



**T.C**  
**MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**KRONİK TENOFOVİR UYGULAMASI SONUCU ORTAYA ÇIKABİLECEK  
OLAN NEFROTOKSİSİTE, HEPATOTOKSİSİTE, NÖROTOKSİSİTE VE  
PANKREAS HASARI ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)'İN  
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Filiz ERTEKİN**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANLARI**

**Doç. Dr. M. Murat ÇELİK**  
**Doç. Dr. Harun ALP**

**HATAY-2014**

**T.C**  
**MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**KRONİK TENOFOVİR UYGULAMASI SONUCU ORTAYA ÇIKABİLECEK  
OLAN NEFROTOKSİSİTE, HEPATOTOKSİSİTE, NÖROTOKSİSİTE VE  
PANKREAS HASARI ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)'İN  
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Filiz ERTEKİN**

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANLARI**

**Doç. Dr. M. Murat ÇELİK**

**Doç. Dr. Harun ALP**

**HATAY-2014**

**Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
1206U0103 proje numarası ile desteklenmiştir.**

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KRONİK TENOFOVİR UYGULAMASI SONUCU ORTAYA ÇIKABİLECEK  
OLAN NEFROTOKSİSİTE, HEPATOTOKSİSİTE, NÖROTOKSİSİTE VE  
PANKREAS HASARI ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)'İN  
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Filiz ERTEKİN

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı.....

Prof.Dr. Ömer Faruk KÖKOĞLU

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma  
olduğunu onaylıyorum.....

Prof. Dr. Hasan KAYA

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve  
yeterli bulunmuştur.....

.....  
Doç. Dr. M. Murat ÇELİK  
Tez Danışmanı

.....  
Doç. Dr. Harun ALP  
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Doç. Dr. M. Murat Çelik
2. Doç. Dr. Edip UÇAR
3. Doç. Dr. Cumali GÖKÇE

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TABLolar ve RESİMLER LİSTESİ.....	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hepatit B Virusü.....	3
2.1.1. Tarihçe.....	3
2.1.2. Hepatit B Virusü (HBV) Yapısı.....	4
2.2. Epidemiyoloji.....	6
2.2.1. Hepatit B Virusü Bulaşma Yolları.....	7
2.2.2. Türkiye’de Hepatit B Virusü Enfeksiyonu.....	8
2.3. Hepatit B Virusü Patogenezi.....	9
2.4. Hepatit B Virusü Tanısı.....	10
2.4.1. Serolojik östergeler.....	10
2.5. Kronik Hepatit B’nin Güncel Tedavisi.....	14
2.5.1. İnterferon – Alfa (IFN-İfa).....	14
2.5.2. Entekavir.....	14
2.5.3. Lamivudin.....	14
2.5.4. Adefovir.....	15
2.5.5. Telbivudin.....	15
2.5.6. Tenofovir Disoproxil Fumarat.....	15
2.5.7. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE).....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Biyokimyasal Analiz.....	18
3.2. İmmünohistokimyasal Prosedürler.....	18
3.3. Histopatolojik Analiz.....	18
3.3.1. Pankreasın Histopatolojik İncelemesi.....	19
3.3.2. Karaciğerin Histopatolojik İncelemesi.....	20
3.3.3. Beynin Histopatolojik İncelemesi.....	20

3.3.4. Böbreğin Histopatolojik İncelemesi.....	21
3.3.5. İstatistiksel Analiz.....	21
4. BULGULAR.....	22
4.1.Histopatolojik Bulgular.....	22
4.1.1. Karaciğer.....	22
4.1.2. Beyin.....	26
4.1.3. Böbrek.....	31
4.1.4. Akciğer.....	35
4.1.5. Pankreas.....	35
4.2.Biyokimyasal Analiz.....	39
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
7. KAYNAKLAR.....	46
8. ÖZGEÇMİŞ.....	51

## TABLolar ve RESİMLER LİSTESİ

<b>Tablo 1:</b> Kronik HBV'nin farklı klinik ve serolojik göstergeleri.....	13
<b>Tablo 2:</b> Üre ve kreatinin seviyelerinin karşılaştırılması.....	39
<b>Resim 1:</b> Normal karaciğer dokusu ( Kontrol Grubu) (H&E, x200).....	22
<b>Resim 2:</b> Karaciğer dokusunda hafif derecede vakuoler dejenerasyon, stoplazmik ve nükleer değişiklikler (H&E, x400). (Tenofovir Grubu).....	23
<b>Resim 3:</b> Grade 2 hasar: Sitoplazmik hipereozinofilik değişiklikler, nükleer piknozis, hücreler arası sınırlarda kayıp izlenmekte (H&E, x400). ( Tenofovir Grubu ).....	23
<b>Resim 4:</b> Şiddetli karaciğer hasarı; yaygın nekroz (H&E, x200).( Tenofovir Grubu )....	24
<b>Resim 5:</b> Tenofovir'den sonra CAPE verilen olgularda rejeneratif değişiklikler ve fokal stoplazmik hipereozinofili görülen toparlanma süreci (H&E, x200). ( Tenofovir + CAPE ).....	24
<b>Resim 6:</b> Normal kontrol grubu (IHK, x200).( Bcl-2, Bax ve caspase-3 ile apoptoz durumları ).....	25
<b>Resim 7:</b> Tenofovir uygulanan karaciğer grubunda artmış apoptoz (IHK, x200). (Bcl-2, Bax ve caspase-3 ile apoptoz durumları).....	25
<b>Resim 8:</b> Tenofovir +CAPE grubu.Apoptoz düzeyi sadece tenofovir verilen gruba göre düşük olarak izlenmekte (IHK, x200). (Bcl-2, Bax ve caspase-3 ile apoptoz durumları ).....	26
<b>Resim 9:</b> Normal beyin dokusu (H&E x40).....	27
<b>Resim 10:</b> Vasküler proliferasyon ve genişleme (H&E, x100). ( Tenofovir Grubu ).....	27

<b>Resim 11:</b> İnflamasyon, vakuoler, dejenerasyon ve nekrobiotik değişiklikler (H&E, x200). ( Tenofovir Grubu ).....	28
<b>Resim 12:</b> Nekroz (H&E, x100). ( Tenofovir Grubu ).....	28
<b>Resim 13:</b> Tenofovirle birlikte CAPE uygulaması sonucu histopatolojik olarak ılımlı bir düzelme izlenmekte (H&E, x100). ( Tenofovir + CAPE ).....	29
<b>Resim 14:</b> Apoptoz belirteçleri ile değerlendirildiğinde, normal beyin (IHK x 200).....	29
<b>Resim 15:</b> Tenofovir uygulaması ile artan apoptoz (IHK x 200).....	30
<b>Resim 16:</b> Tenofovir +CAPE ile ılımlı apoptoz (IHK x 200).....	30
<b>Resim 17:</b> Normal böbrek dokusu (H&E, x 200).....	31
<b>Resim 18:</b> Birkaç tübülde hafif tübüler hücre şişmesi, nükleer kayıp ve fırçamsı kenar kaybı görülüyor (H&E, x 200) (Tenofovir Grubu ).....	32
<b>Resim 19:</b> Şiddetli renal tübüler toksisite (H&E, x 200)(Tenofovir Grubu).....	32
<b>Resim 20:</b> Tenofovir+CAPE grubunda normal sınırlarda böbrek dokusu (H&E, 200).....	33
<b>Resim 21:</b> Apoptoz belirteçleri ile değerlendirildiğinde, normal böbrek dokusu (IHK x 200).....	33
<b>Resim 22:</b> Tenofovir uygulaması ile artan apoptoz ( IHK x 400).....	34
<b>Resim 23:</b> Tenofovir +CAPE ile ılımlı apoptoz (IHK x 200).....	34
<b>Resim 24:</b> Normal pankreas dokusu ( Kontrol Grubu ) (H&E; x 200).....	35
<b>Resim 25:</b> Ödem ve konjesyon (H&E; x 200) ( Tenofovir Grubu ).....	36
<b>Resim 26:</b> Lenfositik infiltrasyon (pankreatit) (H&E; x 400). ( Tenofovir Grubu ).....	36
<b>Resim 27:</b> Pankreasta oluşan belirgin nekroz (H&Ex400) ( Tenofovir Grubu ).....	37
<b>Resim 28:</b> Ödem, konjesyon ve iltihabi infiltratta düzelme (H&E; x 200).	

( Tenofovir+ CAPE ).....	37
<b>Resim 29:</b> Kontrol pankeas grubunda insulin (IHK; x 200).....	38
<b>Resim 30:</b> Tenofovir grubunda insulin (IHK; x 200).....	38



## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1:</b> HBV'nin genomik organizasyonu ve sentezlenen RNA'lar.....	4
<b>Şekil 2:</b> HBV'nin yaşam ve replikasyon döngüsü.....	5
<b>Şekil 3:</b> Ürenin gruplar arası ortalama değerleri.....	40
<b>Şekil 4:</b> Kreatinin gruplar arasındaki ortalama değerleri.....	40

## KISALTMALAR

<b>HBV</b>	: Hepatit B virusu
<b>HbsAg</b>	: Hepatit B surface (yüzey) antijeni
<b>HbcAg</b>	: Hepatit B core (kor) antijeni
<b>HbeAg</b>	: Hepatit B early antijeni
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>HCC</b>	: Hepatosellüler karsinom
<b>IFN</b>	: İnterferon
<b>ORF</b>	: Open reading frame
<b>Au ag</b>	: Avustralya antijeni
<b>P53</b>	: Tümör süpresör gen
<b>YMDD</b>	: Tirozin-Methionin-Aspartat-Aspartat motifi
<b>PCR</b>	: Polimerase Chain Reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)
<b>HCV</b>	: Hepatit C virusu
<b>PKMH</b>	: Periferik kan mononükleer hücrelerinde
<b>HIV</b>	: Human immunodeficiency virus
<b>CAPE</b>	: Kafeik asit fenetil ester
<b>A.B.D</b>	: Amerika Birleşik Devleti
<b>PEG-IFN</b>	: Pegile interferon
<b>T</b>	: Tenofovir verilen grup
<b>K</b>	: Kontrol grubu
<b>T+CAPE</b>	: Tenofovir ve CAPE verilen grup

## TEŞEKKÜR

Hekimlik mesleğimi insanlara zarar vermeden sürdürmek için, aşmam gereken birçok engel olduğunun bilincinde olarak;

Uzmanlık eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam, klinik Anabilim Dalı başkanım Sayın Prof. Dr. Hasan KAYA'ya

Bilimsel ve mesleki deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Dr. Cumali GÖKÇE, Dr. Ümit BİLGE, Dr. Mehmet DEMİR, Dr. M. Rami HELVACI, Dr. Edip UÇAR, Dr. İhsan ÜSTÜN, Dr. H. Faruk TURGUT, Dr. Adnan TAŞ, Dr. A. Taner SÜMBÜL'e

Tez çalışmam süresince her konuda desteğini, teorik ve pratikte değerli bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez danışmanım sayın Yrd. Doç. Dr. M. Murat ÇELİK'e ve tezimin oluşturulması ve hazırlanması aşamalarında özverili katkılarıyla beni yönlendiren ve bu zorlu süreçte yükümlülüğümün büyük bir bölümünü paylaşan ikinci tez danışmanım sayın Doç. Dr. Harun ALP'e

Rotasyonlarımda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta Sayın Doç. Dr. Yusuf ÖNLEN başta olmak üzere tüm Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarına, Sayın Doç. Dr. Nihat ŞEN olmak üzere tüm Kardiyoloji Kliniği Anabilim Dalı hocalarına, Sayın Doç. Dr. Sabahat GENÇ başta olmak üzere tüm Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarına

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım Mustafa Kemal Üniversitesi Dahiliye Kliniğindeki asistan arkadaşlarım, hemşire ve personel arkadaşlara

Sınırsız sevgi ve desteğini her an yanımda hissettiğim, baş tacım kıymetli annem Şükriye ERTEKİN'e, ilkokul eğitimimi tamamladıktan sonra bulunduğu yöre ve dönemin şartlarından ötürü eğitimimle ilgili planım olmayıp iki yıl aradan sonra bana inanan ve bugün bunları yazmama vesile olan değerli abim Yusuf ERTEKİN'e, desteğini esirgemeyen abim Veysi ERTEKİN, kardeşim Mahmut ERTEKİN'e şu an aramızda olmayıp tıp fakültesi eğitimime başladığım andan itibaren İç Hastalıkları Uzmanı olmamı isteyen sevgili babam Tevfik ERTEKİN'e ve diğer aile bireylerime minnet ve şükranlarımı sunuyorum.

Dr. Filiz ERTEKİN

HATAY- 2014

## ÖZET

**Amaç:** Kronik tenofovir uygulaması sonucu ortaya çıkabilecek olan nefrotoksisite, hepatotoksisite, nörotoksisite ve pankreas hasarı üzerine kafeik asit fenetil ester (CAPE)'nin koruyucu etkilerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır.

**Yöntem:** Çalışma 200-300 gr ağırlığındaki erişkin Wistar Albino dişi cinsi 21 adet sıçan üzerinde yapıldı. Ratlar randomize şekilde kontrol (C), tenofovir (T), CAPE, tenofovir+CAPE olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Çalışmada T ratlara kronik olarak 30 gün boyunca 30 mg/kg/gün oral yolla verildi. Sonra intraperitoneal olarak CAPE 10 µmol/kg dozunda uygulandı. Biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme yapıldı.

**Bulgular:** Histomorfolojide; T grubunda pankreasta hasar oluştuğu, T+CAPE grubunda ise hasarın azaldığı ve beta hücre yoğunluğunun kontrol grubuna göre T grubunda azalırken, T+CAPE grubunda sadece T verilen gruba göre arttığı belirlendi. Böbrek dokusunda; T'nin artan apoptoza ve tübüler toksisiteye neden olduğu, ancak T+CAPE kullanımının ise tübüler toksisiteyi engellediği belirlendi. Beyinde; T grubunda inflamasyon, vakuoler dejenerasyon ve nekrobiyotik değişiklikler gözlenirken, yine T+CAPE grubunda ise ılımlı bir düzelme izlendi. Karaciğerde; T grubunda hasar oluştuğu, T+CAPE grubunda ise apoptoz düzeyinin sadece T verilen gruba göre düştüğü ve rejeneratif değişiklikler ve fokal sitoplazmik hipereozinofiligözlendi. Biyokimyasal açıdan; T grubunda üre ve kreatinin değerlerinin diğer K, CAPE, T+CAPE gruplarına göre anlamlı olmasada yüksek düzeyde olduğu ve CAPE'nin T'nin yükselttiği özellikle kreatinin seviyelerini azalttığı belirlendi. Histopatolojik bulguları biyokimyasal bulgular doğruladı.

**Sonuç:** Kronik T kullanımının karaciğer, beyin, pankreas ve böbrek dokularında hasara neden olduğu, ancak tenofovir sonrası CAPE kullanımının; T toksisitesini azaltabildiği belirlendi. Buna göre, CAPE'nin antiviral tedavide profilaktik amaçla kullanımı konusunda daha uzun süreli çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Tenofovir, CAPE, nefrotoksisite, hepatotoksisite, nörotoksisite, pankreatit.

## ABSTRACT

**Purpose:** To investigation of protective effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on chronic application of tenofovir may arise result of nephrotoxicity, hepatotoxicity, neurotoxicity and pancreas damage.

**Methods:** The study weighing 200-300 g adult Wistar albino rats was carried out on 21 female sex. The rats were randomized into control, tenofovir, CAPE, including tenofovir+CAPE were divided into 4 groups. T in chronic studies in rats for 30 days at 30 mg/kg/day oral doses was administered. Then CAPE intraperitoneally 10 micromol/kg dose was administered. Biochemical and histopathological examinations were performed.

**Findings:** In histomorphological damage to the pancreas in group T, T+CAPE group, the damage is reduced and beta-cell density decreased in T group to the control group, T+CAPE group increased by only T was determined that the group. In kidney tissues; T and tubular increasing apoptosis induced toxicity, but the use of T+CAPE was determined to prevent the tubular toxicity. In brain, inflammation in T group, vacuolar degeneration and nekrobiotik changes observed, however, a moderate improvement in T+CAPE group viewed. In the liver, where damage occurs in T group, T+CAPE group is of the level of apoptosis compared with the group treated only T fell and regenerative changes were observed and focal cytoplasmic hypereosinophilia. Biochemically of not CAPE and raises T to reduce the levels of creatinine were determined in particular. Histopathological findings confirmed the biochemical findings.

**Result:** Chronic use of all of the liver, brain, pancreas and kidney tissue damage caused, but after tenofovir use CAPE; can reduce the toxicity was determined. Accordingly, the purpose of CAPE on the use of prophylactic antiviral treatment should be made more long-term studies have concluded.

**Keywords:** Tenofovir, CAPE, nephrotoxicity, hepatotoxicity, neurotoxicity, pancreatitis.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ:

Kronik hepatit B tüm dünyada önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır. Dünya sağlık örgütü'ne göre dünya üzerinde hepatit B virusu (HBV) ile karşılaşmış 2 milyar kişi olup, bunların 400 milyonu kronik enfektedir. Her yıl 600.000 kadar kişinin hepatit B'nin komplikasyonları nedeni ile kaybedildiği tahmin edilmektedir (1, 2).

