

**GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONU OLAN ÇOCUKLARDA  
ÇEŞİTLİ TEDAVİ YÖNTEMLERİ VE İMMÜN YANITLA İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Murat KARAOĞLAN**

**Tez Danışmanı**  
**Prof. Dr. Yavuz COŞKUN**

**Bu proje, Gaziantep Üniversitesi Araştırma Fonu desteği ile yapılmıştır**

**Gaziantep - 2000**

**İÇİNDEKİLER**  
**KONU**

**SAYFA**

1) TABLO LİSTESİ.....	i
2) ŞEKİL LİSTESİ.....	iii
3) TEŞEKKÜR YAZISI.....	iv
4) KISALTMALAR.....	v
5) a. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
b. GENEL BİLGİLER.....	3
1- İMMÜN SİSTEM.....	3
1.1- Hücresel immünite.....	3
1.1.1- T lenfosit Subpopulasyonları.....	4
1.2- Humoral İmmünite.....	5
1.2.1- İmmünglobulinler.....	6
1.3- Kompleman sistemi.....	7
2- HEPATİT B İNFEKSİYONU.....	8
2.1- Tarihçe.....	8
2.2- Virolojik Özellikler.....	9
2.3- Sınıflandırma.....	10
2.4- Genom yapısı.....	12
2.5- Replikasyon Stratejisi.....	14
2.6- Viral proteinler: Antijenik Yapılar ve Fonksiyonel Özellikleri.....	16
2.7- HBV Genotipleri.....	19
2.8- HBV Mutantları.....	19
2.9- Epidemiyoloji.....	22
2.10- İmmünopatogenez.....	25
2.10.1- HBV İnfeksiyonunun İnsandaki Yaşam Döngüsü.....	26
2.10.2- Viral Antijenler.....	32
2.10.3- HLA Sınıf II Antijenine Sınırlı T Lenfosit Yanıtı.....	33
2.10.4- HLA Sınıf I Antijenine Sınırlı T lenfosit Yanıtı.....	36
2.10.5- Viral Persistans Mekanizmaları.....	38
2.11- Patoloji.....	40
2.12- Klinik.....	42
2.13- Tanı.....	45
2.14- Tedavi.....	50
2.14.1- İnterferon Tedavisi.....	52
2.14.2- İnterferon Dışı Tedaviler.....	57
2.14.2.1- Antiviral Kemoterapi.....	57
2.14.2.2- İmmünomodülatör İlaçlar.....	58
2.14.2.3- Moleküler Biyolojik Yöntemler.....	64
2.14.2.4- İlaçların Karaciğere Hedeflenmesi.....	64
2.15- Korunma.....	65
c. GEREÇ VE YÖNTEM.....	67
d. BULGULAR.....	74
e. TARTIŞMA.....	92
f. SONUÇLAR.....	104
6) TÜRKÇE ÖZET.....	106
7) YABANCI DİLDE ÖZET.....	107
8) KAYNAKLAR.....	108



Tablo 1. İmmünglobulinlerin fiziksel özellikleri.....	6
Tablo 2. Viral hepatitlerle ilgili tarihsel gelişmeler.....	8
Tablo 3. HBV genleri ve bu genler tarafından sentezlenen proteinler.....	13
Tablo 4. HBV enfeksiyonunun dört evresi.....	29
Tablo 5. HBV spesifik T hücre yanıtı.....	34
Tablo 6. Modifiye HAI derecelendirme: Nekroinflamatuaur değişiklikler.....	43
Tablo 7. Modifiye evrelendirme: mimari değişiklikler, fibrözis ve siroz.....	43
Tablo 8. HBV DNA, HBeAg ve Anti-HBe Serolojik Profilinin Yorumu.....	49
Tablo 9. Kronik B hepatitinin tedavisinde hedeflenen amaçlar.....	51
Tablo 10. Kronik B hepatitinde kullanılan tedavi yöntemleri ve ilaçlar.....	51
Tablo 11. Antiviral aktivite mekanizmaları.....	51
Tablo 12. IFN $\alpha$ için endikasyon kriterleri.....	55
Tablo 13. IFN-alfa tedavisine yanıtı etkileyen faktörler.....	55
Tablo 14. İnterferon alfa tedavisinin yan etkileri.....	56
Tablo 15. Hastaların ilaç kullanım öncesi özellikleri.....	68
Tablo 16. KAH'lı hastaların ilaç kullanım öncesi ALT ve HBV DNA değerleri.....	69
Tablo 17. KAH ve KPH'lı hastaların ilaç gruplarına göre dağılımı.....	70
Tablo 18. İlaç grublarında KAH ve KPH dağılımı.....	71
Tablo 19. Çalışmaya alınan hastalardaki HBeAg ve HBV DNA ilişkisi.....	76
Tablo 20. HBsAg, HBeAg, HBV DNA ve ALT değerlerindeki değişiklikler.....	77
Tablo 21. KBH'lı çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası dönemlerdeki lenfosit ve subgruplarının yaşlarına göre normal değerler ile karşılaştırılması.....	79
Tablo 22. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası absolu lenfosit değerlerinin karşılaştırılması.....	80
Tablo 23. Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD3+ (total T lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması.....	81
Tablo 24. Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD19 (total B lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması.....	82
Tablo 25. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası absolu CD4 (helper T lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması.....	83
Tablo 26. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD8 (sitotoksik/supresör T lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması.....	84

Tablo 27. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 oranlarının karşılaştırılması.....	85
Tablo 28. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD16/56(natural killer) absolu değerlerinin karşılaştırılması.....	86
Tablo29. Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası dönemlerdeki immünglobulin, C3 ve C4'ün yaşlarına göre normal değerler ile karşılaştırılması.....	87
Tablo 30. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda IgG değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması.....	88
Tablo 31. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda Ig A değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması.....	89
Tablo 32. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda IgM değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması.....	90
Tablo 33. Kronik aktif hepatitli çocuklarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum ALT değerlerinin karşılaştırılması.....	91
Tablo 34. Kronik aktif hepatitli çocuklarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum HBV DNA değerlerinin karşılaştırılması.....	91
Tablo 35. HBsAg kaybı görülen hastaların serolojik profilleri ve diğer özellikleri..	91



**ŞEKİL LİSTESİ****SAYFA**

Şekil 1. HBV'nin şematik yapısı.....	11
Şekil 2. HBV'nin genom yapısı.....	13
Şekil 3. Hepatit B virüsünün replikasyonu.....	15
Şekil 4. Hepatit B virüs immünopatogenezi.....	28
Şekil 5. HBV'nin HLA sınıf I ve HLA sınıf II sınırlı T lenfositlerce işlenmesi.....	28
Şekil 6. HBV patogenezinde basamaklar.....	37
Şekil 7. HBV enfeksiyonunda gidiş.....	45
Şekil 8. Akut HBV enfeksiyonun seyri.....	48
Şekil 9. Kronik HBV'nin seyri.....	49
Şekil 10. HBV enfeksiyonu tedavisinde kullanılan ilaçların etki mekanizmaları.....	52
Şekil 11. KAH'lı hastalarda ilaç gruplarının dağılımı.....	70
Şekil 12. KPH'lı hastalarda ilaç gruplarının dağılımı.....	70
Şekil 13. Levamizol verilen hastalarda KAH ve KPH dağılımı.....	71
Şekil 14. HBsAg aşısı verilen hastalarda KAH ve KPH dağılımı.....	71
Şekil 15. Levamizol ve HBsAg aşısı verilen hastalarda KAH ve KPH dağılımı.....	71
Şekil 16. Çalışmaya alınan hastalarda KAH ve KPH dağılımı.....	74
Şekil 17. Hastaların uygulanan ilaçlara göre dağılımı.....	75
Şekil 18. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası absolu lenfosit değerlerinin karşılaştırılması.....	80
Şekil 19. Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD3+ (total T lenfosit ) değerlerinin karşılaştırılması.....	81
Şekil 20. Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD19 (total B lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması.....	82
Şekil 21. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası absolu CD4 (helper T lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması.....	83
Şekil 22. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD8 (sitotoksik/supresör T lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması.....	84
Şekil 23. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 oranlarının karşılaştırılması.....	85
Şekil 24. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD16/56(natural killer) absolu değerlerinin karşılaştırılması.....	86
Şekil 25. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda IgG değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması.....	88
Şekil 26. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda Ig A değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması.....	89
Şekil 27. Kronik B hepatitli çocuk hastalarda IgM değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması.....	90

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince pediatri alanındaki bilgi birikimi ve deneyimini; en zor görünen problemleri en basite indirgeyen pratik yaklaşımı, araştırmacılık ufkunu açıcı, yönlendirici ve "tecrübe"ye tanıdığı sınırsız özgürlük anlayışı ile sunan, çocuk hastayı "çocuk" olarak seven hoşgörülü yaklaşımı ile bizlere iyi bir örnek olan değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Yavuz Coşkun'a, çalışmada titizliği öğreten Doç. Dr. Ziya Bayraktaroğlu'na ve bilgi ve tecrübeleri ile bizlere katkıda bulunan Doç. Dr. Metin Kılıç ve Doç. Dr. Ayşe Balat hocalarıma;

Karaciğer biyopsilerini yaparken gösterdiği sıcak ilgi ve yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Fikret Demirci'ye

Tez çalışmaları sırasında ve sonrasında yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Ercan Sivaslı'ya, Öğr. Gör. Gülper Koyuncu ve Öğr. Gör. Serdar Öztuzcu'ya, katkılarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma,

Destek ve katkıları için seroloji ve biyokimya çalışanlarına,

HBV DNA testlerini çalışarak sonuçların ulaştırılmasındaki katkılarından dolayı Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvar çalışanlarına,

İstatistik değerlendirmelerindeki özel yardımlarından dolayı Gaziantep İstatistik Bölge Müdürü sayın Ökkeş Kulakoğlu'na,

Eşsiz destek ve fedakarlıklarından dolayı eşim, Dr. İlkay Karaoğlan'a içtenlikle teşekkür ederim .

Dr. Murat Karaoğlan

## KISALTMALAR

APC	: Antigen presenting cell
CD	: Cluster of diffentation
HBV	: Hepatit B virüsü
HCC	: Hepato cellular carcinoma
HLA	: Human leukocyte antigen
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
KAH	: Kronik aktif hepatit
KBH	: Kronik B hepatiti
KLH	: Kronik lobuler hepatit
KPH	: Kronik persistan hepatit
MHC	: Majör histocompatibility complex
NK	: Natural killer
ORF	:Open reading frame
2'-5' OAS	: 2'-5' Oligo Adenilat Sentetaz
PCR	: Polimeraz change reaction
PNL	: Polimorphonuclear leukocyte
Tc	: T cytotoxic
TCR	: T Cell receptor
Th	: Helper T lenfosit
TNF	: Tümör nekrozis faktör
Ts	: Supresör T lenfosit



## GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik B hepatiti, etkenin hepatit B virüsü olduğu (HBV) kendine özgü klinik, biyokimyasal, seroloji ve histopatolojik özellikleri olan karaciğerin uzun süreli (en az altı ay) iltihabi (inflamatuvar) hastalığıdır. Hepatit B, kronikleşmesi, fulminan seyri, hepatosellüler karsinomaya neden olması, delta enfeksiyonuna zemin hazırlaması, karaciğer transplantasyon endikasyonları içinde en sık grupu oluşturması ile kişi sağlığını; hastalığın ve komplikasyonlarının tedavisinin yüksek maliyeti ve yaygın bulaşıcılığı ile de toplum ekonomisi ve sağlığını tehdit eden bir enfeksiyondur.

Orta endemisite bölgesinde bulunan ülkemizde HBV enfeksiyonuna maruz kalan kişilerin yaklaşık olarak %10'u kronikleşmektedir. Kronikleşmeye eğilimden kişinin immün yapısının sorumlu olduğu belirtilmektedir. Humoral ve özellikle de hücrel immün yanıt, hem immüniteden hem de enfeksiyonun immunopatogenezinde sorumludur. İyileşmede hücrel immün yanıtın önemli komponentlerinden helper T, sitotoksik T ve natural killer majör rol oynar. Virüsün nükleoproteinleri bu lenfositler için majör hedeflerdir.

Bugün için dünyada kronik B hepatitinin tedavisinde etkinliği gösterilen en önemli ilaç olan interferon- $\alpha$  ile seçilmiş vakaların ancak % 30-35'inde kalıcı olarak replikasyon önlenmektedir. Ancak interferon tedavisinin ciddi yan etkileri yanında, oldukça pahalı oluşu, bu hastalarda virüsün tam olarak eradike edilememesi, hepatosite integre viral genomun uzaklaştırılmaması, asemptomatik taşıyıcılara ve dekompanze sirozlulara hiç tedavinin verilememesi alternatif tedavi arayışlarını gündeme getirmiştir. Bu yaklaşımlar arasında hastanın HBV'ye karşı yetersiz ve/veya defektif immün yanıtını stimüle eden, güçlendiren, onaran immünmodülatör ilaçlar oldukça ilgi görmektedir.

Levamisol en çok tecrübe edilen nonspesifik bir immünstimülandır. Levamisol makrofaj, PNL ve T lenfositleri direk olarak stimüle eder, onların salgılarını, kemotaksisini ve proliferasyonunu artırır. İnfekte hepatositlere sitotoksik T lenfositlerin direk saldırısını aktive eder.

Levamisolün kronik B hepatitinde kullanımına ilişkin ilk yayınlar oldukça olumlu iken, son zamanlarda yapılan çalışmalar etkisiz, hatta ciddi ve artmış yan etkileri olduğundan söz etmektedir.

Hepatit B aşılarının (HBsAg, HBcAg ve DNA aşıları) bir yandan, konağın helper ve sitotoksik T ile otoreaktif B lenfositlerini HBsAg'e karşı stimüle eden immünmodölatör; diğer yandan IL-2 ve interferon- $\gamma$ 'ı uyaran antiviral etkilerinin saptanması ile kronik B hepatitinin tedavisinde kullanılmaları oldukça güncel bir konu haline gelmiştir. Konuya ilişkin kontrollü hayvan deneyleri ile erişkin insanlar üzerinde yapılan kontrollü çalışmaların ilk sonuçları umut vericidir. Kronik B hepatitli çocuklar üzerinde yapılmış bir çalışma ise henüz bildirilmemiştir.

Bu çalışmada, kronik B hepatitli hastaların tedavisinde kullanılan immünmodölatör ilaçlardan ikisinin (levamisol ve HBsAg aşısı) çocuk hastalarda kullanımının, immün yanıtla ilişkisinin, bazı immün parametreler açısından kantitatif olarak ne yönde etkilendiğini ve bu etkilenme şekliyle viral replikasyon arasında ilişki olup olmadığını araştırarak bu konulara katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

# GENEL BİLGİLER

## 1. İMMÜN SİSTEM

Enfeksiyöz ajanlara karşı vücudun savunması deri, mukozal membranlar, mukoza tabakaları, silialı epitel hücrelerini içeren fiziksel bariyerler ve değişik immün sistem komponentlerinin uyumlu koordinasyonu ile sağlanır. İmmün mekanizmayı sağlayan dört ana sistem vardır. Bunlar:

- 1- Hücresel immünite (T hücre bağımlı)
- 2- Humoral immünite (B hücre bağımlı)
- 3- Fagositer sistem
- 4- Kompleman sistemidir.

Bu dört ana sistem her biri kendi başına bağımsız olmayıp, birbirleri ile devamlı ilişki içerisinde. Hücresel immünite primer olarak T lenfositler ve makrofajlar aracılığı ile, humoral immünite B lenfositler aracılığı ile, fagositer sistem polimorfonükleer hücreler, monositler ve makrofajlar aracılığı ile ve kompleman sistemi kompleman komponentleri ile sağlanmaktadır (1,2).

### 1.1. Hücresel İmmünite

Hücresel immünitenin temel komponenti makrofajlar ve T lenfositleridir. T hücrelerinin başlıca iki ana fonksiyonu vardır: Birincisi, B hücre yüzey moleküllerine bağlanabilen membran molekülleri ve sitokinler aracılığı ile B hücrelerinin antikor yapımını uyarmak. İkincisi, tümör hücreleri ve virüslerle infekte hücreleri öldürmektir. T lenfositleri, T hücre reseptörleri (TCR) olarak adlandırılan hücre yüzey proteinleri aracılığı ile yabancı hücrelerin varlığını saptarlar. Bu reseptörün temel görevi spesifik antijenleri bağlamaktır. İmmünglobulinlerin aksine T hücre reseptör proteinleri hiçbir zaman salgılanamadıkları için uzaktaki hedefi bulamazlar. Etkilerini direkt kontak veya diğer immün hücrelerin aktivitesini etkileyerek yaparlar (3).



T lenfositlerinin yabancı proteinleri tanıyabilmesi için, bu proteinlerin küçük peptidlere ayrılıp bir hücre tarafından T hücrelerine sunulması gerekir. Bu hücreye "antigen presenting " hücre (APC) denir. Bu hücreler yabancı proteinleri hücre yüzeylerinde bulundurdukları ve MHC (Majör Histocompatibility Complex) denen özel protein yapısındaki, HLA-A,B,C antijenleri (HLA sınıf I) ve HLA-DR, -DP, -DQ (HLA sınıf II) antijenlerinden oluşan reseptörler aracılığı ile T lenfositlerine sunarlar. T lenfositleri immünolojik etkilerini direkt olarak hücrelerin yüzeyine yapışarak gerçekleştirirler.

Olgun fonksiyonel T lenfositleri T hücre reseptörlerine ek olarak birçok karakteristik yüzey proteinleri de bulundururlar. Bu proteinler, spesifik monoklonal antikolar ile belirlenen yüzey molekülleridir. Bu moleküller ise CD (Cluster of Differentiation) numaralandırma sistemi ile tanımlanırlar. (CD1, CD2, CD3, ....vb.)

### 1.1.1- T Lenfosit Alt grupları

T lenfosit subpopulasyonlarının her birinin çok değişik immünolojik fonksiyonları olup kendilerine özgü belirleyici yüzey marker'ları vardır. Bu subpopulasyonlar sıklıkla T hücre subsetleri diye adlandırılırlar. T lenfositlerinin iki önemli subseti CD4 ve CD8 diye bilinen ek yüzey proteinleri ile karakterizedir. Kan ve sekonder lenfoid dokularda T hücrelerinin %70'i CD4+ CD8- olup %25'de CD4-CD8+ hücrelerdir.

**Helper T Lenfosit:** Kandaki lenfositlerin %35-60 kadarını, heterojen bir gruba sahip olan Th (T helper) subset hücreleri oluşturur. CD4 T lenfositlerin temel görevleri, immün yanıtın gelişmesi için gereken uyarıyı oluşturması ve B lenfositlerinin immünglobulin salgılayan hücrelere farklılaşmasını sağlamasıdır. Salgıladıkları lenfokinler aracılığı ile T ve B hücreleri, monositler ve diğer immün sistem hücrelerinin aktivitesini regüle ederler.

Helper T lenfositler TH0, TH1, TH2 olarak üç kategoriye ayrılırlar. TH1 grubu salgıladıkları IL-2, TNF (tümör nekrozis faktör) ve gama interferon aracılığı ile hücrel immünitenin devam etmesini, B lenfositlerinin immünglobulin yapımını, makrofajların aktivasyonunu sağlayarak enfeksiyona karşı savunmayı güçlendirir. TH2 grubu ise IL-4 ve IL-5 salgılayarak akut ve kronik inflamasyonu ve geç tip hipersensitiviteyi inhibe ederler (3).

Helper T lenfosit immün cevapta orkestra şefi görevi görür. Çünkü immün yanıtta rol oynayan iki efektör hücrenin (sitotoksik T lenfosit ve immünglobulin salgılayan plazma hücresi) aktivasyonu için helper T lenfosit ihtiyacı vardır.

**Sitotoksik T Lenfositler:** Sitotoksik T lenfosit CD8 yüzey antijeni taşır. Bu antijenin, MHC sınıf I ile kompleks yapmış yabancı antijenleri tanıma özelliği vardır. Sitotoksik T lenfositler, hedef hücreyi ya sebebi anlaşılamayan bir şekilde uyararak, apoptozisle (programlanmış hücre ölümü) ya da salgıladığı sitotoksik proteinler aracılığı ile ozmotik lizis sonucu ölümüne neden olurlar. Bu lenfositler, virüsler ve diğer intrasellüler parazitlerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı konağın immün cevabında belirgin rol oynarlar. Yüzeyinde tümör-spesifik antijen taşıyan Tc (T cytotoxic) lenfositlerin tümör hücrelerini lizise uğratma yetenekleri vardır.

**Supresör T Lenfositler:** İmmün cevabı sonlandırır, baskırlar. Sitotoksik ve helper T hücre etkinliğini baskılayarak immün reaksiyonların aşırıya kaçmasına izin vermezler (3).

**Natural Killer (NK) Hücreler:** NK hücreleri, CD16 ve CD56 yüzey molekülleri taşırlar. Hedef hücrenin lizise uğratılması için yüzeyinde MHC molekülüne gereksinim duymaz. NK hücreleri malignansilere karşı konağın defansında anahtar rol oynar. İnsanlarda, tekrarlayan viral enfeksiyonlar, özellikle de Varicella-Zoster virüs, sitomegalovirüs ve Epstein-Barr virüs enfeksiyonları selektif NK hücre eksikliğinin klinik manifestasyonudur. Bu durum bize NK hücrelerinin viral enfeksiyonlarda büyük rol oynadığını göstermektedir. NK hücreleri aynı zamanda bazı parazitik ve bakteriyel enfeksiyonlarda da olaya katılmaktadır (4).

## 1.2- Humoral İmmünite

Humoral immünitenin temel komponenti B hücreleridir. B hücrelerinin ana fonksiyonu kana ve diğer vücut sıvılarına antikor salgılayarak bu bölgelerde yabancı ajanların yaşamalarını engellemektir. Bir B hücresi aktive olduğu zaman çoğalarak bazı klonları spesifik antikor üreten bellek (memory) B lenfositlerine, diğerleri de immünglobulin sentez ve sekrete edebilen plazma hücrelerine dönüşürler. Ayrıca yabancı antijenlerin T lenfositlerince tanınmasını sağlar.



Aktive olmuş B hücreleri çok sayıda farklı lenfokinler salgılayarak immün sistemde önemli rolleri olan diğer hücreleri de aktive ederler.

### 1.2.1- İmmünglobulinler

İmmünglobulinler antikor aktivitesine sahip proteinlerdir ve humoral immünitenin mediatörleri olarak kan akımında, dokularda, ve ekzokrin sekresyonlarda serbest moleküller olarak bulunurlar. İmmünglobulinlerin antijen bağlama dışındaki fonksiyonları; B lenfosit yüzeyinde membran bütünlüğünü korumak, B lenfosit yüzeyindeki antijeni tanıma, fagositozun kolaylaştırılması, transplasental geçiş, kompleman fiksasyonu, opsonizasyon, nötralizasyon, sekresyonlar içine transport, immün kompleks yapımıdır.

Beş immünglobulin izotipi vardır: IgG, IgA, IgM, IgD, IgE (Tablo 1).

**İmmünglobulin G (IgG) :** Serumdaki total immünglobulinlerin yaklaşık %75'ini oluşturur ve sekonder humoral immün yanıt boyunca en fazla tüketilen antikordur. Dört subgrubu vardır. Plasentadan geçebilen tek immünglobulindir ve bu nedenle yenidoğanı hayatın ilk aylarında enfeksiyona karşı korur.

Tablo 1 : İmmünglobulinlerin fiziksel özellikleri

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Sedim. Katsayısı	6-7	7	19	7-8	8
Mol. Ağırlığı	150.000	60.000	900.000	80.000- 400.00	190.000
Kompleman Fiks	+	0	++++	0	0
Serum Konsant.	1000	200	120	3	0,05
4 peptit ünitesi(n)	1	1,2	5	1	1
Ağır Zincirler	Gamma( $\gamma$ )	Alpha( $\alpha$ )	Mu( $\mu$ )	Delta( $\delta$ )	Epsilon( $\epsilon$ )
Yarılanma zamanı	23 gün	6 gün	5 gün	3 gün	2 gün
Plasental Transfer	+	0	0	0	0
Reaginic Aktivite	?	0	0	0	++++
Antibakteriyel Lizis	+	+	+++	?	?
Antiviral Aktivite	+	+++	+	?	?



**İmmünglobulin A (IgA):** Peyer plakları, tonsiller ve diğer submukozal lenfoit dokudaki B lenfositler tarafından salgılanan başlıca immünglobulindir. Süt, prostatik sıvı, bronşsal sekresyon, intestinal mukus, ter, tükürük ve diğer vücut sekresyonlarında en fazla bulunan immünglobulindir.

**İmmünglobulin M (IgM):** Antijenlerin büyük bir kısmına karşı oluşan erken primer immün yanıtın başlıca antikorudur. B hücre yüzeyinde en fazla taşınan immünglobulindir.

**İmmünglobulin D (IgD):** Normalde kanda eser miktarda bulunur. Hücre yüzeyinde IgM ile birlikte bulunur. IgM sentezinin artışına yol açan stimülasyona neden olur. Fizyolojik fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemektedir.

**İmmünglobulin E (IgE):** Allerjik bozukluklarda en önemli rolü üstlenmektedir. IgE molekülleri antijenle kontakt kurduğunda, mast hücreleri ve bazofillerden allerjik olayların birçok belirtilerine neden olan mediatörler salınır.

### 1.3- Kompleman sistemi

Kompleman sistemi, birbiri ile etkileşim içinde olan ve enzim işlevi yapan en az 20 serum proteininden oluşur. Humoral bağışık yanıtın efektör ve amplifikatör sistemi olarak görev yapar. Kompleman aktivasyonunda klasik ve alterne yol olmak üzere majör iki yol vardır. Sistem antijen-antikor kompleksi ile aktive olur. Böylelikle hedef hücrenin sitolizine kadar varan birbirini izleyen bir dizi olay başlar. Çoğu kompleman proteinlerinin karaciğerde sentezlenmesi nedeni ile kronik karaciğer hastalıklarında sistem ürünlerinin sentez ve katabolizmasında belirgin değişiklikler olabilir (5).

# 1- HEPATİT B VİRÜS ENFEKSİYONU

## 2.1. Tarihçe

Tablo 2 : Viral hepatitlerle ilgili tarihsel gelişmeler

- 1833 : İlk kez, çiçek aşısı yapılan tersane işçilerinde, "serum hepatiti" şeklinde gösterilmiş.
- 1887 : Hepatitin nedeninin enfeksiyöz olabileceği Weil tarafından gündeme getirilmiş; etkenin virüs olabileceği bu yüzyılın başında Mc Donald tarafından ileri sürülmüştür.
- 1930 : Begstand ve Kalk 'ın çalışmalarıyla kronik hepatit kavramı yerleşmeye başlamıştır.
- 1943 : A.B.D.'de bulaşıcı hepatite "enfeksiyöz hepatit" denilirken, İngiltere'de kan ve ürünlerinin transfüzyonu sonrası gelişen sarılıklara "homolog serum sarılığı" denildi.
- 1947 : Mc Callum, enfeksiyöz hepatit için "Hepatit A", serum hepatiti için ise "Hepatit B" deyimlerini kullanmıştır.
- 1950 : Krugman ve arkadaşları, Newyork' taki bir okul öğrencileri arasında deneysel hepatit geliştirmişler. "M.S." isimli çocukta farklı zamanlarda başlayan iki sarılık için ; öncekine, "M.S.1", (hepatit A) sonrakine, "M.S.2" (hepatit B) adları verildi.
- 1965 : Blumberg ve arkadaşları genetik polimorfizmi araştırırken Avustralyalı bir yerlinin serumunda, çok sayıda kan transfüzyonu yapılmış bir hastanın agar jelde presipitasyon veren bir antijen bulunduğunu göstermişler ve günümüzde "Hepatit B yüzey antijeni-HBsAg" olarak bilinen bu proteine "Avustralya antijeni-Au antijeni" adını vermişler.
- 1970 : Dane, HBV'nin kısmen saflaştırılmış preperasyonlarını, elektron mikroskopik incelemelerinde üç değişik HBV partikülü olduğunu göstermiş, bunlardan 42 nm çapındaki infeksiöz özellikle olanına Dane partikülü adını vermiştir.
- 1970 : Krugman ve arkadaşları HBV ile infekte serumları 98 °C'de 1 dakika kaynatıp duyarlı kişilere uyguladığında antiHBs oluşumunun indüklendiğini göstermiştir.
- 1973 : Feinstone, dışkıda hepatit A virüsünü gösterdi.
- 1974 : HbcAg, DNA polimeraz ve HBV DNA tanımlandı.
- 1977 : Rizzetto ve arkadaşları delta antijenini izole ettiler.
- 1980 : HAV ve HBV dışındaki hepatit etkenlerinin NANB olarak isimlendirilmesi önerildi.
- 1987 : Delta antijeninin HBV'nin değil inkomplet bir virüs olan HDV'nin olduğu anlaşıldı.
- 1989 : Parenteral yolla bulaşan NANB, klonlanan antijen ile taranarak HCV olarak adlandırıldı.
- 1990 : Dışkıda 27-30 nm'lik partiküller gösterilmiş, bunlara karşı oluşan antikorlar saptanarak virüse de HEV denilmiştir.
- 1995 : Hepatit G virüsünün saptanması
- 1997 : Transfüzyon Transmitted Virüs (TTV) genomunun izole edilmesi



## 2.2- Virolojik özellikler

HBV (Hepatit B virüsü) yaklaşık 42-47 nm çapında, lipoprotein kompleks bir kılıfla çevrili, kısmen çift sarmallı, sirküler yapıda bir DNA virüsüdür. Dane partikülü de denilen bu form olgun (tam) bir viryonu ifade eder. Sadece 3200 nükleotidden oluşan genomik yapısı nedeniyle bilinen tüm hayvan DNA virüsleri içinde en küçük olanıdır. Hepadnaviridae ailesi içinde insanlarda enfeksiyon oluşturan tek tür HBV'dir. İnfekte bir kişinin serumundan elde edilen HBV'nin, kısmen saflaştırılmış preparasyonları elektron mikroskopunda incelenecek olur ise; büyüklük, yapı ve miktar gibi değişik özellikleri bakımından birbirine benzemeyen üç tip partiküle rastlanır (Şekil 1). a) Yaklaşık 42nm (42-47nm) çapında infektif özellikte, küresel yapıda, olgun viryon (Dane partikülü). b) Yaklaşık 22 nm (16-25nm) çapında, içinde nükleik asit bulunmayan, noninfektif küçük çaplı küresel partiküller. c) 22 nm çapında, 50-500 nm uzunluğunda, nükleik asit içermeyen, non-infektif tubuler partiküller. Her üç partikül de hepatit B yüzey antijenine (HBsAg) sahip bulunmaktadır (6).

Dane partikülünün dış yüzeyi yaklaşık 7-8 nm genişliğindeki kılıfla örtülüdür. Bu kılıf, yüzey antijen (HBsAg) proteinleri ve glikoproteinleri ile konak kaynaklı hücresel lipitleri içerir. Daha iç kısımda 27-28 nm çapında elektron-yoğun küresel (hegzagonal) internal kor (core; nükleokapsid) yerleşmiştir. 22 kilodalton ağırlığındaki c proteini (HBcAg) nükleokapsidin temel yapı proteinidir. Nükleokapsidin içinde endojen viral DNA polimeraz ve bununla sıkı ilişkili olarak tek bir molekül halinde kısmen çift sarmallı sirküler DNA bulunur. Ayrıca konak orijinli olduğu sanılan bir protein kinaz aktivitesi bulunmaktadır (6). Viryon, küçük küresel ve tubuler partikül formlarının her üçü de infekte konak serumunda yüksek miktarda (200-500µg/ml) saptanabilen ve HBsAg adı verilen ortak yüzey antijenine sahip olup, immünojeniktir. Kanda dolaşan HBsAg'nin büyük bir kısmını 22 nm'lik küçük küresel partiküller oluşturur. HBV ile infekte bir kişinin serumunda Dane partikül sayısı  $10^4$ - $10^9$  /ml iken, nonenfeksiyöz partikül sayısı  $10^{13}$ /ml' dir.

HBV'nin serum içinde 30-32°C'de saklandığında 6 ay süreyle, -20°C'de dondurulduğunda ise yıllarca infekte edici özelliğini korumaktadır (7).

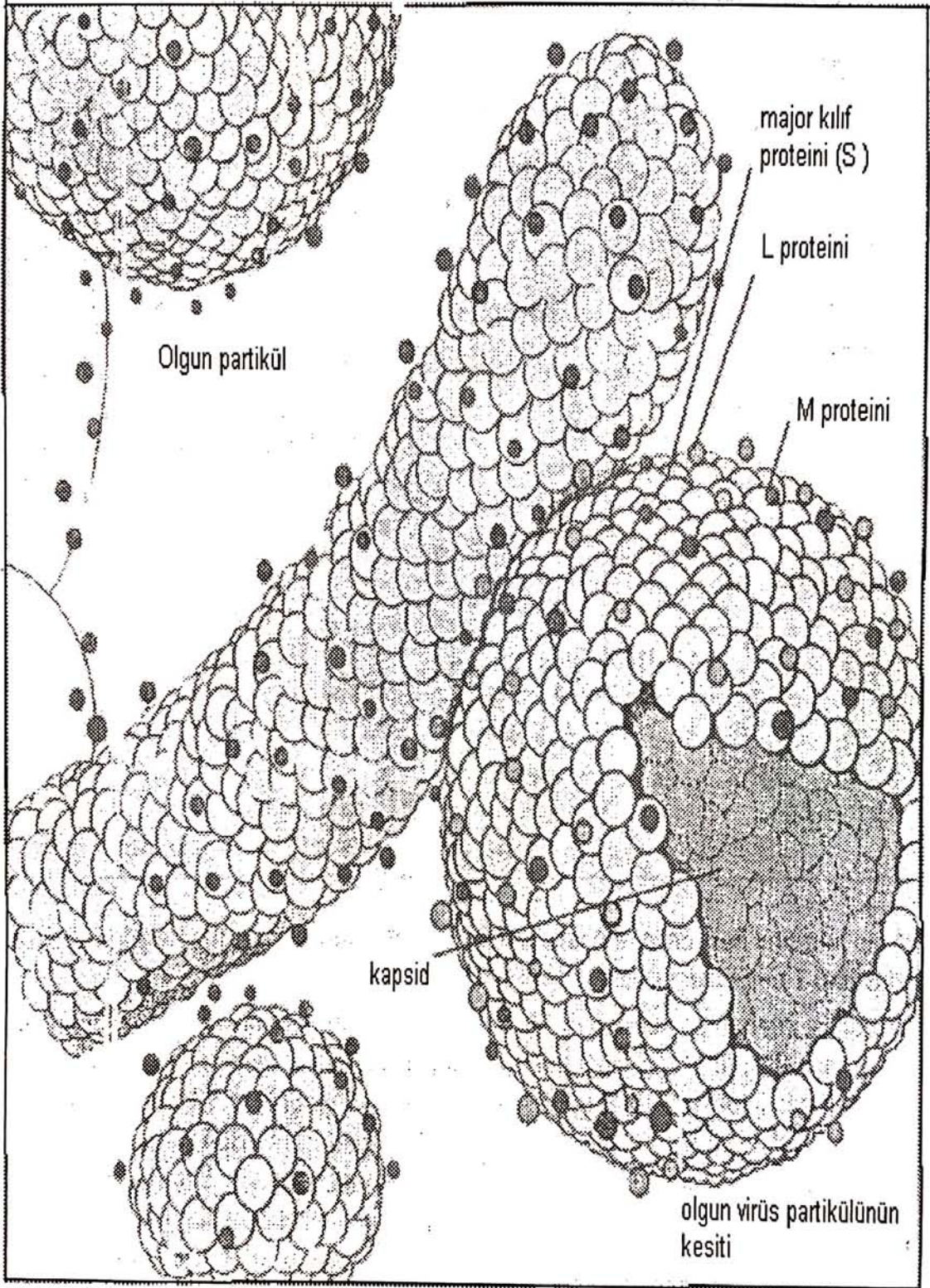


### 2.3-Sınıflandırma

HBV, tümü benzer şekilde hepatotropizm (karaciğer seçiciliği) gösteren Hepadnaviridae ailesinin Ortohepadnavirüs cinsinde yer alan DNA virüsüdür.

Hepadnaviridae ailesinde bulunan virüsler, Ortohepadnavirüs (HBV,WHV,GSHV) ve kanatlı virüslerinin bulunduğu Avihepadnavirus (DHBV) olmak üzere iki cins altında sınıflandırılmaktadır.

Hepadnaviridae ailesinin üyeleri aşağıda belirtilen ortak özellikleri paylaşırlar : Viryon büyüklükleri ve ince yapıları benzerdir. Özel polipeptid ve antijenik yapıya sahiptirler. Viryon DNA büyüklüğü, yapısı ve genetik organizasyonlarında benzerlikler vardır. Genom replikasyonu için revers transkriptaza gereksinim duyarlar. Böbrek, pankreas, dalak, kemik iliği ve lökositlerde replikasyon bildirilmişse de karaciğer tropizmi gösterirler ve yaşam döngüleri benzerdir. Oldukça sınırlı konak spektrumuna sahiptirler. Persistan enfeksiyon oluşturma özelliğine sahiptirler ve hepatosellüler karsinoma ile ilişkilidirler. Enfekte konaklarda viryon partiküllerin yanında kanda yüksek oranda saptanabilen non-enfeksiyöz kılıf antijen partikülleri içerirler.



Şekil 1: HBV'nin şematik yapısı



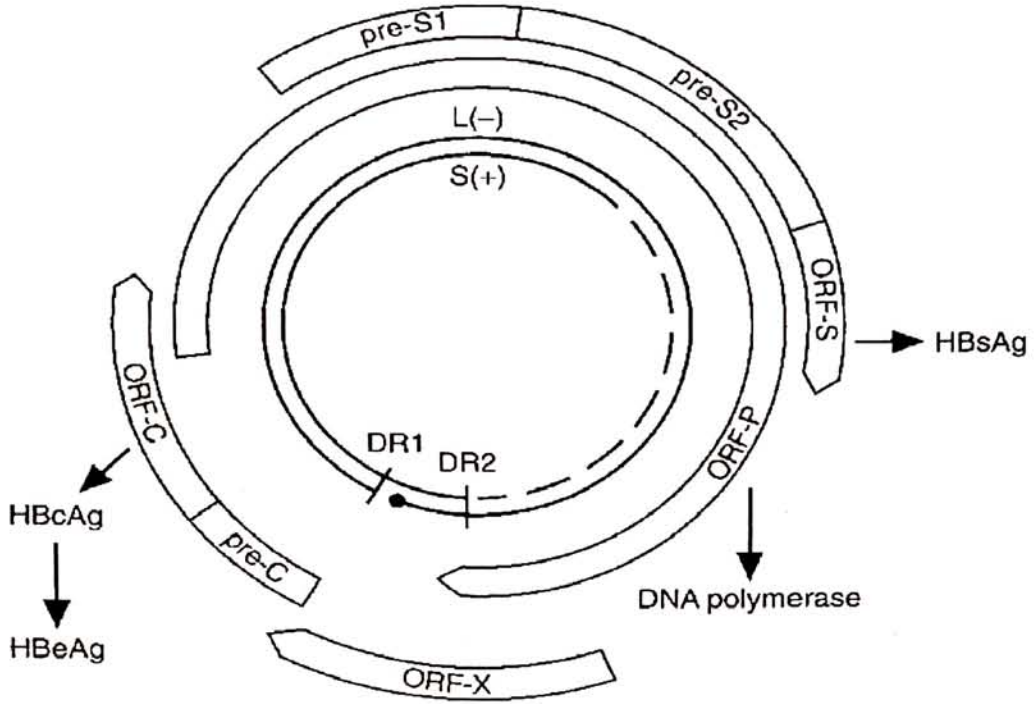
## 2.4- Genom yapısı (organizasyonu)

HBV genomu özel bir yapıya sahiptir. Kısmen çift sarmallı, sirküler bir DNA molekülüdür ve değişken uzunlukta olabilen tek sarmallı bir bölge içerir ( Şekil 2). DNA'nın molekül ağırlığı  $2.3 \times 10^6$  dalton, G+C oranı ise yaklaşık %49'dur. Genom DNA'sı; 3200 nükleotid taşıyan uzun (L veya negatif) ve 1800-2700 nükleotid içeren kısa (S veya pozitif ) zincir olmak üzere iki sarmaldan meydana gelmiştir. Bu iki DNA sarmalının kendileri gerçekte sirküler değil lineer molekülüdür ve her birinin 3' ile 5' uçları birbirleriyle birleşmemektedir. Ancak yine de bu iki DNA sarmalı sirküler bir yapı halinde bulunurlar (6).

