



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**ÇOCUKLUK ÇAĞI KRONİK HEPATİT B
HASTALIĞININ KLİNİK SEYİR VE TEDAVİSİ İLE
SERUM CD 95 (FAS) VE NİTRİK OKSİD DÜZEYLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aylin KONT
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Yavuz ÇOŞKUN

Mart-2007

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**ÇOCUKLUK ÇAĞI KRONİK HEPATİT B
HASTALIĞININ KLİNİK SEYİR VE TEDAVİSİ İLE
SERUM CD 95 (FAS) VE NİTRİK OKSİD DÜZEYLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Aylin KONT
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Yavuz ÇOŞKUN**

ÖNSÖZ

Asistanlığım süresince en iyi şekilde yetişmemde emeği geçen, desteklerini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden azami olarak faydalanmamı sağlayan başta tez hocam Prof. Dr. Yavuz ÇOŞKUN olmak üzere Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ayşe BALAT, Prof. Dr. Metin KILINÇ, Prof. Dr. Ziya BAYRAKTAROĞLU, Doç. Dr. Elif GÜLER, Doç. Dr. Kutluhan YILMAZ, Yrd. Doç. Dr. Osman BAŞPINAR, Yrd. Doç. Dr. Ercan SİVASLI, Yrd. Doç. Dr. Alper DAİ, Yrd. Doç. Dr. Mithat BÜYÜKÇELİK, Yrd. Doç. Dr. Özlem KESKİN, Yrd. Doç. Dr. Mehmet KESKİN, Yrd. Doç. Dr. Ercan KÜÇÜKOSMANOĞLU, Uzm. Dr. Nilgün ÇÖL ARAZ'a ayrıca Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Tuncay DEMİRYÜREK ve Farmakoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, istatistiksel değerlendirmelerdeki özel yardımlarından dolayı Halk Sağlığı Anabilim Dalında çalışan başta Uzm. Dr. Neriman AYDIN olmak üzere tüm Halk Sağlığı Anabilim Dalı çalışanlarına, tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Uzm. T. Bio. Gülper NACARKAHYA ve Uzm. T. Bio. Serdar ÖZTUZCU' ya, katkılarını esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma ve hayatım boyunca verdiğim tüm kararlarımda bana güvenen, saygı duyan ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Aylin KONT
Gaziantep, 2007

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
KISALTMALAR.....	VI
TABLO LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. HEPATİT.....	3
2.2. HBV VİRÜSÜ.....	4
2.3. EPİDEMİYOLOJİ.....	5
2.3.1. TÜRKİYE PREVELANSI.....	6
2.3.2 . BULAŞMA YOLLARI.....	6
2.4. GENOM YAPISI.....	8
2.4.1. S GENİ.....	8
2.4.2. C GENİ.....	9
2.4.3. P GENİ.....	9
2.4.4. X GENİ.....	9
2.5. REPLİKASYON STRATEJİSİ.....	10
2.6. VİRAL PROTEİNLER.....	10
2.6.1. YÜZEY PROTEİNLER.....	10
2.6.2. KOR PROTEİNLERİ.....	11
2.6.3. P PROTEİNLERİ.....	11
2.6.4. X PROTEİNLERİ.....	12
2.7. HBV MUTANTLARI.....	12
2.7.1. YÜZEY MUTANTLARI.....	12
2.7.2. PREKOR MUTANTLARI.....	12

2.7.3. KOR MUTANTLARI.....	13
2.7.4. X MUTANTLARI.....	13
2.8. İMMÜNOPATOGENEZ.....	13
2.8.1. HLA SINIF II ANTİJENLERİNE SINIRLI T LENFOSİT YANITI.....	17
2.8.2. HLA SINIF I ANTİJENLERİNE SINIRLI T LENFOSİT YANITI.....	18
2.9. PATOGENEZ	19
2.10. KLİNİK.....	22
2.11. TANI.....	22
2.12. TEDAVİ.....	25
2.12.1. İNTERFERONLAR.....	25
2.12.2. DİĞER TEDAVİ YÖNTEMLERİ	28
2.12.2.1. ANTİVİRAL KEMOTERAPİ.....	28
2.12.2.2. İMMUNOMODÜLATÖR İLAÇLAR.....	29
2.12.2.3. KOMBİNE TEDAVİLER	29
2.13. APOPİTOZİS	30
2.13.1. VİRAL HEPATİTLERDE APOPİTOZİS	32
2.14. NİTRİK OKSİD.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
4. BULGULAR	42
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇLAR	65
7. KAYNAKLAR.....	67

ÖZET

ÇOCUKLUK ÇAĞI KRONİK HEPATİT B HASTALIĞININ KLİNİK SEYİR VE TEDAVİSİ İLE SERUM CD 95 (FAS) VE NİTRİK OKSİD DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ

Dr. Aylin KONT

Uzmanlık Tezi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. M. Yavuz ÇOŞKUN

Mart 2007, 79 sayfa

Bu çalışmanın amacı, çocuklarda kronik hepatit B enfeksiyonlarında hem inflamasyonda hem de apoptozisde rol oynadığı düşünülen nitrik oksid (NO) ve CD 95 düzeyleri incelenerek hastalık ile ilgili rolünün belirlenmesidir.

Çalışmamızda hepatit B tanısı konulan asemptomatik taşıyıcı 32 hasta (21 erkek, 11 kız) grup I olarak, kronik aktif hepatit B tanısı alan 37 hasta (25 erkek, 12 kız) grup II olarak ve herhangi bir sağlık problemi olmayan 32 hasta (18 erkek, 14 kız) kontrol grubu olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmamıza aldığımız tüm gruplar yaş, cinsiyet, hastalık süreleri, bulaş yolları, ebeveyn pozitiflikleri, 3 ayda bir ölçülen ALT, HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, antiHBe-total, serum HBV DNA değerlerini kapsayan izlemleri ile serum nitrik oksid ve CD 95 değerleri açısından incelenmiştir.

Çalışmamız sonucunda; NO ve CD 95 düzeyleri, hem grup I hemde grup II'de, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. HBsAg (+) hastalarda diğer bir ifadeyle grup I ve grup II'deki tüm hastalarda NO ve CD 95 düzeyleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da anlamlı bir yükseklik tespit edilmiştir. Grup I ile grup II arasında ise NO ve CD 95 düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. ALT' si normal olan kronik hepatit B hastaları ile ALT' si yüksek olan hastalar karşılaştırıldığında da anlamlı farklılık saptanmamıştır. HBV ile enfekte hastalardan HBeAg (-) ve HBeAg (+) olanlar arasında da NO ve CD 95 düzeyleri açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Tüm HBV'li hastalardan HBV DNA (-) ile HBV DNA (+) olanlar arasında, NO ve CD 95 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Grup II' ye dahil edilen hastalar içinde interferon ve lamuvidinden oluşan kombine tedavi alan hastalar ile tedavi almayan hastalar arasında da NO ve CD 95 düzeylerinde farklılık tespit edilmemiştir.

Çalışmamızın sonucunda kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda NO ve CD 95 düzeylerinin inflamasyon ve apoptozis ile ilişkili olarak yükseldiği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamız sonuçları itibariyle literatürdeki az sayıda çalışmaların sonuçları ile benzer olup hastalığın etiyopatogenezinin aydınlatılması ve tedaviyle ilişkilendirilmesi için bu konuda bu çalışmanın verilerini daha ileriye taşıyan araştırmaların yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: HBV, Kronik hepatit B enfeksiyonu, Apoptozis, CD 95 (FAS), Nitrik oksid

ABSTRACT

THE CORRELATION BETWEEN CLINICAL PROGNOSIS TOGETHER WITH THE TREATMENT OF CHRONIC HEPATITIS B INFECTION AND SERUM CD 95 (FAS) AND NITRIC OXIDE LEVELS IN CHILDREN

Dr. Aylin KONT

Residency thesis, Department of Paediatrics

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz COSKUN

March 2007, 79 pages

The aim of this study was to investigate the relationship between chronic hepatitis B infections in children and the serum levels of CD 95 and nitric oxide (NO), that may play an important role both in inflammation and in apoptosis.

In this study, 32 patients with, asymptomatic carrier hepatitis B (21 male, 11 female) as group I, 37 patients with chronic active hepatitis B as group II (25 male, 12 female) and 32 healthy children (18 male, 14 female) as the control group were included. All the groups were investigated in terms of age, sex, the total period of the illness, the ways of transmission, the marker positivity of the parents, ALT levels every 3 months, HBsAg, antiHBs, HBeAg, antiHBc, total plasma HBV DNA levels and also for the levels of CD 95 and NO.

As a result, we found that CD 95 and NO levels are significantly higher in the groups I and II, when compared with the control group. In HBsAg (+) patients, in another word in group I and II together, NO and CD 95 levels are significantly higher, when compared with the control group. There is no significant difference between the groups I and II for the levels of NO and CD 95. And also no significant difference, between the patients with normal and higher levels of ALT was determined. When we compared HBeAg (-) and the HBeAg (+) HBV patients, we identified that there is no significant difference between the levels of NO and CD 95. Comparison of HBV DNA (-) patients with HBV DNA (+) ones did not show statistically significant difference for NO and CD 95 levels. CD 95 and NO levels of the patients on interferon and lamivudine treatment did not differ importantly from the patients who did not take therapy.

In this study we observed that higher CD 95 and NO levels were closely related with the degree of inflammation and apoptosis. The result of our study which is similar to very few studies in the literature need to be supported by further comprehensive investigations.

Key words: HBV, Chronic hepatitis B infection, Apoptosis, CD 95 (FAS), Nitric oxide

KISALTMALAR

Anti-Hbs	: Hepatit B yüzey antijenine karşı antikor
Anti-HBc	: Hepatit B çekirdek antijenine karşı antikor
Anti-Hbe	: Hepatit B'nin "e" antijenine karşı antikor
ALT	: Alanin-amino transferaz
AST	: Aspartat-amino transferaz
APC	: Antijen sunan hücre
ANA	: Anti nükleer antikor
CD	: Cluster of differentiation
CD 95	: Apoptotik markır
CTL	: Sitotoksik T lenfositleri
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDRF	: Endotel kaynaklı serbestleştirici faktör
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
FMN	: Flavin mononükleotid
FASL	: FAS ligandı
GMP	: Guanin monofosfat
GRE	: Glucocorticoid-responsive element
GGT	: Gamaglutamiltransferaz
HBV	: Hepatit B virüsü
HBsAg	: Hepatit B yüzey antijeni
HBcAg	: Hepatit B çekirdek antijeni
HBeAg	: Hepatit B'nin "e" antijeni
HBİG	: Hepatit B immünglobulin
HBV-GF	: HBV bağlayıcı faktör
HCC	: Hepatoselüler karsinom
HCV	: Hepatit C virüsü
HDV	: Hepatit D virüsü
HLA	: İnsan lökosit antijeni
HSV	: Herpes simpleks virüs

IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
İNOS	: İndüklenebilir nitrik oksid sentetaz
LAM	: Lamuvidin
LKM-1	: Liver and kidney microsomal antigen type-1
MHC	: Majör histocompatibility complex
NK	: Natural killer
NO	: Nitrik oksid
NOS	: Nitrik oksid sentetaz
ORF	: Open reading frame
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PT	: Protrombin zamanı
RNA	: Ribonükleikasit
SLA	: Soluble liver antigen
SMA	: Smooth muscle autoantibody
s-FAS	: Soluble-FAS
TCR	: T hücre reseptörü
Th	: Helper T lenfosit
TNF	: Tümör nekrozis faktör
USG	: Ultrasonografi

TABLO LİSTESİ

	SAYFA
Tablo 1. Histolojik aktivite indeksi.....	21
Tablo 2. Kronik hepatit evrelemesi için skorlama sistemi.....	22
Tablo 3. Tedavide görülen yan etkiler ve öneriler	27
Tablo 4. Lenfositlerde apoptozu düzenleyen bazı moleküller.....	31
Tablo 5. Çalışma grupları arasında yaş dağılımı	42
Tablo 6. Gruplara göre cinsiyet dağılımı.....	42
Tablo 7. Grupların demografik ve klinik özellikleri.....	45
Tablo 8. Grup I, grup II ve kontrol grubundaki CD 95 düzeylerinin karşılaştırılması.....	46
Tablo 9. Grup I+II ve kontrol grubu arasında CD 95 değerlerinin karşılaştırılması.....	47
Tablo 10. ALT normal, ALT yüksek, HBeAg (-), HBeAg (+), HBV DNA (-), HBV DNA (+) hastaların CD 95 düzeylerinin karşılaştırılması.....	47
Tablo 11. Tedavi almayan grup ile tedavi alan grup arasında CD 95 değerlerinin karşılaştırılması.....	48
Tablo 12. Grup I, grup II ve kontrol grubunun NO düzeylerinin karşılaştırılması	49
Tablo 13. Grup I + grup II ve kontrol grubu arasında NO değerlerinin karşılaştırılması.....	49
Tablo 14. ALT normal, ALT yüksek, HBeAg (-), HBeAg (+), HBV DNA (-), HBV DNA (+) hastaların NO düzeylerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 15. Tedavi almayan grup ile tedavi alan grup arasında NO değerleri.....	50

ŞEKİL LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 1. HBsAg (+) Kronik Hepatite Yaklaşım.....	24
Şekil 2. HBsAg (-) Kronik Hepatite Yaklaşım.....	24
Şekil 3. Gruplarda CD 95 düzeyleri.....	46
Şekil 4. Gruplarda NO düzeyleri.....	48

GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik Hepatit B, hepatit B virüsünün (HBV) neden olduğu uzun süreli iltihabi karaciğer hastalığıdır. Hastalığın kendine özgü biyokimyasal, serolojik, histopatolojik ve klinik seyri vardır. HBV taşıyıcısı konumundaki kişilerde siroz ve hepatoselüler karsinom gelişme riski normal popülasyona göre 200 kat daha fazladır. Bugün için dünyada yaklaşık 400 milyon kişi HBV taşıyıcısı konumundadır. Bu yüzden HBV Dünya Sağlık Örgütüne göre tüm dünyadaki en sık rastlanan ölüm nedenleri arasında 9.sırada yer almaktadır.

Ülkemizde görülen HBV enfeksiyonlarının yaklaşık %10' u kronikleşmektedir. Bilindiği üzere çocukluk çağında kronikleşme riski oldukça fazladır. Kazanılan enfeksiyonun kronikleşmesinde kişinin humoral ve özellikle de hücreli immün sisteminin sorumlu olduğu bilinmektedir.

Apoptozis ilk kez 1973 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından "programlanmış hücre ölümü" olarak tarif edilmiş, o tarihten itibaren üzerinde en çok araştırmaların yapıldığı konulardan biri olma özelliğini kazanmıştır (1,2). Malignitelerin gelişiminden, yaşlanmaya kadar pek çok hastalığın patogenezi apoptozisin regülasyonundaki bozukluklarla açıklanmaktadır (3-6). Bu nedenle viral hepatitlerde apoptozisin erken dönemde ortaya konması, kronik viral hepatit gelişimi ve tedavisinde önemli olacaktır.

CD 95 (FAS), hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein yapıda bir reseptör olup, tümör nekrozis faktör ailesinin üyesidir ve apoptotik sinyallerin iletiminden sorumlu tutulmaktadır (2). Nitrik oksid (NO), inflamasyonda yer alan apoptozis ile ilgisi saptanan önemli bir mediatördür. Lökositlerin endotele adhezyonunda, lenfositlerin bazı fonksiyonunda, sitokin oluşumunda, mikrovasküler geçirgenlikte, eritem ve ödem oluşumunda anahtar rol üstlenmektedir (7).

Bu çalışmanın amacı, kronik hepatit B enfeksiyonlarında hastalığın klinik seyir ve tedavisi ile NO ve CD 95 düzeyleri arasındaki ilişkinin belirlenmesiyle, yıllardır üzerinde oldukça fazla tartışılan kronik hepatit B hastalığının oluş mekanizmasına

ışık tutarak geliştirilecek yeni tanı yöntemleri ve tedaviler konusunda yardımcı olabilmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. HEPATİT

Hepatit; virüslerin, toksinlerin, kimyasal maddelerin, otoimmün olayların veya bakterilerin neden olduğu karaciğer inflamasyonudur.

Klinikte görülen hepatitlerin büyük çoğunluğu virüslere bağlıdır. Viral hepatitler genellikle akut, kendi kendine düzelen bir hastalık olarak görülür. Daha az olarak ise; devam eden ya da tekrar eden hasar diffüz skar, portal hipertansiyon ve karaciğer yetmezliğine yol açabilen kronik inflamasyona neden olur (8). Hepatotropik virüsler primer olarak hepatositleri enfekte ederler. Pek çoğu tanımlanmıştır. Bilinen hepatotropik virüsler; A, B, C, D, E, G virüsleridir. Bu virüslerin hepsi akut hepatite neden olurlar. Ancak epidemiyolojileri, karaciğer hasarının spektrumu ve kronikleşme insidansı patojene göre değişir.

Hepatotropik virüsler dışında; Ebstein Barr virüs, sarı humma virüsü, citomegalavirüs, Herpes simpleks virus (HSV), enterovirüsler, kızamıkçık, adenovirüs, kızamık, influenza ve parvavirüs B19' unda hepatite neden olabileceği bilinmektedir. Ancak bu virüslerle oluşan hepatit primer özellikte değildir, klinikte görülen tablonun yalnızca bir ögesini oluştururlar (9).

Ayrıca Neisseria gonorrhoea, Leptospira gibi bakteriyel nedenler, Candida albicans gibi bazı mantar enfeksiyonları, Toxoplasma gondi gibi paraziter ajanlarda hepatit nedeni olabilirler. Mikrobiyal etkenler dışında; travma, Reye sendromu, bazı ilaçlara bağlı kimyasal toksisite, damar tıkanıklığı, galaktozemi ve alfa-1 antitripsin eksikliği, tirozinemi v.b. gibi metabolik hastalıklar da hepatite neden olabilirler (9).

2.2. HBV VİRÜSÜ

Hepatit B virüsü (HBV) hepadnaviridae ailesinin orthohepadnavirüs cinsinde yer alan hepatotropik, zarflı ve kısmen çift sarmallı bir DNA virüsüdür. Hepadnaviridae ailesi içinde insanlarda enfeksiyon oluşturan tek tür HBV' dir. 3200 nükleotidden oluşan genomik yapısı nedeni ile tüm hayvan DNA virüsleri içinde en küçük olanıdır. HBV enfekte ettiği hücrelerde birden fazla partikül oluşturması nedeniyle de farklıdır. Enfekte ettiği kişilerin serumlarının kısmen saflaştırılmış preparatlarının incelenmesi sonucunda, büyüklük, yapı ve miktar gibi özellikleri bakımından 3 farklı tipte partiküle rastlanmıştır (10):

-Dane partikülleri: Yaklaşık 42 nm (42-47nm) çapında, enfektif özellikte, tam bir viryon formunda ve küresel şekildedir.

-Küresel partiküller: Yaklaşık 22 nm (16-25 nm) çapında, içinde nükleik asit içermeyen ve infektif özelliği olmayan partiküllerdir.

-Tübüler partiküller: Yaklaşık 22 nm çapında, 50-500 nm uzunluğunda, nükleik asit içermeyen, enfektif özelliği olmayan ve replikasyonun söz konusu olduğu kişilerin serumlarında bulunan partiküllerdir.

Her üç partikül de enfekte konak serumunda yüksek miktarda saptanabilirler, Hepatit B yüzey antijenine (HBsAg) sahiptirler ve immünojeniktirler (10). Dane partikülünün dış yüzeyi yaklaşık 7-8 nm. genişlikte bir kılıf ile kaplıdır. Bu zarf, yüzey antijen protein, glikoprotein ve hücrelipidleri içerir. Viryonun iç bölümünü 27-28 nm. çapında elektron yoğun küresel nükleokapsit içerir (10). C protein nükleokapsitin temel yapı proteini. HBV'nin bu üç partikülünden enfeksiyöz olan form az üretilir. Hücre üç tipte de yüzey antijeni ortak olduğu için akut veya kronik hastaların serumlarında HBsAg düzeyi çok yüksek düzeyde gözlenirken, Dane partikül, 0,1µg/ml' yi nadiren geçer (11).

HBV serum içinde 30-32°C' de saklandığında 6 ay süre ile ve -22°C' de dondurulduğunda yıllarca enfektivitesini korur.

2.3. EPİDEMİYOLOJİ

Tek önemli rezervuarı insan olan hepatit B virüsü tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Bugün için dünyada 500 milyondan fazla Türkiye’ de ise 4 milyon insanın hepatit B’ yi taşıdığı tahmin edilmektedir (12).

Hepatit B’ ye bağlı akut hepatitlerin ortalama %10’ nun kronikleştiği ve bunların önemli bir bölümünün siroza dönüştüğü; sirozlu olgularda da hepatoselüler karsinom (HCC) gelişme riskinin oldukça yüksek olduğu bilinen bir gerçektir. Her yıl taşıyıcılardan yaklaşık %2’ sinde HBsAg’ nin spontan olarak kayb olduğu gösterilmiştir. Taşıyıcılarda HCC gelişme riski sağlıklı populusyona oranla yaklaşık 200 kat daha yüksektir (13).

Hepatit B virüsü; kronik hepatite, siroza ve HCC’ ye yol açarak her yıl dünyada yaklaşık 1 milyon kişinin ölümüne neden olmaktadır (14).

Enfeksiyonunun dünyadaki dağılımı coğrafi bölgelere, kronik HBV prevalansına, genel enfeksiyon oranına, enfeksiyonun alınma yaşına ve bulaşmanın en çok görülen yolları açısından üç farklı profil göstermektedir.

Düşük endemisite gösteren bölgelerde HBV taşıyıcılığı prevalansı %2’ nin altında olup erişkinler açısından enfeksiyonla karşılaşma oranı %20’ yi geçmez. Cinsel temas en önemli bulaşma yoludur. Ancak perinatal yada erken çocukluk dönemlerindeki bulaşma HBV taşıyıcılığının önemli kaynaklarındandır. Düşük endemisite profili; Kuzey Amerika, Kuzey ve Batı Avrupa, Avustralya, Yeni Zelanda gibi gelişmiş ülkelerde görülmektedir (15).

Orta endemisite gösteren bölgelerde HBV taşıyıcılığı prevalansı %2-10 arasındadır. Erişkinlerde enfeksiyonla karşılaşma oranı %20-60 arasındadır. En sık horizontal bulaş görülmekle birlikte diğer bulaşma yolları da enfeksiyonun yayılmasında rol alır. Orta endemisite profili; Güney ve Doğu Avrupa, Güney ve Orta Amerika, Orta Asya ile Ortadoğu’ da izlenmektedir (15).

Yüksek endemisite bölgelerinde vertikal ve horizontal yolla bulaşma sıktır. Bu bölgelerde toplumun %10’ nundan fazlası HBV ile enfektedir. Bu bölgelerdeki erişkinlerin %70’ inden fazlası daha önce geçirilmiş enfeksiyon kanıtı taşırlar. Yüksek endemisite profili; Afrika, Güneydoğu Asya, Çin ve Pasifik Adalarında sık görülmektedir (15).

2.3.1. Türkiye’de HBV Enfeksiyonu Prevalansı:

Türkiye’deki HBsAg seroprevelansı bölgeden bölgeye değişmekle birlikte %3.9-12.5 olarak belirlenmiştir (12). Bu değerler orta derecede endemisite bölgesinde olduğumuzu ve yurdumuzda yaklaşık 4-6 milyon civarında taşıyıcı olduğunu gösterir (12). Türkiye’ de çocuk yaş gruplarında HbsAg seroprevelansının incelendiği çalışmalar çok fazla yeterli olmamakla birlikte çocuklarda %2-12 oranında HBsAg pozitifliği saptanmıştır (11).

2.3.2. BULAŞMA YOLLARI:

Hepatit B virüsünün bulaşmasında mevsim ve yaş faktörleri rol oynamaz. Enfeksiyonun yayılmasında su ve gıdaların da önemi yoktur, çünkü fekal-oral yol ile bulaşmaz. Oral yol ile ancak hasarlanmış oral mukozaya kan veya kan ürünlerinin temas etmesi ile bulaşma olabilir. HBV’ nin 4 ana bulaşma paterni vardır: Enfekte kan yada vücut sıvıları ile parenteral temas (perkutan), cinsel temas, enfekte anneden yeni doğana bulaşma (perinatal-vertikal), enfekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temas (horizontal) yolla bulaşır. Kronik hepatit B taşıyıcıları enfeksiyonun primer rezervuarıdır (13).