Tüm dünyada mortalite ve morbiditenin önemli bir sebebi olması nedeni ile hastalığı önleme amaçlı birçok çalışma yapılmış ve %95 koruyucu etkinliği olan hepatit B virusu aşısı geliştirilmiştir. Bu aşı çok güvenilir olup, bir çok ülkede yenidoğanların aşılması kural olarak kabul edilmiştir.

Hepatit B virusu ile enfekte kişilerde yıllar içerisinde karaciğer yetersizliği ve hepatosellüler (HCC) kanser gelişmektedir. Kronik Hepatit B enfeksiyonu ve kronik komplikasyonları ile mücadele etmenin en iyi yolu HBV DNA düzeyini azaltmaktır.

Tenofovir, bir asiklik nükleotit analogudur ancak daha az nefrotoksik olması sayesinde günde 300 mg kullanılabilmesi, daha güçlü bir antiviral olarak kullanımına imkan sağlamıştır (3). Reverse transkriptazın kompetitif inhibitörüdür ve DNA zincirinin uzamasını durdurur (4). HBV DNA negatifleşmesi, ALT'nin normal düzeylere inmesi, nekroinflamasyonda iyileşme sonlanım noktaları açısından diğer antivirallere göre üstün bulunmuştur.

Antiviraller ile tedaviye bağlı olarak en sık gelişen problem ise ilaç yan etkileridir. Yan etkilere bağlı tedavi uyumu güçleşmekte bu da tedavi yetersizliği, ilaç direnci gelişimi ve gelecekteki tedavi seçeneklerinin tükenmesi gibi birtakım olumsuzluklarla sonuçlanmaktadır. Bu bağlamda tenofovirin başta pankreas ve atılım organları olmak üzere organlar üzerine etkilerini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmak üzere çalışmamızı planladık.

Sunulan tezimizin amacı; kronik tenofovir uygulaması sonucu ortaya çıkan nefrotoksisite, hepatoksisite, nörotoksisite ve pankreas hasarı üzerine CAPE'nin koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır. Tenofovir konusunda az sayıda çalışma olması ve özellikle profilaktif açıdan CAPE ile ilgili herhangi bir çalışmanın olmaması bizim bu konuda çalışma yapmamıza sebep olmuştur. Bu nedenle çalışmamızın özgün bir değere sahip olduğunu ve bu alanda yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacağını düşünüyoruz.

## 2. GENEL BİLGİLER:

### 2.1. Hepatit B Virusu

#### 2.1.1. Tarihçe

Viral hepatitler ile ilgili olabilecek en eski kayıtlar M.Ö.5. yüzyıla uzanmaktadır. Viral hepatitlerin kan ve kan ürünleri ile salgınlara neden olduğuna dair ilk kayıt 1885 senesinde Lurman'a aittir. 1883 yılında Bremende çiçek virusu salgını olduğu yıllarda 1289 tersane işçisi, lenf sıvısı kullanılarak hazırlanan aşıyla çiçek virusuna karşı aşılanmıştır. Lurman aşılanan işçilerin 191'inde birkaç hafta ile 8 ay arasında sarılık geliştiğini tespit etmiş ve raporlamıştır. Lurman; çalışmasında sarılık kaynağını kontamine lenf sıvısı olarak belirtmiştir (5). Bundan sonra sarılık etkeni olarak epidemiyolojik özellikleri farklı olan en az iki virusun bulunduğu fikri gelişmiş ve 1947 yılında Mac Callum ve Bauer enfeksiyöz hepatit için "Hepatit A" ve serum hepatiti için "Hepatit B" kavramlarını geliştirmişlerdir (6).

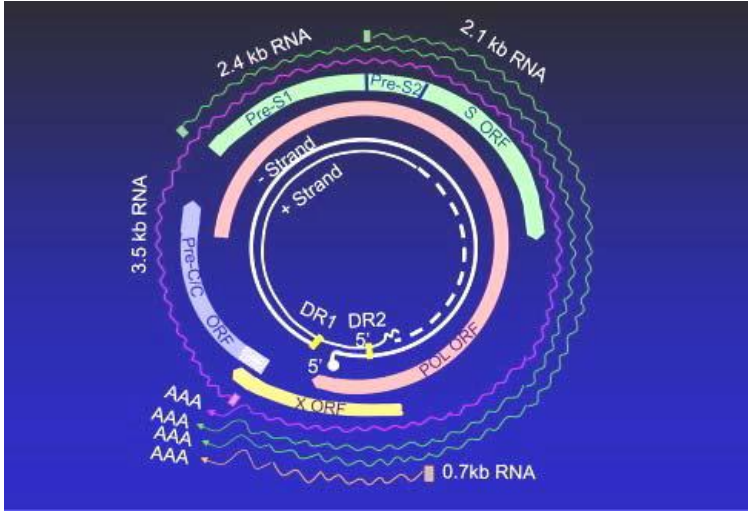
Salgınlara neden olan Hepatit B virusu (HBV), 1965 yılında Blumberg ve Alter'in Avusturalya yerlileri Aborjinler'in kanında Hepatit B virusu yüzey antijenini (Avusturalya antijeni=Au ag) göstermeleriyle tanımlanmıştır. Araştırmacılar bu buluşlarıyla nobel ödülü kazanmışlardır. Hepatit B'nin viral etyolojisi 1970 senesinde Dane ve arkadaşları tarafından "Au ag" serumu ile reaksiyona giren ve "Dane partikülü" olarak adlandırılan viral partiküllerin elektron mikroskopunda gösterilmesi ile kanıtlanmıştır. 1971 yılında Krugman, ısı ile inaktive edilen Hepatit B yüzey antijeni pozitif serumların immünolojik olduğunu ve aşı olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Hepatit B virusunun tam nükleotid dizisi, 1979 yılında DNA klonlanarak ortaya çıkarılmıştır (7-9).

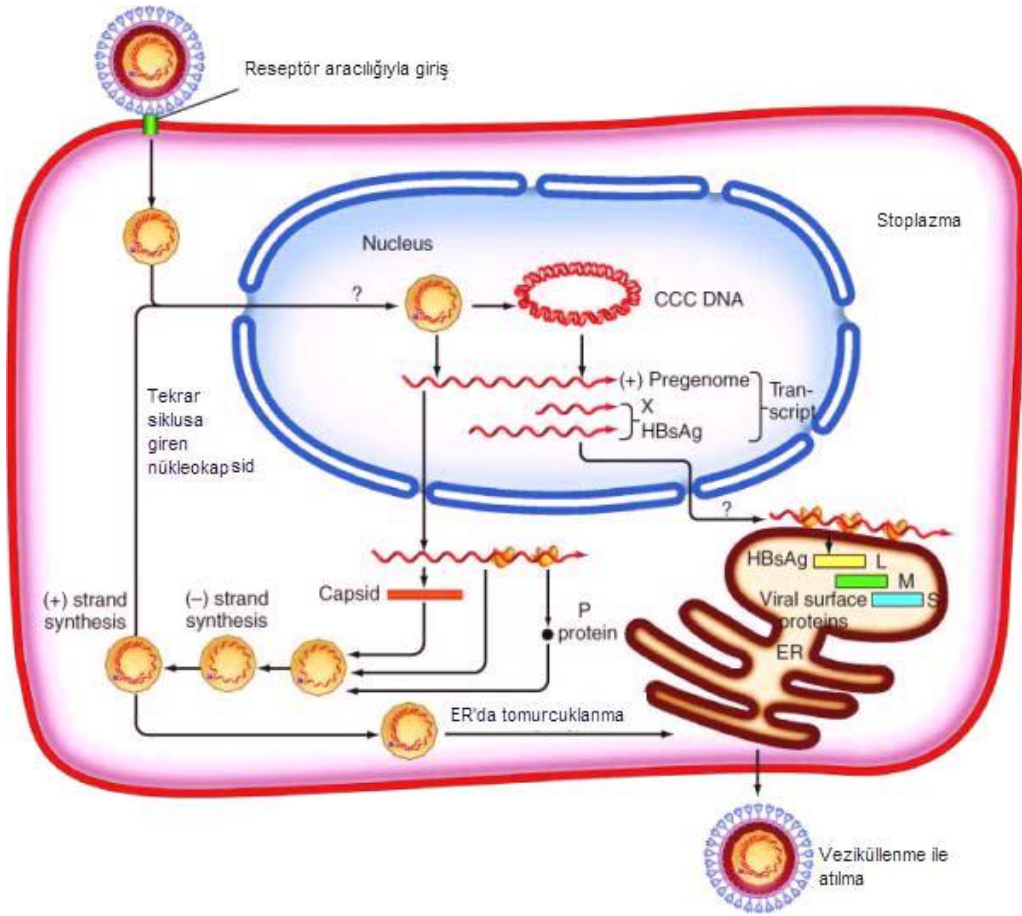


### 2.1.2. Hepatit B Virusu Yapısı

Hepatit B virusu memelilerde ve kanatlılarda enfeksiyon oluşturan, hepadna viridae ailesinin orthohepadnavirus cinsinde yer alan hepatotropik bir DNA virusudur. Ailenin diğer üyeleri gibi (kuş ve memeli virusları) dar bir konak spektrumu ve doku tropizmine sahiptir. Hepatit B virusu sadece insan ve şempanzeleri enfekte eder (10, 11). Hepatit B virusu 42 nm çapında, yuvarlak ve zarflı bir DNA virusudur. Doku tropizmi göstermesi nedeniyle karaciğer dokusunda replike olur. Kısmen çift sarmallı halkasal DNA genomu içerir (12). Konak hücreden kazanılmış lipid zarf üzerinde üç formda viral yüzey antijeni (HBsAg) bulunur. Büyük (L); orta (M) ve küçük (S) yüzey antijenleri. Virusun kapsidi 27 nm çapında ve ikazohedral simetridedir. Çekirdek antijeni (HBcAg); viral genom ve polimeraz enzimini içerir (13, 14).



**Şekil 1:** HBV'nin genomik organizasyonu ve sentezlenen RNA'lar



**Şekil 2:** HBV'nin yaşam ve replikasyon döngüsü (Mandell, Bennet & Dolin: Principles and Practice of Infectious Disease, 6. Edisyon'dan alınmıştır).

## **2.2.Epidemiyoloji**

Tüm dünyada akut ve kronik HBV enfeksiyonu önemli bir sağlık problemi oluşturmaktadır. Dünya üzerinde HBV ile enfekte 2 milyar kişi olup, bunların 400 milyonu kronik enfektedir. Dünyadaki HCC vakalarının %60–80'i HBV ile ilişkilidir. Hepatit B virus enfeksiyonu genotipik olarak heterojenite göstermektedir (15). Genetik analizler ile HBV 8 genotipe ayrılmıştır (A, B, C, D, E, F, G, H). Genotip A en çok kuzey batı Avrupa, kuzey Amerika ve Afrika merkezinde, genotip B ve C doğu ve güney Asya, genotip D Akdeniz ülkeleri, genotip E batı Afrika, genotip F ise orta ve Güney Amerika'da görülmektedir. Genotip G'ye Amerika ve Fransa'da az sayıda olguda rastlanmıştır. Tüm Dünyada baskın genotipler B,C ve D genotipleridir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda hastaların hemen hemen tamamında genotip D ile enfeksiyon gösterilmiştir.

Hepatit B virus enfeksiyonunun gelişme sıklığı coğrafi farklılık göstermektedir. Buna göre ülkeler 3 farklı gruba ayrılır:

### **1. Yüksek Endemisite Ülkeleri:**

Toplumda HBsAg pozitifliği %8'in üzerindedir. Dünya nüfusunun %45'i bu ülkelerde yaşamaktadır. Yüksek endemisite ülkelerinde HBV ile karşılaşma oranı %70–90 arasındadır (16). Bu coğrafyalarda enfeksiyon sıklıkla kronikleşme riskinin yüksek olduğu yeni doğan ve erken çocukluk döneminde kazanılmaktadır. Bu dönemde asemptomatik enfeksiyon geçirilmesi nedeniyle akut hastalık az fakat kronik karaciğer hastalığı ve hepatosellüler kanser oranı yüksektir.

### **2. Orta Endemisite Ülkeleri:**

Toplumda HBsAg pozitifliği %2–7 arasındadır. Dünya nüfusunun %43'ü bu coğrafyada yaşamaktadır. Bu ülkelerde erişkinlerde HBV ile karşılaşma %20–60 arasındadır. Enfeksiyon tüm yaş gruplarında sıklıkla erişkin ve adolesanlarda oluşur ve bu nedenle akut enfeksiyon kliniği hakimdir. Kuzey Afrika ülkeleri, Orta Doğu, Akdeniz havzası (Türkiye de dahil) Doğu Avrupa ve Rusya orta endemisite ülkeleri arasında yer almaktadır.

### **3. Düşük Endemisite Ülkeleri:**

Toplumdaki HBsAg pozitifliği %2'nin altındadır. Dünya nüfusunun %12'si bu ülkelerde yaşamaktadır (ABD, Kuzey ve Batı Avrupa, Avustralya). Bu ülkelerde erişkinlerde HBV ile karşılaşma oranı %20'den azdır. Enfeksiyonların çoğunluğu erişkinlerde ve risk gruplarında görülür.

HBV enfeksiyonunun daha sık görüldüğü yüksek risk gruplarından belli başlıları:

1. Damar içi yoldan uyuşturucu kullananlar.
2. Çok eşli heteroseksüeller.
3. Sık invaziv girişimlere maruz kalanlar.
4. Hemofili hastaları.
5. Hemodiyaliz hastaları.
6. Sık kan ve kan ürünleri transfüzyonu yapılanlar.
7. Homoseksüel erkekler.
8. Hepatit B virusu taşıyıcısı kişilerin cinsel eşleri ve aile bireyleri.
9. Hepatit B virusu taşıyıcısı anneden doğan bebekler.
10. Bakım evlerinde yaşayanlar.

#### **2.2.1. Hepatit B Virusü Bulaşma Yolları**

Hepatit B'nin 4 ana bulaş yolu vardır;

##### **1. Parenteral yolla bulaş:**

Enfekte kan ve kan ürünleri nakli, damar içi uyuşturucu kullananlarda ortak enjektör kullanım ve diğer ortak kullanılan kesici, delici aletler ile bulaşma. Kan vericilerinde HBsAg taramalarına başlandıktan sonra parenteral bulaşmada azalma olmakla birlikte özellikle HBsAg negatif ancak anti-HBc pozitif kan ve dokuların aktarımı ile de virusun bulaşabildiği gösterilmiştir (17, 18).

## **2. Cinsel Yolla Bulaş:**

Virus cinsel salgılarda bulunmaktadır ve mukozal giriş kapılarından girerek enfeksiyona yol açmaktadır. Travmatik ilişkiler ve eşlik eden başka bir cinsel hastalık HBV bulaşma riskini daha da arttırmaktadır (19).

## **3. Taşıyıcı Anneden Bebeğe Bulaş:**

Transplental (in-utero), perinatal veya postnatal anne sütü ile bulaş olabilir. En sık enfekte kan ve salgılar aracılığı ile doğum sırasında bulaşma gerçekleşmektedir. HBeAg pozitif anneden bebeğe bulaş riski HBeAg negatif anneye göre daha yüksektir (16).

## **4. Diğer Bulaş Yolları:**

Aynı ev içinde yakın yaşam koşullarında da HBV bulaşı görülmektedir. Horizontal bulaş yolu özellikle 7–14 yaş grubunda görülen sero-prevelans artışından sorumlu tutulmaktadır. HBcAg pozitif olgularda idrarda HBV-DNA pozitifliği %91 oranında bulunmuştur. Dolayısıyla enfekte kişilerin idrarı ilede bulaş olabilmektedir (16).

### **2.2.2. Türkiye’de Hepatit B Virus Enfeksiyonu**

Orta endemisite ülkeleri arasında yer alan ülkemizde HBsAg pozitifliği %1-14.3 arasında bildirilmiştir. İstanbul, İzmir gibi batı illerinde %3-4.5 gibi daha düşük oranda HBsAg pozitifliği bulunurken Güney Doğu ve Doğu Anadolu illerinde %8-14.5 gibi yüksek oranlar bildirilmiştir. Türkiyenin 8 ayrı bölgesinden 30 yaş altı 2683 kişide 2005 senesinde yapılan bir çalışmada HBsAg %5.4, anti HBc IgG %17 oranında pozitif bulunmuştur. Kan donörlerinde yapılan bir çalışmada HBsAg pozitifliği 2004 senesinde %4.19 olarak tespit edilmiştir. Yine yapılan çalışmalarda ülkemizdeki baskın genotip; Genotip D olarak görülmektedir (20, 21).

### 2.3. Hepatit B Virusu Patogenezi

Hepatit B virusu sitopatik bir virus değildir; karaciğer hasarının oluşmasında viral faktörlerden çok konak immün yanıtının rolü vardır. Viral replikasyonun yüksek olduğu fakat normal karaciğer enzim düzeyine sahip kronik taşıyıcılar, virusun direkt sitopatik etkisi olmadığını göstermektedir. HBV’de viral yayılımı belirleyen değişkenler ile konağın immün sistemi arasındaki denge viral hepatitin sonucunu belirlemektedir. Hastalık patogenezinde hücrel immün yanıt primer olarak sorumluyken, etkili viral klirens için hem humoral hem de hücrel immün yanıt gereklidir (22).

