naghavi M et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2016;388(10049):1081-8
2. Stępień M, Piwowarow K, Czarkowski MP. Hepatitis B In Poland In 2014. *Przegl Epidemiol* 2016;70(2):231-41
3. Trepo Ch, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2014;384(9959):2053-63
4. Sanchooli J, Sanadgol N, Kazemi Arababadi M et al. CCR5 plays important roles in hepatitis B infection. *Viral Immunol* 2014;27(1):2-6
5. Tuńbilek S. Relationship between cytokine gene polymorphisms and chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2014;20(20): 6226–35
6. Silva-Carvalho WH, de Moura RR, Coelho AV et al. Frequency of the CCR5-delta32 allele in Brazilian populations: A systematic literature review and meta-analysis. *Infect Genet Evol.* 2016;43:101-7
7. Dragic T, Litwin V, Allaway GP et al. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 1996;381:667–73
8. Samson M, Libert F, Doranz BJ et al. Resistance to HIV-1 infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996;382:722-5
9. Gańczak M, Skonieczna-Żydecka K, Drozd-Dąbrowska M et al. Possible Impact of 190G>A CCR2 and Δ 32 CCR5 mutations on decrease of the HBV Vaccine Immunogenicity – a preliminary report. *Int J Environ Res Public Health* 2017;14:166
10. Sabeti PC, Walsh E, Schaffner SF et al. The case for selection at CCR5-Delta32. *PLoS Biol* 2005;3(11):e378

Według danych z badań *Ahmadabadi i wsp.* oraz *Sanchooli i wsp.* wydaje się, że zakażenie wirusem HBV jak i polimorfizmy genu CCR5 mogą zmieniać ekspresję receptorów CCR5 na komórkach układu odpornościowego i wpływać na aktywację i migrację tych komórek do zakażonej wątroby, co w konsekwencji może utrudniać eliminację wirusa (4,31).

Ahmadabadi i wsp. stwierdzili we krwi osób z przewlekłą postacią HBV istotnie mniejszą liczbę limfocytów, w tym też limfocytów T CD8+ oraz większą liczbę receptorów CCR5 na komórkach T CD8+ w porównaniu do osób zdrowych (32). Z kolei *Sanchooli i wsp.* wykazali dodatkowo zmniejszoną ekspresję CCR5 na komórkach NK oraz limfocytach T cytotoksycznych u pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B. Natomiast ekspresja CCR5 na limfocytach CD8+ u tych samych pacjentów była wyższa niż u osób z kontroli, które wyeliminowały HBV (4). Konieczne są dalsze badania ekspresji CCR5 na różnych komórkach układu immunologicznego u zakażonych HBV, gdyż wiedza ta może przyczynić się do lepszego poznania mechanizmów, odpowiedzialnych za eliminację wirusa z hepatocytów.

WNIOSKI

Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań nie można jednoznacznie stwierdzić, że istnieje powiązanie między występowaniem mutacji Δ 32 genu CCR5 a przewlekłym zakażeniem HBV. Brak spójności uzyskanych wyników w przeprowadzonych dotychczas badaniach, dotyczących wpływu mutacji CCR5 Δ 32 na przebieg zakażenia HBV, najprawdopodobniej związany jest z różnicami badanych populacji w odniesieniu do pochodzenia etnicznego i geograficznego, a także obserwowanymi w niektórych badaniach niedoskonałościami metodologicznymi. Istnieje zatem potrzeba kontynuacji badań nad związkiem genu CCR5 z przebiegiem zakażenia HBV i jego implikacji klinicznych na dużych grupach osób, których liczba powinna być zależna od częstości występowania mutacji CCR5 Δ 32 w populacji, ze zwróceniem szczególnej uwagi na właściwy dobór uczestników.