Perkutan Bulaşma: Virüsün perkutan inokülasyonu; hemodiyaliz, dövme, akupunktur, i.v. alınan uyuşturucuların ortak enjektörle kullanımı ve cerrahi araçlar ile olmaktadır. Bütünlüğü bozulmuş deri ve göz de perkutan bulaşma da rol alır. Ayrıca kan ile bulaşmaya bağlı olarak diş fırçaları, biberonlar, oyuncaklar, tıraş bıçakları, kaşık-çatal, havlu, yapay solunum aygıtları, endoskoplar ve laboratuvar aletleri perkutan geçişte rolü olduğu bilinen araçlardır (14). Kan ürünleri dışında tükürük, idrar, semen, feçes, ter, gözyaşı, sinovyal sıvılar, vaginal salgılar, kordon kanı ve beyin omurilik sıvısında da virüs varlığı (HBsAg, HBV DNA) tespit edilmiştir.

Semen ve tükürükde kandakine göre 1000 kez daha az viryon içermesine rağmen yine de enfeksiyöz dozda hepatit B virüsü içerdiğinden bulaşmada önemlidir. Hepatit B’ nin “e” antijeni (HBeAg) negatif kanla bulaşık iğne batması sonrası HBV bulaşma riski %5 iken HBeAg pozitif olduğunda risk 4 kat daha artıp %20’ yi bulmaktadır (13,14).

Horizontal Bulaşma: Parenteral, cinsel yada perinatal bir temas olmamasına rağmen hepatit B virüsü bulaşmasına horizontal bulaşma adı verilir. Horizontal bulaşmada aile içi taşıyıcılık önemli bir rol alır. Hepatit B taşıyıcılarının buldukları ortamlarda ailenin diğer fertlerine, oyun arkadaşlarına, cinsellik içermeyen yakın temas ile HBV' yi bulaştırdıkları görülmüştür. Çevreye yayılan virüsün deri ve mukoza bütünlüğünün bozulmasıyla inoküle olduğu düşünülmektedir. Horizontal geçiş, yaşam koşullarının kötü, sosyoekonomik düzeyin düşük olduğu geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde başlıca bulaşma yoludur (13,14).

Cinsel Temasla Bulaşma: HBV' nin başlıca bulaşma yollarından birisidir. Mikro travmalara uğramış mukozaların HBV ile enfekte vücut salgılarıyla teması sonucu bulaşma gerçekleşir. HBV enfeksiyonu riski; başka bir veneryal enfeksiyonun varlığında 2-3 kat daha artar. Bu yol özellikle HBV' nin orta ve yüksek endemik olduğu bölgelerdeki başlıca bulaşma yoludur (14).

Perinatal Bulaşma: Anneden bebeğe HBV enfeksiyonunun bulaşması sıklıkla anne taşıyıcı olduğunda görülür. Annenin gebeliğinin son trimestrinde veya postpartum erken dönemde geçirdiği HBV enfeksiyonu da daha az bir ihtimalle bebeği enfekte edebilir. Perinatal bulaş iki açıdan önemlidir: Birincisi; bulaşma doğum sırasında olduğundan aşı veya hepatit B immünglobulin (HBİG) ile önlenemez olmasıdır. İkincisi ise; kronikleşmenin %90 gibi çok yüksek oranda olmasıdır.

HBV gebelik boyunca, travay veya doğum sırasında anneden bebeğe bulaşabilir. İntrauterin bulaşma nadirdir. Anneden bebeğe HBV' nin bulaşmasının, travayda veya doğum sırasında amnion sıvısının veya plasenta yırtıklarından sızan anne kanının yutulması ile olduğu kabul edilmektedir. Bebeklerin yaklaşık %5' i intrauterin dönemde ve yaklaşık %95'i doğumda enfekte olurlar. Sezaryen ile doğumun enfeksiyon riskini azaltıp azaltmadığı tartışmalıdır (15,16).

HBV anne sütünde sekrete edilse de düşük konsantrasyonda bulunur ve bebekte enfeksiyona yol açmaz. Ancak annenin meme başlarında çatlak varsa emzirme sırasında bebek çok az bir olasılıkla enfekte olabilir. Doğumdan hemen sonra aktif ve pasif immünizasyon uygulanması aynı zamanda perinatal bulaşma riskini ortadan kaldırır. HBV ile enfekte (HBsAg pozitif) anneden doğan bebeklerde

perinatal HBV enfeksiyon riski annenin HBeAg pozitifliğine bağlıdır. HBsAg pozitif, HBeAg negatif annelerin bebeklerinde enfeksiyon oranı %20' nin altındadır. HBeAg pozitif bir anneden doğan bebeğin enfekte olma oranı %70-90' nı bulur. Bunların %90' ı kronikleşir. HBV taşıyıcısı annelerin çocukları perinatal dönemde enfekte olmasalar bile yaşamlarının ilk 5 yılı içerisinde horizontal yolla bulaşabilecek HBV enfeksiyonu açısından yüksek risk altındadırlar (15,16).

2.4. GENOM YAPISI

Genomun tamamı 3200 nükleotidden oluşur. Kısmen çift sarmallı sirküler bir DNA molekülüdür ve değişken uzunlukta tek sarmallı bir bölge içerir. Genom iki DNA sarmalı içerir: Uzun (L veya negatif) sarmal, tam uzunluktadır,yani 3200 nükleotid taşır. Kısa (S veya pozitif) sarmal, 1800-2700 arası nükleotid taşır. Bu zincirler, ortak baz çiftlerine sahip olup sirküler bir yapı halinde bulunmakla birlikte her birinin 3' ve 5' uçları birleşik olmadığından aslında lineer moleküllerdir (17). Her iki sarmalın 5' uçları (yada koheziv bölgeleri) DR1 ve DR2 adı verilen kısa (10-12 nükleotid) sabit bölgelerde (direct repeats) yer alır. L sarmalın 5' ucu DR1 içerisinde; S sarmalınının 5' ucu ise DR2' nin 3' sınırında yer alır. L sarmalının 5' ucunca kovalent olarak bağlanmış bir terminal protein, S sarmalının 5' ucunda da 17-19 nükleotid uzunlukta bir RNA oligomeri içerir. Bunlar ait oldukları sarmalın sentezinde "primer" işlevi görür. L sarmalının 3' ucu 9-10 nükleotidlik bir uç artık alanına sahiptir ve bu alan S sarmalının yapımında "template switching" işleminde ve DNA' nın sirküler (çembersel) oluşumunda rol alır (11,17). Genetik bilginin tamamı uzun sarmal üzerinde kodlanmış olup, bu sarmal S, C, P, X kısaltmaları ile gösterilen 4 değişik protein kodlayan nükleik asit dizisine "open reading frame" (ORF) sahiptir. Bunlar 4 farklı geni temsil eder.

2.4.1. S GENİ:

Üç farklı başlangıç koduna sahip olduğu için, Pre-S1, Pre-S2 ve S olarak üç farklı bölgeye ayrılır. Bu üç bölgeden özellikle Pre-S1 bölgesi 21-47 aminoasitler arasında hepatosit reseptörüne bağlanma alanına sahiptir. Bütün hepadnaviruslarda bu bölge viryon partiküllerinin bir araya gelmesi, salınımı ve sonraki süreçte hepatosit reseptörüne bağlanması sırasında anahtar rol alır. Pre-

S2 bölgesi, 133-139 aminoasitler arasında bağlanma alanına sahiptir. Pre-S2'nin ürünleri virüs-konak hücre bağlanmasında rol alarak HBV' nin karaciğer hücresine tutunmada etkili olmaktadır (10,18). HBV' nin "a" determinantı major HBsAg'nin içerisinde yer alan 24 aminoasitlik bir kısımdır, tüm HBV alt tiplerinde bulunur. Bu bölgeye karşı oluşan antikolar bilinen tüm alt tiplere karşı immünite sağlar. Diğer d, y, w, r alt tip determinantları ise daha çok epidemiyolojik öneme sahiptir.

2.4.2. C GENİ

İki farklı başlangıç bölgesi olduğu için, Pre-C ve C olarak iki bölgeye ayrılır. Bu gen üzerindeki okuma işlemi Pre-C' den başlarsa oluşan P25 polipeptidi öncelikle endoplazmik retikulumda parçalanıp daha sonrada C terminal bölgesinin modifikasyona uğraması sonucu HBeAg oluşur. Okuma C bölgesinde başlarsa P23 polipeptidi sitoplazmada kalıp modifiye olması ile hepatit B' nin çekirdek antijeni (HBcAg) oluşur. HBcAg genellikle nükleer yerleşimlidir, ancak aktif hastalık döneminde veya viral replikasyonun çok yüksek olduğu zamanlarda sitoplazmada diffüz bir yayılım gösterir (19).

2.4.3. P GENİ

ORF' lerin en uzunudur. P geni X ve C genleri ile kısmen, S geni ile tamamen çakışır. Sonuç olarak uzun sarmal 1,5 defa okunmaktadır. Bu özellik nedeniyle HBV, bilinen en küçük genomik yapıya sahip olmakla birlikte, kendini kodlama kapasitesi en fazla olan hayvan virusudur. P geni DNA polimerazı şifreler, replikasyon RNA aracılığı ile olduğundan DNA polimeraz bir reverse-transkriptaz fonksiyonu da görür (11,19).

2.4.4. X GENİ:

En küçük gen bölgesidir. HBxAg' yi kodlar. HBxAg hepatositlerde geçici bir süre tespit edilebilmektedir. X proteinin transaktivasyon işlevli olduğu düşünülmektedir.

2.5. REPLİKASYON STRATEJİSİ

Replikasyon işlemi başlıca karaciğerde olur. Replikasyonun ilk aşamasında HBV hepatosite tutunmalı ve hücre içine girebilmelidir. HBV' nin hücreye tutunmasında fibronektin, transferin reseptörü, apolipoprotein H, polimerize insan albümini gibi tanımlanmış maddelerin yanı sıra, S proteinine özgü endonexin II ve siyaloglikoprotein gibi maddelerinde olmasına rağmen HBV' nin hepatosit yüzeyine tutunmasında L ve M proteinlerinin çok önemli etkisi olduğu bilinmektedir. Pre-S1 ürünü olan L protein, karaciğer plazma membranına ve mononükleer hücrelere bağlanabilir. Pre-S2 ürünü olan M proteininde karaciğere spesifik tutunma alanları vardır. Tutunma sonucu gelişecek penetrasyondan reseptör bağımlı endositoz yolunun etkili olduğu sanılmaktadır (11,14,20). Hücre içine girdikten sonra genom viriyondan ayrılır. Tek kalan viryon DNA' sı ve nükleokapsid nükleusa geçerler. Bu sırada; pozitif sarmal endojen DNA polimeraz tarafından tamir edilir ve negatif sarmal açıklığın onarımı ile tümüyle kapanır. Bu süreç sonunda hepatosit nükleusunda saptanabilen, tümüyle çift sarmallı süper kıvrımlı HBV DNA molekülü oluşur (11,14,20). Oluşan bu DNA molekülü, konak hücre RNA polimerazının katalizlediği viral RNA yapımında kalıp vazifesi görür. Bu işlem sonunda 3' terminalleri aynı üç farklı HBV RNA üretilir. C geninden gelen sinyalle değişik görevler üstlenmek üzere farklılaşırlar. Bunları bir kısmı HBeAg, bir kısmı HBcAg, bir kısmı viral polimerazın sentezi için gerekli mRNA olma görevi üstlenirken, bir kısmı da kor partiküllerinin içine yerleşip pregeno rolünü üstlenir. Tüm bu olayların sonucunda oluşan kısmen çift sarmal DNA, kor partikülüyle birlikte HBsAg ve konak hücre membranına ait lipid içeren materyalle kaplanmış olarak hücreden çıkarlar (11,14,20).

2.6. VİRAL PROTEİNLER

2.6.1. YÜZEY PROTEİNLERİ

Pre-S/S geninin ürünleri olup HBV' nin yüzey proteinini oluşturur. Kodlanan kılıf bölgesince 3 ayrı yapıda sentezlenen proteinler aminoasit sayısına göre L (large), M (middle), S (small) olarak ayrılır. Yüzey proteinlerinin başlıca iki işlevi vardır, hücreye tutunmada önemlidir ve bazı antijenik yapılarına karşı gelişen

antikorlar enfeksiyonu önleyici niteliktedir. Bu üç farklı konfigüratif yapının farklı görevleri vardır (21).

L Tipi: Hepatositlere tutunmada ve kor partiküllerinin kılıflaşmasında görevlidir. Devamlı fakat düşük düzeyde LHBs üretimi, semptomatik HBsAg taşıyıcılarında görülür ve uzun dönemde gelişen buzlu cam hücre oluşumuna neden olur.

M Tipi: Pre-S2 glikan aracılığı ile HBV'nin hepatosite bağlanmasını sağlar ve HBV'nin hücre içine absorpsiyonunda görev alır.

S Tipi: Kor partiküllerinin kılıflaşmasında görevlidir. SHBs içindeki özel bir epitop bölgesi aşılama sonrası anti-a antikorlarının oluşumunu ve koruyucu bağışıklığın sağlanmasında etkilidir (11,18).

2.6.2. KOR PROTEİNLERİ

HBe Proteini: Pre-C bölgesinden başlayan okuma sonucu oluşur. HBc proteinine çok benzer yapıdadır. İmmün yanıtın asıl hedefi olan HBc üzerindeki immün baskının azalması, virüsün yaşamının uzamasında HBe'nin varlığı önemlidir. Yüksek viremiye sahip HBV taşıyıcılarında immün yanıtın zayıf kaldığı ve bu hastalarda hemen daima HBeAg pozitifliği bulunmuştur. Ancak yapılan çalışmalar sonunda viral replikasyon için HBeAg' nin varlığının şart olmadığı görülmüştür (15,18).

HBc Proteini: C gen bölgesince sentezlenir. HBe ve HBs' den daha immünojeniktir. Genelde intranükleer yerleşimlidir. Viral replikasyon fazla olursa sitoplazmaya çıkar. Serumda serbest halde bulunmaz, kanda dane partikülünün içinde bulunur. Bu yüzden HBcAg' nin serolojik tanısı mümkün değildir (15,18).

2.6.3. P PROTEİNİ: P geni tarafından oluşturulur. Çok işlevlidir. Aminoterminal parçası, DNA negatif sarmal sentezini başlatacak olan terminal proteini oluşturur. Santral parça, DNA pozitif sarmal için DNA' ya bağımlı polimerazı oluşturur. Terminal parça ise, RNase H' yı oluşturur.

2.6.4. X PROTEİNİ: Viral hücrel genleri transaktive etme özelliği olan küçük sitoplazmik proteinlerdir. X proteini normal P53 (tümör supresör gen ürünü) işlevini bozar. Bunu da HBV' de gelişen karsinomlarla ilgili olduğu düşünülmektedir (22).

2.7. HBV MUTANTLARI

HBV, yaşam siklusu sırasında pregenomik RNA' dan revers transkripsiyonla DNA' ya dönüşür. Revers transkriptaz enziminin ilk okuma safhasında bazen hatalar oluşur. Ardından, nükleotid yerleşiminde yanlışlık meydana gelir ve sonuçta genom yapısında moleküler düzeyde mutasyonlar oluşur.

Replikasyon hızı arttıkça hata oranı da artar ve böylece mutant virüslerin ortaya çıkışı kolaylaşır. Oluşan bu mutasyonlar genomun farklı yerlerinde gelişebilir ve önemli klinik gidiş ve tedavi sorununa yol açarlar (23).

2.7.1. YÜZEY MUTANTLARI

Yüzey mutantları bağışıklama ile yakından ilgilidir. Bu bölgenin asıl mutasyonları "a" determinantıdır. Anti-a antikorları HBV' nin hepatositlere bağlanmasını engellediğinden gerek aşı, gerek geçirilmiş enfeksiyon sonu koruyuculuğun gelişimini engellerler (23,24). S bölgesi mutantları farklı problemlere neden olurlar.

-Pre-S1 bölge mutantları: T ve B lenfositlerinin tanınma bölgelerini bozup virüsün eliminasyonunu engeller.

-Pre-S2 bölge mutantları: Defektif HBV varyantına neden olur. Bu ise kronik ve fulminan hepatit ile ilgilidir. Neden olduğu diğer olaylar,

-Karaciğer transplantı yapılmış hastalarda reenfeksiyona neden olur.

-Aşıya dirençli suşların oluşumunu sağlar.

-Alışılmıştan dışı serolojik profillerin görülmesine neden olur (24,25).

2.7.2. PREKOR MUTANTLARI

Bu bölge mutasyonları, kronikleşmede ve fulminant hepatit ile ilgilidir. Prekor mutasyonlar viral replikasyonu etkilemez aksine replikasyon yeteneğine sahip HBeAg negatif mutantların oluşumuna neden olur. HBeAg konağın HBV'ye karşı verilen cevabın kontrolünde etkilidir. Sonuç olarak serumda HBeAg yokluğu,

hepatosit yüzeyinde bulunan HBcAg' ye karşı wild tip HBV enfeksiyonlarından daha şiddetli bir immünolojik saldırı ortaya çıkar ve hepatoselüler hasar daha fazla olur (24-26).

2.7.3. KOR MUTANTLARI

Bölge mutasyonları, T ve B hücre immün yanıtında bozulmalara neden olur. Özellikle T helper epitopunda ortaya çıkan mutasyonlar, virüsün cluster of differentiation (CD) CD4+ T hücre cevabından kaçmasını sağlar. Bazı kor mutasyonlarının fulminan tablo ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir (11,23).

2.7.4. X MUTANTLARI

HCC' lilerde, talasemililerde, diyaliz hastalarında, serolojik yanıtların ortaya çıkmadığı hepatitlerde x bölgesine ait mutasyonlar tespit edilmiştir. HBV' ye ait serolojik bulgusu olmayan, ancak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile HBV DNA' nın saptanabildiği fulminan hepatitlerde x mutasyonları tespit edilmiştir (10,23).

2.8. İMMÜNPAATOGENEZ

Hepatit B enfeksiyonu değişik süre ve şiddette nekroinflamatuvar karaciğer hasarına neden olan çok çeşitli klinik spektrum gösterir. Virüsün gösterdiği bu spektrum içerisinde; akut, kronik ve fulminant enfeksiyon, kronik enfeksiyonun uzaması ile siroz gelişimi ve yıllar içerisinde HCC oluşumu görülebilir. Kronikleşme olmasına rağmen aminotransferazların ve karaciğer histolojisinin bozulmadığı "Sağlam Taşıyıcı" denilen başka bir klinik tablo da görülebilir (27).

HBV enfeksiyonu sırasında oluşan karaciğer hücre hasarının mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Patogeneizde genel olarak immün kökenli sürecin etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca HBV' ye bağlı hücre hasarında HBV' nin doğrudan sitolitik etkisi olduğunu tespit eden çalışmalar vardır. Pre-S1 proteininin yüksek düzeyde birikiminin hepatositlerde direkt olarak sitotoksiteye neden olduğu gösterilmiştir. Pre S1 ürünlerinin birikimi endoplazmik retikulumda dilatasyona neden olmakta, hepatosit balonlaşmakta, hidropik ve eozinofilik bir özellik kazanıp buzlu cam görünümü almakta ve zaman içinde koagülasyon nekrozu gelişmektedir (11,20,28).

HBV enfeksiyonu patogenezinde bir dizi olayın başlamasını komuta eden immüitenin başrol oynadığı bir gerçektir. Eğer virüs bu sistemlerde bir defekt oluşturur yada onların temel komponentlerini nötralize ederse enfeksiyon kronikleşmektedir.

Patogenezin oluşumunun ilk aşamasının incelenmesinde HBV' nin hepatositlere tutunması incelenmiştir. HBV' nin reseptörü olması muhtemel birçok yapı incelenmesine rağmen insan hepatosit membranı üzerinde HBV'nin kesin bir reseptörü saptanamamıştır (11,29). HBV yüzey proteinlerinden HLBs' nin pre-S1 bölgesi ile MHBs' in pre-S2 bölgesi hepatosit ve hepatoma hücrelerinin membranlarına tutunma alanlarıdır. HBV için kesin bir reseptör tespit edilememesine rağmen reseptör olabileceği ileri sürülen yapılar olarak; transferrin reseptörü, fibronektin, endonexin 2, apolipoprotein, asiyaloglikoprotein, pre-S2 glikan ve HBV binding faktör (HBV-GF) sayılabilir (11,29).

HBV enfeksiyonunun immün kökenli patogenezinin oluşumunda virüs antijenlerine karşı gelişen spesifik immün yanıt hem viral klirensten hem de hastalığın klinik patogenezinde sorumludur. İmmün yanıtın konak açısından bakıldığında bu yanıtın tolere edilebilir karaciğer parankim hasarı karşılığında viral klirensin sağlanması yönünde olmaktadır. Virüs açısından ise; etkisiz bir immün yanıt oluşturulması, bu yapılamazsa immün yanıtın şaşırtılması, immün yanıtın kaçmak şeklinde olmaktadır (11,20,21). Patogenezinde oluşan immün yanıtın humoral ve hücreli komponentleri ve bunların etkileri vardır. Oluşan immün yanıtın komponentlerinden olan virüs yüzey antijenlerine karşı gelişen humoral yanıt dolaşımdaki virüs partiküllerinin klirensini sağlar. Nükleokapsid ve polimeraz antijenlerine karşı gelişen hücreli immün yanıt ise; infekte hücrelerin eliminasyonunu sağlar (20,21).

Akut hepatitin düzelmesi etkin bir immün yanıtla, virüsle enfekte hücrenin nekrozuyla sağlanır. Bu immün yanıt hepatosit yüzeyine sunulan HBV proteinlerinin küçük epitoplara, özellikle HBcAg' ne karşı bir selüler cevaptır. Human leukocyte antigen (HLA) sınıf I antijenlerine sınırlı CD8+ hücreler, hücre içinde oluşturulan ve hepatosit membran yüzeyinde sınıf I molekülleri tarafından sunulan HBV peptid parçalarını tanırlar. Bu işlem CD8+ sitotoksik T lenfositlerinin direkt olarak hücreleri öldürmesiyle sonuçlanır. Kronik hepatitli olgularda bu yanıt

zayıftır. Dolayısıyla akut hepatitten iyileşme, yeterli CD4+ kaynaklı yanıtın ortaya çıkmasına bağlıdır. Yine CD4+ kaynaklı yanıtın düzeyi ve kinetikleri HLA sınıf I ile sınırlanmış CTL yanıtları ile paraleldir ve akut hepatit B'li olgularda başlıca infiltre edici hücreler CD8+ hücrelerdir. Böylece, karaciğerdeki hasarın HLA sınıf I proteinleri ile birlikte sunulan kor peptidlerini tanıyan CD8+ CTL hücrelerce oluşturulduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan, akut viral hepatitli hastalarda HBV yüzey antijenleri içerisinde çeşitli HLA-A2 ile sınırlanmış epitoplara tanımlanmıştır. Böylece HBV yüzey proteinlerinin de en az nükleokapsid proteinleri kadar HLA sınıf I CTL yanıtı için önemli olduğunu gösterilmiştir (11,20). CTL hem küratif (antiviral) hem de destrüktif (patogenetik) potansiyeli ile HBV enfeksiyonu patogenezinde başrolü oynamaktadır. HbsAg-spesifik CTL' nin şiddetli nekroinflamatuvar hasarı indüklediği, apoptozisi uyardığı gözlenmiştir. Sonuç olarak infekte hücreler temizlenmektedir. Bu ise sitolitik etkinin en büyük göstergesidir.