Akut enfeksiyonda immünolojik cevap hem non viral antijen spesifik veya doğal cevabı (natural killer hücreler, İFN) hem de adaptif bir immün yanıtı (viral antijenlere antikorlar, CD4+T hücreleri ve CD8+ Sitotoksik T lenfositleri CTL) kapsamaktadır. CD4+T hücre yanıtları özellikle çekirdek ve polimeraz proteinlerine daha az olarakta yüzey proteinlerine karşı gelişir. CD8+ sitotoksik T lenfositleri (CTL) tip 1 enflamatuvar sitokinler ile enfekte hücreleri karaciğerden temizlemekte, böylece virusun enfekte olmamış hücrelere yayılımını ve virusun temizlenmesi için gerekli olan immün yanıtın derecesini azaltmaktadır (22).

Akut enfeksiyonun erken döneminde enfektif CD4+T hücre yanıtı ve daha sonraları kalitatif ve kantitatif yetersiz CD8+ sitotoksik T hücre yanıt gelişimi persistan HBV enfeksiyonu gelişiminden sorumludur (22).

Akut HBV enfeksiyonunda vireminin erken klirensinde sitokinlerin görev aldığı non sitolitik immün yanıt sorumluyken, ileri dönemde karaciğer dokusunda nekroinflamatuvar değişikliklerden CD4+T Helper ve CD8+ sitokin cevabı sorumludur. Sitokin yanıtları (TNF alfa, IFN gama) karaciğerde kuppfer hücreleri tarafından modifiye edilerek enfekte olmamış karaciğer hücrelerine zarar vermeden virusun temizlenmesi sağlanmaktadır. Sitokinlerin üretiminde CD4+T helper, CD8+T sitotoksik, natural killer T lenfositler görev alır.

Akut HBVenfeksiyonunda immün sistemin birçok kolu virüsü temizlemek için aktive olmaktadır. Transaminazların yükseldiği dönemde HBV proteinlerine karşı antikorlar sentezlenmeye başlamıştır. Hepatit B virüsü enfeksiyonunda antikor yanıtı, T hücre bağımlı bir süreçtir. Akut enfeksiyon sırasında HBsAg, HBcAg, HBeAg

proteinlerine karşı güçlü CD4+T hücre yanıtı gelişir. Vireminin kontrolünde en etkin mekanizma HBcAg proteinine karşı MHC class 2 CD4+T hücre yanıtının gelişmesidir. Kronik HBV enfeksiyonunda zayıf CD4+ ve CD8+ CTL hücre yanıtı vardır (23, 24).

Kronik HBV enfeksiyonunda yetersiz gelişen immün yanıt, virüsü eradike edememekle birlikte, karaciğerde sürekli bir enflamatuar ortam oluşturur. Karaciğerde süregelen enflamasyon ve nekroz neticesinde ileri dönemde rejenerasyon ve fibrozis uyarılmaktadır. Bu süreç kronik hepatitten siroza giden klinikopatolojik değişikliklere yol açar.

Virusla enfekte hepatositlerin harabiyeti ve virusun temizlenmesinden sitotoksik T hücrelerin (CTL) sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda sitotoksik T hücre sayısının virusla enfekte hücre sayısından çok düşük olduğu gösterilmiş ve bu nedenle virusun temizlenmesinde enflamatuar sitokinlerin aracılık ettiği ikincil mekanizmaların da rol aldığı düşünülmüştür. TNF alfa ve IFN gama HBV'nin temizlenmesinde etkili olmaktadır (25).

## **2.4. Hepatit B Virusunun Tanısı**

### **2.4.1. Serolojik Göstergeler**

Hepatit B virusuna ait antijenlerin ve antikorların hasta serumunda saptanması esasına dayanır. Bu testler hepatit B virus enfeksiyonunun akut ve kronik dönemlerinin ayrılmasında, enfektivitenin değerlendirilmesinde, immünitenin araştırılmasında, kan ve organ vericilerinin taranmasında rutin olarak kullanılmaktadır (13, 14, 26).

#### **HBsAg:**

HBsAg, Hepatit B virusu enfeksiyonunun işaretidir. Akut enfeksiyonda semptomların başlamasından 3–5 hafta önce tespit edilmeye başlanır. Akut enfeksiyonun iyileşmesinden 4–6 ay sonra negatifleşir (27). HbsAg'nin 6 aydan uzun süre hasta serumunda gösterilmesi kronik enfeksiyona delalet eder (15). HbsAg'nin hasta serumunda saptanması HBV enfeksiyonu olduğunu gösterir. Fulminan seyreden

akut hepatitlerde HBsAg kandan hızla temizlenir ve virusun üreyebileceği hepatosit kalmaması nedeniyle kanda antijen saptanamayabilir. HCV ve HDV ko-enfeksiyonunda da HBsAg sekresyonu baskılanır ve saptanamayacak düzeye inebilir (28).

### **HBeAg:**

HbeAg'nin hasta serumunda saptanması, kanda virusun fazla miktarda olduğunu, aktif viral replikasyonu gösterir. Akut enfeksiyonda HbsAg'yi izleyerek pozitifleşir ve genellikle HbsAg'den önce kaybolur. HBeAg pozitif hastaların bulaştırıcılığı fazladır. Akut enfeksiyonda 10 haftadan uzun süren HBeAg pozitifliği hastalığın kronikleşeceği yönünde güçlü bir göstergedir. Kronik enfeksiyonda ise HbeAg' nin pozitif devam etmesi ağır karaciğer hastalığı gelişme riskini artırır.

### **Anti HBe :**

Anti HBe; HBeAg'nin kaybolmasını takiben erken nekahat döneminde ortaya çıkar. Akut enfeksiyonda anti HBe'nin saptanması viral replikasyonun azaldığının göstergesidir. Ancak "Pre Core Mutant" olguların mutantların varlığında HBeAg sentezi durmasına karşın viral replikasyon sürmekte ve anti HBe ile beraber HBV DNA pozitifliği görülmektedir. Anti HBe tedavi izleminde HBsAg ve HBV DNA ile birlikte önemli bir parametredir.

### **Anti HBc IgM:**

Anti HBcIgM; akut HBV enfeksiyonu göstergesidir. Akut enfeksiyonda hastalık belirtileri ile pozitifleşirken erken nekahat döneminde tepe düzeyine ulaşır ve 3–12 ay içinde azalarak saptanamayacak düzeye geriler. Anti HBc IgM; HBsAg pozitifliğinden 1–4 hafta sonra saptanır ve bazen akut HBV enfeksiyonunun tek göstergesi olarak bulunabilir. "Pencere Dönemi" olarak adlandırılan bu dönemde HBsAg ve HBcAg kaybolmuştur fakat bu antijenlere karşı antikorlar henüz saptanabilecek düzeye ulaşmamıştır. Bu dönemde HBV enfeksiyonunun tek göstergesi anti HBc IgM pozitifliği veya onunla birlikte anti HBc IgG antikorları olarak saptanır (27).



Pencere dönemi ortalama 2–8 hafta kadar sürer. Bazen 1 yıla kadar uzayabileceği bildirilmiştir. Pencere döneminin uzadığı olgularda anti HBc IgM negatifleşirken serumda anti HBcIgG pozitifliği tespit edilir (29).

### **Anti HBc IgG ve Total anti HBc:**

Akut HBV enfeksiyonunda anti HBc IgG, anti HBc IgM’i izleyerek pozitifleşir ve erken nekahat döneminde tepe düzeyine ulaşır; hayat boyu saptanabilecek düzeyde kalır. Anti HBc IgG hayat boyu saptanabilecek bir belirteç olduğundan akut, kronik veya önceden geçirilmiş HBV enfeksiyonu göstergesidir. Bireyin HBV enfeksiyonu ile karşılaşmış olduğunu gösterir. Diğer serolojik göstergeler olmaksızın salt anti HBc IgG pozitifliği; uzamış pencere dönemini, HBsAg’nin saptanamayacak kadar düşük olduğu kronik HBV enfeksiyonunu veya surface mutant HBV enfeksiyonunu düşündürür. HIV enfeksiyonu gibi bağışıklık sisteminin etkilendiği hastalarda da anti HBs kaybolarak, tek enfeksiyon göstergesi olarak anti HBc IgG bulunabilir (30).

### **Anti HBs:**

İyileşme ile sonlanan akut enfeksiyonda HBsAg kaybolduktan sonra saptanabilir düzeye ulaşır. 1 IU anti HBs, 0.9 mikrogram HBsAg’yi nötralize eder (31). Anti HBs antikolarının oluşumu hastalığın iyileşme ile sonlandığını ve bağışıklığı gösterir. Anti HBc IgG ile birlikte serumda hayat boyu tespit edilebilecek düzeyde kalır. Olguların % 15’inde anti HBs antikor düzeyi 6 yıl içerisinde azalarak tespit edilemeyecek düzeye inebilir (29).

HBV aşılmasından sonra da gelişen koruyucu özellikteki antikor anti HBs antikorudur. 10 IU/L nin üzerindeki anti HBs düzeyleri koruyucudur.

HBV enfeksiyonunun tanısında kullanılan serolojik göstergeler birlikte yorumlanarak hastanın bulunduğu dönem, enfektivite durumu ve bağışıklığı değerlendirilerek uyumsuz veya şüpheli test sonuçlarında HBsAg ve HBeAg nötralizasyonuna dayanan doğrulama testleri veya HBV DNA araştırması yapılmalıdır.

**Tablo 1:** Kronik HBV'nin Farklı Klinik ve Serolojik Göstergeleri

	HBV DNA	HBsAg	Total Anti-HBc	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe
Kronik HBV	+++	+	+	-	+	-
Kronik HBV Precore varyant	++	+	+	-	-	+/-
İnaktif Taşıyıcı	<100 IU/ml	+	+	-	-	+
OBI Seropozitif	<1000IU/ml	+	+	+/-	+/-	+/-
OBI Seronegatif	<1000IU/ml	-	-	-	-	-

## **2.5. Kronik Hepatit B'nin Güncel Tedavisi**

Mevcut antiviral tedaviler ile hepatit B virusu enfeksiyonunu tamamen tedavi etmek mümkün olmayıp, inkomplet virolojik yanıtlar elde edilmektedir(32).Güncel kronik hepatit B tedavisinde, standart interferon alfa-2a ve 2b, pegile interferon alfa-2a ve 2b, lamivudin, adefovir, entekavir, tenofovir ve telbivudin ülkemizde mevcut olan ve kullanım onayı almış ilaçlardır (33).

### **2.5.1. İnterferon – Alfa (IFN-alfa)**

IFN-alfa; 48 hafta boyunca haftada bir kez subkutan yoldan uygulanan antiviral, antiproliferatif ve immünmodülatör etkili bir tedavi ajanıdır. Yanıt daha çok düşük titrede başlangıç HBV DNA düzeyi, yüksek aminotransferaz düzeyleri ve daha çok genotip A ile enfekte kişilerde alınmaktadır. Ancak ilacın önemli yan etkilerinin olması bazen tedavinin yarıda kesilmesine neden olabilmektedir. Günümüzde standart IFN yerini, moleküle polietilen glikol eklenmesiyle yarılanma ömrü daha uzun olan pegile interferona (PEG-IFN) bırakmıştır. PEG-IFN'nin alfa 2a ve alfa 2b olmak üzere iki tipi bulunmaktadır.

### **2.5.2. Entekavir**

Hepatit B virusu replikasyonunu üç ayrı basamakta inhibe eden bir nükleozid analogu olup, kronik Hepatit B hastalarında birinci basamak tedavide tercih edilmektedir. Bu ilaç nefrotoksik olmayıp hastada lamivudine karşı gelişmiş bir direnç yoksa direnç gelişim olasılığı çok düşüktür. Nükleozit naiv hastalarda 5. yılda entekavir direnci %1,2 iken, lamivudin dirençli hastalarda entekavir direnci 1. yılda %6,2'dir (34).

### **2.5.3. Lamivudin**

Bir nükleozid analogu olan lamivudin, HBV DNA polimerazı inhibe eden, yeni sentezlenmiş HBV DNA zincirini sonlandıran böylece HBV replikasyonunu çok etkili bir şekilde bloke eden bir antiviraldir(35).Kompanse ve dekompanse sirozlu hastalarda da güvenle kullanılan ilacın dozu günde 100 mg'dır. Kreatinin klirensi 50 ml/dk'nın altında alan bireylerde doz ayarlanması yapılmalıdır. Lamivudinin iyi tolere edilmesine ve ciddi bir yan etkisinin olmamasına rağmen, kullanım süresiyle doğru orantılı olarak ilaca karşı artan direnç önemli bir sorun oluşturmaktadır (36).

#### **2.5.4. Adefovir**

Adefovir; reverse transkriptaz ve DNA polimerazı inhibe ederek HBV DNA zincirinin sonlanmasına neden olur. Standart doz, en az 1 yıl boyunca günde bir kez oral yoldan alınan 10 mg'dır. Lamivudine direnç gelişen hastaların tedavisine eklenebilir. Adefovire direnç 5 yıl boyunca tedavi edilen hastaların %29'unda görülür. Böbrek hasarı olanlarda nefrotoksisite gelişme riski mevcuttur (37).

#### **2.5.5. Telbivudin**

L-deoksitimidin veya telbivudin nükleozid analogu olan bir antiviraldir. 2006 yılında A.B.D.'de ruhsat alarak kronik hepatit B tedavisinde kullanıma girmiştir. Klinik çalışmalar telbivudinin lamivudine oranla kronik hepatit B'de replikasyonu önlemede daha iyi bir antiviral ajan olduğu gösterilmiştir. Direnç gelişimi telbivudin için de bir sorundur ancak lamivudine göre bu oran daha düşüktür. Günlük dozu 600 mg'dır ve kreatinin klirensi <50 ml/dk olan hastalarda doz ayarlaması gereklidir. Yan etkiler lamivudine benzerdir (38).

#### **2.5.6. Tenofovir Disoproksil Fumarat**

Tenofovir; öncelikle HIV/AIDS ve HIV/HBV ko-enfekte hastalarda kullanıma giren tenofovir, yapılan çalışmalarda hem vahşi hem de lamivudin dirençli kökenlere karşı etkili olduğunun saptanması üzerine 2008 yılında A.B.D'de ve ülkemizde kronik hepatit B'nin tedavisinde ruhsat alarak kullanıma girmiştir. Tenofovir ile ilgili ilk klinik deneyimler, HIV/HBV ko-enfekte hastalar ve lamivudin dirençli HBV hastalar üzerinedir. Tenofovir, adefovir gibi bir asiklik nükleotit analogudur ancak daha az nefrotoksik olması sayesinde günde 300 mg kullanılabilmesi, dahagüçlü bir antiviral olarak kullanımına imkansağlamıştır (39). Reverse transkriptazın kompetitif inhibitörüdür ve DNA zincirinin uzamasını durdurur (40). HBV DNA negatifleşmesi, ALT'nin normal düzeylere inmesi, nekroinflamasyonda iyileşme sonlanım noktaları açısından adefovire göre üstün bulunmuştur. Etkinliği naif hastalarda ve daha önce tedavi almış olanlarda benzerdir ve HBV genotipinden bağımsızdır. Direnç gelişimi 72 haftaya kadar devam eden faz 3 çalışmalarda görülmemiştir (4).

Glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyonla %70-80 oranında idrar yolu ile atılır. Böbrek yetmezliğinde doz ayarlanmalıdır; Kreatinin Klirensi (KrKl) 30-49 ml/dk: 300 mg 48 saatte bir; KrKl 10-29 ml/dk: 600 mg 72 saatte bir; KrKl <10ml/dk: diyalize girmeyen hastalar için yeterli veri bulunmamaktadır. Hemodiyaliz hastalarında total 12 saatlik diyaliz sonrası tek doz veya haftada bir kez kullanım önerilmektedir. Literatür verilerine bakıldığında tenofovirin ciddi derecede yan etkileri gözlenmezken bildirilen yan etkiler baş ağrısı (%13), nazofaranjit (%10), bulantı (%9), yorgunluk (%8), karın ağrısı (%7), diyare (%7), sırt ağrısı (%7) ve halsizlik (%6) şeklinde sıralanabilir. Ciddi yan etki olarak %1 oranında ALT alevlenmesi ve %1'in altında trombositopeni görülebilir (41, 42).

Tenofovir kullanımı ile ilişkili Fanconi sendromu ve böbrek yetmezliği gelişen vakalar da bildirilmiştir. Hastalarda devam eden ellerde ayaklarda uyuşukluk, keçelenme, ağrı; deri döküntüsü, kaslarda güçsüzlük, tremor varlığında derhal hekime başvurmaları önerilmelidir. Nefrotoksik ajanlarla birlikte kullanılırken ve tenofovir düzeyini artıran ilaçlarla (ör: asiklovir, gansiklovir gibi antivirallerle) kullanılırken dikkatli olunmalıdır. Didanozin ile birlikte kullanımında pankreatit, laktik asidoz riski artmaktadır. Proteaz inhibitörleri tenofovir düzeyini artırarak nefrotoksisiteye yol açabilir (43).

#### **2.5.7. Kafeik asit fenetil ester (CAPE)**

Kafeik asit fenetil ester (CAPE); propolis ekstresinin aktif bir bileşenidir (44). 10 µmol konsantrasyonda in vitro koşullarda nötrofiller veya ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini tamamen bloke eder (45). Yapılan çalışmalarda, CAPE'nin antienflamatuvar, antifungal ve antimikrobik (46), immünomodülatör (47), antimitojenik ve antioksidan (48, 49) özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, 200-300 gr ağırlığındaki erişkin Wistar Albino dişi cinsi 27 adet sıçan üzerinde ve etik kurul kararı alınmasını takiben yapıldı. Ratlar randomize şekilde 4 gruba bölünerek, deney sonuna kadar onarlı kafeslerde tutuldu. Hayvanların beslenmesinde standart pellet yemi ve şehir içme suyu kullanıldı. Çalışmada kronik olarak 30 gün boyunca oral olarak tenofovir ratlara verildi. Sonra intraperitoneal olarak CAPE uygulandı. Ratlar ketamin+ksilazin anestezisi sonrası sakrifiye edilip kan ve doku örnekleri alınarak biyokimyasal ve histopatolojik açıdan değerlendirildi.