Virüs DNA'sının yapısal bütünlüğü, her iki zincirin 5' uçlarında bulunan koheziv bölgelerinden birbirine tutunmaları ile sağlanır. Bu bölgeler 10-12 nükleotidlik aynı yönde yinelenen dizinlerden meydana gelmiş sabit bölgeler olup DR (direct repeats) olarak adlandırılırlar. Bunlar DNA sentezinin yönlendirilmesinde önem taşımaktadırlar. HBV genomunda iki adet DR vardır. DR1, uzun(L,negatif); DR2 ise kısa (S, pozitif) zincirler üzerinde bulunurlar (6).

Uzun zincirin 5' ucunda kovalan olarak bağlanmış bir terminal protein (TP) bulunurken, kısa zincirin 5' ucunda da 17-19 nükleotid uzunluğunda bir RNA oligomeri bulunmaktadır. Bu elemanlar ait oldukları sarmalların sentezinde "primer" işlevi gösterirler. Uzun zincirin 3' ucu 9-10 nükleotidlik bir artı uç (terminal redundancy, r) alanına sahiptir ki, bu alan kısa zincir DNA sarmalının sentezindeki "template switchhing" işleminde, DNA polimerazın da etkisiyle kısa zincirin tamamlanmasında ve sonuçta süper kıvrımlı, çember şeklindeki DNA molekülünün oluşumunda rol oynar (7).





Şekil 2. HBV'nin genom yapısı

HBV genomunda genetik bilginin tamamı uzun zincir üzerinde kodlanmış olup bu sarmal, S,C,P,X kısaltmaları ile gösterilen dört değişik protein kodlayan nükleik asit dizisine (open reading frame:ORF ) sahiptir. ORF'lerin transkripsiyonu prometer (prom=başlatıcı) ve enhancer (enh=güçlendirici ) denilen düzenleyici dizinler tarafından kontrol edilmektedir. HBV genomunda, işlevsel olarak tanımlanmış en az dört prometer (pre-S1prom, pre-S2 prom, C prom, X prom ) ve iki enhancer (Enh1 ve Enh2) bölgesi bulunmaktadır. (8)

HBV genomundaki bu gen bölgeleri, arka arkaya dizilmiş değillerdir. Bazı bölgelerde iç içe girmiş başka bir deyişle çakışmış durumdadırlar. Bu özellik nedeniyle HBV, bilinen hayvan virüsleri içinde en küçük genomik yapıya sahip olmasına karşın, kendini kodlama yeteneği en fazla olan virüştür (Şekil 2).

Uzun sarmal üzerinde organize olan bu genlerden; S geni yüzey proteinlerini, C geni kapsid proteinlerini, X geni X proteinini, P geni DNA polimerazı kodlamaktadır. Ancak başlangıç kodonları farklı olduğu için, S geni üzerinde pre-S1, pre-S2 ve S olmak üzere üç; C geni üzerinde ise pre-C ve C olmak üzere iki bölge bulunmaktadır. Bu nedenle dört tane ORF'ye sahip olmasına rağmen HBV tarafından 7 değişik polipeptid üretilmektedir (Tablo 3).

Tablo 3: HBV genleri ve bu genler tarafından sentezlenen proteinler

Gen bölgesi	Protein	Amino Asit Sayısı
Pre-S1	LHBs (Large HBs)	389
Pre-S2	MHBs (Middle HBs)	281
S	SHBs (Small HBs)	226
Pre-C/C	HBeAg	212
C	HBcAg	183
P	DNA pol	832
X	HBxAg	154

LHBs:Large HBs; MHBs :Middle HBs; SHBs: Small HBs

## 2.5- Replikasyon stratejisi

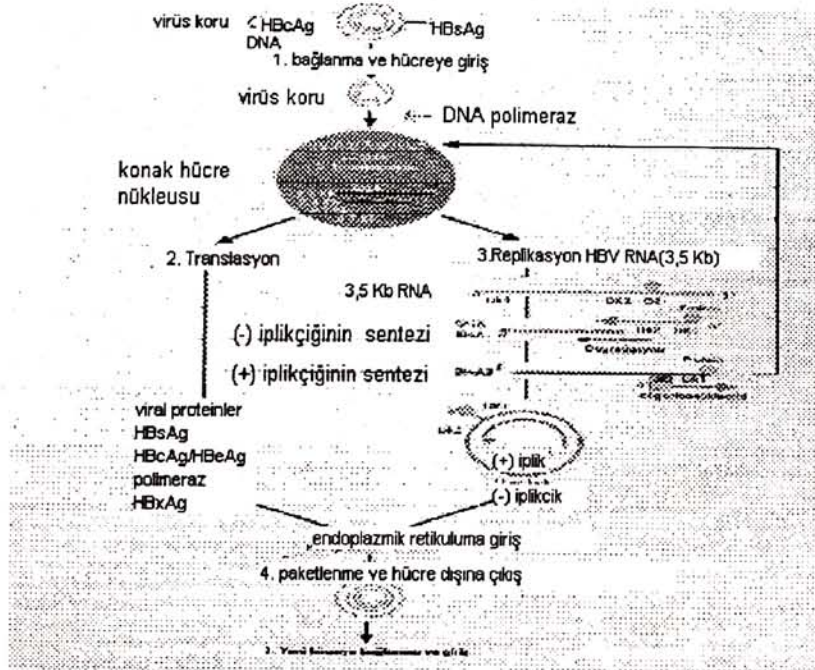
HBV'nin replikasyonu başlıca karaciğerde gerçekleşir. Replikasyonun ilk aşaması enfeksiyöz HBV'nin hepatosite tutunması ve hücre içine girmesidir. Tutunma hepatosit üzerindeki özgül reseptör ya da reseptörlere bağlanan pre-S alanındaki özgül bölgeler aracılığı ile gerçekleştirilir. HBV'nin konak hücreye tutunmasında rol oynadığı düşünülen fibronektin, transferrin, apolipoprotein H, polimerize insan serum albümini, pre-S2 glikan, HBV bağlayan faktör gibi birçok reseptör adayları tanımlanmıştır. S proteinine özgü reseptörlerin (endoneksin I, siyaloglikoprotein gibi) varlığı gösterilmiş olsa da, HBV'nin hepatosite tutunmasında L ve M proteinlerinin de çok önemli olduğu saptanmıştır (6). L protein, hepatosit sitoplazma membranına ve mononükleer hücrelere bağlanabilir. Mononükleer hücrelerde saptanmakla birlikte, bu hücrelerde replike olduğuna dair kanıt yoktur. HBV, muhtemelen reseptöre bağlı endositoz yoluyla hücre içine girmektedir. Hepatosite tutunan virüsün konak hücre çekirdeğine nasıl ulaştığı tam olarak aydınlatılamamıştır. Hepatosit içerisine giren virüsün, nükleokapsid ve genomu viriyondan ayrılır. İşlenmeden konak hücre çekirdeğine taşınır (Şekil 3). Bu süreç sırasında HBV DNA onarılır: Kısa zincirin eksik olan bölümü, virüse ait endojen DNA polimeraz tarafından tamamlanır. Bu sırada uzun zincirin açık olan 5' ile 3' arasındaki açıklık onarılır. Sonuçta tümüyle çift sarmallı, süper kıvrımlı, uçları kapalı sirküler DNA meydana gelir (cccDNA). cccDNA'dan konak hücre RNA polimerazının yardımı ile tek zincirli viral RNA'lar sentezlenir. cccDNA, viral



formda HBV RNA transkripti üretilir (8). (3.5 kb, 2.4kb, 2.1kb, 0.7kb'lık RNA' lar) Üretilen bu RNA transkriptleri, C genine ait ORF'den gelen sinyalin özelliğine göre kimileri HbeAg,HbcAg,viral polimerazının sentezi için mRNA görevi görürken, kimileri de kor partikülünün içine girerek pregenom rolünü üstlenir. Bunlardan 3.5 kb'lık RNA kalıbı, viral replikasyon ve preC/C ile polimeraz proteinlerinin ekspresyonundan sorumludur. Bu RNA transkriptinden (+RNA) revers transkriptaz yardımı ile (-) DNA sarmalı (uzun zincir) sentezlenir.

2.4 kb'lık RNA, pre-S1, preS2, ve HBsAg 'i kodlarken; 2.1kb'lık RNA, pre-S1 dışındaki yüzey proteinlerini; 0.7kb'lık RNA ise X proteinini kodlamaktadır.

Negatif DNA zincirinin sentezi ilerledikçe, RNA otomatik olarak RNase H tarafından tahrip edilir. Negatif (uzun) zincir, pozitif (kısa) zincir için kalıp görevi görür. Negatif sarmalın 3' ucundaki terminal artık, pozitif zincirin sentezi sırasında genomun sirkülarize olmasını sağlar. Ancak bu arada translasyon sırasında oluşan kor'un tamamlanması, kor kısmının kılıf proteinlerince çevrelenmesi, prekürsör nükleozid trifosfatların kullanımı sonucunda polimerazın tükenmesi nedeniyle kısa zincir tamamlanamaz ve bu zincir eksik kalır. HBs proteinleri endoplazmik retikulumda hepatosit membran lipitleri ile birlikte kor partiküllerini çevreleyip hücre dışına çıkarlar.



Şekil 3: Hepatit B virüsünün replikasyonu

## 2.6-Viral proteinler: Antijenik Yapılar Ve Fonksiyonel Özellikleri

### 2.6.1-Kılıf (yüzey) Proteinleri:

HBV-S geni tarafından kodlanan kılıf (yüzey) proteinleri (HBs) hem Dane partiküllerinin yüzeyinde hem de küçük küresel ve tubüler (eksik viral) HBV partiküllerinin yapısında bulunmaktadır.

S geni tarafından kodlanan kılıf bölgesince üç ayrı konfigürasyonda sentezlenen proteinler aminoasit sayısına göre large (L), middle(M), small (S) ya da majör proteinler olarak adlandırılırlar ve transkripsiyonun sırası ile pre-S1, pre-S2, S genlerinden başlaması sonucu üretilirler ( Tablo 3). pre-S1 ve pre-S2 HBsAg'nin daha immünojen bölümleridir.

a) Kılıf ORF üzerinde okuma işlemi ilk kodondan başlarsa pre-S1+ pre-S2 + S bölgelerinin ürünü olan L proteinin virüsün hücreye tutunmasında önemli rolü bulunmaktadır. LHBs'nin 21-47 arası peptid bölgenin<sup>si</sup> hepatositlere tutunmayı sağlayan epitopik özellikte olduğu gösterilmiştir. LHBs proteini Dane partiküllerinin oluşumu, bir araya gelmesi (assembly) ve konak hücreden salınması için S proteini ile birlikte mutlaka sentezlenmesi gerekir (6).

L protein konsantrasyonu M ve S proteinlerinin salınımını etkiler. LHBs düzeyleri %5'den daha az ise sadece küçük küresel partiküller oluşurken, daha yüksek konsantrasyonlarda tubüler partiküller sekrete edilir. Diğer taraftan kor partiküllerinin kılıflanabilmesi için de L proteinine ihtiyaç vardır.

b) Okuma işlemi S geni üzerinde ikinci kodondan başlarsa bu kez pre-S2 + S bölgelerinin ürünü olan orta büyüklükteki protein (M protein:MHBs) sentezlenir. MHBs replikasyon olmadığı durumlarda HBsAg içinde yer almaz. Bu nedenle pre-S2 antijenin varlığı viral replikasyonun bir göstergesi kabul edilir. M proteinin değişik bölgelerine benzer sekans özellik gösteren sentetik polipeptidler ile yapılan aşı çalışmaları başarılı bulunmuştur. MHBs, HBV'nin hepatosite adsorbsiyonunda da rol oynamaktadır.

M proteini, üzerinde bulunan özel bir bölgeden MBP'ye (mannoz bağlayan protein) bağlanır. MBP, pre-S2 glikan aracılığıyla HBV'nün hepatosite bağlanmasını sağlar.



c) Okuma işlemi S bölgesinden başlarsa kılıfın küçük proteini (S protein:SHBs) HBsAg'nin büyük bir kısmını oluşturan SHBs, kılıfın majör proteindir. S proteini B lenfositleri için epitopik bölgeye sahiptir. Kanda dolaşan S geni ürünlerinin yaklaşık %83-94'ü S, %5-15'i M, %1-2'i ise L proteininden oluşur. HBsAg yapısında proteinler dışında hücrenel lipitler ve az miktarda da karbonhidratlar bulunmaktadır.

Yüzey proteinleri kompleks bir antijenik yapı gösterirler. HBsAg partiküllerinde düzenli olarak bulunan en azından beş antijenik determinant vardır. Bunlardan "a" determinantı tüm HBsAg preparasyonlarında bulunur (Grupa özgü determinant). a determinantı, SHBs' de 139-147 amino asitler arasında bir epitop bölgesidir. a determinantına karşı oluşan antikolar HBV'nin hepatosite bağlanmasını engeller ve tüm subtiplere karşı etkili bir bağışıklık sağlar. Aşı ya da doğal enfeksiyon sonrası oluşan anti-HBs antikolarını bağlama özelliğine sahiptir.

HBsAg için tanımlanmış iki ayrı determinant daha bulunmaktadır. Bir tanesi "d" ya da "y" özgüllüğünde diğeri ise "w" ya da "r" özgüllüğündedir. Böylelikle beş determinantın tüm kombinasyonları dört subtip halinde bulunur: *adw, adr, ayw, ayr* (7).

### 2.6.2- Kor proteinleri

HBV genomu, C geninde bir ORF bulunmasına karşın, gen üzerinde iki farklı başlangıç kodonuna sahip olduğundan antijenik özellikleri farklı iki değişik protein (HbeAg, HbcAg) sentezleme yeteneğine sahiptir. C geni, pre-C ve C kısaltmaları ile gösterilen iki gen bölgesine sahiptir.

**HBeAg:** Pre-C bölgesinden başlayan okuma işleminde her iki bölge de okunarak 212 aminositten (29+183 aa) oluşan bir polipeptid sentezlenir. İşlenmemiş olan bu aminoasit sekansı, N terminal ucunda yer alan 29 aminoasitlik ek parça dışında, HbcAg sekansı ile tamamen benzerdir. HBeAg, HbcAg'e benzerliği nedeniyle onunla ortak antijenik epitoplara sahiptir. HBeAg'nin varlığı, immün yanıtın hedefi olduğu kabul edilen HbcAg üzerindeki hücrenel ve humoral immün baskının azalmasını sağlayarak, viral yaşamı uzatmaktadır. Yani HBeAg, bir immüntolerogen olarak rol oynamaktadır. HBeAg'nin viral replikasyon için gerekli olmadığı saptanmıştır (6).

anti-HBe ile birlikte HBV DNA pozitifliği gösteren kronik hepatitli hastalarda bir HBV mutantının tanımlanmasından sonra gerek HBeAg gerekse anti-HBe'nin vireminin saptanmasında çok güvenilir parametreler olmadığı anlaşılmıştır (6).

**HBcAg:** C geninin ikinci bölgesinden sentezlenir. Viral DNA'yı örten bir nükleokapsiddir. HBcAg sıklıkla intranükleer yerleşimlidir. Ancak aktif hastalık döneminde ve aşırı viral replikasyon gösteren olgularda sitoplazmada da yaygın olarak saptanır. Dolaşımda serbest halde HBcAg'ne rastlanmaz. Kanda ancak Dane partikülünün içinde bulunur. HBeAg'den türeyen peptidler hepatosit yüzeyine eksprese edilir. Bunlar, güçlü bir HLA sınıf I ve sınıf II T hücre cevabına yol açarak hücrel immün yanıtı indüklerler. Böylelikle infekte hücrelerin öldürülmesini ve viral klirensi sağlarlar. HBcAg, HBeAg'den oldukça daha güçlü immünojen özelliktedir. İmmünojenitesi HBsAg'den de fazladır ve T hücre bağımsız antijen özelliği gösterir. HBcAg ayrıca hücre tarafından üretilen  $\beta$  interferon transkripsiyonunu inhibe eder.

HBV ile infekte hastaların hemen tamamında gerek HBeAg gerekse HBcAg'ne karşı hem hücrel hem de humoral yanıt gelişir. Her iki antijenin T ve B hücrelerini tanıyan epitoplara vardır.

HBcAg'ne özgül T hücreleri, HBsAg'ne karşı olan humoral yanıtı başlatabilir ya da bu yanıtta katkı sağlayabilir. Böylece genetik kaynaklı S epitop cevapsızlığının üstesinden gelinmesine yardımcı olur. Bu nedenle S antijen aşılarına HBcAg eklenmesinin insanlardaki etkinliği artırabileceği ve S antijenine cevapsızlığının olduğu bireylerde antikor yanıtını geliştirebileceği düşünülmektedir (6).

**P proteini:** P geni HBV genomunun yaklaşık  $\frac{3}{4}$ 'ünü kaplayan en uzun gendir. Esas olarak 3.5 kb'lık kor mRNA transkriptinden sentezlenen viral replikasyon ve enkapsidasyonda görev yapan DNA polimerazı kodlamaktadır.

P proteini; revers transkriptaz, endonükleaz, (RNase H) ve hem DNA hem de RNA'ya bağımlı polimeraz aktivitesine sahiptir. P proteini üzerinde değişik fonksiyonel domainler tanımlanmıştır.

**X proteini:** X geni, HBV genomunun en küçük gen bölgesidir. X geni transkripsiyonel transaktivatör olarak görev yapan iki protein sentezler. X proteini tümör supresyon gen ürünü olan p53'ün işlevini bozarak hepatosellüler



karsinomanın gelişmesinde rol oynar. Anti-HBx antikoru, hepatosellüler karsinomanın erken saptanmasında yararlı olabileceği bildirilmektedir.

### **2.7-HBV Genotipleri**

6 genotip saptanmıştır. (A,B,C,D,E,F) Genotipler ile subtipler arasındaki ilişkinin belirlenebilmesi için genom sekansları ile S geni sekansları karşılaştırılmıştır. Buna göre, ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz bölgesinde D genotipi ayw2 subtipi yaygındır (7).

### **2.8-HBV Mutantları**

HBV, yaşam siklusu sırasında pregenomik RNA'dan revers transkripsiyonla DNA'ya dönüşür. Her ne kadar hızlı bir replikasyon yeteneğine sahip bir virüs olarak bilinse de; revers transkriptaz enziminin ilk okuma(proofreading) yeteneğindeki zayıflık nedeni ile, nükleotid yerleşiminde yanlışlıklar meydana gelmekte ve sonuçta genom yapısında moleküler düzeyde küçük mutasyonel değişiklikler meydana gelmektedir. Klinik seyir, tedavi ve korunma açısından önemli sorunlar yaratan bu duruma tahmin edilenden daha sık rastlanmaktadır. İnfekte bireylerde her yıl HBV'nin her bir loküsünde  $1.4-3.2 \times 10^{-5}$  mutasyon olabileceği hesaplanmıştır. Mutasyonlar genom üzerinde herhangi bir yerde (S,preC/C,X,P, promotor ve enhancer) ortaya çıkabilir (6).

Mutasyonlar başlıca şu dört ana grupta gözlenmektedir: Aşılananlar, serolojik olarak nonreaktif virüsle infekte olanlar,monoklonal veya HBIG tedavi sonrası,immün supresyonlu veya supresyonsuz kronik enfeksiyon sırasında.

#### **2.8.1-Yüzey (Kılıf Mutantları)**

Kılıf bölgesine ilişkin asıl mutasyonlar "a" determinantında ortaya çıkanlardır ki; bağışıklama ile ilgili olarak önemli sonuçlara neden olurlar. Çünkü bu determinant tüm subtiplerde ortaktır. Bu determinanta karşı oluşan "anti-a" antikoru HBV'nun hepatositlere bağlanmasını engellediğinden; gerek aşı gerekse doğal enfeksiyonun geçirilmesi ile gelişen humoral yanıt tüm serotiplere karşı bağışıklık sağlar."a" determinantında meydana gelen değişiklik sonucu bu antikoru koruyucu özelliği kalmaz. HBsAg'nin "a" determinant epitopu

120-147 aminoasitler arasında hidrofilik bir bölge olup iki kıvrımdan (loop) oluştuğu düşünülmektedir. Konağın humoral immüniteden kaçış mutasyonları genellikle sitotoksik lenfosit aktivitesinin olmadığı ancak yüksek antikör seviyesi ile baskı altında tutulan ileri derecedeki bu antijenik bölgede görülür. Aşılama sonrası ortaya çıkan mutantların, üniversal aşılama girişimleri göz önüne alındığında, gelecekte yaygın bir sorun oluşturabileceği düşünülmektedir. Aşılama sonrası güçlü bir humoral yanıt oluşmasına karşın sitotoksik T yanıtını uyandırmamaları ve doğal enfeksiyon sonrası humoral bağışıklığın sitotoksik T hücre yanıtı ile birlikte olduğu göz önünde bulundurulursa, bu tip mutantların sadece öncesinde bağışık olmayan kişilerde ortaya çıktığını göstermektedir.

HBV S geni mutantları (aşı ile indüklenen kaçak mutantlar) ile şu sorunlar ortaya çıkabilir (9): a) "a" determinantı bölgesinde ortaya çıkan mutantlar, anti-HBs antikörlerinin koruyucu özelliğini ortadan kaldırır. b) Aşıya rezistans türlerin oluşumuna yol açar. c) Yaygın aşılama programları nedeniyle gelecekte daha dirençli mutantların ortaya çıkışına neden olabilir, tedavide önemli sorunlar yaratabilir. d) Karaciğer transplantı sonrası hastalarda reenfeksiyona neden olabilir. e) Pre-S2 gen bölgesi mutasyonları, defektif HBV varyantlarının varlığı, kronik ve fulminan hepatitle ilişkilendirilmektedir. f) Pre-S1 bölgesi mutasyonları T ve B lenfosit tanıma bölgelerini (epitoplarını) ortadan kaldırarak virüsün eliminasyonunu engellemektedir. Böylelikle viral persistansa yol açmaktadır. g) S bölgesi mutasyonları, tek başına HBsAg, tek başına HBV DNA, antiHBs ve HBsAg'nin birlikte pozitifliği gibi alışılmışın dışında atipik serolojik profillerin görülmesine neden olmaktadır (10).

## **2.8.2- Prekor/kor Mutantları**

### ***Pre-core Mutantları:***

Kronik HBV enfeksiyonuna sahip hastalarda en fazla incelenen HBV varyantı "pre-core mutant"tır. Bu bölge için tanımlanmış en önemli mutasyon 1896'ıncı pozisyonundaki guaninin (G) yerine adenin (A) gelmesi ile oluşur (11). Böylelikle TTG (kodon 28, triptofan kodon), TAG (stop kodon) haline dönüşür. Söz konusu nokta mutasyonu kor bölgesi start kodonundan önce meydana geldiğinden ve HBeAg ile HBcAg farklı mRNA moleküllerinden



sentezlenmediğinden HBeAg üretilmez. Ancak HBcAg sentezi devam eder. HBV replikasyonu için HBeAg translasyonu gerekli değildir. Yapısal gen bölgesi olmayan prekor alanında ortaya çıkan mutasyonlar viral replikasyonu etkilemez; aksine replikasyon yeteneğine sahip HBeAg negatif mutantların ortaya çıkmasına neden olur. HBeAg'nin gerçek fonksiyonu bilinmemektedir. Ancak konağın HBV'ne karşı gelişen immün yanıtı kontrol ettiği sanılmaktadır (12). HBcAg ile aynı gen bölgesi tarafından sentezlendikleri için ortak antijenik determinantlara sahiptir. Özellikle HBcAg olmak üzere her iki molekülde sitotoksik yanıtta hedef molekül özelliğindedir. HBeAg sentezleyemeyen mutant suş, muhtemelen konağın sitotoksik yanıtından kaçarak yaşamını sürdürür. Üzerinde HBeAg bulunan hepatositler, anti-HBe'nin de katkısı ile bir süre sonra lizise uğrar ve sonuçta HBeAg negatif mutantlar dominant hale gelir. Prekor mutantların varlığı asemptomatik HBV taşıyıcılığı, kronik viral hepatit B enfeksiyonu, ciddi karaciğer hastalığı ve fulminan hepatitli hastalık tabloları ile ilişkili bulunmuştur. HBeAg varlığı spesifik T hücre yanıtlarını hepatositlerden saptırarak, maskeleyebilmektedir. Serumda HBeAg yokluğu, hepatosit yüzeyinde bulunan HBcAg'ne karşı wild tip HBV enfeksiyonlarından daha şiddetli bir immünolojik saldırı ortaya çıkar ve hepatosellüler hasar daha fazla olur (6).

HBeAg negatif mutantlar, vireminin saptanmasında da önemli güçlükler neden olmaktadır.

Prekor mutantları farklı coğrafyalarda farklı klinik tablolara neden olur. Bölgesel farklılıklar; CTL yanıtının etkinliği ile ilişkili gibi görünmektedir. Hücresel cevabın etkinliği, genetik faktörler, antijen prezentasyonundaki farklı düzenlemeler ve enfeksiyonun süresi gibi faktörlere bağlıdır. Japonya ve Akdeniz bölgelerinde HBV enfeksiyonlarının neonatal ve çocukluk çağında daha yaygın olması bu bölgelerde HBeAg negatif mutantlara neden daha sık rastlandığının açıklanmasında yardımcı olabilir (6).

#### ***Kor Mutantları:***

HBcAg, bir kısmı HBeAg ile ortak olmak üzere T helper ve B hücre epitoplarına sahiptir. Mutasyonlar, immünolojik seçime uğradığı düşünülen T helper ve B hücre epitoplarında ortaya çıkar. Ancak CD8+ CTL epitopunda da (aa18-27) mutasyonlar tanımlanmıştır. T helper epitopunda ortaya çıkan mutasyonlar, virüsün CD4+ T hücre cevabından kaçmasını sağlamaktadır.

Kor promotor mutasyonları, hem RNA (pregenom kor/polimeraz mRNA veya prekor mRNA) hem de bunların gen ürünlerinin ekspresyonunu engeller. HBV kor promotorlarındaki bazı mutantların viral enkapsidasyonunda majör artışla sonuçlandığı ve ortaya çıkan mutantın fulminan tablo ile yakından ilişkisi olduğu bildirilmiştir (7).

### **2.8.3 X Mutantları:**

X gen bölgesi virüsün replikasyon ve enkapsidasyonu için çok önemlidir. Çünkü X proteini, HBV genlerini transaktive etmekte ve kor promotor,enhancerII, DR1, DR2 bu bölgede yer almaktadır. X-ORF'deki mutasyonlar, daha az viral gen ekspresyonu ve replikasyonuna sahip bir fenotip oluşturur. Sonuçta HBV markerlerinin tümü ya da çoğu negatif olur. Bu varyantların infektiviteleri zayıf olup,replikasyon seviyeleri düşüktür (6).

Kronik HBV enfeksiyonlu,hepatosellüler karsinomalı,fulminan hepatitli ve sirozun son döneminde bulunan hastalarda bu mutasyonlara rastlanır.

### **2.9- Epidemiyoloji:**

Bugün için dünyada 400-500 milyon insanın HBV 'nü taşıdığı tahmin edilmektedir (12). HBV epidemiyolojisinde "taşıyıcılık" kavramı oldukça önemlidir. HBV'ne bağlı akut hepatitlerin % 5 'nin kronikleştiği bilinmektedir. Kronik taşıyıcıların yaklaşık %25'inin kronik aktif hepatit olduğu (KAH), bunların da 1/50'nin sirozdan, siroz gelişenlerin 1/8'nin de hepatosellüler kanserden öldüğü bildirilmektedir (13). Taşıyıcıların her yıl % 2'inde HBsAg'nin spontan kaybolduğu gösterilmiştir. Kronik sağlıklı taşıyıcılarda hepatosellüler kanser gelişme riski sağlıklı popülasyona oranla yaklaşık 200 kat daha yüksektir.

Taşıyıcılık gelişiminde erkek cinsiyet, enfeksiyonun alınma yaşının küçüklüğü ve konjenital veya akkiz bağışık yanıtın bozukluğu önemli risk faktörleridir.



### 2.9.1- Dünyada HBV Enfeksiyonu Prevalansı:

Dünya ölçeğinde 400-500 milyon taşıyıcı olduğu tahmin edilmektedir. Enfeksiyonun dünyadaki dağılımı coğrafi bölgelere, kronik HBV prevalansına, genel enfeksiyon oranına, Enfeksiyonun alınma yaşına ve bulaşmanın en sık görülen yolları açılardan üç farklı düzey göstermektedir (14):

*Yüksek endemisite gösteren bölgelerde;* toplumun %10'undan fazlası HBV ile kronik olarak enfektir ve erişkinlerin büyük çoğunluğu (%70-90 ) önceden geçirilmiş enfeksiyon kanıtı (anti-HBs) taşırlar. Bu bölgeler: Afrika, Güneydoğu Asya, Çin, Pasifik Adaları

*Orta endemisite gösteren bölgelerde;* kronik HBV Enfeksiyonu prevalansı %2-10 arasındadır ve erişkinlerin %20-60' ında anti-HBs pozitif olarak bulunur. Bu bölgeler: Güney Avrupa, Doğu Avrupa, Güney Amerika ve Ortadoğu

*Düşük endemisite gösteren bölgelerde;* HBV taşıyıcılığı prevalansı, % 2'nin altındadır. Anti-HBs pozitifliği ise % 20'i aşmaz. Bu bölgeler: Kuzey ve Batı Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya.

Taşıyıcılığın dağılımı ile kronik hepatit B ve hepatosellüler kanser arasında güçlü bir epidemiyolojik ilişki vardır.

### 2.9.2- Türkiye'de HBV Enfeksiyonu Prevalansı:

Bölgeden bölgeye değişmek üzere %3,9-12,5 olarak belirlenmiştir (7). Bu değerler orta derecede endemisite bölgesi olduğumuzu ve yurdumuzda yaklaşık 4-6 milyon civarında taşıyıcı olduğunu göstermektedir.

Ülkemiz çocuklarında %2-12 oranlarında HBsAg pozitifliği saptanmıştır.

Ülkemizde anti-HBs pozitifliği oranı %20,6-52,3 oranında değişmektedir. Böylelikle ülkemizde HBV seropozitifliğinin (HBsAg+anti-HBs) %25-60 oranında olduğu söylenebilir. Bu oran gelişmiş ülkelere göre oldukça yüksektir.

### 2.9.3- Bulaşma Yolları:

HBV'nun dört ana bulaşma paterni vardır: İnfekte kan ya da vücut sıvıları ile parenteral temas (perkutan), cinsel temas, infekte anneden yenidoğana bulaşma (perinatal-vertikal), infekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temas (horizontal). Fekal –oral yolla bulaşmaz.

### *Perkutan Bulaşma:*

Virüsün perkutan inokülasyonu; hemodiyaliz,dövme, akupunktur, i.v. alınan uyuşturucuların ortak enjektörle kullanımı ve cerrahi araçlar ile olmaktadır. Bulaşta, bütünlüğü bozulmuş deri ve göz de rol oynar. Ayrıca kanla bulaşmışlığa bağlı olarak diş fırçaları, biberonlar, oyuncaklar, kaşık-çatal, tıraş bıçakları, havlu, yapay solunum aygıtları, endoskoplar ve laboratuvar aletleri geçişte rolü olduğu bildirilen araçlardır (13).

HBeAg pozitif kişilerin kanlarının 1 ml'sinde  $10^8$ - $10^{10}$  viryon, HBeAg negatif kişilerin kanlarının 1 ml'sinde  $10^1$ - $10^7$  viryon vardır.

Kan ve kan ürünleri dışında semen, tükürük, idrar, feçes, ter, gözyaşı, vaginal salgılar, sinovyal sıvılar, beyin omurilik sıvısı ve kordon kanında da virüs varlığı (HBsAg,HBV DNA) gösterilmiştir (13).

Bunlardan sadece semen ve tükürük enfeksiyöz dozda (kandakine göre 1000 kez daha az) HBV içerdiğinden bulaşta önemlidir. HBeAg negatif kanla bulaşık iğne batması sonrası bulaş riski %5 iken HBeAg pozitif olduğunda risk %20 oranına çıkmaktadır.

### *Cinsel Temasla Bulaşma:*

HBV'nin başlıca bulaş yollarında biridir. Bu yol özellikle orta ve yüksek endemik bölgeler olmak üzere düşük endemik bölgelerde de iyi belgelenmiş başlıca bulaş yoludur.

### *Perinatal Bulaşma:*

Taşıyıcı anneden çocuğa bulaşma genellikle doğum sırasında olmaktadır. Perinatal bulaş iki açıdan önemlidir. Birincisi; bulaş, doğum sırasında olduğundan aşı/ veya hepatit B immünglobulin (HBIG) ile önlenabilir olmasıdır. İkincisi kronikleşme oranı çok yüksektir. HBeAg pozitif bir anneden doğan çocukların infekte olma sıklığı %70-90'dır ve bunların %90'nı kronikleşir. HBeAg negatif anneden doğarlarda ise infekte olma riski %10-40'dır ve bunların %40-70'i kronikleşir. Perinatal dönemde infekte olmayan çocuklar yine de yüksek risk altındadır. Bulaş, infekte maternal sıvılar, anne kanının yutulması, plasenta hasarı ile maternal dolaşımın fetal dolaşıma karışması yollarıyla olmaktadır.



Perinatal bulaşma, dünya ölçeğinde HBV taşıyıcılığı düzeyine önemli bir katkıda (%15-40) bulunmaktadır.

Intrauterin bulaş nadir de olsa (%5-10) bildirilmiştir. Anne sütünde HBsAg gösterilmiş olduğundan, anne sütü teorik olarak bulaştırıcı olabilir; ancak bu sütün kesilmesini zorunlu kılmaz (13).

#### *Horizontal Bulaşma:*

Gösterilebilir parenteral, cinsel ya da perinatal temasın olmamasına rağmen HBV bulaşması horizontal olarak tanımlanır. Bu tip bulaşın mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Horizontal bulaşmada aile içi taşıyıcılık önemli rol oynar. HBV taşıyıcılarının, buldukları ortamlarda ailenin diğer bireylerine, oyun arkadaşlarına, cinsellik içermeyen yakın temasla HBV'nü bulaştırdıkları gösterilmiştir.

Horizontal bulaşma, sosyo-ekonomik düzeyin düşük, yaşam koşullarının kötü ve kalabalık olduğu geri kalmış ve geliştirmekte olan ülkelerdeki başlıca bulaş yoludur.

Ülkemizde her dört bulaş yolunun da etkin olduğu düşünülmektedir. HBV ile enfekte hastaların %30-50'inde bulaş yolu saptanamamaktadır.

## **2.10- İmmünopatogenez**

HBV Enfeksiyonu değişken süre ve şiddette nekroinflamatuvar karaciğer hastalığına neden olan çok çeşitli klinik spektruma sahiptir. Virüs akut (benign), fulminan veya kronikleşerek siroza gidebilen, yıllar içerisinde hepatosellüler karsinomaya neden olabilen veya persistan viremiye rağmen aminotransferazların ve karaciğer histolojisinin normal bulunduğu "sağlam taşıyıcılık" denilen görünürde masum bir tablo içinde de kalabilir.

Viral antijenlere karşı gelişen spesifik immün yanıt, hem viral klirensten hem de hastalığın klinik patogenezinden sorumludur (15). Konak açısından strateji, bu yanıtın tolere edilebilir karaciğer parankim hasarı karşılığında viral klirensin sağlanması yönünde olacaktır. Bunun, viral klirens için gerekli immün yanıtı doğuran hücrelerle, bu yanıtı frenleyen hücreler arasında enfeksiyon süresince korunması gereken ve birçok yönü henüz bilinmeyen karmaşık yapıdaki duyarlı bir dengeye dayanmaktadır.

Virüs açısından strateji, etkisiz bir immün yanıt oluşturması ya da onu şaşırtması veya immün yanıtı kurtulmak olmalıdır.

Virüs yüzey antijenlerine karşı gelişen humoral antikor yanıtı, dolaşımdaki virüs partiküllerinin klirensini sağlarken; yüzey, nükleokapsid ve polimeraz antijenlerine karşı gelişen hücrel immün yanıt da infekte hücrelerin eliminasyonunu sağlar.

Akut olarak infekte olan hastalarda virüse karşı gelişen spesifik MHC sınıf I ve II yanıtları canlı, poliklonal, multispesifite göstererek virüsün klirensi başarılıken; kronik infekte hastalarda, bu yanıtlar rölatif olarak daha zayıf, sık ve oligoklonal özellikte olup viral klirens gerçekleştirilemez (15).

HBV enfeksiyonunun patogeneğinde merkezi bir rol oynayan CTL'nin, hem patogenetik (destrüktif) hem de antiviral (küratif) potansiyeli bulunmaktadır (16). HBsAg-spesifik CTL'in şiddetli nekroinflamatuvar hasarı indüklediği, apoptozisi uyardığı gösterilmiştir. Sonuçta; infekte hepatositler ortamdaki adeta ayıklanmaktadır (sitolitik etki). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, CTL'nin interferon  $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-2 (Th1 yanıtı) sekresyonunu uyararak posttranskripsiyonel mekanizma ile viral gen ekspresyonu ve transkripsiyonunu nonsitolitik yolla suprese edebildiğini göstermektedir (antiviral etki). Enfeksiyonun seyri bu iki etki arasındaki rölatif dengeye bağlıdır. Eğer küratif etki dominant olursa, viral klirens; destrüktif etki dominant olursa, viral persistans ortaya çıkar. Kronikleşme ve taşıyıcılık, CTL'nin sitolitik etkisinden çok, antiviral etkisindeki zaafiyete bağlıdır. Hasarlanmada virüsün doğrudan sitopatik etkisi yoktur. Hepatosit hasarından HLA sınıf I sınırlı sitotoksik T lenfositleri sorumludur. Hepatosit hasarında CTL'den salgılanan sitokinler ile olay yerine gelen inflamatuvar hücrelerin (özellikle makrofajların) ve interferon  $\gamma$  ile uyarılmış NK'nin (natural killer) katkıları bulunmaktadır. İnterferon  $\gamma$  ayrıca hepatosit yüzeyine MHC sınıf I antijen sunumunu artırarak hücrel immün yanıtı destek sağlamaktadır.

HBV enfeksiyonunda persistansın başlıca nedeni viral antijenlere karşı zayıf antiviral cevaptır (15). Kronik infekte hastaların çoğunun, yüksek viral yükü karakterize olması sonucu T hücre yanıtının yorgun düşmesi ya da periferik toleransın indüksiyonu, en çok kabul gören aday mekanizmalardandır. Neonatal toleranstan muhtemelen antiviral yanıtın yokluğu ve tüm dünyada



persistan hepatitin en yaygın şekli olan anne-infant geçişi sonrası ortaya çıkan viral persistans sorumlu tutulmaktadır.