Antiviral etki içinde CTL' nin interferon, tümör nekrozis faktör (TNF) alfa, IL-2 sekresyonunu uyarıp posttranskripsiyonel mekanizma ile viral gen ekspresyonu ve transkripsiyonunu nonsitolitik yolla baskılanması örnek olarak gösterilebilir. CTL' nin antiviral ve destrüktif etkileri arasındaki denge HBV enfeksiyonunun seyrini belli eder. HBV enfeksiyonu seyrinde görülen kronikleşme ve taşıyıcılık ise; CTL' nin antiviral etkisindeki zafiyete bağlı olarak görülür. Kronik hepatit B' li olgularda CTL yanıtı zayıf yada hiç yoktur. Bu zayıf CTL yanıtının mekanizması için birkaç olasılık ileri sürülmüştür. Bu olasılıklar şöyle sıralanabilir:

- CTL yanıtı tümüyle HBV spesifik CD4+T hücre yanıtına bağlıdır. Kronik hepatitlerde bu CD4+T hücre yanıtı ortadan kalkmıştır.
- Kronik hepatit B'li olgularda HBV' nin kodlandığı antijenlere yönelik T hücre repertuarında bir boşluk olması
- HBV antijenlerinin sunulmak üzere işlenmelerinde muhtemel bir defekt olması
- Kronik hepatit B' li hastaların peptidlere bağlanma yeteneği olmayan varyant HLA sınıf II alelleri eksprese etmeleri
- Virüsün temizlenmesi için gerekli epitoplara içermeyen viral varyantlarla enfeksiyonun oluşmuş olma olasılığı

-HBV antijen uyarımına karşı bu hastaların supresif T hücre yanıtı oluşturma olasılıklarıdır (30).

Kronik hepatit B' li olguların periferik kan HLA sınıf II ile sınırlanmış T hücre yanıtları da zayıflamıştır. Bu T hücreler karaciğerde bulunmalarına rağmen az sayıdadırlar. Ancak kronik hastalığın akut alevlenmelerinde bu yanıt artar ve alevlenme söndüğünde yine zayıflar. Alevlenme, serumdaki HBV DNA ve HBeAg yoğunluklarındaki artışı izler. Alevlenme dönemlerinde HBsAg konsantrasyonu genellikle değişmez ve HBV yüzey antijenlerine proliferatif yanıtlar da zayıf olarak sürebilir veya hiç görülmez (11,31,32).

HLA sınıf I moleküllerinin görevi; temel işlevleri infekte hücrelerin eliminasyonu olan CD8+T lenfositlerin hücre içi invazyonu için bilgi sağlamaktır.

HLA sınıf II molekülleri ise; genellikle spesifikleşmiş APC hücreleri içinde proteolitik işleme uğramış ekstraselüler antijenleri bağlar. Bu antijenlerin etkisiyle lenfokinlerin salınımına ve CD4+T lenfositleri aktivasyonuna neden olurlar.

Kronik hepatit B' li olgularda HLA sınıf I protein ekspresyonunun yeterli artmadığı ve interferon-alfa (IFN) üretiminde bir yetersizliği, yani immün yanıtın yeteri kadar ortaya çıkmadığı; hepatit B enfeksiyonunun kronikleşmesinden bu olayın kısmen de olsa sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (11,32).

İmmünpatogeneizde önemli bir basamakta humoral immünitedir. Hepatosit hasarlanmasında kompleman ile dolaşan ve hücre içi immün kompleksleri (HBsAg/anti-HBs ve HBcAg/anti-HBc) rolü olduğu ileri sürülmüştür. HBeAg pozitif kronik hepatitli hastalarda C1q ve C3 katabolizmasında artış saptanmıştır. Diğer yandan, kor proteinlerine karşı gelişen humoral immün yanıtın, sitotoksik hücreler tarafından hepatositlerin hasarını inhibe edeceği ileri sürülmüştür (11,33).

HBV enfeksiyonuna karşı nötralizan antikor yanıtı yüzey antijeninin belli epitoplarına karşı gelişmektedir ve doğrudan bağışıklıkla sorumludur. HBeAg pozitifliği yeni doğan ve erişkinlerde HBV enfeksiyonunun farklı gidişatına neden olur. HbeAg pozitif anneden doğan bebeklerde bu proteinler plasentadan geçerek; nükleokapsid protein, HBc ve HBe' ye karşı immün tolerans gelişeceği ve sonuçta enfekte hücrelerin immün mekanizmalarla ortadan kaldırılmasında bir yetersizlik geliştiği ileri sürülmüştür. Erişkinlerde ise durum farklıdır. Erişkinlerde, HBeAg hepatosit membranında bulunur ve ona karşı gelişen immün yanıtı, büyük

olasılıkla, antikor/kompleman yada antikora bağımlı hücrel sitotoksinite ile bu hücrelerin yıkılmasına yol açar. Böylece HBcAg' nin salınımı, neonatal enfeksiyonda virüs için bir üstünlük sağlamakta iken erişkin enfeksiyonunda konak için bir üstünlük nedenidir (11,32,33).

HBV enfeksiyonlarının immün patogeneğinde virüsün etkisinin esas temeli viral klirens bağıdır. Bu klirens için de belirleyici temel komponent T lenfositin gücü ve multispesifik özelliğidir. Virüsün hepatosit üzerindeki etkisinin ne olacağı, tam iyileşmenin mi yoksa kronikleşmenin mi olacağı konağın "majör histocompatibility complex" (MHC) moleküllerince sunulan HBV peptidleri ile konağın spesifik T hücre reseptör yanıtı arasındaki uyuma bağıdır. Eğer uyum tam olarak gerçekleşir ise; yeterli tanıma ve aktivasyon gerçekleşir. Bunun sonucu olarak enfekte olmuş tüm hücreler tahrip edilir ve en sonunda viral replikasyon sona erer. HBsAg' ye karşı oluşan antikorlar hepatositlerin yeniden enfekte olmasını engeller ve sonuçta immün yanıtın tamamlanması viral temizlenme ile son bulur (21,32,34).

2.8.1. HLA SINIF II ANTİJENLERİNE SINIRLI T LENFOSİT YANITI

CD4+T hücrelerinin, antijenin tanınmasını takiben T lenfosit çoğalmasının uyarılması, sitokin sentezi, B lenfosit yanıtına yardımcı olunması gibi görevleri vardır. Akut hepatit B enfeksiyonu geçiren tüm hastaların periferik kanında, HBV nükleokapsit antijenlerinin çeşitli epitoplara karşı canlı bir HLA sınırlı CD4+T helper hücre yanıtı oluştururken, aynı yanıt yüzey antijen spesifik epitoplarda yetersiz oluşturulur (32,35). Yüzey antijenlerine karşı zayıf yanıtın nedeni tam bilinmiyor. Ancak hastalığın inkübasyon döneminde bir anti-envelop CD4+T hücre yanıtının olduğu ve yüksek konsantrasyondaki virüs uyarısından sonra yorgun düştüğü yada paraliye uğradığı sonuç olarak da enfeksiyonun yok edilmesinde immün yanıtın yetersiz kaldığı ileri sürülmektedir (11,32,35). Kronik HBV' de HLA sınıf II ile sınırlanmış T hücre yanıtı zayıftır. Bu T hücreleri karaciğerde bulunmalarına rağmen az sayıdadırlar. T hücre yanıtı kronik hastalığın akut alevlenmelerinde artar. Alevlenme serumda, HBV DNA ve HBeAg yoğunluklarındaki artışı ile belirir. Bu dönemlerde HBsAg miktarı değişmez.

2.8.2. HLA SINIF I ANTİJENLERİNE SINIRLI T LENFOSİT YANITI

HLA sınıf I antijenlerine sınırlı CD8+T lenfositleri bu moleküllerce hepatosit yüzeyine sunulan viral peptidleri tanıma ve ayırma özelliklerinden dolayı hepatosit hasarlanmasında ve enfeksiyonun kontrolünde büyük rol oynamaktadır. HBV enfeksiyonunun geçici yada kronik olacağını belirleyen en önemli faktör CTL yanıtıdır. HBV' ye karşı CTL yanıtının etkileri şöyle sıralanabilir

-İlk başlangıçta, CTL tarafından antijenin tanınması ve HBsAg pozitif hepatositlerin yıkımı ve sonuçta hepatitin karakteristiği olan apoptotik hepatosit (konsulman cisimciği) oluşumu görülür.

-HBsAg' ye spesifik CTL nekroinflamasyonu uyarır. Olayın şiddetini ise, stimüle olmuş IFN-gama miktarına, HBsAg pozitif hücre miktarına, her bir hepatositteki HBsAg miktarına bağlıdır.

-Oluşan karaciğer hasarından CTL' nin çağırdığı antiinflamatuvar hücreler özellikle de makrofajlar etkilidir.

-Mikrovasküler bariyer nedeni ile CTL' ler HBsAg pozitif olduğu halde beyin, böbrek, testis ve pankreas gibi birçok dokuya geçemez. Bu ise viral persistansa zemin hazırlar.

Yanıtın yetersizliği durumunda kronik HBV persistansı sürekli bir inflamasyon ve rejenerasyona nedeni ile DNA hasarı gelişir. Uzak dönemde ise HCC' ye neden olabilir (11,32,35).

2.9. PATOGENEZ

Patogenezde lenfositler, plazma hücreleri ve antijen sunan hücreler rol alırlar. Bu hücreler hem portal alanlarda hem de asinilerde bulunabilirler.

Hepatoselüler nekrozis;

1-Spotty (fokal) şekilde olabilir. Tek veya birkaç hücre grubunu etkiler.

2-Konfluent nekroz; komşu birçok hepatositin ölümünü gösterir.

3-Köprüleşme nekroz; konfluent nekroz vasküler yapılarla birleştiğinde bu adı alır. Bu nekroz hafif seyirli akut hepatit de görülebilir. Ancak ciddi bir hasarın ilerleyebileceğini gösterir.

4-Piecemeal nekroz; portal bir alanın veya fibröz septumun inflame konnektif doku ile parankim arasındaki bağlantı düzeyinde hepatositlerin ölümüdür. Bu tip nekroz siroza gidişin göstergesidir.

Bunların sonucunda gelişen fibrozis değişik şiddette ve irregüler görünümündedir. Kronik hepatit B' de patolojik bulguların düzeyi, biyopsilerin evrelendirilmesi ile belirlenir. Derecelendirme nekroinflamatuvar sürecin ölçümü ile olur. Eskiden beri kullanılan Kronik Persistan, Kronik Aktif ve Kronik Lobüler Hepatit terimleri temel derecelendirme ifadeleridir.

Kronik hepatit için kullanılan değişik derecelendirme sistemleri içinde en yaygın olarak kullanılan Knodell' in histolojik aktivite indeksi adı verilen sistemdir.

Bu indeks lezyonun farklı komponentleri için dört ayrı skordan ibarettir. En önemli nokta sadece ilk üç kategori derecelendirmede yer alır. Dördüncü kategori ise bir evreleme metodudur. Histolojik aktivite indeksinin en önemli avantajı puanlama ile 0' dan 18' e kadar geniş bir skora imkanı vermesidir. Tablo 1' de histolojik aktivite indeksi gösterilmiştir. Bu indeks esasen 3 ana bulguya dayanır :

- Etkenin ne olduğu
- Histopatolojinin derecesi
- Fibrozisin derecesi

Kronik hepatit de fibroz dokular portal alan içerisinde ve çevresinde birikirler ve genelde periportal nekroinflamatuvar aktivite ile birlikte dirler. Periportal fibroz hepatosit rozetlerin oluşumuna yol açar. Yoğun güve yeniği nekrozu komşu portal alanlara yayılabilir ve periportal septumları gelişimine neden olur. Portal alandan hepatik lobül içine uzanan fibroz septumlar bazen santral hepatik venüllere ulaşırlar. Bu portal-sentral septumlar köprüleşme nekrozu ile sonuçlanırlar (36).

Siroz kronik hepatitin dönüşümsüz bir evresidir. En büyük özelliği fibröz septumlarla çevrili parankimal nodüllerin varlığıdır. Bu da karaciğerin normal yapısının bozulmasına ve portal basınçta artışla birlikte kan akımındaki işlevsel değişimlere yol açar. Bu değişimlerin uzun dönem sürmesi halinde oluşan displazik hepatoselüler adenomatöz hiperplazi ve makrodejeneratif nodüller hepatoselüler karsinomaya zemin hazırlar (36,37). Kronik HBV' de evreleme fibrozis ve siroz gelişiminin derecesine göre yapılır.

Tablo 1. Histolojik Aktivite İndeksi

Periportal köprü nekroz	Skor	Lobül içi fokal nekroz	Skor	Portal inflamasyon	Skor	*Fibrozis	Skor
A. Hiç Yok	0	A. Hiç Yok	0	A. Yok	0	A. Yok	0
B. Hafif piecemeal nekroz	1	B. Nodüllerin 1/3'ünde yamalı nekroz foküsleri	1	B. Portal alanın 1/3'ünden Az iltihabi hücre	1	B. Fibröz portal Genişleme	1
C. Orta piecemeal nekroz	3	C. Nodülde 2/3'e kadar tutulum	3	C. 2/3'e kadar iltihabi hücre	3	C. Köprü nekroz	3
D. Belirgin piecemeal nekroz	4	D. 2/3'den fazla tutulum	4	D. 2/3'den fazla iltihabi hücre	4	D. Siroz	4
E. Orta piecemeal nekroz+ köprü nekroz	5						
F. Belirgin piecemeal nekroz+ köprü nekroz	6						
G. Multi lobüler nekroz	10						

* Skorlamada hesaplamaya alınmayıp ayrıca değerlendirilir.

Alınan biyopsi materyalleri boyama yapıldıktan sonra yapılan incelemelerde, yukarıdaki ana esaslar göz önüne alınıp puanlama yapılır. Sonuçta çıkan değerler toplanıp; 1-3 arası minimal, 4-8 arası hafif, 9-12 arası orta, 13-18 arası ağır olarak kabul edilir. Raporda hepatik aktiviteli kronik hepatit B şeklinde belirtilip, puanlaması yazılır. Örneğin, Kronik hepatit B, orta aktiviteli, hepatik aktivite indeksi 10/18 şeklinde yazılır. Klinikte fibröz derecesi önemlidir. Fibrozis ise tamamen ayrı bir değerlendirmeye tabii tutulur. Toplam 6 üzerinden puanlama yapılır. Raporda fibrozis eğer varsa derecesi ile birlikte belirtilir. Örneğin, fibrozis mevcut, fibrozis evresi 2/6 şeklinde belirtilir. Evreleme için kullanılan skor sistemi hastalığın süresiyle ilgilidir. Tablo 2' de fibrozis için kullanılan skorlama mevcuttur.

Tablo 2. Kronik Hepatit Evrelemesi İçin Skorlama Sistemi

Değişiklik	Skor
Fibrozis yok	0
Bazı portal alanlarda kısa septumlu veya septumsuz fibröz genişleme	1
Çoğu portal alanlarda kısa septumlu veya septumsuz fibröz genişleme	2
Çoğu portal alanlarda kısa fibröz genişleme, nadir P-P köprüleşme	3
Portal alanlarda belirgin köprüleşme, P-P ve P-C köprüleşme	4
Nadir nodüllerle birlikte belirgin köprüleşme, P-P ve P-C köprüleşme	5
Siroz (muhtemel veya kesin)	6

2.10. KLİNİK

Kronik HBV' de görülen başlıca klinik tablolar; kronik asemptomatik taşıyıcılık, kronik persistan hepatit, kronik aktif hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinomdur.

Kronik Asemptomatik Taşıyıcılık: HBsAg' nin 6 aydan fazla pozitif kaldığı klinik bulguların olmadığı hastalardır. Tedavi verilmez. Hastaların her yıl %1-2' sinde spontane AntiHBs pozitifliği görülür. Bu hastalar mutlaka takip edilmelidir. Altı ayda bir transaminaz ve HBV serolojik tetkikleri kontrol edilmelidir. Yılda bir kez de USG ve alfa-fetoprotein bakılmalıdır.

Kronik Persistan Hepatit: Çabuk yorulma, halsizlik, dolgunluk hissi, iştahsızlık mevcuttur. Serum aminotransferaz değerleri hafif artmıştır. Prognozu iyidir. Nadiren kronik aktif hepatite dönüşebilir.

Kronik Aktif Hepatit: Halsizlik, yan ağrısı belirgindir. Sarılık, kaşıntı, karın şişliği, hepatosplenomegali olabilir. Transaminazlar 5-10 misli artmıştır. Kronik HBV' de poliarteritis nodosa, membranöz glomerülonefrit, papüler akrodermatit ve mukokütanöz vaskülit gibi sendromlar da görülebilir (25).

2.11. TANI

HBV' de replikasyonun göstergesi HBeAg ve HBV DNA' dır. Replikasyonun devam ettiği kronik HBV' de HBsAg, HBeAg ve HBV DNA pozitifdir. Virüs replike olmadığı zamanlarda aminotransferazlar normal düzeydedir. Bu dönemde HBeAg ve HBV DNA negatifleşirken, anti-HBe pozitif olabilir.

HBsAg: HBV ile temastan 1-2 hafta sonra saptanabilir. 3 ay içerisinde azalarak kaybolur. 3 aydan fazla pozitifliği kronikleşmeyi düşündürür.

Hepatit B Yüzey Antijenine Karşı Antikor (Anti-HBs): HBsAg' nin konformasyonel epitoplarına karşı gelişmiş olup kalıcı bağışıklığı sağlar. HBsAg' nin kaybolması ile ortaya çıkar. En geç oluşan antikordur. İyileşme ve immüniteyi gösterir.

HBeAg: Viral replikasyonun sürdüğünü ve enfektiviteyi gösterir. 3 aydan fazla pozitif kalması kronikleşme bulgusudur. İyileşen olgularda HBsAg ve HBV DNA' dan daha önce kaybolur. Kronik vakaların bir kısmında zamanla HBeAg' nin kaybolup Anti-HBe oluşması ile gelişen serokonversiyon ihtimalinin yıllık %5-25 düzeyinde olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeni düşük düzeyde viral replikasyon, biyokimyasal ve histolojik iyileşme ve dominant virüs grubunun immün sistemce tanınıp elimine edilmeye başlamasıdır (38).

Hepatit B'nin "e" Antijenine Karşı Antikor (Anti-HBe): HBeAg' nin kaybolmasıyla ortaya çıkar. Anti-HBe enfektivitenin derecesinin düşüklüğünün ve hastalığın iyileşeceğini bir habercisidir.

HBV DNA: Hastalığın aktivitesi ve antiviral tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılan bir test olup viral replikasyonun en duyarlı göstergesidir. HBV DNA' nın 2 haftada kaybolması iyileşmenin, 8 haftadan fazla pozitif kalması ise kronikleşmenin bir işaretidir.

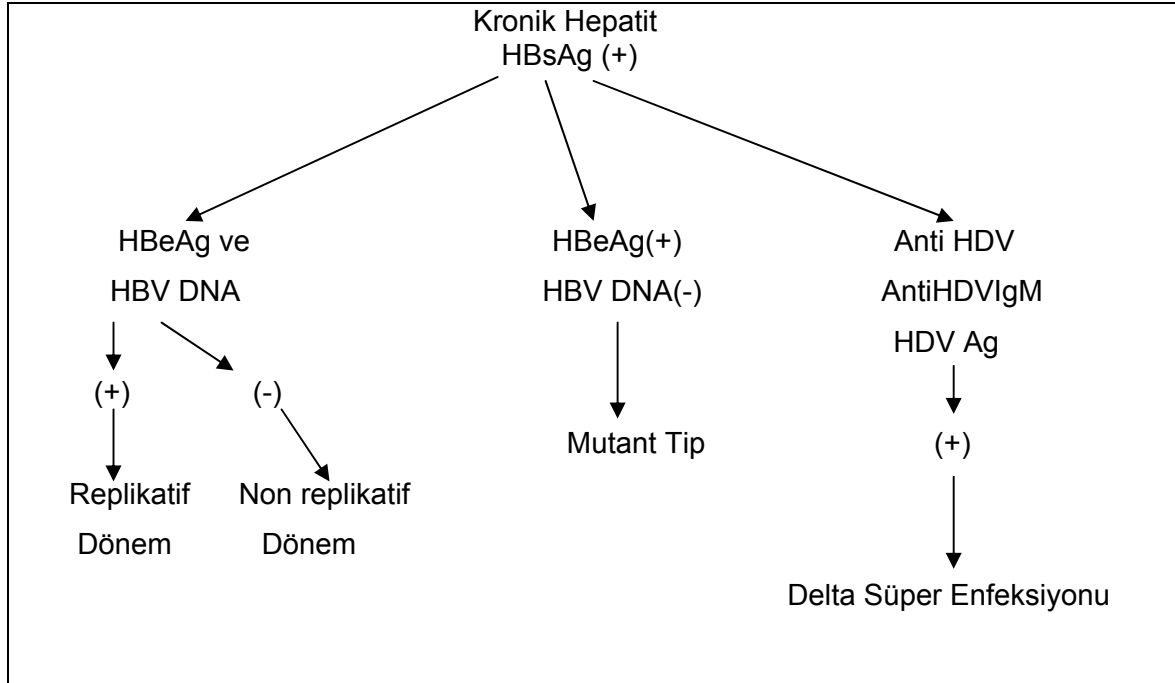
Anti-HBcIg Total (anti-HBcIgM+IgG): HBsAg' nin hemen arkasından, alanin aminotransferaz (ALT) yükselmesinden hemen önce serumda saptanabilir. Anti-HBs negatif iken yüksek titredeki anti-HBc pozitifliği enfeksiyonun devam ettiğini gösterir. Hastalık süresince hatta yaşam boyu pozitif olarak kalabilir.

Anti-HBc-IgM: Akut enfeksiyonların ilk antikor yanıtıdır. Koruyucu değildir. Perinatal bulaşma ile yeni doğanın enfekte olduğu vakalarda geç oluştuğu veya hiç oluşmadığı bilinmektedir.

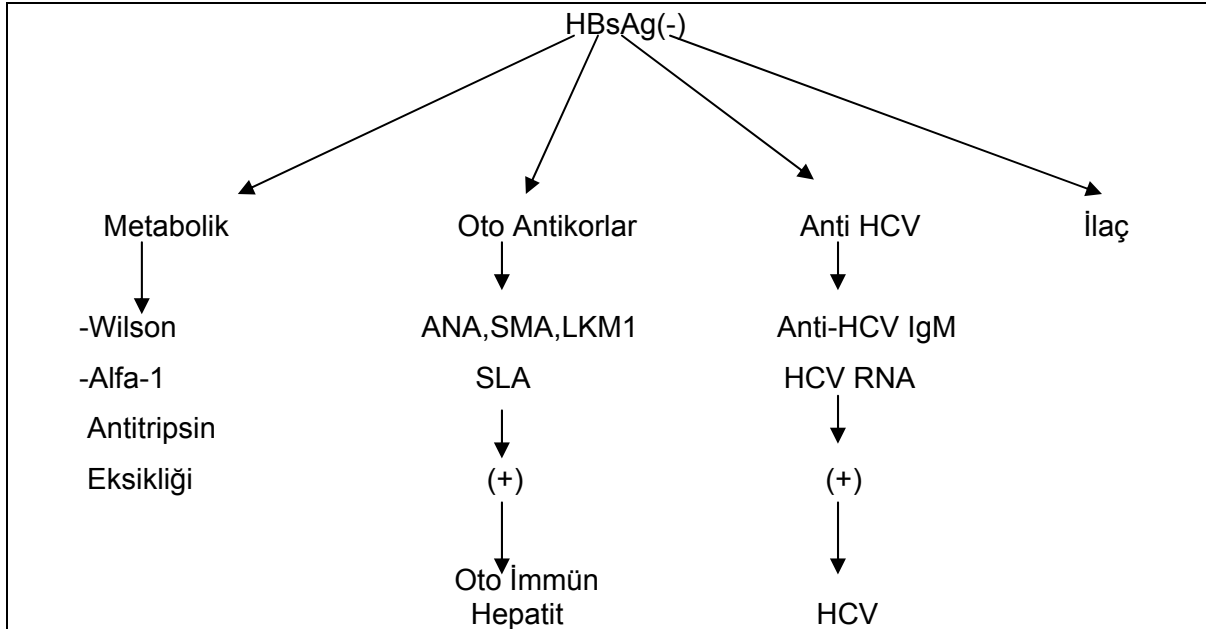
Pre-S1 ve Pre-S2 Antijenleri: Replikasyonun sürdüğünü gösterir.

Karaciğer Biyopsisi: Kesin tanı konulması, etiyolojinin tam olarak açıklanması, nekroinflamatuvar aktivite ve fibrozisin derecesini belirlemek ve verilen tedavi sonrası histolojik düzelmeyi değerlendirmek için yapılır. Yapılan çalışmalarda serolojik olarak sağlam taşıyıcı kabul edilen vakaların %5' inde kronik

aktif hepatit ve siroz tespit edilmiştir (36,39). Şekil 1 ve 2' de HBsAg (+) ve (-) kronik hepatitli hastaya yaklaşım görülmektedir.



