

T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**NONREPLİKATİF HBV TAŞIYICILARINDA
KRONİK HBV İNFEKSİYONLU HASTALARDA
VE DOĞAL BAĞIŞIKLIĞI OLANLARDA
SERUM NEOPTERİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. İBAK GÖNEN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. F Zeynep AKÇAM

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
760 sayılı proje ile desteklenmiştir

2005-İSPARTA

ÖNSÖZ

Eğitimimde büyük emeği olan değerli hocam Prof. Dr. Güler Yaylı'ya, bu tezin hazırlanması esnasında ve asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, danışman hocam Yrd. Doç. Dr. F. Zeynep Akçam'a, karşılıklı sevgi ve saygı çerçevesinde çalışmalarımızı sürdürdüğümüz başta Dr. Onur Kaya ve Dr. Salim Aksoy olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Sevgi ve desteklerini her zaman hissettiğim sevgili eşim Emine, biricik kızım Zeynep Beyza' ya, anne ve babama sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Neopterin	2
2.1.1. Tarihçe	2
2.1.2. Kimyasal yapısı	2
2.1.3. Sentezi Salınımı ve Metabolizması	3
2.1.4. Neopterin Fiziolojik Rolü	4
2.1.5. Neopterin Ölçme Yöntemleri ve Vücut Sıvılarında Neopterin Düzeyleri	6
2.1.6. Neopterin Klinik Kullanımı	7
2.1.6.1. Neopterin ve İnfeksiyon Hastalıkları	7
2.1.6.2. Neopterin ve Malign Hastalıklar	8
2.1.6.3. Neopterin ve Otoimmün Hastalıklar	9
2.1.6.4. Neopterin ve Kalp Hastalıkları	9
2.1.6.5. Neopterin ve Böbrek Hastalıkları	10
2.1.6.6. Neopterin ve Transplantasyon	10
2.2. HBV İnfeksiyonu	11
2.2.1. Virusun yapısı	11
2.2.2. HBV İnfeksiyonu Epidemiyolojisi	12
2.2.3. HBV İnfeksiyonunun İmmunopatogenezi ve HBV nin İmmun Sistemden Kaçış Mekanizmaları	13
2.2.4. Klinik Seyir	15
2.2.5. Tedavi	18
3. MATERYAL ve METOD	22
3.1. Grupların oluşturulması	22
3.2. Serum Örneklerinin Alınması	23
3.3. Neopterin Ölçümü	23

3.3.1 Test Çalışması	23
3.4. İstatistiksel Analiz	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	31
ÖZET	36
SUMMARY	37
KAYNAKLAR	38



SİMGELER VE KISALTMALAR

- HBV:** Hepatit B virüsü
HSK: Hepatosellüler karsinom
GTP: Guanozin triphosphate
BH4: Tetrahidrobiopterin
NK: Natural killer
TNF: Tümör nekrotizan faktör
BOS: Beyin omirilik sıvısı
ELİSA: Enzym linked immunosorbant assay
RİA: Radio immun assay
HPLC: Yüksek performanslı likid kromatografisi
CMV: Cytomegalo virüs
EBV: Ebsteinbarr virüs
HIV: Human immun deficiency virus
HAV: Hepatit A virüsü
IFN- α : Interferon alfa
IFN- β : Interferon beta
IFN- γ : Interferon gama
IL-2: İnterlökin 2
ALT: Alanin aminotransferaz
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
AFP: Alfa fetoprotein
AST: Aspartat aminotransferaz
GGT: Gamaglutamil transpeptidaz
ALP: Alkalen fosfataz
HAI: Histolojik aktivite indeksi

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Neopterin

2.1.1.Tarihçe

Neopterin monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerden interferon- γ stimülasyonu sonucu üretilen ve hücreyel aracılı immün sistemin özgül olmayan bir belirleyicisi olarak kabul edilen bir sitokindir. Kimyasal yapısı nedeniyle pteridinler ailesine mensuptur (1,2). Pteridinler ilk kez 1889 yılında bir biyolojik materyalden izole edilmiştir (2). Başlangıçta böceklerin ve küçük vertebralıların bir pigmenti olarak tanımlanmıştır (5). Neopterin insan materyalinden ilk olarak 1967 yılında Sakurai ve Goto tarafından izole edilmiştir (6). Neopterinle ilgili ilk makale ise 1979 yılında yayınlanmış, malign hastalıklarda ve viral infeksiyonlarda neopterin üretiminin arttığını bildirmiştir(7).

Daha sonraki yıllarda yapılan invitro çalışmalarda interferon- γ ile uyarılmış insan makrofajlarında neopterin üretiminin ve salınımının arttığı tesbit edilmiştir (8,9). Günümüze kadar yapılan çok sayıda klinik ve deneysel çalışmada neopterin üretiminin hücreyel immün aktivasyonla ilişkisi kanıtlanmış, neopterin düzeyleri ile infeksiyöz ve inflamatuvar hastalıkların şiddeti ve progresyonu arasında güçlü bir bağlantının olduğu gösterilmiştir (10,11).

2.1.2.Kimyasal Yapısı

Neopterin bir 2-amino-4-hydroxy-1'2'3'-trihydroxypropildir . Moleküler ağırlığı düşük olup 253 daltondur . Neopterin, aktive olmuş monosit ve makrofajlar tarafından guanozin triphosphate (GTP) cyclohydrolaz-1 enzimi aracılığıyla GTP den üretilir(2,12). Vücutta dihidroneopterin ve tetrahidroneopterin şeklinde bulunur. D-eritro, L-eritro, D-treo ve L-treo olmak üzere dört izomeri vardır. İnsanda D-izomerleri önemlidir . Neopterin sadece insan ve primatlarda saptanmıştır. Sıçan ve hamsterlarda ise tesbit edilememiştir (13,14).

2.1.3.Sentezi Salınımı ve Metabolizması

Neopterin biyosentezi şekil-1 de görüldüğü gibi, monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerde GTP'nin dönüşümü ile başlar (10). GTP'nin tetrahidrobiopterine dönüşümü üç enzimatik basamaktan oluşan bir reaksiyon dizisini gerektirir. Birinci basamakta bu sürecin anahtar enzimi olan GTP-cyclohidrolaz-1, 7-8 dihidroneopterin trifosfat oluşumunu katalizler. Bu enzimin aktivitesi interferon- γ stimülasyonu ile büyük oranda artar (5,15). Bunun yanında interferon- α , diğer sitokinler ve endotoksinler de çok düşük oranlarda da olsa GTP-cyclohidrolaz-1 aktivitesini arttırabilirler (5,16). 7-8 dihidroneopterin trifosfat, Mg bağımlı gerçekleşen ve 6-provoyl tetrahidrobiopterin sentaz enzimi ile katalizlenen basamakta, 6-provoyl tetrahidrobiopterine dönüştürülür. Son basamakta provoyl yan zincirinin iki ketoik parçasının, NADPH bağımlı speapterin redüktaz enzimi ile katalizlenen reaksiyonla indirgenmesi sonucu tetrahidrobiopterin (BH4) meydana gelir. İnsan doku ve hücrelerinde 6-provoyl tetrahidrobiopterin sentaz enzim aktivitesi diğer memelilerle karşılaştırıldığında daha azdır. En düşük enzim aktivitesi olan hücreler ise monosit ve makrofajlardır (10,15,17). Bundan dolayı bu hücrelerde 7-8 dihidroneopterin trifosfatın 6-provoyl tetrahidrobiopterine dönüşümü gerçekleşmez ve 7-8 dihidroneopterin trifosfat birikimi olur. Bu maddenin oksidasyonu sonucunda ise neopterin meydana gelir (10,15).

Neopterin sentezi sırasında meydana gelen tetrahidrobiopterin, karaciğerde fenilalaninin tirozine, nöroendokrin dokuda tirozinin L-dopaya ve serotonin sentezi için triptofanın 5-hidroksitriptofana dönüşümünde kofaktör olarak rol oynar (18). Ayrıca nitrik oksit sentazın da bir kofaktörüdür (19). Tetrahidrobiopterin birikiminde eksiklik sonucu, fenilalanin birikimi ve nörotransmitterlerin azalmasına bağlı olarak şiddetli nörolojik hastalıklar ortaya çıkar ki bu şekilde gelişen hiperfenilalaninemiler atipik fenilketonüri olarak tanımlanır. Bu olgularda idrarda neopterin atılımında oldukça arttığı saptanmıştır (20).

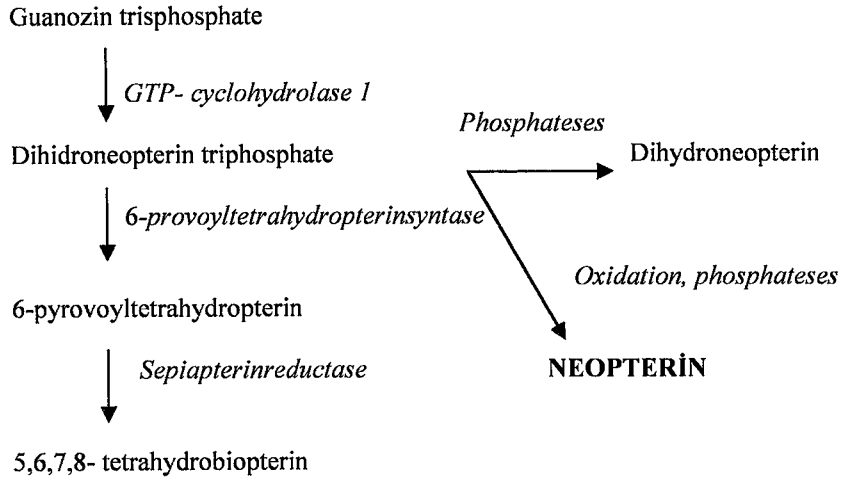
Neopterin üretiminin en güçlü indükleyicisi T lenfosit tip 1 ve natural killer (NK) hücrelerinden salınan interferon- γ dir. Bu nedenle vücut sıvılarındaki neopterin konsantrasyonları interferon- γ varlığını da gösterir (2,21). Bundan dolayı neopterin hücrenel aracılı immüitenin sensitif bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (1,22).

İnterferon- γ nın yanısıra, interferon- α ve interferon- β nın da neopterin üretimini indükleyebileceği, ancak daha yüksek konsantrasyonlarda bu etkilerinin başladığı bildirilmiştir (23). Tümör nekrotizan faktör (TNF) - α ise tek başına indükleyici değildir. Ancak, interferon- γ ile birlikte neopterin üretimini stimüle edebilir (10). Bütün bunlara ek olarak bakteriyel pirojenler ve toksinlerde neopterin üretimini uyarıcı mekanizmaları harekete geçirebilir (10).

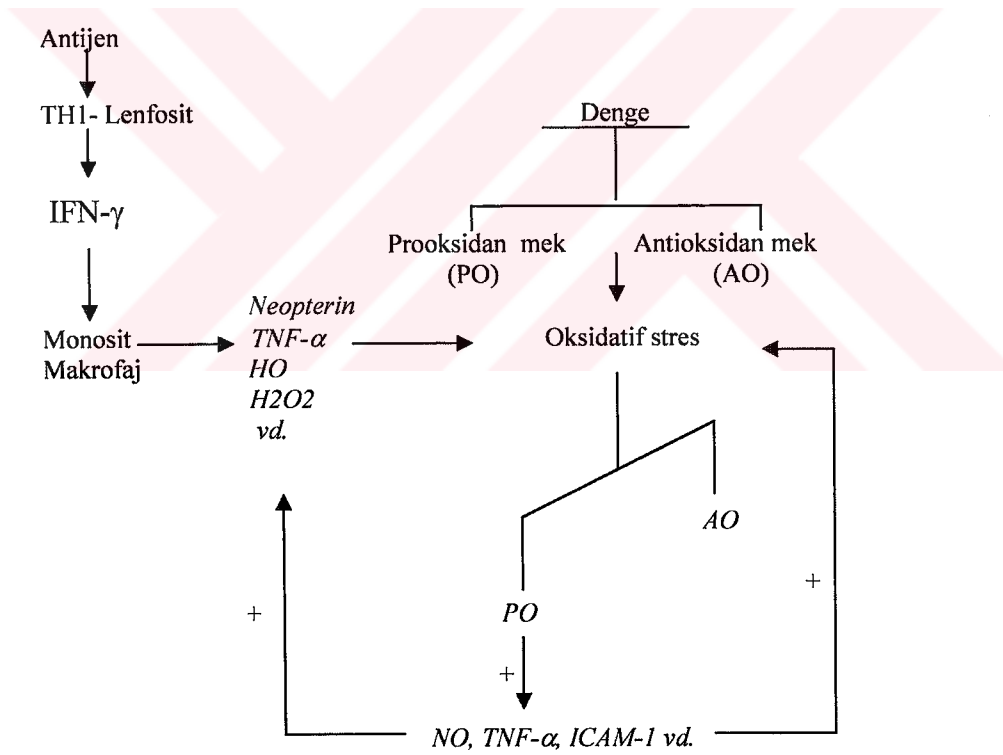
Neopterinin dolaşım sistemindeki yarılanma ömrü ortalama 90 dakikadır (10). Metabolize olmadan böbrekler aracılığı ile atılır. Neopterin klirensi inülin klirensinden yüksek olduğu için, atılımı sadece glomerüler filtrasyonla değil tubuler sekresyonla da gerçekleşir (2).