Çalışmada gruplar aşağıdaki şekilde planladı:

**1.Grup:(n=6) Kontrol,** (İlaç verilmeyen grup)

**2.Grup:(n=7) Tenofovir** (30 mg/kg/günoral yolla orogastrik gavaj yardımıyla yalnızca tenofovir verilen grup)

**3. Grup:(n=7) CAPE** (10 µmol/kg dozunda intraperitoneal yolla verilen grup)

**4. Grup:(n=7) Tenofovir + CAPE** verilen grup

Necmettin Erbakan Üniversitesi deneysel tıp araştırma ve uygulama merkezi deney hayvanları etik kurul kararı ile 2012-062 tarih ve etik no ile çalışmamız yapılmıştır.

Deneylein sonunda sakrifiye edilen hayvanların çıkarılarak alınan beyin, karaciğer, böbrek, pankreas, akciğer dokuları longitudinal olarak ikiye bölünerek bir parçası biyokimyasal incelemeler için -70°C'de saklandı, diğer parçası ise histopatolojik incelemeler için formaldehit solüsyonunda muhafaza edildi. Histopatolojik incelemeler hemotoksilen eosin ve immunohistokimyasal boyama ile yapıldı.

### **3.1. Biyokimyasal Analiz:**

Biyokimyasal incelemelerde; serumda nefrotoksisite göstergesi olarak üre ve kreatinin parametreleri otoanlizatörde ölçüldü. Tüm biyokimyasal analizler Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi merkez laboratuvarı Biyokimya biriminde c16000 auto analyzer (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA) cihazında çalışılmıştır.

### **3.2. İmmünohistokimyasal Prosedürler:**

Hazırlanan dokular deneysel çalışma gruplarından habersiz bir histopatolojist tarafından gözlemlendi. Caspase-3, bcl-2 ve Bax pozitif apoptotik hücreler tenrandomly seçilmiş mikroskopta 400x büyütme altında sayılmıştır. On alanın her bir kümesi için boyanmış nöronların ortalama sayısı hesaplanmış ve pozitif hücreler/yüksek güç alanı sayısı olarak ifade edilmiştir.

### **3.3 Histopatolojik Analiz:**

Akciğer, karaciğer, böbrek dokularının immünohistokimyası hafif bir değişiklik ile üreticinin protokolüne uygun olarak bir Leica Bond-Max otomatik IHC/ISH platform (Leica Microsystems Inc, Buffalo Grove, Illinois) (immünohistokimya ve in situ hibridizasyon) ile gerçekleştirilmiştir. 4 mikrometrelilik parafin blokları Bond parafin solusyonunda parafini alınmış, alkol ve Bond yıkama çözeltisinde rehidrate edilmiştir (Leica Microsystems). Antijen geri alma, 5 dakika makinada endojen peroksidaz blokasyonunu takiben 15 dakika süre ile yüksek Ph (ER2) geri alma çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Avidin biyotin peroksidaz kompleksi ile standart metod kullanılarak antikorlar saptandı (ABC Staining System, Santa Cruz Biotechnology, Inc.); Anti-fare monoklonal antikor Bcl-2 (C-2: sc-7382, Santa Cruz Biotechnology, Inc bölgesindeki seyreltme 1:200), anti-fare monoklonal antikor Bax (B-9: sc-7480, seyreltme 1:100 de Santa Cruz Biotechnonology, Inc) ve anti-fare kaspaz-3 (CPP32) monoklonal antikor ( klon JHM62, Leica Biosystems Ltd, Newcastle) oda sıcaklığında 1:50 seyreltmede 60 dakikalığına uygulandı. Tespit biyotinsiz Bond Polymer Gelişmiş Red Algılama sistemi kullanılarak alkalın fosfataz bağlı polimer ile 25 dakika inkübasyonun ardından 15 dakika postprimer adım ile gerçekleştirilmiştir (Leica Microsystems). Rekasiyon refine algılama kitinde kırmızı tabaka ile tespit edilmiştir. Pankreas dokusu için anti-fare monoklonal antikor insülin kullanılmıştır (1:200 seyreltme, SC-56418, Santa Cruz Biotechnonology, Inc SPM139).

Caspase-3, bcl-2 ve Bax için tonsil pozitif kontrol için kullanılırken, insülin için pankreas dokusu kullanıldı.

Dokular parafin bloklarda %10 formalin çözeltisi içine konuldu ve 4 mikron kesitlerle hazırlandı. Dokular makinada hemotoksilen-eosin ile boyandı, alkol içinde dehidrate edildi ve orta montaj ile monte edildi (Sakura Finetek USA Inc, Torrance, California) ve standart protokoller uygulandı. Slaytlar Olympus (Tokyo, Japonya) BX53 mikroskop kullanılarak 100x büyütme ile incelendi. Tarafsız bir patolog tarafından örnekler analiz edildi.

### **3.3.1. Pankreasın Histopatolojik İncelemesi**

Her pankreas dokusu histopatolojik değişiklikler; ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve asiner hücre nekrozu açılarından değerlendirildi (Onur et al-2007 ve Virlos et al-2003). Bu değişiklikler 0'dan 3'e kadar aşağıdaki kriterlere göre sınıflandırıldı.

Ödem için;

Grade 0: Yok

Grade 1: Lobüller arasında fokal artış

Grade 2: Lobüller arasında diffüz artış

Grade 3: Parçalanmış ve ayrılmış asini

İnflamatuvar hücre infiltrasyonu için;

Grade 0: Yok

Grade 1: Duktus kenarlarında

Grade 2: Parankimde (lobüller arasında artmış diffüz tutulum, lobüllerin < % 50)

Grade 3: Parankimde (lobüllerin > % 50)



Asiner nekroz için;

Grade 0: Yok

Grade 1: Periduktal nekroz

Grade 2: Fokal nekroz (% 5-20)

Grade 3: Diffüz parankimal nekroz (% 20-50)

İnsülin değerlendirmesi için, Li ve arkadaşlarının modifiye edilmiş yöntemi kullanıldı (2011), ve beş adacık, mikroskop altında rastgele her bölümden seçildi (büyütme X 400). Göreceli beta hücre alanı insülin pozitif hücrelerin kapladığı alanlar ve total pankreas dokusunun kapladığı alanlar arasındaki oran Olympus BX53 olarak DP2-BSW programı kullanılarak belirlenmiştir.

### **3.3.2. Karaciğerin Histopatolojik İncelemesi**

Karaciğer doku hasarı hafiften şiddetliye doğru skorlandı ve aşağıdaki gibi sınıflandırıldı;

Grade 0: Minimal hasar veya hasar yok

Grade 1: Sitoplazmik vakuolizasyon ve nükleer piknozis ile olan hafif hasar

Grade 2: Artmış nükleer piknozis, sitoplazmik hipereozinofili ve hücreler arası sınırların kaybı ile olan orta derece hasar

Grade 3: Hemoraji, nötrofil infiltrasyonu ve hücreler arası bağlantıların ayrışması ile oluşan şiddetli nekroz, şiddetli hasar

### **3.3.3. Beynin Histopatolojik İncelemesi**

Frontal korteks bölgesinde; inflamasyon, konjesyon, nekrobiyoz ve nekroz bulguları incelendi. Elde edilecek bulgular açısından kontrol grubu, tenofovir grubu ve tenofovir + CAPE grupları karşılaştırılarak tenofovirin ve CAPE'nin beyin dokusu üzerindeki etkileri değerlendirildi. Beynin histopatolojik kesit değerlendirmesinde; inflamasyon (1- var, 0- yok), vasküler konjesyon (0- yok, 1- hafif, 2- orta düzeyde, 3- belirgin düzeyde) ve nekrobiyotik-nekrotik değişiklikler (0- yok, 1- hafif-orta

nekrobiyoz, 2- belirgin nekrobiyoz, 3- hafif-orta nekroz, 4- belirgin nekroz) semikantitatif olarak derecelendirildi.

### **3.3.4. Böbreğin Histopatolojik İncelemesi**

Renal toksisite aşağıdaki gibi derecelendirildi;

Grade 0: Değişiklik yok

Grade 1: Tübüler hücrelerde şişme, fırçamsı kenarların kaybı, tübüler yapıların üçte birinde nükleer azalma

Grade 2: Grade 1'e ilave olarak tübüler yapıların üçte ikisinde nükleer azalma

Grade 3: Tübüler yapıların üçte ikisinden fazla nükleer azalmayı içeren değişiklikler

### **3.3.5. İstatistiksel Analiz**

Anova tarafından analiz edilen biyokimyasal parametre verisi, post hoc Tukey testi ve Dunnet T3 ile izlendi. Tüm veriler SPSS Windows 20.0 ile sunulmuştur.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Histopatolojik Bulgular:

#### 4.1.1. Karaciğer

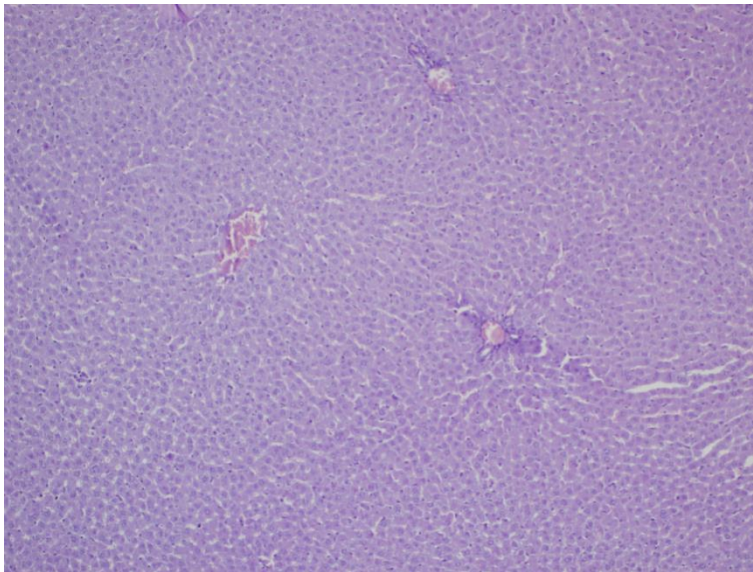
Karaciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik toksisiteye göre derecelendirme aşağıda belirtilmiş olup, buna göre tenofovir grubunda hasar/toksistenin olduğu, tenofovir ve CAPE (T+CAPE) grubunda ise; CAPE verildikten sonra hasarın hafif-orta derecede azaldığı gözlenmektedir (Resim 1, 2, 3, 4, 5). Ayrıca Apoptoz düzeyinin sadece tenofovir verilen gruba göre tenofovir ve CAPE (T + CAPE) grubunda düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir (Resim 6, 7, 8).

#### Karaciğer Dokusunda Histopatolojik Grade;

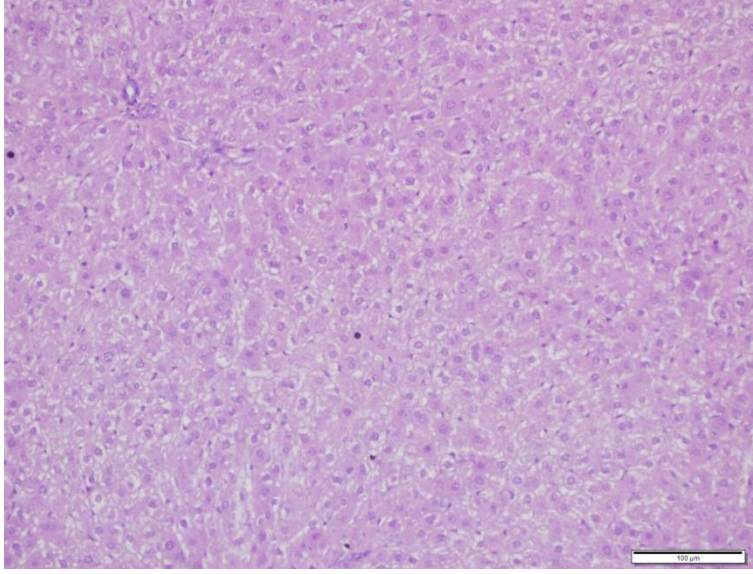
Kontrol Grubu: grade; 4/21

TenofovirGrubu: grade; 17/21

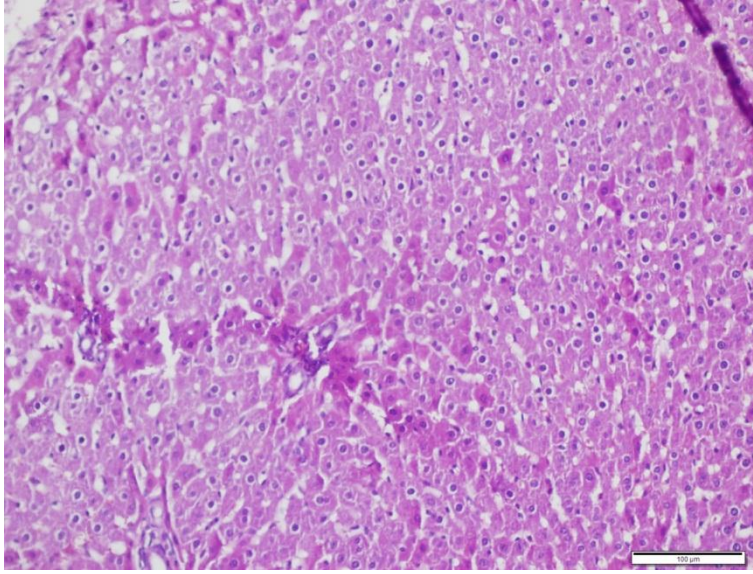
Tenofovir + CAPE Grubu: grade; 10/21



**Resim 1:** Normal karaciğer dokusu (Kontrol Grubu) (H&E, x200).

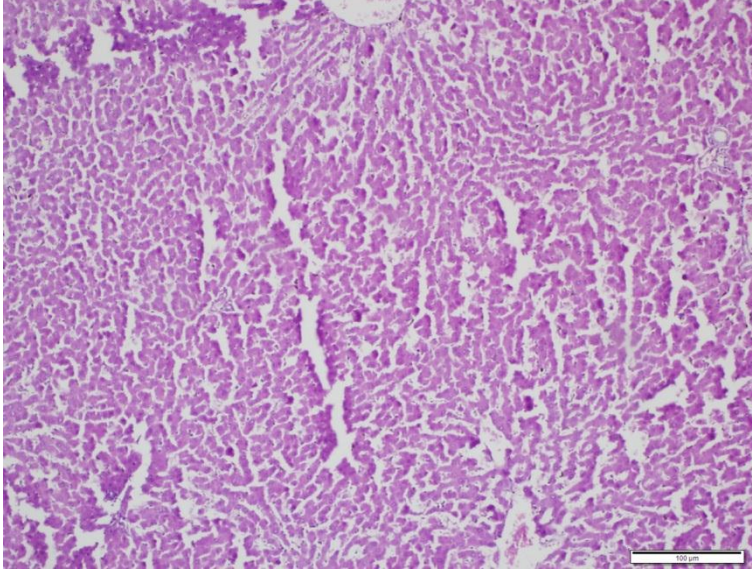


**Resim 2:** Karaciğer dokusunda hafif derecede vakuoler dejenerasyon, stoplazmik ve nükleer değişiklikler (H&E x400) (Tenofovir Grubu).

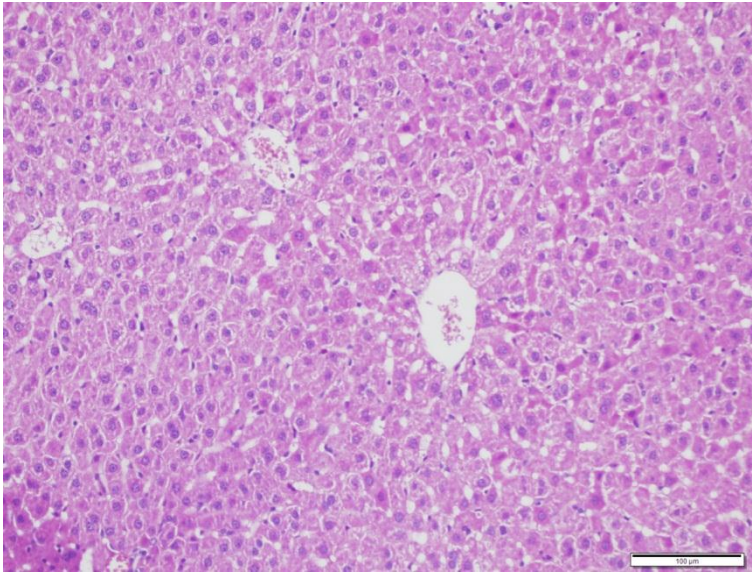


**Resim 3:** Grade 2 hasar: Sitoplazmik hipereozinofilik değişiklikler, nükleer piknozis, hücreler arası sınırlarda kayıp izlenmekte (H&E x400) ( Tenofovir Grubu ).