Şekil.1. HBsAg (+) Kronik Hepatite Yaklaşım



Şekil.2. HBsAg (-) Kronik Hepatite Yaklaşım

2.12. TEDAVİ

Kronik HBV' nin optimal bir tedavisi yoktur. Verilen tedavilerle amaçlanan virüsün vücuttan tamamen atılması değildir. Tedavi ile amaçlananlar:

- Virüsün replikasyonunun durdurulması
- Bulaşma riskinin azaltılması
- Transaminaz değerlerinin normal düzeylere gelmesi
- Nekroinflamatuvar aktivitede azalma
- Karaciğerde histolojik iyileşme
- Semptomatik düzelme
- Uzun dönemde gelişebilecek siroz ve HCC gibi komplikasyonların önlenmesi
- Morbidite ve mortalitenin azalması

2.12.1. İNTERFERONLAR

İmmünomodülatör, antiviral ve antiproliferatif etkilere sahip olan sitokinlerdir. Çeşitli uyarılara cevap olarak ökaryotik hücrelerden salınan, geniş bir biyolojik aktiviteye sahip potent sitokinlerdir. Üç tip interferon bulunur:

İnterferon Alfa: Bazı antijen ve virüslerin uyarısı ile çoğunlukla monositler ve transforme B lenfositler tarafından üretilir. Aktiviteleri birbirlerine benzeyen, farklı genler tarafından kodlanmış 30 kadar alt tipi vardır. Klinikte en yaygın olarak kullanılan alfa interferondur (40).

İnterferon Beta: Virüslerin ve poliribonükleotidlerin uyarısıyla fibroblastlardan salgılanır. Tek tiptir. Aminoasitlerinin dizilişi IFN alfa ile benzerdir. Bu nedenle alfa ve beta IFN' ların hücre yüzeyindeki reseptörleri ortaktır. Antiviral ve immünomodülatör etkileri benzerdir.

İnterferon Gama: Uyarı ile T lenfositlerinden salınırlar. Antijenik ve kimyasal yapısı diğerlerinden farklıdır. Diğer IFN' lara göre immünomodülatör etkisi fazla iken, antiviral etkisi daha azdır.

İnterferonların etki mekanizmaları: Makrofaj, doğal öldürücü hücreler (NK) ve sitotoksik T hücre aktivitelerini artırarak infektif hücrelerin eliminasyonunu sağlarlar. Bu etkilerini özgül reseptörler aracılığıyla gösterirler. Başlıca 3 ana etkisi vardır:

1-Antiviral Etki: Bu etki ile viral enfeksiyonu sınırlanıp, yayılması önlenir. Bunun için interferonlar virüsün hücreye girişini ve viral RNA ile protein sentezini inhibe ederler. Virüs ile enfekte olan hücrede IFN genleri aktive olur ve ekstraselüler sıvıya interferon salınışı gerçekleşir. İFN' ler burada yayılıp diğer hücrelerin yüzeylerindeki reseptörlere bağlanıp antiviral etki gösterirler. Reseptöre bağlanma ile antiviral genler aktive olur ve antiviral prosedürde artışla viral replikasyon durdurulur. Bu olaylarda oligoadenilat sentetaz endonükleazı uyararak viral RNA' nın parçalanmasını sağlarken, proteinaz fosforilasyon yoluyla protein sentezinin azalmasına neden olur. Sonuçta hem enfekte hücrelerdeki enfeksiyon kontrol altına alınır, hem de nonenfektif hücreler korunmuş olur (40,41).

2-İmmünmodülatör Etki: İnterferonlar sitotoksik T, natürel killer hücreler ve makrofajları aktive ederek sitokin yapımını, immün globülin sentezini, HLA sınıf I ve II antijenlerinin hücre yüzeyindeki ekspresyonunu artırarak immünmodülatör etki gösterir. İnterferonlar HLA sınıf I moleküllerini artırıp virüs antijenlerinin sitotoksik T hücreler tarafından tanınmasını ve enfekte hepatositlerin yok edilmesini sağlarlar. İnterferon yokluğu veya defektif olması enfekte hepatosit tanınmasında bozukluğa ve enfeksiyonun eradike edilememesine neden olur (40,41).

3-Antiproliferatif Etki: İnterferonlar bu etkileriyle HBV' ye bağlı HCC gelişimini önleyebilir. İnterferonların, normal hücrelerde reversibl, neoplazik hücrelerde ise irreversibl sitotoksik etkileri vardır. Onkojen virüslerin transforme edici etkilerini yok ederler (40,41). İnterferonlar bu etkileri nedeniyle KML, Kaposi Sarkomu gibi birçok kanser türlerinin tedavisinde de kullanılmaktadır.

İnterferon Tedavisindeki Amaçlar:

- Viral replikasyon belirleyicilerinin yok edilmesi
- Bulaştırıcılığın azaltılması
- ALT'nin normal sınırlar içine çekilmesi
- Karaciğerde inflamasyonun azaltılması
- Klinikte görülen semptomların giderilmesi
- Hastalığın ilerleme hızının azaltılıp siroz ve HCC gelişiminin önlenmesi, yaşam süresinin uzatılması

İnterferonların Yan Etkileri:

1-Sistemik Yan Etkiler: İlaç alımından birkaç saat sonra ateş, üşüme, bulantı, kusma, ishal görülebilir. Ateş tedavi öncesi verilen antipiretiklerle kontrol edilebilir. Saç dökülmesi, hipersensivite gözlenebilir.

2-Hematolojik Yan Etkiler: Trombosit, beyaz küre ve hematokritte düşme

3-Nörolojik Yan Etkiler: Kulak çınlaması, baş dönmesi, işitme azlığı, konsantrasyon güçlüğü ve nadiren de deliryum, koma görülebilir.

4-Psikolojik Yan Etkiler: Depresyon, irritabilite

5-Otoimmün Yan Etkiler: Otoantikör ve anti-interferon antikörlerinin gelişmesi, hipertiroidizm, hipotiroidizm, diyabet, hemolitik anemi görülebilir.

İnterferon tedavisi verilen hastalarda en sık görülen yan etkiler ve bu hastaların tedavilerinde önerilen değişiklikler Tablo 3' de gösterilmektedir.

Tablo 3. İnterferon tedavide görülen yan etkiler ve öneriler

Etki	Yorgunluk	Bulantı	Kusma	İshal	Beyaz Kürede Düşme	Trombosit Sayısında Düşme	Öneri
Hafif	Tolere Edilir	Nadir	Kilo Kaybı yok	Nadir	1500 ve altında	70000 ve altında	Aynı Doz
Orta	Her gün Mevcut	Günde Bir Defa	%5-10 Kilo Kaybı	Günde 4'den Az	750 ve altında	50000 ve altında	Yarı Doz
Ağır	Yatak istirahati	Günde 2'den Fazla	%10'dan Fazla Kilo Kaybı	Günde 4'den Fazla	500 ve altında	30000 ve altında	İlacı Kes

İnterferon Tedavisinin Yanıtının Değerlendirilmesi:

- HBV DNA kaybı
- Serum ALT/AST düzeylerinde azalma
- HbeAg kaybı kısmi yanıt olarak değerlendirilir.
- HBV DNA' nın hızla düşüp 2-3 ayda negatifleşmesi
- HBeAg' nin kaybolup, anti-HBe' nin pozitifleşmesi
- HBsAg' nin kaybolup anti-HBs' nin pozitifleşmesi
- Histolojik iyileşme tam yanıt olarak değerlendirilir

2.12.2. Diğer Tedavi Yöntemleri:

2.12.2.1. Antiviral Kemoterapi :

Bugün için en sık kullanılan antiviral ajanlar Nükleozid analoglarıdır. Bunlar fosforilasyon geçirerek viral DNA sentez zincirini sonlandırıp, DNA veya RNA kalıbı üzerinde bağlanma alanını bloke ederek, doğal substratların transport ve metabolizmasını karışarak inhibe ederler. En sık kullanılanlar lamuvidin ve famsiklovirdir.

Lamuvidin: Sitozin analogudur. Revers transkriptaz inhibitörüdür. En az yan etkiye ve toksisiteye sahip olanıdır. HBV' nin prereplikatif formuna etki etmediği için 2 yıl gibi uzun süreyle kullanılmalıdır. Altı aylık kullanımı sonunda çok yüksek HBV DNA değerlerini düşürdüğü tespit edilmiştir (40,41,43). İnterferona yanıt alınamayan vakalarda tek veya kombine şekilde kullanılabilir. Transplant düşünülen hastalarda HBV DNA menfileştirilmesi ve transplant sonrası profilaksi amaçlı kullanılabilir. Uzun süre kullanımıyla mutantların oluşumu, pankreatit ve karaciğer yetmezliği yapabilir.

Lamuvidinin kullanımı ve dozu üzerinde değişik çalışmalar yapılmıştır. Günümüzde birçok merkezde çocuklarda 3-4 mg/kg/gün dozunda Lamuvidin kullanılmaktadır.

Famsiklovir: Asiklik guanin türevidir. Hem HBV DNA' nın katalize ettiği nükleotid zincirini bloke eder, hem de HBV DNA' nın içine girip stabil olmayan DNA molekülü oluşmasını sağlar. İnterferondan fayda görmeyenler de kullanılabilir. Tedavi sırasında rezistan mutantların gelişmesi, ilacın kesilmesiyle replikasyonun tekrar başlaması olumsuz özelliklerindedir.

Asiklovir, gansiklovir, ribavirin, vidarabin, didenozin, zalsitabin, zidovudin gibi ilaçlar, viral replikasyonu baskılamada yetersiz kalmaları, ciddi yan etki ve toksisite yapmaları nedeniyle tedavide kullanılmamaktadır (41-43).

2.12.2.2. İmmünomodulatör İlaçlar:

Kortikosteroidler: Eskiden çok kullanılan bir tedavi iken, viral replikasyonu ve direnci arttırıcı etkisinin görülmesi üzerine artık kullanılmamaktadır.

HBV Aşılıarı: Son yıllarda oldukça sık kullanılmaktadır. HBV' deki immüntoleransı aşmada başarılı olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (41,42).

Timozin: İnterferona yanıtız, yan etki oluşumu nedeniyle tedavi kesilenlerde, dekomprese sirozlularda ve delta hepatitlilerde (HDV) kullanılmaktadır (42).

Levamizol: Uzun süreli kullanımında HBV replikasyonunu önlediği, transaminazları normal seviyeye getirdiği, HBeAg-anti-HBe serokonversiyonu sağladığı gösterilmiştir (40,42,43). Birçok merkezde kullanılır.

Moleküler Biyolojik Yöntemler: DNA aşılıarı, Ribozimler, Dominant Negatif Mutantlar gibi tedaviler henüz deneme aşamasındadırlar.

2.12.2.3. Kombine Tedaviler:

Asiklovir+İnterferon Tedavisi: Tek başına interferon tedavisine üstünlüğü yoktur. Yapılan bir çalışmada 18 tane kombine ve 18 tane sadece interferon alan hasta incelenmiş, sonuçta HBeAg' den anti-HBe' ye serokonversiyon %40 olarak bulunmuştur. Sadece interferon alanlarda ise bu oran %60 bulunmuştur (42).

Levamizol+İnterferon Tedavisi: Epidermal nekroz gibi ciddi yan etkilerin görülmesi ve sadece interferon tedavisine bir üstünlüğünün olmaması üzerine artık sık tercih edilmeyen bir tedavi yöntemidir (42,43).

İL2+İnterferon, Timozin alfa-1+interferon alfa ve interferon gama+interferon alfa tedavileri henüz deneme aşamasında olup etkinlikleri tam olarak kanıtlanamamış diğer seçeneklerdir (42,43).

2.13.APOPTOZİS

Eski Yunanca apo (ayrı) ve ptosis (düşmek) birleşmesiyle oluşmuş ve mitolojide sonbaharda yaprakların düşerek ağacı terk etmesi anlamında kullanılmış bir sözcüktür. Mitolojideki anlamına uyan bir şekilde hücrelerin adeta kuruyarak vücudu terk etmesi ve arkadan gelen yeni hücrelere yer açmasıyla gerçekleşen hücre ölüm tipine apoptozis denmiştir. İlk kez 1973 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Takibinde 1980 yılında Wyllie ve arkadaşları (1) tarafından glukokortikoidlerle karşılaşan timositlerde yapılan çalışmalar bu konuda yapılacak çalışmalara öncülük etmiş ve apoptozisin kanser ile ilişkisi saptandıktan sonra daha büyük önem kazanmıştır.

İlk tanımlanmasından itibaren kısaca programlanmış hücre ölümü şeklinde anlatılmasına rağmen son yıllarda yapılan araştırmalar programlanmış hücre ölümünün 2 şekilde olduğunu ortaya koymuştur:

1-Apoptotik programlanmış hücre ölümü: Apoptozisin tüm morfolojik özelliklerini gösterir. En klasik örneği yenidoğanda görülen timus involüsyonudur.

2-Nonapoptotik programlanmış hücre ölümü: Aynı şekilde programlanmış bir olay söz konusu olmasına rağmen apoptozisde izlenen klasik morfolojik değişiklikler izlenmez. Bununda en klasik örneği fetal hayatta var olan parmak arası perdelerin ortadan kaybolmasıdır. Ancak her iki tipin de ortak özelliği; ölüm öncesi "de novo" gen ekspresyonununun gerekmesidir.

Apoptoz, organizmada normal gelişimin bir parçası olarak ve aynı zamanda değişik fizyolojik, patofizyolojik uyarılara cevap olarak ortaya çıkar. Apoptoz immün sistemin gelişmesi ve fonksiyonları için anahtar rol oynamaktadır. İmmün sistem fonksiyonlarında gelişecek bir bozulma, apoptozda artma ve azalmaya neden olabileceği gibi aksine apoptozun kontrolündeki defektler otoimmün hastalıklar, immün yetmezlik ve lenfoid maligniteler gibi değişik hastalıkların patogenezinin sorumlusu olabilir (44). İmmün sistemde apoptozun düzenlenmesinde, bu olayı hızlandıran veya bloke eden spesifik genler vardır (45) (Tablo 4). Apoptoz ile ilgili bu genler; ligandlar, onların reseptörleri ve sinyal iletili molekülleri kodlarlar. Bunlar arasında lenfoid sistemde en çok üzerinde durulan ve çalışmalar yapılan bcl-2 ve FAS (CD 95) olmuştur.

Tablo 4. Lenfositlerde apoptozu düzenleyen bazı moleküller

Pozitif Düzenleyiciler	Negatif Düzenleyiciler
P53	Bcl-2
Nur 77	Bcl-XL
Glukokortikoid reseptör	
FAS/APO 1	
FADD/M0RT1/CAP1,2	
RIP	
CAP-3	
CAP-4	
Bax	
ICE	
CPP32	
ICE-LAP3	
Granzyme B	

İmmün cevabın düzenlenmesinde FAS ilişkili hücre ölümünün rolü CD 95 (FAS/APO1), tümör nekrozis faktör (TNF) ailesine ait bir hücre reseptörüdür (46). Bu ailenin üyeleri, yüzey proliferasyonu ve programlanmış hücre ölümünü denetleyen transmembran proteinlerdir. Bu gruptaki proteinlerin sisteinden zengin hücre dışı, transmembranöz ve hücre içi olmak üzere üç kısmı vardır. FASL ise FAS molekülünün doğal ligandıdır. FAS ligandın kendi reseptörü olan FAS ile etkileşimi sonucu apoptoz sinyali, yüzeyinde FAS molekülü bulunan hücrenin nükleusuna iletilir ve FAS ekspresyonu olan hücrede apoptoz ile ölüm meydana gelir (47). Bir antijenik uyarımda (yabancı veya self antijen), T hücre reseptör (TCR) yoluyla alınan sinyaller ile aktive olan T hücresinde aynı zamanda FAS ekspresyonu artmakta ve FASL ekspresyonu olmakta, hücre hızla apoptoza gitmektedir. FAS-FASL etkileşimi ya aynı hücrede olmakta ve hücre kendi ölümünü hazırlamakta ya da iki ayrı hücrede etkileşim gerçekleşmektedir. Hücre içinde FAS' ın hücre içi proteinleri olan FADD, RID, CAP3 ve 4 ile ilişkisi ve proteazlar inaktivasyonu ile apoptoz gerçekleşmektedir. Böylece sitotoksikite nonself değil kendi aktive hücrelerine karşı gelişmektedir. FAS-FASL etkileşimi sitotoksik T hücrelerinin hedef hücreyi öldürmesi, örneğin

virüsle enfekte hücrenin yok edilmesinde de etkili olmaktadır. Sitotoksik T hücrelerinin hedef hücreyi öldürmesi iki yolla olmaktadır. Birinci yol; perforin ve granzim içeren granüllerin ekzositozu ve diğeri ise; FAS ligand ile sinyallerin iletilmesidir (47,48). Sitotoksik T hücresi, hedef hücreyi spesifik olarak tanır bu sitotoksik T hücresinde FASL ekspresyonu olur ve hedef hücredeki FAS ile etkileşime girer, apoptozun indüklenmesiyle hücre ölür. CD8+ sitotoksik hücreler (profesyonel sitotoksik T hücreleri) her iki mekanizmayı kullanırken CD4+ T hücre sitotoksitesinde başlıca FAS-FASL sistemi etkilidir (49).

2.13.1. VİRAL HEPATİTLERDE APOPTOZİS

Viral hepatitlerin patogeneğinde karaciğer hücrelerinin apoptozisi anlamlı bir role sahiptir. Patolojik çalışmalarla, hepatitlerde apoptotik hücre ölümü gösterilmiştir. Asidofilik cisimcikler karaciğer hastalıklarında apoptozisin erken tanısında önemlidir. Viral enfeksiyonlarla ilişkili apoptozis sitotoksik T lenfositler aracılığıyla olmaktadır. FAS ve TNF- α sistem dışında perforin/granzyme (Sitotoksik T lenfositlerden salınan sitotoksik granüller) sistemi gibi apoptotik yollarda bulunmaktadır. CTL tarafından salınan sitotoksik grandilerden Granzyme B enfekte hepatosit içine perforinin indüklediği membran porları aracılığı ile geçer ve sitoplazmada bulunan inaktif caspaseaları aktive ederek apoptozise neden olur (5,50,51,52,53).

Akut viral hepatitlerde apoptozisin rolü sınırlıdır (5). Halbuki kronik hepatitlerde apoptozisin artmış olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (5,54,55). Yapılan bir çalışmada fulminan hepatitli 3 hastada hepatositlerde FAS ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Akut hepatitlerin fizyopatolojisinde FAS aracılığı ile apoptozis pek çok canlı hepatositte de tünel (Terminal deoksi nükleotidiltransferaz enzim işaretlemesi ile apoptotik cisimlerin gösterilmesi) metodu ile pozitif sonuçlar elde edilerek gösterilmiştir (56).

Hepatit B ve Hepatit C virusu, kronik karaciğer hastalığında major ajanlardır. Sensitif hepatositlerde apoptozis ve apoptozisin inhibisyonu çalışılmış ve sıçanlarda yapılan bir çalışmada HBV' nin yüksek seviyelerde bulunduğu hücrelerde TNF- α aracılığıyla apoptoziste artış saptanmıştır (57). HBV' nin X

gen ürününe bağlı olarak apoptotik stimulus indüksiyonu da gösterilmiştir (58). Benzer olarak HCV ile enfekte hastalarda HCV' nin viral kor proteini, TNF-R1' in sitoplazmik uzantısını bağlar. Bu bağlanma apoptozisle hücre ölümünü aktive eder. Fakat bu mekanizma hala tam olarak anlaşılammıştır (59,60). HCV' nin NS3 proteini ile yapılan deneysel çalışmalarda aktinomisin ile indüklenmiş apoptozis suprese edilmiştir (61). HCV' nin NS3 ve NS5A proteinlerinin antiapoptotik etkileri gösterilmiştir (62). Apoptozise viral proteinlerin etkisi apoptotik stimülusa bağlıdır. Pek çok sayıda klinik çalışmada kronik HBV ve HCV' li hastalarda immün aracılıklı apoptotik yolların aktivasyonu gösterilmiştir. FAS ve HCV kor antijeni kronik HCV enfeksiyonlu hastaların karaciğer dokusunda çalışılmış ve HCV kor antijen pozitif hepatositlerde FAS' in prevalansı enfekte olmayan hücrelerden daha yüksek olarak anlamlı bulunmuştur (63-65). Kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda karaciğerde FAS sisteminin aktive olduğu gözlenmiştir. FAS yalnızca hepatositlerde yüksek oranda eksprese edilmez (66). FAS mRNA ile yapılan çalışmalarda lenfositik infiltrasyon alanlarında bulunmuştur. Bu da CTL aracılıklı apoptozisin enfekte hepatositlerde FAS sistemi ile desteklendiğini göstermektedir (5,66).

2.14.NİTRİK OKSİD

Nitrik oksid (NO), soluduğumuz havada belli oranda yer alan atmosferik bir gazdır. Sigara dumanı, egsoz gazı ve kirli havada daha yoğun olarak bulunur. 1980' lerde Furchott ve Zawadski (67), organ banyosuna aldıkları izole arter preperatlarında, asetilkolinle oluşturdukları relaksasyonun, kesinlikle endotele bağımlı olduğunu ve bu etkinin labil bir hormonal faktör ile sağlandığını göstermişlerdir. Asetilkolinle oluşturulan bu gevşeme, arteryel endotel ortamdan çıkarıldığında veya harap edildiğinde görülmemiştir. Bu nedenle bu faktör "Endotelium Derived Relaxing Factor" olarak adlandırılmış ve EDRF ile olan araştırmalar hız kazanmıştır. Başlangıçta EDRF, araşidonik asitin lipooksijenaz yolundaki ara ürün olarak değerlendirilmiştir. 1987 yılında ise, Ignarro ve arkadaşları (68) ile Palmer ve arkadaşları (69) ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda, EDRF' yi damar endotelinden izole etmişler ve bu yapının dominant kısmının

NO olduğunu tespit etmişlerdir. Palmer ve arkadaşları, EDRF ile ilgili yaptıkları araştırmada, bu molekülün yarı ömrünün çok kısa olduğu, aktivitesinin saniyeler içinde oluşup, bir başka forma dönüşerek sona erdiği görülmüş ve bu yapının NO olduğu düşünülmüştür. 1988' de Moncada ve arkadaşları (70) EDRF ile NO'nun aynı bileşik olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmalarda NO' nun L-argininden sentezlendiği görülmüş ve reaksiyonu gerçekleştiren enzime nitrik oksit sentetaz (NOS) adı verilmiştir. NO, 1992 yılının Aralık ayında, Amerika' da "Science" dergisi tarafından yılın molekülü seçilmiştir. 1998' de Furchgott, Ignarro ve Murad NO ile ilgili çalışmalarıyla Nobel ödülü almıştır. Renksiz ve son derece toksik bir gaz olan NO' nun serbest radikal yapısında olmasından dolayı yarı ömrü çok kısadır. Lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve suda erir (71,72). Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen NO, bilinen en düşük ağırlıklı, biyoaktif sekresyon ürünüdür. Düşük konsantrasyonlarda iken toksik değildir ve birçok önemli fizyolojik işlevin gerçekleşmesinde rol alır. Perinatal dönemde de NO ve/veya oksidan formları pek çok fizyolojik olayın gelişiminde ve düzenlenmesinde önemli rollere sahiptir (73). Dokuda ve oksijenlenmiş fizyolojik ortamda daha çabuk yıkılır. 3-20 saniye gibi çok kısa yarı ömre sahiptir, kolayca oksitlenir. Reseptörden bağımsız olarak membranlardan kolayca diffüze olabilir. NO omurgalılarda, sitokrom P-450 redüktazın homoloğu olan NOS yardımıyla L-argininden sentezlenir. L-argininin guanido grubundaki terminal nitrojen atomuna moleküler oksijenin katılmasıyla NO ve sitrüllin oluşur. NO sentezlenirken NOS dışında moleküler oksijen ve dört tane kofaktöre ihtiyaç duyar. Bunlar Hem, FAD (flavinadenin dinükleotid), FMN (flavin mononükleotid) ile BH4 (tetrahidrobiyopterin)'dir. NOS enzimi iki şekilde uyarılmaktadır:

1) Yapısal tipe özgü olarak: Asetilkolin gibi bir haberci, endotel hücresi üzerindeki reseptörüne yapışır ve bu uyarı ile Ca^{+2} iyon kanalları açılarak, hücre içi kalsiyum düzeyleri yükselir. Ardından Ca^{+2} un kalmoduline bağlanmasıyla oluşan kompleks, yapısal bir enzim olan eNOS'i uyarır ve L-argininden NO ile sitrüllin oluşur. Oluşan NO endotelden çıkarak komşu düz kas hücrelerine girer. Düz kas hücrelerinin sitozolündeki guanilat siklaz hem grubundaki demire bağlanır, onu aktive eder ve GMP' den cGMP oluşumunun artmasına neden olur. Artan cGMP

ise düz kasların gevşemesine ve damarlarda vazodilatasyona neden olur. Ayrıca diğer bir yapısal enzim olan NOS' da aynı mekanizma ile uyarılmaktadır (74,75). Özellikle damar endotel hücreleri, ürogenital sistem dokuları, santral ve periferik sinir sistemi nöronları, adrenal korteks ve medulla hücreleri, trombositler, barsak ve uterus interstisyumunda bulunmaktadır. Normal biyolojik sistemlerde düşük miktarlardaki NO sentezinden sorumludur. Kalsiyumu arttıran uyarı kesilince hücre içi kalsiyum azalmaya başlar ve enzim aktivitesi ortadan kalkarak NO sentezi durur. Sonuç olarak cNOS ilgili hücrelerde daima mevcuttur, fakat kalsiyum düzeyi yükselinceye kadar inaktif durumdadır (75,76). Yapısal NOS' un nNOS ve eNOS olarak adlandırılan iki izoformu vardır. Nöronal ve epitelial hücrelerdeki enzimi kodlayan gen (nNOS) 12. kromozomda, endotelial hücrelerdeki enzimi kodlayan gen ise (eNOS) 7. kromozomda bulunur.