2.1.4. Neopterinin Fizyolojik Rolü

Neopterinin fizyolojik rolü henüz tam olarak aydınlatılamamakla birlikte, sadece TH-1 aracılı hücrenel immün sistemin bir göstergesi değil, konak savunma reaksiyonlarının akışında da fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonları olan bir sitokindir (10). Yapılan pek çok çalışmada reaktif oksijen metabolitleriyle etkileşimin ve oksidatif stresin yükselmesinin neopterinle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Neopterin invazyon yapan patojenlere karşı yönelmiş reaktif oksijen metabolitlerinin sitotoksik etkilerini artırarak savunmada rol oynar. Uygun hücrenel çevre içinde, sellüler redoks durumunu, üretim, salınım, stabilite veya reaktif oksijen ve de nitrojen metabolitlerinin etkisini artırarak etkiler. Böylece neopterin, interferon- γ nın stimüle ettiği monosit, makrofaj ve muhtemelen monosit köken alan dentritik hücrelerin ekstrasellüler sitotoksik savunma mekanizmasının bir parçası durumuna gelir (10).



Şekil 1: Neopterin biyosentezi.



Şekil 2: Neopterinin etkileri, biyokimyasal fonksiyonları ve diğer hücrel mediyatörlerle etkileşimi (10 numaralı kaynaktan alınmıştır).

Neopterin artışı ile inflamasyon, infeksiyon ve malignitenin şiddetinin artıyor olması da, neopterinin savunma sisteminin bir parçası olduğunu göstermektedir.

Neopterinden oluşan maddelerin antioksidan özellikleri de vardır. Ancak aşırı neopterin üretimi oksidan-antioksidan mekanizmayı bozarak insan hücrelerinin apoptozisine yol açabilir (24).

Neopterinin etkileri, biyokimyasal fonksiyonları ve diğer hücrel aracılı modulator ve mediatörlerle etkileşimi şekil-2 de gösterilmiştir . Bunların dışında neopterin henüz açıklanamayan fizyolojik özelliklerinin de olduğu iddia edilmektedir.

2.1.5. Neopterin Ölçme Yöntemleri ve Vücut Sıvılarında Neopterin Düzeyleri

Biyolojik sıvılardaki neopterin düzeyleri, enzim linked immunosorbant assay (ELISA) , radio immun assay (RIA) ve yüksek performanslı likid kromatografisi (HPLC) gibi yöntemlerle ölçülebilir (2,25,26). Örnekler 24 saate kadar 2-8 °C de, 6 aya kadar -20 °C de ışıktan korunarak saklanabilirler. Daha uzun süreli saklamalarda ise – 80 °C kullanılmalıdır. Serum dışında beyin omirilik sıvısı (BOS), snovyal sıvı, pankreatik sıvı, idrar, tükürük ve asit sıvısı gibi çeşitli biyolojik materyallerden neopterin izole edilebilir (21,27,28).

İdrar neopterin düzeyleri yaşa ve cinsiyete bağlı hafif değişiklikler gösterebilir. Ancak kreatinin düzeyleri ile idrar neopterin konsantrasyonları yakından ilişkilidir (1,2). Bu nedenle idrar neopterin konsantrasyonları $\mu\text{mol}/\text{kreatinin}$ olarak ifade edilir. Erişkindeki normal değerler 50-250 $\mu\text{mol}/\text{kreatinin}$ dir (5).

RIA ve ELISA yöntemleriyle saptanan ortalama serum neopterin konsantrasyonları $5,2 \pm 2,7$ nmol/l'dir (25). Ancak serum neopterin konsantrasyonları yaşa bağlı olarak değişiklikler gösterir ki, çocuklarda ve yaşlı insanlarda daha yüksek düzeyler elde edilebilir (2).

Snoviyal sıvı, tükürük ve BOS gibi vücut sıvılarının temini invazif işlem gerektirdiğinden, bilgiler kısıtlı olmakla birlikte, bu sıvılardaki neopterin konsantrasyonlarının 1,0-9,0 nmol/l arasında olduğu bildirilmektedir (10).

2.1.6.Neopterinin Klinik Kullanımı

Biyolojik sıvılardaki stabilitesi nedeniyle neopterin, hücrenel aracılı (TH1 tip) immün cevabın şiddetini değerlendirmek amacıyla kullanılabilir yararlı bir göstergedir. Vücut sıvılarında neopterin ölçümleri hücrenel immün cevabın durumu ve sıklıkla hastalığın progresyonunun takibi açısından bilgi sahibi olmamızı sağlar. Neopterin klinikte inflamasyonun erken bir göstergesi olarak kullanılabilir.

2.1.6.1.Neopterin ve İnfeksiyon Hastalıkları

Yüksek neopterin konsantrasyonlarının, viral, bakteriyel, parazitik veya fungal infeksiyonların şiddetini belirlemede güvenilir bir indikatör olduğu bildirilmektedir. Özellikle viral infeksiyonlar oldukça yükselmiş neopterin düzeyleriyle ilişkilidir. Cytomegalo virüs (CMV) ve ebsteinbarr virüs (EBV) infeksiyonlarında (29), akut viral hepatitlerde (30), kızamıkçık ve suçiçeği gibi döküntü ile seyreden infeksiyonlarda (31) yükselmiş neopterin düzeyleri gösterilmiştir. Akut dönemde yükselen neopterin düzeyleri, antikorlar geliştikten sonra iyileşme döneminde azalma gösterir.

Asemptomatik human immun deficiency virus (HIV) infeksiyonunda neopterin düzeylerinin yükseldiği gözlenmiştir (2,32). AIDS basamağına gelmeden çok önce neopterin düzeyleri yükselir. Neopterin düzeyleri ile HIV-1 RNA kopya miktarı doğru orantılı, CD4 pozitif hücre sayısı ise ters orantılı olarak değişir (2,21,33). Ancak neopterin konsantrasyonları HIV infeksiyonunda hastalığın progresyonu açısından bir fikir vermez. Hafif yükselmiş neopterin düzeylerine rağmen hızlı progresyon gösteren vakalar bildirilmiştir(2).

Bakteriyel infeksiyonlarda da yükselmiş serum neopterin düzeyleri bulunur (2). En yüksek düzeyler septik şokta saptanmıştır ve sepsisli hastalarda neopterin düzeyleri ile mortalite arasında anlamlı bir ilişki vardır .

Yoğun bakım hastalarında prokalsitonin ve neopterin düzeylerini araştıran bir çalışmada, infekte hastalarda neopterin düzeylerinin belirgin miktarda arttığı saptanmış, ancak infeksiyon ile inflamasyonun ayırımında yetersiz kaldığı gösterilmiştir(34).

Özellikle intrasellüler bakterilerle oluşan infeksiyonlarda, savunmadan sorumlu primer lenfokin interferon- γ olduğundan bu tür infeksiyonlarda daha yüksek neopterin düzeyleri dikkati çekmektedir. Akciğer tüberkülozu ve lepra gibi mikobakteri infeksiyonlarında da serum neopterin konsantrasyonlarının arttığı gösterilmiştir(2).

Bakteriyel ve viral infeksiyonların yanında sıtma (35) ve leismaniazis(2) gibi paraziter infeksiyonlarda da serum neopterin düzeylerinin arttığı dikkati çekmiştir.

BOS neopterin düzeylerinin periferik ve merkezi sinir sistemi infeksiyonunu ayırmada oldukça spesifik olduğu (27), ancak viral ve bakteriyel etyolojiyi ayırmada yetersiz kaldığı bildirilmiştir(36).

Değişik etyolojilerle oluşan karaciğer hastalıklarında neopterin düzeyleri araştırılmış ve yükseldiği tesbit edilmiştir (37). Neopterinin kronik karaciğer hastalıklarında hücreli aracılı immüniteyi değerlendirmek amacıyla kullanılabilir bir gösterge olduğu kaydedilmiştir (37). HBV infeksiyonunda da hücreli immüniteyle ilişkili olarak neopterin düzeyleri yüksek bulunmuş ve klinik tabloyla pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (38).Yine nonreplikatif HBsAg taşıyıcılarında neopterin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır (39). Akut viral hepatitlerde ise en yüksek düzeylere akut hepatit A virüs (HAV) infeksiyonunda ulaşılmış, akut HBV infeksiyonunda da buna yakın değerler elde edilmiştir (30).

2.1.6.2.Neopterin ve Malign Hastalıklar

Değişik malign hastalığı olan hastaların önemli bir çoğunluğunda yüksek neopterin konsantrasyonları vardır. Yüksek neopterin konsantrasyonları tümör progresyonu, evresi, metastaz gelişimi ve mortalite açısından bir gösterge olabilir (10,40). Tümör hücreleri primer olarak neopterin üretmez. Yükselmiş neopterin konsantrasyonları tümör

büyümesine bağlı olarak gelişen konak defansının reaksiyonuna bağlıdır. Bu nedenle tipik bir tümör markeri değildir. Akciğer kanseri, tiroid kanseri, mesane ve prostat kanseri, kolon kanseri ve hematolojik malignansiler neopterin düzeylerinin yükseldiği malignitelerden sadece birkaçıdır (2,26,41, 42). Kanserli hastalarda neopterin düzeylerinin takibi tümörün evresi, relaps ve rezidülerin değerlendirilmesi açısından faydalı gibi gözükmektedir. Takip esnasında meydana gelen artışlar klinisyen için uyarıcı olmalıdır.

2.1.6.3.Neopterin ve Otoimmün Hastalıklar

Otoimmün hastalıkların oluşumunda hücrel immün sistem önemli bir yer teşkil eder. Bu nedenle bu hasta grubunda neopterin düzeylerinin artması beklenir ve özellikle hastalığın aktivasyonu açısından takibi önemlidir. Romatoid artritli hastalarda (10,43), sistemik lupus eritematozusda (44), sjögren sendromunda (2), graves hastalığında (2), insüline bağımlı diyabette (45), akut romatizmal ateşte (10,46), inflamatuvar barsak hastalıklarında(47) yükselmiş neopterin düzeyleri gösterilmiştir. Asıl önemlisi otoimmün paterni olan bu tür hastalıkların takibinde neopterin düzeylerinin bir aktivasyon markeri olarak kullanılabilirliğidir. Yapılan çalışmalarda romatoid artrit ve sistemik lupus eritematozus hastalarında hastalığın aktivitesine bağlı olarak neopterin düzeylerinin yükseldiği ve bir aktivasyon markeri olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (43,44).

2.1.6.4.Neopterin ve Kalp Hastalıkları

Yapılan çalışmalarda akut ve kronik koroner arter hastalarında yükselmiş neopterin düzeyleri gösterilmiştir. Stabil koroner arter hastalığında aktive makrofaj sayısının azlığından dolayı daha hafif yükselmeler söz konusudur (50). Koroner arter hastalığı olan hastalarda yapılan araştırmalarda, unstabil anginalı hastalarda stabil anginalı hastalarla karşılaştırıldığında neopterin düzeylerinin anlamlı derecede yükseldiği tesbit edilmiştir (48,49). Ateramatöz plak rüptürü arter duvarındaki makrofajların migrasyonuna ve aktivasyonuna bağlı olarak neopterin düzeylerini yükseltir. Koroner arter hastalarında neopterin düzeyleri ile etkilenen damar sayısı

arasında doğru orantılı bir değişim vardır (2). Akut myokard infarktüsünde de neopterin düzeylerinde anlamlı bir yükselme olur ve trombolitik tedavinin başlanmasından sonraki ilk dört saat içinde önemi derecede azalma gösterir (2,50). Non Q vave myokard infarktüsü hastalarda tanının yanısıra komplikasyonların tahmini açısından da güvenilir bir göstergedir (51).