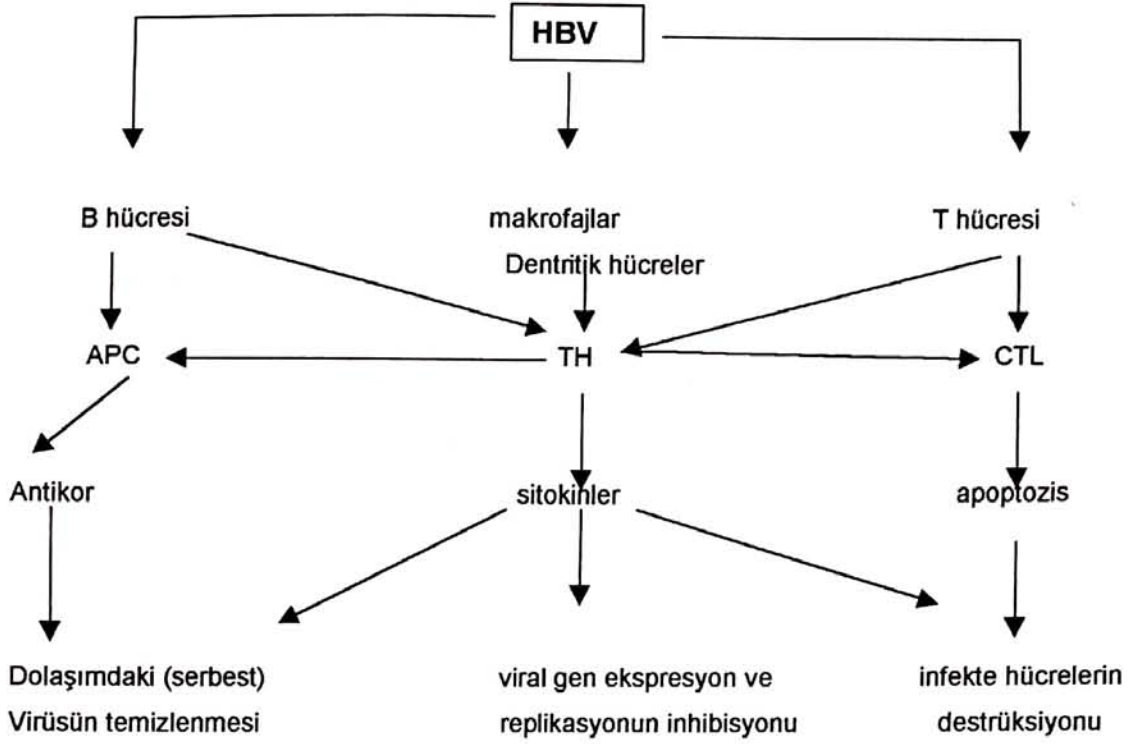
Patogenezin seyri enfeksiyonun ilk günlerindeki CTL yanıtının indüksiyonu ve viral yayılım arasındaki ilişki üzerine kurulmuş muhtemelen nicel bir olaydır (16). Virüsün replikasyon hızı ya da inokulum büyüklüğü immün yanıtın kinetiklerinden fazlaysa viral persistansın oluşacağı bilinebilir. Öngörülen diğer mekanizmalar arasında; immün yanıtın korunmuş bölgelerin enfeksiyonu, antijen prezentasyonunun viral inhibisyonu, selektif immün supresyonu, viral gen ekspresyonunun downregülasyonu, epitop inaktivasyonu ve virüs spesifik T hücrelerin antijen tanımasını antagonize eden ya da antijen tanınmasını artıran faktörleri ortadan kaldıran viral mutasyonlar, persistansa yatkın olduğu bilinen immüngenetik yapı gibi faktörler sayılabilir (15). Ayrıca erkek cinsiyet, küçük yaş, interferon azlığı, interferona cevap olarak 2'-5' OAS sentezinin yetersizliği taşıyıcılık olasılığını artıran faktörlerdir (17).

Viral klirensin sağlanması için immün yanıtın her iki bacağı olan humoral ve hücrel immüniteye ihtiyaç bulunmaktadır. Hücrel immünite HBV patogenezi ile yakın ilişkilidir. Hücrel immünite, bir yandan apoptozisi indükleyerek infekte hepatositlerin eliminasyonunu sağlarken, diğer yandan sitokinler aracılığı ile hepatositleri öldürmeksizin intrasellüler nonsitolitik inaktivasyon mekanizması ile küratif etki sağlamaktadır Şekil ( 4 ).

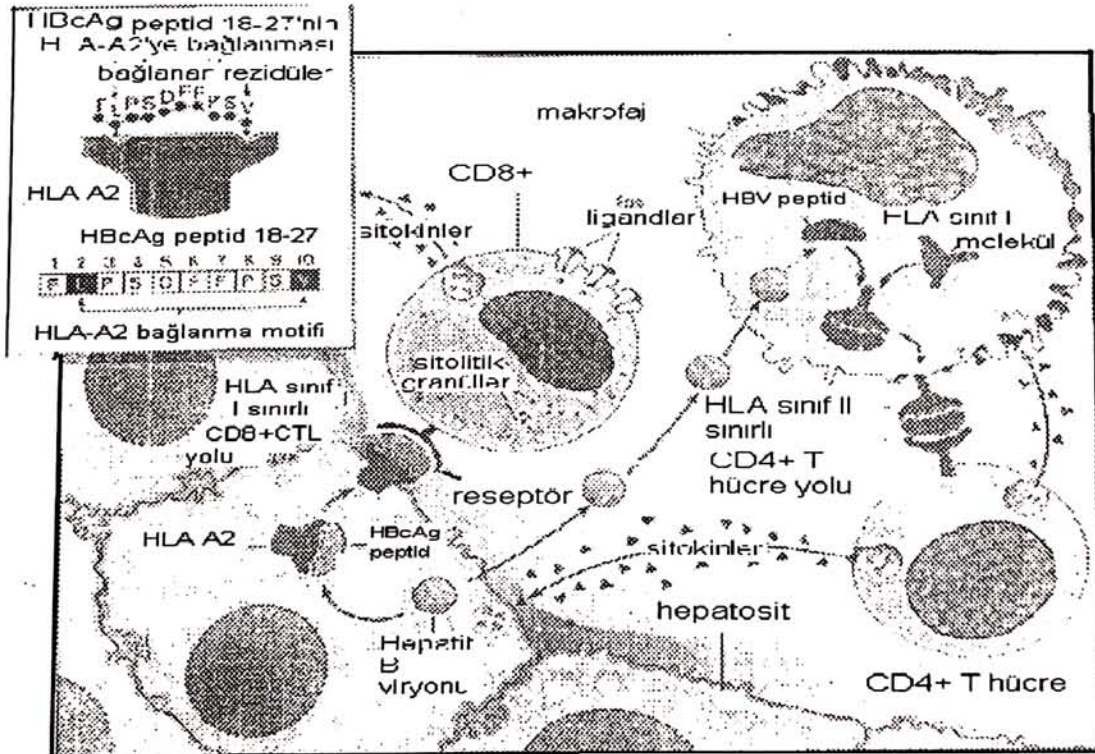
İmmün sistemin humoral ayağı, B lenfosit immünglobulin reseptörlerinin, viral antijenlerin hem solubl protein formlarını hem de infekte hücre yüzeyinde sunulan moleküllerini tanıyabilen spesifik özellikleri üzerine kurulmuştur.

Hücrel ayağı ise T hücrelerinin  $\alpha\beta$  heterodimer reseptörlerinin (TCR) işlenmiş viral antijenlerin sadece HLA molekülleri ile asosiyasyonla kısa peptid formlarını görebilen tanıma özellikleri üzerine kurulmuştur.

HLA sınıf I molekülleri temel işlevleri infekte hücrelerin eliminasyonu olan CD8+ T lenfositlerin intrasellüler invazyonu için bilgi sağlar. HLA sınıf II molekülleri genellikle spesifikleşmiş APC hücreleri içinde asidifikasyonla proteolitik işleme uğramış ekstrasellüler antijenleri bağlar (18). Bu moleküller, temel işlevi antijen spesifik B lenfositlerin aktivasyonunu düzenleyen lenfokinlerin salınması, daha az miktarda da CD8+ T hücre aktivasyonu olan immün yanıtın orkestra şefi konumundaki CD4+ T lenfositlere, bu ekzojen viral peptidleri sunarlar (12) Şekil (5).



Şekil 4: Hepatit B virüs immünopatogenezi



Şekil 5: HBV'nin HLA sınıf I ve HLA sınıf II sınırlı T lenfositlerce işlenmesi



Viral enfeksiyonun kontrolü ve tam eradikasyonu adaptif immünitenin humoral ve hücreli kollarının her ikisinin birden uyumlu aktivasyonunu gerektiren kritik bir süreçtir.

Viral klirens için diğer faktörlerden kat kat daha fazla belirleyici temel komponent T lenfositin gücü ve multispesifik özelliğidir (16). Virüsün tamamıyla temizlendiği ve immün yetersizliğin herhangi bir bulgusu olmaksızın temizlenemediği vakalardaki farklı immün cevaplar konağın MHC moleküllerince sunulan HBV peptidleri ile konağın spesifik T hücre reseptör repertuarı arasındaki uyuma bağlıdır. Eğer uyum tam ise yeterli tanıma ve aktivasyon gerçekleşir; tüm infekte hücreler tahrip edilir, viral replikasyon sona erer, HBsAg'ne karşı oluşan antikolar hepatositlerin reenfeksiyonunu engeller ve sonuçta immün yanıtın tamamlanması viral temizlenme ile son bulur.

### 2.10.1- HBV Enfeksiyonunun İnsandaki Yaşam Döngüsü:

HBV insana parenteral yolla girer. Virüsün, pre-S2 ve pre-S2 domenleri ile hepatosit yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak endositoz yoluyla hepatosit sitoplazmasına oradan da replikasyon ve transkripsiyon için nükleusa taşınır (15). Virüs hepatosite girdikten sonra bazı belirleyicilerle gösterilen birbirini izleyen dört evrede gelişir ve sonlanır (12,19) (Tablo 4 ).

Tablo 4 : HBV Enfeksiyonunun dört evresi

Hastalık göstergeleri	replikatif faz		integratif faz	
	1. basamak	2.basamak	3.basamak	4.basamak
HBsAg	+	+	+	-
Anti-HBs	-	-	-	+
HBV DNA	kuvvetli+	+	-*	-
Anti-HBc	+	+	+	+
HBeAg	+	+	+→ -	-
Anti-HBe	-	-	-→ +	+
ALT ve AST	normal	artmış	normal/ ↑	normal

\*: PCR ile çoğu hastada (+) bulunabilir.

*Evre 1: Viral replikasyonla asosiy immünotolerans*

Virüs : Replikasyon

Hasta :İmmünotolerans hepatosellüler inflamasyon yok

İmmünotolerans ile karakterizedir. Yüksek düzeyde HBsAg, anti-HBc,HBV DNA ve HBeAg titrelerine karşın, nekroinflamatuvar aktivite yokluğunu gösteren normal/minimal yüksek serum aminotransferaz düzeyleri ile birlikte dir. Hepatositlerin %40 ya da daha fazlasının nükleuslarında HBcAg bulunduğu halde histolojik lezyon yoktur/minimaldir. Bu faz erişkinlerde 2-4 hafta infantlarda ise birkaç dekad boyunca devam eder. Kronik HBV taşıyıcılarında immünotoleransın kaybolmasını düzenleyen mekanizma hakkında çok şey bilinmiyor. Toleransın devamına neden olan HBeAg'nin sekresyonunun azalmasına neden olan pre-core defektif HBV mutantların ortaya çıkması, ikinci faza geçişi tetikler.

*Evre 2: Aktif semptomatik hepatit*

Virüs: Replikasyon

Hasta :Aktif karaciğer nekroinflamasyonu (hepatit)

Aktif, semptomatik hepatit ile karakterizedir. Bu faz, HBsAg, HBeAg ve HBV DNA persistansı ve yükselmiş aminotransferaz düzeyleri ile karakterizedir. Akut vakalarda bu faz 2-4 hafta sürerken kronik vakalarda on yıl ya da daha fazla sürer. Sitokin stimülüsüne, hücre lizisine ve inflamatuvar yanıtı açan bir immün yanıt gelişir. İnfekte hücreler azaldıkça HBV DNA düzeyleri de azalır.

*Evre 3: İmmünoeliminasyonla karakterize viral replikasyon*

Virüs: Replikasyon

Hasta : İmmünoeliminasyon,karaciğer nekroinflamasyonu

Bu faz, HBsAg, HBV DNA (PCR ile saptanabilir) HBeAg'nin süreç içinde kaybı ile anti-HBe'nin ortaya çıkması, zaman zaman yükselen aminotransferaz düzeyleri ile karakterizedir. Virüsle infekte hücrelerin klirensi ile (konak immün yanıtının gelişmesi) karakterizedir. Bazı vakalarda viral replikasyon düzeyi değişmez. (Continuous phase:Orta düzeyde ve amplitüdü büyük olmayan ALT dalgalanmaları ve serumda Anti-HBc IgM varlığı ile birlikte dir. Karaciğerde hepatositlerin %10-40'ının nükleus ve stolazmasında HBcAg bulunur. Histolojik patern olarak genellikle KAH (kronik aktif hepatit ) ile uyumludur (20).)

Ancak vakaların çoğunda viremi dalgalanmalarla gider. (İntermittan phase: Viremi dalgalanmalarının amplitüdü büyüktür. Viremi göstergeleri her



ALT pikinden sonra ancak saptanabilir düzeylere iner. Her nekroz alevlenmesi öncesi hepatositlerin %10-40'ında HBcAg bulunur. Remisyon periyodu boyunca bulunmaz. Histolojik patern olarak alevlenme sırasında KLH (kronik lobuler hepatit); remisyon sırasında ise KPH (kronik persistan hepatit) ile uyumludur (20). Bu dalgalanmalar sırasında HBV tarafından indüklenen karaciğer hasarına patognomik olarak serum ALT ve anti-HBc IgM düzeylerinde yükselmeler gözlenir. Bu fluktuasyonlar, immün yanıtın HBV ile infekte hepatositleri elimine etme çabalarını yansıtır. Eğer bu yanıt etkili olursa bu faz, kendini sınırlayan akut hepatit B olarak sonlanır. Eğer yanıt etkisiz olursa HBV persistan hale gelir. Persistans altı ay ya da daha fazla devam ederse, enfeksiyonun "kronik" olmasından söz edilir. Bazı hastalar viral replikasyon ve immünoeliminasyon sona ermeden siroz ve/veya HCC nedeniyle ölebilirler. Remisyon periyodundan reaktivasyon haline dönüş muhtemeldir. Bu durum genellikle immünoeliminasyon sürecinde kalabilme yeteneğine sahip HBeAg-defektif HBV popülasyonu ile yoğun bir biçimde infekte olmuş kişilerde ortaya çıkar. Virüsün eradike edilemediği bazı vakalarda S geninin konak hepatosit genomuna entegrasyonu nedeniyle HBsAg pozitifliği devam edebilir. Entegrasyon, virüsün replike olmaması sonucunu doğurduğu için konak lehine bir durumdur. (İnterferon tedavisinde bu sonuca benzer bir durum ortaya çıkar.) Ancak hepatokarsinogenezde katkısı olan X proteininin konak genomuna girişini kolaylaştırması nedeniyle de aleyhine bir durumdur.

*Evre 4: İmmünokompetans, iyileşme*

Virüs: Replikasyon yok

Hasta :Viral klirensin oluşması, immün yanıtın gelişmesi

Bu faz, replikasyonun serolojik ve histolojik kanıtı olmaksızın HBsAg'nin kaybolup anti-HBs'nin ortaya çıkması ile karakterizedir. HBeAg(-), anti-HBe (+) HBV DNA (-) anti-HBc (+) ALT normaldir. Reenfeksiyon ve reaktivasyon, immünitenin tam anlamıyla geliştiği bu fazdan sonra gelişmez. Tedavisiz hastalarda, HBsAg'nin spontan kaybolup anti-HBs'nin ortaya çıkması olasılığı her sene için %1-2'dir. Enfeksiyonun süresi de HBsAg'nin kaybolma hızını etkiler. Eğer HBeAg serokonversiyonu ilk iki sene içinde gerçekleşmiş ise HBsAg'nin kaybolması daha olası hale gelmektedir.

Bu evrelerin gelişimini etkileyen faktörler, hastanın genetik predispozisyonu, diğer virüslerin varlığı, immünoşüpresif ajanlarla tedavi, cinsiyet ve HBV mutantların gelişimidir.

Aşağıda HBV Enfeksiyonun immünopatogenezindeki viral klirensin sağlanması ve patogenetik süreçlerin gelişiminde önemli rol oynayan ve katkı sağlayan belli başlı komponentler tartışılacaktır.

## 2.10.2- Viral antijenler ve spesifik antikoları

**Yüzey antijenleri:**pre-S1 ve pre-S2 determinantları HBV'nün hücreye tutunmasını sağlarlar. HBV'nün yüzey proteinleri(özellikle pre-S1) aracılığıyla doğrudan sitotoksik etkinin olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır (15). Asemptomatik HBsAg taşıyıcılarında düşük düzeyde ama devamlı üretilen LHBs, hepatosit endoplazmik retikulum içinde uzun, dallı, filamentöz partiküller halinde toplanır ve sekrete edilemezler. Giderek artan şekilde endoplazmik retikulum dilatasyonuna neden olurlar. Hücreler balonlaşır, hidropik ve eozinofilik özellik kazanarak buzlu cam(ground glass) görünümü alır. Hepatositler IFN  $\gamma$  'nın sitopatik etkisiyle hipersensitif destrüksiyona uğrar. Sonuçta koagülasyon nekrozu ile hücreler apoptozise uğrarlar.

**Nükleokapsid antijenleri:**HBeAg, çok zayıf ve T hücrelerinde tolerojen oluşturabilecek bir antijendir. HBeAg sekresyonu, ne virüsün eliminasyonuna ne de konağın ölümüne neden olabilecek bir immünolojik hasara izin vermeksizin (küratif ve destrüktif) enfeksiyonun uzun süre devam etmesine yol açan bir davranış sergilemektedir. HBeAg neonatal toleranstan sorumlu olduğu gibi, yetişkinde enfeksiyon süresince immün yanıtı da modüle etmektedir (15).

HBeAg ise immünojenitesi oldukça yüksek bir antijendir. Hem T hücre bağımlı hem de bağımsız olarak HBeAg –spesifik B hücrelerini indükleyerek anti-HBe antikolarının ortaya çıkmasını sağlar. HBeAg'nin hücre içinde birikerek doğrudan sitotoksik olabileceği de belirtilmektedir.

**X antijeni:** B veT hücreleri için iyi bir immünojendir. HBV'nün indüklediği hepatosellüler karsinogenezisten sorumludur.

**Polimeraz proteini:** Revers transkriptaz aktivitesine sahip olduğundan HBV'nün yüksek mutasyon hızına kavuşmasını, viral epitoplarının



inaktivasyonunu ve kaçak mutantların ortaya çıkışını sağlayarak HBV persistansını sağlar. IFN $\gamma$  ve  $\alpha$ 'ı inhibe etmesine karşın çok iyi bir immünojendir.

**Antikor yanıtı:** Viral epitoplara karşı gelişen antikorlar, viral partiküllerle kompleks yapmak suretiyle onları dolaşımdan uzaklaştırarak veya hücreye yapışmasını ya da uptake'nı engelleyerek viral klirenste önemli rol oynarlar.

**Anti-HBs** antikorları HBV'nin yüzey antijenlerine karşı gelişen nötralizan koruyucu özellikteki antikorlardır. Preklinik dönemde çok düşük titrede sentezlendikleri ve HBsAg ile kompleks yaptıkları gösterilmiştir. Prodromal dönemdeki, ateş, döküntü ve artrit ile seyredabilen (tüm HBV enfeksiyonlarının %10'unda ekstra hepatik sendromun bu komplekslerle oluştuğu bildirilmiştir. Ancak oluşan bu antikorlar, HBs-spesifik HLA sınıf I (ve belki de sınıf II) ile sınırlı CTL'lerce hızla tüketilir. Böylece anti-HBs antikorlarının yapımı gecikir ve genellikle ticari kitlelerle gösterilebilir düzeyde ortaya çıkışları, HBsAg'nin kaybolmasını (CTL etkisinin kalkmasını) gerektiren bir pencere dönemini izler. Anti-HBs'ler, HBV ile birlikte diğer ekstra hepatik sendromların (glomerulonefrit, PAN, cryoglobulinemi) patogenezinde sorumludur.

**Nükleokapsid antikorları:** Anti-HBc antikorları en önce oluşan ve uzun yıllar boyunca pozitif kalmalarına rağmen koruyucu değildir.

**Anti-HBe**, aktif replikasyonun sona erdiğini/azaldığını düşündüren antikor olup HBeAg'nin kaybolmasından sonra ortaya çıkar.

### 2.10.3- HLA Sınıf II Antijenlerine Sınırlı T Lenfosit Yanıtı

HLA sınıf II antijenlerine sınırlı helper T lenfositler, immün yanıtta orkestra şefi görevi görür. Çünkü helper T lenfositleri bir yandan diğer lenfositlerin (CTL, B lenfositleri) proliferasyonunu indüklerken diğer yandan sitokinlerin salınımını uyararak immün yanıtta katkı sağlar (15). Self-limited (kendini sınırlayan) akut hepatit B Enfeksiyonu geçiren tüm hastaların periferik kanında, HBV nükleokapsid antijenlerinin (HBeAg, HBcAg) çeşitli epitoplarına karşı canlı bir HLA sınıf II sınırlı CD4+ T helper hücre yanıtı gözlenirken, yüzey antijen-spesifik HLA sınıf II sınırlı CD4+ T helper yanıtı aynı hastalarda çok daha zayıftır. Aynı yanıt, polimeraz ve X proteinleri için yeterince araştırılmamıştır (Tablo 5).

Tablo 5 : HBV spesifik T hücre yanıtı

HBV antijenleri	T hücre yanıtı		Enfeksiyonun durumu		
	Marker	HLA	AVH	KAH	
			Kan lenfosit	kan lenfosit	hepatik lenfosit
Yüzey	CD4+	II	+	+/-	+
	CD8+	I	+++	+/-	+
Nükleokapsid	CD4+	II	+++	+/-	+
	CD8+	I	+++	+/-	+
Polimeraz	CD4+	II	bilinmiyor	bilinmiyor	bilinmiyor
	CD8+	I	+++	+/-	+

HBV ile kronik olarak infekte olan hastalarda, hem HLA sınıf II sınırlı CD4+ T hem de HLA sınıf I sınırlı CD8+ T yanıtları azalmıştır.

Akut enfeksiyonda nükleokapsid antijenlerine karşı oldukça canlı bir HLA sınıf II CD4+ T hücre yanıtı ortaya çıkmasına rağmen, aynı canlılıkta bir yüzey antijen-spesifik HLA sınıf II CD4+ yanıtının yokluğunun nedeni tam olarak anlaşılamamıştır (20). Ancak pre-klinik dönemde (inkübasyon) bir anti-envelop CD4+ T hücre yanıtının olduğu ve yüksek konsantrasyonda virüs stimülasyonu ile sonradan ya yorgun düştüğü ya da paraliye uğradığı bunun sonucunda da Enfeksiyonun tam ve hızlı bir şekilde eradikasyonunda immün cevabın önceden bir yetersizliğinin söz konusu olduğu ileri sürülmektedir(16). Bunun aksine rekombinant veya plazma kökenli HBsAg aşılı ile immünize edilenlerde, envelop-spesifik CD4+ T yanıtı oldukça güçlüdür. Bu gerçek ise şunu düşündürmektedir: Antijen yükü, sunumu ve düzenleyici mekanizmalar arasındaki farklılıklar bu iki gruptaki HBV yüzey antijenlerine karşı T hücre cevabının gücünü etkileyebilir (15).

HLA sınıf II antijenlerine sınırlı CD4+ T hücre yanıtı temelde nonhepatik antijen prezente edici hücrelerin özellikle makrofajların antijen için bulunan oluğa yerleşmiş HBV peptid fragmanlarını tanır (Şekil 5). CD4+ T hücreleri, antijenin tanınmasını takiben T lenfosit proliferasyonunun stimülasyonu, sitokin sentezi ve B lenfosit yanıtına yardımcı olmak gibi önemli görevleri gerçekleştirirler.



Akut olarak infekte hastalarda viral protein epitoplarına karşı CD4+ T hücre proliferasyonu, IL-2, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  yapımı ile karakterize Th1 tipinde güçlü bir T hücre yanıtı vardır. Nükleokapsid antijenler (HBcAg/HBeAg), immün yanıtın özellikle yöneldiği hedef moleküllerdir. HBc/eAg-spesifik Th yanıtı, birçok epitopun tanınmasını sağlayan bir heterojeniteye sahiptir. Rekombinant proteinlerle immünizasyondan sonra HBcAg'e karşı Th1 benzeri bir yanıt gelişirken, HBeAg'e karşı antiviral temizleme mekanizmalarını zayıflatan Th0 ve Th2 tipi yanıt gelişir (15).

Th1 fonksiyonel fenotipi ile CD4+ T hücrelerinin HBV enfeksiyonunun patogenetik ve antiviral etkinlik gösterdikleri düşünülmektedir (21). Asemptomatik HBV taşıyıcılarında Th2 profili görülür. HBV enfeksiyonunda HBeAg-spesifik Th2 tip hücrelerin dominansı ile kronisite arasında bir ilişki bulunduğu düşünülmektedir (15).

Th1 fenotipinin potent endüktörü olan IL-12'nin konak yararına olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (22). İntrahepatik monosit ve makrofajlarda IL-12 yapımı IFN-gama indüksiyonuna, NK aktivasyonuna ve CTL proliferasyonuna neden olur. IL-12, Th2 yanıtını Th1 dominansına kaydırır. Kronik enfeksiyonda IL-12 yapımı bozulmamış olmakla birlikte viral klirens katkı sağlaması için belirgin bir biçimde artırılması gerekmektedir.

Bu nedenle HBcAg/HBeAg spesifik Th1/Th2 hücrelerinin dengesi, karaciğer hasarı ve viral klirensi regüle etmede çok önemli gözüküyor. Apoptoziste önemli rol oynayan FasL (CTL'de) Th1 hücrelerince eksprese edilirken, Th2 hücreleri Fas sinyalizasyonunu inhibe eden Fas-asosye – fosfataz 1 eksprese ederek apoptozisi engellerler (16).

Ancak Th1 hücreleri aktivasyonla indüklenen apoptozise Th2'den daha duyarlıdır. Kronik enfeksiyonun "tolerans fazı " süresince bazı hastalarda karaciğer hasarlayıcı bir alevlenme olur ve aminotransferaz yükselir. Bu olay HBeAg'nin anti-HBe'e serokonversiyonu ile birlikte ve viral klirens ile sonuçlanır. Alevlenme sırasında HBeAg spesifik toleransın kırılması ile birlikte, virüs-spesifik Th aktivitesinin şiddetlendiği ve Th2 fenotipindeki immün yanıtın, Th1 tipine döndüğü görülmüştür (23).

Fulminan hepatitin Fas-FasL'nin karşılıklı ilişkisi ile yaygın bir apoptozis sonucu oluşabileceği veya pre-kor (HBeAg) negatif suşların rolü üzerinde durulmaktadır (24).

#### 2.10.4- HLA sınıf I antijenlerine sınırlı T lenfosit yanıtı

HLA sınıf I antijenlerine (HLA A,-B,-C) sınırlı CD8+ T lenfositleri (CTL), bu moleküllerce hepatosit yüzeyine sunulan viral peptidleri tanıma ve ayırma kapasitesinden dolayı enfeksiyonun eradikasyonunda ve hepatosellüler hasarlanmada majör bir rol oynamaktadır (15). Enfeksiyonun geçici ya da persistan olacağını belirleyen en önemli faktör, CTL yanıtının gücüdür. Kendini sınırlayan akut hepatit sırasında tüm viral antijenlerine karşı güçlü, poliklonal ve canlı bir HLA sınıf I yanıtı gelişmektedir. Kronik hepatitte ise tüm antijenlere karşı aynı yanıt azalmış olarak bulunur (Tablo 5). Kronik hepatitte azalmış olan CTL yanıtından bir çok mekanizma sorumlu tutulmaktadır: a) CTL stimülasyonu için gereken CD4+ yanıtının kronik hepatitte tam ya da tama yakın oranda ortadan kalkması. b) Viral antijenlere yönelik T lenfosit repertuarlarında bir boşluk(eksiklik) olması c) Antijen sunumunda veya işlenmesinde bir defekt bulunması d) Viral peptidlere bağlanma yeteneğinde yetersizlik bulunan varyant HLA sınıf I allellerinin eksprese edilmesi e) Viral klirens için gereken epitoplara içermeyen varyantlarla enfeksiyon f) Antijenik uyarıya rağmen supressif T hücre yanıtının ortaya çıkması.

CTL için çok sayıda HLA-A2 sınırlı epitop tanımlanmıştır. Bunlardan en fazla bilineni olan HBcAg 18-27 epitopu, kronik hastalarda peptid bazlı terapötik aşılarda başlıca komponentini oluşturmaktadır (14 ). Son zamanlarda güvenilir ve immünojenik olduğu gösterilen sentetik HBcAg peptid aşılı, HLA-A2 sınırlı CTL yanıtını indükleyerek, enfeksiyon sırasında virüsü başarılı bir şekilde temizleyen akut infekte hastaların CTL yanıtına benzer bir yanıt oluşumuna neden olmaktadır (25,26). Eksojen HBV yüzey antijenleri (HBsAg aşısı) endozomal yolla HLA sınıf I sınırlı CD8+ yolunu uyarabilir. Bu etkinin, endojen yüzey antijeni kadar güçlü olmasının saptanması üzerine yüzey antijeni kökenli aşılarda da kronik olarak infekte hastalarda terapötik amaçlı kullanımını gündeme getirmiştir (15). Daha önceleri benzer stratejiler, kronik viral enfeksiyonlar ve neoplastik hastalarda da denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır. HBV'ne karşı CTL yanıtının, önemli olan patolojik ve virolojik sonuçları vardır (15):

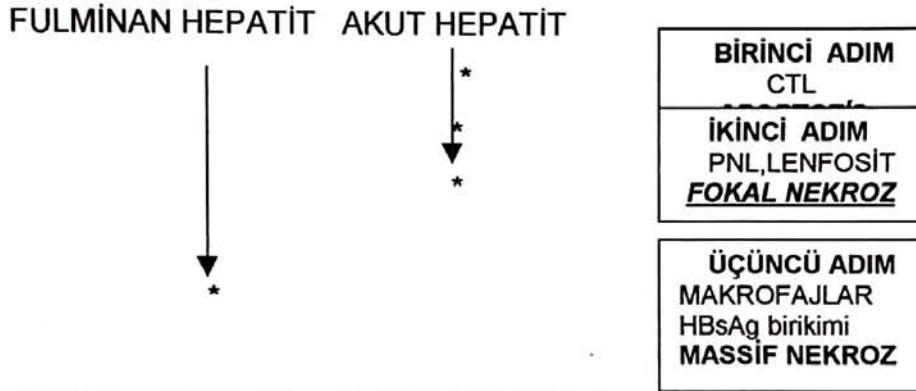
a) Patogenetik süreçte olayın ilk başlangıcı CTL tarafından antijenin tanınması ve HBsAg pozitif hepatositlerin apoptozisinin başlamasıdır (Şekil 6 ).



CTL ve hepatosit etkileşimi, akut viral hepatitin karakteristiği olan konsulman cisimciği (apoptotik hepatosit ) ile sonuçlanır.

b) HBsAg-spesifik CTL, akut nekroinflamatuvar karaciğer hastalığını uyarabilir. Nekroinflamasyonun şiddeti, CTL tarafından stimüle edilen IFN-gama miktarına, o anda HBsAg-pozitif hepatosit miktarına ve her bir hepatositteki HBsAg miktarına ve cinsiyete bağlıdır.

c)CTL tarafından aktive edilmiş karaciğer hasarından, büyük ölçüde CTL'nin olay yerine çağırdığı antijen nonspesifik antiinflamatuvar hücreler; özellikle de makrofajlar ve onlardan salınan sitokinler sorumludur. Olay yerinde CTL'lerden 100 kat daha fazla makrofajlar bulunabilmektedir



Şekil 6: HBV patogenezinde basamaklar

d) CTL'ler karaciğerde olmayan mikrovasküler bariyer nedeniyle HBsAg-pozitif çoğu parenkimal dokuya (beyin, böbrek, testis, pankreas) geçemez. Bu ise viral persistansa neden olabilir.

e) CTL'ler viral replikasyon ve HBV gen ekspresyonunu inhibe eder. CTL'ler, IFN-gama, TNF-alfa ve IL-2 salınımını stimüle ederler. Bu sitokinler ise viral replikasyon ve gen ürünlerini (HBV mRNA) posttranskripsiyonel yolla non-sitolitik olarak tamamen inhibe edebilir. Bu mekanizma, HCV ve HAV süperenfeksiyonu ile de ortaya çıkabilir.

f) Kronik HBV persistansı sekonder olarak sürekli bir inflamatuvar (mutajenik) ve rejeneratif (mitojenik) yanıtı yol açarak DNA hasarına yol açarak HCC'e neden olabilir.

### 2.10.5- Viral Persistans mekanizmaları

Nonsitopatik bir virüsün persistansı için ya etkisiz bir antiviral yanıtın ortaya çıkması (Th1 sitokin fonksiyonunun azalması, virüs-spesifik T hücrelerinin tolerize olması ya da tükenmesi) ya da virüsün immün yanıtın kaçabilme yeteneği kazanması ya da onu şaşırtması (zayıf peptid sunumu, antijenik değişim, virüsün immün sistemden korunmuş yerlerde saklanması) gerekir.

Viral persistansın immünogenetik yapı ile de ilişkisi bulunmaktadır.(MHC sınıf II alleleri HLA-DR2 ve HLA-DR7'nin viral persistansa yatkınlığı artırdığı; HLA-DRB\*1302'nin ise persistansa karşı koruduğu gösterilmiştir (7).

MBP, opsonin gibi davranarak kompleman ve fagositozu aktive eden, doğal immünitede önemli rolü olan kalsiyuma bağımlı bir lektindir. MBP gen mutasyonlarının kronik B hepatitinin gelişmesinde rolü olabileceği ileri sürülmektedir. Bu durumda MBP fagositer hücre "uptake"inde bozukluk meydana gelir. Hepatositlerin virüsle bağlanması artar ve sonuçta karaciğerin infektif yükü artar.

*Neonatal Tolerans:* Fetüsün transplasental enfeksiyonu ya da subviral antijenlerin transplasental geçişi HBV-spesifik T hücrelerinin klonal delesyonuna neden olabileceği ileri sürülmektedir. Yenidoğanın immünolojik immatürlüğü nedeni ile postnatal enfeksiyon zayıf ve defektif HBV spesifik immün yanıtı neden olabilir. Ancak yenidoğanın HBsAg ile immünizasyona iyi yanıt verdiği bilindiği için bu teori fazla kabul görmemektedir. HBeAg pozitif annelerin bebeklerinde HBeAg ve HBcAg'e karşı T hücre düzeyinde tolerans geliştiği bilinmektedir. Bunun nedeni olarak da HBeAg'ne transplasental maruziyetin MHC sınıf II sınırlı nükleokapsid antijen spesifik Th hücrelerinde timik delesyona uğraması gösterilmektedir (15).

HBeAg pozitif annelerin yenidoğanları immün sistemlerinin gelişimi sırasında HBsAg'e maruz kalsalar dahi HBsAg aşısı ile immünize olduklarında HBV enfeksiyonundan güçlü bir şekilde korunmaktadırlar. Bu durum, yenidoğanların bu antijene immünokompetent olduklarını göstermektedir. Bu ise HBsAg'e karşı toleransın gelişmediğini göstermektedir. HBsAg immünizasyonu ile cevapsızlık tersine çevrilebilir. Bu bilgiler, HBsAg ile immünizasyonun bu infantlarda sürmekte olan HBV enfeksiyonunu sonlandıran T hücre yanıtını indüklediğini düşündürmektedir. Bu plazma kökenli ve murin HBsAg aşısı



uygulanan kişilerde HBsAg'e karşı sınıf I sitotoksik T hücre yanıtı ürettikleri konusundaki bilgilerle ve aynı zamanda aynı HBsAg aşısı ile immünize edilen kronik infekte yetişkinlerdeki viral klirensi sağladığı konusundaki bilgilerle tutarlı gözükmektedir.

*Adult Başlangıçlı Tolerans:* Adullarda gelişen toleransın, CTL'nin yüksek virüs yükü ile tüketilmesi ya da hızlı yükselen antijen yükü ile timus kaynaklı yeni ortaya çıkan T lenfosit fonksiyonunu paralize etmesi sonucunda geliştiği düşünülmektedir. İmmünogenetik yapı da belirleyicidir.

*İmmün Yanıtça Viral Gen Ekspresyonunun Supresyonu:* CTL'nin viral gen ekspresyonunu inhibisyon kapasitesi, aynı zamanda konağa karşı da çalışabilir ve viral persistansa yardım edebilir. Zayıf bir immün yanıt, infekte hücrelerde viral gen ekspresyonunu inhibe ederek virüsün immün tanınmadan kaçmasını sağlar. Böylelikle viral persistansa aktif olarak yardım edebilir. Ancak, bu durum ineffectif bir T hücre yanıtına sekonder olarak gelişebilir.

*Mutant Virüslerde Epitopların Pasif İnaktivasyonu:* Antijenik değişim ile T hücre tarafından tanınmadan kaçış oldukça etkin bir stratejidir. Pre-kor mutant varyant HBV pregenomik mRNA'ların stabilitesini artırarak replikasyon avantajı sağlarlar. Yeni mutasyon olasılığı artar, persistansa yol açılmış olur.

*İmmünolojik yanıtta korunmuş bölgelerin enfeksiyonu:* Lenfositlerin, mikrovasküler bariyer nedeniyle kolayca ulaşamayacağı ya da MHC antijenleri eksprese etmeyen perifer dokuların enfeksiyonundan (beyin, böbrek, pankreas, dalak, testis, over, adrenal ve tiroid) haberi olamamaktadır.

*İnfekte hücrelerin yüzeyindeki tanıtıcı moleküllerin değişimi:* HBV hedef hücre yüzeyindeki HLA ve diğer yardımcı moleküllerin ekspresyonunda değişiklik yaparak CTL tarafından tanınmasını engelleyebilir.

HBV immünoregülatuar moleküllerin downregülasyonuna yol açarak persistan kalmaya çalışır. (HBcAg, IFN-beta'nın, polimeraz proteini ise IFN-alfa ve gama'nın yapımını azaltır) HBV kendi proteinlerinin ekspresyonunda da downregülasyona yol açarak immün tanınmadan kaçmaya çalışır.

*Selektif İmmün Supresyon:* Lenfosit ve monositleri infekte eden HBV selektif ya da yaygın immün supresyona neden olabilir.

*Mutant virüslerin epitop tanınmasını aktif supresyonu:* T hücre reseptör antagonizması: T hücre reseptörü kontakt bölgelerindeki değişiklikler, CTL

yanıtını, TCR ile etkileşebilen ancak stimülatör yanıtı neden olmayan böylelikle de antagonist olarak davranan analog peptidler yaratarak değiştirebilir.

*Alternatif hastalık mekanizmaları:* Yüzeyinde HBeAg bulunan infekte hepatositler antiHBe antikorlarınınca tanınır. HBeAg, bu hücreleri antikor aracılı viral klirens için hedef haline getirir.

Hepatit B aşısı uygulananlarda gösterilen HBV zarf-spesifik HLA sınıf II sınırlı sitotoksik CD4+ T hücrelerinin sadece endojen sentezlenen viral antijenleri değil aynı zamanda eksojen verilen antijenleri de tanıyabildiği dolayısıyla de virüsle infekte hepatositlerin klirensinde rol oynadığı gösterilmiştir.

Aktive T lenfositlerden salınan lenfokinlerin antijen non-spesifik hücreleri (makrofaj, nötrofil,NK) aktive eder. Bu hücreler ise infekte olan ve olmayan hepatositler için doğrudan sitopatiktir.

## 2.11- Patoloji

Viral hepatitler, ara formlar dikkate alınmaksızın kabaca üç farklı klinik tablo ile karşımıza çıkarlar: 1- Akut semptomatik, 2- Asemptomatik, 3- Kronik.

**Akut Viral Hepatit Patolojisi:**

Akut olarak infekte olan hastaların karaciğer dokularında çok belirgin olmayan parenkimal değişiklikler (fokal nekroz, Kupffer hücre proliferasyonu, asidofilik cisimcikler ve balonlaşma dejenerasyonu) gözlenir.

*Balonlaşma dejenerasyonu,* endoplazmik retikulum dilatasyonuna sekonder olarak ortaya çıkan "hepatosit şişmesi" ile karakterize olup sık görülen bir akut hepatit bulgusudur. Gelişen litik nekroz diagnostik değildir.

*Asidofilik dejenerasyonda,* ölen hücrelerde piknotik veya fragmentasyonlu nukleus ve asidofilik sitoplazmaya rastlanır. Bu sürecin sonunda asidofilik cisimcikler (Councilman cisimciği) denilen apoptotik hepatositler ortaya çıkar.

Karaciğerde bu dejenerasyonların yanında ve küçük, uniform, bazofilik görünümde , multinükleer hücrelerin arttığı *rejenerasyon* tablosu da görülür.

Lobuler iltihap cevabı, temel olarak lenfosit ve makrofajların infiltrasyonu ile karakterize olmakla beraber daha az miktarda eozinofil, plazmosit ve nötrofil de görülebilir. Kupffer hücreleri hiperplazik ve hipertroftiktir.



Hepatitin temel morfolojik komponentleri *nekroz* ve *inflamasyondur*.