2) indüklenebilir (iNOS): Burada lipopolisakkaritler ve sitokinler gibi ajanların Ca^{+2} ye bağımlı olmadan NOS' u indüklemeleri söz konusudur. İlgili hücrede önceden NOS yoktur veya çok azdır. Uyarıcılar tarafından transkripsiyonel olarak (mRNA artışıyla) enzim sentezi indüklenir ve sonuçta oluşan NO amacına uygun işlevini gerçekleştirir. Bu sistem özellikle makrofajlarda görülür, bu tip enzim indüklenebilir NOS olarak adlandırılır (76,77). İlk olarak endotoksin ve sitokinler tarafından uyarılan makrofaj ve karaciğer hücrelerinde tanımlanmıştır. Mürin makrofajlarına ve rat nötrofillerine, gama interferon ve lipopolisakkarit uygulanarak yapılan çalışmalarda, iNOS' unda cNOS gibi dimerik yapıda ve sitozolik bir protein olduğu bildirilmiştir. Bu izoform aktivasyon için Ca^{+2} a bağımlı değildir. Bunun nedeni enzimin kalmodülin ile çok sıkı bağlanmış olması olabilir. Ancak kalmodülinin buradaki rolü bilinmemektedir. iNOS başta makrofajlar (monosit, histiyosit, kupfer hücreleri vs.) olmak üzere polimorfonükleer lökositler, hepatositler, damar düz kasları, damar endoteli, astrosit ve kondrositler tarafından üretilir. Enzim indüklendiği zaman NO üretimi, yapısal formdaki gibi kısa sürmez, saatlerce hatta günlerce devam edebilir. Özellikle nonspesifik immunitede önemli rol oynar. Bakteri, mantar, virüs ve tümör hücreleri ile protozoonlara sitotoksik veya sitostatik etki oluşturur. İnflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda rol oynadığı bildirilmiştir. iNOS hücrenin genel yapısında mevcut değildir. Ancak hücrenin bakteriyel ürünler ve sitokinler ile temasını takiben bir çok

hücrede yapımı uyarılır. Bu uyarılma enzimi sentezleyen mRNA' nın artışı yoluyla olmaktadır. İNOS' u kodlayan gen 17. kromozomdadır (75-77). NO' nun inaktivasyonu: NO hemoglobin, süperoksit radikali veya serbest oksijen ile reaksiyona girdiğinde geri dönüşümsüz olarak inaktive edilir. NO demir içeren hemoglobin molekülüne bağlanıp methemoglobini oluşturur. Oluşan methemoglobin hızla methemoglobin redüktaz enzimi ile hemoglobin, nitrit (NO-2) ve nitrata (NO-3) dönüşür (78,79). Kanda nitrit hızla nitrata dönüştüğünden nitrit konsantrasyonları, nitrata göre çok daha düşüktür. Nitrat ve nitritin biyolojik etkileri yoktur, ancak plazma ve idrarda miktarlarının ölçülmesi NO yapımını yansıtan iyi bir göstergedir (80).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniğinde 2001-2006 yılları arasında kronik hepatit B tanısı ile izlenen 69 hasta dahil edildi.

Tüm hastaların hastalık süreleri kaydedildi. Hastalık süresi, hastalığın tanısının konulduğu ilk tetkik tarihinden itibaren geçen süre olarak kabul edildi.

Hastalar kliniğimize başvurduktan sonra en az 6 ay süre ile takip edildi. Hastalara kronik hepatit B tanısı klinik, serolojik ve biyokimyasal incelemeler sonunda konuldu.

Çalışma kapsamına alınan çocuklar 3 grupta toplandı. Bunlar; grup I: Kronik asemptomatik taşıyıcı – 32 hasta, grup II: Kronik aktif hepatit – 37 hasta ve kontrol grubu: 32 sağlıklı çocuktan oluşmaktaydı.

Asemptomatik HBsAg taşıyıcı hastaların olduğu I. grupta çalışmaya katılma kriterleri:

- HBsAg pozitifliği > 6 ay
- HBeAg negatif, anti-HBe pozitifliği
- Serum HBV DNA düzeyinin < 10⁴ kopya/ml olması
- Serum transaminaz düzeylerinin normalin üst değerinin 1,5 katından daha düşük seyretmesi
- Karaciğer biyopsisinde önemli hepatit bulgularının olmaması (nekroinflamatuvar skor < 4)

Kronik aktif hepatit B hastalarından oluşan II. grup içerisinde 29 hasta tedavi verilmeden izlenmekte, 8 hasta ise tedavi almaktaydı.

Kronik aktif hepatit B tanısı alıp tedavi almayan grubun çalışmaya katılma kriterleri:

- HBsAg pozitifliği > 6 ay
- HBeAg pozitifliği, anti-HBe serokonversiyonun olmaması

-Serum transaminaz düzeylerinin normalin üst değerinin 1,5 katından daha düşük seyretmesi

-Serum HBV DNA düzeyinin $10^5 \geq$ kopya/ml olması

-Karaciğer biyopsisinde önemli hepatit bulgularının olmaması (nekroinflamatuvar skor < 4)

Kronik aktif hepatit B tanısıyla izlenip tedavi alan hastaların çalışmaya katılma kriterleri:

-HBsAg pozitifliği > 6 ay

-HBeAg pozitifliği, anti-HBe serokonversiyonun olmaması

-Serum transaminaz düzeylerinin normalin üst değerinin 1,5 katından daha yüksek seyretmesi

-Serum HBV DNA düzeyinin $10^5 \geq$ kopya/ml olması

-Karaciğer biyopsisinde önemli hepatit bulgularının olması (nekroinflamatuvar skor >4)

-Hastaların yaşlarının 1-18 arası olması

-Beyaz küre sayısının $3000/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde olması

-Trombosit sayısının $100000/\text{mm}^3$ 'ün üzerinde olması

-Hemoglobin değerlerinin normal sınırlarda olması.

Bu alışma için Fakültemiz bünyesinde bulunan Etik Kurul onayı alındı. Çalışmaya alınan tüm hastaların anne veya babalarından tedavi için onay alındı.

Bu alışmaya;

-Hepatit B ile birlikte anti-HCV (+), HCV RNA (+), HIV (+) olanlar

-Alfa-1 antitripsin eksikliği olanlar,

-Wilson hastalığı olanlar,

-Otoimmün hepatiti olanlar

-Delta Ag pozitifliği olanlar

-Hemofili ve antikoagölan tedavi alanlar.

-Dekompanse siroz olanlar,

-Hepatoselüler karsinom,

-Malign hastalığı olanlar,

-Psikiyatrik hastalık,

-Aktif konvülsiyon,

- Hemoglobinopati,
- Renal yetmezlik,
- İmmün yetmezlik,
- Çalışma sırasında nonspesifik veya spesifik ateşli hastalığı olanlar dahil edilmedi.

Çalışmamıza aldığımız hastaların yaş, cinsiyet, hastalık süreleri ve takip süreleri belirlenip elde edilen veriler kaydedildi. Kronik asemptomatik taşıyıcı olan hastaların başlangıçta ve altı ayda bir, kronik aktif hepatit B olup tedavi almayanlar ise başlangıçta ve üç ayda bir ALT, HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, antiHBc-total, serum HBV DNA değerleri takip edildi. Kronik aktif hepatit B olup tedavi alan hastalarında tedavi öncesi, tedavinin üçüncü ayının sonunda ve altıncı ayının sonunda HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, antiHBc-total, HBV DNA değerleri takip edildi.

Çalışma kapsamında tedavi alan hastalarda;

- HBV DNA'nın kaybolması
- HBsAg'nin anti-HBs' ye dönüşümü
- HBeAg' nin kaybolması
- ALT seviyesinin normale dönmesi

tedaviye tam yanıt,

- HBV DNA' nın kaybolması
- HBeAg' nin kaybolması
- ALT' nin normal seviyeye dönmesi

kısmi yanıt olarak belirlendi.

ALT Tayini:

Serum ALT tayini Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında yapıldı. Hastalardan alınan en az 3 cc kan 5-6 dakika bekletildikten sonra santrifüj edilip serumu ayrıldı. Serum ayırımının ardından serum örneği biyokimya analizöründe (Hitachi 90; Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, USA) spektrofotometrik olarak ölçüldü. Serum ALT değeri için normalin üst sınırı 45 U/L olarak kabul edildi.

Viral Marker'lerin Tayini:

HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, antiHBc-total değerleri, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışıldı. Hastalardan en az 5cc kan alınıp 5-10 dakika bekletildikten sonra serumu ayrıştırıldı. Elde edilen serumdan Elisa yöntemiyle (AxSYM, Abbott Diagnostics Division, Wiesbaden, Germany) viral markerlar değerlendirildi.

HBV DNA Tayini:

HBV DNA kantitatif değeri Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışıldı. Hastalardan en az 5 cc kan alınıp 5-10 dakika bekletildikten sonra serumu ayrıştırıldı. Hastaların serumları Cobas Amplicor HBV Monitör Test (Roche Diagnostics Systems, Branchburg, USA) ile çalışıldı.

Karaciğer Biyopsisi:

Çalışmaya aldığımız 69 hastadan 8 tanesine karaciğer biyopsisi yapıldı. Bu 8 hastanın 7 tanesinin karaciğer biyopsisi fakóltemiz Radyoloji Anabilim Dalı tarafından alındı ve alınan biyopsi materyalleri fakóltemiz Patoloji Anabilim Dalında değerlendirildi. Bir hastanın karaciğer biyopsisi ise Ankara Dışkapı SSK hastanesi'nde alındı ve değerlendirildi.

NO Analizi:

NO tayini için periferik kan örnekleri EDTA içeren tüplerde toplandı. Sonra örnekler, 15 dakika boyunca 4 derecede 5000 devir/dakikada santrifüj edildi ve analiz edilene kadar -80 derecede muhafaza edildi. Örnekler 1:2 v/v karışımında saf etanol ile proteinlerden arındırıldı. 14000 devirde 5 dakikalık santrifüjü takiben 30 dakikada 0 derecede inkübe edildi. ökelti atılarak süpernatant, NO seviyelerini ölçmek için kullanıldı. NO seviyelerini ölçmek için NO/ozon kemiluminesans tekniği uygulandı (Model 280i NOA, Sievers Instruments, Boulder, CO, USA). Özetle indirgeyici solüsyonu (vanadyumIII) kloridin M HCL de çözünmesi ile hazırlandı ve kullanmadan önce filtre edildi. Nitrat, nitrit ve S-Nitroso bileşiklerini NO' ya dönüştüren indirgeyici ajan ile reaksiyona girmesi için örnekler ve standartlar sisteme enjekte edildi. Devamlı saf nitrojen akımı reaksiyon oluşan

NO' un sisteme iletilmesinde kullanıldı. Her bir örnek, örneğin kaynağını bilmeyen birisi tarafından iki kez analiz edildi. Standart bir eğri, sodyum nitratın bir seri dilüsyonu (0,1-100 mikromol) ile oluşturuldu. Örneklerdeki NO metabolitlerinin konsantrasyonları, standart eğri ile karşılaştırılmasıyla belirlendi ve mikromolar olarak ifade edildi. Veri toplama ve analizi NO Analysis TM programı (Versiyon 3.21, Sievers, Boulder, CO, USA) kullanılarak gerçekleştirildi.

CD 95 Analizi:

CD 95 tayini için, 2 cc venöz kan EDTA'lı tüpe alındı. Bu kandan 100 mikrolitre alındı ve bu kan 15 mikrolitre monoklonal antikor ile muamele edildi. 30 dakika inkübasyonda bekletildikten sonra Lysing solüsyonu ile karıştırıldı ve 10 dakika karanlıkta tekrar inkübasyona bırakıldı. Ardından 1200 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üzerindeki süpernatant dökülen materyal, PBS (fosfat buffer solüsyonu) ile muamele edilip tekrar 1200 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üzerindeki süpernatant dökülen materyal çalışmaya hazır hale getirildi. CD 95 tayini için FACsort Flowcytometry (Becton Dickinson Immuncytometry Systems,USA) cihazı kullanıldı. Lenfosit "gate"i alınarak CD 95 ekspresyon oranı % olarak değerlendirildi. Monoklonal antikor olarak ise Control IgG1-IgG2 kullanıldı.

İstatistiksel değerlendirme:

Çalışmamız sonucunda elde edilen verilerin analizi , SPSS PC paket programı ile yapıldı. Karşılaştırmalar Independent-Samples-t Test yöntemi ile yapıldı. P değeri 0,05' in altındaki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniğinde 2001-2006 yılları arasında kronik hepatit B tanısı ile izlenen 69 hasta dahil edildi. Hastaların 46' sı erkek (%66,6), 23' ü kızlardan (%33,3) oluşmaktaydı. Tüm hastaların yaş ortalaması 9,68 yıl olup yaşları 2-15 arasında değişmekteydi. Erkeklerin yaş ortalaması 9,8 yıl olup en küçüğü 2, en büyüğü 15 yaşındaydı. Kızların yaş ortalaması 9,43 yıl olup en küçüğü 4, en büyüğü 14 yaşındaydı. Kontrol grubu olarak 32 sağlıklı çocuk seçildi. Hastaların gruplara göre yaş ve cinsiyet dağılımları tablo 5 ve tablo 6' da verilmiştir.

Tablo 5. Çalışma grupları arasında yaş dağılımı

Yaş	* GrupI	** GrupII	Kontrol
0 - 4	1	4	0
5 - 8	11	10	13
9 -12	10	17	17
> 12	10	6	2
Toplam	32	37	32

* Grup I: Kronik asemptomatik HBsAg taşıyıcı olan hastalar

** Grup II: Kronik aktif hepatit B olan hastalar

Tablo 6. Gruplara göre cinsiyet dağılımı

	Erkek		Kız	
	(n)	(%)	(n)	(%)
Grup I	21	20,7	11	10,8
Grup II	25	24,7	12	11,8
Kontrol	18	17,8	14	13,8
TOPLAM	64	63,2	37	36,4

Çalışmaya aldığımız tüm hastalarda HBV enfeksiyonu bulaşma yolu sorgulandı. Grup I' de 25 hastada horizontal bulaşma tespit edilirken, 7 hastada bulaşma yolu tespit edilemedi. Grup II' de 27 hastada horizontal bulaşma, bir hastada perinatal bulaşma tespit edilirken, 9 hastada bulaşma yolu tespit edilemedi.

Çalışmaya dahil edilen ve kronik asemptomatik taşıyıcı kabul edilen grup I' de 29 hastada başlangıçta ALT normal, 3 hastada ise yüksek tespit edildi. Bu 3 hastanın ALT'si normalin üst değerinin 1,5 katından daha düşük olması ve HBeAg' lerinin negatif olması nedeniyle grup I' e dahil edildi. En az 6 aylık izlem sonunda 28 hastada ALT normal olup, bunların içinde başlangıçta ALT' si yüksek olan hastaların 2' si de bulunmaktaydı. Dört hastada ise yüksek seyrettiği görüldü ve bunların içinde de 1 hastanın başlangıçtan beri ALT değerinin yüksek olduğu, 3 hastada ise sonradan yükseldiği tespit edildi.

Grup I'e dahil edilen kronik asemptomatik HBsAg taşıyıcısı tanısı alan 32 hastanın başlangıçta HBeAg' leri negatif olup en az 6 aylık izlem sonunda hiçbirinde antiHBe serokonversiyonu gözlenmedi. Yine bu 32 hastanın 1' inde başlangıçta HBV DNA pozitif iken diğer 31 hastada HBV DNA negatifti. En az 6 aylık süre sonunda 3 hastada HBV DNA pozitif tespit edildi. Bu 3 hastanın 1' inde HBV DNA başlangıçta da pozitif iken diğer 2 hastanın ise sonradan pozitif olduğu gözlemlendi. HBV DNA (+) olan hastaların ALT değerleri ise normal sınırlardaydı.

Grup II kabul edilen kronik aktif hepatit B tanısı alan 37 hastanın 8'ine interferon ve lamuvidinden oluşan kombine tedavi verildi. Bir hastanın tedavisi dış merkezde başlanmış olup fakültemizde devam etmektedir. Bir hastanın tedavisi tamamlanmış olup diğer 7 hastanın tedavisi halen devam etmektedir. Diğer 29 hasta ise tedavisiz izlenmektedir.

Kronik aktif hepatit B tanısı olan ve tedavi almayan 29 hastanın 14' ünde ALT başlangıçta normal olup, 15 hastada yüksek tespit edildi. En az 6 aylık takip sonunda 20 hastada ALT normal olduğu, bu hastaların 7' sinin başlangıçta da ALT değerinin yüksek olduğu hastalardan oluştuğu görüldü. Altı aylık izlem sonunda ALT değeri yüksek olan 9 hastanın birisinin başlangıçta ALT'nin normal olduğu görüldü.

Grup II' ye dahil edilen ve tedavi almayan 29 hastada başlangıçta HbeAg pozitif olup hastalığın tanısının konulduğu ilk tetkik tarihinden itibaren en az altı ay sürelik izlem sonunda hiçbirinde HbeAg negatifleşip antiHbe serokonversiyonu gözlenmedi.

Kronik aktif hepatit B tanısı alan ve tedavi almayan 29 hastanın 24' ün de başlangıçta HBV DNA pozitif iken altı aylık izlem sonunda halen HBV DNA pozitifliğinin devam ettiği görüldü. Bir hastanın ise başlangıçta HBV DNA' sı negatif iken altı aylık izlem sonunda pozitifleştiği görüldü.

Grup II' ye dahil edilen ve tedavi alan 8 hastanın tümünün başlangıçta ALT değerlerinin yüksek olduğu, tedavi altında en az 6 aylık izlem sonunda 6' sının ALT değerlerinin normale döndüğü, 1' nin yüksek seyrettiği tespit edildi. Bir hastanın ise tedavisinin henüz başında olduğu için ALT değeri hakkında veri yoktu.

Tedavi alan 8 hastanın tümünün başlangıçta HBeAg pozitif olup tedavinin başlangıcından sonra en az 3 aylık izlem sonunda 4 hastada HbeAg negatifleşip antiHbe serokonversiyon oluşumu gözlendi. Üç hastada ise HBeAg pozitifliği devam etmiş olup 1 hastanın tedavisi henüz 3 ayını tamamlamadığı için antiHBe serokonversiyonu hakkında veri elde edilemedi.

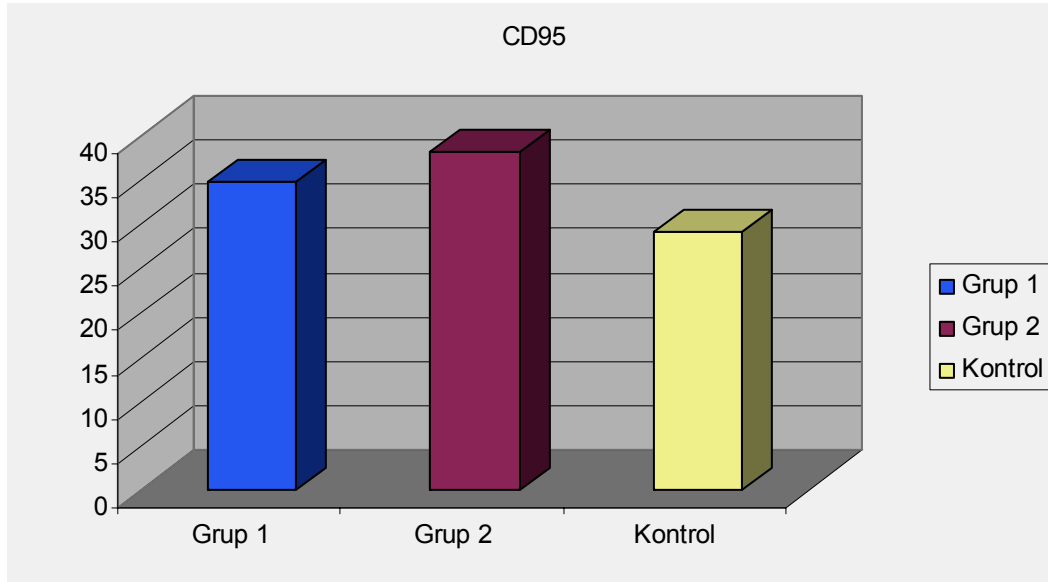
Grup II' de yer alan ve tedavi verilen 8 hastanın tümünde başlangıçta HBV DNA pozitif iken 6 aylık tedavi sonrasında 4' ünde HBV DNA'nın negatifleştiği tespit edildi. Üç hastada ise HBV DNA pozitifliğinin devam ettiği görüldü.

Çalışmaya katılan tüm hastaların, yaş, cinsiyet, hastalık süresi, bulaş yolu, serum ALT düzeyi, HBeAg pozitifliği, HBV DNA düzeyi, ebeveyn ve kardeş HBV pozitiflikleri gibi veriler tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 7. Grupların demografik ve klinik özellikleri

Özellikler	Grup I n=32	Grup II n=37	Kontrol n=32
Yaş ortalaması (yıl)	10,1 ± 3,1	9,3 ± 3,3	9,2 ± 1,8
Yaş sınırları (yıl)	4-15	2-14	7-14
Cinsiyet (E/ K)	21 / 11	25 / 12	18 / 14
Hasta takip süresi (ort/ay)	25,9 ± 20,5	26,1 ± 22,6	
Biyopsi	(-)	8/37	
Bulaş yolu horizontal	25	27	
vertikal	(-)	1	
post-op	(-)	(-)	
bilinmeyen	7	9	
Akut başlangıç	6	2	
Serum ALT seviyesi < 45	29	14	32
≥45	3	23	
HBeAg (başlangıç) (+)	(-)	37	
AntiHBe.(başlangıç) (+)	32	(-)	
HBeAg (son) (+)	(-)	33	
AntiHBe (son) (+)	32	4	
HBV DNA (başlangıç) (-)	31	5	
(+)	1	32	
HBV DNA (son) (-)	29	9	
(+)	3	28	
Anne HBV pozitifliği	15	19	
Baba HBV pozitifliği	4	9	
Kardeş HBV pozitifliği	14	16	

Grup I, grup II ve kontrol grubunun CD 95 değerleri incelenerek karşılaştırıldığında; grup I' de CD 95 değerleri 7 - 60 arasında değişmekte olup ortalaması $34,8 \pm 9,1$ olarak bulundu. Grup II' de CD 95 değerleri 8 – 59 arasında olup ortalaması $38,1 \pm 12,4$ bulundu. Kontrol grubunda ise CD 95 değerleri 19 – 48 arasında değişmekte olup ortalaması $29,1 \pm 8,1$ bulundu.