Koroner arter hastalıkları dışında konjestif kalp yetmezliğinde de hastalığın evresi ile ilişkili olarak neopterin düzeylerinin yükseldiği görülmüştür (52).

2.1.6.5.Neopterin ve Böbrek Hastalıkları

Renal yetmezlikte , diyabetik nefropati ve glomerulonefritler gibi çeşitli böbrek hastalıklarında neopterin düzeylerinin yükseldiği görülmüştür (2). Diyabetik nefropatide hastalığın evresi ile anlamlı bir ilişki vardır.

2.1.6.6.Neopterin ve Transplantasyon

Kemik iliği, böbrek, kalp, karaciğer, akciğer, pankreas transplantasyonları sonrası gelişen graft reddi ve infeksiyöz komplikasyonların tahmini açısından neopterin düzeylerinin takibinin klinik önemi vardır (10). Kemik iliği transplantasyonları sonrası gelişen immunolojik veya infeksiyöz komplikasyonlarda neopterin düzeyleri artar. Genellikle neopterin düzeyleri ne kadar yüksekse komplikasyonun şiddeti de o kadar fazladır . Aynı zamanda neopterin düzeyleri kemik iliği bankalarında tarama amaçlı olarak kullanılabilir. Çünkü otoimmün veya malign hastalığı olan bireylerin çoğunluğunda neopterin yükselmiştir (10). Yine benzer şekilde kan donörlerinin taranması da CMV enfeksiyonu gibi enfeksiyonların tanısı açısından yararlı olabilecektir (53).

Kalp, böbrek, karaciğer , pankreas gibi solid organ transplantasyonları sonrası gelişen infeksiyöz ve immunolojik komplikasyonların tesbiti açısından neopterin düzeylerinin klinik olarak anlamlı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (2,22).

2.2.HBV İnfeksiyonu

2.2.1.Virüsün Yapısı

HBV hepadnaviridae ailesinin ortohepadnavirüs cinsinde yer alan zarflı, kısmen çift sarmallı bir DNA virüsüdür . Hepadnavirüs ailesi içinde insanda infeksiyon oluşturan tek virüs türü hepatit B virüsüdür. Elektron mikroskopik incelemelerde, infektif özellikte küresel şekilli dane partikülleri, noninfektif tubuler ve küresel partiküller olmak üzere üç formu tanımlanmıştır (54). Her üç formda da HBsAg denilen ortak yüzey antijeni mevcuttur. HBsAg immunojeniktir ve 6 aydan uzun süreli tesbiti kronikleşme lehine bir indikatördür (54).

HBV kısmen çift sarmallı sirküler bir DNA molekülü taşır (3). Genetik bilginin tamamı uzun sarmal üzerinde kodlanmış olup bu sarmal S,C,X ve P diye adlandırılan proteinleri kodlayan nükleik asit dizilerine sahiptir.S geni yüzey proteinlerini, C geni kapsid proteinlerini, X geni X proteinini ve DNA polimerazı kodlar. Ancak S geni üzerinde preS1, preS2 ve S olmak üzere 3, C geni üzerinde pre-C ve C olmak üzere 2 farklı bölge bulunmakta, farklı başlangıç kodonlarından sentezlenen proteinler de farklı olmaktadır (55,56).

Bilinen en küçük DNA virüsü olan HBV nin, dünyanın değişik bölgelerinden, A dan G ye kadar harflerle simgelendirilen 7 farklı genotipi bildirilmiştir. Genotip A pandemik olup, B ve C Asya'da, genotip D Güney Avrupa'da, genotip E Afrika'da, genotip F ABD'de ve genotip G ABD ve Fransa'da sık bulunur (4). HBV genotipleri hastalık profillerini ve tedaviye cevabı etkileyebilir. Genotip A ile infekte hastalarda, genotip D ile infekte hastalara göre daha iyi histolojik sonuçların olduğu ve daha sık HBV-DNA klirensinin meydana geldiği bildirilmektedir(57). Yine genotip C' li hastaların interferon tedavisine cevabı genotip B' li hastalarla karşılaştırıldığında daha iyidir (58).

2.2.2.HBV infeksiyonu Epidemiyolojisi

Dünya çapında 400 milyondan fazla insan HBV ile kronik olarak infektidir(3,4,56). İnfeksiyon ortalama %5 oranında kronikleşirken, bunların bir kısmında siroz ve hepatosellüler karsinom gelişir. Her yıl gelişen 530.000

HSK olgusunun 316.000 inin HBV ile ilişkili olduğu bilinmektedir (4). HBV dört ana yolla bulaşır;

- 1- İnfekte kan yada vücut sıvıları ile parenteral temas (perkütan).
- 2- İnfekte anneden yenidoğana bulaş (perinatal, vertikal).
- 3- Cinsel temas
- 4- İnfekte kişilerle cinsel temas dışında yakın temas (horizontal).

Kontrol edilmeden kan ve kan ürünleri transfüzyonu, jilet, diş fırçası ve enjektör gibi aletlerin ortak kullanımı, dövme yaptırılması, akapunktur ve intravenöz ilaç alışkanlığı parenteral bulaş için risk faktörleri olarak sayılabilir (59,60). Özellikle sağlık personeli perkütan bulaş açısından risk altındadır. Hepatit B ile infekte olanların % 50 sinde ise bulaş için herhangi bir risk faktörü saptanamaz (3).

İnfeksiyonun kronikleşme riskinde en önemli etmen virüsün alındığı yaştır. İnfeksiyonun yeni doğan döneminde ve bir yaşın altında alındığı olgularda kronikleşme riski % 90, 1-5 yaş arası çocuklarda % 30, 5 yaşın üstündeki çocuklarda ve erişkinlerde ise % 5 civarındadır (3,61).

HBV infeksiyonunun dünyadaki dağılımı coğrafi farklılıklar gösterir. İnfeksiyonun görülme sıklığına göre dünya, düşük orta ve yüksek endemisite bölgelerine ayrılmıştır. Kronik hepatit B li hastaların $\frac{3}{4}$ ü hastalığın yüksek endemik olduğu Çin ve sahra altı Afrika da bulunmaktadır. Bu bölgelerde HBsAg seroprevalansı %10-20 olup, infeksiyonların çoğu neonatal periyod ve erken çocukluk döneminde alınmaktadır. Hastalığın çok düşük insidansa sahip olduğu (%0,2-0,5) Kuzey Amerika, Kuzey ve Orta Avrupa ile Avustralya da ise infeksiyonların çoğunluğu adölesan dönemde cinsel temas veya intravenöz ilaç kullanımı sonucu alınmaktadır (4).

Ülkemizde ise değişik coğrafi bölgelerden değişik rakamlar bildirilmekle birlikte, HBsAg seroprevalansı % 3 ile % 12,5 arasında değişmektedir (3). Yapılan değişik araştırmaların sonuçları dikkate alındığında ülkemiz orta endemik bölgeler arasında yer almaktadır . Bu rakamlara bakıldığında Türkiye' de 4 milyondan fazla insanın HBV ile kronik olarak infekte olduğu tahmin edilmektedir. Yapılan bu çalışmalar incelendiğinde, doğu ve

güneydoğu anadolu bölgesinden bildirilen oranların diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu görülmektedir (3).

Taramalar genellikle kan donörlerinde yapılmakta olup, bu popülasyonda araştırılan HBsAg antijeni tesbiti ile kronik HBV enfeksiyonu prevalansı doğruya yakın bir şekilde ortaya konulabilmektedir (3). Ancak gerçek prevalansın belirlenebilmesi için AntiHBs yada AntiHBc antikorlarının da taranması gerekliliğini savunan çok sayıda araştırmacı vardır (62,63). Serolojik göstergelerden sadece AntiHBcIgG nin pozitif olduğu izole antiHBc pozitifliği ülkemizde yapılan bir çalışmada % 4,6 olarak bulunmuştur (64). Bu vakaların HBsAg negatif kan transfüzyonları sonrası gelişen HBV enfeksiyonlarından sorumlu oldukları bilinmektedir. Bu nedenle hem gerçek prevalansın belirlenebilmesi, hem de kan transfüzyonları sonrası gelişen HBV enfeksiyonlarının önlenmesi açısından AntiHBc varlığının da araştırılması önem arz etmektedir.

2.2.3.HBV Enfeksiyonunun İmmunopatogenezi ve HBV nin İmmun Sistemden Kaçış Mekanizmaları

HBV enfeksiyonunun immunopatogenezi halen yeterince açık değildir. Bazı kişilerde hastalığın neden kronikleştiği, viral persisansın doğası, immun kaçışta rol oynayan mekanizmalar tam olarak netlik kazanmamış olup değişik görüşler öne sürülmektedir.

HBV enfeksiyonu çok değişken bir klinik spektruma sahiptir. Enfeksiyonun seyri inaparan yada asemptomatik olabildiği gibi akut, fulminan veya kronikleşerek siroz ve hepatosellüler kansere ilerleyebilen klinik tablolar da yapabilir. Yine persistan viremiye rağmen replikasyonun olmadığı, aminotransferazların ve karaciğer histolojisinin normal olduğu sağlam taşıyıcılık denilen bir tabloyla da sonuçlanabilir. Enfeksiyonun immuno-patogenetik mekanizmalarını açıklamadaki zorluklar, bu değişken tabiatına bağlanmaktadır.

HBV enfeksiyonunda hem virüsün eliminasyonunu sağlayan hem de karaciğerdeki histopatolojik değişikliklerden sorumlu olan, konağın immun yanıtıdır (65). Tolere edilebilir parankim hasarıyla virüs elimine edilerek şifa

elde edilebilir veya aşırı immun yanıtı sekonder karaciğerdeki önemli boyutlardaki hasar fulminan hepatit denen fatal tabloya yol açabilir veya virüs immun sistemden kaçarak hastalık kronikleşebilir. Bu süreç, immun sistem hücreleri arasındaki henüz tam anlaşılmayan bir etkileşime dayandırılmaktadır.

HBV sitopatik değildir. Hastalık tablosunun oluşması ve viral eliminasyondan tamamen konağın immun yanıtı sorumludur (3,66). Viral klirenste hücre ve humoral immün yanıtlar bir bütün olarak önem taşırlar. T hücre yanıtı infekte hücreleri temizler, humoral immün yanıt ise dolaşımdaki virüsü bloke ederek hepatositlerin infekte olmasını önler. Akut dönemde CD4(+) T hücre proliferasyonu, IL-2, IFN- γ ve TNF- α yapımı ile karakterize TH1 (hücresel tip) güçlü bir immün yanıt vardır ve esas hedef nükleokapsid antijenleridir (3). CD4(+) T lenfositlerin yanında sitotoksik T lenfositlerinin de virüsün eliminasyonunda ve immünopatajenezde rolü büyüktür. HBV infeksiyonunun virüsün klirensi ile mi yoksa persistansı ile mi sonlanacağını, büyük oranda sitotoksik T lenfosit yanıtının gücü belirler(66). Akut infeksiyonda artan CD8(+) T hücre proliferasyonu ve aktivasyonu kronik infeksiyonda gözlenmez. Kronik infeksiyonda nükleokapsid antijenlere spesifik T hücre yanıtının viral klirensi sağlama açısından daha etkili olduğu sanılmaktadır.

Sitotoksik T lenfositleri sadece sitolitik yoldan değil, IFN- γ ve TNF- α gibi sitokinler aracılığıyla nonsitolitik mekanizmalarla da replikasyonu ve HBV gen ekspresyonunu durdurabilir(67,68). Bu nonsitolitik mekanizmalar, sitolitik mekanizmalardan daha önce ve daha etkin olarak virüs eliminasyonunda görev alırlar (67).

HBV persistansındaki mekanizmalar da henüz yeterince açık değildir. Gerek konağa gerekse virüse ait bazı özellikler HBV'nin immün tanınmasını engelleyebilmektedir. Bu özellikler şöyle sıralanmaktadır.

Virüse Ait Nedenler

- 1- Virüsün precore/core geninde mutasyon oluşturarak HbeAg ekspresyonunda kayba yol açması. Zira HbeAg immün sistem için anahtar hedeflerden birisidir (3,69).