**Nekroz:** Tek hücre kaybı, (droupt) akut viral hepatitlerin temel lezyonunu oluşturur. *Fokal (spotty) nekroz* da denilen bu tip nekroz litik tiptedir veya büzüşme ve fragmantasyonla karakterizedir. Komşu hepatositlerin konfluent alanlar oluşturacak şekilde litik hasara uğraması *konfluent nekroz* oluşturur. Portal alandan hepatic lobul içine uzanan fibroz septumlar kimi zaman vena sentralise kadar uzanır. Bu porto-sentral septumlar *köprüleşme (bridging) nekrozu* ile sonuçlanır. Bu nekroz akut hepatitte %10 oranında görülebilir. Bu nekroz kronikleşme için iyi bir gösterge ve ciddi bir prognostik faktör kabul edilmektedir. *Panasiner nekroz*, tüm asinüslerdeki tama yakın hepatositin tahrip edildiği en şiddetli nekroz şeklidir. *Massif nekroz*, tüm karaciğerin kayda değer bir bölümünde multiasiner nekroz olmasını ifade eder. Fulminan hepatitin histopatolojik bulgusudur. *Piecemeal nekroz (güve yeniği nekrozu)*, kronik aktif hepatite karakterize porto-portal bir nekrozdur (27).

**İnflamasyon (iltihap):** Çoğunluğu portal mesafede olmak üzere az veya çok daima vardır. Lenfositler hücreler predominanttır. Lenfoid foliküller oluşabilir. Akut hepatitte kolestaz, şiddeti değişken olmakla beraber mutadadır.

Hasarlanan karaciğer dokusu ortalama 8-18 haftada onarılır. Hepatitin düzelme olmaksızın 6 ay ya da daha fazla devam etmesi kronik hepatit olarak tanımlanır. Akut HBV enfeksiyonu, lenfoplazmositer infiltrasyonla karakterize sekonder hepatosit hasarı gösteren immün hasar yapar. HBsAg partiküllerinin endoplazmik retikulum içerisinde birikimine sekonder olarak ortaya çıkan görünüm "buzlu cam" olarak tanımlanırken, HBcAg partiküllerinin nükleer vakuol içinde, ince soluk eozinofilik flokkulan tanecikler şeklindeki görünümü ise "kumlu nükleus" olarak tanımlanmaktadır.

Akut hepatit sekelleri arasında; rezolusyon, fulminan hepatit ya da komplikasyonlarından ölüm, post-hepatitik nedbeleşme, sirozlu ya da sirozsuz kronik hepatit ve hepatosellüler karsinoma sayılabilir.

### 2.11.2- Kronik Hepatit Patolojisi:

Kronik hepatit, tek bir hastalık olmayıp, çeşitli nedenlere bağlı, hepatosellüler nekroz ve inflamasyon ile karakterize klinik ve patolojik bulgulara dayanan bir sendromdur. Kronik hepatit çok geniş morfolojik tablo gösterirse de

geliştirdiği üç önemli patolojik oluşum vardır: 1-Portal iltihap, 2-Lobuler iltihap ve hasar, 3- Piecemeal nekroz. Bunların sonucunda gelişen fibrozis oldukça değişken şiddet ve irregüler görünümündedir. Günümüzde eskiden beri (1968'den beri) kullanılan terimlerin (Kronik Persistan Hepatit (KPH)= "Sağlıklı Görünen Taşıyıcı"; Kronik Aktif Hepatit (KAH)= "Hasta Taşıyıcı"; Kronik Lobuler Hepatit (KLH)="İyi Prognozlu Hasta Taşıyıcı" "Akut Uzamış Vakalar") sınıflandırmadaki yetersizliğinin görülmesi üzerine 1994'ten itibaren Grade ve Evreleme içeren sayısal değerlendirmeler şeklinde değişikliğe uğramıştır. Grade nekroinflamatuvar sürecin şiddetini, evre ise fibrozis ve siroz gelişimini gösterir. Eskiden kullanılan KAH, KPH, KLH terimleri temel olarak grade ifadesidirler. Siroz ise kronik hepatitin geriye dönüşümsüz bir evresidir. Fibröz septumlarla çevrili parenkimal nodüllerin varlığı ile karakterizedir (27).

Bu değerlendirmeyi yapmak üzere çeşitli derecelendirme sistemleri tanımlanmış olup bunlar içerisinde en yaygın olanı Knodell'in histolojik aktivite indeksi olarak bilinen sistemdir (Tablo 6). Bu değerlendirmelerde kronik hepatit tanısı üç ana bulguya dayandırılır. Bunlar: Etkenin ne olduğu, histopatolojinin derecelendirilmesi ve fibrozisin değerlendirilmesi. Derecelendirme için skora dahil edilmeyen ancak belirtilmesi gereken ilave özellikler de vardır: İntraasiner fibröz, perivenüler "kafesteli" fibröz, terminal venüllerde fleboskleroz

## 2.12-Klinik

HBV enfeksiyonunun inkübasyon süresi 30-180 gün arasında değişir (Ortalama 70-80 gün). Hepatitin ortaya çıkması serumda HBsAg saptanmasından ortalama 4 hafta (1-7 hafta) sonradır. Klinik olarak anikterik, (asemptomatik) ikterik, kolestatik ve fulminan tablolar şeklinde ortaya çıkar.

1-İkterik akut hepatitin temel bulgusu olan sarılığın ortaya çıkmasından önce nonspesifik semptomlarla giden bir *prodrom dönem* (preikterik ) gözlenir. Bu dönem ateş, baş ağrısı, halsizlik, çabuk yorulma, grip benzeri tablo, eklem ağrıları,ürtiker,bulantı, kusma, karın ağrısı gibi belirtilerle özellenir.



Tablo 6 : Modifiye HAI derecelendirme: Nekroinflamatuaur değişiklikler (Grade)

Değişiklik	Skor
<b>A.Güve yeniği nekrozu (Piecemal nekroz)</b>	
Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alan)	1
Hafif/orta(fokal, çok sayıda portal alan)	2
Orta(alanların %50'i kadarının çevresinde devamlı)	3
Ağır(alanların %50'inden fazlasının çevresinde devamlı)	4
<b>B.Konfluent nekroz(köprüleşme)</b>	
Yok	0
Fokal konfluent nekroz	1
Bazı alanlarda zon3 nekrozu	2
Çoğu alanda zon3 nekrozu	3
Zon3 nekrozu+ az sayıda porto-santral köprüleşme	4
Zon3 nekrozu+çok sayıda porto-santral köprüleşme	5
Panasiner veya multiasiner nekroz	6
<b>C.Fokal(benekli) litik nekroz,apoptozis ve Fokal iltihap</b>	
Yok	0
Her 10xbüyütmede 1 veya daha az odak	1
Her 10xbüyütmede 2 veya 4 odak	2
Her 10xbüyütmede 5 veya 10 odak	3
Her 10xbüyütmede 10 odaktan fazla	4
<b>D.Portal iltihap</b>	
Yok	0
Hafif,bazı veya tüm portal alanlar	1
Orta. bazı veya tüm portal alanlar	2
Orta/şiddetli, bütün portal alanlar	3
Şiddetli, bütün portal alanlar	4
<b>Toplam skor :</b>	<b>18</b>

Tablo 7: Modifiye evrelendirme: Mimari değişiklikler, fibrozis,siroz:

Değişiklik	Skor
Fibrözis yok	0
Bazı portal alanlarda fibröz genişleme (kısa fibröz septum olsun var veya yok)	1
Çoğu portal alanda fibröz genişleme kısa fibröz septum olsun var veya yok)	2
Çoğu portal alanda fibröz genişleme nadir porto-portal köprüleşme	3
Belirgin köprüleşme(p-p ve p-s) ve portal alanların fibröz genişlemesi	4
Belirgin köprüleşme(p-p ve p-s) ve az sayıda nodül(inkomplet siroz)	5
Siroz	6
<b>Toplam skor :</b>	<b>6</b>

Bu peryod 3-10 gün sürer. Bazen 2-3 haftaya kadar uzayabilir. Bu dönemde bazı hastalarda (%15) akut hepatitin klinik belirtileri başlamadan birkaç gün veya hafta önce eritematoz makulopapuler raş, ürtiker, artralji, nadiren artrit ve bazen de ateşin eşlik ettiği genellikle kadınlarda görülen "serum hastalığına benzer sendrom" olarak adlandırılan bir tablo gelişebilir.

Akut ya da kronik hepatitin seyri sırasında immün kompleks ilişkili başka hastalıklarda görülebilir: PAN, glomerulonefrit, agammaglobulinemi, Raynoud fenomeni, mikst kriyoglobulinemi, büllöz formasyon, eritamo nodozum, vs.

*İkterik dönem* idrar renginin koyulaşması (çay rengi idrar) ardından sarılığın ortaya çıkmasıyla başlar. Bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısında şiddetlenme gözlenebilir. Bazen kaşıntı ortaya çıkabilir. Akolik gaita görülebilir. Sarılığın süresi 1 ile 3 hafta sürebilir. İyileşme sarılığın ortadan kalkmasıyla başlar.

2- Anikterik (inaparan) hepatit ikter dışında klinik ve laboratuvar bulguları ikterik hepatite benzer. 4 yaşın altındaki çocukların % 90'ı erişkinlerin ise 2/3'ü bu klinik forma ile Enfeksiyonu geçirirler. Kronikleşme eğilimi semptomatik forma göre daha fazladır.

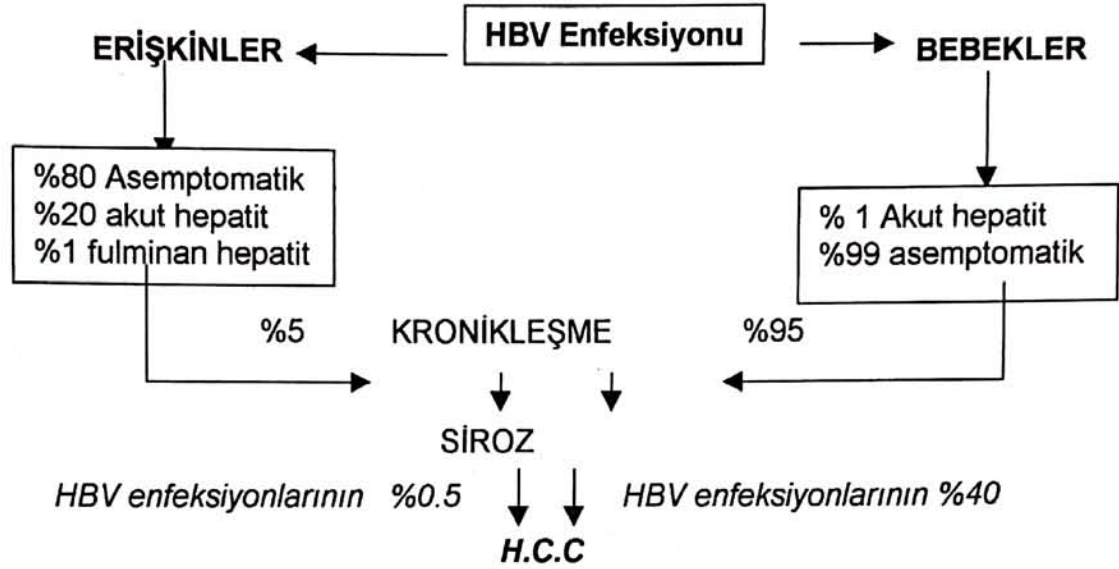
3- Kolestatik tipte tablo aylarca (8 aya kadar) sürebilir. Kaşıntı ve sarılık belirgindir. Kronik hepatitle karıştırılabilir. İyileşme kuraldır.

4- Fulminan/subfulminan tip erişkinler, yaşlılar, immünitesi baskılanmış kimseler ve kadınlarda daha sık görülür. En iyi koşullarda dahi hayatta kalım oranı %60 dolayındadır. En sık nedenlerinden birisi de kronik HBV enfeksiyonudur.

Akut HBV enfeksiyonlu hastalarda Enfeksiyonu alma yaşına bağlı olarak değişen oranlarda kronikleşme görülür (Şekil 7). Erişkin yaşta kazanılan akut HBV Enfeksiyonununun % 90-95'i iyileşirken, çocukluk çağında kazanıldığında %30-40, neonatal dönemde kazanıldığında ise % 90 oranında kronikleşmektedir. Kronik olarak infekte kişilerin yaklaşık % 40'ında herhangi bir karaciğer hasarı meydana gelmez, bu kişiler asemptomatik taşıyıcı olurlar. Geriye kalan % 60'ında çeşitli düzeylerde kronik hepatit gelişir. Kronik aktif hepatitlerin % 50'i siroza ilerler. Siroz gelişmiş vakaların % 10'unda ise hepatosellüler karsinoma gelişmekte ve hastalar son dönem karaciğer yetmezliği tablosu ile kaybedilmektedirler. HBsAg taşıyıcılarında hepatosellüler karsinoma riski, sağlıklı popülasyona göre 200 kat daha fazladır (28).



Kronik HBV enfeksiyonu genellikle sessizdir. En sık semptom yorgunluktur. Genellikle hafif ve intermittan özelliindedir. Nadiren bulantı, iştahsızlık, karın ağrısı, kilo kaybı görülebilir. Klinik, biyokimyasal ve histolojik bulguları yansıtmaz. Siroz gelişiminde klinik daha belirgindir. Devamlı yorgunluk, zayıflama, karın şişmesi, ödem, sarılık ve kaşıntı görülebilir.



Şekil 7: HBV enfeksiyonunda gidiş

### 2.13- Tanı

HBV için kullanılan özgül(virolojik, serolojik,moleküler yöntemler) ve özgül olmayan laboratuvar bulguları bulunmaktadır (13).

I-Özgül Olmayan Testler:

A)Karaciğer hastalığına özgü biyokimyasal testler:

**Hepatosellüler hasarı gösteren testler:**

**Bilirubin:** B tipi akut viral hepatitte total serum bilirubin düzeyi, değişkendir. Genellikle 10-14 gün yüksek düzeydedir. Haftalar içinde tedricen azalır. Normalin 5-15 katı kadar yükselebilir. Genellikle 10 mg/dl'i geçmez. Hepatosellüler hasara bağlı olarak direkt ve indirekt birlikte yükselir.

Birlikte kolestaz olması durumunda direkt, hemoliz olması durumunda ise indirekt bilirubin düzeylerindeki artışlar daha belirgin olmaktadır.

**Transaminazlar:** Akut viral hepatitin esas göstergesi olan transaminaz aktivitesindeki artış, akut tablo ile en iyi uyum gösteren parametrelerdendir. Karaciğerdeki nekroinflamatuvar hasarın en erken ve en iyi bir göstergesidir.

ALT ve AST düzeyleri genellikle 500IU/ml'nin üzerindedir. Semptomların birinci haftasında pik yapar. Pik düzeyi genellikle 1000 IU/ml'nin üzerindedir.(10-100 katı artabilir) Pik düzeyi, karaciğer hastalığıyla doğru orantılıdır, ancak prognostik değildir. ALT düzeyleri, AST düzeylerinden daha yüksek olmaktadır. (AST çoğunlukla intramitokondriyal iken, ALT sitoplazmik bir enzimdir. İmmün yanıt sitoplazma membranına yönelik olduğundan ALT daha fazla etkilenir.) Transaminaz düzeyleri haftalar bazen de aylar içinde tedricen düşer. Kronik B tipi hepatitinde ALT ve AST düzeyleri genellikle 50-200 IU/ml arasındadır. Kronik karaciğer hastalıklarının çoğunda transaminazlar normalin 1-2 katı seviyelerindedir. Asemptomatik hastalarda genellikle normal sınırlar içerisindedir. Ancak HBeAg'den anti-HBe'e serokonversiyon sırasında geçici bir ALT alevlenmesi olur (29). Serum transaminaz düzeyleri hepatosellüler hasarın şiddetini tam olarak yansıtmaz. Ancak yaklaşık bir fikir vermesi açısından, hafif şiddetteki hasarda <100IU/ml; orta derecedeki şiddette 100-400 IU/ml; ağır derecede şiddette >400IU/ml seviyeleri uyumlu olarak değerlendirilebilir (30).

***Kolestazi gösteren testler:***

**Alkalen fosfataz:** Viral hepatitlerde normal veya hafif yükselmiş olabilir. GGT ile beraber kolestazi değerlendirmede yararlıdır. Alkalen fosfataz ekstrahepatik kolestazda normalin üç katı yükselebilir. 5-nükleotidaz ve lösin aminopeptidaz, kolestazın karaciğer kaynaklı olduğunu gösteren diğer testlerdir.

**Karaciğer sentez kapasitesini gösteren testler:**

**Albümin:** Komplike olmamış viral hepatitlerde normal veya minimal azalmıştır. Kronik hepatitlerde ve özellikle sirozda karaciğerin albümin sentez kapasitesi yaklaşık olarak %50 /daha fazla azalabilir.

**Prealbumin:** Yarılanma süresi kısa (2gün) olduğundan sentez kapasitesini yansıtmada daha hassastır ve küçük değişikliklere daha çabuk yanıt verir.

**Protrombin zamanı:** Akut viral hepatitlerde aşırı uzama görülmez. Eğer varsa ciddi bir sentez defektine ve yaygın nekroza işaret eder. Fulminan hepatik yetmezliğin habercisi olabilir. PT≥17 saniye ve INR≥1.5 ise fulminan hepatik yetmezliğin gelişebileceği düşünülebilir.



**B)İdrar Bulguları:** Bilirubinüri ve ürobilinojenüri görülebilir. İkterik dönemde idrar çay rengindedir. Kolestatik formda sadece bilirubinüri saptanır.

Biyokimyasal anormallikler 2-4 haftada düzelir. Ancak bazı hastalarda (%3-5) 3-12 aya kadar uzayabilir.

## **II- Özgül Testler:**

### **A)Tanıda kullanılan antijenler ve nükleik asitler:**

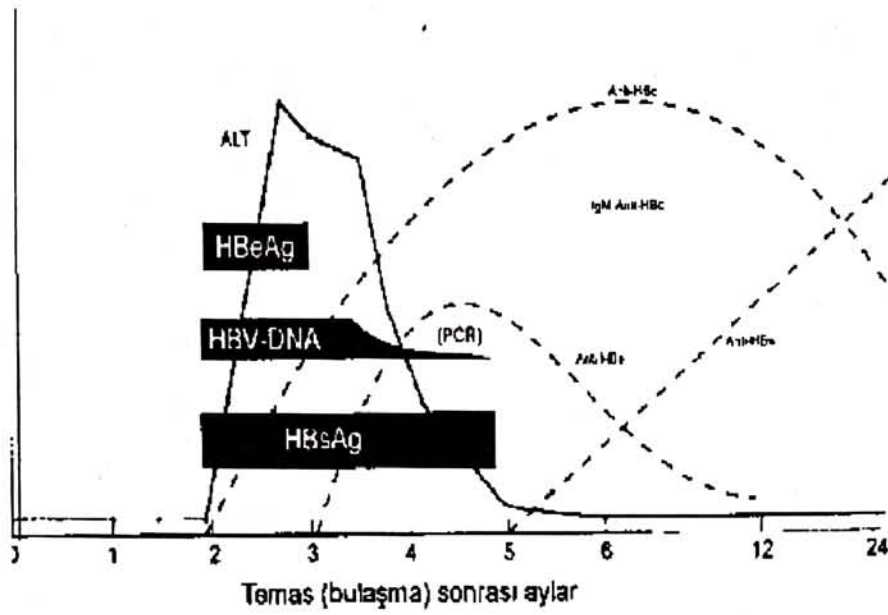
**HBsAg:**HBV ile temastan 1-12 hafta sonra, klinik belirtilerin başlamasından 2-8 hafta önce serumda saptanabilir. 3 ay sonra titresini azalarak kaybolur (Şekil 8). 3 aydan daha fazla süren HBsAg pozitifliği, hastalığın kronikleşeceğini düşündürür.

**HBeAg:** Viral replikasyonun devam ettiğini ve infektiviteyi gösterir. HBsAg'nin ortaya çıkmasından birkaç gün veya birkaç hafta sonra ortaya çıkar ve genellikle ALT pikinden sonra tedricen azalarak kaybolmaya başlar. HBeAg'nin 3 aydan daha fazla pozitif kalması Enfeksiyonun kronikleşeceğini belirtir (Şekil 8). Düzeltilen olgularda HBsAg ve HBV DNA' dan önce kaybolur. Kronik olarak infekte olguların yaklaşık yarısında zamanla HBeAg kaybolur, antiHBe ortaya çıkar. Her yıl için HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu ihtimali %5-25'tir (28).

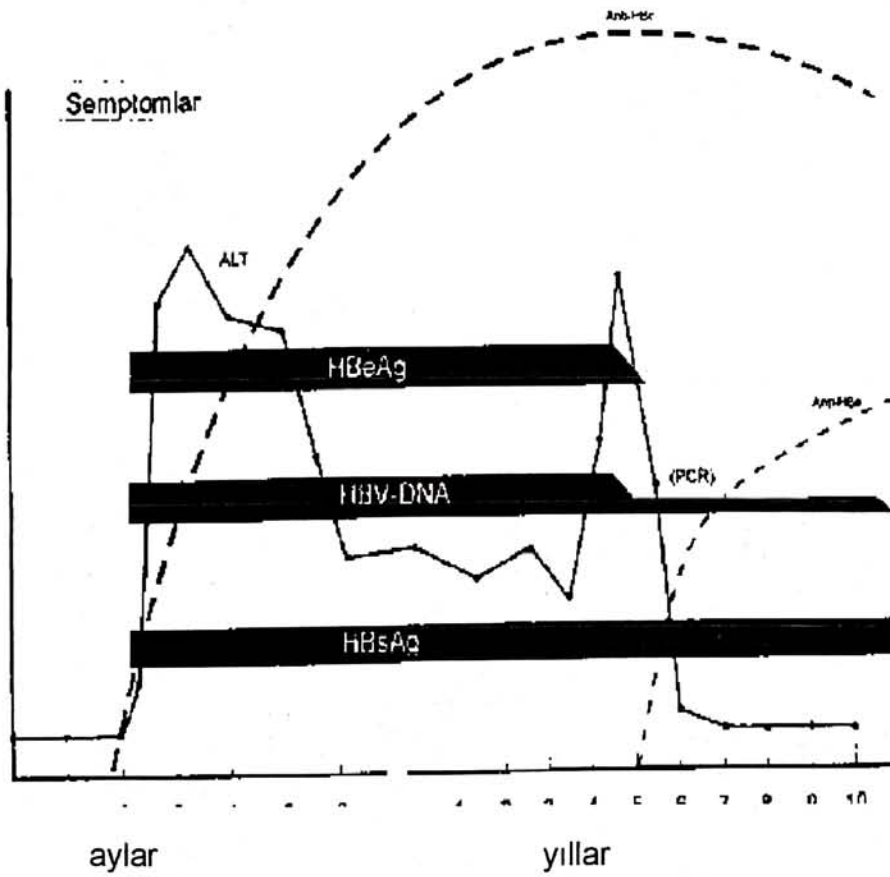
Bu serokonversiyon, düşük düzeyde viral replikasyon, biyokimyasal ve histolojik iyileşme ile birlikte olması, var olan dominant virüs popülasyonunun immün sistemce tanındığını elimine edilmekte olduğunu gösterir.

Eğer serokonversiyon sonrası ortaya çıkan tablo yüksek düzeyde viremi ile birlikte aktif hastalığın devam ettiğini gösteriyorsa, dominant virüs türlerinin, immün yanıtta kaçabilen mutant virüsler olduğu anlaşılır. Prekor ve kor bölgesi mutasyonları HBeAg/anti-HBe ile ilgili anormal serolojik profillerin ortaya çıkmasına neden olabilir (Tablo 8). Kimi olgularda HBeAg'nin kaybolmasından sonra reaktivasyon olabilir. Bu durumda HBeAg, HBV DNA ile birlikte tekrar pozitifleşebilir. Bu tablo daha çok immünsüprese hastalarda görülmektedir.

**HBV DNA polimeraz:** Klinik uygulamada pek kullanılmayan bu enzim viral replikasyonun ve infektivitenin bir işaretçisidir. Serumda saptanabilir.



Şekil 8: Akut HBV'nin seyri



Şekil 9 :Kronik hepatit B'nin seyri



Tablo 8: HBV DNA, HBeAg ve Anti-HBe Serolojik Profilinin Yorumu

HBV DNA	HBeAg	Anti-HBe	Yorum
+	+	+	Replikasyon mevcut
+	-	+	Replikasyon mevcut, Mutant HBV?
+	-	-	Replikasyon mevcut, Mutant HBV?
+	-	-	Replikasyon sona ermiş

**HBV DNA:** Viral replikasyonun en duyarlı göstergesidir. HBV DNA'nın belirtilerden 8 hafta/daha uzun süreli pozitif kalması kronisitenin, 2 haftada kaybolması ise iyileşmenin habercisi kabul edilir. Hastalık aktivitesi ve antiviral tedavinin etkinliğini değerlendirmede, immünolojik olarak negatif HBV enfeksiyonlarını tanımlamada yardımcı olmaktadır.

HBV DNA'nın saptanmasında en özgül ve duyarlı yöntem PCR yöntemidir. Çok küçük miktarlardaki (10-50 genom/ml) HBV DNA gösterilebilmektedir.

HBV DNA, klinik belirtilerin ve ALT'nin yükselmeye başlamasından önce serumda tespit edilir. Ve HBeAg serokonversiyonu sonrası hızla azalır.

HBeAg pozitif hastaların yaklaşık %80-90'ında, anti-HBe pozitif hastaların ise %20'inde HBV DNA pozitif bulunmaktadır. Ayrıca HBeAg pozitif hastalarda HBV DNA düzeyi, daha yüksek iken anti-HBe pozitif hastalarda düşük düzeylerde dir. Ancak mutant tiplerde antiHBe pozitif olmasına rağmen HBV DNA düzeyi yüksek bulunabilmektedir (13).

**Pre-S1 ve pre-S2 antijenleri:** Replikasyonun varlığına işaret ederler.

#### **B) Tanıda kullanılan antikorlar:**

**Anti-HBs:** HBsAg'nin konformosyonel epitoplara karşı gelişen nötralizan özellikte antikor olup kalıcı bağışıklık sağlar. HBsAg kaybolduktan sonra ortaya çıkar. Aşılama veya semptomların belirmesinden 1-3 ay sonra ortaya çıkar. En geç ortaya çıkan antikordur. İyileşme ve immüniteyi gösterir. %5 hastada akut hepatitin tümüyle iyileşmiş olmasına rağmen serumda saptanamaz. İyileşen hastaların çoğunda ömür boyu pozitif kalır. Ancak B tipi akut hepatit geçirip düzelen hastaların %5-15'inde anti-HBs oluşmamaktadır.

**Anti-HBc-IgM:** Akut HBV enfeksiyonunda ilk antikor yanıtı, anti-HBc'dir. Koruyucu özelliği yoktur. İlk yanıt anti-HBcIgM iken, bunu anti-HBcIgG izler

Anti-HBc IgM HBsAg'nin saptanmasından 2 hafta sonra saptanmaya başlar. 3-12 ay içinde kaybolur. Ancak bazı akut olgularda antiHBcIgM'in oluşmadığı (perinatal bulaş ile infekte yenidoğanlar) veya geç ortaya çıktığı bilinmektedir. Kronik Enfeksiyonun akut alevlenmelerinde tekrar pozitifleşebilir. Kronik HBV enfeksiyonunda anti-HBcIgM 7-8 S formu, akut enfeksiyonda ise 19 S formu dominanttır.

**Anti-HBcIg total (anti-HBcIgM+IgG):** HBsAg'nin hemen arkasından, ALT yükselmesinden hemen önce serumda gösterilebilir. Hastalık süresince ve hatta yaşam boyu devam edebilir. Anti-HBs negatif iken yüksek titredeki anti-HBc pozitifliği enfeksiyonun devam ettiğini gösterir.

**Anti-HBe:** HBeAg'nin kaybolmasından sonra ortaya çıkar. Kimi hastalarda HBeAg ve anti-HBe kısa bir süre birlikte bulunabilir. Anti-HBe nispeten düşük derecede infektivitenin ve hastalığın iyileşeceğinin iyi bir habercisi olabilir.

**C)Karaciğer biyopsisi (histopatoloji):** Kronik hepatitte kesin tanıyı koymak, viral etiolojiyi açığa çıkarmak için yapılan immünohistokimyasal boyama yöntemlerini uygulamak, nekroinflamatuvar aktivite ve fibrozisin derecesini belirlemek, ayırıcı tanıda yer alan patolojileri ekarte etmek ve tedavi sonrasını değerlendirmek için belirlenmiş endikasyonlarda biyopsi yapılmaktadır.

Biyokimyasal ve serolojik olarak hepatit tanısı almış hastalarda immünohistokimyasal boyamalar ile HBsAg ve HBcAg'nin gösterilmesi kesin tanı koydurur. Yapılan bir çalışmada; asemptomatik HBsAg taşıyıcılarına yapılan biyopsilerde %95'inde normal karaciğer histolojisi elde edilirken % 5'inde kronik aktif hepatit/siroz bulguları saptanmıştır (27).

## 2.14- Tedavi

Hastalığın karaciğer transplantasyonu dışında tedavi seçeneğinin bulunmadığı ileri evrelere ulaşmadan hastalığın çocukluk döneminde yakalanıp tedavi edilmesi daha da önem kazanmaktadır (31). Ancak kronik B hepatitinin diğer kronik hepatitlerde olduğu gibi optimal bir tedavisi bulunmamaktadır. Kronik B hepatitinin tedavisinde hedeflenen amaçlar tablo verilmiştir (32).



Tablo 9 :Kronik B hepatitinin tedavisinde hedeflenen amaçlar:

1. Virüsün replikasyonunun durdurulması-virüsün klirensi
2. İnfektivitenin (bulaşma riskinin) azaltılması-önlenmesi
3. Transaminaz (ALT,AST)düzeylerinin normalleşmesi
4. Karaciğerde histolojik düzelleme-iyileşme, nekroinflamatuvar aktivitede azalma, kaybolma
5. Klinik-septomatik düzelleme
6. Komplikasyonların önlenmesi(siroz, HCC) önlenmesi
7. Morbidite ve mortalitenin azaltılması-önlenmesi

Tablo 10 :Kronik B hepatitinde kullanılan tedavi yöntemleri ve ilaçlar:

1. **İnterferonlar:** (  $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )

2. **İnterferon dışı tedaviler:**

**A-Antiviraller: (Nükleozid analogları):** Vidarabin (ARA-A), Asiklovir(ACV), Gansiklovir(DHPG), Zidovudin (AZT), Didanozin(ddI), Zalcitobin(ddC), Penciclovir, Adefovir(PMEA), Lobucavir, Fialuridin(FIAU) Ribavirin, Lamuvidin(3TC,SddC,LAM), Famsiklovir(FAM)

**B-İmmünmodülatörler:** Kortikosteroidler, İL-2, Levamizol, Timozin-  $\alpha$ , GM-CSF, HBV aşılıarı (HBsAg aşılıarı), HBV peptid aşılıarı(HBcAg), adaptif immün transfer, aktive edilmiş T lenfositler, HBIG/monoklonal anti-HBs

**C-Moleküler biyolojik yöntemler:** DNA aşılıarı, antisens oligonükleotidler, ribozimler, dominant negatif mutantlar

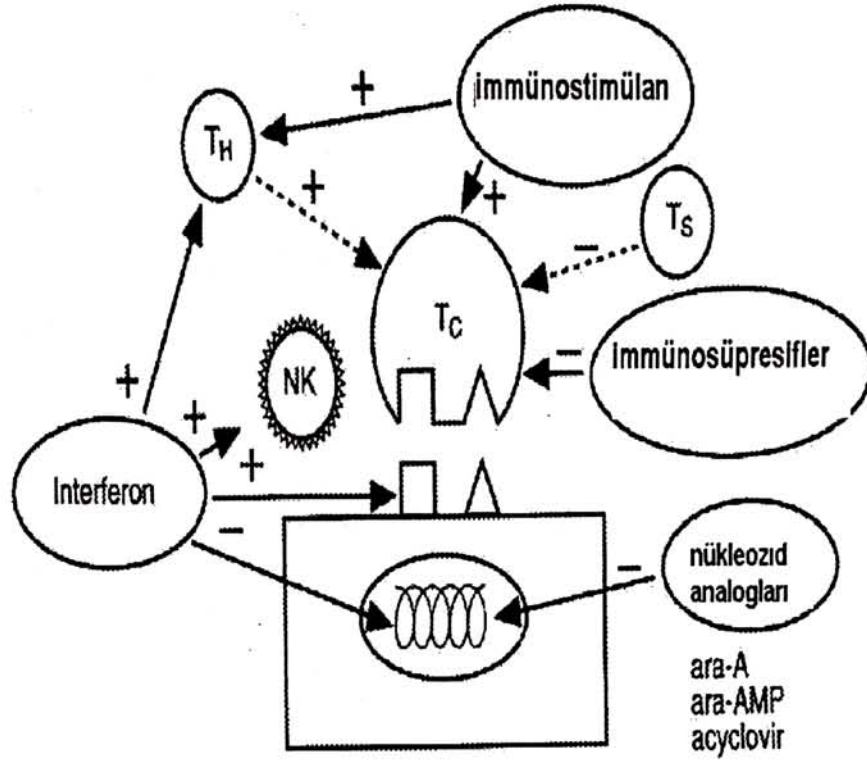
**D-ilaçların karaciğere yönlendirilmesi ile yapılan tedaviler:**

3. **İnterferon ile yapılan kombinasyonlar:** IFN $\alpha$ / $\beta$  + IFN $\gamma$ , IFN $\alpha$  + prednizon, IFN $\alpha$  + levamizol, IFN $\alpha$ + IL2

IFN $\alpha$ + ARA-A, IFN $\alpha$ + ACV, IFN $\alpha$ + GM-CSF, IFN $\alpha$ + UDKA, IFN $\alpha$ +demir azaltıcı yöntemler, IFN $\alpha$ + NSAID(indometazin),

Tablo11 : Antiviral aktivite mekanizmaları

	Self-limited Hepatit	İnterferon	immünostimulan	steroid	nükleozid analogları
Virüs replikasyonu	↓	↓	—	↑	↓
Antiviral immün yanıt	↑	↑	↑	↓	—



Şekil 10 : HBV enfeksiyonu tedavisinde kullanılan ilaçların etki mekanizmaları

### 2.14.1- İnterferon

İnterferonlar (IFN) çeşitli indükleyicilerin varlığına cevap olarak ökaryotik hücrelerce salınan geniş bir biyolojik aktiviteye ve türe özgü birçok etkisi olan son derece potent sitokinlerdir. Başlıca immünomodülator, antiviral ve antiproliferatif etkilere sahiptir (33).

İnterferonların üç tipi bulunmaktadır: 1- IFN- $\alpha$ : Çoğunlukla monositler ve transforme B lenfositler tarafından salınırlar. IFN- $\alpha$ 'nın üç subtipi bulunmaktadır. Rekombinant moleküler teknolojiyle üretilen rekombinant IFN, (rIFN) lenfoblastoid IFN ve lökosit interferon. Bunlardan rIFN, doğal interferonları oldukça iyi taklit etmektedir. 2- IFN  $\beta$ : Fibroblastlardan salınır. Aminoasit dizileri bakımından  $\alpha$  ve  $\beta$  interferonlar birbirine oldukça benzerlik gösterdiklerinden



(%85) aynı reseptöre bağlanırlar ve benzer etkiler gösterirler.  $\alpha$  ve  $\beta$  interferonlar, hücrede oligoadenilat sentetazı aktive ederek, HLA sınıf I antijen ekspresyonunu artırır. Böylelikle sitotoksik T hücre yanıtının etkin hale gelmesini sağlar. Ayrıca natural killer aktivitesini de artırır. 3- IFN  $\gamma$ : T lenfositlerinden salınır. Stabilitesi daha düşük ve diğerlerinden daha toksiktir. İmmünmodülatör etkisi daha belirgin iken antiviral etkisi ise daha azdır (33).

**İnterferonların Etki Mekanizması:** İnterferonların başlıca immünmodülatör, antiviral, antiproliferatif (anti-tümoral) etkileri mevcuttur. Bu etkilerini özgün reseptörler aracılığı ile gerçekleştirirler. Makrofaj, natural killer ve sitotoksik T hücrelerinin aktivitesini artırarak infekte hücrelerin eliminasyonunu sağlar.

**Antiviral etki:** İnterferonlar virüsün hücre içine girişini ve RNA ile protein sentezini inhibe ederler. Hücrelerin virüsle infekte olması, interferon genlerinin aktivasyonu ile ekstrasellüler sıvıya interferonların salınmasına neden olur. Salınan interferonlar, hücre yüzeyindeki özgün reseptörlere tutunur. İnterferon-reseptör kompleksi, bir sinyal ile antiviral genleri aktive ederek, antiviral süreci başlatan enzimlerin aktivasyonunu sağlar. Bunlardan oligoadenilat sentetaz, endonükleazı uyararak viral RNA'nın parçalanmasını, proteinaz ise fosforilasyon ile protein sentezinin azalmasını sağlar. Böylelikle viral enfeksiyon sınırlanır, yayılımı engellenir.

**İmmünmodülatör etki:** İnterferonların hücre sel immünite ve antikor sentezini düzenleme, antijen ekspresyonu ve tanınmasını artırma, natural killer aktivitesini artırma gibi etkileri vardır. Ancak bunlardan en belirgin olanı, hepatosit yüzeyindeki MHC sınıf I antijen ekspresyonunu artırarak, infekte hepatositin sitotoksik T lenfositlerince tanınması ve yok edilmesinin sağlanmasıdır. Genetik ya da edinsel interferon üretim defekti, kronikleşmeden sorumlu mekanizmalar arasında sayılmaktadır. IFN-alfa tedavisinin viral protein inhibisyonu üzerine etkisi ilk 24 saat içinde başlarken 6-8 hafta içinde sitotoksik T lenfositleri aktive olur ve helper/supresör T hücre oranı, enfeksiyonu başarı ile elimine edip serokonversiyon gerçekleştirmiş kişilerdeki düzeye yükselir (19).

**Antiproliferatif etki:** İnterferonlar normal hücrelerde reversibl neoplazik hücrelerde irreversibl sitotoksik etki yapar. Onkojen virüslerin transforme edici etkisini inhibe ederler.

Tedavideki amaçlar ve etkinliği değerlendirmede kullanılan kriterler:

Tedavide asıl amaç, viral replikasyonun supresyonu, viral klirensin sağlanması, karaciğer hastalığında düzelme, komplikasyonların önlenmesi ve yaşam süresinin uzatılmasıdır (34).

1- *Kısa süredeki amaç:* a) Virüs replikasyonunun supresyonu. (HBV DNA'nın kaybı, HBeAg'nin kaybı ve/veya anti-HBe'nin oluşması. b) Karaciğerde düzelme (ALT'nin normalleşmesi)

2- *Orta süredeki amaç:* a) Karaciğer histolojisinde düzelme (nekroinflamatuvar aktivitede azalma) b) HBV'nin eradikasyonu (serum ve karaciğerde HBV DNA'nın kaybı, HBsAg kaybı ve/veya anti-HBs'nin oluşması)

3- *Uzun sürede amaç:* Siroz ve HCC gelişiminin önlenmesi.

**Interferonun kullanma zamanı:** Daha önce de belirtildiği gibi HBV enfeksiyonunun iki dönem (replikatif ve integrasyon) ve dört fazı (immüntoleran, immünaktivan, immüneliminasyon ve iyileşme) bulunmaktadır. Interferon tedavisine başlamak için en iyi zaman karaciğerde belirgin inflamatuvar yanıtın eşlik ettiği, transaminazların yüksek seyrettiği immünaktivan fazdır (Evrell). Amaç faz II'den fazIII'e geçişi önlemektir. Faz I, III ve IV'de tedavi genellikle gereksizdir (12).

**Cevabı etkileyen faktörler ve tedaviye alma kriterleri:** Interferon tedavisinin uzun süreli kullanılması, pahalı oluşu, ciddi yan etkilerinin olması nedeni ile tedavi öncesi titiz bir değerlendirme yapılmalıdır (12,35,36,37,38). Transaminaz değerleri normalin 1,5-2 katı yüksek seyreden, replikatif göstergeleri (HBV DNA ve HBeAg) pozitif olan, kompanze kronik hepatit B enfeksiyonu tanısı almış hastalar için interferon tedavisi uygulanabilir (Tablo12). Tedaviye en iyi cevap veren hastalar, yüksek ALT, ( >100IU/ml) düşük HBV DNA düzeyine (<200 pg/ml) düzeyine sahip, karaciğer biyopsisinde orta veya şiddetli inflamatuvar aktivite gösteren (HAİ 8'den büyük), ve immün yanıtı bozan herhangi bir hastalığı olmayan hastalardır. Bu hastalara tedavi indikasyonu açısından klasik/tipik vakalardır. Genel olarak ALT düzeyi >150 IU/ml olan hastaların tedaviye yanıt şansı %50; <100IU/ml olanların ise %20 'dir.