Şekil 3. Gruplarda CD 95 düzeyleri

Grup I ile kontrol grubu CD 95 düzeyleri için karşılaştırıldığında grup I' de değerlerin belirgin şekilde yüksek olduğu tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı (Tablo 8, $p < 0,05$). Benzer şekilde grup II ile kontrol grubu CD 95 düzeyleri için karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı (Tablo 8, $p < 0,05$). Grup I ile grup II arasında CD 95 düzeyleri için karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 8, $p > 0,05$).

Tablo 8. Grup I, grup II ve kontrol grubundaki CD 95 düzeylerinin karşılaştırılması (p değerleri)

	Grup I (n: 32)	Grup II (n: 37)	Kontrol (n: 32)
CD 95 (%)	$34,8 \pm 9,1$	$38,1 \pm 12,4$	$29,1 \pm 8,1$
Grup I	-	0,208	0,011
Grup II	0,208	-	0,001
Kontrol	0,011	0,001	-

Çalışmaya dahil edilen tüm HBsAg (+) hastalar, diğer bir ifadeyle hem grup I hem de grup II' deki hastalar ile kontrol grubu arasında CD 95 değerleri karşılaştırıldığında hasta grubunda belirgin yüksek değerler saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (Tablo 9, $p < 0.05$).

Tablo 9. Grup I + II ve kontrol grubu arasında CD 95 düzeylerinin karşılaştırılması

	Grup I + II (n: 69)	Kontrol (n: 32)	P değeri
CD 95 (%)	36,5 ± 11	29,1 ± 8,1	0,001

Grup I ve grup II'deki ALT' si normal ve ALT' si yüksek olan hastaların CD 95 değerleri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 10, $p > 0.05$). Yine benzer şekilde grup I ve grup II'ye dahil edilen HBeAg (-) ve HBeAg (+) olan hastaların CD 95 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 10, $p > 0.05$). Grup I ve II'deki hastalardan HBV DNA (-) ve HBV DNA (+) olan hastaların CD 95 değerleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 10, $p > 0.05$).

Tablo 10. ALT normal, ALT yüksek, HBeAg (-), HBeAg (+), HBV DNA (-) ve HBV DNA (+) hastaların CD 95 düzeylerinin karşılaştırılması (p değerleri)

	ALT normal n:43	ALT yüksek n:26	HBeAg (-) n:32	HBeAg(+) n:37	HBV DNA (-) n:36	HBV DNA (+) n:33
CD 95 (%)	33,8 ± 10	35,9±13,3	35,5±9,5	37,8±12,5	36,2±9,5	36,9±12,8
ALT normal	-	0,405	-	-	-	-
ALT yüksek	0,405	-	-	-	-	-
HBeAg (-)	-	-	-	0,383	-	-
HBeAg (+)	-	-	0,383	-	-	-
HBV DNA (-)	-	-	-	-	-	0,802
HBV DNA (+)	-	-	-	-	0,802	-

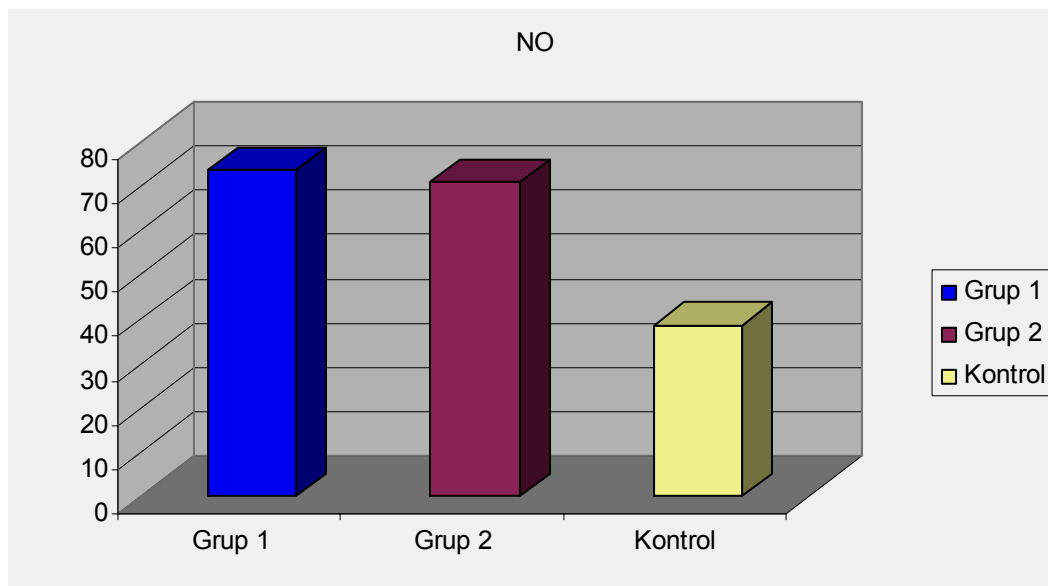
Grup I ve II' deki tedavi almayan ve tedavi alan hastalar arasında CD 95 değerleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 11, $p>0.05$).

Tablo 11. Tedavi almayan grup ile tedavi alan grup arasında CD 95 düzeylerinin karşılaştırılması

	Tedavi almayan (n: 61)	Tedavi alan (n:8)	P değeri
CD 95 (%)	36,1 ± 11,0	40,1 ± 11,4	0,341

Biyopsi yapılan olgularda nekroinflamatuvar skor ile CD 95 düzeyleri arasında olası bir ilişki araştırılmak istendi. Fakat istatistiksel olarak mevcut olan non parametrik testlerin güvenilirliğinin düşük olması nedeniyle karşılaştırma yapılamadı.

Grup I, grup II ve kontrol grubunun NO değerleri incelenerek karşılaştırıldığında; grup I'de NO değerleri 28,8 – 204,6 mikromolar arasında olup ortalaması $73,7 \pm 38,9$ mikromolar olarak bulundu. Grup II'de NO değerleri 17,8 – 185,1 mikromolar arasında değişmekte olup ortalaması $71,0 \pm 35,5$ mikromolar bulundu. Kontrol grubunda NO değerleri 16,2 – 87,3 mikromolar arasında olup ortalaması $38,5 \pm 17,3$ mikromolar bulundu.



Şekil 4. Graplarda nitrik oksid düzeyleri

Grup I ile kontrol grubu arasında NO değerleri incelenerek karşılaştırıldığında belirgin şekilde yüksek olduğu tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (Tablo 12, $p < 0.05$). Yine benzer şekilde grup II ile kontrol grubu arasında NO değerleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Tablo 12, $p < 0.05$). Grup I ile grup II arasında NO değerleri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 12, $p > 0.05$).

Tablo 12. Grup I, grup II ve kontrol grubunun NO düzeylerinin karşılaştırılması (p değerleri)

	Grup I (n: 32)	Grup II (n: 37)	Kontrol (n: 32)
NO (mµ)	73,7 ± 38,9	71,0 ± 35,5	38,5 ± 17,3
Grup I	-	0,767	0,0001
Grup II	0,767	-	0,0001
Kontrol	0,0001	0,0001	-

Çalışmaya dahil edilen tüm HBsAg (+) hastalar diğer bir ifadeyle hem grup I hem grup II' deki hastalar ile kontrol grubu arasında NO değerleri karşılaştırıldığında hasta grubunda belirgin yüksek değerler saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (Tablo 13, $p < 0.05$).

Tablo 13. Grup I + Grup II ve kontrol grubu arasında NO düzeylerinin karşılaştırılması

	Grup I + Grup II (n: 69)	Kontrol (n: 32)	P değeri
Nitrik oksid (mµ)	72,2 ± 36,9	38,5 ± 17,3	0,0001

Grup I ve grup II' ye dahil edilen hastalarda ALT' si normal ve ALT' si yüksek olanların NO değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 14, $p > 0.05$). Yine benzer şekilde grup I ve grup II' deki HBeAg (-) ve HBeAg (+) olan hastaların NO değerleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 14, $p > 0.05$). Grup I ve grup II' deki hastalardan HBV DNA (-) ve HBV DNA (+) olanların NO değerleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 14, $p > 0.05$).

Tablo 14. ALT normal, ALT yüksek, HBeAg (-), HBeAg (+), HBV DNA (-) ve HBV DNA (+) hastaların NO düzeylerinin karşılaştırılması (p değerleri)

	ALT normal n: 43	ALT yüksek n: 26	HBeAg (-) n: 32	HBeAg(+) n: 37	HBV DNA (-) n: 36	HBV DNA (+) n: 33
NO (mμ)	61,1 \pm 37,9	63,3 \pm 25,5	73,1 \pm 36,9	71,3 \pm 37,4	77,0 \pm 39,5	66,3 \pm 33,1
ALT normal	-	0,805	-	-	-	-
ALT yüksek	0,805	-	-	-	-	-
HBeAg (-)	-	-	-	0,837	-	-
HBeAg (+)	-	-	0,837	-	-	-
HBV DNA (-)	-	-	-	-	-	0,235
HBV DNA (+)	-	-	-	-	0,235	-

Grup I ve grup II' deki tedavi almayan ve tedavi alan hastalar arasında NO değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 15, p>0.05).

Tablo 15. Tedavi almayan grup ile tedavi alan grup arasında NO düzeylerinin karşılaştırılması

	Tedavi almayan (n: 61)	Tedavi alan (n: 8)	P değeri
Nitrik oksid (mμ)	70,9 \pm 38,1	82,5 \pm 25,6	0,409

Biyopsi yapılan olgularda nekroinflamatuvar skor ile NO düzeyleri arasında olası bir ilişki araştırılmak istendi. Fakat istatistiksel olarak mevcut olan non parametrik testlerin güvenilirliğinin düşük olması nedeniyle karşılaştırma yapılamadı.

5. TARTIŞMA

Hepatit; virüslerin, toksinlerin, kimyasal maddelerin, otoimmün olayların veya bakterilerin neden olduğu karaciğer inflamasyonudur. Klinikte görülen hepatitlerin büyük çoğunluğu virüslere bağlıdır. Kronik hepatit B, hepatit B virüsünün neden olduğu uzun süreli iltihabi karaciğer hastalığıdır. Bugün, dünyada 400-500 milyon insan hepatit B virüs taşıyıcısı olarak bulunmaktadır. Yaklaşık 4 milyon kişinin HBV taşıyıcısı olduğu düşünülen ülkemizde, HBV enfeksiyonuna maruz kalanların ortalama %10' u kronikleşmektedir. Bu oran perinatal bulaş yolu ile enfekte olan hastalarda %90 gibi çok yüksek oranlara çıkmaktadır. Hepatit B enfeksiyonu sırasında oluşan karaciğer hücre hasarının mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Patogeneizde genel olarak immün kökenli sürecin etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca HBV' ye bağlı hücre hasarında HBV' nin doğrudan sitolitik etkisi olduğunu tespit eden çalışmalar vardır. HBV enfeksiyonu patogenezinde bir dizi olayın başlamasını komuta eden immünitinin başrol oynadığı bir gerçektir. Eğer virüs bu sistemlerde bir defekt oluşturur yada onların temel komponentlerini nötralize ederse enfeksiyon kronikleşmektedir. Viral hepatitlerin kronikleşmesinde özellikle de hücreyel immünite rol oynamaktadır. Kronik hepatit B enfeksiyonlarının tedavi edilmesi hem hastalığın remisyona sokulması hem de diğer kişilere bulaştırılmaması açısından önemlidir.

Çalışmamıza dahil edilen kronik hepatit B tanısı ile ortalama 2 yıl izlenen 69 hastadan 46' sı (%66,6) erkek, 33' ü (%47,8) kız idi. Bu bulgu, kronik HBV enfeksiyonunun erkeklerde daha fazla görülmesi ile ilişkili veriler ile paralellik göstermektedir (81,82). Erkeklerde daha fazla kronikleşme, HBV S geni üzerinde bulunan "glucocorticoid-responsive element" (GRE) denilen bir genom bölgesinin etkinliğine bağlanmaktadır. Glukokortikoid varlığında gen ekspresyonu 5 kata varan oranlarda artmaktadır. Glukokortikoidler HBV ile infekte hastalarda in vivo HBsAg düzeyini arttırmaları. Bu mekanizmanın, HBV' nin cinsiyete dayalı farklı davranış kalıbının bir bölümünü açıklayabileceği ileri sürülmektedir (83).

HBV ile enfekte 47 hastanın ebeveynleri de HBsAg taşıyıcılığı açısından araştırıldı. Annelerdeki HBsAg pozitiflik oranı %70,8, babalarda ise %27,6 olarak bulunmuş olup, aile içi HBV pozitifliğinin normal popülasyona oranla son derece yüksek olduğunu gösteren bu rakamlar, literatür verileri ile uyumlu idi (81).

Türkiye' deki HBsAg seroprevalansı bölgeden bölgeye değişmekle birlikte bu oran %3,9-12,5 olarak belirlenmiştir (12). Bu değerler orta derecede endemisite bölgesinde olduğumuzu göstermektedir (12). Türkiye' de çocukluk yaş grubunda HBsAg seroprevalansının incelendiği çalışmalar çok fazla yeterli olmamakla birlikte çocuklarda %2-12 oranında HbsAg pozitifliği saptanmıştır (11).

Orta endemisite gösteren bölgelerde en sık horizontal bulaş görülmekle birlikte diğer bulaşma yolları da enfeksiyonun yayılmasında rol alır. Bizim çalışmamıza katılan hastaların % 73,5' da horizontal bulaşma tespit edilmiş olup bu sonuç orta endemisite bölgesinde kabul edilen ülkelerdeki bulaş yolları ile benzerlik göstermektedir. (15)

Hastalığın süresinin de tedaviye verilen cevaba ve klinik bulgulara etkisi söz konusudur. Ülkemizde yetişkinlerde HBV enfeksiyonu çoğunlukla küçük yaşlarda alınmasına rağmen tanı genellikle geç konulmaktadır. Böylece virüs daha fazla süre replikatif fazda kalacak ve tedaviye daha dirençli olacaktır (84). Batılı ülkelerde taramalar daha etkin yapıldığından tanılar daha erken konulmaktadır. Çalışmamıza dahil olan hastaların ortalama 2,2 yıl gibi bir hastalık süresi tespit edilmiştir. Üstelik hastalarımızdan 2 yaşındaki birisinin perinatal yolla HBV ile enfekte olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan aile taraması sırasında tanısı konulan ve horizontal yolla bulaştığı kabul edilen 52 hastanın ise tesadüfen tanı konulduğu da düşünülürse, bu hastaların HBV ile temas sürelerinin daha uzun zaman önce olduğu düşünülmelidir. Bu da tedavinin başarısını olumsuz yönde etkileyen parametreler arasındadır.

Kronik hepatitli hastaların takibi sırasında serum AST, ALT, GGT, alkalen fosfataz (ALP), bilirubin değerleri gibi biyokimyasal testler kullanılmaktadır. Genelde kronik hepatit aktivitesi ile serum ALT ve AST değerleri arasında pozitif bir ilişki saptanmaktadır. Yapılan çalışmalarda da bu ilişki gösterilmiştir (85,63). Özellikle ALT karaciğere daha spesifik bir testtir. Serum düzeyinin artışı

karaciğer hasarını yansıtabilmektedir. Bizim çalışmamızda 21 hastada serum ALT düzeyi yüksek seyretmekte olup, bu hastaların 17' sinde (%80) hastalık kronikleşmiştir. Bu da serum transaminaz değerleri ile kronik hepatit aktivitesi arasında anlamlı bir korelasyon olduğu görüşünü desteklemektedir.

Kronik HBV hastalığının seyrinde en önemli parametre HBsAg kaybıdır. Uzun süreli tedavi ve takip sonunda HBsAg kaybının artabileceği bildirilmektedir (86). Bizim çalışmamız sonucunda HBsAg kaybına rastlanmamıştır. Fakat çalışmamızda hastaların büyük kısmı kronik HBV için kısa bir süre sayılan ortalama 2 yıl kadar izlendiğinden, HBsAg kaybının oluşmayacağı düşünülmeli ve bu hastalar daha uzun süreli takip edilerek HBsAg kaybı açısından nihai olarak değerlendirilmelidir.

Diğer yandan çocuklarda spontan olarak HbeAg/anti-Hbe serokonversiyonu gelişebilmektedir. HBeAg' nin serokonversiyonu sırasında histolojik olarak da belirgin bir düzelme saptanmıştır. Bu spontan serokonversiyon HBV enfeksiyonu yeni doğan döneminde kazanılmış olsa bile yine de %2,3-4,5 oranında görülebilmektedir (87). Çulcu' nun (87) yaptığı çalışmada 87 hasta 12-60 aya kadar izlenmiştir. Bunlardan 10 (%11,4) hastada hiç tedavi almadan spontan serokonversiyon (HBeAg kaybı ve anti-HBe' nin pozitifleşmesi) görülmüştür. Bizim çalışmamızda kronik aktif hepatit olan ve tedavi almayan 29 hastada ortalama $26,16 \pm 22,632$ ay takipleri sonunda hiçbirinde benzeri bir serokonversiyon gözlenmemiştir. Takip sürelerinin daha uzatılması halinde bizim hastalarımızda da belirli oranlarda serokonversiyonun olabileceği düşünülebilir.

Hastalığın aktivitesi ve antiviral tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılan önemli parametrelerden biri olan HBV DNA viral replikasyonun en duyarlı göstergesidir. HBV DNA' nın 2 haftada kaybolması iyileşmenin, 8 haftadan fazla pozitif kalması ise kronikleşmenin bir işaretidir. Bizim çalışmamızda kronik aktif hepatit kabul edilen ve tedavi almayan 29 hastanın 5' inde (%17) başlangıçta HBV DNA negatif olup, 6 aylık izlem sonunda bu hastaların sadece 2' sinde (%7) HBV DNA negatif olarak seyretti. Diğer yandan tedavi alan 8 hastanın tümünün tedavi öncesi HBV DNA' sı pozitif iken 6 ay süren kombine tedaviden sonra 4' ünün (%50) HBV DNA' sının negatifleştiği tespit edildi. Bu sonuçlar, HBV DNA

değerlerinin hastalığın aktivitesi ve kronikleşmenin gösterilmesindeki önemini yansıtmaktadır.

Kronik HBV ile takipli hastaların uygulanan çeşitli tedavi yöntemleri sonucu alınan yanıtlar kısmi ve tam yanıt olarak 2 kategoriye ayrılır. Kısmi yanıtta HBV DNA kaybolurken HBeAg pozitifliği devam eder. Tam yanıtta ise HBsAg' nin kaybolup anti-HBs oluşumu gerçekleşmektedir. Bilindiği gibi tedaviye cevabın takibi ve değerlendirilmesinde bakılan en önemli parametrelerden birisi de HBeAg düzeyidir. HBeAg titrelerinin takibinin, HBV DNA düzeylerini izlemekten daha değerli bir kriter olduğu belirlenmiştir. Tedavi başlangıcına göre 4. haftada HBeAg titrelerinde %50' den fazla azalma olması, uzun süreli kalıcı cevabın işareti olarak kabul edilmiştir. Tedaviden kısa dönemde beklenen ilk hedef, HBeAg serokonversiyonu olmalıdır. Çünkü HBeAg kaybı ve anti-HBe oluşumu, kalıcı cevap olarak HBV DNA kaybından daha değerli bir gösterge olduğunu bildiren yayınlar vardır (88). Bizim çalışmamızda tedavi alan 8 hastanın yarısında tedavinin başlangıcından 6 ay sonrasında anti-HBe serokonversiyonu gözlenmiştir. Serokonversiyon gözlenmeyen 2 hastada ise tedaviden önceki HBeAg titrasyonunun 3 aylık tedavi sonrasında azaldığı tespit edilmiştir. Bu da HbeAg kaybının, tedaviye cevabın takibi ve değerlendirilmesinde önemli kriterlerden birisi olduğu görüşünü desteklemektedir.

Kronik hepatit B' de etkinliği gösterilmiş en önemli tedavi yöntemi interferon ve lamuvidin tedavisidir (89). Bu kombine tedaviyle çok başarılı sonuçlar alınmıştır. Lamuvidin ve interferondan oluşan kombine tedavinin dirençli HBV' ler de bile etkili olduğu gösterilmiştir. Gürel ve arkadaşlarının (90) yaptıkları erişkin yaştaki hastaların incelendiği bir çalışmada, 21 tane primer cevapsız kronik hepatit B' li hastalara interferon + lamuvidinden oluşan kombine tedavi 6 ay süreyle verilmiştir. Tedavi sonunda %60' lara varan HBV DNA negatifleşmesi sağlanmıştır. Bu çalışma ile interferon ve lamuvidin' den oluşan kombine tedavinin primer cevapsız hastalar da dahi oldukça etkili olduğu görülmüştür. Gül' ün (91) yaptığı çalışmanın sonuçları da interferon ve lamuvidinden oluşan kombine tedavinin kronik HBV' li hastalarda tedavi amaçlı kullanımında oldukça etkili olduğunu destekler niteliktedir. Benzer şekilde Parakazan' nın (92) yaptığı başka bir çalışmada, kronik hepatit B tanısı alan 22 çocuk hastaya IFN ve LAM' dan oluşan kombine tedavi 6 ay süreyle

verilmiş ve 6 aylık tedavi sonrasında %75' lere varan serum HBV DNA negatifliği elde edilmiştir. Serum HBV DNA' sı negatifleşmeyen hastalarda da tedavi öncesine göre HBV DNA' nın kantitatif değerleri anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir. Diğer yandan Dikici ve arkadaşlarının (93) yaptığı bir çalışmada interferon tedavisine eklenen lamuvidinin tedavi başarısını arttırmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada 27 hastaya IFN-alfa 2b 10 MÜ/m²/haftada 3 kez ile birlikte LAM 4 mg/kg bir yıl boyunca birlikte uygulanmış olup aynı doz ve sürede tek başına IFN uygulanan 13 hasta ile karşılaştırılmıştır. Tedavi bitiminden 6 ay sonra kalıcı yanıt oranı her iki grupta sırasıyla %37 ile %30.7 olarak bulunmuş olup aradaki farkın anlamsız olduğu belirtilmiştir. Farklı çalışmalarda değişik sonuç alınması tedavinin dozu ve süresi ile ilgili olabilir. Çalışmamızda hastalara 6 ay süre ile 5-10 MÜ/m²/ haftada 3 doz interferon ve 18-24 ay süre ile de 4 mg/kg/gün lamuvidinden oluşan kombine tedavi verilmiştir. Dört hastada maksimum 6.ayın sonunda kısmi yanıt alınmış olup, yanıt alınamayan 3 hastanın hem interferon hem de lamuvidin ile tedavi süreleri uzatılmış olup takipleri devam etmektedir. Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlarda tedavinin ilk aşamasının tamamlandığı 6 aylık takibi sonucu %50' lere varan HBV DNA negatifliği elde edilmiştir. Farklı çalışmalarda bu oran %30-70'lere ulaşmaktadır. Bizim çalışmamızda bulduğumuz %50' lik oran, hasta sayısının arttırılmasıyla değişebilir ve daha anlamlı bir sonuç çıkarılması mümkün olabilir.

Apoptozis, son araştırmalarda genetik olarak programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanmıştır. İnsanlarda ve başka çok hücreli canlılarda hücrelerin ölümü her zaman anormal ve zararlı değildir hatta gereklidir. Bir patoloji nedeniyle bazı hücreler yaralanmayı takiben nekroza uğrarken, pek çok hücre inflamatuvar olmayan, enerji bağımlı bir hücre ölümü olan apoptozise uğrarlar. Böylece pek çok hastalığın patogenezi, apoptozisin regülasyonundaki bozuklukla açıklanmaktadır. Apoptozisin rolünü ortaya çıkarmak hastalıkların tanı, prognoz, tedavi konularındaki gelişmelere ışık tutacaktır (3,4,94). Apoptozis, immün sistemin gelişmesi ve fonksiyonları için anahtar rol oynamaktadır. İmmün sistemin düzenlenmesinde FAS aracılı apoptozis temel mekanizmadır. FAS (CD 95), bir hücre yüzey glikoprotein reseptörü olup vücutta pek çok hücrede bulunmakta ve apoptotik sinyallerin iletiminde görev almaktadır (2). FASL, FAS' a bağlanarak

hücre içinde caspaseları aktive ederek apoptozisi başlatır. FASL (FAS ligandı) temel olarak sitotoksik T lenfositlerce salgılanır (2).