- 2- Virüsün beyin, testis ve gözün ön kamarası gibi vücut bölgelerine yerleşerek T hücre cevabından kaçması (3,70).
- 3- HBsAg ekspresyonunda kayba yol açarak antiHBs varlığına rağmen persistansın devam etmesi (3,70,71).
- 4- Virüsün MHC ve T hücreleri ile bağlanmasını sağlayan epitoplardaki mutasyonlar (3,70).

Konağa Ait Nedenler

- 1- Viral proteinleri sunma yeteneği olmayan HLA molekülü ekspresyonu (3,71).
- 2- Spesifik antijene yoğun maruziyet sonrası T hücrelerinin apoptozisi veya tolerabilite kazanması (3,70).
- 3- Daha düşük antiHBs oluşumuna neden olan HLA doku tipleri. Örneğin HLA-B8, B44, DR3 ve DR7 gibi doku tiplerinde antiHBs yanıtı daha düşük bulunmuştur (3,72,73).

2.2.4.Klinik Seyir

Akut Enfeksiyon

HBV enfeksiyonu asemptomatik enfeksiyondan fulminan hepatite kadar değişen farklı klinik tablolar gösterebilmektedir(59). İnkübasyon süresi 30-180 (ort. 70) gündür (54). İnfekte kişilerin % 65 inde iktersiz nonspesifik belirtilerle seyreden subklinik form gelişir. İkterik hepatit ise vakaların ancak %25 inde görülür. İkterik form halsizlik, yorgunluk, iştahsızlık, bulantı, kusma gibi nonspesifik belirtilerle başlar . Sarılığın başlaması ile klinikte düzelme olur. Sarılık ortalama 1-3 hafta sürer (74).

Nonspesifik laboratuvar testlerinde lökosit sayısı genellikle normal olmakla birlikte, lökopeni ve relatif lenfositoz görülebilir (54). Bilürubin düzeyleri genellikle 10 mg'ı geçmez. Serum aminotransferazları prodromal dönemde yükselmeye başlar ve normalin üst sınırının en az 10 katına kadar yükselir. Bazı vakalarda 50 kat kadar yükselme olabilir. Karaciğer enzimlerinden alanin aminotransferaz (ALT) karaciğere daha spesifiktir . Albumin ve globulin düzeyleri genellikle normaldir. Protrombin

zamanındaki yükseklik fulminan hepatit gelişimi yönünden uyarıcı olmalıdır (54).

HBV infeksiyonu 4 yaşın altındaki çocuklarda % 90, 30 yaşın üstündeki erişkinlerde ise 2/3 oranında asemptomatik seyreder (3). HBV infeksiyonu kolestatik ve fulminan formlarla da seyredebilir . Olguların % 1 inden azında fulminan form görülür, prognozu oldukça kötüdür(75).

Akut HBV infeksiyonu tanısı spesifik serolojik testlerle konur. HBsAg semptomların başlangıcından 2-8 hafta önce serumda saptanabilir. Genellikle 3 ay içinde kaybolur ve antiHBs oluşur (3). HBsAg nin serumda saptanmasından 7-10 gün sonra HbeAg pozitifleşir. HbeAg replikasyonun göstergesidir ve 8 haftadan uzun süre sebat etmesi taşıyıcılık gelişebileceğinin bir işareti olabilir . Bu dönemde HBV-DNA da virüs replikasyonunun bir diğer göstergesi olarak pozitifdir. HBcAg serumda saptanamaz, ancak hepatositlerde gösterilebilir. Core antijenine karşı oluşan antikorlar ise serumda saptanabilir. Başlangıçta antiHBcIgM, daha sonra antiHBcIgG ortaya çıkar. HBsAg ile birlikte AntiHBcIgM pozitifliği genellikle bir akut HBV infeksiyonu göstergesidir. HBsAg nin kaybolduğu ancak antiHBs nin daha oluşmadığı pencere periyodunda ise akut hepatitin tek serolojik göstergesi antiHBcIgM dir.

Kronik Enfeksiyon

HBV infeksiyonunu takiben HBsAg pozitifliğinin 6 aydan daha uzun sürmesi kronik HBV infeksiyonu olarak tanımlanır (3,53). HBV infeksiyonu yetişkinlerde ortalama % 5 oranında kronikleşme gösterir (3). Asemptomatik infeksiyondan sonra kronikleşme riski daha fazladır.

Kronik hepatit B genellikle semptom vermez. Hastaların bir kısmında yorgunluk, bulantı, üst abdominal ağrı, kas ve eklem ağrıları gibi nonspesifik semptomlar görülebilir (70). Kronik HBV infeksiyonu olan hastaların bir kısmında virüs replikasyonu yoktur. HBV-DNA (-) tir ve serum transaminazları normaldir. Bunları tanımlarken sağlıklı taşıyıcı terimi kullanılır (54). Bu hastaların uzun dönem takiplerinde, % 5,4 ünde kronik aktif hepatit geliştiği bildirilmiştir (3). Bu nedenle bu hastaların belli aralıklarla takipleri önerilmektedir. Yine bu hasta grubunun her yıl %1-2

sinde HBsAg (-)leşmesi olabilir (3). Spontan oluşan bu HBsAg serokonversiyonunun nedeni tam olarak bilinmemektedir.

Sağlıklı HBsAg taşıyıcılığı ile kronik hepatit arasındaki ayırım karaciğerdeki nekroinflamatuvar hastalığın histolojik olarak tanımlanması ile konur (3). Bu nedenle HBsAg (+) ve transaminazları yüksek olan hastalarda biyopsi yaparak tanıyı kesinleştirmek şarttır.

Aktif replikasyonun en iyi göstergesi HBV-DNA'dır ve değişik yöntemlerle tesbit edilebilir. Bunlardan en sık kullanılanlar branched DNA ve hibrid capture testidir (76). Bu amaçla yaygın olarak kullanılan bir diğer yöntem ise polimeraz zincir reaksiyon (PCR) testidir. Klasik hibridizasyon testlerinde 1 milyon genomluk düzeyler ancak saptanabilirken, PCR yöntemiyle 200 genom bile saptanabilmektedir. HBV-DNA miktarı viremi düzeyini belirlemede kullanabileceğimiz en spesifik testtir.

Kronik hepatitli hastalarda siroz, portal hipertansiyon, hepatorenal sendrom, asit, hepatik ensefalopati gibi komplikasyonlar gelişebilir (77). Şiddetli kronik hepatitli olguların % 50 sinde 4 yıl içinde siroz gelişim riski mevcuttur. HSK ise %0,2 /yıl gibi bir oranda gelişir (77). HSK'nın % 75'inin etyolojisinde hepatit B virüsü yer almaktadır.

Kronik HBV Enfeksiyonunun Devreleri

Kronik hepatit B 2 dönem ve 4 faz olarak incelenebilir(56). Bu dönemler tedaviye başlama zamanı açısından önemlidir.

1- Replikasyon Dönemi: Bu dönemde immuntolerans ve immunklirens fazları olmak üzere iki faz vardır. Karaciğerde aktif virüs replikasyonu vardır ve bunun göstergesi olarak serum HBV-DNA'sı pozitifdir. Ancak bu fazda immuntolerasyon olması nedeniyle hepatosit harabiyeti olmaz ve karaciğer enzimleri normal düzeylerde seyreder. Ancak bir süre sonra (10-30 yıl), immuntolerasyon fazından immunklirens ya da immunoaktivasyon fazına geçilir. Bu faza geçişi sağlayan mekanizma tam aydınlatılamamakla birlikte bunun nedeninin, viral yükteki bir artış ya da viral antijenlerin presentasyonundaki değişiklik olduğu düşünülmektedir (3). Bu fazda oluşan immun yanıtı sekonder olarak hepatosit hasarı

meydana gelir ve karaciğer enzimleri yükselir. İmmunoaktivasyon fazıyla oluşan alevlenmeler genellikle asemptomatik olmakla birlikte, nadiren akut hepatit semptomları görülebilir. Hatta antiHBcIgM pozitifliğinin ve AFP yüksekliğinin de nadir de olsa görülebileceği bilinmektedir. Bu dönemin uzunluğu ile kronik aktif hepatit ve siroza gidiş riski ve hızı da artar (56,81). İnterferon tedavisi için en uygun zamanda bu fazdır ve in iyi cevap bu fazda alınır.

2- Nonreplikaif faz / integrasyon dönemi: Bu dönemin başlangıcında replikasyon düşük miktarlarda devam eder. Bir çok hastada hibridizasyonla HBVDNA tesbit edilemez olmuştur. Genellikle HbeAg kaybolur ve AntiHBe oluşur. Bazı hastalarda HBsAg nin de kaybolduğu gözlenmiştir. Son fazda ise replikasyon tamamen durur. Serumda PCR ile bile HBVDNA tesbit edilemez. Bu fazda karaciğer hücrelerine integrasyon gerçekleşmiştir. Virüs hepatosit genomuna integre olur ve virüsün göstergesi olan HBsAg hepatosit genomu tarafından üretilir.

2.2.5.Tedavi

Akut HBV infeksiyonunun spesifik bir tedavisi yoktur. Yatak istirahati ve destek tedavisi önerilir. Hastalar fulminan hepatit gelişimi yönünden izlenmelidir.

Nonreplikatif (sağlıklı) kronik hepatit B taşıyıcıları, hepatik aktivasyonun takibi ve tanısı açısından 6 ayda bir kontrol edilmeli, AST, ALT, alfa feoprotein (AFP) düzeyleri ve karaciğer ultrasonları değerlendirilmelidir (78). Uygun hastalara ise karaciğer biyopsisi yapılarak aniviral tedavi verilmelidir. Kronik hepatit B de antiviral tedavinin amacı HBV replikasyonunun önlenmesi, siroza ve HSK a gidişin durdurulması ve nihayetinde yaşam süre ve kalitesinin artırılmasıdır. Antiviral tedavi histopatolojik olarak kronik hepatit tanısı konmuş, aktif viral replikasyonu olan (HBV-DNA +) ve transaminaz değerleri yüksek olan hastalarda endikedir (78).

Kronik hepatit B tedavisinde bugün için en iyi bilinen ve uzun süredir kullanımda olan ilaç interferon- α dır (3). Son yıllarda nükleozid analogları klinik kullanıma girmiştir.

İnterferonlar geniş biyolojik aktiviteleri olan sitokinlerdir. α , β ve γ interferon olarak üçe ayrılırlar. İmmünmodulator, antiviral ve antiproliferatif etkileri vardır. Klinik olarak en yaygın kullanılan interferon türü, IFN- α dır. İnterferonlar antiviral etkilerini virüsün hücre içine girişini, viral RNA ve protein sentezini inhibe ederek gösterirler (79). İmmünomodulator etkileri ise büyük oranda hepatosit yüzeyindeki viral antijenlerin sitotoksik T lenfositleri tarafından tanınmasını sağlamak ve infekte hepatositin yok edilmesi ile olmaktadır. IFN lar aynı zamanda onkojen virüslerin transforme edici etkilerini inhibe ederler. Bu ve bununla birlikte birkaç mekanizma sayesinde gösterdikleri antiproliferatif etki ile HBV ye bağlı HSK gelişimini önleyebilirler (3).

Farklı doz ve sürelerde çeşitli tedavi şemalarından, en çok tercih edilen protokol tipik vakalarda, haftada üç gün 9-10 milyon ünite veya hergün 4,5-5 milyon ünite IFN- α nın kullanıldığı tedavi rejimidir. İnterferon tedavisine yanıtta bir çok faktör etkili olmaktadır(77). İnterferon tedavisine yanıtta etkisi olan faktörleri şu şekilde sıralayabiliriz;

1- Konağa Bağlı Faktörler

- HBV-DNA düzeyi
- Transaminaz düzeyleri
- Yaş
- İnfeksiyonun süresi
- Cinsiyet
- İrk
- İnfeksiyonun bulaşma şekli
- Cinsel alışkanlık
- Semptomatik hepatit hikayesi
- Eşlik eden kronik hastalık varlığı (AIDS, KBY)
- Hastanın HLA antijenleri

- Tedaviye başlanma zamanı
- Tedavi esnasında ALT yüksekliğinin görülmesi
- Karaciğerdeki nekroinflamatuvar hastalığın şiddeti
- İmmünyetmezlik
- Anti HbcIgm pozitifliği

2- Virüse bağlı faktörler

- Mutant virüsle infeksiyon
- Eşlik eden diğer virüs infeksiyonları (HDV, HCV)

3- İlaça bağlı Faktörler

- İlacın dozu ve tedavi şeması
- Kombinasyon tedavisi
- İlacın maliyeti

İnterferon tedavisine gerek yanıt oranının düşük olması, gerekse yan etkilerinin fazlalığı nedeniyle kronik HBV infeksiyonu tedavisinde yeni arayışlar başlamıştır. Sonuçta nükleozid analogları klinik kullanıma girmiştir. Kronik hepatit B tedavisinde lisans alan ve yaygın olarak kullanılan ilk nükleozid analogu lamuvidindir (4,77). Lamuvidin 2'-deoxy-3' thiacitidin analogudur. En önemli avantajı kullanım kolaylığı ile birlikte yan etkilerinin çok az olmasıdır ve yaygın kullanımı beraberinde getirmiştir. 100 mg/gün dozunda kullanılır. IFN un endike olduğu durumlar dışında kompanse siroz vakalarında da güvenilir bir şekilde kullanılabilir (80). En büyük handikapı ise tedavi sırasında revers transkriptaz/DNA polimeraz enzimidaki mutasyon nedeniyle direnç gelişimidir. Bununla birlikte lamuvidinin ne kadar süre ile kullanılacağı da kesinlik kazanmamıştır.