Tablo 12: IFN $\alpha$  için indikasyon kriterleri:

- 1- Klinik olarak kronik hepatit B tanısı olmalı  
HBsAg(+) > 6 ay  
ALT yüksek >1,5-2xNÜS\*  
Kompanze karaciğer hastalığı
- 2- Replikasyon göstergeleri olmalı  
HBV DNA pozitif (kantitatif yöntemlerle)  
HBeAg (+)  
anti-HBe (+)- "precore mutant"
- 3- Histolojik tanı-karaciğer biyopsisi  
aktif siroz(sirozik evrede kronik hepatit)  
kronik hepatit (aktivite, evre)

- NÜS: normalin üst sınırı

Tablo 13 :IFN-alfa tedavisine yanıtı etkileyen faktörler:

FAKTÖRLER	OLUMLU	OLUMSUZ
<b><u>Konakçıya bağlı faktörler</u></b>		
Serum ALT düzeyi	NÜS'nin $\leq 1,5$ katı yüksek	Normal/hafif yüksek(<1,5 katı)
HBV DNA düzeyi	<100 pg/ml	>100 pg/ml
Cinsiyet	kadın	Erkek
Hastalık süresi/siroz gelişimi	Kısa/siroz yok	Uzun/sirozik evre
Histolojik aktivite (nekroinflamatuar aktivite)	Orta/Ağır	Hafif
Fibrozis	Hafif(evre 1-2)	Belirgin(evre 3-4)
Anti-HBcIgM	Pozitif	Negatif
Tedavi sırasında ALT piki	(+)	(-)
Eşlik eden hastalık	Yok	Var
İrk	?	Uzakdoğulular
Bulaşma yolu	Horizontal	Vertikal
Enfeksiyonun baş. yaşı	Erişkin	Yenidoğan ve erken çocukluk
Enfeksiyonun fazı	İmmünaktifan faz (II)	Faz I, III, IV
Akut hepatit öyküsü	(+)	(-)
İmmün sistem	Normal	Baskılanmış
<b><u>Virüse ait faktörler</u></b>		
Mutant virüslerin varlığı	(-)	(+)
Diğer virüs enfeksiyonları	(-)	(+)
<b><u>İlaça bağlı faktörler</u></b>		
İlacın dozu	Yüksek	Düşük
Süresi	Uzun (> 4 ay)	Kısa (< 3 ay)
Diğer ilaçlarla kombinasyon	Değişken	Değişken
İlacın fiyatı	Ucuz	Pahalı

**Doz ve süresi:** Vakaların değişken klinik tablolarına göre çeşitli tedavi şemaları bulunmakla beraber, tipik/ klasik vakalarda en çok denenen ve tercih edilen uygulama, 4-6 ay süreyle 4,5-5MU/gün veya 9-10 MU/gün/ haftada 3 kez (kullanım kolaylığı ve daha az toksik olması nedeniyle) çocuklara önerilen doz ise 5-10 MU/m<sup>2</sup>/haftada 3 kez S.C./ 6 ay süre ile şeklindedir (12,35).

Yapılan araştırmalar, çocukların yüksek doz (10MU/m<sup>2</sup>/gün) uygulamasını erişkinlere göre sanılanın aksine daha iyi tolere ettiklerini göstermiştir.

Yan etkiler: Tablo 14'da tüm yan etkiler verilmiştir (39).

Tablo 14 : İnterferon alfa tedavisinin yan etkileri:

---

*Sistemik* : Halsizlik, kas ağrısı, sırt ağrısı, ateş, anoreksi, kilo kaybı, bulantı, kusma, ishal

*Nörolojik* : Uyku düzensizliği, konsantrasyon bozulması,dezoryantasyon, deliryum, konvülsiyon, koma

*Psikolojik*: Anksiyete,irritabilite, depresyon, paranoid veya suisid düşünceler, sosyal izolasyon

*Hematolojik*: Lökopeni, trombositopeni, anemi

*Enfeksiyonlar*: Bakteriyel enfeksiyonlar, sepsis, spontan bakteriyel peritonit

*Otoimmün*: Otoantikör oluşumu(%50) anti-İnterferon antikörler, tiroitid

*Renal* : Proteinüri,interstisyel nefrit, nefrotik sendrom

*Kardiyak*: Aritmiler, konjestif kalp yetmezlik

---

**Tedaviye Cevabın Değerlendirilmesi Ve Cevap Paternleri:** Tedavinin etkinliği ve yan etkiler, klinik ve laboratuvar olarak değerlendirilir. HBeAg titrelerinin takibi, HBV DNA düzeylerini izlemekten daha değerlidir. Tedaviden kısa dönemde beklenen ilk hedef, HBeAg'nin serokonversiyonudur. Kalıcı cevap kriteri olarak HBeAg serokonversiyonu, HBV DNA'dan daha değerlidir (35).

İnterferonun etkisi pratikte HBV DNA konsantrasyonlarında azalma/kaybolma ve HBeAg'nin serokonversiyonu ile anlaşılır. Tedavi sonrasında transaminazların normale gelmesi, karaciğer histolojisinde düzelme İnterferona olumlu cevabı gösterir. HBsAg serokonversiyonu, en ideal cevaptır.

**Geçici ALT piki**, spontan remisyona giren ve tedaviye cevap veren hastaların %30-70'inde HBeAg/antiHBe serokonversiyonu sırasında klasik olumlu cevap paterni olarak kabul edilir (12). Tedavinin genellikle 8-12'inci



haftalarında görülen ve normalin 10 katına kadar yükselebilen ALT piki genellikle tedaviye cevabın başladığını gösteren çok iyi bir indikatördür.

Bu olay sırasında antiHBcIgM pozitifleşebilir. ALT daha sonra normal değerlere geriler. Bunu serum HBV DNA ve HBeAg düzeylerinde azalma izler. Bu durum, endojen veya ekzojen IFN etkisiyle artan sitotoksik T hücre yanıtına sekonder gelişen infekte hücrelerin harabiyeti ile açıklanmaktadır. Bu nedenle iyi bir prognostik işarettir. ALT pikinin görülmemesi yanıt alınamayacağını göstermez. ALT alevlenmesi sırasında fazladan bir semptom görülmez.

Tedaviye üç tür yanıt görülür: **Geçici yanıtta** HBV DNA ve HBeAg düzeylerinde hafif bir azalma görülürken, ALT düzeylerinde pek bir değişme olmaz. Serumda HBV DNA ve HBeAg'nin kaybına "**kısmi yanıt**" denir. HBsAg'nin ve PCR ile HBV DNA negatif bulunursa "**tam yanıt**"tan söz edilir. Bu bulguların (HBsAg ve HBV DNA kaybı ile transaminazların normalleşmesi) altı aydan daha fazla sürerse, "**kalıcı yanıt**"tan söz edilir.

#### **Tedaviye cevapsızlık nedenleri:**

- 1- **Konakçıya bağlı nedenler:** Hastalığın immüntoleran dönemde olması, hastalık süresinin uzun olması, hastalığın çocukluk döneminde olması, hastalığın ileri evrede olması, immün defekt bulunması, erkek cinsiyet
- 2- **Virüse bağlı nedenler:** Mutant virüsler, diğer virüs enfeksiyonları
- 3- **İlacı bağlı nedenler:** İnterferon antikörlerinin gelişimi, ciddi yan etkilerin ortaya çıkışı, ilacın pahalı oluşu.

### **2.14.1- İnterferon Dışı Tedavi Yöntemleri**

- A- Antiviral kemoterapi (özellikle nükleozid analogları)
- B- İmmünmodülatörler
- C- Moleküler biyolojik yöntemler
- D- İlaçların karaciğere yönlendirilmesi ile yapılan tedaviler

#### **2.14.2.1-Antiviral kemoterapi (nükleozid analogları):**

Bu ajanlar HBV'nun "revers transkriptaz" enzimini inhibe ederek antiviral etki gösterirler. Bunlardan en çok kullanılanı lamuvidin ve famciclovir'dir. Birinci kuşak nükleozid analogları arasındaki acyclovir, ganciclovir, ribavirin, vidarabin,

didenosine, zalcitabine, zidovidine vs. gibi ilaçlar, viral replikasyonu baskılamada yetersizlik ve/veya ciddi toksisite nedeniyle kullanılmamaktadır.

**Lamivudin (LAM):** Sitozin analogudur. Üzerinde en çok çalışılan ve en az toksisiteye sahip nükleozid analogudur. Revers transkriptaz inhibitörüdür. HBV'nun prereplikatif formu olan covalently closed circular (ccc) HBV DNA üzerine etkisi bulunmadığından karaciğerdeki viral genom varlığı devam etmektedir. Bu nedenle uzun süreli kullanımı (2-5 yıl) gerekmektedir. Diğer handikap ise ilacın kesilmesinin ardından viral replikasyonun kaldığı yerden devam etmesidir. Altı aylık kullanımı sonrasında HBV DNA titrelerini çok yüksek seviyelerden tespit edilemeyecek düzeylere indirdiği gösterilmiştir (40,41).

İlacın uzun süreli kullanımını, bir yandan ilaca rezistan HBV mutantlarının ortaya çıkmasına, diğer yandan pankreatit, periferik nöropati ve karaciğer yetmezliği gibi ciddi komplikasyonların ortaya çıkmasına neden olabilir.

Lamivudin, interferona yanıt alınamayan hastalarda tek veya kombine şeklinde kullanımı denenebilir. Diğer bir kullanım alanı transplantasyon öncesi HBV DNA'ı negatif hale getirilmeleri ve transplantasyon sonrası, profilaksidir.

**Famciclovir (FAM):** Asiklik guanin türevidir. Penciclovirin oral kullanılabilen bir öncüsüdür. Bir yandan RNA ve DNA'a bağımlı HBV DNA polimerazın katalize ettiği nükleotid zincirin uzamasını bloke ederken, diğer yandan HBV DNA'nın içine girerek stabil olmayan DNA molekülünün oluşumuna neden olur. Bu özelliği dolayısıyla LAM'ın etkili olamadığı, ccc DNA üretimini de azalttığı iddia edilmektedir. FAM, tedavisi altında ilaca rezistan mutantların gelişmesi, ilacın kesilmesi ile replikasyonun tekrar ortaya çıkması gibi olumsuz özellikleri kullanımını sınırlamaktadır. Famciclovir, lamivudin gibi interferondan yarar göremeyen hastalarda kullanılabilir (42).

Diğer nükleozid analogları, viral replikasyonu önlemede yetersiz kaldıkları ve/veya toksisitelerinin fazla olması nedeni ile kullanılmamaktadırlar.

#### **2.14.2.2-İmmünomodulatör ilaçlar:**

**Kortikosteroidler:** Kronik hepatit tedavisinde eskiden beri kullanılan kortikosteroidler, viral replikasyon ve persistansı artırıcı etkilerinin anlaşılması üzerine terkedilmişlerdir. Günümüzde ise ALT düzeyi düşük hastalarda interferona cevabı artırmak için tedavi öncesi kullanan (prednisone priming)



bazı merkezler bulunmakla beraber tedaviye ek bir katkı sağlayıp sağlamadığı tartışmalıdır. Çocuklarda, ek bir katkı sağlamadığı bildirilmektedir (42).

**Timozin:** Thymozin alfa-1, (TA1) timustan doğal olarak salınan ve T lenfosit olgunlaşmasında rolü olan immünmodülatör bir maddedir. Antiviral etkisi de bulunmaktadır. TA1'in T hücre proliferasyonunu artırıcı, T helper aktivasyonu, aktive T lenfositlerden interferon gamma salınımı, IL-2 reseptör sentezinin artırılması, kemik iliği ana hücre proliferasyonu T hücre apoptozunu önlemesi gibi etkileri bulunmaktadır. Timozin, interferona yanıtız hastalarda, interferonun yan etkileri nedeni ile tedavi alamayanlarda dekompanze sirozlularda ve delta hepatitilerde kullanılabileceği belirtilmektedir (42).

### **HBV aşıları:**

Son yıllarda kronik B hepatiti tedavisinde tek başına veya interferon ile beraber oldukça popüler bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Kronik HBV Enfeksiyonunun tedavisinde kullanılmaya başlanan ve HBsAg içeren aşı tedavisinin, HBV'deki immüntoleransı aşmada başarılı olabileceğine dair kanıtlar vardır: Birincisi; aşılanmanın yalnızca HBV değil, diğer bakteriyel ve viral enfeksiyonların tedavisinde de yarar sağlamasıdır (43,44,45). Aşı tedavisinin, tüberküloz, lepra gibi bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılması HIV eradikasyonu için kullanılmasına ön ayak olmuştur.

Herpes simpleks virüsü hastalıklarının doğal seyrini modifiye edebilen rekombinant HS glikoprotein D aşıları ile postenfeksiyöz aşılanmanın genital herpes sıklığını, süresini, şiddetini ve insidansını azalttığı gösterilmiştir (43).

Rekombinant glikoprotein D aşıları ile yapılan bir başka çalışmada genital herpes sıklık, şiddet ve rekürrens üzerine olumlu etkilerinin yanında HSV spesifik antikor üretiminin kontrol grupuna göre dört kez daha fazla olduğu gösterilmiştir (44).

Atenu nonpatojenik bir virüs olan Bursal Diseas Virüsü (MTH-68/B) ile yapılan aşılanma ile kronik hepatit B tedavisinde klasik tedaviye oranla daha az relaps, daha uzun remisyon görüldü (45).

İkincisi; HBsAg taşıyıcılarının lenfositlerinin, in vitro ortamda anti-HBs oluşturabilme özellikleridir. Yapılan bir çalışmada HBsAg ile indüklenen HBV taşıyıcısı hasta lenfositlerinin, anti-HBs oluşturdukları gösterilmiştir (46).

Üçüncüsü ve en önemlisi ise gerek hayvanlar, gerekse insanlar üzerinde yapılan çok sayıdaki çalışmalarda aşı tedavisi ile HBsAg ve HBV DNA titrelerinde azalma/ kaybolma ve hatta anti-HBs oluşumunun ortaya çıktığı gösterilmiştir (47,48).

Pol ve arkadaşlarının yaptıkları pilot çalışmada HBV DNA'sı pozitif kronik B hepatitli hastalara birer ay ara ile profilaktik dozlarda 3 doz HBsAg aşısı uygulanmış altı ay sonra hastaların %44'ünde HBV DNA'nın kaybolduğu veya azaldığı gösterilmiştir (48). Aşı ardından interferon uygulanması ile önceden cevap vermeyen hastaların bir kısmında olumlu yanıt alınmıştır. İnsanlar üzerinde yapılan ilk kontrollü çalışmada vaksinoterapinin, HBV replikasyonunu baskılamadaki olumlu etkisi kanıtlanmıştır (49).

Kronik B hepatinin tedavisinde aşı tedavisinin etki mekanizması, yapılmış ve halen yapılmakta olan çalışmalarla ortaya çıkarılmaya çalışılmaktadır(26,50).

Aşılama ile büyük bir olasılıkla T ve otoreaktif B lenfositleri HBsAg'e karşı uyarılarak anti-HBs yapımı sağlanmaktadır. Aşının ayrıca IL-2 ve interferon gamma'yı uyararak HBV gen ekspresyonunu posttranskripsiyonel bir mekanizma ile azalttığı bildirilmektedir. Ayrıca nonsitolitik bir klirens mekanizması ile antiviral etki de gösterdiği iddia edilmektedir (47).

Transgenik fare deneylerinde aşılama ile immüntoleransın yıkıldığı tespit edilmiştir. İçinde potent bir adjuvan bulunan HBsAg aşısı uygulaması ile daha iyi bir antijen prezentasyonu ve IL-2 prodüksiyonu sağlanır. IL-2, viral transkripsiyonun intrastoplazmik yıkımını artırarak HBV gen ekspresyonunda azalmaya sebep olur (47). Chisari, transgenik farelerde, aşılama sonucu salgılanması artan IL-2, IFN $\gamma$  ve TNF gibi sitokinlerin, hücre ölümü olmaksızın, nonsitolitik intrasellüler inaktivasyon mekanizması ile viral replikasyonu kontrol altına aldığını öngörmektedir. IL-2'nin, tekrarlayan aşılama ile daha iyi bir antijen prezentasyonu yanında antiviral etki göstererek immünmodülatör özellik ile terapotik bir etki potansiyeli taşımaktadır. Bu potansiyel aşı uygulamasından belli bir zaman sonra (yaklaşık yedi ay) ortaya çıkmaktadır. Hepatosellüler hasar oluşturmaksızın düşük fakat anlamlı düzeyde anti-HBs oluşturabildikleri gözlenmiştir (47).

Tekrarlanan aşılama, konağın virüse karşı immün yanıtı artırdığı, antijen spesifik T lenfositlerin giderek artan stimülasyonuna neden olmaktadır(50).



Artan IFN $\gamma$ 'nın APC yüzeyinde MHC sınıf II(la) antijenlerinin düzeyini artırarak CD4 T lenfositleri aktive eder. Böylelikle HBV DNA düzeyinde azalmaya neden olmaktadır (49).

Tedavi süresince tıpkı interferon tedavisinde olduğu gibi, HBsAg tarafından indüklenen spesifik T lenfositlerince tahrip edilen infekte hepatositlerden salınmaları, transaminaz düzeylerinde alevlenmeler görülmesine yol açabilir (51).

Vaksinoterapinin, IFN $\alpha$  ya da timozin gibi akut hepatite benzer bir tablo oluşturarak, HBV'nun "immün-mediated" klirensini sağladığı ileri sürülmektedir(51).

HBsAg aşılara cevapsızlık nedenleri arasında APC'lerin antijen sunum defekti, T helper aktivasyonundaki defekt, HBsAg'e karşı TH2 cevap eksikliği, HLADRW14 ve HLADRW52 genotip dominansı, sadece HBsAg'e değil tüm antijenlere karşı T lenfosit cevap eksikliği, HBV'nün HBsAg'e karşı mutasyon geliştirmesi, HBsAg karşı immüntolerans gelişmesi gibi nedenler sayılabilir (52).

HBsAg aşılarının monoklonal anti-HBs antikorları ile bir kompleks halinde birlikte uygulanmasının, hem humoral hem de hücrel immün yanıtın potent bir indükleyicisi olduğu belirtilmektedir (53,54). Bu uygulamanın, antijen prezentasyonunun şeklini değiştirerek, hücre içine alınmasını artırıp, işlenmesini etkinleştirmek suretiyle viral klirens katkı sağladığı belirtilmektedir. Ayrıca aşı-immünglobulin kompleksinin monokinleri indükleyerek T hücre cevabını stimüle eder.

HBsAg aşılarının kronik B hepatitinde etkili olduğunun anlaşılması üzerine, HBV'nün çok immünojenik olduğu bilinen HBcAg ve HBV DNA antijenik determinantları baz alınarak yeni HBV aşıları geliştirilmiştir (25,26,55). Bunlardan HBV DNA aşılarının, HBsAg aşılardan pek bir farkı bulunmamakla birlikte daha fazla IL-2 sentezleyerek immün yanıtı 100 kez daha fazla uyardığı gösterilmiştir (56). DNA aşıları, endojen viral antijenlerin sentezini sağlamaktadır. Kronik viral hepatitlerde sitotoksik T lenfositlerine yeterli miktarda antijen sunulmadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Aşırı miktardaki antijenin endojen olarak sentezlenip CD8+ T hücrelerine sunulması bu hücreleri uyarabilmektedir.

HBcAg, sitotoksik T hücreleri için oldukça immünojeniktir. Doğrudan sitotoksik T lenfositleri aktive etmek için toplumda en sık bulunan HLA sınıf I

antijenleri ile bağlanma özelliğinde olan HBcAg epitoplarını universal T helper aktive edici peptidlerle birleştirilerek elde edilen aşılarda (HBcAg aşısı) yapılan transgenik hayvanlarla yapılan çalışmalarda oldukça iyi sonuçlar alınmıştır (25).

Vaksinoterapinin mekanizmasını açıklamaya yönelik yapılan bir çalışmada ise aşı ile indüklenmiş proliferatif (T helper) cevap geliştiren hastaların büyük bir çoğunluğunda HBV eliminasyonun tam ya da tama yakın olarak geliştiği gösterilmiştir. Bu bulgu, kronik B hepatitinde aşı tedavisi ile elde edilen HBV eliminasyon mekanizmalarından birinin, T helper hücre aktivasyonunun indüklenmiş olmasıdır (57).

Kronik B hepatitli hastaların serum ve salgılarında bol miktarda HBsAg dolaşırken, dışarıdan verilen az miktardaki HBsAg'nin olumlu etkisinin etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Ancak farklı yollarla verilen antijenin, farklı yollarla immün hücrelere prezente edileceği ve sitotoksik T hücreleri uyurabileceği belirtilmektedir. Nitekim aşı uygulamasına olumlu yanıt veren transgenik farelerin peritoneal dendritik hücrelerinin antijen prezente etme kabiliyetinin daha iyi olduğu anlaşılmıştır (58).

Aşı uygulamasının ardından cevap vermeyen olgularda interferon uygulanması ile antiviral etkinliğin daha da artmış olduğu belirtilmektedir ( 59).

### **Levamisol:**

Fenilimidotiazol türevi sentetik bir ilaçtır. Antihelmintik olarak nematodlara karşı uzun yıllardan beri kullanılan levamisolun, 1972 yılında immünstimülan etkisinin anlaşılması üzerine birçok hastalıkta kullanılmaya başlanmıştır (60). Kolon ve mesane karsinomları başta olmak üzere birçok neoplastik hastalıkta, kronik/tekrarlayan viral enfeksiyonlarda, aftöz stomatitte, bakteriyel enfeksiyonlarda (tuberküloz, lepra) HIV enfeksiyonlarında, steroide bağımlı sık tekrarlayan nefrotik sendromda uzun yıllar denenmiş nonspesifik immünstimülan bir ajandır (61,62,63).

Levamisol, PNL, makrofaj ve T lenfositlerini direkt olarak stimüle eder, onların salgılarını, kemotaksisini, ve/veya proliferasyonunu, artırır. Hücrel immünite üzerinde humoral immüniteye oranla daha fazla etkindir. Bunun nedeni T hücrelerini B hücrelerine göre daha fazla stimüle etmesidir.



İmmünstimülan etkisi immünpotansiyalizasyon şeklindedir (60). (İmmün reaksiyonu hızlandırması, güçlendirmesi veya amplifikasyonu.) İmmünstimülan etkisi, antijen gibi primer bir stimülus eşliğinde olduğunda daha belirgindir. Bu etkisi için, immün sistemin normal veya subnormal ise fazla deprese olmaması gerekmektedir.

HBV persistansından bozulmuş hücresel immünite sorumlu tutulduğundan, hücresel immüniteyi artıran tedavi yaklaşımları tedavinin esasını oluşturmalıdır. Levamizol T lenfosit ve makrofajların majör fonksiyonlarını onarır. Virüsle infekte hepatositlere sitotoksik T lenfositlerinin direkt saldırısını aktive ederek, onların tahrip edilmek suretiyle ortadan kaldırılmalarını sağlarlar (64). Tedavi sırasında görülen transaminaz, HBsAg ve HBV DNA düzeylerindeki yükselme, infekte hücrelerin destrüksiyonu ile bunların dolaşıma salınması nedeniyle olmaktadır (65).

Levamizol bir yandan makrofajları ve PNL'i aktive edip onların kemotaksis ve fagositik aktivitelerini artırırken diğer yandan IL-2, IFN $\gamma$  gibi antiviral yeteneğe sahip lenfokinlerin sentez ve salınımını artırır (62).

Levamizol, bazen supresör T lenfositlerini diğer lenfosit alt gruplarına göre daha fazla uyararak paradoksik olarak immündefresyon yapabilir (60).

Uzun süreli kullanımının HBV replikasyonunun supresyonu ve aminotransferaz aktivitesinin normalleşmesi üzerine etkili olduğu, HBeAg serokonversiyonu sağladığı böylelikle kronik hepatit B enfeksiyonunda faydalı olduğu belirtilmektedir (66,67). Ayrıca akut hepatitte enzimlerin normalizasyonunu hızlandırdığı semptomların daha hafif geçirilmesini sağladığı gösterilmiştir (68). Levamizol ile interferonun tek ya da birlikte yapılan çalışmalarında levamizolün ek bir katkı sağlamadığı hatta birlikte yapılan çalışmalarda daha kötü ve daha fazla yan etkilerin ortaya çıktığı belirtilmektedir. Tüm bu bilgilere karşın Levamizolün etkisiz olduğunu bildiren yayınlarda vardır (64,69).

Levamizol genellikle iyi tolere edilir. Ancak hayatı tehdit edici ciddi yan etkileri de vardır. Başlıca yan etkileri; bulantı, kusma, ağızda metalik tat, ciltte döküntü, lökopeni, agranülositoz, proteinüri, immün kompleks nefriti, kramp şeklindeki karın ağrıları ve baş ağrıları (60).

**IL-2:** Lenfositlerin aktivasyonunda birinci derecede rol oynadığı halde kronik B hepatitinde beklenen fayda sağlanamamıştır (42).

**Adoptif İmmün Transfer:** Yapılan bazı çalışmalarda HBV 'ye karşı aktif immünize olmuş kişilerden kronik B hepatitli hastalara yapılan kemik iliği veya spesifik T lenfosit transferi ile tam klirens sağlandığı gösterilmiştir (70,71).

**Koloni Stimülan Faktör (CSF):** Hemotopoetik hücrelerin yansıra immün yanıtı da stimüle ederler. Kronik B hepatitli bazı hastalarda HBV DNA negatifleşmesi ve HBeAg serokonversiyonu üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir. Bugün için GM-CSF'lerin lökopeni gelişmiş hastaların interferonu daha iyi tolere edebilmeleri için ve standart aşılama cevap alınamamış hastalarda aşının etkinliğini artırmak için kullanılmaktadır (72).

#### **2.14.2.3-Moleküler biyolojik yöntemler:**

**DNA aşıları:** Antisens oligonükleotidler (AOS):Hedef RNA'nın bir kısmı ile baz eşleşmesi yaparak ribozoma girmesini veya zincirin uzamasını engeller. Böylelikle translasyonu engelleyerek viral replikasyonu inhibe ederler. Hücre kültür ortamlarında yapılan çalışmalar olumludur. Ancak henüz klinik çalışmalar bulunmamaktadır (56).

**Ribozimler:** Enzim özelliği gösteren RNA molekülleridir ve spesifik olarak birleşebildikleri RNA dizilerinin parçalanmasına neden olurlar.

**Üçlü sarmal oluşturulması:** DNA tamamlayıcısı olan nükleotid dizileri ortama konulduğunda transkripsiyon sırasında açılan DNA zinciri ile bağlanmakta ve komplementer DNA ile birlikte üçlü sarmal meydana gelmekte bu da transkripsiyonu engellemektedir.

**Dominant negatif mutantlar:** Viral yapısal veya yapısal olmayan proteinlerin fonksiyon görmeyen benzerlerinin hücre içinde sentez ettirilmeleri ile elde edilirler. Bu yapılar viral replikasyonu inhibe ederler.

#### **2.14.2.4-ilaçların karaciğere hedeflenmesi ile yapılan tedaviler:**

Kronik B hepatitinde kullanılan her türlü ilacın daha yoğun bir şekilde hepatositlere yönlendirilmesini amaçlamaktadır. Bunun için çeşitli vektörler kullanılmaktadır. Örneğin fazlasıyla nörotoksik olan Ara-A, lactazominated human serum albumin (L-HSA) ile birleştirilerek verildiğinde çok düşük dozlarda da etki göstermektedir.



## 2.15- Korunma

Hepatit B virüsünün toplumdaki yaygınlığını önlemede iki konu büyük önem taşımaktadır bunlardan biri genel önlemler olup, riskli grupların, özellikle de sağlık çalışanlarının bulaşa yol açabilecek riskli temaslardan kaçınmalarını içerir. Diğeri ise immünprofilaksidir.

### 2.15.1- Genel önlemler:

Özellikle risk grupları olmak üzere, halk kitleleri bilinçlendirilmelidir. HBV taşıyıcılarının vücut sıvı ve sekresyonlarının bütünlüğü bozulmuş cilt ve mukoza ile temas önlenmelidir. Donor kanları, HBsAg açısından titizlikle taranmalıdır. Taşıyıcıların kullandığı tıraş bıçağı, bardak, diş fırçası, enjektörler, akupunktur aletleri gibi araçların, diğer kişilerce kullanılmaları önlenmelidir.

### 2.16.2- İmmünprofilaksi:

a) Pasif bağışıklama: Bunun için hiperimmün serum globulini (HBIG) veya standart immün globulin (IG) kullanılmaktadır. Anti-HBs titresini HBIG'da 1/100000 civarında, IG'de ise 1/16-1000 arasındadır. Karşılaşma öncesi korunma (preexposure prophylaxis) amacıyla uygulanan HBIG ve IG ile yeterli korunma sağlanabilmektedir. HBIG, IG'den üstün bulunmamıştır (73). Günümüzde yaygın ve etkili aşı olanağı bulunması sebebiyle bu endikasyonda profilaksi aşırıya cevap oluşturamayan kişilerle sınırlıdır. Karşılaşma sonrası profilaksi (postexposure prophylaxis) amacıyla uygulanan HBIG ve IG'nin karşılaştırıldığı çalışmalar, her ikisi ile de benzer koruma sağladığını bildirmektedir (74). Ancak bu endikasyonda HBIG tercih edilmelidir. HBIG uygulanan hastaya hemen ya da azami bir hafta içinde aşı da uygulanmalıdır. HBIG için önerilen doz, 0,07ml/kg'dır.

b) Aktif bağışıklama: HBV aşısı dünyadaki ilk hepatit aşısı ve ilk rekombinan aşısıdır. 1986 yılında rekombinan aşılarda lisans alınca kadar plazma kökenli aşılarda kullanılmıştır. "Baker yeast" mantarı genetik olarak değiştirilerek HBsAg sentezlenmektedir. Saccharomyces cerevisiae içine HBsAg içeren bir plazmid eklenerek HBsAg sentez ettirilir. Maya hücrelerinin lizisinden sonra

biyokimyasal ve biyofiziksel yöntemlerle HBsAg maya komponentlerinden ayrılır ve pürifiye HBsAg elde edilir. Rekombinan HBsAg aşısı en güvenilir aşılardan biridir. Yan etkiler çok nadirdir ve çoğunlukla da lokaldir (75).

Aşı uygulaması: Üç doz aşı sonrası çocukların %90-95'inde koruyucu antikor düzeyi sağlanır (>10mIU). Aşılananların %13-60'ında 10 yıl sonra antiHBs düzeyleri saptanabilir seviyelerin altına iner.

Rutin temas öncesi immünizasyon, tüm yenidoğanlara doğumda veya doğumdan hemen sonra( ilk iki ay içinde), daha önceden aşılanmamış 11-12 yaşına kadar olan tüm çocuklara, daha ileri yaşlarda ise tüm risk gruplarına uygulanmalıdır. Aşı uygulaması 0,-1,-6. aylarda olmak üzere toplam üç doz ya da 0,-1,-2,-12, aylarda olmak üzere toplam dört doz şeklinde uygulanabilir. İmmünizasyonun hızlı sağlanmasının istendiği durumlarda ikinci seçenek tercih edilir. Aşılama öncesi serolojik testler yüksek gruplar dışında önerilmemektedir. Ancak HBV taşıyıcılığının % 2'den çok olduğu gruplarda anti-HBs bakılması gereksiz aşılama ortadan kaldıracaktır. Aşılama sonrası serolojik test ise yüksek risk grupları dışında önerilmemektedir (75).

HBsAg pozitif anneden doğan bebeklere uygun dozlarda hepatit B aşısı ve HBIG doğumdan sonraki en kısa sürede uygulanmalıdır. Bu uygulama ile HBV Enfeksiyonu %85-95 oranında önlenabilmektedir. Sadece HBIG ve sadece aşı uygulamaları ile de %70-90 oranlarında bağışıklama sağlanabildiği belirtilmektedir. HBsAg durumu bilinmeyen annelerin bebeklerine hepatit B aşısı hemen uygulanmalı, annenin HBsAg bakımından pozitif bulunması durumunda ise HBIG uygulanmalıdır.



## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 1992-1998 yılları arasında, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından kronik HBV enfeksiyonu tanısı ile izlenen 58'i erkek (%62), 35'i kız (%38) 93 hasta levamizol ve HBsAg aşısına immün yanıtları yönünden prospektif olarak izlendi. Hastaların yaşları 1 ile 18 arasında değişmekte olup ortalaması  $10.4 \pm 4,38$ 'dir. Hastalar, ortalama  $1.4 \pm 1.02$  yıl süre ile izlendi. Hastalara kronik HBV enfeksiyonu tanısı klinik, serolojik, histopatolojik ve biyokimyasal incelemelerle konuldu. Serolojik, biyokimyasal ve klinik olarak kronik aktif olduğu öngörülen 52 hastadan 22'ine karaciğer biyopsisi uygulandı. Histopatolojik değerlendirmeler modifiye Knodell skorlaması ile yapıldı. Araştırma protokolüne, en az altı aydır HBsAg taşıyıcısı olan çocuk hastalar arasında; klinik, serolojik, biyokimyasal ve histopatolojik veriler açısından kronik aktif hepatit olduğu tespit edilen 52 (%56), kronik persistan hepatit tanısı konulan 41 (%44) hasta alındı. Çalışmaya alınan hastaların anti-HCV, anti-Delta, anti-HAV IgM testleri negatif idi.

Tüm hastalarda levamizol ve/veya HBsAg aşısı uygulamaları öncesinde ve uygulama başlangıcından üç ay sonra HBV marker'leri, serum ALT, lenfosit subgrupları, immünglobulin G,A,M ve C3,C4 düzeyleri tespit edildi. Tüm hastalarda incelemelerin yapıldığı sırada başka bir akut veya kronik enfeksiyon bulunmuyordu. Öyküden hastaların hiçbirisinin önceden antiviral ya da immünmodölatör etkili bir ilaç kullanmadığı öğrenildi.

Hastalar, yaş, cinsiyet, hastalık süresi, bulaş yolu, serum ALT düzeyi, HBeAg pozitifliği, HBV DNA düzeyi, ebeveyn pozitiflikleri gibi demografik profil yönünden mümkün olabildiğince birbirine benzeyen üç gruba ayrıldı (Tablo 15). Hastalar randomize yolla seçildi. Birinci gruba (L; n=32) levamizol (Ketrax®) 2.5 mg/kg/gün haftada 3 kez oral yolla 3 ay süre ile uygulandı. İkinci gruba (A; n=28) HBsAg aşısı (Gen Hevac B®) birer ay ara ile; 20, 30, 40 µg dozlarında deltoid kasa İ.M. yolla toplam 3 doz uygulandı. Üçüncü gruba (LA; n=33) ise bu iki ajan birlikte ve yukarıda belirtilen şekilde uygulandı.

Tablo 15: Hastaların ilaç kullanım öncesi özellikleri

Özellikler	L (levamizol grubu) n=32	A (aşı grubu) n=28	LA (levamizol+aşı grubu) n=33
Yaş ortalaması	10.15±4,84	10.93 ± 4,19	10.20±4,38
Yaş sınırları	1-18	1-18	3-16
Cinsiyet (E/K)	17/15	18/10	23/10
Hasta takip süresi(ort./yıl)	1.56±0,98	1.66±1,28	1.26±1,02
KAH/KPH	18/14	15/13	19/14
Biyopsi	18/5	15/6	19/11
Knodell(ort)	6.2± 1,64	4.57±2,44	6.70±4,8
Bulaş yolu			
Horizontal	10	8	12
Vertikal	7	7	8
Post-op.	3	2	4
Bilinmeyen	12	11	9
Akut başlangıç	4	3	-
Serum ALT düzeyi			
<45	15	14	20
>45	17	14	13
HBeAg pozitifliği	19/32	13/28	19/33
HBV DNA düzeyi(ng/ml)			
.çalışılan(n)	21/32	21/28	25/33
.çalışılmayan(n)	11/32	7/28	8/25
.Ortalama(ng/ml)	621± 196,52	727±219,21	675±194,85
<100	3	3	4
>100	6	8	12
negatif	12	10	10
Anne pozitifliği*	12/29	8/23	10/25
Baba pozitifliği*	6/29	5/23	6/25

\*Çalışmada bazı ebevenlerin birden fazla sayıda hasta çocuğu bulunmaktadır( L grubunda 3; A grubunda 5 ; LA grubunda 8 çocuk kardeşler).



KAH'lı 52 çocuk hastanın yaş ortalaması  $9,71 \pm 1,34$  yaş olarak bulunurken KPH'lı 41 hastanın ise  $11,39 \pm 1,76$  yaş olarak tespit edildi. Erkek/kız oranı; KAH'lı hastalarda 35/17 iken, KPH'lı hastalarda 22/19 olarak bulundu (Tablo16).

KAH'lı hastalardan 18'ine levamizol, 15'ine HBsAg aşısı, 19'una levamizol ve HBsAg aşısı birlikte verilmiştir. KPH'lı hastalardan 14'üne levamizol, 13'üne HBsAg aşısı, 14'üne levamizol ve HBsAg aşısı birlikte verilmiştir (Tablo17). (Şekil10,11)

Dağılıma, verilen ilaçlar açısından bakıldığında: Levamizol verilen 32 hastadan, 18'inde kronik aktif hepatit, 14'ünde ise kronik persistan hepatit tablosu bulunmakta idi. HBsAg aşısı verilen 28 hastadan 15'inde kronik aktif hepatit, 13'ünde ise kronik persistan hepatit tablosu bulunmakta idi. Levamizol ve HBsAg aşısı verilen 33 hastadan 19'unda kronik aktif hepatit, 14'ünde ise kronik persistan hepatit tablosu bulunmakta idi (Tablo 18) (Şekil12,13,14).

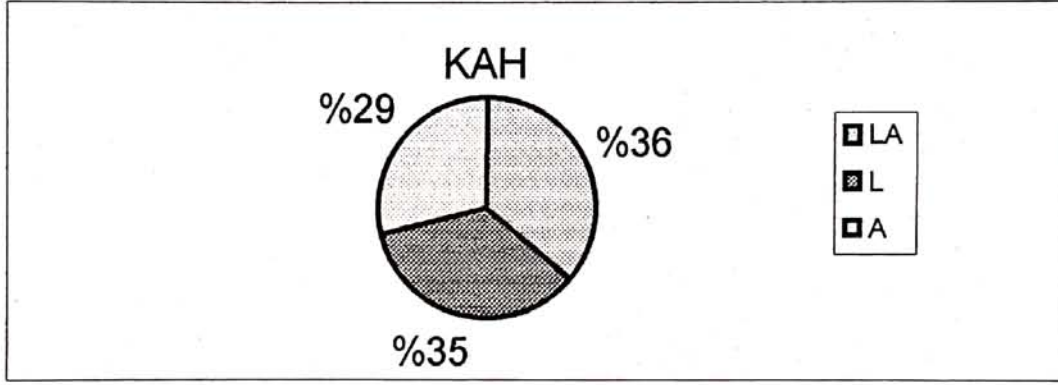
Kronik aktif hepatitli hastaların yaş, cinsiyet, serum ALT değerleri, serum HBV DNA değerleri bakımından özellikleri aşağıda verilmiştir ( Tablo 16 ).