11. Thio CL, Astemborski J, Bashirova A et al. Genetic protection against hepatitis B virus conferred by CCR5Delta32: Evidence that CCR5 contributes to viral persistence. *J Virol* 2007;81(2):441-5
12. Lucotte G. Distribution of the CCR5 gene 32-base-pair deletion in West Europe. A hypothesis about the possible dispersion of the mutation by the Vikings in historical times. *Hum Immunol* 2001;62:933-6
13. Adler G, Valjevac A, Skonieczna-Żydecka K et al. Frequency of CCR5Δ32 allele in healthy Bosniak population. *Bosn J Basic Med Sci* 2014;14(3):150-4
14. Biloglav Z, Zgaga L, Smoljanowic M et al. Historic, demographic, and genetic evidence for increased population frequencies of CCR5Delta32 mutation In Croatian Island isolates after lethal 15th century epidemics. *Croat Med J* 2009;50(1):34-42
15. Hütter G, Blüthgen C, Elvers-Hornung S et al. Distribution of the CCR5-delta32 deletion in Southwest Germany. *Anthropol Anz* 2015;72(3):303-9
16. Govorovskaya I, Khromova E, Suslova T et al. The frequency of CCRdel32 mutation in populations of Russians, Tatars and Bashkirs of Chelyabinsk Region, Russia. *Arch Immunol Ther Exp* 2016;64(1):109-12
17. Jagodzinski PP, Lecybył R, Ignacak M et al. Distribution of 32 allele of the CCR5 gene in the population of Poland. *J Hum Genet* 2000;45(5):271-4
18. Gańczak M, Bohatyrewicz A, Szych Z et al. Markers of hepatitis B, C and HIV among orthopedic patients and staff at a Polish university hospital. *Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol* 2008;73:83-8
19. Parczewski M, Leszczyszyn-Pynka M, Kaczmarczyk M et al. Sequence variants of chemokine receptor genes and susceptibility to HIV-1 infection. *J Appl Genet* 2009;50(2):159-66
20. Solloch UV, Lang K, Lange V et al. Frequencies of gene variant CCR5- Δ32 in 87 countries based on next-generation sequencing of 1.3 million individuals sampled from 3 national DKMS donor centers. *Hum Immunol* 2017, <http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2017.10.001>
21. Al-Jaberi SA, Ben-Salem S, Messedi M et al. Determination of the CCR5Δ32 frequency in Emiratis and Tunisians and the screening of the CCR5 gene for novel alleles in Emiratis. *Gene* 2013;529(1):113-8
22. Khabour OF, Abu-Haweleh LJ, Alzoubi KH. Distribution of CCR5-Δ32, CCR2-64I, and SDF-1-3A alleles among Jordanians. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2013;29(1):151-5
23. Zare-Bidaki M, Karimi-Googheri M, Hassanshahi G et al. The frequency of CCR5 promoter polymorphisms and CCR5 Δ32 mutation in Iranian populations. *Iran J Basic Med Sci* 2015;18:312-6
24. Nkenfou CN, Mekue LC, Nana CT et al. Distribution of CCR5-Delta32, CCR5 promoter 59029 A/G, CCR2-64I and SDF1-3A genetic polymorphisms in HIV-1 infected and uninfected patients in the west region of Cameroon. *BMC Res Notes* 2013;6:288
25. Ahn SH, Kim do Y, Chang HY et al. Association of genetic variations in CCR5 and its ligand, RANTES with clearance of hepatitis B virus in Korea. *J Med Virol* 2006; 78:1564-71
26. Liu Y, Liu FL, He Y et al. The genetic variation of CCR5, CXCR4 and SDF-1 in three Chinese ethnic populations. *Infect Genet Evol* 2012;12(5):1072-8
27. Abdolmohammadi R, Azar SS, Khosravi A et al. CCR5 polymorphism as a protective factor for hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus – infected Iranian Patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016; 17(10):4643-6
28. Khorramdelazad H, Hakimzadeh E, Hassanshahi G et al. CCR5 Δ 32 mutation is not prevalent in Iranians with chronic HBV infection. *J Med Virol* 2013;85(6):964-8
29. Suneetha PV, Sarin SK, Goyal A et al. Association between vitamin D receptor, CCR5, TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms and HBV infection and severity of liver disease. *J Hepatol* 2006;44:856-63
30. Safari H, Anani Sarab G, Fereidouni M et al. The CCR5-Δ32 mutation: Impact on disease outcome in individuals with hepatitis B infection in the Southern Khorasan population (east of Iran). *Hepat Mon Online ahead of Print; In Press(In Press):e55014*. doi: 10.5812/hepatmon.55014
31. Chang HY, Ahn SH, Kim DY et al. Association between CCR5 promoter polymorphisms and hepatitis B virus infection. *Korean J Hepatol* 2005;11:116-24
32. Ahmadabadi BN, Hassanshahi G, Khoramdelazad H et al. Downregulation of CCR5 Expression on the peripheral blood CD8+T cells of southwestern Iranian patients with chronic hepatitis B infection. *Inflammation* 2013;36:136-40

Received: 4.08.2017

Accepted for publication: 17.11.2017

Otrzymano: 4.08.2017 r.

Zaakceptowano do publikacji: 17.11.2017 r.

Correspondence address:

Adres do korespondencji:

dr n. med. Marzena Drozd-Dąbrowska
Zakład Epidemiologii i Zarządzania
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
71-210 Szczecin
ul. Żołnierska 48
tel. 91 48 00 965
e-mail: mdrozd@pum.edu.pl