Adefovir dipivoksil kronik hepatit B tedavisinde klinik kullanıma giren bir nükleotid analogudur. HbeAg (+) ve daha uzun tedavi gerekiren HbeAg (-) kronik hepatit B olgularının tedavisinde uygun bir seçenek olarak görünmektedir. Etkisini HBV-DNA polimerazı inhibe ederek gösterir. Aktif viral replikasyonu ve ALT yüksekliği olan vakalarda

kullanılabilir. 10 mg/gün dozda oral olarak kullanılır. Tedavi sırasında en sık görülen yan etkiler baş ağrısı, asteni ve karın ağrısıdır(77,81). 10 mg/günlük dozlarda kreatinin düzeylerinde yükselme görülmesine de tedavi esnasında böbrek fonksiyonları takip edilmelidir . En önemli avantajı tedavi sırasında YMDD mutasyonunun görülmemesi ve direnç gelişme olasılığının düşük olmasıdır. Ancak maliyet/yarar analizi ve optimum tedavi süresi şu an için belirlenmesi gereken konular olarak belirtilmektedir (4,81).

Bunların dışında tenofovir disoproksil fumarat, emtricitabin, clevudine, entecavir, telbuvudin gibi yeni antivirallerin kronik hepatit B tedavisinde kullanımı ile ilgili çalışmalar sürmektedir (4).

Bütün bu tedavi rejimlerinin tek başlarına etkinliklerinin kısıtlı olması ve direnç gelişimi gibi faktörler nedeniyle kombinasyon tedavileri gündeme gelmiştir. Yapılan değişik çalışmalarda interferonlarla nükleozid analoglarının kombine kullanıldığı rejimlerin etkinliklerinin fazla olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle gelecekte kronik hepatit B tedavisinde kombinasyon tedavilerinin ön planda olacağı düşünülmektedir. Kombinasyon tedavilerinin; değişik etki mekanizmaları olan drogların additif ve sinerjistik etkilerinden yararlanmak, tek başına kullanımlarından daha düşük dozlarda kullanılarak yan etkileri azaltmak, direnç gelişimini minimuma indirmek, viral supresyonu maksimuma çıkartmak gibi avantajları ve amaçları vardır (4).

3.MATERYAL VE METOD

3.1.Grupların Oluşturulması

Çalışmada araştıma grubu, Ocak 2003 – Haziran 2004 tarihleri arasında, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine başvuran hastalar arasından seçilmiştir. Sağlıklı hepatit B taşıyıcısı, kronik hepatit B' li hastalar ve hepatit B ye karşı doğal bağışık olan bireylerden 20 şer kişi araştırma grubunu oluşturmuş, kontrol grubu olarak 20 sağlıklı birey alınmıştır.

Çalışmaya alınan araştırma ve kontrol gruplarının ayrıntıları aşağıdaki gibidir.

Grup I: Grup, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğinde düzenli takipleri yapılan, beş seneden beri HBsAg pozitifliği olan ve takipleri esnasında hiçbir dönemde karaciğer enzim yüksekliği saptanmayan hastalar arasından rastgele seçilerek oluşturuldu. Tüm hastaların son 6 ay içinde çalışılan HBV-DNA'ları negatif olarak saptandı.

Grup II: En az 6 aydan beri HBsAg pozitifliği olan, karaciğer enzimleri yüksek, HBV-DNA' ları pozitif olan, klinik ve histopatolojik olarak kronik hepatit B tanısı alan hastalar. Bu gruptaki hastaların hiçbirisi kronik hepatit B' ye yönelik tedavi almamaktaydı . Tüm olgulara tedavi başlanmadan önce karaciğer biyopsisi yapıldı ve biyopsi materyalleri Knodell tarafından tanımlanan skor sistemi kullanılarak periportal, portal, lobuler inflamasyon ve fibrozisin derecesine göre skorlandırıldı.

Sağlıklı HBsAg taşıyıcıları ve kronik hepatit B li hastaların serum neopterin düzeyleri ile birlikte alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), gamaglutamil transpeptidaz (GGT), alkalin fosfataz (ALP), total bilirubin, total protein ve albumin konsantrasyonları da ölçüldü.

Grup III:Hepatit B öyküsü olsun ya da olmasın serolojik olarak AntiHBs ve AntiHBc IgG pozitifliği olan sağlık personeli arasından seçilen doğal bağışık 20 kişiden oluşturuldu.

Grup IV: İnflamatuvar hastalığı, malignitesi, otoimmün hastalığı, transplantasyon öyküsü, akut veya kronik infeksiyöz bir patolojisi olmayan grup II ile aynı yaş ve cinsiyette olan sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubu.

Kronik hepatit B li hastaların, sağlıklı hepatit B taşıyıcılarının, doğal bağışıkların ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerin hiçbirinde, hepatit C ve D infeksiyonu, wilson hastalığı, otoimmün hepatit gibi diğer bir karaciğer hastalığı yoktu. Olguların hiçbirinde tanısı konulan akut veya kronik bir infeksiyon hastalığı, kronik metabolik bir hastalık, malignensi, koroner arter hastalığı bulunmamaktaydı.

3.2.Serum Örneklerinin Alınması

Tüm gruplardaki hastalardan neopterin düzeylerini tesbit etmek üzere biyokimya tüpüne venöz kan örneği alındı. Kanlar 1500 devirde 10 dk santrifüj edildikten sonra serumları ayrılıp, -80 °C de saklandı. Tüm bu işlemler esnasında örnekler ışıktan korundu.

3.3.Neopterin Ölçümü

Neopterin ölçümleri, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında neopterin ELISA (IBL Immuno-Biological- Laboratories, Hamburg) kiti ile bio-tek firmasının Elx808iu cihazında ELISA yöntemiyle çalışıldı. Kitin normal değer aralığı <10 nmol/l idi.

3.3.1Test Çalışması

- 1- Mikroplak kuyucukları içine, 10'ar µl standart, kontrol ve örneklerden konuldu.
- 2- Ardından kuyucuklara test prosedürüne göre hazırlanan enzim konjugattan 100'er µl ilave edildi.
- 3- Kuyucuklara 50'şer µl neopterin antiserumu ilave edildikten sonra, mikroplak siyah bant ile kapatılıp, orbital çalkalayıcıda (500/1 dak.) oda sıcaklığında 90 dakika inkübe edildi.

- 4- Kuyucuklardaki süpernatant döküldü ve 3 defa yıkama işlemi gerçekleştirildi.
- 5- Kuyucuklara test prosedürüne göre hazırlanan TMB substrat solüsyonundan 200'er µl ilave edildi ve mikroplak oda sıcaklığında 10 dakika İnkübe edildi
- 6- Kuyucuklara 100'er µl TMB substrat solüsyonu eklendi
- 7- Karıştırılarak, 15 dak. içerisinde 450 nm ELİSA okuyucusunda okundu.

3.4.İstatistiksel Analiz

Veriler bilgisayarda SPSS istatistik programına yüklenerek analizleri yapıldı. Gruplar arasındaki bağımsız örneklerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, grup içindeki bağımsız örneklerin korelasyonu için pearson korelasyon testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı değer olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmaya, araştırma grubu olarak 20 HBV taşıyıcısı, 20 kronik hepatit B li hasta ve 20 doğal bağışık ile kontrol grubu olarak 20 sağlıklı birey alındı. Tüm grupların serum neopterin düzeylerine bakıldı. HBV taşıyıcısı ve kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda ek olarak serum AST, ALT, GGT, ALP, T. Bil. ve HBV-DNA düzeyleri saptandı. Kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda ayrıca karaciğer biyopsi materyallerinde histolojik aktivite indeksi de değerlendirildi.

11 E (erkek) ve 9 K (kadın) dan oluşan 1. grubun yaş ortalaması $33,50 \pm 11,45$, 15 E ve 5 K dan oluşan 2. grubun yaş ortalaması $35,45 \pm 13,20$, 9 E 11 K dan oluşan 3. grubun yaş ortalaması $29,50 \pm 5,16$, 12 E ve 8 K dan oluşan 4. grubun yaş ortalaması $35,55 \pm 11,76$ yıl olarak saptandı (tablo5). Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Serum neopterin düzeyleri ise gruplara göre sırasıyla; $7,44 \pm 3,44$ nmol/l, $18,58 \pm 12,19$ nmol/l, $7,51 \pm 10,18$ nmol/l, $5,71 \pm 2,92$ nmol/l olarak saptandı (tablo 1). Gruplara göre neopterin düzey ortalamaları grafik-1 de gösterilmiştir. Çalışmaya alınan olguların ve kontrol grubunun neopterin düzeyleri tabloda gösterilmiştir (tablo 3).

Tablo 1: Serum neopterin düzeylerinin istatistiksel analizi

Grup	Sayı	Ort±sd	Min	Max
1	20	$7,44 \pm 3,44$	2,42	18,38
2	20	$18,58 \pm 12,19$	6,65	52,70
3	20	$7,51 \pm 10,18$	2,87	12,70
4	20	$5,71 \pm 2,92$	2,84	12,76

Bu sonuçlara göre neopterin düzeyleri açısından; 2. grup (kronik hepatit B) ile 1. grup (HBV taşıyıcısı) arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,000$).

2. Grup ile 3.grup (doğal bağışık) arasındaki fark da istatistiki olarak anlamlı idi ($p=0,000$).

2 grup ile 4. grup (kontrol grubu) arasında da istatistiki olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,000$).

1. ve 3. grubun neopterin düzeyleri ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark elde edilmedi ($p>0,05$).

1. ve 2. grubun ek olarak biyokimyasal parametreleri de tesbit edildi (tablo 4,5). İki grup ayrı ayrı değerlendirildiğinde neopterin düzeyleri ile hiçbir biyokimyasal parametre arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. Ancak 2 grup HBV ile infekte hastalar başlığı altında birlikte değerlendirildiğinde neopterin düzeyleri ile serum AST, ALT ve GGT düzeyleri arasında orta dercede bir korelasyon mevcuttu (tablo 2) (pearson corelation testi).

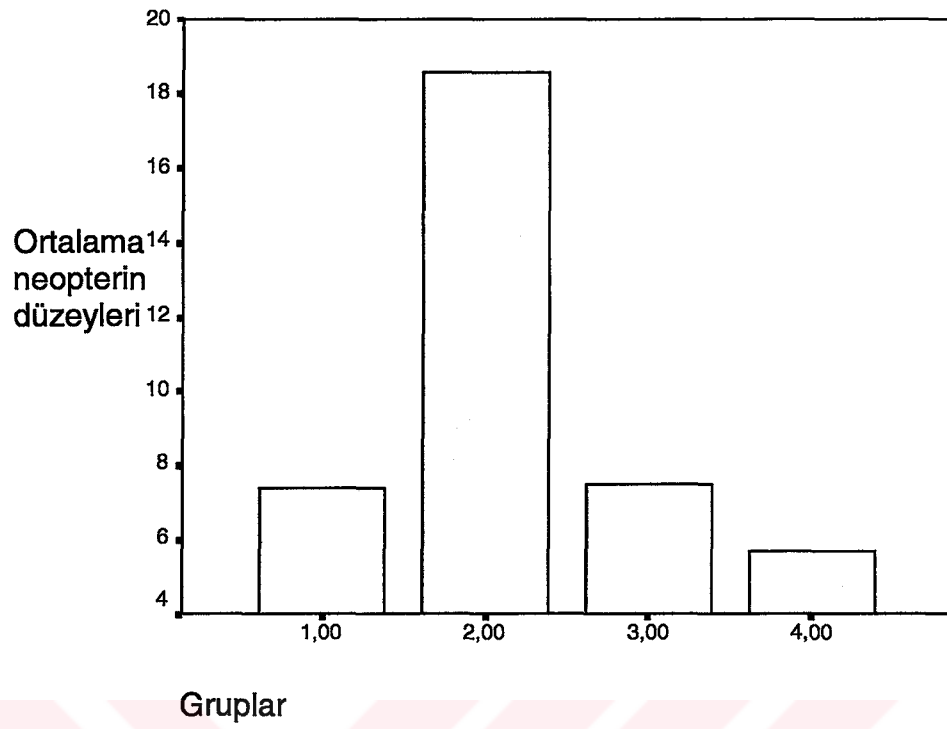
Kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda HBV-DNA düzeyleri ile neopterin düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu. Yine aynı grupta histolojik aktivite indeksi (HAI)'de neopterin düzeyleri ile anlamlı bir korelasyon göstermiyordu.