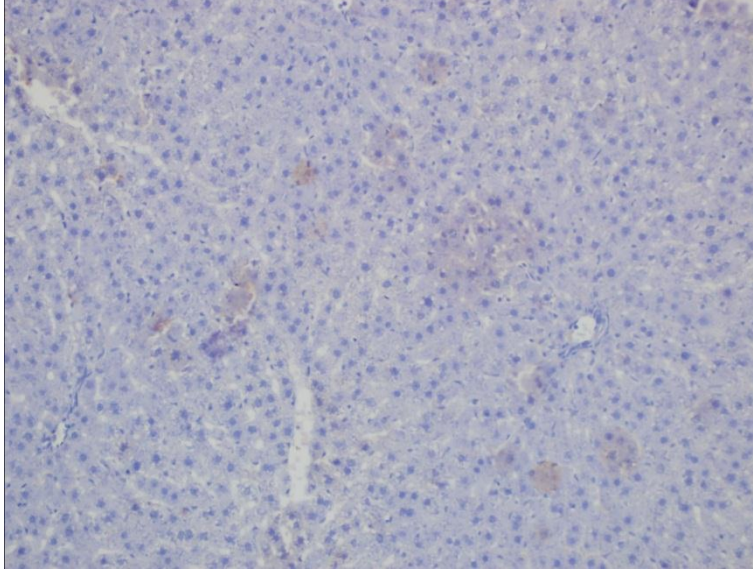




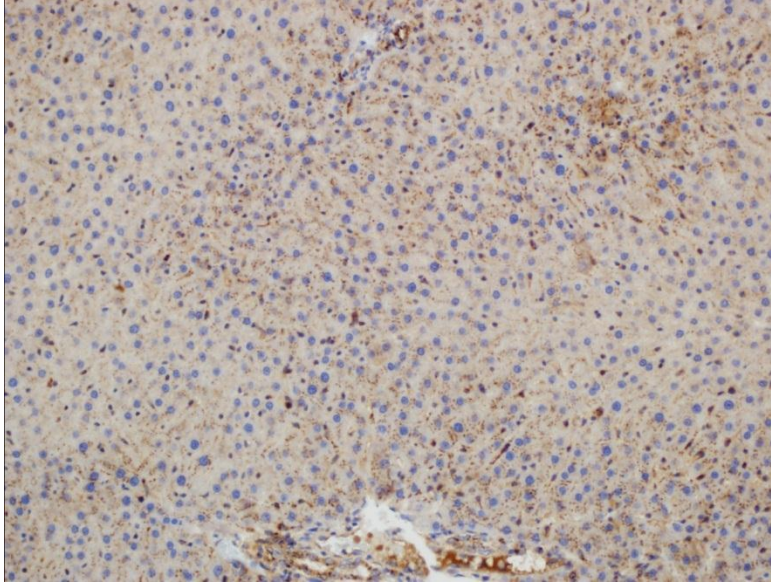
**Resim 4:** Şiddetli karaciğer hasarı; yaygın nekroz (H&E x200) ( Tenofovir Grubu ).



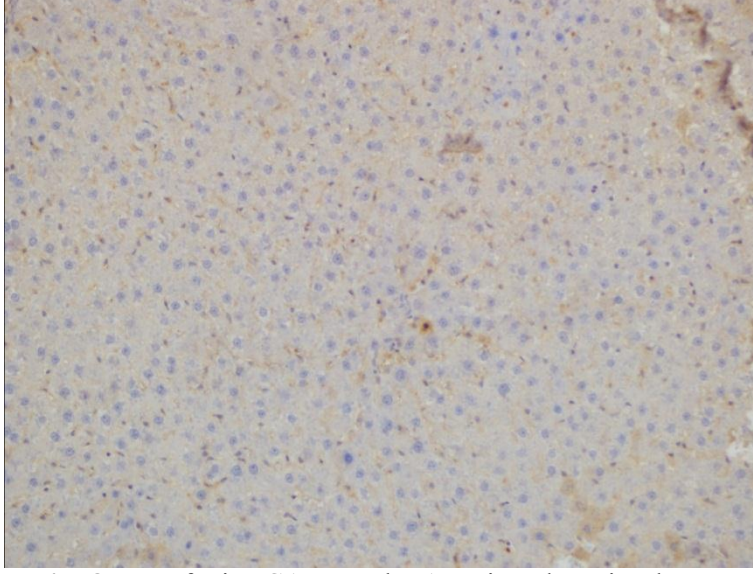
**Resim 5:**Tenofovir'den sonra CAPE verilen olgularda rejeneratif değışikliler ve fokal stoplazmik hipereozinofili görülen toparlanma süreci (H&E x200) ( Tenofovir + CAPE ).



**Resim 6:** Normal kontrol grubu (IHK, x200) ( Bcl-2, Bax ve caspase-3 ile apoptoz durumları).



**Resim 7:** Tenofovir uygulanan karaciğer grubunda artmış apoptoz (IHK, x200) (Bcl-2, Bax ve caspase-3 ile apoptoz durumları).



**Resim 8:** Tenofovir +CAPE grubu. Apoptoz düzeyi sadece tenofovir verilen gruba göre düşük olarak izlenmekte (IHK, x200). (Bcl-2, Bax ve caspase-3 ile apoptoz durumları)

#### 4.1.2. Beyin

Kontrol grubunda beyin histomorfolojisi normaldi.

Tenofovir grubunda beyin parankimindeki nöronlarda genellikle orta derecede hasar/toksisite (nöronlarda dar büzölmüş sitoplazma ve yaygın koyu piknotik nükleus ve vakuolizasyon, inflamasyon ve nekroz) oluşmuş, CAPE verildikten sonra ise (T+CAPE) bu hasar/toksisite de azalma olmuştur (Resim 9, 10, 11, 12, 13).

#### **İmmunohistokimyasal bulgular;**

Her biri yedi rattan oluşan gruplara uygulanan Caspase-3, bcl-2 ve Bax ile nöronlardaki apoptoz değerlendirmesinde; kontrol grubunda 10 büyük büyütme alanında 23, T grubunda 183, T+CAPE grubunda 85 adet apoptotik hücre sayıldı.

Bu sonuçlar göstermektedir ki; tenofovir kontrol grubuna göre anlamlı biçimde apoptozisi (kontrollü hücre ölümü) arttırmıştır. T+CAPE grubunun ise tenofovir verilen gruplara göre anlamlı sayılabilecek şekilde apoptozisi azalttığı gözlenmiştir.

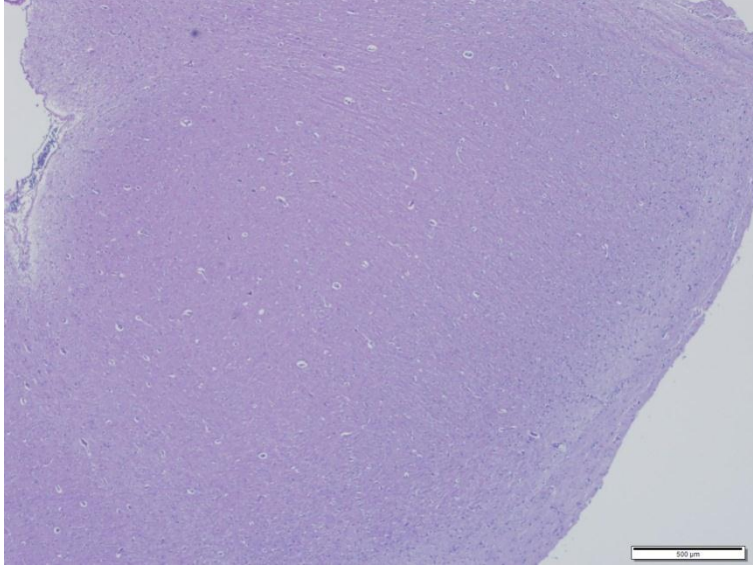


## Beyin Dokusunda Histopatolojik Grade;

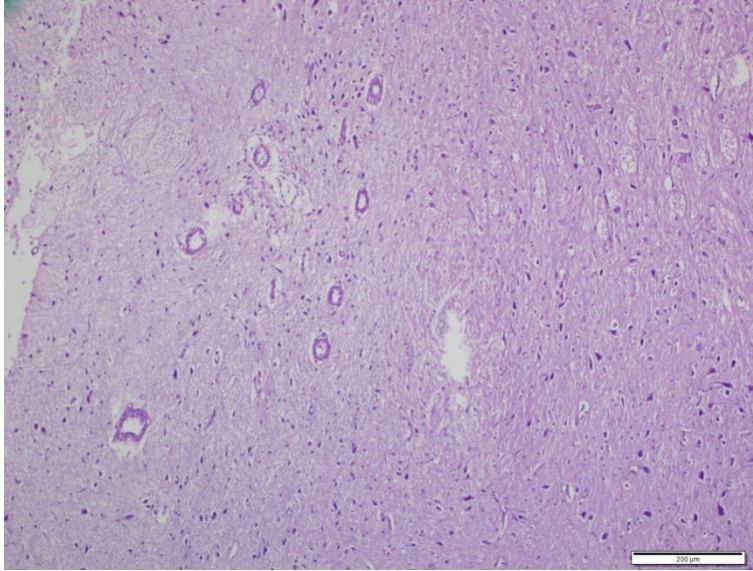
Kontrol Grubu: grade; 3/21

Tenofovir Grubu: grade; 13/21

Tenofovir + CAPE Grubu: grade; 6/21

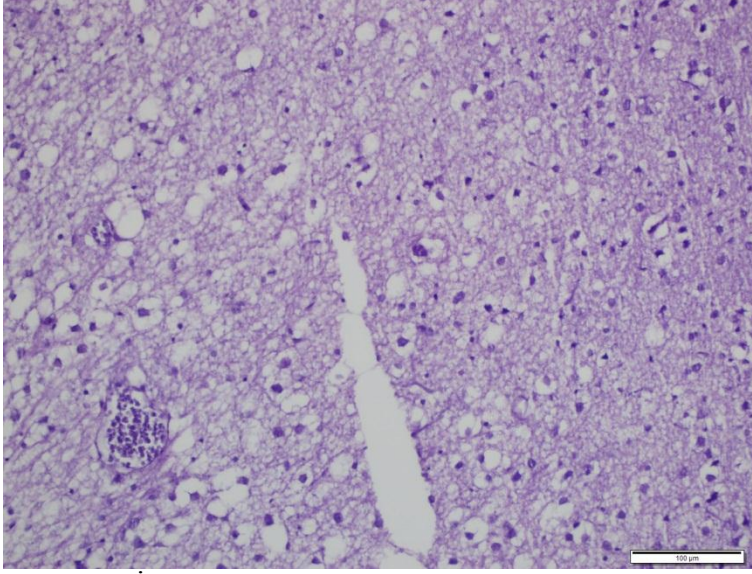


**Resim 9:** Normal beyin dokusu (H&E x40).

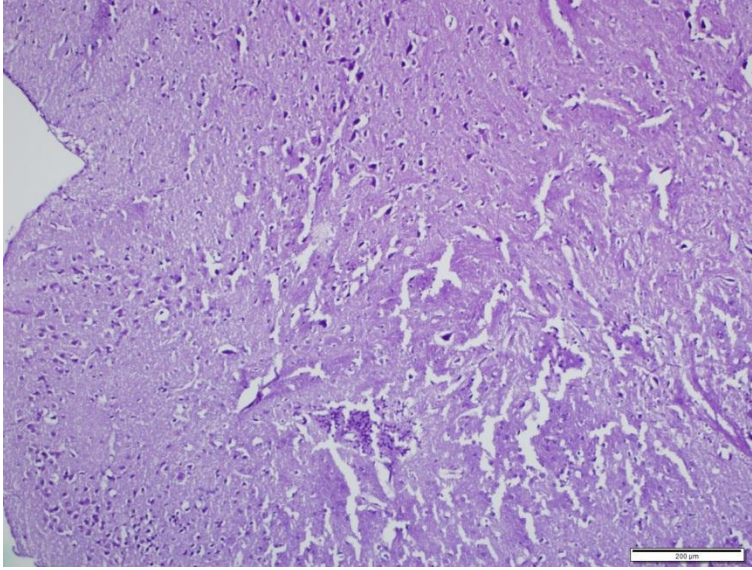


**Resim 10:** Vasküler proliferasyon ve genişleme (H&E x100) (Tenofovir Grubu).

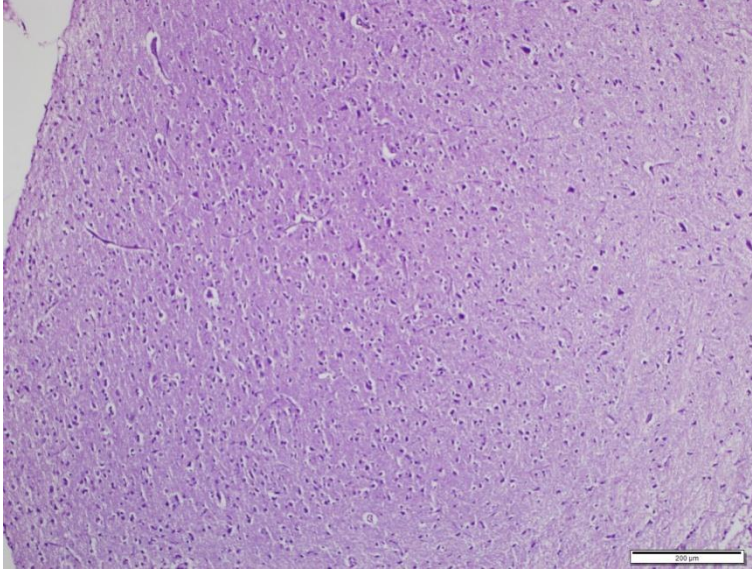




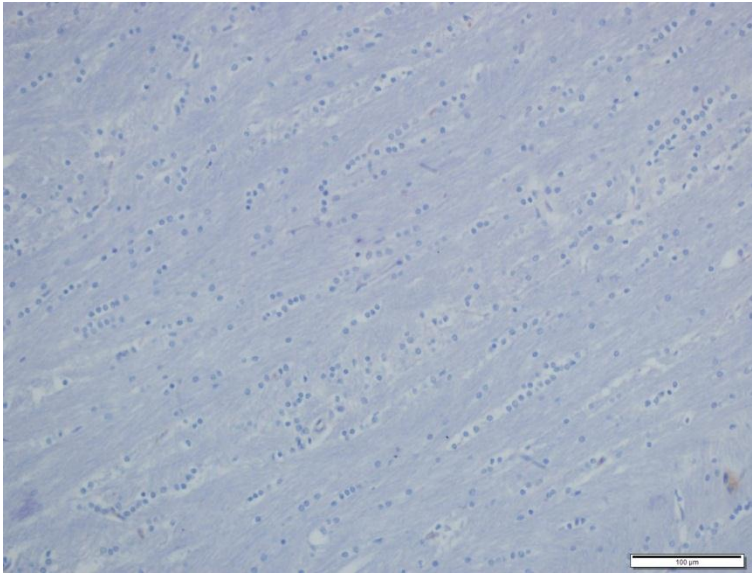
**Resim 11:** İnflamasyon, vakuoler, dejenerasyon ve nekrotik değişiklikler (H&E x200) (Tenofovir Grubu).



**Resim 12:** Nekroz (H&E x100) (Tenofovir Grubu).

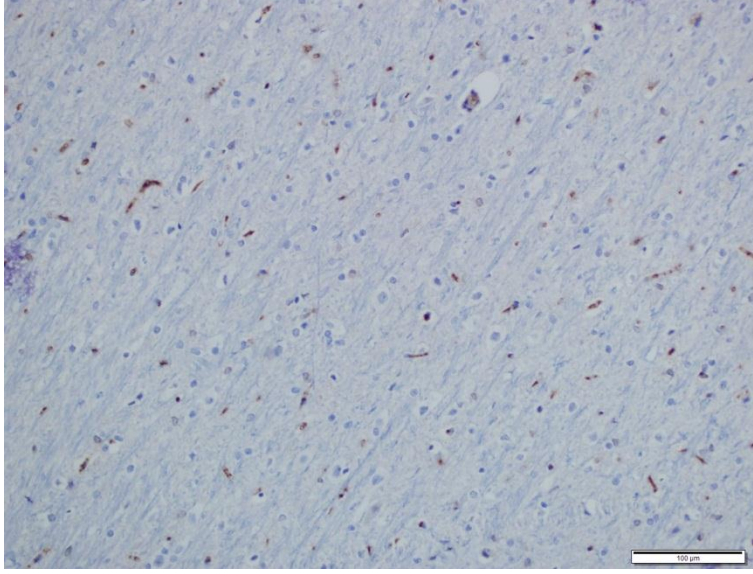


**Resim 13:** Tenofovirle birlikte CAPE uygulaması sonucu histopatolojik olarak ılımlı bir düzelme izlenmekte (H&E, x100) (Tenofovir + CAPE).

