

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

Dr. Hatice BAŞODA

UZMANLIK TEZİ

**KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONLU HASTALARDA HBsAG
KANTİTATİF DÜZEYİNİN HBV DNA DÜZEYİ VE
KARACİĞER HİSTOPATOLOJİSİ İLE İLİŞKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Konya, 2013

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Mehmet BİTİRGEN

Dr. Hatice BAŞODA

UZMANLIK TEZİ

**KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONLU HASTALARDA
HBsAG KANTİTATİF DÜZEYİNİN HBV DNA DÜZEYİ VE
KARACİĞER HİSTOPATOLOJİSİ İLE İLİŞKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Bahar KANDEMİR

Konya,2013

I. ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, deneyim, meslek sevgisi ile bana örnek olan ve eğitimime büyük emeği geçen anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Mehmet Bitirgen'e ve tez çalışmam sırasında sabır, özveri ve bilimsel desteğini esirgemeyen tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Bahar Kandemir'e, Yrd. Doç. Dr. İbrahim Erayman'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım. Tezimin hazırlanma aşamasında yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Mehmet Uyar'a, Yrd. Doç. Dr. Yasemin Durduran'a, tüm asistan arkadaşlarıma, sağlık memuru ve hastabakıcı kardeşlerime, beni bugünlere getiren, yaptığım her işte bana destek olan sevgili anne ve babama, bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen sevgili eşime teşekkür eder, sevgilerimi sunarım.

Şubat, 2013

Hatice BAŞODA

II. ÖZET

Kronik Hepatit B Enfeksiyonlu Hastalarda HBsAg Kantitatif Düzeyinin HBV DNA Düzeyi ve Karaciğer Histopatolojisi ile İlişkinin Değerlendirilmesi

Dr. Hatice BAŞODA

Uzmanlık Tezi

Konya. 2013

Amaç: Dünyada her yıl yaklaşık bir milyon kişinin ölümüne neden olan Hepatit B enfeksiyonu ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Yakın geçmişe kadar HBsAg sadece hepatit B enfeksiyonunun tanısında kullanılırken, günümüzde HBsAg düzeyi ile HBV DNA, transaminaz düzeyi, karaciğer histopatolojisi arasındaki ilişki araştırılmaya başlanmıştır. HBsAg kantitasyonunun (qHBsAg) hepatit B enfeksiyonunun takibinde kullanılabileceğine dair veriler artmaya başlamıştır. Bu çalışmada, qHBsAg ile HBV DNA düzeyi, karaciğer fonksiyon testleri ve karaciğer histopatolojisi arasındaki ilişki araştırıldı. Ayrıca hepatit B virüs enfeksiyonu takibinde, qHBsAg önemi değerlendirildi.

Yöntem: Çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji bölümünde 2009-2012 yılları arasında yürütüldü. Daha önce antiviral tedavi almamış 185 hepatit B virüs enfeksiyonlu hasta çalışmaya alındı. Hastaların demografik bilgileri, karaciğer histopatolojisi, biyokimyasal, virolojik verileri kaydedildi. Serum qHBsAg, HBe antijen düzeyleri makro ELISA yöntemiyle (ARCHITEC, Abbott Laboratoies) ile belirlendi. HBV-DNA düzeyleri kantitatif PCR yöntemiyle (Taqman, Roche Diagnostic Systems) belirlendi.

Bulgular: Viral yük; HBeAg (+) grupta HBeAg (-) gruba göre oranla anlamlı ölçüde yüksekti. HBsAg düzeyi; HBeAg (-) grupta HBeAg (+) gruba göre anlamlı ölçüde yüksekti. HBeAg (+) ve (-) grupta, HBsAg düzeyi ile viral yük arasında negatif korelasyon saptandı. Ek olarak hafif ve ağır fibrozisi olan her iki hasta grubunda da HBsAg düzeyi ile viral yük arasında negatif korelasyon saptandı.