Tablo 2: HBV ile infekte hastalarda serum neopterin düzeyleri ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon değerleri (Pearson korelasyon testi)

Parametreler	r	p
AST	0,41	0,008
ALT	0,33	0,036
GGT	0,44	0,004

Tablo 3 : Grupların neopterin düzeyleri

	Neopterin (nmol/l)			
	1. grup	2. grup	3. grup	4. grup
1	8,08	13,35	11,53	8,10
2	4,41	22,21	10,60	3,84
3	6,13	12,47	9,40	6,41
4	7,22	49,01	4,78	2,84
5	5,73	26,31	4,94	11,76
6	5,90	14,83	11,82	4,80
7	9,58	16,43	10,75	5,30
8	5,35	16,90	7,97	4,41
9	10,47	19,70	10,88	2,85
10	2,42	7,92	9,03	8,82
11	7,25	13,87	11,09	2,85
12	6,03	52,70	14,08	3,09
13	5,66	6,64	8,18	6,10
14	7,64	7,97	5,65	6,38
15	7,81	10,15	12,70	5,40
16	11,54	9,53	5,67	8,20
17	2,92	18,84	7,55	3,29
18	6,68	18,15	2,86	3,04
19	8,95	21,03	4,88	4,08
20	18,37	13,70	3,87	12,76
Ort	7,44	18,58	7,51	5,71
Sd	3,44	12,19	10,18	2,92



Grafik 1: Gruplara göre neopterin düzeyleri
(grup 1= Asemptomatik HBV taşıyıcıları
grup 2= Kronik HBV enfeksiyonu olan hastalar
grup 3= Doğal bağışıklar
grup 4= Kontrol grubu)

Tablo 4: Grup 1 in biyokimyasal parametreleri ve NP düzeyleri

Sıra no	AST	ALT	ALP	GGT	T.bil	HBV-DNA	Nopterin
1	16	23	115	40	0,6	-	8,08
2	15	12	56	34	0,9	-	4,41
3	24	27	106	30	0,7	-	6,13
4	4	8	100	30	0,9	-	7,22
5	24	29	139	6	0,2	-	5,73
6	19	21	117	24	0,4	-	5,90
7	16	20	61	21	0,5	-	9,58
8	24	38	73	38	1,2	-	5,35
9	14	14	74	21	0,8	-	10,47
10	29	37	109	16	1,5	-	2,42
11	17	17	101	16	0,5	-	7,25
12	26	40	70	45	0,8	-	6,03
13	17	11	48	6	0,4	-	5,66
14	19	21	54	9	1,0	-	7,64
15	18	16	54	11	0,8	-	7,81
16	28	38	42	22	1,0	-	11,54
17	27	36	54	11	0,8	-	2,92
18	22	36	65	35	0,9	-	6,68
19	21	22	88	25	0,8	-	8,95
20	50	50	78	23	1,4	-	18,37

Tablo 5: Grup 2 nin biyokimyasal parametreleri, HAI ve NP düzeyleri

Sıra no	AST	ALT	ALP	GGT	T.bil	HBV-DNA	HAI	Neopterin
1	90	119	88	61	1,0	180	7	13,35
2	377	942	134	167	1,6	220	3	22,21
3	52	53	92	40	1,7	20	17	12,47
4	166	235	69	127	1,2	14	7	49,01
5	69	125	69	40	2,3	9,9	3	26,31
6	57	83	63	50	1,0	4035	14	14,83
7	68	104	70	150	0,9	4,5	3	16,43
8	152	66	92	40	2,1	124	2	16,90
9	36	83	99	39	0,9	2	3	19,70
10	22	24	322	21	1,1	76	6	7,92
11	69	145	116	41	1,5	53	4	13,87
12	33	58	109	30	0,3	33	6	52,70
13	54	121	61	43	1,3	208	8	6,64
14	53	78	60	40	0,8	308	2	7,97
15	16	15	33	40	0,5	12	3	10,15
16	31	52	62	42	0,3	9	3	9,53
17	39	125	68	50	1,1	56	6	18,84
18	125	211	75	48	1,5	148	7	18,15
19	22	26	120	24	1,0	81	8	21,03
20	122	184	65	41	1,2	215	7	13,70

5.TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Neopterin monosit ve makrofajlardan INF- γ stimülasyonu sonucu üretilen bir sitokindir (1). INF- γ T hücrelerinin uyarılmasının bir sonucu olarak üretilir. Bundan dolayı, biyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte, hücrel immün sistemin özgül olmayan bir belirteci olarak kabul edilmektedir (2). Hücrel immün sistem aktivasyonunun rol oynadığı çeşitli inflamatuvar ve infeksiyöz süreçlerde neopterin düzeylerinin arttığı, hastalıkların aktivasyonu, şiddeti ve progresyonu ile orantılı olarak düzeylerinin değiştiği öne sürülmüştür (10, 25,83).

Dünya çapında 400 milyondan fazla insan HBV ile kronik olarak enfektir. Enfeksiyon ortalama %5 oranında kronikleşirken, kronik HBV enfeksiyonlu hastaların bir kısmında siroz ve HSK gelişmektedir. Bu nedenle çok önemli ve güncel bir sağlık sorunu olmayı sürdürmektedir.

6 aydan uzun süreli HBsAg pozitifliği olan, karaciğer enzimleri normal olan ve karaciğer hastalığının diğer belirti ve bulgularını göstermeyen kişilere sağlıklı taşıyıcı terimi kullanılmaktadır . Bu hastaların belli aralıklarla takipleri ve kronik HBV enfeksiyonuna gidiş yönünden değerlendirilmeleri önerilmektedir. Uzun dönem takiplerinde, taşıyıcıların %5,4 ünde kronik hepatit geliştiği bildirilmiştir (3).

HBV direk sitopatik bir virüs olmayıp karaciğerdeki hasar vücudun humoral ve hücrel immün sisteminin aktivasyonuna bağlıdır. Bu nedenle gerek akut gerekse kronik HBV enfeksiyonunda neopterin düzeylerinin artması beklenen bir sonuçtur. Özellikle kronik HBV enfeksiyonunda alevlenmelerin tanısı ve tedavi zamanının belirlenmesi ile birlikte, sağlıklı HBV taşıyıcılarının takibinde serum neopterin düzeylerinin kullanılabilirliği araştırılmalıdır. Günümüze kadar çeşitli karaciğer hastalıklarında serum neopterin düzeyleri araştırılmış ve ilgi çekici sonuçlar bulunmuştur.

Bu çalışmada araştırma grubu olarak 20 asemptomatik HBsAg taşıyıcısının, 20 kronik HBV enfeksiyonu olan hastanın ve 20 doğal bağışık bireyin, kontrol grubu olarak 20 sağlıklı bireyin serum neopterin düzeyleri tesbit edildi.

Bu çalışmanın birinci ayağında, HBV-DNA ları negatif ve normal sınırlarda karaciğer enzimleri olan 20 HBsAg taşıyıcısı, serum neopterin düzeyleri ve biyokimyasal parametreler açısından değerlendirildi. Hastaların neopterin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte, aralarında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Serum neopterin düzeyleri ile biyokimyasal parametreler arasında da anlamlı bir korelasyon yoktu.

Daito ve ark. (37) nın çalışmasında, 16 HBsAg taşıyıcısının idrar neopterin düzeyleri araştırılmıştır. İdrar neopterin düzeyleri açısından asemptomatik HBsAg taşıyıcıları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark tesbit edilememiş olup bunun nedeninin virüsün varlığına rağmen bu hasta grubundaki immun aktivasyonun yetersizliği olabileceği ileri sürülmüştür.

Reibnegger ve ark. nın (30) çalışmasında 62 HBsAg taşıyıcısının idrar neopterin düzeyleri araştırılmıştır. Çalışmaya alınan hastaların 49 unda (%79) normal neopterin düzeyleri elde edilirken, 13 hastanın (%21) neopterin düzeyleri hafif yüksek bulunmuştur.

Kılıç ve arkadaşlarının (39) yapmış olduğu çalışmada ise nonreplikatif HBV taşıyıcılarının idrar neopterin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Bu çalışmaya HBV-DNA düzeyleri 5 pg/ml nin altında ve karaciğer enzimleri normal olan 43 nonreplikatif HBV taşıyıcısı ve kontrol grubu olarak 56 sağlıklı birey alınmıştır. Nonreplikatif HBV taşıyıcılarında idrar neopterin düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak bu yüksekliğe karaciğerdeki hücrel immüniteye bağlı arka planda oluşan inflamasyonun neden olabileceği belirtilmiştir.

Bu çalışmadaki sonuçlar, Daito ve ark. (37) ve Reibnegger ve ark. (30) nın çalışması ile uyumlu, Kılıç ve ark. (39) çalışması ile ise uyumsuzdur. Klasik bilgiler ışığında değerlendirildiğinde sağlıklı HBV taşıyıcılığı veya asemptomatik HBsAg pozitifliği diye isimlendirdiğimiz bu popülasyonda, serum neopterin düzeylerinin normal sınırlarda kalması beklenen bir sonuçtur. Zira bu hastalarda virüs varlığına ve antijen ekspresyonuna rağmen immünotolerasyon nedeniyle hepatosit hasarı olmamakta ve karaciğer enzimleri normal sınırlarda kalmaktadır. Tıpkı karaciğer enzimleri gibi bu

hastaların büyük çoğunluğunda karaciğer histolojisi de normaldir. Bu da bu hastalarda hastalığın doğal seyrinin bu döneminde, gerek akut hepatit gerekse kronik hepatit B de karaciğer hasarından sorumlu immün mekanizmaların aktive olmamasına bağlıdır. Bütün bunlar hücresele immün aracılı sistemin bir göstergesi olan neopterin, bu hasta grubunda normal sınırlarda kalmasını gerektirmelidir.

Bu çalışmanın bir diğer ayağında 20 kronik hepatit B hastasının serum neopterin düzeyleri ELISA yöntemiyle tesbit edilerek, kontrol grubu ve asemptomatik HBsAg taşıyıcıları ile karşılaştırıldı. Çalışmaya alınan hastaların tümünün HBV-DNA ları pozitif ve tanılarını histopatolojik olarak da doğrulanmıştı. Sonuçlar değerlendirildiğinde kronik hepatit B'li hastaların serum neopterin düzeyleri, hem kontrol grubuna hem de asemptomatik HBsAg taşıyıcılarına göre anlamlı derecede yüksekti.

Daito ve ark. (37) nın çalışmasında 13 kronik inaktif hepatit ve 35 kronik aktif hepatitli hastanın serum ve idrar neopterin düzeyleri araştırılmıştır. Her iki hasta grubunun gerek idrar gerekse serum neopterin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak serum veya idrar neopterin düzeylerinin karaciğerdeki hücresele immün sistem aktivasyonunun bir göstergesi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Fukuda ve ark. nın (84) değişik karaciğer hastalıklarında idrar neopterin düzeylerini araştırdıkları çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmaya alınan 53 kronik hepatitli hastanın idrar neopterin düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulunmuş, bu yükselmenin kronik hepatitli hastalardaki hücresele immün sistem aktivasyonuna bağlı olabileceği belirtilmiştir.