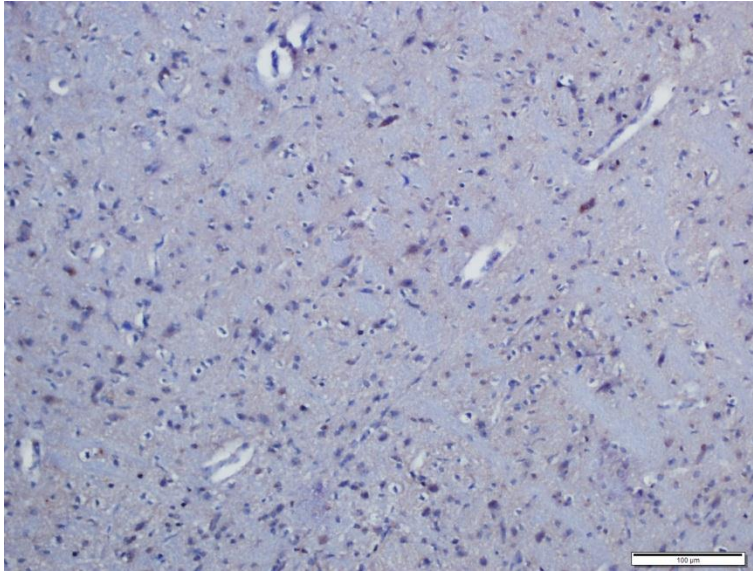


**Resim 14:** Apoptoz belirteçleri ile değerlendirildiğinde, normal beyin dokusu (IHK x 200).





**Resim 15:**Tenofovir uygulaması ile artan apoptoz ( IHK x 200).

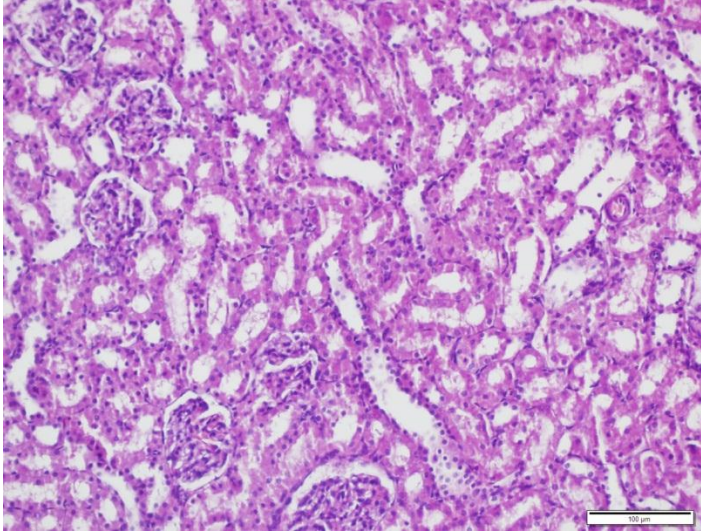


**Resim 16:**Tenofovir +CAPE ile ılımlı apoptoz( IHK x 200).

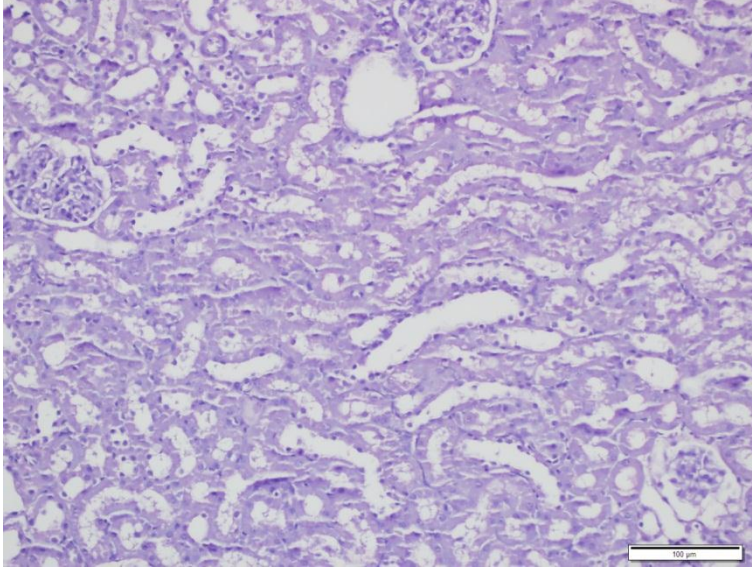
### 4.1.3. Böbrek

Böbrek dokusundaki histopatolojik değişiklikler incelendiğinde; tenofovir verilen grupta birkaç tübülde hafif tübüler hücre şişmesi, nükleer kayıp ve fırçamsı kenar kaybı görülmesinin yanı sıra (Resim 18), şiddetli renal tubuler toksisite gözlenirken (Resim 19), tenofovir+ CAPE grubunda normal sınırlarda böbrek dokusu gözlenmektedir. Dolayısıyla tenofovirin tubuler toksisiteye neden olabildiği, ancak CAPE'nin tenofovir'in toksik etkisini engelleyebildiği belirlenmiştir (Resim 20) .

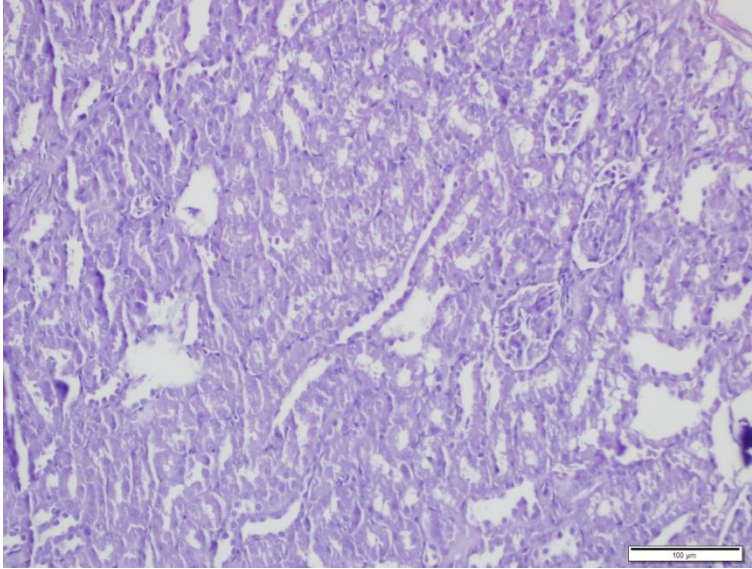
Böbrek dokusundaki histopatolojik değişiklikleri apoptoz belirteçleri ile değerlendirdiğimizde; tenofovir'in artan apoptoza neden olduğu ve ancak tenofovir + CAPE kullanımının ise ılımlı apoptoza neden olduğu tesbit edilmiştir (Resim 21, 22, 23).



**Resim 17:** Normal böbrek dokusu (H&E, x 200).

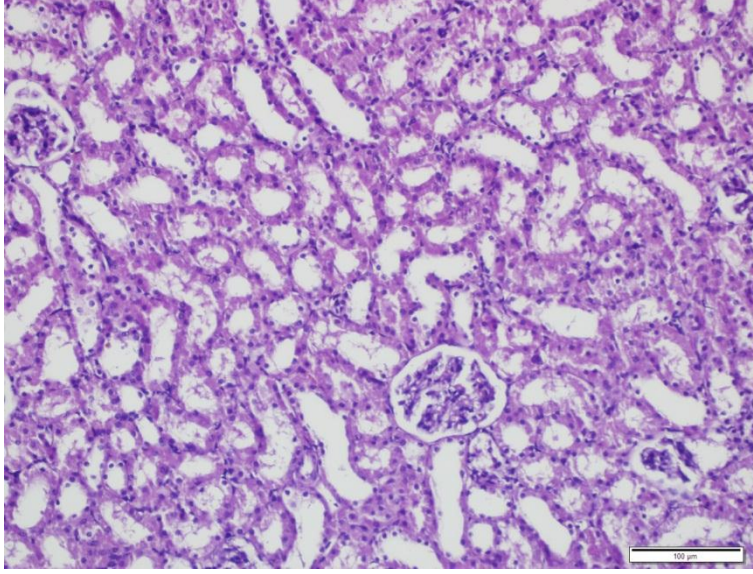


**Resim 18:** Birkaç tübülde hafif tübüler hücre şişmesi, nükleer kayıp ve fırçasmsı kenar kaybı görülüyor (H&E x 200) (Tenofovir Grubu).

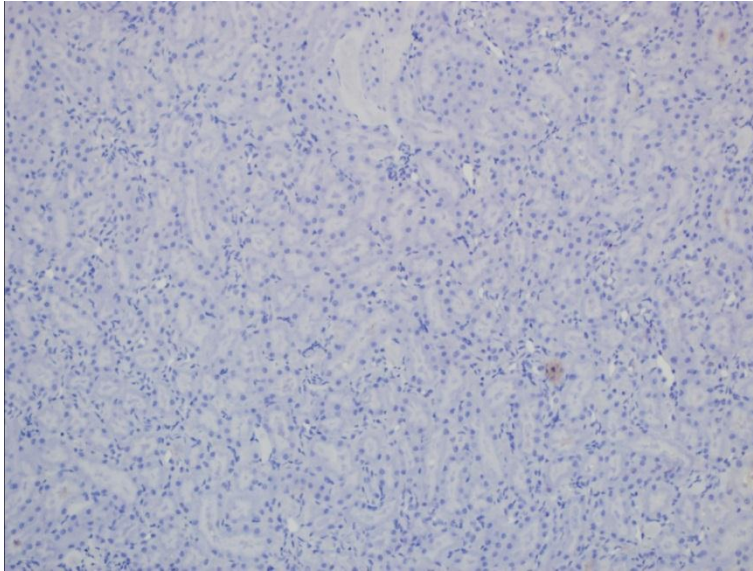


**Resim 19:** Şiddetli renal tübüler toksisite (H&E, x 200) (Tenofovir Grubu).

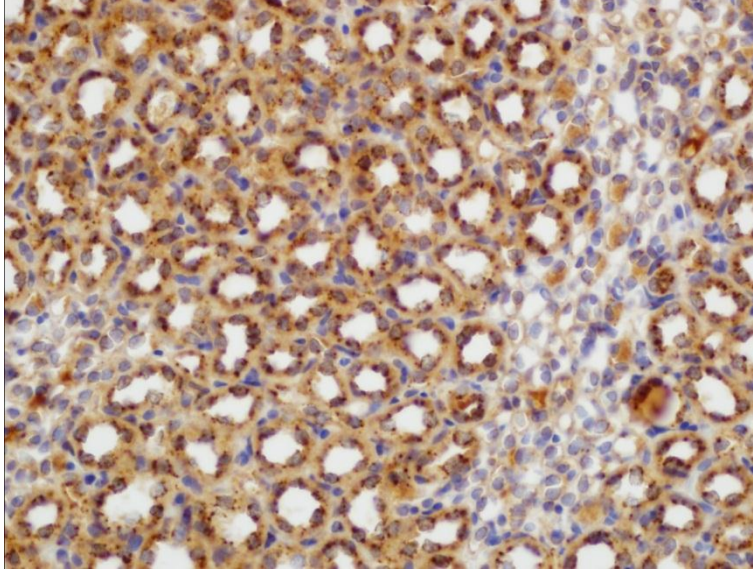




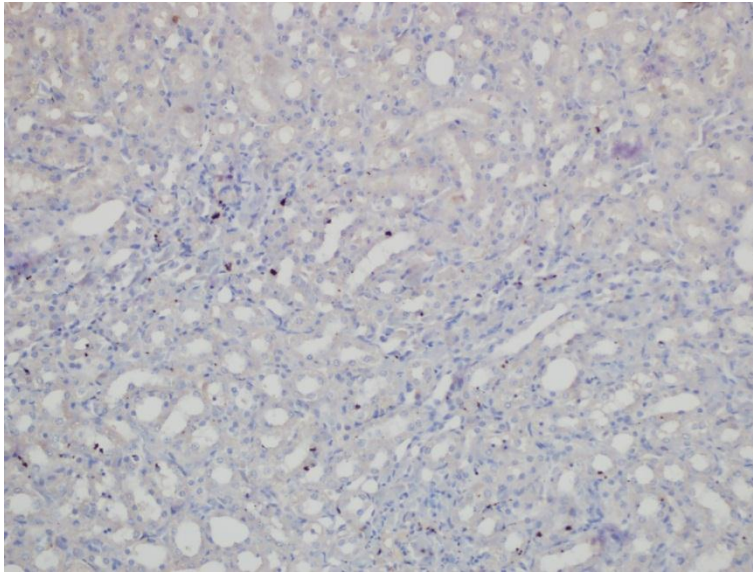
**Resim 20:** Tenofovir+ CAPE grubunda normal sınırlarda böbrek dokusu (H&E, x 200).



**Resim 21:** Apoptoz belirteçleri ile değerlendirildiğinde, normal böbrek dokusu (IHK x 200).



**Resim 22:** Tenofovir uygulaması ile artan apoptoz ( IHK x 400)



**Resim 23:** Tenofovir +CAPE ile ılımlı apoptoz (IHK x 200)

#### 4.1.4. Akciğer

Akciğer dokusunda histomorfolojik olarak ve apoptoz belirteçleri ile yapılan immünohistokimyasal çalışma ile gruplar arasında anlamlı sayılabilecek bir farkın olmadığı tespit edildi.

#### 4.1.5. Pankreas

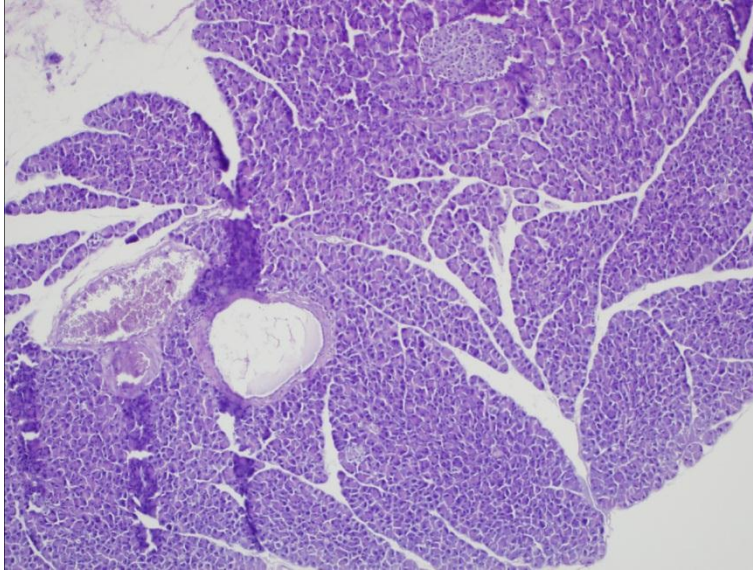
Histomorfolojik olarak Pankreas dokusunda; tenofovir grubunda pankreasta hasar olduğu, (T+CAPE) grubunda ise tenofovir'in neden olduğu hasarı CAPE'nin anlamlı sayılacak derecede azalttığı tespit edildi (Resim 25, 26, 27, 28). Ayrıca beta hücre yoğunluğunun; kontrol grubuna göre tenofovir grubunda anlamlı bir şekilde azalırken, tenofovir+CAPE grubunda sadece tenofovir verilen gruba göre anlamlı olarak arttığı belirlendi (Resim 29, 30). Histopatolojik olarak pankreas toksisitesinin derecelendirilmesi aşağıda verilmiştir.