Tablo16: KAH'lı hastaların ilaç kullanım öncesi ALT ve HBV DNA değerleri

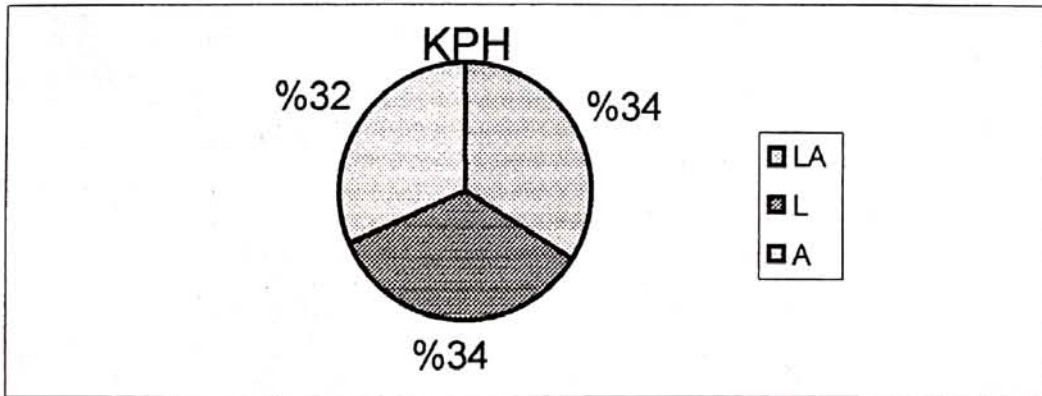
Özellikler	levamizol n=18	aşı n=15	levamizol+aşı n=19
Yaş	9.5	9.5	10.0
Cins (E/K)	11/7	10/5	15/4
ALT düzeyi (ort)	86.8 $\pm$ 20,47	72,6 $\pm$ 18,74	86.9 $\pm$ 21,09
HBV DNA düzeyi	621 $\pm$ 196,52	727 $\pm$ 219,21	675 $\pm$ 194,85

Tablo 17: KAH ve KPH'lı hastaların ilaç gruplarına göre dağılımı

Özellikler	<u>kronik aktif hepatit</u>	<u>kronik persistan hepatit</u>
	n=52	n=41
Yaş ortalaması	9.71 ± 1.34	11.39±1,76
Yaş sınırları	1-18	4-18
Cinsiyet (E/K)	35/17	22/19
Hasta takip süresi(ort./yıl)	1.2	1.7
Levamisol verilen hasta(n)	18	14
Gen HevacB verilen hasta(n)	15	13
Levamisol ve Gen HevacB		
Verilen hasta (n)	19	14



Şekil 11: KAH'lı hastalarda ilaç gruplarının dağılımı

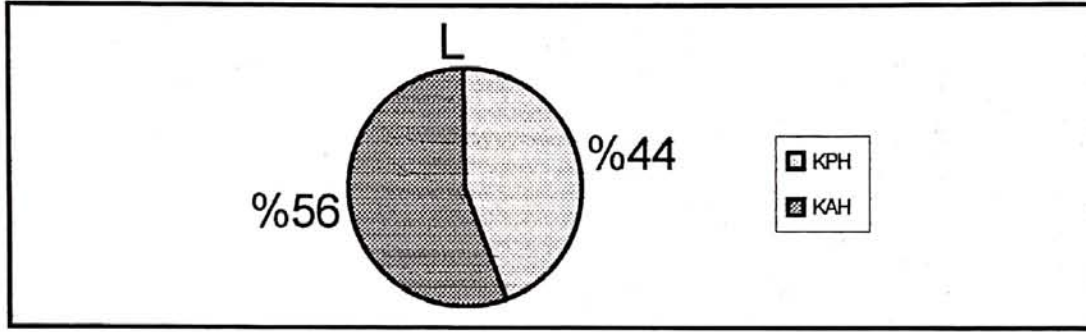


Şekil 12: KPH'lı hastalarda ilaç gruplarının dağılımı

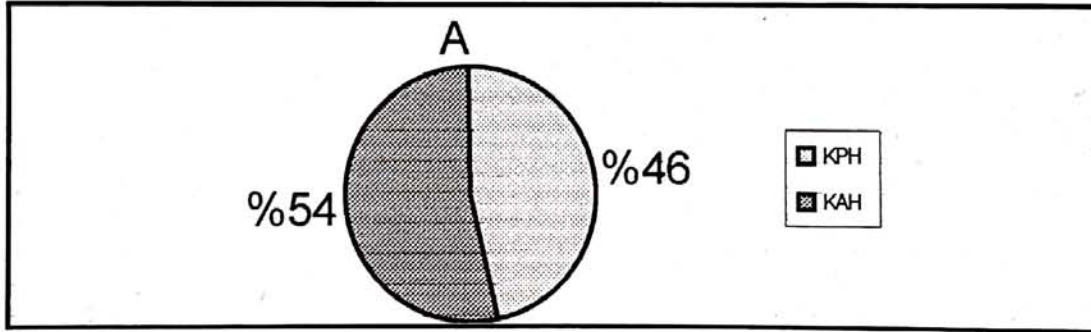


Tablo18: İlaç gruplarında KAH ve KPH dağılımı

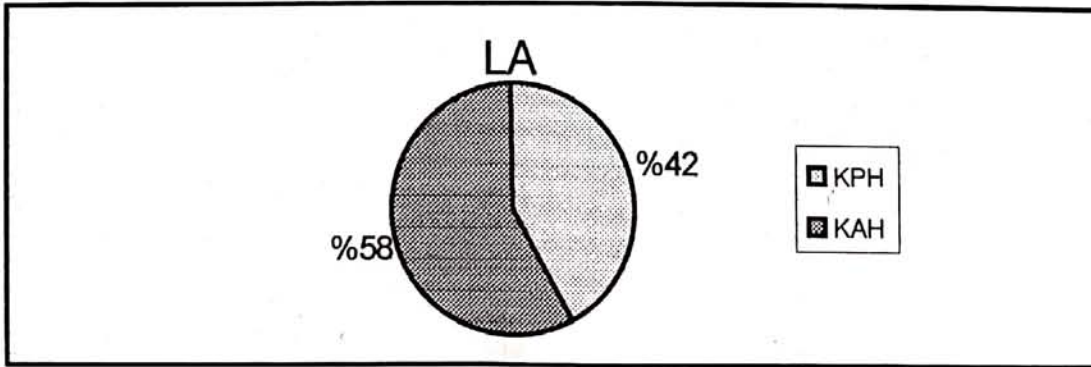
	Levamisol(n=32)		aşı(n=28)		levamisol+aşı(n=33)	
	<u>KAH</u> n=18	<u>KPH</u> n=14	<u>KAH</u> n=15	<u>KPH</u> n=13	<u>KAH</u> n=19	<u>KPH</u> n=14
Yaş ort.	9.5±2.2	11±1,02	9.5±1,78	10.4±2,13	12.8±2,1	10.0±1,43
Cins (E/K)	11/7	6/8	10/5	8/5	15/4	8/6
Hast. Süresi	1.4	1.7	1.2	1.9	1.0	1.5



Şekil 13: Levamisol verilen hastalarda KAH ve KPH dağılımı



Şekil 14: HBsAg aşısı verilen hastalarda KAH ve KPH dağılımı



Şekil 15: Levamisol ve HBsAg aşısı verilen hastalarda KAH ve KPH dağılımı

### **Tam Kan ve Total Lenfosit Tayini**

Hastalardan venöz yolla EDTA'lı tüpe 2 cc kan alındı. Tam kan tetkiki, MS 9 otomatik kan cihazı (Melet Schloesing laboratories, ) ile yapıldı. Her hastadan yapılan periferik yaymalar Giemsa boyası ile boyandı. Lenfosit yüzdesi mikroskopta 100 büyütme ile değerlendirilmiş ve tam kan tetkikinde bulunan beyaz küre sayısı ile çarpılarak milimetreküpde total lenfosit sayısı hesaplanmıştır.

### **Serum İmmünglobulin ve C3, C4 Tayini**

IgA, IgM, IgG, C3, C4 tayini için hastalardan venöz kan alındı. Serumu ayrıştırılan kan örnekleri aynı gün veya aynı gün çalışılmayacaksa -20 °C de saklandı. IgA, IgM, IgA tayini nefelometrik yöntemle Behring Nephelometer 100 Analyzer, Behring, USA cihazında ve kendi kitleri ile çalışıldı.

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik İmmünoloji Bilim Dalı laboratuvarında belirli yaş grupları için saptanan normal immünglobulin değerleri kontrol olarak alındı (76).

### **T Lenfosit Subgrup Tayini**

T lenfosit subgrup tayini için hastalardan 2 cc EDTA'lı tüpe kan alındı. Bu kandan 100 µl alındı ve bu kan 15 µl monoklonal antikor ile muamele edildi. 30 dakika inkubasyonda bekletildikten sonra lysing solüsyonu ile karıştırıldı. Ve 10 dakika süre ile karanlık bir ortamda tekrar inkubasyona bırakıldı. Ardından 800 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üzerindeki süpernatant dökülen materyal PBS (Fosft Buffer Solüsyonu) ile muamele edildi ve tekrar 900 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üzerindeki süpernatant dökülen materyal çalışmaya hazır hale getirildi.

T lenfosit subgrupları tayini için FACSort Flowcytometer (Becton Dickinson İmmünocytometry Systems, USA) cihazı kullanıldı. Monoklonal antikor olarak ise CD3/CD4 FITC/PE (Helper T hücreleri için), CD3/CD8 FITC/PE (supresör/sitotoksik T hücreleri için) CD3/CD16+56 FITC/PE (NK hücreleri için) CD3/CD19 (total B ve T hücreleri için) , CD45/CD14 leucogate, Control IgG1- IgG2 (kontrol boyası) kullanıldı

T lenfosit subgruplarının kontrolü için Commans- Bitter ve arkadaşlarının çocuklarda tespit ettikleri normal lenfosit subgrupları değerleri kullanıldı (76 ).



## **Viral Marker'lerinin Tayini**

HBV antijenleri ve antikorları ile HAVIgM, IgG, anti-HCV, anti-HDV belirleyicileri fakültemiz Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında SFRI Alpha 4, ispanya Tam Otomatik ELIZA cihazında ve BİOKİT kitleri ile çalışılmıştır.

## **HBV DNA Tayini**

Uygulama öncesi toplam 75 hastaya HBV DNA tetkiki yapıldı. Bunların 67'si Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez laboratuvarlarında mikrokolon DNA prop RIA (Abbot) yöntemi ile çalışılarak sonuçlar pg/ml olarak verildi.

8'i Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında PCR ile tayin edildi. HBV DNA değerleri bakımından 40 hastada (34'ü RIA, 6'sı PCR ile) pozitif, 35 (33'ü RIA, 2'i PCR ile) hastada ise negatif durum tespit edildi. Ayrıca RIA yöntemi ile çalışılan 17 hasta PCR yöntemi ile kontrol edildi. RIA yöntemi ile negatif bulunan 3 hastanın PCR ile pozitif bulunması dışında her iki yöntem sonuçlarının uyumlu olduğu tespit edildi.

## **ALT Tayini**

Serum ALT tayini Olympus AU 800 otoanalyzer cihazında ve kendi kitleri ile çalışıldı. Serum ALT değerleri için normalin üst sınırı 45 U/L olarak kabul edildi (1).

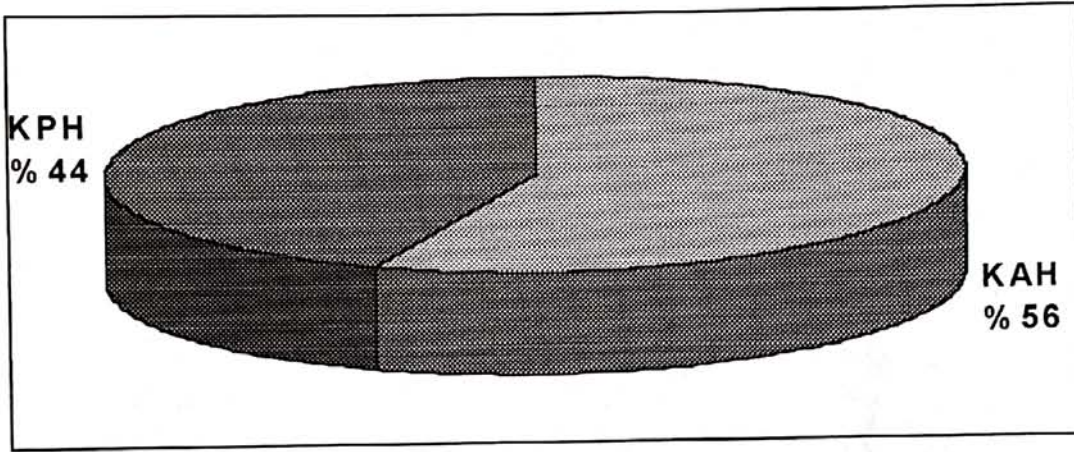
## **İstatistik Yöntemleri**

Çalışılan parametrelerin değerlendirilmesinde, bağımlı gruplar için WILCOXON eşleştirilmiş iki örnek testi ile; bağımsız gruplar için MANN-WHITNEY U testi kullanıldı. Analizler SPSS 6.0. for Windows programı ile değerlendirildi.

## BULGULAR

Çalışmamıza Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından kronik B hepatiti tanısı ile takip edilen 93 çocuk hasta katılmıştır. Hastaların 58'i (%62) erkek, 35'i (%38) kız hasta olup yaş ortalamaları sırası ile  $10.5 \pm 1,37$  ve  $10.2 \pm 1,67$  olarak tespit edildi.

Hastaların 52'si (%56) KAH, 41'i (%44) KPH olarak değerlendirildi. (Şekil 15)



Şekil 16: Çalışmaya alınan hastalarda KAH ve KPH dağılımı

### 1- Yaş ve Cinsiyet :

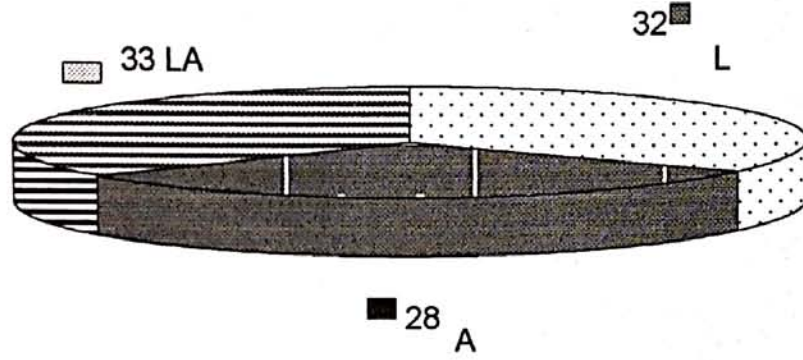
KAH'li 52 hastanın 36'sı (%70) erkek, 16'sı (%30) kız olup yaş ortalamaları sırası ile  $9.8 \pm 1,35$  ve  $9.3 \pm 1,43$  olarak tespit edildi.

KPH'li 41 hastanın 22'si (%53) erkek, 19'u (%47) kız olup yaş ortalamaları sırası ile  $11.7 \pm 2,4$  ve  $10.9 \pm 2,5$  olarak tespit edildi.

KAH'lı 52 hastanın 18'ine levamizol, 15'ine Gen Hevac B, 19'una levamizol ve Gen Hevac B birlikte verildi. KPH'li 41 hastanın ise 14'üne levamizol, 13'üne Gen Hevac B, 14'üne levamizol ve Gen Hevac B birlikte verildi.

Levamizol uygulanan 32 hastanın 17'si (%53) erkek, 15'i (%47) kız olup yaş ortalamaları sırası ile  $10.8 \pm 1,56$  ve  $9.4 \pm 1,64$  olarak saptandı. Gen Hevac B uygulanan 28 hastanın 18'i (%64) erkek, 10'u (%36) kız olup yaş ortalamaları sırası ile  $11.1 \pm 1,03$  ve  $10.9 \pm 1,45$  idi. Levamizol ve Gen Hevac B birlikte uygulanan 33 hastanın 23'ü (%70) erkek, 10'u kız olup yaş ortalamaları sırası ile  $9.9 \pm 2,13$  ve  $10.8 \pm 1,34$  idi (Şekil 16).





Şekil 17: Hastaların uygulanan ilaçlara göre dağılımı (L=levamizol, A= aşı, LA= levamizol+aşı)

Tüm hastaların izlem süresi yaklaşık olarak 1.4 yıl olarak saptandı. Toplam 7 hastada (%8) akut başlangıç öyküsü mevcuttu.

Tüm hastaların ebeveynleri HBsAg pozitifliği yönünden araştırıldı. Toplam 77 annenin 30'unda (%38), babaların ise 17'inde (%22) HBsAg pozitif saptandı.

Biyopsi yapılan 21 hastanın 19'unda evre I, ikisinde evre II, 1'inde ise evre IV düzeyinde heptosellüler hasar olduğu saptandı. Yine bu hastalardan 11'i hafif aktiviteli, 9'u orta aktiviteli, biri ise ağır aktiviteli idi. Knodell skorlaması ortalama  $5.77 \pm 1,23$  olarak bulundu.

Tedavi sonrası yapılan kontrollerde 2 hastada (%2,15 'inde) HBsAg kaybı tespit edildi (Tablo 19). Bu hastalardan birinin levamisol diğerinin levamisol ile birlikte aşı tedavisi aldığı saptandı. Levamisol ile aşığı birlikte alan hastada anti-HBs'e serokonversiyonu gerçekleşirken yalnızca levamisol alan hastanın henüz anti-HBs oluşturmadığı gözlemlendi.

İlaç kullanımından önce HBV DNA düzeylerinin ortalama değeri  $597,62 \pm 99,60$  pg/ml olarak bulundu. Uygulamadan 3 ay sonra yapılan kontrollerde ise  $1591,87 \pm 265,31$  pg/ml olarak bulundu. Üç hasta dışındaki tüm hastaların ilaç kullanım sonrası HBV DNA değerlerinin, başlangıç değerlerine göre çok yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 19).

hastaların ilaç kullanım sonrası HBV DNA değerlerinin, başlangıç değerlerine göre çok yüksek olduğu istatistiksel olarak tespit edildi (Tablo 19).

**HBeAg:**Uygulama öncesi HBeAg pozitif hasta sayısı 50(%54) iken HBeAg negatif hasta sayısı 43(%46) olarak tespit edildi. Uygulama sonrası HBeAg pozitif 50 hastanın 17'inde (%34'ünde) HBeAg'nin kaybolduğu görüldü. HBeAg kaybı görülen 17 hastanın 10'unda (%58,8'inde) antiHBe'ye serokonversiyon gelişirken, 7'isinde (% 41,2'inde) henüz anti HBe'nin gelişmediği tespit edildi (Tablo 19).

Bu 17 hastanın;

7'si, levamizol kullanan(n=32) ve HBeAg'i pozitif olan (n=19) grupta idi (7/19; %36,8). Bunların sadece 2'sinde anti-HBe serokonversiyonu ortaya çıktı.

3'ü, aşı kullanan(n=28) ve HBeAg'i pozitif olan (n=12) grupta idi (3/12;%25). Bunların 3'ünde de anti-HBe serokonversiyonu ortaya çıktı.

7'i, levamizol ile birlikte aşı kullanan(n=33) ve HBeAg'i pozitif olan(n=19) grupta idi(7/19; %36,8). Bunların 5'inde anti-HBe serokonversiyonu ortaya çıktı.

Levamizol veya levamizole birlikte aşı kullanan (n=65) HBeAg'i pozitif 38 hastanın 14'ünde (%36,8) HBeAg kaybı gerçekleşirken, aşı veya aşı ile birlikte levamizol kullanan (n=61) HBeAg'i pozitif 31 hastanın 10'unda (%32,5) HBeAg kaybı gerçekleşti.

Yalnızca aşı uygulanan 5 hastada (%11,2); tedavi öncesi HBeAg negatif iken tedavi sonrası pozitif olduğu gözlemlendi (tablo 19).

Tablo 19: Çalışmaya alınan hastalardaki HBeAg ve HBV DNA ilişkisi

HBeAg	HBV DNA	n(hasta sayısı)
+	+	38
+	-	1
+	bakılamayan	8
-	-	30
-	+	5
-	bakılamayan	8



Başlangıçta serum ALT düzeyi normal değerlerden yüksek bulunan 49 hastanın tedavi sonrası 15 'inde (%28'i) ALT değerlerinin normal sınırlara düştüğü gözlemlendi (Tablo 20). Bazı hastalarda ise ALT değerlerinin daha da yükseldiği gözlemlendi.

Tablo 20: HBsAg, HBeAg, HBV DNA ve ALT değerlerinin tedavi sonrası değişimi

Parametre	L(n=32)	A (n=28)	LA (n=33)	Toplam (n=93)
HBsAg kaybı	1 (% 3)	0	1 (% 3)	2 (%2)
HBeAg kaybı	7 (%36)	3 (%25)	7 (%36)	17 (%34)
HBV DNA kaybı	0	0	0	0
HBV DNA artışı	10(%90)	10 (%90)	15 (%93)	35 (%92)
HBV DNA azalışı	1 (%10)	1 (%10)	1 (%7)	3 (%8)
ALT'nin				
Normalleşmesi	7 (%33)	4 (%28)	4 (%23)	15 (%28)

L: levamizol grubu

A: aşı grubu

LA: levamizol + aşı

grubu

Tedavi öncesi HBeAg pozitif hasta sayısı (n): L=19 ; A=13 ; LA = 19

Tedavi öncesi HBV DNA pozitif hasta sayısı (n) L=11 ; A= 11 ; LA= 16

Tedavi öncesi ALT düzeyi yüksek hasta sayısı (n) L=18 ; A= 14 ; LA=17

İlaç kullanımından önce yapılan tam kan sayımı tetkiklerinde 12 hastada (93/12; % 12,9) lenfopeni (<1500 /mm<sup>3</sup>) tespit edildi. İlaç kullanımı sonunda ise bu hastalardan 7'inin lenfosit sayılarının normal değerlere yükseldiği gözlemlendi.

Tedavi öncesi 93 hastadan 6'sında (%6,04) absolu lenfosit sayıları, yaşa göre normal değerlerin altında saptanırken tedavi sonrası yapılan kontrollerde absolu lenfosit sayısı düşük hasta sayısının 6 'dan 3'e (%3,22) düştüğü tespit edildi (Tablo 21).

Tedavi öncesi 93 hastadan 12'sinde (%12,8) total T lenfosit sayısı (CD3), yaşa göre normal değerlerin altında saptanırken, tedavi sonrası yapılan kontrollerde total T lenfosit sayısı düşük hasta sayısının 12'den 3'e (%3,22) düştüğü tespit edildi (Tablo21).

Tedavi öncesi 93 hastadan 21'inde (%22,5) total B lenfosit sayısı (CD19) yaşa göre normal değerlerin altında saptanırken, tedavi sonrası yapılan kontrollerde total B lenfosit sayısı düşük hasta sayısının 21'den 13'e (%13,9) düştüğü tespit edildi (Tablo 21).

Tedavi öncesi 93 hastadan 3'ünde (%3,22) helper T lenfosit sayısı (CD4) yaşa göre normal değerlerin altında saptanırken, tedavi sonrası ise helper T lenfosit sayısı düşük hasta sayısının 3'ten 1'e düştüğü tespit edildi (Tablo 21).

Tedavi öncesi 93 hastadan 2'sinde (%2,15) sitotoksik/supresör T lenfosit sayısı (CD8) yaşa göre normal değerlerin altında saptanırken, tedavi sonrası yapılan kontrollerde sitotoksik/supresör T lenfosit sayısı düşük hasta tespit edilmedi (Tablo 21).

Tedavi öncesi 93 hastadan 6'sinde (%6,04) natural killer lenfosit sayısı yaşa göre normal değerlerin altında saptanırken, tedavi sonrası yapılan kontrollerde sitotoksik/supresör T lenfosit sayısı düşük hasta tespit edilmedi (Tablo 21).

Lenfosit ve alt gruplarında yaşa göre normal değerlerin altında değerlere sahip olan hastaların tedavi gruplarındaki dağılımı ise şu şekilde idi:

KAH'lı levamizol verilen grupta (n=18): 4 hastada absolu lenfosit sayısı 5 hastada CD3, 6 hastada CD19, 2 hastada CD4, 1 hastada CD8 değerleri, yaşa göre normal değerlerin altında bulundu. Bu hastalar arasında : 1 hastada hem CD19 hem de CD8, 1 hastada CD19 ve CD4, 1 hastada CD3 ve CD16/56, 1 hastada ise CD3, CD19 ve CD4 eksiklikleri birlikte bulunmakta idi.

KAH'lı aşı verilen grupta (n=15): 2 hastada CD3, 1 hastada CD19 eksikliği tespit edildi. Bu hastalar arasında: CD3 eksikliği olan bir hastada hem IgG hem de IgM yaşa göre normal değerlerin altında olduğu saptandı (2 SS 'a göre).

KAH'lı aşı ve levamizol verilen grupta (n=19): 1 hastada absolu lenfosit sayısı, 5 hastada CD3, 5 hastada CD19, 1 hastada CD4, 1 hastada CD16/56 değerleri yaşa göre normal değerlerin altında saptandı. Bu hastalar arasında : 2 hastada CD19 eksikliği ile beraber IgM yaşa göre normal değerlerin altında bulundu (2 SS'ya göre).



KPH'lı levamizol verilen grupta (n=14): 1 hastada CD3, 6 hastada CD19, 1 hastada CD16/56 yaşa göre normal değerlerin altında saptandı. Ayrıca 1 hastada da IgM yaşa göre normal değerlerin altında saptandı (2 SS'a göre).

KPH'lı aşı verilen grupta (n=13): 1 hastada CD3, 3 hastada CD19, 3 hastada CD16/56 yaşa göre normal değerlerin altında saptandı. Bunlar arasında 1 hastada CD19 ve CD16/56 eksiklikleri ile beraber IgA ve IgM yaşa göre normal değerlerin altında saptandı (2 SS'a göre). 1 hastada IgA değeri yaşa göre normal değerlerin altında bulunuyordu (2 SS'a göre).

KPH'lı levamizol ve aşı verilen grupta (n=14) : 2 hastada CD3, 1 hastada CD19 yaşa göre normal değerlerin altında tespit edildi. Bu hastalar arasında : 1 hastada CD3 eksikliği ile beraber IgM yaşa göre normal değerlerin altında saptandı (3 SS'a göre).

Tablo 21: KBH'lı çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası dönemlerdeki lenfosit ve subgruplarının yaşlarına göre normal değerler ile karşılaştırılması

Parametre	T.Ö			T.S		
	n	Düşük	yüzde	n	Düşük	yüzde
ALL	93	6	6,04	93	3	3,22
CD3	93	12	12,8	93	3	3,22
CD19	93	21	22,5	93	13	13,9
CD4	93	3	3,22	93	1	0,9
CD8	93	2	2,15	93	0	0
CD16/56	93	6	6,04	93	0	0

T.Ö.:Tedavi öncesi T.S.:Tedavi sonrası ALL: Absolu lenfosit sayısı

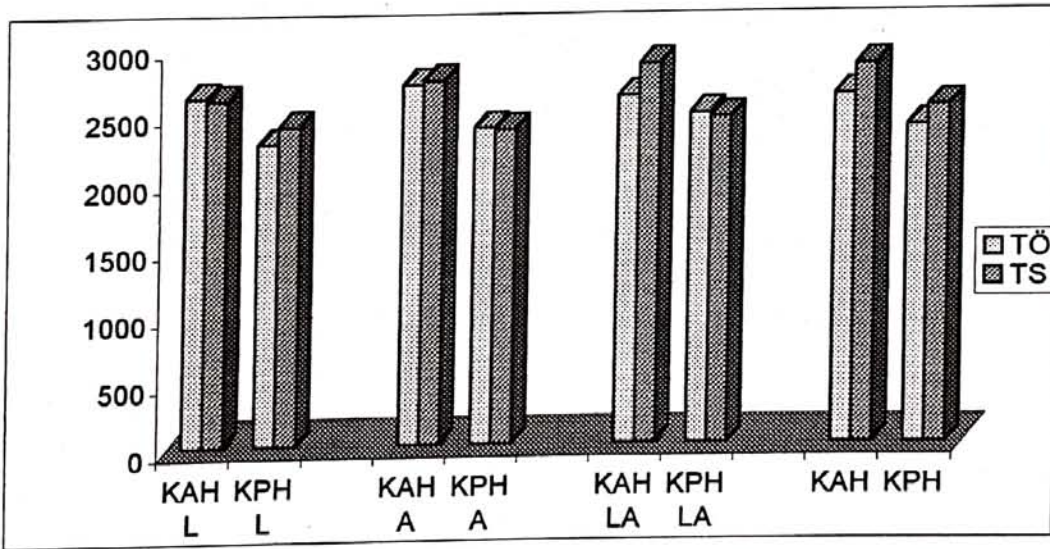
## Absolu lenfosit sayısı

Çalışmaya alınan KAH ve KPH'lı tüm tedavi gruplarında (L,A,LA) tedavi öncesi ve tedavi sonrası absolu lenfosit değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tablo 22 :Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası absolu lenfosit değerlerinin karşılaştırılması

Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	p	T.Ö.	T.S	p
L	2602,22	2584,84	$P>0,05$	2252,85	2381,53	$p>0,05$
A	2692,00	2719,50	$p>0,05$	2365,38	2350,14	$p>0,05$
LA	2596,31	2833,1	$p>0,05$	2460,00	2430,13	$p>0,05$
Toplam	2625,95	2816,64	$p>0,05$	2359,26	2501,73	$p>0,05$

L:levamizol grubu A: aşı grubu LA : levamizol+aşı grubu



Şekil 18 : Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası absolu lenfosit değerlerinin karşılaştırılması



### Absolu CD3 (total T lenfosit) sayısı

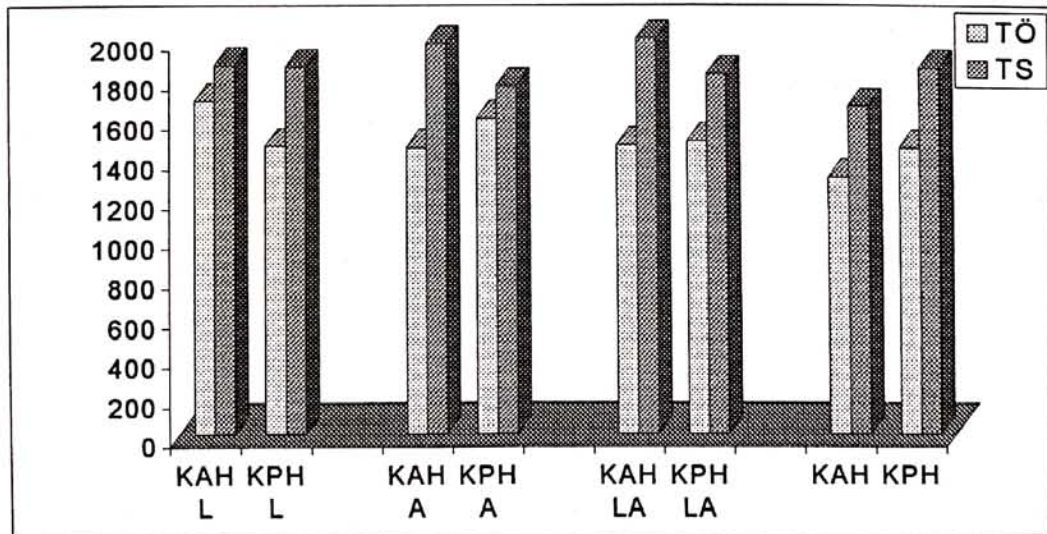
Kronik aktif hepatitli levamizol verilen hastaların tedavi sonrası total T lenfosit (CD3) değerleri tedavi öncesi değerlerine göre artmış bulunmakla beraber bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ). Aşı ve aşı ile birlikte levamizol verilen grupta görülen artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

Kronik persistan hepatitli hastalarda total T lenfosit sayısındaki tedavi sonrası görülen artış ise aşı verilen grup dışında ( $p>0,05$ ) levamizol ve aşı ile birlikte levamizol alan grupta istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

Hem KAH hem de KPH'lı hastalarda total T lenfosit sayısında tedavi sonrası görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

Tablo 23 :Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD3+ ( total T lenfosit ) değerlerinin karşılaştırılması

Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	p	T.Ö.	T.S	p
L	1680,04	1890,03	$P>0,05$	1449,90	1851,29	$P<0,05$
A	1440,73	1970,68	$P<0,05$	1587,52	1752,65	$P>0,05$
LA	1450,48	1995,04	$P<0,05$	1471,37	1811,38	$P<0,05$
Toplam	1527,13	1941,52	$P<0,05$	1488,17	1797,80	$P<0,05$



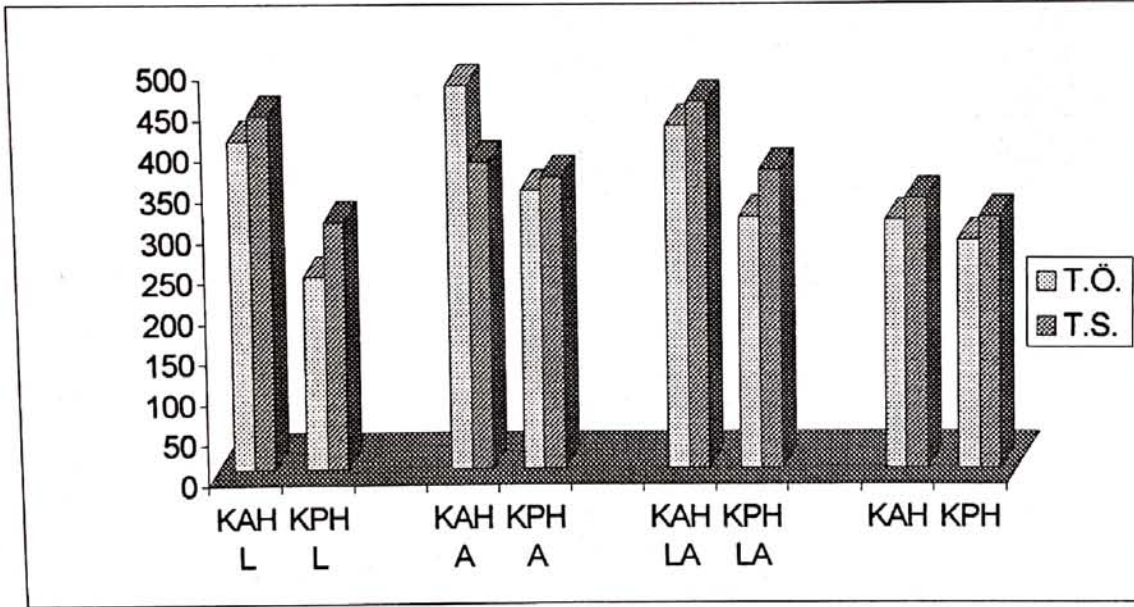
Şekil 19: Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD3+ (total T lenfosit ) değerlerinin karşılaştırılması

## Absolu CD19 (total B lenfosit) sayısı

Çalışmaya alınan tüm gruplarda total B lenfosit sayısındaki tedavi öncesi ve sonrası görülen azalma ya da artma yönünde görülen değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tablo 24 : Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD19 (total B lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması

Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	p	T.Ö.	T.S	p
L	405,09	436,22	$p>0,05$	237,51	305,02	$p>0,05$
A	472,73	378,63	$p>0,05$	343,35	360,41	$p>0,05$
LA	423,24	452,55	$p>0,05$	310,49	368,23	$p>0,05$
Toplam	431,23	425,58	$p>0,05$	295,99	344,17	$p>0,05$



Şekil 20: Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası CD19 (total B lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması



### Absolu CD4 (helper T lenfosit) sayısı

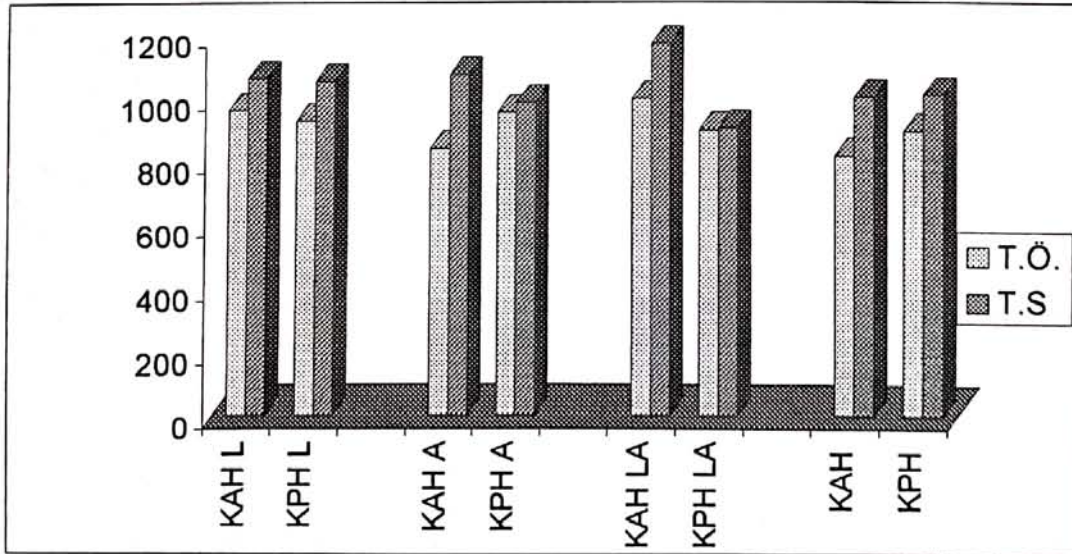
Çalışmaya alınan KAH'lı hastaların helper T lenfosit (CD4) sayısında tedavi sonrası görülen artış, levamizol verilen grup dışında ( $p>0,05$ ), aşı ve aşı ile birlikte levamizol verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

KPH'lı hastaların helper T lenfosit sayısında tedavi sonrası görülen artış, hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

CD4 sayısında tedavi sonunda görülen artış KAH'lı hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $p<0,05$ ); KPH'lı hastalarda anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tablo 25 : Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası absolu CD4 (helper T lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması

Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	p	T.Ö.	T.S	p
L	956,36	1057,95	$p>0,05$	923,20	1049,22	$p>0,05$
A	835,86	1069,49	$P<0,05$	948,69	978,67	$p>0,05$
LA	991,32	1166,46	$P<0,05$	892,56	899,01	$p>0,05$
Toplam	934,38	1100,90	$P<0,05$	920,82	975,56	$p>0,05$



Şekil 21: Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası absolu CD4 (helper T lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması

### Absolu CD8 (sitotoksik/supresör T lenfosit) sayısı

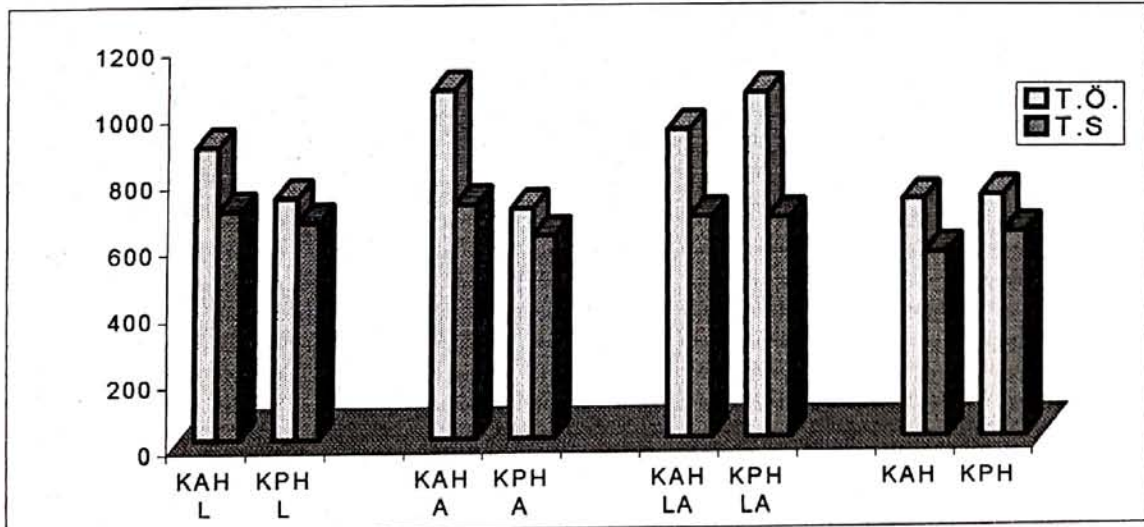
Çalışmaya alınan KAH'lı hastaların sitotoksik/supresör T lenfosit sayısında tedavi sonrası görülen azalma, levamizol verilen grup dışında ( $p>0,05$ ), aşı ve aşı ile birlikte levamizol verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

KPH'lı hastaların sitotoksik/supresör T lenfosit sayısında tedavi sonrası görülen azalma, hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

CD8 sayısında tedavi sonunda görülen azalma KAH'lı hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $p<0,05$ ); KPH'lı hastalarda anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tablo 26 : Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD8 (sitotoksik/supresör T lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması

CD8 Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	P	T.Ö.	T.S	P
L	883,18	690,04	$p>0,05$	727,88	654,40	$p>0,05$
A	1051,13	705,55	$P<0,05$	692,35	609,41	$p>0,05$
LA	927,3	663,37	$P<0,05$	1039,06	661,94	$p>0,05$
Toplam	947,71	684,77	$P<0,05$	822,87	642,71	$p>0,05$



Şekil 22: Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD8 (sitotoksik/supresör T lenfosit) değerlerinin karşılaştırılması



### CD4/CD8 oranı

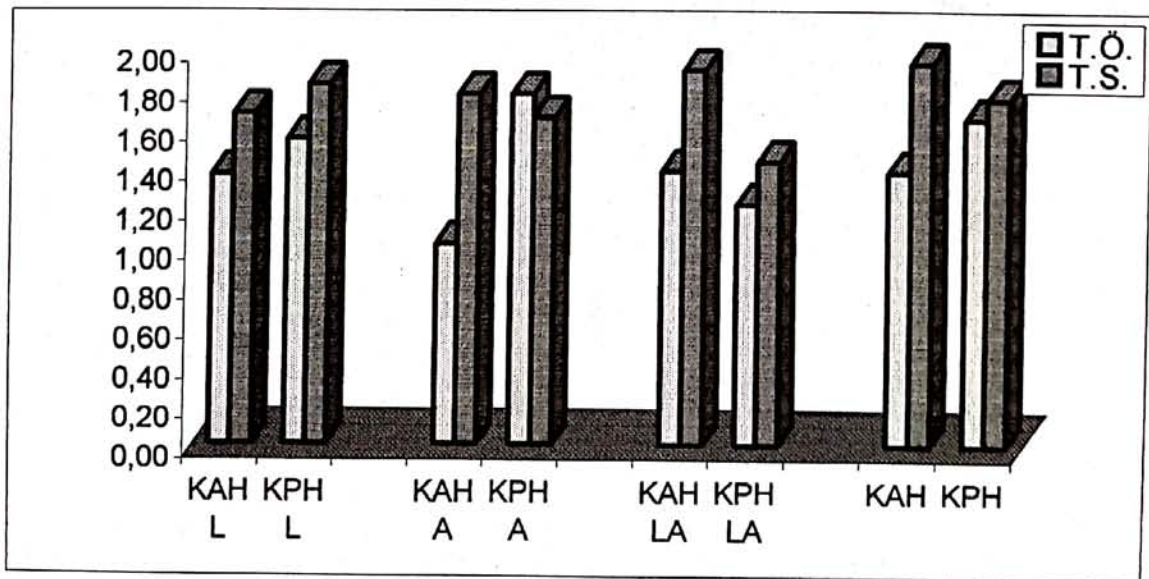
Çalışmaya alınan KAH'lı hastaların CD4/CD8 oranında tedavi sonrası görülen artış, levamizol verilen grup dışında ( $p>0,05$ ), aşı ve aşı ile birlikte levamizol verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

KPH'lı hastaların CD4/CD8 oranında tedavi sonrası görülen azalma ya da artma, hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

CD4/CD8 oranında tedavi sonunda görülen artış KAH'lı hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $p<0,05$ ); tedavi öncesi ve sonrası arasındaki değişkenlik KPH'lı hastalarda anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tablo 27 : Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 oranlarının karşılaştırılması

CD4/CD8 Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	P	T.Ö.	T.S	P
L	1.36	1.67	$p>0,05$	1.54	1.82	$p>0,05$
A	1.01	1.77	$P<0,05$	1.77	1,65	$p>0,05$
LA	1,38	1,89	$P<0,05$	1,21	1,43	$p>0,05$
Toplam	1,27	1,78	$P<0,05$	1,5	1,63	$p>0,05$



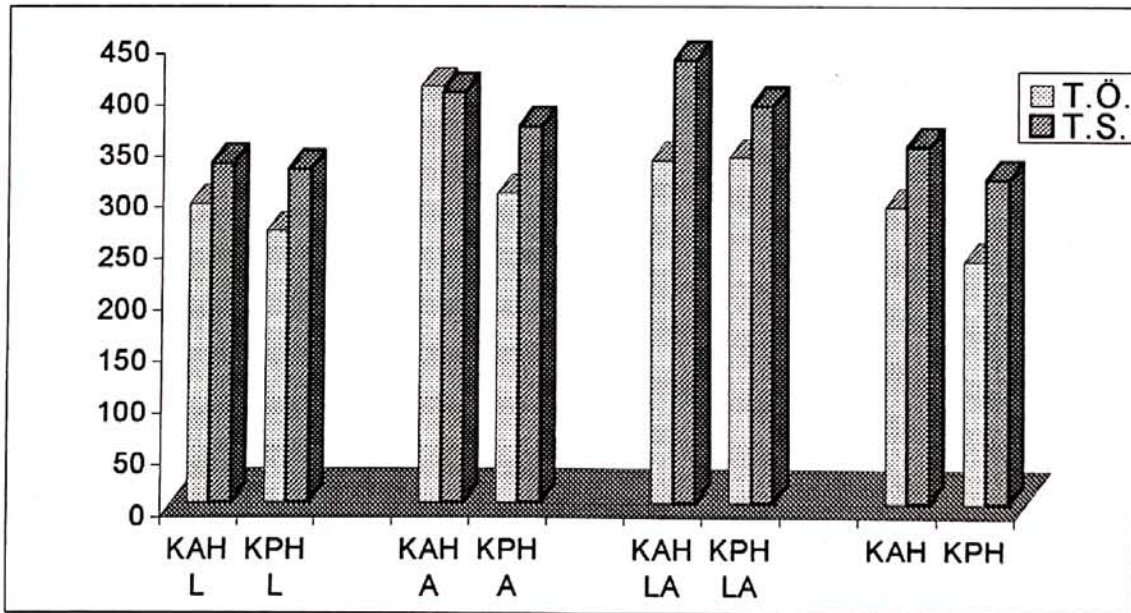
Şekil 23: Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD4/CD8 oranlarının karşılaştırılması

### Absolu CD16/56 (natural killer lenfosit ) sayısı

Çalışmaya alınan KAH ve KPH'lı tüm tedavi gruplarında (L,A,LA) tedavi öncesi ve tedavi sonrası natural killer değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tablo 28 : Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD16/56(natural killer) absolu değerlerinin karşılaştırılması

CD16/56 Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	P	T.Ö.	T.S	P
L	289,29	328,81	$p>0,05$	262,53	323,3	$p>0,05$
A	404,35	398,79	$p>0,05$	299,65	365,26	$p>0,05$
LA	331,96	429,65	$p>0,05$	335,1	385,08	$p>0,05$
Toplam	338,07	385,04	$P>0,05$	299,08	357,70	$P>0,05$



Şekil : 24 : Kronik B hepatitli çocuk hastalarda tedavi öncesi ve sonrası CD16/56 (natural killer) absolu değerlerinin karşılaştırılması



Uygulama öncesi yapılan tetkiklerde hiçbir hastada IgA ve IgG eksikliği saptanmazken 2 hastada (%2,1) IgM, yaşa göre normal değerlerin altında değerler saptandı. (3 SS'ya göre)

Tedavi sonrası yapılan kontrollerde her iki hastada da düşük değerlerin devam ettiği saptandı.

Tedavi öncesi 14 (%15) hastada C3 yaşa göre normal değerlerin altında tespit edildi. Tedavi sonrası ise sadece 1 (%0,9) hastada normal değerlerin altında değer saptandı.

Tedavi öncesi 4 (%4,3) hastada C4 yaşa göre normal değerlerin altında tespit edildi. Tedavi sonrası ise 6 (%6,4) hastada normal değerlerin altında değer saptandı.

Tablo29: Kronik B hepatitli çocuk hastaların tedavi öncesi ve sonrası dönemlerdeki immünglobulin, C3 ve C4'ün yaşlarına göre normal değerler ile karşılaştırılması

Parametre	T.Ö			T.S		
	N	Düşük	Yüzde	n	Düşük	Yüzde
<b>IgG</b>	93	0	0	93	0	0
<b>IgA</b>	93	0	0	93	0	0
<b>IgM</b>	93	2	2,1	93	2	2,1
<b>C3</b>	93	14	15,0	93	1	0,9
<b>C4</b>	93	4	4,3	93	6	6,45

## Serum IgG düzeyleri

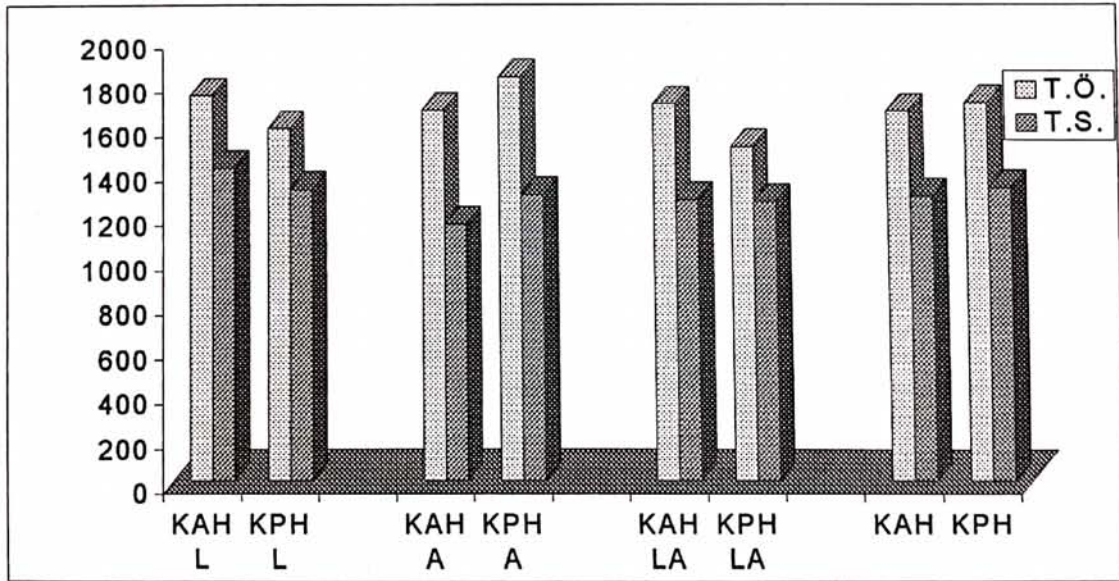
Çalışmaya alınan KAH'lı hastaların IgG değerlerinde tedavi sonrası görülen azalma, tüm tedavi gruplarında (L, A,LA) istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

KPH'lı hastaların IgG değerlerinde tedavi sonrası görülen azalma, levamizol ile aşının birlikte verildiği grup dışında diğer gruplarda (L,A) istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

IgG değerlerinde tedavi sonunda görülen azalma KAH'lı ve KPH'lı hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tablo 30: Kronik B hepatitli çocuk hastalarda IgG değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması

Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	p	T.Ö.	T.S	P
L	1730,73	1403,38	$P<0,05$	1577,42	1304,91	$P<0,05$
A	1659,84	1146,27	$P<0,05$	1812,68	1280,2	$P<0,05$
LA	1688,07	1256,47	$P<0,05$	1493,15	1247,42	$P>0,05$
Toplam	1694,69	1321,21	$P>0,05$	1621,24	1336,41	$P>0,05$



Şekil 25: Kronik B hepatitli çocuk hastalarda IgG değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması



### Serum IgA düzeyleri

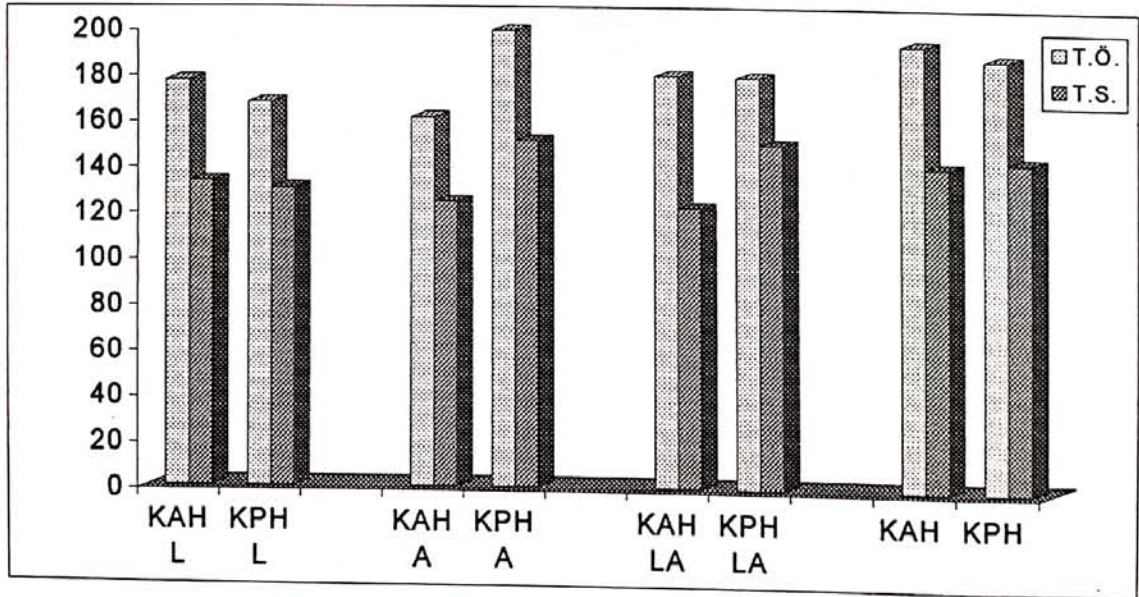
Çalışmaya alınan KAH'lı hastaların IgA değerlerinde tedavi sonrası görülen azalma, tüm tedavi gruplarında (L,A,LA) istatikselsel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

KPH'lı hastaların IgA değerlerinde tedavi sonrası görülen azalma, levamizol verilen grup dışında diğer gruplarda (A, LA) istatikselsel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

IgA değerlerinde tedavi sonunda görülen azalma KAH'lı ve KPH'lı hastalarda istatikselsel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tablo 31: Kronik B hepatitli çocuk hastalarda Ig A değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması

Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	p	T.Ö.	T.S	P
L	176,5	132,53	$P<0,05$	166,9	129,17	$P<0,05$
A	160,19	123,25	$P<0,05$	198,56	150,14	$p>0,05$
LA	178,73	121,09	$P<0,05$	178,25	148,87	$p>0,05$
Toplam	172,6	130,41	$P>0,05$	180,81	147,82	$p>0,05$



Şekil 26: Kronik B hepatitli çocuk hastalarda Ig A değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması

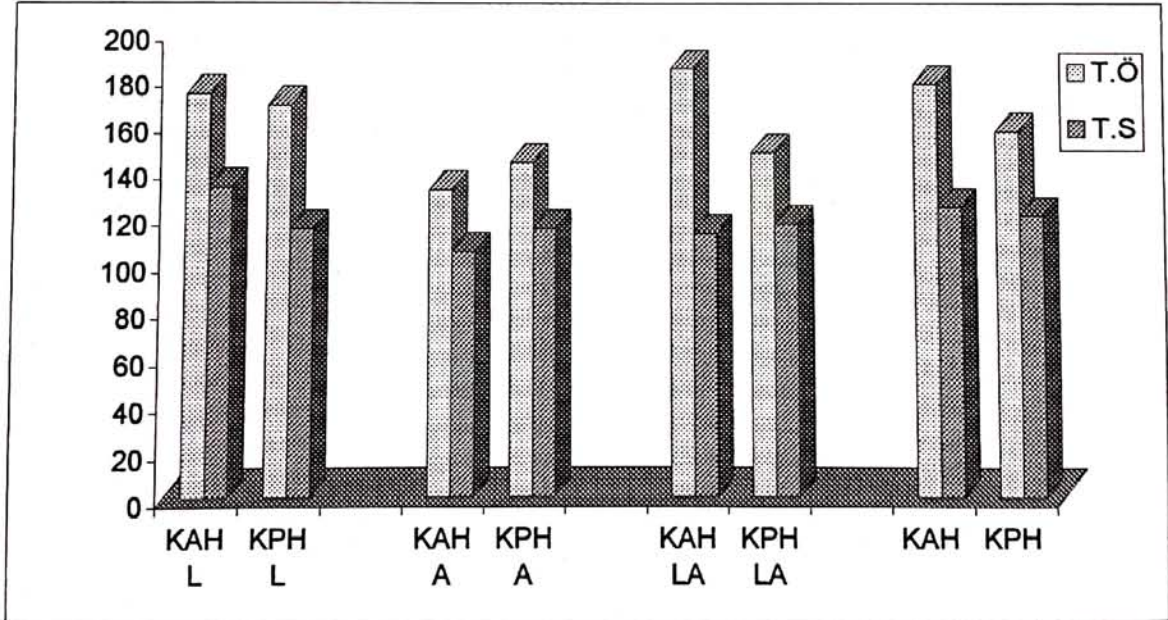
### Serum IgM düzeyleri

Çalışmaya alınan hastaların tedavi sonrası IgM değerlerinde görülen azalma hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

IgM değerlerindeki azalma, hem KAH hem de KPH 'de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Tablo 32: Kronik B hepatitli çocuk hastalarda IgM değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması

Grup	KAH			KPH		
	T.Ö.	T.S	P	T.Ö.	T.S	p
L	173	132,55	$p>0,05$	168,12	114,34	$P<0,05$
A	131	104,37	$p>0,05$	142,85	114,1	$p>0,05$
LA	184,02	112,11	$p>0,05$	156,65	120,11	$p>0,05$
Toplam	165,58	121,58	$p>0,05$	152,98	120,20	$p>0,05$



Şekil 27: Kronik B hepatitli çocuk hastalarda IgM değerlerinin tedavi öncesi ve sonrası değerlerinin karşılaştırılması



Tablo 33: Kronik aktif hepatitli çocuklarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum ALT değerlerinin karşılaştırılması

n	KAH		
	T.Ö.	T.S	p
52	81,03	68,49	P<0,05

Tablo 34: Kronik aktif hepatitli çocuklarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum HBV DNA değerlerinin karşılaştırılması

n	KAH		
	T.Ö.	T.S	P
35	610,50	1580,21	P<0,05

Tablo 35: HBsAg kaybı görülen hastaların serolojik profilleri ve diğer özellikleri

ÖZELLİKLER	I HASTA		II. HASTA	
	T.Ö.	T.S	T.Ö.	T.S.
HBsAg	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
Anti-HBs	Negatif	Pozitif	Negatif	Negatif
HBeAg	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Anti-HBe	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Anti- HBc Total	Negatif	Pozitif	Pozitif	Negatif
Anti-HBVIgM	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
HBV DNA	Bakılmadı	Bakılmadı	Negatif	Negatif
CD19	Düşük	Normal	Normal	Normal
Anne serolojisi	HBsAg pozitif		AntiHBs pozitif	
Uygulanan ilaç	Levamisol+aşı		Levamisol	

## TARTIŞMA

Kliniğimizde kronik B hepatiti tanısı ile ortalama 1,4 yıl izlenen 93 hastadan 58'i (%62) erkek, 35'i (% 38) kız idi. Bu bulgu, kronik HBV enfeksiyonun erkeklerde daha fazla görülmesi ile ilişkili veriler ile tutarlılık göstermektedir (77,78). 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 artırır. Bu mekanizmanın, HVB'nin cinsiyete dayalı farklı davranış kalıbının bir bölümünü açıklayabileceği ileri sürülmektedir (7).

Kronik B hepatit tanısı ile izlenen hastaların tümünün ebeveynleri de HBsAg taşıyıcılığı açısından araştırıldı. Annelerdeki HBsAg pozitiflik oranı %38 babalarda ise %22 olarak bulundu. Normal popülasyona göre artmış olan bu oranlar, literatür verileri ile uyumlu idi (77 ).

### **HBeAg değişikliklerine ilişkin yorumlar**

Tedavi sonunda levamizol kullanan (n=32) HBeAg'ni pozitif olan 19 hastanın 7'inde (%36,8) HBeAg kaybı gerçekleşti. Bunların sadece 2'sinde anti-HBe serokonversiyonu ortaya çıktı. Bu sonuçlar levamizol kullanımının HBeAg kaybına ilişkin olumlu sonuçları ile paralellik göstermektedir (65,66). Bu çalışmaların birinde HBeAg kaybı, %90 (65), diğerinde ise %75 (66) olarak bildirilmiştir. Bu değerler bizim çalışmamızda elde edilen sonuçtan yüksektir. Bu fark, sözkonusu çalışmalarda levamizolun çok daha uzun süreli kullanımı( 12-18 ay) ve kontrollerin tedavi bitiminden oldukça sonra (24. ayda) yapılmış olmasına bağlı olabilir. Bizim çalışmamızda levamizol toplam 3 ay süre ile kullanılmış ve dördüncü ayda kontroller yapılmıştır. Bu veriler levamizolun daha uzun süreli kullanımının daha olumlu sonuçlar doğuracağını telkin etmektedir.

İnterferonunun levamizol ile birlikte ve tek başına verilerek yapılan çalışmalarda HBeAg kaybı açısından levamizolun ek bir katkı sağlamadığı hatta



kombine tedavi uygulanan hastalarda son derece ciddi yan etkilerin ortaya çıktığından söz eden yayınlar bulunmaktadır (69,79). Ancak bu çalışmalarda hastalar levamizolü daha kısa süreli (6 hafta) ve her gün kullanmışlardır. Bu çalışmalarda belirtilen ek bir etkinin olmayışı ve ciddi yan etkilerin ortaya çıkması bu gerekçelere bağlı olabilir. Öte yandan ortaya çıkan yan etkilerin interferon ya da levamizol kaynaklı olup olmadığı tespit edilememiştir. Ayrıca bu çalışmalardan birinde ortaya çıkan toksik epidermal nekrolisis tablosu asetaminofen ile ilişkilendirilmiştir (79). Çalışmamızda 3 hastada birkaç gün süren hafif döküntü dışında komplikasyona rastlanmadı. Levamizol, kullanan çocuk hastalar tarafından oldukça iyi tolere edildi.

Çalışmamızda levamizolün HBeAg kaybına ilişkin etkinliği interferon ile yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Çocuklarda interferon ile tek başına yapılan bir çalışmada HBeAg kaybı tedavinin altıncı ayında %25, 15. ayında %40 olarak bulunmuştur (69). Başka bir çalışmada bu oran % 38 bulunurken (64) diğer bir çalışmada (%23) olarak bildirilmiştir (79).

Aşı kullanan (n=28) HBeAg'i pozitif olan 12 hastanın 3'ünde (%25) HBeAg kaybı gerçekleşti. Bunların 3'ünde de anti-HBe serokonversiyonu ortaya çıktı. Kronik HBV enfeksiyonunda HBsAg aşılarının kullanımına ilişkin ilk kontrollü hayvan deneyinde, HBV ile infekte edilmiş HBV-transgenik farelere 12 ay boyunca birer ay ara ile, (ayda bir kez) oldukça yüksek dozda (10 $\mu$ ) HBsAg aşısı intraperitoneal olarak verilmiş sonuçta yapılan kontrollerde 32 hastadan 30'unda(%93) HBeAg kaybı sağlanmıştır (47).

Transgenik fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada 17 transgenik fareye 15 gün ara ile toplam 5 kez HBsAg aşısı uygulanmış ve uygulama sonunda 8 hastada (%47) HBeAg kaybı gerçekleşmiştir (49). Erişkinler üzerinde yapılan bir çalışmada %33 oranında HBeAg kaybı sağlandığı bildirilmiştir(80). Hepatit B aşısı ile birlikte hepatit B immünglobulin (HBIG) kompleksinin (60  $\mu$ g HBsAg ve 38  $\mu$ g anti-HBs içerir.) uygulandığı 14 hastanın 6'sında (%42) HBeAg kaybı sağlandığı belirtilmektedir (54). Bu konuya ilişkin daha çok sayıda araştırma bulunmakla birlikte çoğunda HBeAg kaybına ilişkin sonuçları bildirilmemiştir. Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar literatür bilgileri ile uyumlu bulunmuştur. Bu çalışmalar, HBsAg aşısına eklenecek adjuvanlarla

uyumlu bulunmuştur. Bu çalışmalar, HBsAg aşısına eklenecek adjuvanlarla immünojenitesi artırılmış yeni formların daha yüksek dozda ve uzun süreli kullanımının etkinliği artıracağını telkin etmektedir (55).

Levamisolun aşı ile birlikte kullanımı sonucunda ek bir katkının ortaya çıkmadığı ve benzer sonuçların elde edildiği (%36,8) tespit edildi. Aşının tek veya levamisol ile birlikte kullanıldığı gruplarda, anti-HBe oluşumunun daha yüksek olduğu tespit edildi. Ancak yapılan bir çalışma, aşı kullanan gruplar ile kontrol grubu arasında HBeAg/anti-HBe serokonversiyon hızı arasında fark olmadığını belirtmektedir (81).

Çalışmamızda tedavi öncesi HBeAg negatif olan 5 hastada ise HBeAg'nin pozitifleştiği görüldü. Bu hastaların hepsine aşı uygulanmıştı. ( İkisine tek başına 3'üne ise levamisol ile birlikte) Bu 5 hastalardan 4 tanesinde HBeAg negatif iken HBV DNA'sının pozitif olduğu tespit edildi. Bu durum ise "precore minus" mutantları ile ilişkili olabilir (6). Bu hastalardan 2'sinde serum IgM değerleri yaşa göre normal değerlerin 2 SS'a göre altında bulundu. Bu duruma ilişkin literatür bilgisi bulunmamakla beraber, immün yetmezliğin HBV mutantlarının gelişimini artırdığı bilgileri ile uyumludur (82). Bu hastalarda tedavi sonrası görülen ters serokonversiyon, (reversiyon) bir "reaktivasyon" dan çok, aşı veya aşı ile birlikte levamisolun etkisi ile oluşan "alevlenme" ile ilişkilendirmek daha olası gözükmemektedir. Nitekim bu hastaların 2'sinde serum ALT düzeyleri normal iken kontrollerde bu değerlerin yükseldiği gözlenmiştir. Diğer olası bir görüş ise şudur: Bu hastalar muhtemelen hem precore minus mutant tip virüslerle hem de orijinal(wild) tip virüslerle infekteldirler. Tedavi ile mutant tipler lizisle ortamdan uzaklaşırken ortamda HBeAg sekrete edebilen orijinal (wild) tip virüsler dominant hale geliyor olabilir.

### **Serum ALT düzeyi:**

Çalışmamızda başlangıçta serum ALT düzeyi normal değerlerden yüksek bulunan 49 hastanın tedavi sonrası 15 'inde (%28'i) ALT değerlerinin normal sınırlara düştüğü gözlemlendi. Bazı hastalarda ise ALT değerlerinin daha da yükseldiği gözlemlendi. (9 hastada)

Çalışmamızda levamisol verilen 32 hasta arasında tedavi öncesi serum ALT değerleri normal sınırların üzerinde olan 18 hastanın 7'sinde (%38) tedavi



sonrası normal değerlere düştüğü tespit edildi. Bu sonuçlar benzer çalışmalar ile karşılaştırıldığında daha düşük kalmaktadır. Kronik B hepatitli 8 çocuk üzerinde yapılan bir çalışmada levamizol, 2,5mg/kg/gün/ iki kez haftada 6-18 ay boyunca kullanılmış, tedavi sonunda 6 hastada (%75) ALT değerlerinin normal değerlere indiği belirtilmektedir (66). Levamizolün 18 ay boyunca verildiği erişkinler üzerinde yapılan bir çalışmada başka bir çalışmada bu oran %80 olarak verilmektedir (65). Bu çalışmalar ile çalışmamız arasındaki oranlar açısından bulunan fark, levamizolün kullanılma süresine bağlı olabilir. Interferon ile yapılan benzer çalışmalarda %47 (79), ve %46 (64), %50 gibi oranlar verilmiştir. aynı çalışmalarda interferonun birlikte kullanılması durumunda daha düşük oranlar elde edilmiştir. Ancak bu sonuç levamizole spesifik olmayıp diğer immünmodülatörlerin (örneğin IFN $\gamma$ ) IFN- $\alpha$  ile birlikte kullanılması durumunda da benzer olumsuz sonuçlar elde edilmiştir (79). Bu durum immün sistemin aşırı uyarılmasına bağlı yorgun düşmesi ya da paraliziye uğraması ile ilişkilendirilmektedir. Levamizolün hergün (continue) verilmesinden çok aralıklı olarak verilmesinin daha etkin olduğu belirtilmektedir (79). Bulgular levamizolün tek başına aralıklı ve daha uzun süreli kullanımının ALT normalleşmesi üzerine daha etkili olduğunu telkin etmektedir.

Bazı hastalarda (n=31) ise serum ALT değerlerinin tedavi öncesine göre daha da yükseldiği tespit edildi. Interferon ve diğer immünsitümölan ilaçlar ile de görülen tedavinin ilk aylarındaki bu durum, artan sitotoksik yanıtı sekonder gelişen infekte hepatositlerin harabiyetine bağlıdır. Tedaviye yanıt açısından erken ortaya çıkan olumlu bir prognostik yanıtıdır (83). Her üç tedavi grubunda benzer oranlarda ALT yükselmesi gözlemlendi. Tedavinin üçüncü ayında tespit edilen bu durum, olumlu bir gelişme olarak değerlendirildi. Bu hastaların hiç birisinde serum ALT düzeyi başlangıç değerlerinin iki katından daha fazla yükselmedi. Hastalarımızın hiç birisinde önemli bir yan etki gözlenmedi.

### **Lenfosit ve lenfosit alt gruplarına ilişkin analizler**

#### **Mutlak lenfosit sayısındaki değişikliklere ilişkin yorumlar:**

Tedavi öncesi 93 hastadan 6'sında (%6,04) absolu lenfosit sayıları, yaşa göre normal değerlerin altında saptanırken tedavi sonrası yapılan kontrollerde

absolu lenfosit sayısı düşük hasta sayısının 6 'dan 3'e (%3,22) düştüğü tespit edildi. Kronik B hepatitli bazı hastalarımızda tedavi öncesi saptanan total lenfosit sayısındaki düşük değerler literatür verileri ile uyumlu bulundu(84). Levamizol, lenfositlerin,aktivasyonunu fagositik aktivitelerini ve lenfokin salınımını artırır. Bu etkilerinin yanında özellikle T lenfositleri olmak üzere mutlak lenfosit sayılarını da artırır. Bu özellik çeşitli hastalıklar üzerinde çok sayıda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (85,86,87). Çalışmamızda levamizol kullanımı ile ilişkili olarak mutlak lenfosit sayısında görülen artış, bu literatür verileri ile uyumlu bulunurken, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ). Aşı ve aşı ile birlikte levamizol verilen gruplarda da benzer şekilde tedavi öncesi ve sonrası mutlak lenfosit değerleri açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Sonuç olarak; mutlak lenfosit sayısındaki düşüklük tablo 21'de de görüleceği gibi total T (CD3) ve total B (CD19) lenfositlerdeki düşüklükten kaynaklandığı ve rastlantısal olduğu söylenebilir. Levamizol bazı kronik B hepatitli hastalarda total lenfosit sayısını artırabilir.

### **CD3 (total T lenfosit) :**

Tedavi öncesi 93 hastadan 12'sinde (%12,8) total T lenfosit sayısı (CD3), yaşa göre normal değerlerin altında saptanırken, tedavi sonrası yapılan kontrollerde total T lenfosit sayısı düşük hasta sayısının 12'den 3'e (%3,22) düştüğü tespit edildi. Tedavi öncesi kronik B hepatitli bazı hastalarımızda saptadığımız CD3 değerlerindeki düşüklük literatür verileri ile paralellik göstermektedir (88,89,90). Tedavi sonrası yapılan kontrollerde tüm gruplarda total T lenfosit sayısı (CD3) artış gösterdi. KPH'lı aşı alan grup ile KAH'lı levamizol alan grup dışındaki diğer gruplarda bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. CD3 T lenfositlerindeki bu artış CD4 aktivasyonuna sekonder gelişen bir yanıt olarak kabul edilebilir. Çünkü CD4 immün yanıtın orkestra şefi olarak görev yapar. CD4 aktivasyonuna sekonder T ve B hücreleri immün yanıtta nihai hedeflerini gerçekleştirmek üzere prolifer olurlar. Nitekim CD3 artışının anlamlı olmadığı KPH'lı aşı alan grup ile KAH'lı levamizol alan gruplarda CD4 artışının anlamlı olmayışı bu öngörüü desteklemektedir. Ayrıca KAH'lı



levamizol verilen grupta(n=18); absolu lenfosit sayısının 4 hastada, CD3 sayısının 5 hastada, CD19 sayısının 7 hastada, CD4 sayısının 2 hastada, CD8 sayısının 1 hastada yaşa göre normal değerlerin altında olduğu tespit edildi. Yine KPH'lı aşı verilen grupta(n=13); CD3 sayısının 2 hastada, CD19 sayısının 3 hastada, CD16/56 sayısının 3 hastada yaşa göre normal değerlerin altında olduğu tespit edildi. Lenfosit alt gruplarına ilişkin bu düşük değerler, diğer tedavi gruplarına göre daha fazla idi. Bu hastaların annelerinde de HBsAg pozitifliğinin bulunması, bu hastalarda lenfosit ve alt gruplarının sentezinde doğumsal bir yapım kusuru ile ilişkili olabileceğini düşündürülebilir. Bu öngörü, intrauterin dönemde HBV antijenlerine maruz kalan fetüste HBV-spesifik T hücrelerinin timik delesyona uğradığı şeklindeki görüşle de uyumaktadır (24). Eğer bu görüşün doğruluğu kanıtlanırsa HBsAg pozitif annelerden doğan HBV ile infekte bebeklerde kronikleşmenin neden daha fazla olduğu sorusunun yanıtına ilişkin önemli bir açıklama getirilmiş olur.

Sonuç olarak; CD3 artışı sağlayamayan bu iki tedavi grupunda immünmodülatör ilaçlara yanıt alınamayışının nedeni bu grupta yoğun olarak bulunan lenfosit ve alt gruplarında görülen sayısal azlık olabilir.

#### **CD19 (total B lenfosit):**

Çalışmaya alınan tüm gruplarda total B lenfosit sayısındaki tedavi öncesi ve sonrası görülen azalma ya da artma yönünde görülen değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Bu sonuç, şu gerçeğe ve çalışmamızda tespit ettiğimiz şu bulgu ile ilişkili olabilir: Levamizol, PNL, makrofaj ve T lenfositleri direk olarak stimüle edip onların salgılarını, hareketliliğini ve proliferasyonunu artırırken, B lenfositleri üzerine direkt bir etkisi bulunmamaktadır (65).

Çalışmamızdaki tüm tedavi gruplarında sayıları 1-7 arasında değişmek üzere toplam 21 tane CD19 değerleri yaşa göre normal değerlerin altında bulunan hastanın olduğu saptandı. Kronik B hepatitli hastaların periferik kanında HBV ile infekte olan mononükleer hücrelerin içerisindeki viral yükün yoğunluğunun araştırıldığı bir çalışmada da viral yükün en fazla monosit ve B lenfositlerde olduğu bildirilmektedir (91). Bu ise B lenfositlerinin aktive ve proliferasyonunu engelleyerek koruyucu antikor sentezinde bir eksikliğe yol

açıyor olabilir. Tedavi gruplarının hiç birisinde CD19 artışının sağlanamayışı bu gerçeklere dayanıyor olabilir.

#### **CD4 ve CD8 :**

Çalışmaya alınan KAH'lı hastaların helper T lenfosit (CD4) sayısında tedavi sonrası görülen artış, levamizol verilen grup ( $p>0,05$ ) dışında aşı ve aşı ile birlikte levamizol verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

KPH'lı hastaların helper T lenfosit sayısında tedavi sonrası görülen artış, hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

CD4 sayısında tedavi sonunda görülen artış KAH'lı hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $p<0,05$ ); KPH'lı hastalarda anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ). KAH ve KPH genel gruplarındaki bu istatistiksel fark aşı ve aşı ile birlikte levamizol verilen KAH'lı hastalardan kaynaklanmaktadır.

KAH'lı levamizol verilen grupta bulunan hastaların levamizole yanıt vermeyişinin nedeni yukarıda da söz edildiği gibi bu grupta yer alan hastalarda bulunan lenfosit ve subgruplarındaki sayısal eksikliğin yoğunluğuna bağlı olabilir. Bu grupta bulunan bir hastada CD8, 2 hastada CD4 eksikliği tespit edilmiştir. Ancak tüm tedavi gruplarında hem CD4 hem de CD8 sayılarında diğer lenfosit alt gruplarında görülen sayısal eksiklik yoğunluğu tespit edilememiştir. Ancak periferik kan lenfosit değerleri her zaman fonksiyonel değişikliklere eşlik etmediği bu değerlerin kontrol gruplarına göre normal veya düşük çıkabileceği hepatik lenfosit düzeylerinin tespitinin daha anlamlı olabileceği belirtilmektedir (90).

KAH'lı grupta aşı tek başına veya levamizol ile birlikte CD4 sayısında tedavi öncesine göre anlamlı bir artış sağlamıştır. Aşının terapötik amaçlı kullanımının temel dinamiğini oluşturan bu sonuç, bu konuda yapılmış çok sayıdaki araştırmaların sonuçları ile de uyumludur. Kronik B hepatitli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada HBsAg aşısının, CD4+ T lenfositlerini indükleyerek onların proliferasyonunu sağladığı gösterilmiştir (92). CD4 indüksiyonu, interferon alfa ve gammayı da uyararak kronik B hepatitinde var olan TH2 dominansını TH1 yoluna kaydırır. Yapılan başka bir çalışmada aşının CD4 indüksiyonu ile bu etkilerinin yanında IL-2, IL-12, TNF gibi TH1 yolu lenfokinleri ile antijen sunan dentritik hücreleri de uyardığı gösterilmiştir (93).



Aşı tedavisinin helper T lenfositlerini prolifer edici etkisi başka çalışmalar ile de gösterilmiştir (57,81).

KPH'lı hastalarda hem levamizol hem de aşının CD4 üzerine etkisi olmamaktadır. Bu gruba etkili olan bir ilaç bulunmamaktadır. Bu hastaların persistansına ilişkin nedenler bu ilaçlara yanıtızılığın nedeni de olabilir.

Çalışmaya alınan KAH'lı hastaların sitotoksik/supresör T lenfosit sayısında tedavi sonrası görülen azalma, levamizol verilen grup dışında ( $p>0,05$ ) aşı ve aşı ile birlikte levamizol verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

KPH'lı hastaların sitotoksik/supresör T lenfosit sayısında tedavi sonrası görülen azalma, hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

CD8 sayısında tedavi sonunda görülen azalma KAH'lı hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $p<0,05$ ); KPH'lı hastalarda anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

İmmünstimulan ilaçlara CD8+ T lenfosit yanıtı artış yönünde olmalıdır. Böylelikle Th1 yolu çalıştırılmış olur. İmmün yanıt aktive olur, infekte hücreler lizise uğrattılır. Halbuki, bizim çalışmamızda tüm tedavi gruplarında bir düşüş saptanmıştır.

KAH'lı levamizol alan grupta CD8'in tedavi sonrasındaki düşüşü, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak immünstimulan bir ilaç olan levamizol ile CD8 düzeyinde artış olmayışının nedeni yukarıda da değinildiği gibi bu grupta lenfosit ve alt gruplarında diğer gruplara oranla daha yoğun olarak bulunan sayısal düşüklük olabilir.

Tek başına veya levamizol ile birlikte aşı kullanan tüm tedavi gruplarında görülen CD8 'deki sayısal azalma rekombinant HBV aşıları içinde bulunan adjuvan olarak kullanılan alüminyum hidroksitten kaynaklanmış olması kuvvetle muhtemeldir. Adjuvan, aşıya olan immün yanıtı etkilemektedir. Adjuvanın cinsine göre MHC sınıf I, MHC sınıf II, Th1 veya Th2 yolları indüklenmektedir. HBV aşıları içinde bulunan alüminyum hidroksit Th2 yolunu stimüle etmektedir. İmmünolojik yanıtta adjuvanın kalitesinin yanında miktarı da önemlidir (94). Alimünyum hidroksit CD4 yanıtını uyararak proliferasyonunu artırırken, CD8 stimülasyonunu inhibe etmektedir. Bu etki adjuvan miktarı arttıkça belirginleşmektedir. Çalışmamızda hastalarımıza her ay gittikçe artan dozlarda (birinci ay 20µg, ikinci ay 30µg, üçüncü ay 40 µg) aşı uygulanmıştır.