Bu çalışmada kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda bulunan sonuçlar, Daito ve ark. (37) ve Fukuda ve ark. (84) nın yapmış oldukları çalışmalar ile uyumluydu. Serum neopterin düzeylerindeki bu yüksekliğe hücresele aracılı immün sistem aktivasyonunun neden olabileceği düşünüldü. Kronik HBV enfeksiyonunda 1. dönemin 2. fazında yani immunoaktivasyon fazında karaciğerde hepatosit hasarı olmakta ve karaciğer enzimleri yükselmektedir. Ancak, kronik hepatit B'li hastalarda veya asemptomatik HBsAg

taşıyıcılarında görülen karaciğer enzim yüksekliği her zaman HBV ile ilişkili olmayabilir. Zira değişik viral infeksiyonların seyrinde ve sıklıkla kullanılan antimikrobik ve antiinflamatuvar ilaçların alınmasıyla da karaciğer enzim yükseklikleri görülebilmektedir. Bu durum hastasına biyopsi ve tedavi kararı verecek olan hekimi güç durumda bırakmaktadır. Bu nedenle bu tür hastalarda karaciğer enzimlerinin yanında, immun aktivasyonun bir göstergesi olan neopterin düzeylerinin takibi yararlı olabilir. Çoğu zaman asemptomatik geçen bu fazda tedaviye yanıtın da en iyi olduğu düşünülecek olursa kronik HBV infeksiyonlu hastalarda yükselmiş neopterin düzeylerinin tanısal değeri daha da anlam kazanmaktadır.

Bu çalışmada ek olarak virüsle karşılaşmış olmanın neopterin düzeylerine etkisi araştırıldı. Bu amaçla hepatit B infeksiyonu geçiren ve doğal bağışıklık kazanan 20 kişinin serum neopterin düzeyleri ölçüldü. Bu grubun neopterin ortalaması kontrol grubundan anlamlı bir farklılık göstermiyordu.

Bu çalışmada neopterin düzeyleri ile biyokimyasal, virolojik ve histolojik parametreler arasında herhangi bir korelasyonun olup olmadığı da araştırıldı. HBsAg taşıyıcıları ve kronik HBV infeksiyonlu hastalar ayrı ayrı ele alındığında neopterin düzeyleri ile biyokimyasal parametreler arasında (AST,ALT,GGT,ALP,Bil.) anlamlı bir korelasyon saptanmadı. Her iki grup birlikte değerlendirildiğinde ise neopterin düzeyleri ile AST ($r=0,41$), ALT ($r=0,33$), GGT (0,44) arasında orta derecede bir korelasyon tesbit edildi. Kronik hepatit B li hastalarda HAI ve HBV-DNA miktarları ile neopterin düzeyleri arasında da anlamlı bir korelasyon yoktu.

Neopterin düzeyleri ile biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonun incelendiği Wilmer ve ark.nın (85) çalışmasında da, kronik hepatit B li hastalarda neopterin düzeyleri ile çeşitli biyokimyasal parametreler arasında (AST, ALT, GGT, ALP, Bilürubin), bu çalışma ile de uyumlu olarak herhangi bir korelasyon tesbit edilmemiştir.

Daito ve ark. (86) bir başka çalışmalarında, interferon- α ile tedavi edilen 14 kronik hepatit B hastasında serum ve idrar neopterin düzeylerini araştırmışlardır. Tedavi başlangıcından 1 hafta sonra belirgin olarak yükselen

neopterin konsantrasyonları tedavi boyunca yüksek kalmış ve tedavinin kesilmesi ile birlikte bazal değerlere gerilemiştir. Sonuç olarak neopterin düzeylerinin kronik hepatit B li hastalarda tedavi esnasındaki hücresel immüitenin bir göstergesi olabileceği belirtilmiştir.

Bu çalışmaya alınan kronik HBV enfeksiyonlu hastaların serumları tedavi öncesi alınmış olmakla birlikte, interferon ve antiviral tedavi ile neopterin düzeylerinin nasıl değiştiği ve tedaviye yanıt parametresi olarak kullanılabilirliğinin takip eden çalışmalarla araştırılması düşünülmektedir.

Sonuç olarak; serum neopterin düzeylerinin ölçümü, kronik hepatit B' li hastalarda hücresel immün aktivasyonun bir göstergesi olarak yükselmektedir. Bu hasta grubunun takibinde, tedaviye başlanma zamanının tesbitinde serum neopterin düzeyleri yol gösterici olabilir. HBsAg taşıyıcılarında normal sınırlarda neopterin düzeyleri tesbit edildiğinden, bu hastaların uzun dönem takiplerinde karaciğer fonksiyon testlerinin yanısıra neopterin düzeyleri de kullanılabilir.

ÖZET

Nonreplikatif HBV taşıyıcılarında, kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda ve doğal bağışıklığı olanlarda serum neopterin düzeylerinin araştırılması.

Neopterin, guanozintrifosfattan köken alan bir pyrazino-pirimidin bileşimidir. Neopterin deriveleri insan monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerinde interferon- γ stimülasyonu sonucunda üretilirler. Neopterin kimyasal yapısı nedeniyle pteridinler sınıfına aittir. Vücut sıvılarında neopterin düzeylerinin ölçümü hücresel aracılı immün sistem olarak adlandırılan, immün sistemin bir parçasını değerlendirmemizi sağlar. Yükselmiş neopterin konsantrasyonları hücresel aracılı immün sistem aktivasyonunun olduğu, çeşitli enfeksiyon hastalıkları, otoimmün hastalıklar, koroner arter hastalığı, malignansiler, allograft reddi, kardiyak ve renal yetmezlik gibi bazı klinik durumlarda tanıs ve prognostik bir kriter olarak kullanılabilir.

Bu çalışmada nonreplikatif (sağlıklı) HBV taşıyıcılarında, kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda, ve HBV ye karşı doğal bağışıklığı olanlarda serum neopterin düzeyleri araştırıldı.

Çalışmaya 20 nonreplikatif HBV taşıyıcısı (grup 1), 20 kronik HBV enfeksiyonlu hasta (grup 2), 20 HBV ye karşı doğal bağışıklığı olan kişi (grup 3) ve kontrol grubu olarak 20 sağlıklı kişi (grup 4) alındı. Serum neopterin düzeyleri ortalaması, grup 1 de $7,44 \pm 3,44$ nmol/l, grup 2 de $18,58 \pm 12,19$ nmol/l, grup 3 de $7,51 \pm 10,18$ nmol/l, grup 4 de $5,71 \pm 2,92$ nmol/l olarak bulundu. Grup 1 ile 4 ve grup 3 ile 4 arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$). Fakat grup 2 ile diğer bütün gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı idi ($p < 0,05$).

Sonuç olarak; neopterin, nonreplikatif HBV taşıyıcılarının ve kronik HBV enfeksiyonlu hastaların takibinde kullanılacak bir gösterge olabilir. Ancak rutin kullanımı için daha geniş katılımlı çalışmalara ihtiyaç olduğuna inanmaktayız.

Anahtar Kelimeler: Neopterin, HBV

SUMMARY

Investigation that the serum neopterin levels in nonreplikative HBV carriers, the patients infected chronic HBV and naturel immunized persons.

Neopterin is a pyrazino-pyrimidine compound, which originate, from guanosine triphosphate. Its derivatives are produced by human monocyte, macrophages and dentritic cells upon stimulations with interferon- γ . Due to its chemical structure, neopterin belongs to the class of pteridines. Measurement of neopterin concentrations in human body fluids allows insight into a spesific aspect of immunity, namely, the cell mediated immun response. The increased concentrations of neopterin in body fluids were used as diagnostic and prognostic criterion for cell mediated immunity in some clinical conditions such as infections, autoimmun diseases, coronary artery disease, malignencies, allograft rejection, renal and cardiac failure.

In this study, we investigated of serum neopterin levels in nonreplicative HBV carriers, patients with chronic HBV infection and naturel immunized patients against to HBV.

20 persons with nonreplikative (healthy) HBV carriers (group 1), 20 patients with chronic HBV infections (group 2), 20 persons with naturel immunized against to HBV (group 3) and 20 20 healthy volunteers (group 4) had included to study. Serum neopterin levels were $7,44 \pm 3,44$ nmol/l in group 1, $18,58 \pm 12,19$ nmol/l in group 2, $7,51 \pm 10,18$ nmol/l in group 3, $5,71 \pm 2,92$ nmol/l in group 4. The difference between group 1 and group 4, group 3 and group 4 was not statistically significant ($p > 0,05$). The diffrence among between group 2 and the others groups was statistically significant ($p < 0,05$). Moreover the diffrence between group 2 and group 1 was statistically significant ($p < 0,05$).

In conclusion; neopterin can be used as marker in nonreplicative HBV carriers and patients with chronic HBV infection. But we believe that further sduies with large series are needed to using routine.

Key Words: Neopterin, HBV

KAYNAKLAR

1. Vrecko K, Staedtler P, Mischak I, Maresch L, Reibnegger G. Periodonditis and concentration of the cellular immune activation neopterin in saliva and urine. *Clinica Chimica Acta* 268:31-40, 1997.
2. Berdowska A, Zwirska K, Korczala K. Neopterin measurement in clinical diagnosis. *J Clin Phar Ther* 26: 319-329, 2001.
3. Tekeli E, Balık İ (eds). *Viral Hepatitler 2003. Viral hepatitle savaşım derneği ;Ankara :2002*
4. Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, Poynard T. Viral hepatitis B. *The Lancet* 362:2089-2094, 2003.
5. Müller MM, Curtius HC, Herold M, Huber CH. Neopterin in clinical practice. *Clinica Chimica Acta* 201:1-16, 1991.
6. Sakurai A, Goto M. Neopterin: Isolation from human urine. *J Biochem* 61:142-145, 1967.
7. Wachter H, Hausen A, Grassmayr K. Increased urinary excretion of neopterin in patients with malignant tumors and with virus diseases. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 360:1957-1960, 1979.
8. Ravel R. *Viral Infections. Clinical Laboratory Medicine. Clinical Application of Laboratory Data.* Ravel R (ed). Mosby-Year book 274, 1995.
9. Fuchs D, Kalkovsky M, Reibnegger G. Endogenous release of interferon-gamma and diminished response of peripheral blood mononuclear cells to antigenic stimulation. *Immunol Lett* 23:103-108, 1989.
10. Hoffmann G, Wirleitner B, Fuchs D. Potential role of immun system activation-associated production of neopterin derivatives in humans. *İnflamm Ress* 52:313-321, 2003.
11. Hausen A, Fuchs D, Reibnegger G. Neopterin in clinical use. *Pteridines* 1 : 3-10, 1989.
12. Fuchs D, Weiss G, Watcher H. Neopterin, biochemistry and clinical use as a marker cellular immune reactions. *Int Arc All Immunol* 101:1-6, 1993.
13. Bacon TH, Ozbajır F, Elms CA, Denman AM. Interferon -gamma production by peripheral blood mononuclear cell from patients with Behçet's sendrom. *Clin Exp Immunol* 57:541-547, 1984.

14. Fukushima T, Nixon JC. Analysis of reduced forms of biopterin in biological tissues and fluids. *Anal Biochem* 65:1228-1231, 1980
15. Werner ER, Werner-Felmayer G, Fuchs D. Tetrahydrobiopterin biosynthetic activities in human macrophages, fibroblasts, THP-1 and T-24 cells. *J Biol Chem* 265:3189-3192, 1990.
16. Radunovic N, Kuczynski E, Rebarber A, Nastic D. Neopterin concentrations in fetal and maternal blood: a marker of cell mediated immune activation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 181:170-173, 1999.
17. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter E. Neopterin formation and tryptofan degradation by a human myelomonocytic cell line (THP-1) upon cytokine treatment. *Cancer Res* 50:2863-2867, 1990.
18. Kaufman S. Regulatory properties of pterin dependent hydrosylases; variation on a theme. In Usdin E, Weiner N, Yoidim M (eds). *Function and regulation of monoamine enzymes*. New York; Macmillan 165-173, 1981.
19. Andert SE, Griesmacher A, Zuckermann A, Müller MM. Neopterin release from human endothelial cells is triggered by interferon-gamma. *Clin Exp Immunol* 88:555-558, 1992.
20. Özalp İ. Fenilketonüri ve ülkemizde görülme sıklığı. *STED* 1:178-180, 1992.
21. Zangerle R, Sarcletti M, Gallati H, Reibnegger G, Wachter E, Fuchs D. Correlation of body mass index with urinary neopterin in individuals infected with human immunodeficiency virus. *Int Arc All Immunol* 104:150-154, 1994.
22. Müller TF, Vogl M, Neumann MC, Lange H, Grimm M, Müller MM. Noninvasive monitoring serum amyloid A and serum neopterin in cardiac transplantation. *Clinica Chimica Acta* 276:63-74, 1998.
23. Wirleitner B, Reider D, Ebner S, Bock G, Widner B, Jaeger M. Monocyte-derived dendritic cells release neopterin. *J Leukoc Biol* 72:1148-1153, 2002.
24. Baier-Bitterlich G, Fuchs D, Wachter H. Chronic immune stimulation, oxidative stress and apoptosis in HIV infection. *Biochem Pharmacol* 53:755-763, 1997.

25. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER. Neopterin as a marker for activation of cellular immunity.: immunologic basis and clinical application. *Adv Clin Chem* 27:81-141, 1989.
26. Weiss G, Kronberger P, Conrad F, Bodner E, Wachter H, Reibnegger G. Neopterin and prognosis in patients with adenocarcinoma of the colon. *Cancer Research* 53:26-265, 1993.
27. Millner MM, Franthal W, Thalhammer GH. Neopterin concentration in cerebrospinal fluid and serum as an aid in differentiating central nervous system and peripheral infections in children. *Clin Chem* 44:161-167, 1998.
28. Oda K, Arai T, Nagase M. Increased serum and urinary neopterin in nephrotic syndrome indicate cell-mediated immune dysfunction. *American Journal of Kidney Diseases* 34:611-617, 1999.
29. Backman L, Ringden O, Björkhem I. Monitoring of serum neopterin levels in renal transplant recipients increased values during impaired renal function and cytomegalovirus infections. *Nephron* 46:319-322, 1987.
30. Reibnegger G, Auhuber I, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Prior C, Werner E, Wachter H. Urinary neopterin levels in acute viral hepatitis. *Hepatology* 8:771-774, 1998.
31. Denz H, Fuchs D, Hausen A, Huber H, Nachbaur D, Reibnegger G. Value of urinary neopterin in the differential diagnosis of bacterial and viral infections. *Klin Wochenschr* 66:218-222, 1990.
32. Aziz N, Nishanian P, Taylor JM, et al. Stability of plasma levels of cytokines and soluble activation markers in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 179:843-848, 1999.
33. Stein DS, Lyles RH, Graham NM, et al. Predicting clinical progression or death in subjects with early stage human immunodeficiency virus infection: a comparative analysis of quantification of HIV RNA, soluble tumor necrosis factor type 2 receptors, neopterin and β 2 microglobulin. *J Infect Dis* 176:1161-1167, 1997.
34. Ruokonen E, Ilkka L, Niskanen M, Takala J. Procalcitonin and neopterin as indicators of infection in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 46:398-404, 2002.
35. Brown AE, Webster HK, Isawadharm P. Macrophage activation in falciparum malaria as measured by neopterin and interferon gamma. *Clin Exp Immunol* 82:97-101, 1990.

36. Hagberg L, Doewall L, Norkrans G, Larsson M, Wachter H, Fuchs D. Cerebrospinal fluid neopterin concentrations in central nervous system infection. *J Infect Dis* 168:1285-1288, 1993.
37. Daito K, Suou T, Kawasaki H. Clinical significance of serum and urinary neopterin levels in patients with various liver diseases. *Am J Gastroenterology* 87:471-476, 1992.
38. Samsonov M, Golban TD, Nasonov EL, Masenko VP. Serum neopterin in hepatitis B. *Clin Med* 70:40-42, 1992.
39. Kılıç D, Boyunaga H, Kaygusuz S, Akgül EÖ, Rashed MA, Kenar L, Erbil K, Kutluay T. Neopterin levels in nonreplicative HBV carriers. *Hepatology Research* 24:18-22, 2002.
40. Reibneger G, Fuchs D, Fuith LC, Hausen A, Werner ER, Werner-Felmayer G, et al. Neopterin as a marker for activated cell mediated immunity: Application in malignant disease. *Cancer Detect Prevent* 15:483-490, 1991.
41. Kronberger P, Weiss G, Tschmelitsch J. Predictive value of urinary neopterin in patients with lung cancer. *European Journal of Clinical Chemistry and ClinicalBiochemistry* 16:1861-1868, 1998.
42. Abate G, Camella P, Marfella A. Prognostic relevance of urinary neopterin in nonhodgkin's lymphomas. *Cancer* 63:484-489, 1989.
43. Altindag ZZ, Sahin g, Inanici F, Hascelik Z. Urinary neopterin excretion and dhydropteridine reductase activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatology International* 18:107-111, 1998.
44. Leohirun L, Thuvasethakul P, Sumethkul V, Pholcharoen T, Boonpucknavig V. Urinary neopterin in patients with systemic lupus erythemaosus. *Clin Chem* 37:47-50, 1991.
45. Manna R, Salvatore M, Di Leo MA, Scuderi F, Greco AV, Ghirlanda G, et al. Relationship between urinary neopterin excretion and islet cell antibodies in type 1 (insulin dependent) diabetes. *Diabetes Res* 17:33-36, 1991.
46. Samsonov MY, Tilz GP, Pisklakov VP, et al. Serum soluble receptors for tumor necrosis factor-alpha and interleukin 2 and neopterin in acute rheumatic fever. *Terap Arkh* 64:69-72, 1992.

47. Granditch G, Fuchs D, Hausen A. Urinary neopterin as a marker for disease activity in children and adolescents with crohn's disease. *Pteridines* 2:23-27, 1990.
48. Garcia-Mool X, Cole D, Zouridakis E, Kaski JC. Increased serum neopterin: a marker of coronary artery disease activitiy in vomen. *Heart* 83:346-350, 2000.
49. Smith DA, Zouridakis EG, Mariani M, Frederics S, Cole D, Kaski JC. Neopterin levels in patients with coronary artery disease are independent Chlamydia pneumoniae seropositivity. *Am Heart J* 146:69-74, 2003.
50. Schumacher M, Halwachs G, Tayzber F, et al. Increased neopterin in patients with chronic and acute coronary syndromes. *J of the american college of cardiology* 30:703-707, 1997.
51. Haelst PL, Liem A, Boven AJ, Veeger NJ, Veldhuisen DJ, Tervaert JW, Gans RO, Zijlstra F. Usefulness of elevated neopterin and C reactive protein levels in predicting cardiovascular events in patients with non Q vave myocardial infarction. *Am J Cardiol* 92:1201-1203, 2003.
52. Rudzite V, Skards J, Fuchs D. Serum kynurenin and neopterin concentration in patients with cardiomyopathy. *Immunol Let* 32:125-130, 1992.
53. Schennach H, Hessenberger G, Mayersbach P, Schönitzer D, Fuchs D. Acute cytomegalovirus infections in blood donors are indicated by increased serum neopterin concentrations. *Med Microbiol Immunol* 191:115-118, 2002.
54. Robinson WS. Hepadnoviridae: Hepatitis B virus and hepatitis delta virüs. In Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). *Principles and practice of infectious diseases*. 5 th ed. Newyork, Churchill Livingstone, 1652-1684, 2000.
55. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev* 64:51-68, 2000.
56. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Eng J Med* 337:1733-1745, 1997.
57. Sanchez-Taipas JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodes M. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in Western patients. *Gastroenterology* 123:1843-1856, 2002.
58. Kao JH, Wu NH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotyps and the response to interferon therapy. *J Hepatol* 33:998-1002, 2000.

59. Leblebicioğlu H. Hepatit B virüs mikrobiyolojisi, parogenez,epidemioloji, klinik, tedavi ve korunma. Usluer G (ed). A'dan Z'ye akut viral hepatitler. Ankara : Güneş Kitabevi 16-23, 2002.
60. Leblebicioğlu H, Turan D, Sunbul M, Esen S, Erođlu C. Transmisson of human immunodeficiency virus and hepatitis B virus by blood brotherhood rituals. *Scand J Infect Dis* 35:210, 2003.
61. Hyams KC. Risks of chronicity following acute hepatitis B virus infection. *Clin Infect Dis* 20:992-1000, 1995.
62. Taşyaran MA, Akdađ R, Akyüz M, Kaya A, Ceviz N, YılmazŞ. Erzurum bölgesi çocuklarında parenteral bulaşan hepatit virüslerinin seroprevalansı. *KLİMİK Dergisi* 7:76-78, 1994.
63. Durupınar B, Özbüber Ş, Günaydın M, Leblebicioğlu H, Aydın M. Kan vericilerde hepatit B kor antikor seropozitifliği ve önemi. *KLİMİK Dergisi* 7:85-86, 1994.
64. Sünbül M, Saniç A, Erođlu C, Akçam Z, Hökelek M, Leblebicioğlu H. Sağlık personelinde hepati B göstergelerinin seroprevalansı. *Viral Hepatit Dergisi* 4:22-24, 1998.
65. Chisari FV, Ferari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis. *Annu Rev Immunol* 13:29-60, 1995.
66. Milich DR. Pathobiology of acute and chronic hepatitis B virus infection: an introduction. *J Viral Hep* 4(sup2):25-30, 1997.
67. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, Shapiro M, Purcell R, Chisari FV. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science* 284:825-829, 1999.
68. Webster GJ, Reignat S, Maini MK,et al. Incubation phase of acute hepatitis B in man: dynamic of celluler immun mechanisms. *Hepatology* 32:1117-1124, 2000.
69. Rosenberg W. Mechanism of immun escape in viral hepatitis. *Gut* 44:759-764, 1999.
70. Bilgiç A, Özacar T. Hepatit B virüsü. Topçu AW, Söyletir G, Dođanay M.(eds) İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi içinde. Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul; 1350-1370, 2002.
71. Kato J, Hasegawa K, Torii A, et al. A moleculer analysis of viral persistence in surface antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 23:389-395, 1996.

72. Thursz M, Thomas HC, Greenwood BM, et al. Heterozygote advantage for HLA class-2 type in hepatitis B virus infection. *Nat Genet* 1997;17:11-12
73. Akcam Z, Sunbul M, Durupinar B, Eroglu C, Esen S, Leblebicioglu H. Tissue types as prognostic risk factor in hepatitis B virus infection. *Indian J Gastroenterol.* 21(4):139-41, 2002.
74. Sherlock S, Dooley J. Type B hepatitis. *Diseases of the liver and biliary system.* 10th edition. London 274-285, 1997.
75. Lee WM. Acute liver failure. *Am J Med* 96:3-9, 1994.
76. Yuen MF, Lai CL. Debates in hepatitis: How to assess HBV DNA reductions in association with therapy. *Viral Hep Reviews* 5:159-175, 1999.
77. Leblebicioğlu H. Adefovir ve kronik hepatit B de kullanımı. *Flora* 9(sup1):3-12, 2004.
78. Liaw YF, Leung N, Guan R, Lau GK, Merican I. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: An update. *Gastroenterol Hepatol* 18:239-245, 2003.
79. Haria M, Benfield P. Interferon- α 2a : A review of its pharmacological properties and therapeutic use in the management of viral hepatitis. *Drug Evaluation* 50(5): 873-896, 1995.
80. Kapoor D, Guptan RC, Wakil SM, et al. Beneficial effects of lamivudine in hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 33:308-312, 2000.
81. Marcellin P, Chang TT, Lim SG, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of the hepatitis B e antigen positive chronic hepatitis B. *N Eng J Med* 348:808-816, 2003.
82. Thomas HC. Chronic type B hepatitis. *Medicine International* 2(2):477-480, 1994.
83. Reibnegger G, Fuchs D, Hausen A, Werner-Felmayer G, Watscher H. Neopterin and viral infections diagnostic potential in virally induced liver disease. *Biomed Pharmacother* 43: 287-293, 1989.
84. Fukuda A, Mazda T, Gyure WL, Iino T, Harada H, Yakura M, Kamitsukasa H, Ohbayashi A, Oka T, Tsusue M. A comparative study of urinary xanthopterin and neopterin in liver diseases. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 31(3): 129-134, 1993.

85. Wilmer A, Nolchen B, Tilg H, Herold M, Pechlaner CH, Judmaier G. Serum neopterin concentrations in chronic liver disease. *Gut* 37:108-112, 1995.
86. Daito K, Suou T, Kawasaki H. Serum and urinary neopterin levels in patients with chronic active hepatitis B with interferon. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 3: 303-316, 1994.