Sonuç: Literatürde, HBeAg pozitif hasta grubunda qHBsAg düzeyi ile HBV DNA arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. HBeAg negatif grupta ise korelasyon gösterilmemiştir. Bizim çalışmamızda ise; HBeAg (+) ve (-) her iki hasta grubunda qHBsAg düzeyi ile HBV DNA düzeyi arasında negatif korelasyon saptandı. qHBsAg düzeyi ile karaciğer histopatolojisi (Evre-HAI) arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı. Bu nedenle qHBsAg düzeyi ile viral yük arasındaki ilişkiyi araştıran daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Kronik Hepatit B, qHBsAg, Karaciğer Histopatolojisi, viral yük

III. ABSTRACT

Evaluation of the Relationship Between Serum Quantitative HBsAg Level, Hepatic Histopathology and Viral Load in Chronic Hepatitis B Infection

Purpose: Hepatitis B infection which causes one million death each year, causes a major health problem in our country. Until this time HBsAg was used in the diagnosis of hepatitis B infection. Today, studies that investigating the relationship between the level of HBsAg, HBV DNA and transaminase levels were increased. Data about the usage of Quantitation of HBsAg (qHBsAg) in follow-up of hepatitis B virus infection began to increase. In this study the relationship between qHBsAg, HBV DNA levels, liver function tests and liver histopathology were investigated. Also we assessed the value of qHBsAg, in follow-up of hepatitis B virus infection.

Methods: Study was carried out in Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty Infectious Diseases and Clinical Microbiology clinic between 2009 and 2012. Previously antiviral therapy naive, 185 hepatitis B virus infected patients were enrolled. Patients' demographic data, liver histopathology, biochemical, virological data were recorded. Serum qHBsAg and HBe antigen levels were determined by macro ELISA (Architec, Abbott Laboratoies). HBV-DNA levels were determined by quantitative PCR method (Taqman, Roche Diagnostic Systems).

Results: Viral load was significantly higher in HBeAg (+) group, than HBeAg (-) group. The level of HBsAg was significantly higher in HBeAg (-) group than HBeAg (+) group. In HBeAg (+) and (-) group, the HBsAg levels were negatively correlated with the viral load. In addition, in both groups of patients with or without cirrhosis, HBsAg levels were negatively correlated with the viral load.

Conclusion: In the literature, HBeAg-positive patients had a positive correlation between qHBsAg and HBV DNA level. In HBeAg-negative group, any correlation was not determined. In our study, the HBsAg levels were negatively correlated with the viral load, in both groups. Therefore, more comprehensive studies are needed to examine the relationship between viral load and the level of qHBsAg.

Key Words: Chronic Hepatitis B, qHBsAg, liver histopathology, viral load

IV. İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
I. ÖNSÖZ.....	iii
II. ÖZET.....	IV
III. ABSTRACT.....	V
IV. İÇİNDEKİLER.....	VI
V. TABLOLAR.....	VII
VI. ŞEKİLLER.....	VIII
VII. KISALTMALAR.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Epidemiyoloji.....	2
2.2. Bulaş yolları.....	3
2.3. Viroloji.....	4
2.3.1. Virus genomu.....	4
2.3.2. Genotip ve Serotipler.....	7
2.4. Hepatit B Virus Mutantları.....	8
2.4.1. Prekor/Kor Geni Mutasyonları.....	8
2.4.2. Yüzey geni mutasyonları.....	9
2.4.3. Polimeraz bölgesinde izlenen mutasyonları.....	9
2.4.4. X Geni Mutasyonları.....	9
2.5. Virus Replikasyonu.....	10
2.5.1. Hücreye Tutunma ve Giriş.....	10
2.5.2. Transkripsiyon ve Translasyon.....	11
2.5.3. Paketlenme, DNA Sentezi ve Salınımı.....	12
2.6. Hastalığın Patogenezi.....	13
2.7. Hastalığın Karakteristik Histopatolojik Özellikleri.....	16
2.8. Hepatit B Virus İnfeksiyonunda Klinik.....	18
2.9. Hepatit B Virus Enfeksiyonlarının Tanısı.....	23
2.9.1. Serolojik Tanı.....	23