Kiraz ve arkadaşlarının (2) yaptıkları çalışmada, CD 95 (FAS)' ın hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein yapıda bir reseptör olup apoptozis sinyallerini ilettiğini, otoimmün hadiselerde yükseldiğini, solubl FAS' ın (s-FAS) kompetitif antagonisti olduğunu ve FAS aracılı apoptozisi inhibe ettiği bildirilmiştir.

Viral hepatitlerin patogeneğinde ve HBV' nin kronikleşmesinde virusların sitopatik etkisinden daha çok konağın immun cevabı, özellikle de hücrel immünite suçlanmaktadır. Hepatit virüsleriyle hücrel immün parametrelerin ve sitokinlerin ilişkileri ile hepatitli hastalarda karaciğer doku örneklerindeki FAS (membran proteini) dağılımı ve histopatolojik aktivite arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (85,63,95). Karaciğerde mononükleer hücre infiltrasyonu özellikle periportal alanlarda saptanmıştır. Bu bölgelerdeki mononükleer hücrelerinde özellikle sitotoksik T lenfositler (CTL) olduğu gözlenmiştir. Bu olay da enfekte hepatositlerin hücre ölümünde CTL' in önemli rolü olduğunu göstermektedir (85, 63).

Hepatositlerde ki FAS antijeni ile sitotoksik T lenfositler (CTL) üzerindeki FAS-Ligand arasındaki etkileşim sonucu apoptozis indüklenmekte ve bu olay kronik viral hepatitlerde hepatosit hasarlanmasında temel mekanizma olarak rol oynamaktadır (96,97). Hepatit B virusu ile enfekte hepatositlerin temizlenmesinde hepatositlerdeki FAS ekspresyonu etkili olmaktadır. Fakat FAS ekspresyonu her zaman hücre ölümüne yol açmaz. FAS antijen varlığı tek başına apoptozisi indüklemeye yeterli olmayabilir. Apoptozis çeşitli faktörlerin etkili olduğu çok basamaklı bir mekanizmadır. Burada CTL tarafından FAS-Ligand ekspresyonu, bcl-2, bcl-x gibi hücre ölümünü inhibe eden faktörlerin varlığı, endonükleazların aktivasyonu ve muhtemel olarak FAS antijeninin sitoplazmadan hücre yüzeyine transpozisyonu rol oynamaktadır (96).

FAS reseptörü ya da FAS antijeni ve onun doğal ligandı (FAS-L), daha önceden de bahsedildiği gibi tümör nekrozis faktör ailesine ait transmembran proteinleridir ve karaciğeri içine alan bazı dokularda eksprese elde edilir. FAS' ın karaciğer patofizyolojisindeki önemi birçok araştırmayla belgelenmiştir.

Ogasawara ve arkadaşları (98), yayınlarında in vivo fulminan hepatitin; farelerin periton kavitesine anti-FAS monoklonal antikorların verilmesinden sonra geliştiği göstermiştir. İntraperitoneal FAS antikorunu enjekte edilen fareler, hepatositlerin generalize apoptozisinden dolayı, fulminan karaciğer yetmezliğinden birkaç saat içinde ölmüş ve FAS' in viral hepatit aktivitesiyle yakın korelasyon içinde olduğu kanısına varılmıştır. Kronik hepatit B enfeksiyonunda FAS ekspresyonunun, FAS ligandı taşıyan sitotoksik T lenfositleri tarafından apoptozisi tetiklediği düşünülmektedir. FAS ekspresyonu ile viral hepatit aktivitesi arasında çok yakın bir korelasyon vardır. Bu bulgular hepatit B' de karaciğer destrüksiyonunun, lenfositler tarafından hepatositlerin apoptotik ölümüyle olduğunu gösterebilir (85,66).

Le ve arkadaşları (99) yaptıkları çalışmada, hepatit B virusu ile enfekte hastalarda s-FAS ve s-FASL serum seviyelerini, sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmışlardır. Asemptomatik HBsAg taşıyıcılarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin şekilde yüksek bulunmuştur. Yine aynı çalışmada kronik hepatit B enfeksiyonu olanlarda s-FAS ve s-FASL seviyeleri, hem asemptomatik taşıyıcılardan hem de sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlara göre s-FAS seviyelerinin HBV enfeksiyonunun progresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülebilir. Bizim çalışmamız sonucunda da asemptomatik HbsAg taşıyıcılarında serum FAS seviyesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında belirgin derecede yüksek bulunmuştur. Diğer yandan kronik aktif hepatit B olan hastalarda FAS antijeni, kontrol grubu ile kıyaslandığında belirgin şekilde artmış olarak bulunduğu halde asemptomatik hastalar ile kronik aktif hepatit B olan hastalar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bizim elde ettiğimiz bu sonuç ile Le' nin sonuçları karşılaştırıldığında kronik HBV enfeksiyonunda serum FAS seviyelerinin kontrollere oranla anlamlı yüksek olması açısından benzerlik bulunmaktadır. Ancak Le' nin çalışmasında asemptomatik hastalar ile kronik aktif hepatitlerin arasında tespit edilen anlamlı farkı bizim çalışmamızda gözlemedik. Yeni çalışmalarla bu konuda bulgular desteklenmelidir.

Hamazaki ve arkadaşları (100), FAS antijen ekspresyonunu kronik hepatit veya siroz, hepatoselüler karsinom ve sağlıklı bireylerde çalışmış ve FAS

ekspresyonunu normal hastalarda %4,7, kronik hepatit veya siroz olan hastalarda %6,9, hepatoselüler karsinomlu hastalarda %18,2 bulmuşlardır. Bu da serum FAS seviyelerinin hepatitlerin progresyonu ile ilişkili olduğu kanısını desteklemektedir.

Kronik hepatitli hastaların takibi sırasında serum AST, ALT, GGT, alkalin fosfataz (ALP), bilirubin değerleri gibi biyokimyasal testler kullanılmaktadır. Genelde kronik hepatit aktivitesi ile serum ALT ve AST değerleri arasında pozitif bir ilişki saptanmaktadır. Yapılan çalışmalarda da bu ilişki gösterilmiştir (85,63). Özellikle ALT karaciğere daha spesifik bir testtir. Serum düzeyinin artışı karaciğer hasarını yansıtabilmektedir. Kıyıcı ve arkadaşları (101) yaptıkları çalışmada, kronik viral hepatitlerde serum transaminaz seviyeleri ile apoptozis ve FAS ekspresyonu arasında muhtemel korelasyon araştırılmış ve anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır. Bu durumda apoptozis değil de nekroz gibi hepatoselüler bütünlüğü bozan durumlarda serum transaminazlarının yükseldiği öne sürülebilir. Le ve arkadaşları (99) yaptığı çalışmada serum transaminaz düzeyleri ile sFAS seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilememiştir. Bizim çalışmamızda HBV ile enfekte hastalarda serum ALT seviyeleri normal olanlar ile yüksek olan hastalar arasında CD 95 seviyeleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak ALT' si normal olan HBV ile enfekte hastalarda, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik tespit edilmiştir. Bu anlamlı yüksekliğin serum transaminaz seviyelerinden bağımsız olarak HBsAg pozitifliğine bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Lapinski ve arkadaşları (102), yaptıkları çalışmada, sağlıklı HbsAg taşıyıcıları ve kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda apoptozis aktivitesini ve apoptozisin HBV DNA ile olası ilişkisini araştırmışlardır. Sağlıklı bireylerde ve sağlıklı HBsAg taşıyıcılarında serum FAS seviyesinin benzer olduğu, kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda ise sağlıklı HBsAg taşıyıcılarına göre HBV DNA seviyelerinden bağımsız olarak anlamlı bir yükseklik bulunduğu tespit edilmiştir. Bu sonuca dayanılarak kronik hepatit B'de inflamasyon aktivitesinin apoptozis ile ilişkili olduğu ancak apoptozla HBV DNA arasında korelasyon olmadığı kanısına varılmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz

verilerle uyumlu olmakla birlikte farklı olarak sağlıklı HBsAg taşıyıcılarında serum FAS seviyesi sağlıklı kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Serum FAS seviyesindeki bu anlamlı farklılığın, HBV DNA düzeyinden bağımsız olarak HBV enfeksiyonunun progresyonu ile ilişkili olduğu ileri sürülebilir.

Kıyıcı ve arkadaşları (101) yaptıkları çalışmada, kronik viral hepatitli hastalarda FAS antijen varlığı ve histopatolojik aktivitesi ile ilişki araştırılmış ve yakın bir korelasyon tespit edilmiştir ve histolojik aktivite indeksinin arttığı durumlarda FAS antijen ekspresyonunda arttığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada FAS antijen ekspresyonunun fibrozisle korele olmadığı görülmüştür. Mochizuki ve arkadaşlarının (85) kronik hepatit B' li hastalarda yapmış oldukları benzer çalışmada da elde edilen veriler aynı yöndedir. Bu sonuçlar, apoptozisin dokuda fibrotik değişikliklere neden olmadığı ve bunun nekrozdan ayırıcı en önemli özelliği olduğu gerçeğini desteklemektedir.

Tedavi verilen hastalarda FAS antijenin değişimi konusunda ise yukarıda bahsedilen Lapinski ve arkadaşlarının (102) çalışmasında, kronik hepatit B tanısı alan 33 hastaya 12 ay boyunca 100 mg/gün dozunda lamuvidin tedavisi verilmiş ve tedavi öncesi yüksek olan serum FAS antijen seviyesinin, tedavinin 3. ayında ALT değerinin normale dönmesiyle birlikte başlangıç değerine düştüğü görülmüştür. Bu sonuca dayanarak, tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde FAS antijen seviyesinin önemli bir işaret olabileceği düşünülebilir. Tedavi alan hasta sayısı açısından bizim çalışmamızda böyle bir değerlendirme istatistiksel açıdan yeterli değildir.

Serbest radikallerin karaciğer hasarının ortaya çıkmasında önemli olduğu bilinmektedir. Bunların arasında viral hepatitler, Wilson hastalığı, hemokromatozis, parasetamol gibi ilaçların neden olduğu karaciğer hasarı, transplantasyon sonrası iskemi-reperfüzyon hasarı sayılabilir (103-107). NO, serbest bir radikaldir ve pek çok olayda yer alan önemli biyolojik aktif bir moleküldür. Özellikle non-spesifik immünitede, bakteri, mantar, virüs ve tümör hücreleri ile protozoonlara yönelik sitotoksik yada sitostatik etki oluşturmada rol oynar. Ayrıca inflamatuvar ve otoimmün hadiselerde rol oynadığı bildirilmiştir (77). NO, proinflamatuvar sitokinler olan IL-1 β , IL-6, TNF- α ve IFN- γ ' ya cevap

olarak, (indüklenebilir nitrik oksid sentetaz iNOS) tarafından, L-argininden inflamasyon süresince üretilir (108,109). Karaciğerde iNOS, hepatositlerden, endotelial hücrelerden, kolanjiositlerden ve kupffer hücrelerinden eksprese edilir (110). Kronik hepatitli vakalarda IL-6 ve TNF- α gibi sitokinlerin düzeyi artmaktadır (111). Bunun dışında hepatic inflamasyonda başka sitokinlerin de etkili olduğu tespit edilmiştir. Birçok çalışmada hepatositlerin iNOS sentezini arttırıp bunu takiben IL-1 β , IL-6, TNF- α ve IFN- γ gibi birçok sitokin sentezinin artmasına neden olduğu gösterilmiştir (109,112,113). Daha ileri araştırmalarda, hepatositlerin kronik inflamasyonun seyrinde NO üretiminin de arttığı gösterilmiştir (114,115). Kronik inflamasyonda, NO üretimi ve plazma nitrit/nitrat seviyelerinin artması, kronik hepatitlerde NO'in inflamatuvar bir stimulan olduğunu gösterir bir bulgudur (116).

NO artışı, HBV aracılığıyla hepatic iNOS' un transaktivasyonu ve birkaç patofizyolojik olaylar sonucu oluştuğu kabul edilmektedir. Bunlardan ilki, NO' un süperoksitle reaksiyona girmesi ile peroksinitrit oluşarak, lipid ve proteinler oksidize olarak hücresel hasara yol açar. Fakat hala NO' un doku hasarını indüklediği mi yoksa, hepatoprotektif olarak mı rol oynadığı açık değildir. Diğer yandan NO' un hepatosit protein sentezini hücre canlılığını etkilemeden inhibe etmesi söz konusudur. Bu şekilde HBV' nin indüklediği NO sentezi, viral protein sentezinde azalmaya neden olur. Çünkü HBV yüzey ve kor proteinlerine karşı sitotoksik T lenfositler, HBV ile enfekte hepatositlerin temizlenmesinde önemli bir rol oynar. Enfekte hepatositlerde antijen salınımının önlenmeye çalışılması bazı antijen spesifik bölgelerin yok olmasıyla enfeksiyonun kronikleşmesine neden olur.

Guidotti ve arkadaşlarının (117) iNOS tarafından karaciğerde sentezlenen NO' nun, HBV' nin replikasyonunu inhibe ettiğini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada; iNOS eksikliği bulunan farelerde HBV'nin viral replikasyonunda, T lenfositlerin HBV spesifik sitotoksik, nonsitopatik inhibitör etkilerine karşı dirençli oldukları görülmüştür. Bunu da intrahepatik IFN- γ ' nın indüksiyonuna bağlamışlardır. Aksine IFN- α/β ' nın indüksiyonunda bu direnci görememişlerdir. Buradan hareketle IFN- γ ' nın NO aracılı antiviral etkisi olduğunu, aksine IFN- α/β ' da ise antiviral etkinin NO aracılı olmadığını söylemişlerdir.

Kırkalı ve arkadaşlarının (118) çalışmalarında, kronik aktif hepatit ve sirozlu hastalarda NO' in ölçülebilen metabolitleri olan serum nitrit ve nitrat düzeylerine bakılmış ve nitrat seviyelerinin siroz ve kronik aktif hepatitli hastalarda kontrol grubu ile kıyaslandığında arttığı ancak nitrit düzeyinde hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmadığı saptanmıştır. Ayrıca kronik aktif hepatitli hastalar ile sirozlu hastalar karşılaştırıldığında da nitrit ve nitrat seviyelerinde anlamlı fark saptanmamıştır. Kronik hepatitli hastalarda nitrit ve nitrat konsantrasyonlarının yüksek bulunması daha önce yapılmış bazı çalışmalarla çelişmektedir (119). Nitrat ve nitrit seviyelerinin bazı hepatitlerde artmasının bazı hepatitlerde ise normal veya düşük seyretmesinin nedeni henüz açıklığa kavuşmamıştır. Ancak inflamasyon ve fibrozis patogenezinin farklı olması yada inflamasyonun etiyolojisi, nitrit-nitrat düzeylerinin farklı olmasına neden olabilir. Kandemir ve arkadaşlarının (120) yaptıkları çalışmada, kronik hepatit B ve kronik hepatit C enfeksiyonu olan 63 hasta ile çeşitli etiyolojilerle transaminaz yüksekliği olan 13 hastanın biyopsi örneklerinde iNOS boyanma düzeyi karşılaştırılmıştır. İNOS' un intrahepatik ekspresyonunun kronik viral hepatitli hastalarda, non-viral etiyolojiye bağlı hepatitli hastalara göre anlamlı arttığı gösterilmiştir. Bu sonuç, hepatit hastalarında NO seviyelerindeki farklılığın nedeninin açıklanmasında etiyolojinin önemli olduğu görüşünü desteklemektedir.

Koulentaki ve arkadaşlarının (121) yaptığı çalışmada, akut hepatit B' li hastalarda NO ve proinflamatuvar sitokinlerin serum seviyeleri ile kronik hepatit B' li hastalar ve sağlıklı kontroller karşılaştırılmıştır. Akut hepatit B' li hastalarda NO düzeyi, kronik hepatit B' li hastalara ve sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edilmiştir. Diğer yandan kronik hepatit B' li hastalarda serum NO seviyesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hafif yüksek bulunmuş ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Aynı çalışmada akut hepatit B' li hastalarda NO ile serum transaminazlar ve sitokinler arasında anlamlı korelasyon saptanmadığı bildirilmiştir. Tong ve arkadaşlarının (122) yaptığı bir çalışmada ise, kronik hepatitte NO düzeyi ile serum transaminazları arasındaki ilişki araştırılmış ve pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada NO seviyeleri, sağlıklı

kontrol grubuna göre belirgin yüksek bulunmuş ve karaciğer hasarının artışına bağlı olarak yükseldiği rapor edilmiştir. Benzer başka bir çalışmada Wang ve arkadaşları (123), kronik hepatit B hastalarında NO ve iNOS düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin arttığını, ayrıca ALT düzeyi yüksek olan hastalarda NO ve iNOS seviyelerinin kontrol grubu ve ALT düzeyi normal olan hepatit hastalarından anlamlı olarak yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ALT' si normal olan HBV ile enfekte hastalar ile ALT' si yüksek olan hastaların NO düzeyleri karşılaştırılmış ancak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. ALT' si normal olan hastaların NO düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik tespit edilmiştir. Bu anlamlı farklılığın ALT' den ziyade HBsAg pozitifliğine bağlanabileceğini düşünmekteyiz.

Bizim çalışmamızda, hem asemptomatik HBsAg taşıyıcıları hem de kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda NO düzeyi, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklılık tespit edilmiştir. Bu bulgular Liu ve arkadaşlarının (124), hepatit B enfeksiyonunun tek başına NO sentezini arttırdığı hipotezini desteklemektedir.

Yukarıda bahsedilen Wang ve arkadaşlarının (123) kronik hepatit B hastalarında NO ve iNOS düzeylerini araştırdığı çalışmada, hepatit B hastalarında belirgin yüksek bulunmasına rağmen, HBV DNA ile NO ve iNOS arasında anlamlı ilişki saptanmadığı rapor edilmiştir. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da HBV DNA ile NO düzeyi arasında bir korelasyon saptanmamıştır.

Kandemir ve arkadaşlarının (120) yaptığı çalışmada kronik viral hepatiti olan hastalarda, Knodell' in karaciğer histolojik aktivite indeksini kullanarak, kronik viral hepatitin şiddeti ile iNOS boyanması arasındaki ilişki araştırılmış ve pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Bu bilgi, kronik viral hepatitteki hepatik hasarın NO bağımlı olduğunu göstermektedir. Çalışmamızdaki biyopsi yapılan hasta sayısının (8 hasta) çok az olması nedeniyle bu ilişkiye bir yorum getirmek mümkün olamamıştır. İleride yapılacak daha geniş ve kapsamlı çalışmalar, iNOS ekspresyonunu kontrol eden ana mekanizmaları ve kronik karaciğer hastalığı patogenezindeki NO' in rolüne ışık tutacaktır.

Bilindiği gibi, interferon tedavisi, karaciğer fibrozisini ve fonksiyonunun bozulmasını engellemede kullanılmaktadır. Ersoy ve arkadaşlarının (125) yaptığı çalışmada, kronik hepatit B hastalarını interferon tedavisi öncesi ve sonrasında serum NO düzeyleri ölçülmüştür. NO düzeylerinin tedavi sonrası düştüğü tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı hasta sayısına ulaşamadığı rapor edilmiştir. NO düzeyinin azalması inflamasyonun azalmasına bağlanmış ve daha geniş gruplarda çalışma yapılması gerektiği vurgulanmıştır. Amaro ve arkadaşlarının.(126) yaptığı başka bir çalışmada, kronik hepatit B hastalarında NO ve interferon tedavisine cevap arasında ilişki araştırılmış ancak anlamlı bir ilişki bulunmadığı saptanmıştır. Çalışmamızda tedavi alan hasta sayısı (8 hasta) az olduğundan istatistiksel olarak bu yönde bir değerlendirme yapmak mümkün değildir.

Yaşlanmanın da temelinde olduğu düşünülen programlı hücre ölümü ve bunun işaretçilerinin üzerine yoğunlaşmış araştırmalarla birçok hastalığın temelini inilip, tedavi yöntemlerinde daha ileri adımlar atılabilecektir. Çalışmamızda, apoptozis ve inflamasyon ile ilişkili olduğu düşünülen NO ve CD 95 düzeyleri hem asemptomatik taşıyıcılarda hem de kronik aktif hepatit B olan hastalarda kontrol grubuyla karşılaştırıldıklarında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, üzerinde hala birçok araştırmanın yapıldığı apoptozis yani programlanmış hücre ölümünün birçok hastalıkta olduğu gibi kronik hepatit B enfeksiyonunun gelişiminde anahtar rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Kronik HBV enfeksiyonlarında, hastalığın klinik seyir ve tedavisi ile NO ve CD 95 düzeyleri arasındaki ilişkiyi konu alan bu çalışma, yıllardır üzerinde oldukça fazla tartışılan kronik hepatit B enfeksiyonuna ilişkin mekanizmalara ışık tutacak ve tanı yöntemleri ve tedavi konusunda katkıda bulunacaktır. Bu konuda apoptozise yönelik kapsamlı ve ileri çalışmaların artmasıyla önemli mesafe katedilebileceği kanısındayız.

6. SONUÇLAR

1. Kronik hepatit B enfeksiyonu, hepatit B virusunun sebep olduğu özellikle çocukluk çağında daha fazla kronikleşme şansı olan bir karaciğer inflamasyonudur.
2. Çalışmaya alınan hasta grubunda erkeklerin oranı daha fazla bulunmuştur (E/K:2/1).
3. Hastalarımızın yaş ortalaması 9,61 yıl olarak belirlenmiştir.
4. Çalışmamızda HBsAg pozitifliği, hasta çocukların annelerinde %49, babalarında ise %18 olarak belirlenmiştir.
5. Hastalarımızdaki bulaşın, temel olarak horizontal (%75) bulaş yolu olduğu saptanırken herhangi bir bulaş yolu belirlenemeyen hastalar %23 oranındadır. Sadece bir hastada perinatal bulaş (%1,44) tespit edilmiştir.
6. Kronik asemptomatik HBsAg taşıyıcı kabul edilen grup I' de CD 95 düzeyi, sağlam kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.
7. Kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olan hastaların dahil edildiği grup II' de CD 95 düzeyi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir yükseklik tespit edilmiştir.
8. Kronik asemptomatik HBsAg taşıyıcıları ve kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olan hastalar arasında ise CD 95 düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.
9. Çalışmaya dahil edilen tüm HBsAg pozitif olan hastalarda CD 95 değeri, kontrol grubundan belirgin derecede yüksek tespit edilmiştir.
10. HBsAg pozitif olan hasta grubu içinde ALT' si yüksek olanlar ile normal olanlar arasında CD 95 değerleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.
11. HBsAg pozitif olan hasta grubunda HBeAg (-) ile HBeAg (+) olan hastalar arasında da CD 95 değerleri açısından farklılık saptanmamıştır.