Çalışmamızda ortaya çıkan sonuç bu bilgilerle uyumludur. Yapılan bir çalışmada adjuvanın, CD8 sitotoksik T lenfosit aktivitesini down-regülasyona uğratmak sureti ile suprese ettiği gösterilmiştir (95). Bu immünizasyonda istenen bir durum olmasına karşın terapötik amaçlı kullanımda sorun ortaya çıkarabilir. Bu nedenle HBV'nin değişik antijen komponentleri (HBsAg, HBcAg, HBV DNA) ile değişik adjuvantların (ISCOM, saponin, lipid konjugatları, lipozomlar) birleştirilerek yapıldığı aşı çalışmaları devam etmektedir.

#### **CD4/CD8 :**

Çalışmaya alınan KAH'lı hastaların CD4/CD8 oranında tedavi sonrası görülen artış, levamizol verilen grup dışında ( $p>0,05$ ) aşı ve aşı ile birlikte levamizol verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ).

KPH'lı hastaların CD4/CD8 oranında tedavi sonrası görülen azalma ya da artma, hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p<0,05$ ).

Tedavi sonrasında CD4/CD8 oranında görülen artış bir yandan CD4 artışına diğer yandan ise CD8 azalmasına bağlıdır.

#### **CD16/56 :**

Çalışmaya alınan KAH ve KPH'lı tüm tedavi gruplarında (L,A,LA) tedavi öncesi ve tedavi sonrası natural killer değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Kronik HBV enfeksiyonlarında NK'ların rolüne ilişkin kanıtlar yetersizdir. akut HBV enfeksiyonunun erken dönemlerinde NK'ların sayısında bir artış gösterilirken konvelasan dönem boyunca normal değerler saptanmıştır (96).

Yapılan bir çalışmada levamizolün NK aktivitesi üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır (97). Bu ise çalışmamızdaki sonuçlarla uyumludur.

Teröpatik amaçlı kullanımda HBsAg aşılarının NK üzerine etkisi hakkında ise henüz veri bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda da gerek levamizol gerekse HBsAg aşısı, kronik B hepatit enfeksiyonlu çocuklarda serum NK düzeyinde bir değişiklik yapmamıştır.



### **Serum immünglobulin düzeyleri:**

Kronik hepatit B enfeksiyonunda virüsün eradikasyonunda hücresele immünitenin yanında onunla eşgüdömlü olarak aktive olan humoral immün yanıtın da büyük önemi bulunmaktadır. Biz bu çalışmamızda humoral immün yanıtın parametrelerinden olan immünglobulin düzeylerinin immünstimölan tedavi ile nasıl değiştiiğini araştırdık.

Kronik hepatit B'li tüm hasta gruplarında tedavi öncesi ve sonrası serum total immünglobulin düzeylerinde arasındaki azalma yönündeki fark, bazı gruplarda istatikselle olarak da anlamlı bulundu. İmmünoterapi ile serum total immünglobulin düzeylerinde görölen azalma literatür verileri ile uyumludur (63). Ancak serum total immünglobulin düzeylerinde azalma yönündeki bu fark, kronik hepatitli hastaların tümü alınarak değerlendirildiğinde hem KAH hem de KPH gruplarının her ikisinde de istatikselle olarak anlamlı bulunmadı. Bu sonuç, bu yöndeki çalışma sonucu ile paralellik göstermektedir (98). Bazı gruplardaki istatikselle anlamlılık muhtemelen gruplardaki hasta sayılarının azlığından kaynaklanmaktadır.

Serum immünglobulin düzeylerinde tedavi sonrası görölen bu azalma, immünstimölan ajanların immün sistemi aktive etmesi sonucu immünglobulin tüketimindeki artışa bağlı olabilir.

### **Serum C3 ve C4 düzeyleri:**

Kronik hepatitlerin patogeneğinde immün yanıtın nonspesifik efektör mekanizmalarından biri olan kompleman sistemi de rol oynamaktadır. Biz bu çalışmamızda bu sistemin nativ ürünleri olan C3 ve C4 düzeylerinin nasıl değiştiiğini araştırdık. Tüm gruplarda özellikle C4 düzeyinde tedavi öncesine göre tedavi sonrası değerlerde istatikselle olarak anlamlı bir düşöklük saptandı. Bu azalma, kompleman sisteminin immünstimölan ilaçlarla aktive olması sonucu tüketilmesini düşöndürmektedir (99).

### **Serum HBV DNA düzeylerindeki değişikliklerine ilişkin yorumlar:**

HBV DNA, HBV virüsünün aktif replikasyonunu gösteren bilinen en hassas parametredir. Ancak HBV DNA pozitifliği her zaman aktif replikasyonu göstermemektedir (100). Çalışmamızda tedavi sonrası HBV DNA değerleri üç vaka dışında tedavi öncesi değerlere göre belirgin bir şekilde artmıştır ( $p < 0,05$ ). Bu sonuç benzer çalışma sonuçları ile çelişiyor gözükmemektedir (50,57,65). Bu çelişkinin nedeni kontrol sonuçlarının değerlendirilme süresi ile ilişkilendirilmiştir. Şöyleki; bizim çalışmamızda tedavi sonrası değerlendirme üçüncü ayın sonunda yapılmış erken sonuçlar iken benzer çalışmalarda kontrol sonuçlar tedavinin 6-18. aylarda yapılmış olmasıdır. Nitekim özel nedenlerden dolayı çalışmaya erken başladığımız üç hastamızda başlangıç değerlerinden daha düşük değerler elde ettik. Erken aylarda HBV DNA düzeylerindeki bu artışın nedeni aktif replikasyona işaret etmemektedir. Bu artış, immünstimulan ilaçların etkisi ile infekte hepatositlerin destrüksiyonu sonucu hepatosit içerisindeki HBV ve antijenik partiküllerin (HBsAg, HBcAg, HBeAg, HBV DNA) ortama salınmasına bağlıdır. (66,100) Tedavi sırasında görülen ALT yükselmesi de aynı gerekçeye dayanmaktadır. Diğer viral antijenlerle birlikte HBV DNA'nın ekspresyonundaki bu ani artış, bu antijenik partikülleri, virüs-spesifik T lenfositlere açık bir hedef haline getirir. Bu ise immünstimulan cevaba yanıtı göstermesi açısından olumlu bir sonuçtur. Bu artış geçicidir. Biz uzun süreli sonuçları değerlendirmek için bu hastalarımızı halen takip etmekteyiz. Nitekim altıncı ayın sonunda sonuçlarını henüz elde ettiğimiz ilk hastalarımızda HBV DNA'nın negatifleştiği veya başlangıç değerlerine göre belirgin bir azalma saptadık.

### **HBsAg değişikliklerine ilişkin yorumlar:**

Çalışmamıza katılan toplam 93 hastanın yalnızca 2'sinde HBsAg kaybı gözlemlendi. Bu 2 hasta da alışılagelmişin dışında serolojik profillere sahipti. Bunların birisinde (I. Hasta) tedavi öncesi salt HBsAg pozitifliği bulunmakta idi.



Tek başına HBsAg pozitifliğine şu durumlarda rastlanabileceği bildirilmektedir (10,101):

Akut HBV enfeksiyonun seyri sırasında HBsAg'nin ortaya çıkması ile HBeAg'nin saptanması arasında geçen ortalama 10 günlük sürede saptanabilir. Yalancı test pozitifliği olabilir. Bu duruma nükleokapsid yapısı farklı olan ve HBV-2 olarak adlandırılan varyant bir HBV virüsünün neden olabileceği de bildirilmektedir. Ancak bu durumdaki serolojik yanıtızlığın intrensek viral değışiklikler yerine konağın immün yanıtından kaynaklandığı ileri sürülmüştür(10).

Ni ve arkadaşları(101) prospektif olarak izledikleri kronik HBsAg taşıyıcısı çocukların %4,2'sinde tek başına HBsAg pozitifliği saptamışlardır. Bu çocukların annelerinin birisi dışında hepsinde HBsAg pozitifliği saptanması perinatal bulaşı düşündürmektedir. Ancak annelerin hepsinde anti-HBc yanıtının görülmesi nedeni ile kalıtsal bir defekten uzaklaştırmaktadır. Bu çocukların bir kısmında bir süre sonra anti-HBc yanıtının görülmüş olması immün defekten çok, spesifik B lenfositlerine karşı immün toleransı telkin etmektedir. Çalışmamızda takip ettiğimiz bu hastada ise CD19 (total B lenfosit ) yaşa göre normal değerlerin altında saptanmıştır (Tablo 35). Ayrıca bu hastanın HBsAg pozitif diğer kardeşinde HBsAg ve anti-HBc total pozitifliği dışında diğer serolojik marker'ler de negatif idi. Tüm bu sonuçlar immün toleransın yanında B lenfositlerdeki sayısal bir eksikliğin de etkili olabileceğini telkin etmektedir. Levamizol ve aşı kullanan bu hastada tedavi sonrası anti-HBs yanında anti-HBc 'nin de ortaya çıkması, CD19'daki sayısal eksikliğin düzelmesi immünstimulan ilaçların, B lenfosit yanıtızlığını aşmada en azından bir kısım vakada etkili olabileceğini düşündürmektedir.

HBsAg kaybı görülen diğer hastada (II. Hasta) ise başlangıçta kuşku lu HBsAg pozitifliği yanında anti-HBc total pozitifliği saptanmıştı. HBV DNA da negatif idi. Sadece levamizol kullanan bu hastada tedavi sonrası HBV'nin tüm marker'leri negatif olarak saptandı (HBV DNA dahil). Bu ise başlangıçtaki HBsAg pozitifliğinin yalancı test pozitifliği olduğunu düşündürmektedir.

## SONUÇLAR

### I- Hastaların Genel Özelliklerine İlişkin Sonuçlar:

1. Çalışmamızda kronik hepatit B erkeklerde daha sık olarak saptanmıştır. E/K oranı 1,65/1 olarak tespit edilmiştir.
2. Hastalarımızın yaş ortalaması 10.4 olarak belirlenmiştir.
3. HBsAg pozitif çocukların ebeveynlerinde, özellikle annelerinde HBsAg pozitifliği sağlıklı populusyona göre artmış olduğu gözlemlendi. Çalışmamızda HBsAg pozitifliği, hasta çocukların annelerinde %38; babalarında ise %22 olarak belirlenmiştir.
4. Hastalarımızdaki bulaşın, temel olarak horizontal (%32), ve vertikal(%24) yolla olduğu saptanırken herhangi bir bulaş yolu belirlenemeyen hastalar %34 oranındadır.

### II. Hücresel İmmün Yanıt İlişkin Sonuçlar:

5. Çalışmamızda bazı hastalarda (%6,04) tedavi öncesi absolu lenfosit sayısında yaşa göre normal değerlerin altında değerler saptanmıştır. Tedavi sonrası bu hastaların %3,22'inde değerler normal düzeylere yükseldiği gözlemlendi. Levamizolün tek başına veya aşı ile birlikte kullanıldığı tüm gruplarda absolu lenfosit sayısında tedavi sonrası artış görülmesine karşın bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).
6. KBH'lı çocukların %12.8'inde tedavi öncesi absolu CD3 sayısında yaşa göre normal değerlerin altında değerler saptanmıştır. Tedavi sonrası bu oranın %3,22'e düştüğü belirlenmiştir. KBH'lı çocuklarda levamizol ve HBsAg aşısı CD3 artışı sağlamaktadır ( $p<0,05$ ).
7. Aşı, levamizol ile veya tek başına KAH'lı çocuk hastalarda CD4 artışı sağlamaktadır ( $p<0,05$ ). Ancak KPH'lı çocuklarda CD4 artışı üzerine etkisi yetersizdir ( $p>0,05$ ).
8. CD3 artışının, CD4 artışına bağlı olduğu gözlenmiştir.
9. KAH'lı çocuk hastalarda aşının tek başına veya levamizol ile birlikte kullanımı absolu CD8 düzeyinde düşüşe neden olmaktadır ( $p<0,05$ ). Aynı etki KPH'lı hastalarda gösterilememiştir ( $p>0,05$ ). Aşının, CD8 düzeyindeki düşüş üzerine etkisi, içerisinde bulunan adjuvandan kaynaklandığını düşündürmektedir.



10.KBH'lı çocuk hastalarda kullanılan immünmodölatör ilaçlar, KAH'lı hastalarda CD4/CD8 oranında artışa neden olurken ( $p<0,05$ ), KPH'lı hastalarda anlamlı bir etki oluşturmamıştır ( $p>0,05$ ). CD4/CD8 oranında görülen artış ise hem CD4'teki artışa hem de CD8 düzeyindeki azalmaya bağlı olduğu anlaşılmıştır.

11.Tedavi öncesi hastalarımızın %6,04'ünde absolu CD16/56 sayısında yaşa göre normal değerlerin altında değerler saptanmıştır. Tedavi sonrası bu hastaların tümünde normal değerler bulunmuştur. Ancak kullanılan immünmodölatör ilaçlar hiçbir tedavi grubunda CD16/56 artışı üzerine etkili bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

### III. Humoral İmmün Yanıt İlişkin Sonuçlar:

12.Levamizol ve/veya aşının, total immünglobulin(G,A,M) düzeyleri üzerine azalma ya da artma yönünde bir etkileri bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

13.Tedavi öncesi IgM düzeyi düşük bulunan 2 hastada tedavi sonrası değerler yine düşük olarak bulunmuştur.

14.KBH'lı çocukların %22,5'inde absolu CD19 sayısında yaşa göre normal değerlerin altında değerler tespit edilmiştir. Tedavi sonrası bu oranın %13,9'a düştüğü gözlenmiştir. Ancak levamizol ve/veya aşının absolu CD19 sayısında artış için etkili olmadığı anlaşılmıştır ( $p>0,05$ ).

15.Levamizol ve/veya aşının C3 üzerine bir etkisi bulunmazken ( $p>0,05$ ) C4 üzerine tüm gruplarda azalma yönünde etkili bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

16.Levamizol ve/veya aşı HBeAg kaybı (%34) ve anti-HBe'ye serokonversiyon (%25) üzerine etkili bulunmuştur.

17.Aşı ile birlikte levamizol kullanımı anti-HBc total yanıtı oluşmamış KBH'lı hastalarda,bu yanıtın ortaya çıkmasını sağlamıştır.

18. Aşı ile birlikte levamizol kullanan bir hastada HBsAg kaybı ve anti-HBs'ye serokonversiyon sağlanabilmiştir.

### III. HBV Replikasyonuna İlişkin Sonuçlar:

19.Levamizol ve/veya aşı, KBH'lı çocuk hastalarda tedavinin erken döneminde HBV DNA düzeyinde ani bir yükselmeye neden olduğu saptanmıştır. Bu yükselişin infekte hepatositlerin lizisi sonucu artan viral ekspresyona bağlı geçici bir durum olduğu sonucuna varılmıştır.

20.Levamizol ve/veya aşının yüksek serum ALT düzeylerinin normalleşmesi üzerine etkili bulunmuştur (%28).

## ÖZET

Kronik B hepatiti, kendine özgü klinik, biyokimyasal, seroloji ve histopatolojik özellikleri olan karaciğerin uzun süreli (en az altı ay) iltihabi (inflamatuvar) hastalığıdır. Kronikleşmeye eğilimden kişinin immün yapısının sorumlu olduğu belirtilmektedir.

Bu çalışmada kronik B hepatit'li hastaların tedavisinde kullanılan immünmodülatör ilaçlardan levamizol ve HBsAg aşısının çocuk hastalarda kullanımı ve buna bağlı olarak kantitatif bazı immün parametreler ile viral replikasyonda meydana gelen değişimler incelenerek değerlendirildi.

Hastaların lenfosit alt gruplarından CD3, CD19, CD4, CD8, CD4/CD8 CD16/56 değerleri flowsitometrik yöntemle; serum IgG, IgA, IgM, C3, C4 düzeyleri nefelometrik yöntemle, HBV DNA düzeyleri mikrokolon DNA prop RIA (Abbot) yöntemi ile, HBV marker'leri ELİZA yöntemi ile, serum ALT, AST değerleri OlympusAU800 otoanalyzer cihazında kendi kiti ile çalışıldı.

Kliniğimizde kronik B hepatiti tanısı almış 93 çocuk hastanın tedavi öncesi ve sonrası hücresel ve humoral immün parametrelerdeki bulgular şu şekilde idi:

Hastaların %6,04'ünde absolu lenfosit sayısı, %12,8'inde total T lenfosit sayısı (CD3), %22,5'inde total B lenfosit sayısı (CD19), %3,22'sinde helper T lenfosit sayısı (CD4), %2,15'inde sitotoksik/supresör T lenfosit sayısı (CD8), (%6,04) natural killer lenfosit sayısı yaşa göre normal değerlerin altında saptandı. Tedavi sonrası bu oranların sırası ile % 3,22 -%3,22-%13,9 -%0,9-%0-%0 değerlerine düştüğü gözlemlendi. Levamizol ve/veya aşının KBH'lı hastaların absolu lenfosit sayısı, absolu CD19 sayısı, absolu CD16/56 sayılarında sağladığı artışın anlamlı olmadığı belirlendi ( $p>0,05$ ). Absolu CD3 sayısında görülen artış üzerine etkili oldukları saptandı. Aşı kullanan kronik aktif hepatit'li hastalarda CD4'de artış ve CD8'de ise azalmaya neden olduğu gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Aynı hastalarda levamizolün tedavi öncesi ve sonrası değişim üzerine etkili olmadığı belirlendi ( $p>0,05$ ). Tedavi öncesi 2 hastada IgM yaşa göre normal değerlerin altında saptandı. Tedavi sonrası bu durumun değişmediği gözlemlendi. Levamizol ve/veya aşı C3 düzeyi üzerine etkili olmazken, C4 düzeyinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Levamizol ve/veya aşı, HBeAg (%34) kaybı ve anti-HBe'ye serokonversiyon (%25) ve ALT normalleşmesi üzerine etkili (%28) bulunurken HBV DNA düzeylerinde belirgin bir yükselmeye neden olmaktadır.

Sonuç olarak; KHB tanısı ile izlenen hastaların, çalışılan immün parametreler açısından bir kısmında kantitatif bir yetmezlik bulunmaktadır. Levamizol ve HBV aşısı bu hastaların bir bölümünde bu parametrelerin normal değerlere yükselmesini sağlamaktadır. HBV'nin persistansında ve klirensinde temel rol oynayan helper T lenfosit (CD4) ve sitotoksik T lenfosit (CD8) düzeyleri üzerine levamizolün önemli bir etkisi gözükmezken HBV aşısı, CD4 T lenfosit sayısında belirgin bir artışa, CD8 T lenfosit sayısında da belirgin bir düşüşe neden olmaktadır.

Anahtar kelimeler : HBV, immün parametre, lenfosit alt grupları, levamizol, HBsAg vaccine.



## SUMMARY

Chronic hepatitis B that has specific clinical, biochemical, serologic and histopathologic characteristics is a long term (at least six month) inflammatory disease of the liver. It is strongly suggested Immunity plays a key role in chronicity of the disease.

Ninety three patients (59 males and 34 female) diagnosed as having chronic hepatitis B, aged between 2–18 years were studied. In this study, the relationship between two immunomodulator drugs, levamisole and HBsAg vaccine, which are used in child patients with Chronic hepatitis B, and the immune response to these drugs (as well as how some of the immune parameters can be affected quantitatively) including viral replication were investigated.

The lymphocyte subgroups; CD3, CD19, CD4, CD8, CD4/CD8, CD16/56, serum immunoglobulins; IgG, IgA, IgM and complement components; C3, C4 and HBV DNA, HBV markers, serum ALT, AST were assessed by using flow cytometric methods, nephelometric method, microcolon DNA probe RIA (Abbot) and ELISA, Olympus AU 800 autoanalyzer, respectively.

Before treatment the quantitative investigation results of immunological parameters of 93 patients were as follows; of the patients, absolute lymphocyte in %6,04, total T lymphocyte (CD3) in %12,8, total B lymphocyte (CD19) in %22.5, helper T lymphocyte (CD4), in %3,22, cytotoxic/supressor T lymphocyte (CD8) in %2,15 and natural killer lymphocyte in %6,04 were found to be below than their age matched controls. While the same values were 3,22%- 3,22%- 13,9%- 0,9%- 0% and 0% respectively, after treatment. The increase seen in levamisole and/or vaccine groups in absolute lymphocyte count, absolute CD19 and absolute CD16/56 were not statistically significant ( $p>0,05$ ). However, the treatment in all groups seemed to be effective in increasing the absolute CD3 count ( $p<0,05$ ). The vaccine was found to increase CD4 subset in patients while it caused a decrease in CD8 subset in with choronic active hepatitis B patients ( $p<0,05$ ), but levamisole showed no effect in the same patients group. Two patients' serum IgM levels were below the standart deviation of normals. This condition remained unchanged after treatment. The treatment of levamisole and/or vaccine had no effect on C3 levels while they leded to a decrease in C4 levels.

The study suggested that levamisole and/or vaccine had an important effect in the loss of HBeAg antigen (34%), in occurence of anti-HBe antibody (25%) and in the normalization ALT levels (28%) while these drugs result in marked elevation in HBV DNA levels

As in conclusion, the patients with choronic hepatitis B possess quantitative deficiencies in the immune parameters investigated. Levamisole and/or HBV vaccine is likely to be very effective in the normalization immune status in some of the patients. while levamisole does not exert a substantive effect on T-helper (CD4) and cytotoxic T lymphocytes (CD8) which eventually participates in the clearence and persistence of HBV, vaccination with HBV gives rise to substantial in increase in CD4 T lymphocytes and to decrease CD8 T subsets.

Key word: HBV, immune parameters, lymphocyte subpopulation, levamisole, HBsAg vaccine

## KAYNAKLAR

1. Buckley RH : The immunologic system and disorders. In: Textbook of Pediatrics (15<sup>th</sup> ed).Berhman RE, Kliegman RM, Arvin AM (ed). Chapter 116, Philadelphia, WB Saunders Co. 1996, pp. 561-567
2. Coşkun Y: Selektif IgA eksikliğinde immünolojik özellikler. Uzmanlık tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi. Ankara 1987, p.6-10
3. Kılıçturgay K. İmmünoloji. Nobel Kitabevleri, İstanbul,1997, s. 118-141
4. Terr AI: Inflammation. In: Basic & Clinical Immunology. (8<sup>th</sup> ed ), Stites DB, Terr IA, Parslow TG (ed). Chapter 11, Lebanon, Appleton & Lange, 1994, pp.137-150
5. Walport M: Complement. In: Immunology. (4<sup>th</sup> ed). Roitt I. Chapter 13, London, Mosby Co. 1998, pp.13.1-13.17
6. Kıyan M:HBV enfeksiyonu. In :Viral Hepatit'98 . Kılıçturgay K.(ed) İstanbul, Deniz Ofset, 1998, pp. 66-93
7. Yenen OŞ: Viral Hepatitler. In :Enfeksiyon Hastalıkları. Topçu A.W. (ed) İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1996, pp.664-690
8. Johnson YN Lau, Teresa L Wright: Molecular virology and pathogenesis of hepatitis B. The Lancet. 342:1335-1340, 1993.
9. Carman WF, Zanetti AR, Karayannis P et al: Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. The Lancet. 336: 325-329, 1990.
10. Bilgiç A, Erensoy S: Viral hepatitlerde alışlagelmişin dışında serolojik profiller. Viral Hepatit Dergisi. 4(1):63-79, 1998.
11. Bozkaya H, Ayola B, Lok SF et al: High rate mutations in the hepatitis B core gene during the immune clearance phase of chronic hepatitis B virus infection. Hepatology , 24(1): 32-37, 1996.
12. Lee MW: Hepatitis B virus infection. The N. Engl J Med, 337(24):1733-1745, 1997.



13. Tabak F: Viral hepatitlerin epidemiyolojisi. In : Günümüzde Virus Hepatitleri. Yücel A.(ed), Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği yayınları, İstanbul, 1998, pp.21-30
14. Taşyaran M: Epidemiyoloji. In :Viral Hepatit'98. Kılıçturgay K.(ed), İstanbul, 1998, p. 94-100
15. Chisari F., Ferrari C: Hepatitis B immunopathogenesis. Annu Rev Immunol. 13:29-60, 1995.
16. Chisari FV: Cytotoxic T cell and viral hepatitis. J. Clin. Invest. 99(7) :1472-1477, 1997.
17. Başaran G: Virüs hepatitlerinde patogenezi. In : Günümüzde Virus Hepatitleri. Yücel A.(ed). Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği yayınları. İstanbul, p.35-42
18. Koziel MJ: Immunology of viral hepatitis. The American J Med. 100: 98-109,1996.
19. Howard C T: Hepatitis B and D. Medicine. 24(7):34-37,1999.
20. Bonino F: Chronic hepatitis B. The role of interferons in chronic viral hepatitis. Consultant series (4) No:1. Macclesfield: Gardiner- Caldwell Com. Ltd, 1992. p.17-20
21. Franco A, Guidotti LG, Hobbs MV et al: Pathogenetic effector function of CD4-pozitive T helper 1 cells in hepatitis B virüs transgenic mice. J Immunol .159(4): 2001-2008,1997.
22. Rossol S, Marinos G, Carucci P et al: Interleukin-12 of Th1 cytokines is important for viral clearance in chronic hepatitis B. J Clin Invest. 99(12): 3025-3033,1997.
23. Milich DR, Chen MK, Hughes JL et al: The secreted hepatitis B precore antigen can modulate the immune response to the nucleocapsid : a mechanism for persistence. J Immunol . 160(4): 2013-2021,1998.

24. Kılıçturgay K:Viral hepatitte immünopatogenez. In :Viral Hepatit'98 . Kılıçturgay K.(ed) İstanbul. Deniz Ofset. 1998 p. 94-100
25. Vitiello A, Ishioka G, Grey HM et al: Developmental of a lipeptide-based therapeutic vaccine to treat chronic HBV infection. J Clin Invest. 95 :341-349,1995.
26. Livigston BD, Crimi C, Grey H et al:The hepatitis B virus-spesific CTL responses induced in humans by lipopeptide vaccination are comparable to those elicited by acute viral infection. The J Immunol.159:1383-1392, 1997.
27. Tulunay Ö:Viral hepatitte patoloji. In :Viral Hepatit'98 . Kılıçturgay K.(ed) İstanbul. Deniz Ofset. 1998 p. 247-261
28. Robinson WS. : Hepadnaviridae. In: Principles and Practice of Infectious Disease (4<sup>th</sup>). Mandell G, Bennett J, Dolin R (ed) Vol:2, New york. Churchill Livingstone co. 1995. p.1406-1437
29. Gürkan F, Koçak N: Kronik hepatit B: Klinik, laboratuar bulguları ve tedavi. Katkı. 19(6):610-619, 1998.
30. Kurt H:Viral hepatitte klinik. In :Viral Hepatit'98 . Kılıçturgay K.(ed) İstanbul. Deniz Ofset. 1998, p.101-106
31. Kaymakoğlu S: Kronik viral hepatitlerin doğal seyri nedir? Mevcut ilaçlarla tedavi akılcı mıdır? In: Kronik Viral Hepatitlerde Tedavi Yaklaşımları(1th) . Çakaloğlu Y (ed). Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi. 1998, p.18-25
32. Çakaloğlu Y: Kronik viral hepatitlerin tedavisi- yeni yaklaşımlar. Actuel Tıp Dergisi. 2(1):25-29, 1997.
33. Foster G: Interferon in host defence. Seminars in liver disease.17(4):287-295, 1997.
34. Akarca US. Kronik B hepatitinde interferon tedavisi. In: Kronik Viral Hepatitlerde Tedavi Yaklaşımları(1th) . Çakaloğlu Y (ed). Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi. 1998, p.26-41



35. Hoofnagle J: The treatment of chronic viral hepatitis. *The N Engl J Med.* 336(5):347-356, 1997.
36. Karayalçın S: Kronik hepatit B ve C'de tedavi. *Güncel Gastroenteroloji.* 1(1):68-82, 1997.
37. Ökten A: Kronik hepatitlerin tedavisi ve interferonlar. *Klinik Gelişim,* 4:1247-1250, 1991.
38. Fried MW: Therapy of chronic viral hepatitis. *Medical Clinical North America,* 80(5):597-973, 1996.
39. Hoofnagle J : Therapy of viral hepatitis. *Digestion,* 59:563-578, 1998.
40. Lai CL, Ching CK, Tung AKM: Lamivudine is effective in suppressing hepatitis B virus DNA in Chinese hepatitis B surface antigen carriers : a placebo-controlled trial. *Hepatology.* 25:241-244, 1997.
41. Fried M, Korenman J, Bisceglie A: A pilot study of 2'-3'-Dideoxinosine for the treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology.* 16:861-864, 1992.
42. Akarca US:Kronik B hepatitinde interferon dışı tedaviler ve interferon ile yapılan kombinasyonlar. In :*Viral Hepatit'98 . Kılıçturgay K.(ed) İstanbul. Deniz Ofset. 1998, p. 119-131*
43. Stanberry LR, Berstein DI, Burke RL et al: Vaccination with recombinant herpes simplex virus glycoproteins : protection against initial and recurrent genital herpes. *J Infect Dis.*155(5):914-920, 1987.
44. Strauss SE, Corey L, Burke RL et al: Placebo-controlled trial of vaccination with recombinant glycoprotein D of herpes simplex virus type 2 for immunotherapy of genital herpes. *Lancet.* 343:1460-3, 1994.
45. Csatory LK, Telegdy L, Gergely P et al: Preliminary report of a controlled trial of MTH-68/B virus vaccine treatment in acute B and C hepatitis: aphase II study. *Anticancer Res.* 18:1279-82, 1998.
46. Sylvan SPE, Hellöström UB, Lundberg PR: Detection of cellular and humoral immunity to hepatitis B surface antigen (HBsAg) in asymptomatic HBsAg carriers. *Clin Exp Immunol.* 62:288-295, 1985.

47. Akbar SMF, Kajino K, Tonimoto K et al: Placebo-controlled trial of vaccination with hepatitis virus surface antigen in hepatitis B virus transgenic mice. *J Hepatol.* 26:131-137, 1997.
48. Pol CJ, Driss F, Micehl ML, et al. Specific vaccine therapy in chronic hepatitis infection. *Lancet*, 344:342, 1994.
49. Akbar SMF, Yamamoto K, Masumoto T et al. Vaccine therapy in hepatitis B virus carrier: A study on prognostic marker. *J Hepatol*, 1997; 26 (suppl 1):87
50. Pol S: Immunotherapy of chronic hepatitis B by anti HBV vaccine. *Biomed Pharmacother.* 49:3,105-9, 1995.
51. Pol S, Driss F, Carnot F et al: Vaccination against hepatitis B virus : an efficient immunotherapy against hepatitis B multiplication. *C.R. Acad*, 316:688-91, 1993.
52. Hsu HY, Chang Mh, Hsieh RP et al: Humoral and cellular immune responses to hepatitis B vaccination in hepatitis B surface antigen-carrier children who cleared serum-hepatitis B surface antigen. *Hepatology.* 24:1355-1360, 1996.
53. Wen YM, Xiong SD, Zhang W et al: Solid matrix-antibody-antigen complex can clear viraemia and antigenaemia in persistent duck hepatitis B virus infection. *J Gen Virol.* 75:335-9, 1994.
54. Wen YM, Wu XH, Hu D et al: Hepatitis B vaccine and anti-HBs complex as approach for vaccine therapy. *The Lancet.* 345:1575-76, 1995.
55. Livingstone BD, Crimi C, Grey H et al: The hepatitis B virus-specific CTL responses induced in humans by lipopeptide vaccination are comparable to those elicited by acute viral infection. *J Immunol.* 159(3):1383-92, 1997.
56. Chow YH, Huang WL, Chi WK et al: Improvement of hepatitis B virus DNA vaccines by plasmids coexpressing hepatitis B surface antigen and interleukin-2. *J Virol.* 71:169-178, 1997.
57. Pol S, Couillin I, Mancini M et al: Immunization of patient chronically infected with hepatitis B virus. *First World Congress on Vaccines and Immunization kitapçığı.* İstanbul, 1998, p.S1-4



58. Onji M, Akbar SMF, Yamamoto K et al: Vaccine therapy in murine hepatitis B virus carriers; prognostic importance of antigen presenting dendritic cells. *Hepatology*, 26 (suppl):223A
59. Fruttaldo L, Schettino G, Mongino F: Anti-HBV vaccination before therapy with interferon (IFN) in chronic B hepatitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 1(6):197-201, 1998.
60. Kayaalp O. : tıbbi Farmakoloji (5<sup>th</sup> ) . Ankara. Feryal Basımevi, 1989. Pp.907, 1048
61. Murray GD: Levamisole for corticosteroid-dependent nephrotic syndrome in childhood. *The Lancet*, 337:1555-57, 1991.
62. Garszon MC: Levamisole treatment in HIV-infected Zambian children. *The Lancet*, 340:1099-1100, 1992.
63. Sun A, Chiang CP, Chiou PS et al: Immunomodulation by levamisole in patients with recurrent aphthous ulcers or oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*, 23(4): 172-7, 1994.
64. Fattovich G, Giustina G, Brollo L et al: Therapy for chronic hepatitis B with lymphoblastoid interferon  $\alpha$  and levamisole. *Hepatology*.16:1115-9, 1992.
65. Fattovich G, Brollo L, Pontisso P et al: Levamisole therapy in chronic type B hepatitis. Result of double-blind randomized trial *Gastroenterology* 91:692-6, 1986.
66. Fattovich G, Cadrobbi P, Crivellaro C et al: Virological changes in chronic hepatitis type B treated with levamisole. *Digestion* . 25: 131-137, 1982.
67. Sherlock S, Dooley J. : *Disease of The Liver and Biliary System*.(9<sup>th</sup>) Chapter 17, London:Blackwell Scientific Pub, 1993, p.313
68. Ozsoylu S, Sargin C, Koçak N: Levamisole treatment in acute hepatitis. *Clin Pediatr (Phila)*, 20(8): 497-500, 1981.
69. Ruiz-Moreno M, Garcia R, Jose Rúa M et al: Levamisole and interferon in children with chronic hepatitis B. *Hepatology*, 18: 264-269, 1993.

70. Ilan Y, Nagler A, Adler R et al: Ablation of persistent hepatitis B by bone marrow transplantation from a hepatitis B- immune donor. *Gastroenterology*, 104:1818-1821, 1993.
71. Shouval D, Ilan Y: Transplantation of hepatitis B immune lymphocytes as means for adoptive transfer of immunity hepatitis B virus. *Journal of Hepatology*, 23:98-101, 1995.
72. Julio M, Bosch O, Moreleda G et al: Pilot study of recombinant human Granulocyte-macrophage Colony-Stimulating Factor in the treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*, 18:775-780, 1993.
73. Battegay M: Hepatitis A. In: Principles and Practice of Infectious Disease (4<sup>th</sup>). Mandell G, Bennett J, Dolin R (ed) Vol:2, New York. Churchill Livingstone co. 1995, p.1636
74. Başaran G: Virüs hepatitlerinden korunma. In : Günümüzde Virüs Hepatitleri. Yücel A.(ed). İstanbul. İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği yayınları. p.88-96
75. Kanra G, Kara A: Hepatit B aşılı. *Katkı*, 19(2-3):205-218, 1998.
76. Sivaslı E: Ailevi Akdeniz Ateşinde Humoral ve Hücrel İmmünite. Uzmanlık tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi. Gaziantep, 1998, s. 54-67
77. Akdeniz H, Türkoğan K, Demiröz P: Hepatit B taşıyıcılarının ailelerinin hepatit B virus enfeksiyonu açısından araştırılması. *Viral Hepatit Derg*, 3(1):52-55, 1997.
78. Blumberg SS, Sutnick AI, London WT, et al: Sex distribution of Australia antigen. *Arch Intern Med*, 130:227-231, 1972.
79. Bosch O, Moreleda G, Castillo I et al. Treatment of chronic hepatitis B recombinant interferon alpha versus recombinant interferon alpha plus levamisole. *Journal of Hepatology*, 19:437-441, 1993.
80. Şentürk H, Tabak F, Akdoğan M et al: Therapeutic vaccination with a pre-S2 containing vaccine in chronic hepatitis B: A promising approach. *Hepatology*, 1998 October :391-398



81. Pol S, Driss F, Coullin I et al: A controlled study of anti-HBV vaccine therapy in chronic hepatitis B infection. *Hepatology* , 1998; 390: suply p:488A
82. Dündar İH: Hepatit Virüslerinde Mutasyon Ve Getirdiği Sorunlar.In: "Viral Hepatit 98" kitabından (I. Basım) Kılıçturgay K(ed). Bursa. Deniz ofset. 1998. p.330-356
83. Akarca US: Kronik B Hepatitinde İnterferon Tedavisi."Kronik Viral Hepatitlerde Tedavi Yaklaşımları" kitabından .(I.basım) Cakaloğlu Y., Ökten A.(ed). Ankara. Bilimsel tıp yayınevi. 1998, s.26-41
84. Feher J, Jakab L, Pozsonyi T et al: Circulating B ve T lymphocytes in chronic active liver disease. *Acta Med Sci Hung*, 35(1): 47-52, 1978.
85. Wybran J, Govaerts A: Levamisole and human lymphocyte surface markers. *Clin Exp Immunol*, 27(2):319-21, 1977.
86. Khanna A, Ojha KN, Gupta RM: Effect of levamisole as an immünomodulating agent in trophoblastic lesions. *Indian J Pathol Microbial*, 36(1):32-7, 1993.
87. Scherak O, Smolen JS, Menzel EJ et al: Effect of levamisole on immüнологical parameters in patients with systemic lupus erthematosus. *Scand J Rheumatol*, 9(2): 106-112, 1980.
88. Ponzetto A, Arrigoni A: Alteration in cell-mediated immüniy in patients with chronic active hepatitis. I. lymphocyte subpopulations. *G Bacteriol Virol Immunol*, 72(1-6):28-32, 1979.
89. Saltoğlu N, Çetiner S, Taşova Y et al: Hepatit B virus ile bazı immün parametrelerin ilişkisinin değerlendirilmesi. *Viral Hepatit Dergisi*, 2;73-79, 1996.
90. Yenicesu M, Özdemir Ç, Arpacı F, et al: HBsAg pozitif kronik taşıyıcı ve HBsAg pozitif kronik Hepatit olgularında T lenfosit alt grupları. *Gastroenteroloji*, 2(2);146-152, 1991.
91. Trippler M, Meyer zum Buschenfelde KH, Gerken G: HBV viral load within subpopulations of periferal blood mononuclear cell in HBV infection using limiting dilution PCR. *J Virol Method*,78(1-2):129-47, 1999

92. Couillin I, Pol S, Mancini M et al: Specific vaccine therapy in chronic hepatitis B: induction of T cell proliferative responses specific for envelope antigens. *J Infect Dis*, 180(1):15-26, 1999.
93. Akbar SM, Abe M, Masumoto T et al: Mechanism of action of vaccine therapy in murine hepatitis B virus carriers: vaccine-induced activation of antigen presenting dendritic cell. *J Hepatol*, 30(5): 755-64, 1999.
94. Gupta RK, Siber GR. Adjuvant for human vaccines-current status, problem and future prospects. *Vaccine*, 14: 1263-75, 1995.
95. Schirmbeck R, Melber K, Kuhröber A et al: Immunization with soluble hepatitis B virus surface protein elicit murine H-2 class I restricted CD8+ cytotoxic T lymphocyte responses in vivo. *Journal of Immunology*, 152: 1110-1119, 1994.
96. Chemello L, Mondelli M, Bortolotti, F et al: Natural killer activity in patients with acute viral hepatitis. *Clin Exp Immunol*, 64: 59-64, 1986.
97. Liberati M, Borenden EC, Mc Bain JA et al: Effect of levamisole on human natural killer and killer activity and production of interferons. *Immunopharmacology* , 5(1) : 11-18, 1982.
98. Kietduriyakul V, Charuchaimontri C: Serum immünoglobulin levels before and after hepatitis B vaccinations. *J Med Assoc Thai*, 74(1) :19-23, 1991.
99. Bozkaya H, Ölmez Ü, Tutkak H et al: Hepatit B virusuna bağlı kronik karaciğer hastalığında kompleman aktivasyonu. *Gastroenteroloji*, 4 (4) : 581-586, 1993.
100. Marinos G, Nikolai V, Williams R: Impact of complete inhibition of viral replication on the cellular immune response in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 24:991-995, 1996.
101. Yen-Hsuan Ni et al: Absence or delayed apperance of hepatitis B core antibody in chronic hepatitis B surface antigen carrier children. *J Hepatology*, 17:150-4, 1993.