#### **Pankreas Dokusunda Histopatolojik Grade;**

Kontrol Grubu: grade; 9/63

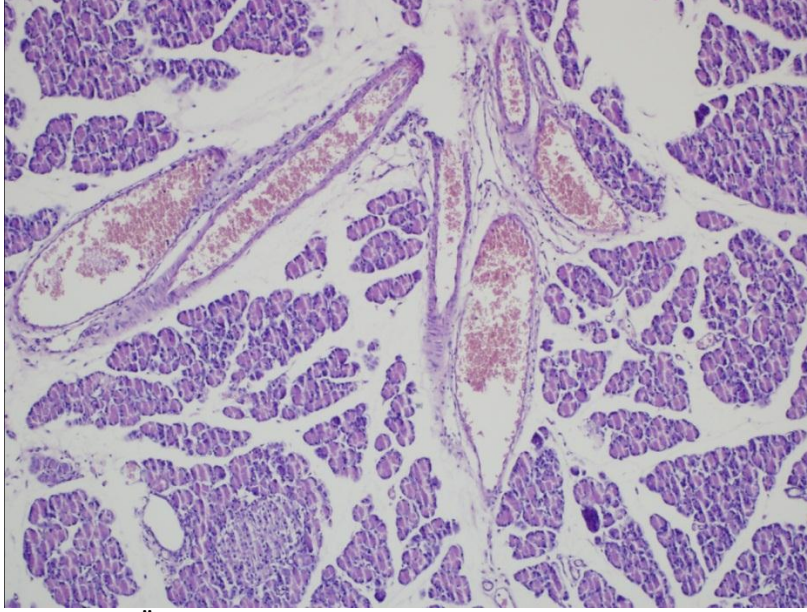
Tenofovir Grubu: grade; 45/63

Tenofovir + CAPE Grubu: grade; 23/63

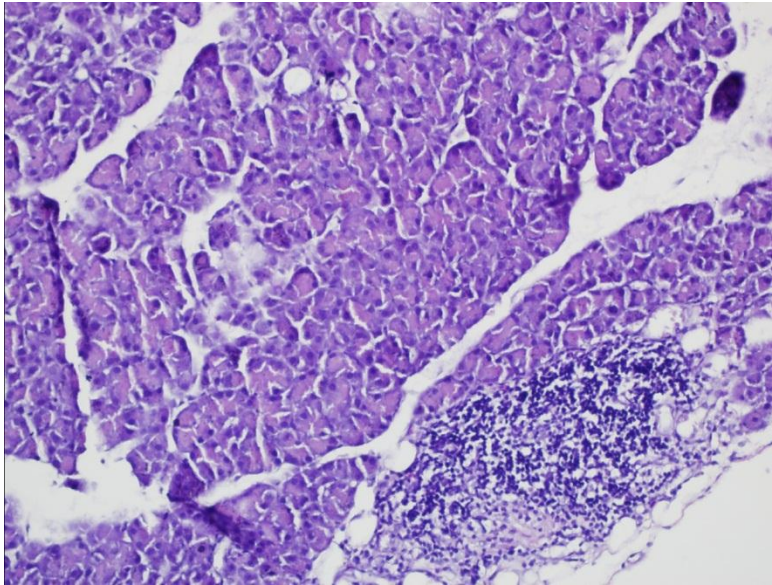


**Resim 24:**Normal pankreas dokusu ( Kontrol Grubu ) (H&E; x 200).

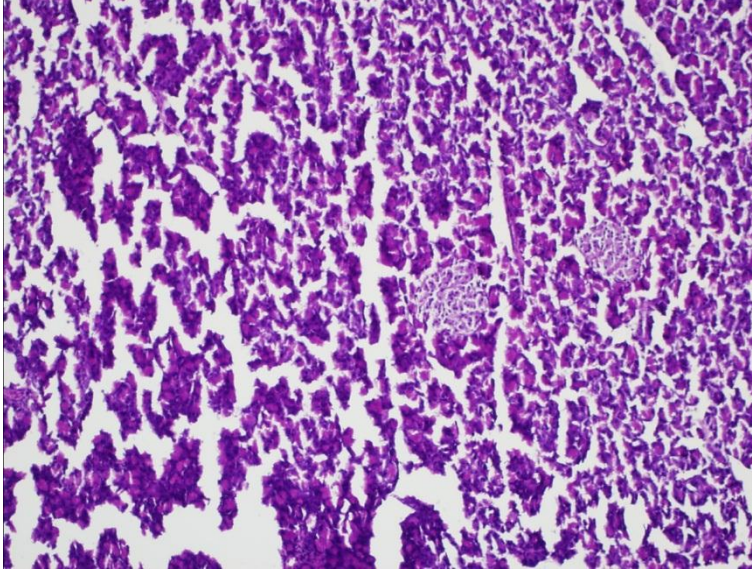




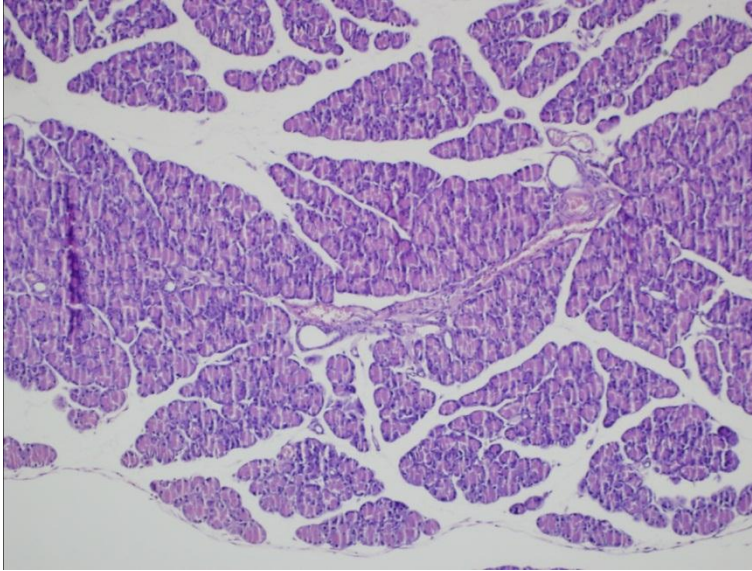
**Resim 25:** Ödem ve konjesyon (H&E x 200) ( Tenofovir Grubu ).



**Resim 26:** Lenfositik infiltrasyon (pankreatit) (H&E x 400). ( Tenofovir Grubu )

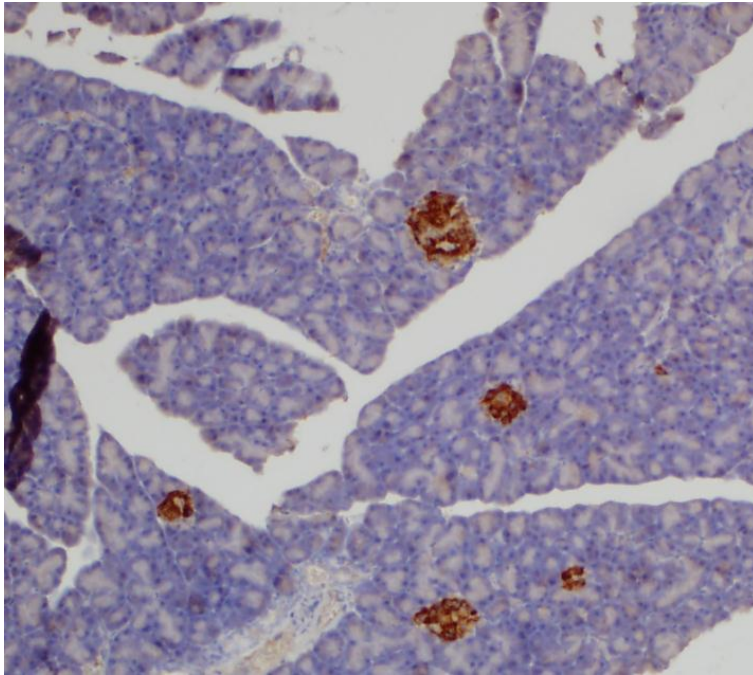


**Resim 27:**Pankreasta oluşan belirgin nekroz (H&Ex400) ( Tenofovir Grubu ).

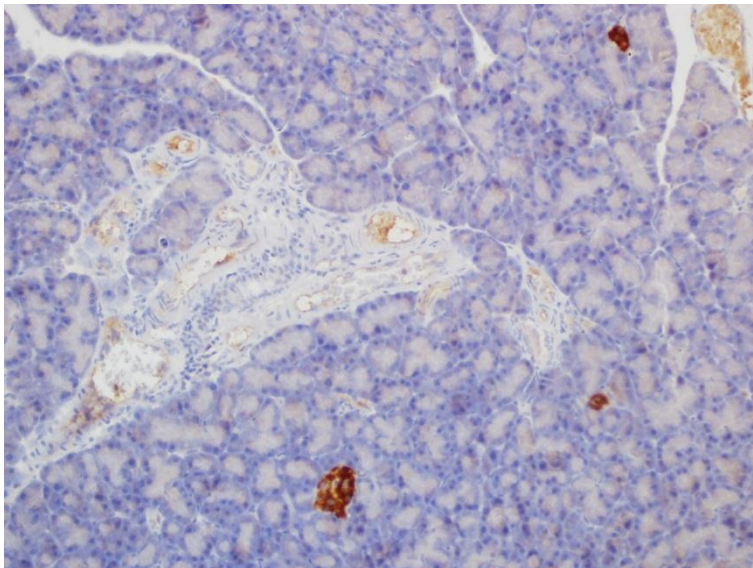


**Resim 28:** Ödem, konjesyon ve iltihabi infiltratta düzelme (H&E x 200). ( Tenofovir+ CAPE )





**Resim 29:** Kontrol pankeas grubunda insulin (IHK; x 200).



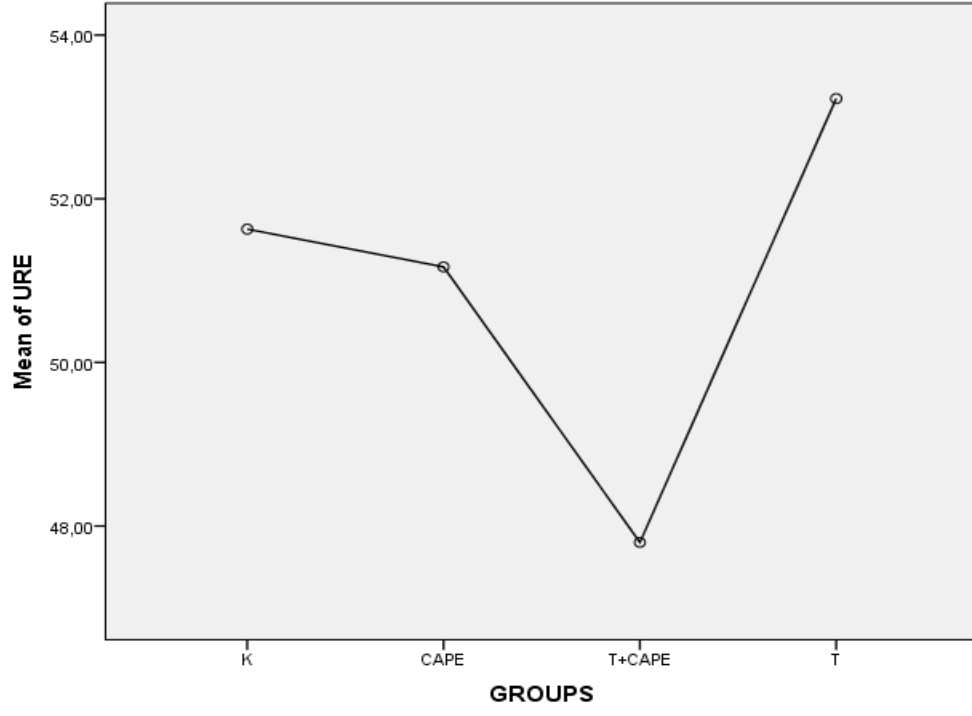
**Resim 30:** Tenofovir grubunda insulin (IHK; x 200).

#### 4.2. Biyokimyasal Analiz

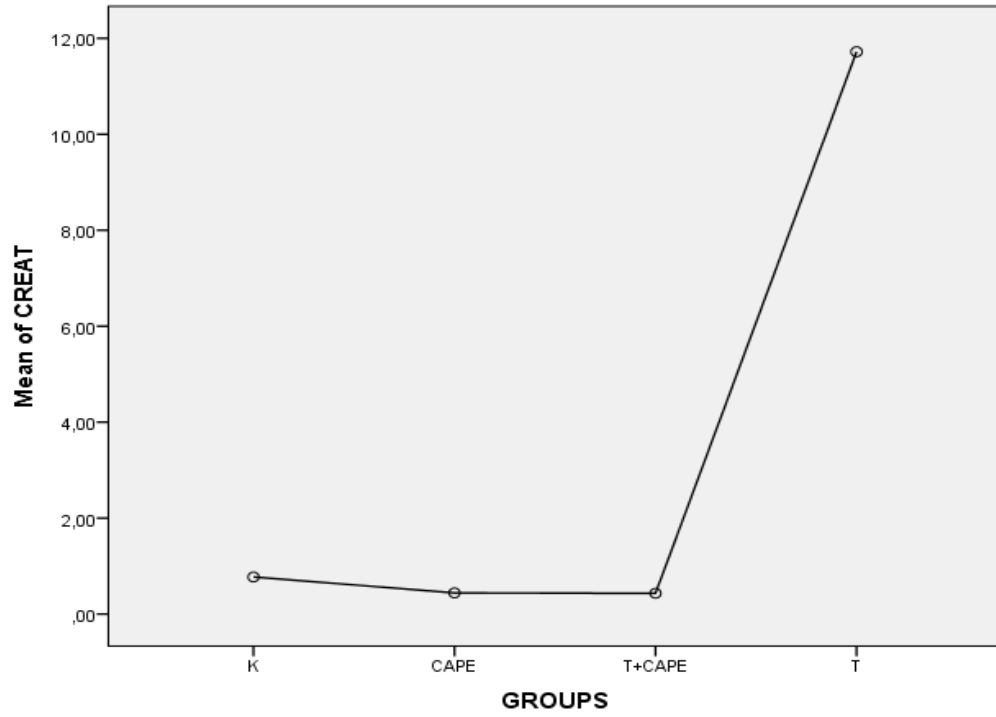
Üre ve kreatinin seviyeleri yönünden grupları kendi aralarında incelediğimizde; T grubunda üre ve kreatinin değerlerinin diğer K, CAPE, T+CAPE gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmasada yüksek düzeyde olduğu ve CAPE'nin T'nin yükselttiği özellikle kreatinin seviyelerini azaltarak düzenlediği belirlendi (Tablo 2, Şekil 3-4).

**Tablo 2:** Üre ve kreatinin seviyelerinin gruplar arasında karşılaştırılması

Tukey HSD I grup	J grup		İki grubun ortalama değerlerinin farkı (I-J)	Standart hata (Std. Error)	Sig. (P)
ÜRE	K	CAPE	,46190	13,07987	1,000
		T+CAPE	3,82857	13,59516	1,000
		T	-1,59524	12,67061	1,000
	CAPE	K	-,46190	13,07987	1,000
		T+CAPE	3,36667	6,47568	,994
		T	-2,05714	4,20124	,995
	T+CAPE	K	-3,82857	13,59516	1,000
		CAPE	-3,36667	6,47568	,994
		T	-5,42381	5,60321	,890
	T	K	1,59524	12,67061	1,000
		CAPE	2,05714	4,20124	,995
		T+CAPE	5,42381	5,60321	,890
KREATİN	K	CAPE	,33119	21,80553	1,000
		T+CAPE	,34086	22,94966	1,000
		T	-10,94667	17,10566	,918
	CAPE	K	-,33119	21,80553	1,000
		T+CAPE	,00967	23,73315	1,000
		T	-11,27786	18,14330	,924
	T+CAPE	K	-,34086	22,94966	1,000
		CAPE	-,00967	23,73315	1,000
		T	-11,28752	19,50346	,938
	T	K	10,94667	17,10566	,918
		CAPE	11,27786	18,14330	,924
		T+CAPE	11,28752	19,50346	,938



Şekil 3: Ürenin gruplar arası ortalama değerleri.



Şekil 4: Kreatinin gruplar arasındaki ortalama değerleri.

## 5. TARTIŞMA

Kronik karaciğer hastalıklarının dünyadaki en yaygın nedenlerinden biri, kronik hepatit B enfeksiyonudur. Dünyada 2 milyar kişi hepatit B virusu ile enfekte olup, yaklaşık 400 milyonu kronik enfektedir. Ciddi morbidite ve mortalitesi olan bu hastalık tedavi edilmediği takdirde siroz ve hepatosellüler kanser gelişme riskine sahiptir(51).

Son yıllarda oral antiviral tedavilerin kullanıma girmesiyle kronik hepatit B tedavisinde önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Geçmiş yıllarda tedavi seçeneği sadece interferonla ile sınırlı iken ilk olarak 1998 yılında lamivudin, 2002 yılında adefovir, 2006 yılında telbivudin, 2007 yılında entekavir, 2008 yılında da tenofovir gibi ilaçların kullanıma girmesiyle interferonların kullanım alanları azalmıştır (52). Adenozin monofosfatın bir nükleotid analogu olan tenofovir disoproksil fumarat, günümüzde hem hepatit B hem de HIV virus enfeksiyonlarında etkin olarak kullanılan ve ilk başvuru alanıdır (53).

Bizler bu bilgiler ışığında güven eşiği yüksek ve daha az oranda direnç gelişimi olan tenofovirin mevcut yan etkilerini görmek ve oluşabilecek yan etkilerin CAPE ile geriye çevrilmesini gözlemledik.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada tenofovir verilen ratlarda serum kreatinin değerinde artış ve histopatolojik olarak böbrek, karaciğer, beyin ve pankreas organlarında hasar tespit edildi. İlginç olan 10 µmol/kg dozunda intraperitonel olarak verilen CAPE'nin artmış serum kreatinin değerlerini azaltması ve histopatolojik bulguları iyileştirmesi olmuştur. Bu etkinin propolis ekstresinin aktif bir bileşeni olan CAPE'nin nötrofiller ya da ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan reaktif oksijen radikallerini bloke etmesine bağlı olarak gelişen antienflamatuvar, antifungal, antimikrobial, immünomodülatör, antimutajenik ve antioksidan özelliklerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz (49). Literatürde Greg Biesecker ve arkadaşları tarafından 2002 yılında ratlar ile yapılan bir çalışmada 6 grup oluşturulmuş ve 28 gün boyunca her gün 300 mg/kg tenofovir verilmiş. Artmış BUN, AST, ALT ve normal kreatinin değerleri tespit edilmiş. Bu durum ilacın mitokondrial DNA polimerazını inhibe ederek mitokondrial disfonksiyon ve hasar ile ilişkilendirilmiştir (54).

Liaw ve arkadaşları, günde 245 mg tenofovir tedavisi alan dekompanse kronik hepatit B karaciğer hastalığı olan 45 hastanın 4'ünde (%8.9) serum kreatinin değerinde bazal değere göre 0.5 mg/dl artış, 1 hastada (%2.2) serum fosfor düzeyinin 2 mg/dl altına düştüğü saptanmıştır (55).

Marcellin ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir başka çalışmada da, günlük 245 mg tenofovir kullanan 426 kronik hepatit B'li hastaların tedavilerinin 48. haftasında hiçbir hastada renal toksisite görülmemiştir (56). Avrupa'da yapılan güncel ve çok merkezli bir çalışmada HBV ile enfekte 78 hastaya tenofovir tedavisi başlanmış. 76 haftanın sonunda ortalama kreatinin konsantrasyonları ölçülmüş ve önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Sadece bir hastada >1.5 kat artış izlenmiştir (57).