12. HBsAg pozitif hasta grubu içerisinde HBV DNA (-) olan hastalar ile HBV DNA (+) olan hastalar arasında CD 95 düzeyleri açısından da anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.
13. HBsAg pozitif hastalardan tedavi alan ve almayanlar arasında da CD 95 değerleri açısından farklılık saptanmamıştır.
14. Kronik asemptomatik HBsAg taşıyıcı kabul edilen grup I' de NO düzeyi, sağlam kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.
15. Kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olan hastaların dahil edildiği grup II'de NO düzeyi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da anlamlı bir yükseklik tespit edilmiştir.
16. Kronik asemptomatik HBsAg taşıyıcıları ve kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olan hastalar arasında ise NO düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.
17. Çalışmaya dahil edilen tüm HBsAg pozitif olan hastalarda diğer bir ifadeyle hem grup I hemde grup II' de NO değeri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin derecede yüksek tespit edilmiştir.
18. HBsAg pozitif olan hasta grubu içinde ALT' si yüksek olanlar ile normal olanlar arasında NO değerleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.
19. HBsAg pozitif olan hasta grubunda HBeAg (-) ile HBeAg (+) olan hastalar arasında da NO değerleri açısından farklılık saptanmamıştır.
20. HBsAg pozitif hasta grubu içerisinde HBV DNA (-) olan hastalar ile HBV DNA (+) olan hastalar arasında NO düzeyleri açısından da anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.
21. HBsAg pozitif hastalardan tedavi alan ve almayanlar arasında da NO değerleri açısından farklılık saptanmamıştır.
22. Çalışmamızda apoptozis ve inflamasyon ile ilişkili olduğu düşünülen NO ve CD 95 değerlerinin hem asemptomatik taşıyıcılarda hemde kronik aktif hepatit B olan hastalarda kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Üzerinde hala birçok araştırmanın yapıldığı apoptozisin, birçok hastalıkta olduğu gibi kronik hepatit B enfeksiyonunun aydınlatılmasında gelişiminde anahtar rol oynayabileceği düşünülebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Whyllie A, Kerr JFR, Currie AR. Cell death: The significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.* 1980; 68: 251-305
2. Kiraz S, Ertlenli I, Öztürk MA, Haznedaroğlu C, Çalgüneri M. Increased soluble FAS suggest delayed apoptosis in Familial Mediterranean Fever complicated with amyloidosis. *J Rheum.* 2003; 30: 313-315
3. Rudin C, Thompson CB. Apoptosis and Disease: Regulation and Clinical relevance of Programmed Cell Death. *Annu. Rev. Med.* 1997; 48: 267-281
4. Hetts W. To Die or Not To Die. *Jama.* 1998; 279: 300-307
5. Rust C, Gores G. Apoptosis and Liver disease. *Am J Med.* 2000; 108: 567-574
6. Andreoli ET. The Apopitotic Syndromes. *Am J Med.* 1999; 107: 488
7. Panossian A, Hambartsumyan M, Panosyan L, Abrahamyan H, Mamikomyan G, Gabrielyan E. Plasma nitric oxide level in Familial Mediterranean Fever and its modulations by Immuno-Guard. *Nitric Oxide.* 2003; 9: 103-110
8. Cotran RS. Viral hepatitis. In: Kumar VM, Robbins SL, Cotran RS (eds). *Basic Patology* (5 th ed). London, WB Saunders Company, 1992: 530-541.
9. Leblebicioğlu H. Hepatit B virusu mikrobiyolojisi, patogenez, epidemiyoloji, klinik, tedavi ve korunma. *Modern tıp seminerleri.* Usluer G (Editör). Ankara, Güneş Kitabevleri, 2002: 16-23.
10. Kıyan M. Hepatit B Virusu. *Viral Hepatit.* Tekeli E, Balık İ (Editörler). İstanbul, Viral Hepatitle Savaşım Derneği yayınları, 2003: 86-120.

11. Yenen OŞ. Viral Hepatitler. Enfeksiyon Hastalıkları. Topçu AW (Editör). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1996: 664-690.
12. Balık İ. Hepatit B Epidemiyolojisi. 2. Viral Hepatit Sempozyumu Kitabı. Ankara, Nobel Tıp Kitabevi, 1994: 91-101.
13. Tabak F. Viral Hepatitlerin Epidemiyolojisi. Günümüzde Virüs Hepatitleri. İstanbul.1996: 21-30.
14. Taşyaran M. HBV İnfeksiyonu Epidemiyolojisi. Viral Hepatit. Tekeli E, Balık İ (Editörler). İstanbul, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayınları, 2003: 121-128.
15. Kanra G, Cengiz BA. Hepatit B virüs enfeksiyonu. Katkı Pediatri Dergisi. 1998; 19: 594-609.
16. Sanchez PJ, Siega BJ. Hepatitis viruses. In: Mc Millan J, De angelis CD, Feigin RD, Warshaw JB (Eds). Oski's Pediatrics Principles and Practice. London, Walter Kluver Company, 2000: 447-450.
17. Cherry JD, Nielsen K, Vargas J. Hepatitis B and D. In: Feigin RD, Cherry JD (Eds). Textbook of Pediatric infectious diseases (4 th Edition). Toronto, WB Saunders Company, 1998; 162: 1685-1698.
18. Will H. HBcAg and HBeAg expression, how, where, why or why no?. J Hepatol. 1991; 13: 66-67
19. Brunell PA. Hepatitis. In: Berman R, Kliegman RM, Nelson WE, Vaughan VC (Eds). Nelson Textbook of Paediatrics. London, WB Saunders Company, 1996; 818-822.
20. Ganem D. Hepadnaviridae and their replication. Field Virology. Raven Pres. 1996; 2703-2737
21. Karaoğlan M: Kronik Hepatit B Enfeksiyonu Olan Çocuklarda Çeşitli Tedavi Yöntemleri ve İmmün Yanıtla İlgisi. Uzmanlık tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep. 2000.

22. Kandemir Ö: Kronik Hepatit B'de interferon tedavisinin etkinliği. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana. 1998.
23. Carman WF, Zanetti AR, Karayannis P. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virüs. Lancet. 1990; 336: 325-329
24. Bilgiç A, Erensoy S. Viral hepatitlerde alışlagelmişin dışında serolojik profiller. Viral Hepatit Dergisi. 1998; 63-79.
25. Kurt H. Hepatit B Virus Enfeksiyonu. Viral Hepatit. Tekeli E, Balık İ (Editörler). İstanbul, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayınları, 2003: 129-136.
26. Bonino F. Chronic hepatitis B. The role of interferons in chronic viral hepatitis. Macclesfield, Gardiner-Caldwell Company, 1992: 17-20.
27. Sökücü S. Kronik Hepatitler. Pediatri. Neyzi O, Ertuğrul T (Editörler). Üçüncü baskı, İstanbul, Nobel tıp kitabevleri, 2002: 837-841.
28. Lau JYN, Bain VG, Davies SE. High level expresion of hepatitis B viral antigens in fibrosing cholestatic hepatitis. Gastroenterology. 1992; 102:956
29. Kann M, Lu X, Gerlich WH. Recent studies on replication of hepatitis B virüs. J Hepatol. 1995; 22: 9-15
30. Marrack P, Kapper J. Subversion of the immun system by pathogens. Cell. 1994; 76: 323-332
31. Peters M, Vierling J. Immunology of the liver. Hepatology. 1991; 13: 977-980
32. Lee MW. Hepatitis B virüs infection. N Engl J Med. 1997; 337(24): 1733-1745

33. Novak DA, Suchy FJ, Balisteri WF. Disorders of the Liver and Biliary system Relevant to Clinical Practice. In: McMillan J, Deangelis CD, Feigin RD, Warshaw JB (Eds). *Oski's Pediatrics Principles and Practice*. Walter Kluver Company, 2000: 1714-1738.
34. Savaş C, Şimşek H. Kronik Hepatitler. *Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları*. 1995; 8: 593-600.
35. Chisari FV. Cytotoxic T cell and viral hepatitis. *J Clin Invest*. 1997; 99: 1472-1477
36. Chasri FV, Ferrari C. Hepatitis B Immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol*. 1995; 13: 29-60
37. Weintrub PS. Viral Hepatitis. In: Rudolph AM, Hoffman JIE, Rudolph CD (Eds). *Rudolph's Pediatrics (Twentieth Edition)*. London, Simon-Shuster Company, 1996: 647-651.
38. Bucuvalas JC. Liver Disease. In: Rudolph AM, Hoffman JIE, Rudolph CD (Eds). *Rudolph's Pediatrics (Twentieth Edition)*. London, Simon-Shuster Company, 1996: 1151-1157.
39. Coppens JP, Cornu C. Prospective trial of recombinant leucocyte interferon in chronic hepatitis B; a ten months follow up study. *Liver*. 1989; 9: 307-313
40. Robinson WS. Hepadnaviridae. In: Mandell G (Eds). *Principles and Practice of Infectious Disease*. New York, Churchill Livingstone company, 1995: 1406-1437.
41. Balık İ. Kronik Hepatit B'nin Seyri ve İnterferon Tedavisi. *Viral Hepatit*. Tekeli E, Balık İ (Editörler). İstanbul, Viral Hepatitle Savaşım Derneği yayınları, 2003: 135-155.
42. Perillo RP, Mason AL. Therapy for HBV infection. *Gastroenterol Clin N Am*. 1994; 23 (3): 581-601

43. Kandilci U. Kronik Viral Hepatitlerde İnterferon dışı tedaviler. Hepatolojide Güncel Gelişmeler Sempozyumu. 1998: 32-36.
44. Ekert PG; Vaux DL: Apoptosis and the immun system. Br Med Bull. 1997; 53: 591-603
45. Osborne BA. Apoptozis and the maintenance of homoestasis in the immune system. Curr Opin Immunol. 1996; 8: 245-254
46. Flier JS, Underhill LH. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. N Engl J. Med. 1996; 334: 1717-1725
47. Nagata S, Golstien P. The fas death factor. Science. 1995; 267: 1449-1455
48. Kagi D, Vignaux F, Ledermann B, et al. Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell mediated cytotoxicity. Science. 1994; 265: 528-530
49. Ju ST, Chi H, Panka DJ, Ettinger R, Matsushita R, Rothstein A. Participation of target fas protein in apoptosis pathway induced by CD4 Th1 and CD8 cytotoxic T cells. Proc Natl Acad Sci, USA. 1994; 91: 4185-4189
50. Berthou C, Michell L, Soulie A, Louis F, Flageul B, Dubertret L et al. Acquisition of Granzyme B and Fas Ligand Proteins by Human Keratinocytes Contributes to Epidermal Cell Defense. J Immunol. 1997; 159: 5293-5300
51. Ando K, Hiroishi K, Kaneko T, Moriyama T, Muto Y, Kayagaki N et al. Perforin, Fas/Fas ligand and TNF- α Pathways as Specific and Bystander Killing Mechanisms of Hepatitis C Virus Specific Human CTL. J Immunol. 1997; 158: 5283-5291
52. Lowine B, Hahne M, Mattmann C, Tschopp J. Cytolytic T-cell Cytotoxicity is Mediated Through Perforin and Fas Lytic Pathways. Nature. 1994; 370: 650-652
53. Kagi D, Vignaux F, Ledermann B, Bürki K, Depraetere V, Nagata S et al. Fas and Perforin Pathways as Major Mechanisms of T cell-Mediated Cytotoxicity. Science. 1994; 265: 528-530

54. Patel T, Gores G. Apoptosis and Hepatobiliary Disease. *Hepatology*. 1995; 21(6): 1725-1740

55. Feldmann G. Liver Apoptosis. *J Hepatol*. 1997; 26 (Suppl): 1-11

56. Rivero M, Crespo J, Casafont F. Fulminant Hepatitis by HBV and Role of Fas System. *Hepatology*. 1998; 28 (Suppl): 482

57. Guilhot S, Miller T, Cornman G, Isom H. Apoptosis Induced by Tumor Necrosis Factor- α in Rat Hepatocyte Cell Lines Expressing Hepatitis B Virus. *Am J Pathol*. 1996; 148: 801-814

58. Kim H, Lee H, Yun Y. X-gene Product of Hepatitis B Virus Induces Apoptosis in Liver cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 1998; 273 (1): 381-385

59. Zhu N, Khoshan A, Schneider R, Matsumoto M, Dennert G, Ware C et al. Hepatitis C Virus Core Protein Binds to the Cytoplasmic Domain of Tumor Necrosis Factor (TNF) Receptor 1 and Enhances TNF-Induced Apoptosis. *J Virol*. 1998; 72 (5): 3691-3697

60. Matsumoto M, Hsieh TY, Zhu N, Vanarsdale T, Hwang S, Jeng KS et al. Hepatitis C Virus Core Protein Interacts with the Cytoplasmic Tail of Lymphotoxin- β Receptor. *J Virol*. 1997; 71 (2): 1301-1309

61. Fujita T, Ishido S, Muramatsu S, Itoh M, Hotta H. Suppression of Actinomycin D-Induced Apoptosis by the NS3 Protein of Hepatitis C Virus. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996; 229: 825-831

62. Calabrese F, Pontisso P, Pettenazzo E, Benvegna L, Vario A, Chemelle L et al. Liver Cell Apoptosis in Chronic Hepatitis C Correlates with Histological but not Biochemical Activity or Serum HCV-RNA Levels. *Hepatology*. 2000; 31: 1153-1159

63. Hiramatsu N, Hayashi N, Katayama K, Mochizuki K, Kawanishi Y, Kasahara A et al. Immunohistochemical Detection of Fas Antigen in Liver Tissue of Patients with Chronic Hepatitis C. *J Hepatol*. 1994; 19 (6): 1354-1359

64. Mita E, Hayashi N, Lio S, Takehara T, Hijioka T, Kasahara A et al. Role of Fas Ligand in Apoptosis Induced by Hepatitis C Virus Infection. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994; 204 (2): 468-474
65. Marusawa H, Hijikata M, Chiba T, Shimotohno K. Hepatitis C Virus Core Protein Inhibits Fas and Tumor Necrosis Factor Alpha-Mediated Apoptosis Via NF-kappaB Activation. *J Virol.* 1999; 73 (6): 4713-4720
66. Galle PR, Hofmann WJ, Walczak H. Involvement of the CD 95 (APO-1/Fas) Receptor and Ligand in Liver Damage. *J Exp Med.* 1995; 182: 1223-1230
67. Furchott RF, Zawadski JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature (Lond).* 1980; 288: 373-376
68. Ignarro JJ, Bryns RE, Wood KS. Biochemical and pharmacological properties of endothelium-derived relaxing factor and its similarity to nitric oxide radicals in vasodilatation. *Vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves and endothelium* (Ed: Vanhoutte PM). New York, Raven Press, 1998; 342: 427-436.
69. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factors. *Nature.* 1988; 327: 524-526
70. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-Nitric oxide pathway. *N Engl J Med.* 1993; 329: 2002-2012
71. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol.* 1989; 38: 1709-1715
72. Palmer RMJ, Moncada S. A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989; 158: 348-352
73. Beckman JS, Viera L, Estevez AG, Teng R. Nitric oxide and peroxynitrite perinatal period. *Semin Perinatol.* 2000; 24 (1): 37-41

74. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem.* 1993; 268 (17): 12231-12234
75. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharm Rev.* 1991; 43: 109-141
76. Richard K. Nitric oxide synthases. *Biochemist Nov.* 1994; 16 (5): 3-6
77. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J.* 1994; 298: 249-258
78. Nelin LP, Hoffman GM. The use of inhaled nitric oxide in a wide variety of clinical problems. *Pediatr Clin North Am.* 1998; 45 (3): 531-548
79. Vallance P, Collier J. *Biology and Clinical Relevance of Nitric Oxide.* 1994; 309: 453-457
80. Anggard E. Nitric oxide: Mediator, murder and medicine. *Lancet.* 1994; 343: 1199-1206
81. Akdeniz H, Türkdoğan K, Demiröz P. Hepatit B taşıyıcılarının ailelerinin hepatit B virüs enfeksiyonu açısından araştırılması. *Viral Hepatit Dergisi.* 1997; 3(1): 52-55.
82. Blumberg BS, Sutnick AI, London WT, Melartin L. Sex distribution of Australia antigen. *Arch Intern Med.* 1972; 130: 227-231
83. Yenen OŞ. Viral Hepatitler. In: *Enfeksiyon hastalıkları.* Topçu AW (ed). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1996: 664-669.
84. Niederau C, Heintges T, Lange S, Goldman G, Niederau CM, Mohr L. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med.* 1996; 334: 1422-1427
85. Mochizuki K, Hayashi N, Hiramatsu N, Katayama K, Kasahara A, Fusamoto H et al. Fas Antigen Expression in Liver Tissues of Patients With Chronic Hepatitis B. *J Hepatol.* 1996; 24: 1-7

86. Fattovich G, Farci P. A Randomized controlled trial of lymphoblastoid interferon alfa in patients with chronic hepatitis B lacking HBeAg. *Hepatology*. 1992; 15: 84-89
87. Çulcu F. Çocukluk çağında A, B, C hepatitleri. *Viral Hepatit*. Tekeli E, Balık İ (Editörler). İstanbul, Viral Hepatitle Savaşım Derneği yayınları, 2003: 288-303.
88. Heijntink RA, Kruining J, Honkoop P. Serum HBeAg Quantitation during antiviral therapy for chronic hepatitis B. *J Med Virol*. 1997; 53: 282-287
89. Di Bisceglie, Bergasa NV, Fong TL. A randomize controlled trial of recombinant alfa interferon therapy for chronic hepatitis B. *Hepatology*. 1991; 13: 70-78
90. Gürel S, Dolar E, Gülten M, Nak GS, Karaaslan Y. Primer cevapsız yada nüks kronik B hepatitinde interferon alfa ve lamuvidin kombine tedavisi sonuçları. *Viral Hepatit Dergisi*. 1999; 2: 117-121.
91. Gül HC: Kronik Hepatit B'de alfa interferon ve lamuvidin kombine tedavisinin etkinliğinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi, GATA Tıp Fakültesi, İstanbul. 1999.
92. Parakazan R: Kronik Hepatit B'li çocuklarda interferon alfa ve lamuvidin kombine tedavisinin etkinliği ile birlikte etkenin genotiplendirilmesi. Uzmanlık tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep. 2004.
93. Dikici B, Boşnak M, Boşnak V, Dağlı A, Davutoğlu M, Yağcı RV. Comparison of treatments of chronic hepatitis B in children with lamuvidine and alpha-interferon combination and alpha-interferon alone. *Pediatr Int*. 2002; 44: 517-521
94. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Apoptosis: Definition, Mechanism and Revelance to Disease. *Am J Med*. 1999; 107: 489-506
95. Gencer S, Ozer S, Oltan M. Akut ve kronik viral hepatitli hastalarda ve taşıyıcılarda lenfosit alt gruplarının incelenmesi. *Viral Hepatit Dergisi*. 1999; 5 (1): 6-12.

- 96.** Abe S, Kotoh K, Arao S, Tabaru A, Otsuki M. Fas Antigen Expression on Hepatocytes Predicts the Short and Long term Response to Interferon Therapy in Patients with Chronic Hepatitis C. *J Gastroenterol.* 2001; 3: 326-331
- 97.** Hinshaw VS, Olsen CW, Dybdahl SN, Evans D. Apoptosis: A Mechanism of Cell Killing by Influenza A and B Viruses. *J Virol.* 1994; 68: 3667-3673
- 98.** Okasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adachi M et al. Lethal effects of the anti-Fas antibody in mice. *Nature.* 1996; 364: 806-809
- 99.** Le H. Song, Vu Q. Binh, Dinh N. Duy, Thomas C. Bock, Peter G. Kremsner, Adrian J.F. Luty et al. Variations in the Serum Concentrations of Soluble Fas and Soluble Fas Ligand in Vietnamese Patients Infected with Hepatitis Virus. *J Med Virol.* 2004; 73: 244-249
- 100.** Hamazaki K, Gochi A, Matsubara N, Mori M, Orita K. Expression of Fas antigen and Bcl-2 protein in hepatocellular carcinoma. *Acta Med.* 1995; 49: 227-230
- 101.** Kiyıcı M, Gürel S, Budak F, Dolar E, Gulden M, Giray N, Memik F. Fas antigen (CD 95) expression and apoptosis in hepatocytes of patients with chronic viral hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003; 15: 1079-1084
- 102.** Lapinski TW, Kowalczyk O, Prokopowicz D, Chyzewski L. Serum concentration of sFas and sFasL in healthy HbsAg carriers, chronic viral hepatitis B and C patients. *World J Gastroenterol.* 2004; 10(24): 3650-3653
- 103.** Preedy VR, Reilley ME, Mantle D, Peters TJ. Oxidative Damage In Liver Disease. *JIFCC.* 1998; 10(1): 16-19
- 104.** Von Herbay A, Stahl W, Niederau C, Von Laar J, Strahmeyer G, Sies H. Diminished plasma levels of vitamin E, in patients with severe viral hepatitis. *Free Radic Res.* 1996; 25: 461-466
- 105.** Peterhans E. Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide in Viral Disease. *Biol Trace Elem Res.* 1997; 56: 107-116

106. Oxel F, Kasirga E, Taneli B. Wilson's cirrhosis: As A. Free Radical Disease (Facts And Speculations). Second Congress of National Pediatric Gastroenterology and Nutrition; 1996; İstanbul, Türkiye.
107. Nordstorm G, Seemant; Hasselgren P O. Beneficial effect of allopurinol in liver ischemia. *Surgery* 97. 1985; 97: 679-684
108. Nathan CF, Xie QW. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem.* 1994; 269: 13725-13728
109. Geller DA, Nussler AK, Di Silvio M, Lowenstein CJ, Shapiro RA, Wang SC. Cytokines, endotoxin and glucocorticoids regulate the expression of inducible nitric oxide in hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90: 522-526
110. Wood ER, Berger JH, Sherman PA, Lapetina EG. Hepatocytes and macrophages express an identical cytokine inducible nitric oxide synthase gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993; 191: 767-774
111. Simpson KJ, Lukacs NW, Coletti L, Stricter RM, Kunkel SL. Cytokines and the Liver. *J Hepatol.* 1997; 27: 1120-1132
112. Adamson GM, Billings RE. Cytokine toxicity and induction of NO synthase activity in cultured mouse hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1993; 119: 100-107
113. Curran RD, Billiar TR, Stuer DJ, Ochoa JB, Harbrecht BG, Flint SG et al. Multiple cytokines are required to induce hepatocyte nitric oxide production and inhibit total protein synthesis. *Ann Surg.* 1990; 212: 462-469
114. Billiar TR, Curran RD, Stuer DJ, Stadler J, Simmons RL, Murray SA. Inducible cytosolic enzyme activity for the production of nitrogen oxide from L-arginine in hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990; 168: 1034-1040
115. Billiar TR, Curran RD, Harbrecht BG, Stuehr DJ, Demetris AJ, Simmons RL. Modulation of nitrogen oxide synthesis in vivo: NG-monomethyl-L-arginine inhibits endotoxin-induced nitrate/nitrite biosynthesis while promoting hepatic damage. *J Leukoc Biol.* 1990; 48: 568-569

- 116.** Geller DA, Di Silvio M, Nussler AK, Wang SC, Shapiro RA, Simmons RL et al. Nitric oxide synthase expression is induced in hepatocytes in vivo during hepatic inflammation. *J Surg Res.* 1993; 55: 427-432

- 117.** Guidotti LG, Guilhot S, Chisara FV. Interleukin-2 and alpha/beta interferon downregulate hepatitis B virus gene expression in vivo by tumor necrosis factor-dependent and independent pathways. *J Virol.* 1994; 68: 1265-1270

- 118.** Kirkalı G, Gezer S, Umur N, Ozcan MA, Tankurt E. Nitric Oxide in Chronic Liver Disease. *Turk J Med Sci.* 2000; 30 (6): 511-515

- 119.** Martin PY, Gines P, Schrier RW. Nitric Oxide as a mediator of hemodynamic abnormalities and sodium and water retention in cirrhosis. *N Engl J Med.* 1998; 339 (8): 533-541

- 120.** Kandemir Ö, Polat A, Kaya A. Inducible nitric oxide synthase expression in chronic viral hepatitis and its relation with histological severity of disease. *J Viral Hepat.* 2002; 9: 419-423

- 121.** Koulentaki M, Notas G, Petinaki E, Valatas V, Mouzas AI, Castanas E et al. Nitric oxide and pro-inflammatory cytokines in acute hepatitis B. *Eur J Intern Med.* 2004; 15: 35-38

- 122.** Tong Q, Zeng I. Study on the correlation of plasma NO, ET-1 and ALT in the patients with chronic hepatitis and cirrhosis. *J Tongji Med Univ.* 2000; 20(3): 203-204

- 123.** Wang K, Han LY, Lu Q, Wang B, Li XH, Wang HM. Nitric oxide and nitric oxide synthase in patients with chronic hepatitis B. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi.* 2005; 19(2): 142-145

- 124.** Liu RH, Jacop JR, Tennant BC, Hotchkiss JH. Nitrite and nitrosamine synthesis by hepatocytes isolated from normal woodchucks (*Marmota monax*) and woodchucks chronically infected with woodchuck hepatitis virus. *Cancer Res.* 1992; 52: 4139-4143

- 125.** Ersoy Y, Bayraktar M, Mızrak B, Ozerai H, Gunai S, Aladağ M et al. The level of endothelin-1 and nitric oxide in patients with chronic viral hepatitis B and C and correlation with histopathological grading and staging. *Hepatol Res.* 2006; 34: 111-116
- 126.** Amaro MJ, Bartolome J, Pardo M, Cotonat T, Lopez A, Carreno V. Decreased nitric oxide production in chronic viral hepatitis B and C. *J Med Virol.* 1997; 51 (5): 326-331