Bizim çalışmamızda 27 adet rat, biri kontrol grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı ve bir gruba 28 gün boyunca 30 mg/kg tenofovir verildi. Serum BUN düzeyinde artış gözlenmezken, kreatinin değerinde kontrol grubuna göre artış gözlemlendi. Çalışmalar arasındaki bu farklılıklar; etnik köken, cinsiyet, olası böbrek hasarı gibi özelliklerden ötürü kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızla ilgili şunu diyebiliriz ki; serum kreatinin değerindeki artış ve histopatolojik olarak elde edilen veriler tenofovir ile ilişkili nefrotoksisite riskinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Tenofovirin bildirilen yan etkileri arasında yer alan karın ağrısı ile ilişkili olabileceğini düşündüğümüz pankreatit ile ilgili literatürde çalışmalar mevcuttur. Margaret A Kirian ve arkadaşları didanozin ve tenofovir kombinasyonu ile bağlantılı bir pankreatit vakası raporlamıştır. HIV ile enfekte 51 yaşındaki erkek hastaya didanozin 250 mg/gün, tenofovir 300 mg/gün verilmiş. Antiviral tedaviden 10 hafta sonra pankreatit gelişmiştir ve ilaçların kesilmesiyle spontan olarak pankreatit gerilemiştir (58).

Benzer bir çalışma Jennifer N. Blanchard ve arkadaşları tarafından yapılmış, HIV ile enfekte Didanozin ve Tenofovir kombinasyonu alan 4 vaka incelenmiş. Standart didanozin dozları ile tedavi edilen HIV ile enfekte hastaların %7'sinde pankreatit geliştiği düşünülmektedir. Bu kombinasyon ile incelenen 4 vakada pankreatit gelişmiş ve maalesef 1 vaka ölümlerle sonuçlanmış. Bu vakalardan birinde pankreatit açısından risk faktörü olabilecek kolelitiazis mevcutmuş. Yine bu vakaların üçünde pankreatit geliştiğinde CD4+ hücre sayısı < 200 hücre/ml imiş. Sonuç olarak pankreatit gelişimi kombine antiviral tedavi alan vakalarda CD4 hücre sayısının düşük olması,

tenofovir'in didanozin'in plazma düzeyini arttırmasına ve günlük tavsiye edilen günlük 400 mg didanozin'in 60 kg altındaki bireylerde toksik seviyeye ulaşabileceğine bağlanmıştır (59).

Bizim çalışmamızda pankreas dokusu histomorfolojik olarak incelendi. Tenofovir alan grupta pankreas dokusunda ödem, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu ve belirgin nekroz izlendi. Tenofovir ile ilişkili pankreas toksisite hipotezini doğrulamak ve mekanizmayı ortaya çıkarmak için daha büyük ve izole tenofovir ile ilgili yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatürde Echenique IA ve ark. yayınladıkları bir vakada heteroseksüel yolla bulaş öyküsü olan HIV ile enfekte 40 yaşında kadın hastaya efavirenz, emtrisitabin ve tenofovir başlanmış. Hepatit B ve C serolojileri negatif olan hastada 8 ay sonra transaminitis ve sağ üst kadranda şiddetli karın ağrısı gelişmiş. Bunun üzerine ilaçlar durdurulmuş. Hepatotoksisite en sık efavirenz ile bağlantılı olarak değerlendirilmiş (60). Marcellin ve arkadaşları günlük 245 mg tenofovir alan HBeAg pozitif ve negatif 426 hastayı 1 yıl boyunca takip etmiş, %1'inde ALT alevlenmesi tespit edilmiş. Bizim çalışmamızda tenofovir alan grupta karaciğer dokusunda hafif derecede vakuoler dejenerasyon, sitoplazmik ve nükleer değişiklikler, hücreler arası sınırlarda kayıp ve nekroz izlendi. Tenofovir tedavisi ile hedefimiz HBV replikasyonunu duraksatmak veya azaltmak, kronik karaciğer yetmezliği, hepatosellüler kanser gelişimini önlemek iken çalışmamızda böyle bir sonuç ile karşılaşmak bizim açımızdan şaşırtıcı olmuştur. Ratlarda gelişmiş nefrotoksisiteye bağlı hepatotoksisite gelişmiş olabilir. Bu nedenle eş zamanlı olarak serum AST ve ALT seviyelerine de bakmak uygun olur.

Literatürde tenofovir'in akciğer ve beyin dokusu üzerine etkileri ile ilgili çalışmaya rastlamadık ancak kendi çalışmamızda akciğerin histopatolojik bulgularında değişiklik gözlenmezken beyin dokusunda kontrol grubunda histomorfoloji normal iken tenofovir grubunda beyin parankimindeki nöronlarda genellikle orta derecede hasar/toksisite (nöronlarda dar büzölmüş sitoplazma ve yaygın koyu piknotik nükleus ve vakuolizasyon, inflamasyon ve nekroz) oluştu.



Materyal ve metod yönüyle çalışmamıza oldukça benzer şekilde olan Adaramoye OA ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan çalışmada wistar türü ratlar ile tenofovirin hepatik-adrenal fonksiyonlar üzerindeki etkisi ve vitamin E'nin koruyucu rolü değerlendirilmiştir. Her bir grupta 6 adet rat içeren 4 grup oluşturulmuş; birinci grup kontrol grubu, ikinci gruba 4 hafta boyunca 50 mg/kg/gün tenofovir verilmiş, üçüncü gruba tenofovir ve vitamin E, son grubada sadece vitamin E verilmiş. Kontrol grubuna göre serum üre, kreatinin, aminotransferazlar, gama glutamil transferaz ve alkalin fosfataz üriner glukoz ve protein atılım düzeylerinde anlamlı artış gözlenmiştir. Histopatolojik olarak tenofovir ile tedavi edilen ratlarda böbrek yapısında distorsiyon, tübüler atrofi ve dejenerasyon tespit edilmiş. Glikozüri ve proteinürinin nedenleri tenofovir'in proksimal tübüle etki ederek nefrotoksisiteye yol açmasına bağlı olduğu düşünülmüş. Karaciğerin histopatolojik incelemesinde kontrol, tenofovir+vitamin E ve sadece vitamin E alan gruplarda lezyon gözlenmezken, sadece tenofovir alan grupta hafif derecede nekroz izlenmiş. Böylece ratların serum ve dokularındaki biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlar korele gözlenmiş. Sonuç olarak bu çalışmada, tenofovir ile tedavi edilen ratlarda oluşan böbrek ve karaciğer dokularındaki histopatolojik hasarları ve serum enzim seviyelerini, vitamin E takviyesi ile düzeldiği belirtilmiştir. Bu durum tenofovir metabolizması sırasında ortaya çıkan oksidatif strese bağlı ürünlerin bir antioksidan ile yani vitamin E ile düzeldiği anlamına gelmektedir (61). Bizim çalışmamızda da Adaramoye ve ark. çalışmasına benzer şekilde, tenofovir alan grupta kontrol grubuna göre serum kreatinin değerinde artış, histomorfolojik olarak incelediğimizde karaciğer, beyin, pankreas, böbrek dokularında orta-hafif derecelerde hasar belirlendi. Ayrıca CAPE'nin tenofovirin neden olduğu histomorfolojik ve biyokimyasal hasarı azalttığı tespit edildi.

## **6. SONUÇ VE ÖNERİLER**

CAPE'nin tenofovir ile yapılan antiviral tedavide profilaktik amaçla kullanılması halinde faydalı sonuçlar verme potansiyeline sahip olduğu, bu nedenle CAPE'nin antiviral tedavide profilaktik amaçla kullanımı konusunda yeni ve daha uzun süreli çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

## 7. KAYNAKLAR

1. World Health Organisation Hepatitis B: World Health Organisation Fact Sheet 204.2008.
2. Lai CL RV, Yuen MF, Poynard T. Viral hepatitis B. *Lancet* 2003, 362:2089-94.
3. Kearney BP, Flaherty JF, Shah J. Tenofovir disoproxil fumarate: clinical pharmacology and pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(9):595-612.
4. Delaney WE, Borroto-Esoda K. Therapy of chronic hepatitis B: trends and developments. *Curr Opin Pharmacol.* 2008;8(5):532-40.
5. A. I. Eine icterus epidemic. *Berl Klin Wochenschr* 1885;22(20):3.
6. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(2):351-66.
7. Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet.* 1970;1(7649):695-8.
8. Galibert F, Mandart E, Fitoussi F, Tiollais P, Charnay P. Nucleotide sequence of the hepatitis B virus genome (subtype ayw) cloned in *E. coli*. *Nature.* 1979;281(5733):646-50.
9. Hepatitis B vaccine: *Lancet.* 1980 Dec 6;2(8206):1229-30.
10. Prince AM, Lee DH, Brotman B. Infectivity of blood from PCR-positive, HBsAg-negative, anti-HBs-positive cases of resolved hepatitis B infection. *Transfusion.* 2001;41(3):329-32.
11. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2000;64(1):51-68.
12. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2000;64(1):51-68.
13. Hollinger FB. Hepatitis B virus. In: Fields BN KD, Howley PM (eds). *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996:2738.
14. Ganem D. Hepadnaviridae and their replication In: Fields BN KD, Howley PM (eds). *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996:2703.
15. Lai C-L Discovery and Classification In: Lai CL LSHBv, London: International Medical Press, 2002:1-8.

16. Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev.* 2006;28:112-25.
17. Ngui SL, Watkins RP, Heptonstall J, Teo CG. Selective transmission of hepatitis B virus after percutaneous exposure. *J Infect Dis.* 2000;181(3):838-43.
18. Van Thiel DH, De Maria N, Colantoni A, Friedlander L. Can hepatitis B core antibody positive livers be used safely for transplantation: hepatitis B virus detection in the liver of individuals who are hepatitis B core antibody positive. *Transplantation.* 1999;68(4):519-22.
19. Alter MJ, Ahtone J, Weisfuse I, Starko K, Vacalis TD, Maynard JE. Hepatitis B virus transmission between heterosexuals. *JAMA.* 1986;256(10):1307-10.
20. Altuğlı I SA, Erensoy S, Zeytinoğlu A, Bilgiç A. Diagnosis of human immunodeficiency virus type 1 and 2 in a Turkish blood donor population. *Int J Infect Dis* 1998, 2(4):202-4.
21. Sırmatel F GN, Baydar İ, Karaoğlu İ. Gaziantep bölgesinde HBV antijen ve antikör taşıyıcılığının yaş gruplarına göre dağılımı. III. Ulusal Viral Hepatit Sempozyumu Proram ve Kongre Kitabı. İstanbul, 1996:17.
22. Cao GW. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations: *World J Gastroenterol.* 2009 Dec 14;15(46):5761-9.
23. Koziel MJ. Immunology of viral hepatitis. *Am J Med.* 1996;100(1):98-109.
24. Van Hecke E, Paradijs J, Molitor C, Bastin C, Pala P, Slaoui M, et al. Hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocyte responses in patients with acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 1994;20(4):514-23.
25. Koziel MJ. Cytokines in viral hepatitis. *Semin Liver Dis.* 1999;19(2):157-69.
26. Kidd-Ljunggren K. Variability in hepatitis B virus DNA: phylogenetic, epidemiological and clinical implications. *Scand J Infect Dis.* 1996;28(2):111-6.
27. Horvart RT TGHBaDvI, Murray PR(ed). *Manual of Clinical Microbiology* (8th edition) W, D.C:ASM Press, 2003:1464-1479.
28. Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Low-level viremia and intracellular expression of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in HBsAg carriers with concurrent hepatitis C virus infection. *J Clin Microbiol.* 1998;36(7):2084-6.
29. Decker RH. Diagnosis In: Zuckerman AJ, Thomas HC(eds). *Viral Hepatitis-scientific basis and clinical management.* London: Churchill Livingstone; 1993: 165-84.

30. Marusawa H, Uemoto S, Hijikata M, Ueda Y, Tanaka K, Shimotohno K, et al. Latent hepatitis B virus infection in healthy individuals with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology*. 2000;31(2):488-95.
31. Gerlich WH. The enigma of concurrent hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies to HBsAg. *Clin Infect Dis*. 2007;44(9):1170-2.
32. Fattovich G. Natural history of hepatitis B. *J Hepatol*. 2003;39 Suppl 1:S50-8.
33. EASL Clinical Practice Guidelines:Management of chronic hepatitis B. *Journal of Hepatology* 2009;50:227-42.
34. Colonna RR, Pokornowski K et al. Four year assesment of ETV resistance in nucleoside naive and lamivudine refractory patients.2007; 46:S294.
35. Diazoni F AG, Capobianchi MR. The biological basis fort he clinical use of interferon. *J. Hepatal* 1990;5-10.
36. Fournier C, Zoulim F. Antiviral therapy of chronic hepatitis B: prevention of drug resistance. *Clin Liver Dis*. 2007;11:869-892.
37. Chang TT, Gish RG, Hadziyannis SJ, Cianciara J, Rizzetto M, Schiff ER, et al. A dose-ranging study of the efficacy and tolerability of entecavir in Lamivudine-refractory chronic hepatitis B patients. *Gastroenterology*. 2005;129(4):1198-209.
38. Lai CL, Gane E, Liaw YF, Hsu CW, Thongsawat S, Wang Y, et al. Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2007;357(25):2576-88.
39. Van Bömmel E WT, Schürmann D, Berg T. Tenofovir treatment in patients with lamivudineresistant hepatitis B mutants strongly affects viral replication, *Hepatology* 2002; 36(2):5078.
40. Kearney BP FJ, Shah J. Tenofovir disoproxilfumarate: clinical pharmacology and pharmacokinetics. *ClinPharmacokinet*. 2004;43(9):595-612.
41. Jenh AM, Pham PA. Tenofovir disoproxil fumarate in the treatment of chronic hepatitis B. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8(10):1079-92.
42. Balık I YÖKHBTKYGvGOA, Tabak F, Balık İ (eds) *Viral Hepatit 2009, Viral Hepatitle Savaşım Derneği* , 2009:117-123.
43. Marcellin P BM, Krastev Z, et al. A randomized, double-blind, comparison of tenofovir versus adefovir dipivoxil for the treatment of HBeAg-negative chronic hepatitis B: Study GS-US-174-0102, 2007.
44. Mirzoena OK CPTeopaicoeptirP, *Leukot and Essent Fatty Acids* 55:4441-449, 1996.

45. Şahin Ş SS, Özyurt H, Uz E, İlhan A, Akyol Ö. Tissue xantine oxidase activity and nitric oxide levels after spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits: comparison of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and methylprednisolone. *Neurosci Res Commun* 31: 111-121,2002.
46. Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol.* 1991;35(1):77-82.
47. Dimov V, Ivanovska N, Bankova V, Popov S. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. *Vaccine.* 1992;10(12):817-23.
48. Krol W, Czuba Z, Scheller S, Gabrys J, Grabiec S, Shani J. Anti-oxidant property of ethanolic extract of propolis (EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochem Int.* 1990;21(4):593-7.
49. Pascual C, Gonzalez R, Torricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol.* 1994;41(1-2):9-13.
50. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70(1):158-69.
51. Yamazhan T. Kronik Hepatit B Tedavisinde Antiviral ile Uzun Vadeli Sonuçlar TFBİeVhSDİ, 2009:31-44.
52. Prof. Dr. İsmail Balık, Uz. Dr. Özlem Yüksel, Kronik Hepatit B tedavisinde kullanıma yeni giren ve girecek olan antiviraller, 2009.
53. Izzedine H, Launay-Vacher V, Isnard-Bagnis C, Deray G. Drug-induced Fanconi's syndrome. *Am J Kidney Dis.* 2003;41(2):292-309.
54. Biesecker G, Karimi S, Desjardins J, Meyer D, Abbott B, Bendele R, et al. Evaluation of mitochondrial DNA content and enzyme levels in tenofovir DF-treated rats, rhesus monkeys and woodchucks. *Antiviral Res.* 2003;58(3):217-25.
55. Liaw YF, Sheen IS, Lee CM, Akarca US, Papatheodoridis GV, Suet-Hing Wong F, et al. Tenofovir disoproxil fumarate (TDF), emtricitabine/TDF, and entecavir in patients with decompensated chronic hepatitis B liver disease. *Hepatology.* 2011;53(1):62-72.
56. Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M, Gane E, de Man RA, Krastev Z, et al. Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med.* 2008;359(23):2442-55.
57. Si-Ahmed SN, Pradat P, Zoutendijk R, Buti M, Mallet V, Cruziat C, et al. Efficacy and tolerance of a combination of tenofovir disoproxil fumarate plus emtricitabine in patients with chronic hepatitis B: a European multicenter study. *Antiviral Res.* 2011;92(1):90-5.

58. Kirian MA, Higginson RT, Fulco PP. Acute onset of pancreatitis with concomitant use of tenofovir and didanosine. *Ann Pharmacother.* 2004;38(10):1660-3.
59. Blanchard JN, Wohlfeiler M, Canas A, King K, Lonergan JT. Pancreatitis with didanosine and tenofovir disoproxil fumarate. *Clin Infect Dis.* 2003;37(5):e57-62.
60. Echenique IA, Rich JD. EFV/FTC/TDF-associated hepatotoxicity: a case report and review. *AIDS Patient Care STDS.* 2013;27(9):493-7.
61. Adaramoye OA, Adewumi OM, Adesanoye OA, Faokunla OO, Farombi EO. Effect of tenofovir, an antiretroviral drug, on hepatic and renal functional indices of Wistar rats: protective role of vitamin E. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2012;23(2):69-75.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1 Eylül 1979 yılında Batman'da doğdum. İlköğretim ve lise eğitimimi Batman'da tamamladım. 2000 yılında Kahramanmaraş Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2006 yılında mezun oldum. 3 yıl pratisyen hekimlik yaptım. 7 Eylül 2009 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda asistan doktor olarak göreve başlamış olup halen bu görevimi sürdürmekteyim.