2.9.2. Moleküler Tanı.....	25
2.10. Hepatit B Virus Enfeksiyonlarının Tedavisi.....	26
2.10.1. HBeAg pozitif hastalarda tedavi kriterleri.....	26
2.10.2. HBeAg negatif hastalarda tedavi kriterleri.....	26
2.10.3. Tedavide Kullanılan İlaçlar.....	27
2.11. HBsAg Kantitasyonu.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Hasta Grubu ve yöntem.....	28
3.2. İstatistiksel Analiz.....	28
4. BULGULAR.....	33
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ	48
7.KAYNAKLAR.....	49

V. TABLOLAR

Tablo 1. Modifiye Histolojik Aktivite İndeksi.....	17
Tablo 2. Hastaların çalışmaya alınma ve alınmama kriterleri.....	34
Tablo 3. Çalışmaya alınan hastaların cinsiyete ve HBeAg durumuna göre dağılımı.....	35
Tablo 4. HBeAg negatif ve pozitif KHB hastalarının klinik ve laboratuvar özellikleri....	35
Tablo 5. Evreye göre hastaların dağılım oranları.....	36
Tablo 6. Histolojik aktivite indeksine göre hastaların dağılım oranları.....	36
Tablo 7. HbeAg negatif ve pozitif KHB'li olguların demografik, histolojik ve laboratuvar özellikleri.....	37
Tablo 8. HBeAg pozitif ve negatif sirotik hastalarda HBV DNA ve HBsAg'nin karşılaştırılması.....	38
Tablo 9. HBeAg pozitif ve negatif nonsirotik hastalarda HBV DNA ve HBsAg'nin karşılaştırılması.....	39
Tablo 10. Histolojik aktivite indeksine göre hastaların değerlendirilmesi.....	39
Tablo 11. Hastaların ALT seviyesine gruplandırılarak incelenmesi.....	40
Tablo 12. HBeAg pozitif ve negatif hastalarda HBsAg ve HBV DNA ile diğer parametreler arasındaki korelasyon.....	42
Tablo 13. Hafif-orta ve ağır fibrozisi olan hastalarda HBsAg, HBV DNA, HBeAg arasında korelasyon.....	43

VI. ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1. HBV enfeksiyonunun dünya üzerindeki dağılımı.....	2
Şekil 2. HBV partiküllerinin Şematik yapısı.....	4
Şekil 3. HBV virionunun Şematik yapısı.....	5
Şekil 4. HBV genomunun Şematik yapısı.....	5
Şekil 5. S/preS1/preS2 genlerinin , RNA transkripsiyonun Şematik sunumu.....	6
Şekil 6. HBV genotiplerinin coğrafik dağılımı.....	7
Şekil 7. Hepatit B virusunun replikasyon döngüsü.....	12
Şekil 8. Akut Hepatit B enfeksiyonun doğal seyri.....	19
Şekil 9. Kronik hepatit B enfeksiyonunun seyri.....	20
Şekil 10. İyileşme ile sonuçlanan akut HBV enfeksiyonunda tanısal göstergeler..	25
Şekil 11. HBs Ag üretim yolakları.....	32
Şekil 12. HBeAg pozitif ve negatif hastalarda HBsAg ortalama değerleri.....	38
Şekil 13. HBeAg pozitif ve negatif hastalarda HBV DNA ortalama değeri.....	38
Şekil 14. ALT gruplarına göre HBsAg ortalama değerleri.....	40
Şekil 15. ALT gruplarına göre HBVDNA ortalama değerleri.....	40

VII. KISALTMALAR

AFP : Alfa Feto Protein

ALP : Alkalen Fosfataz

GGT : Gama Glutamil Transpeptitaz

ALT : Alanin Transaminaz

AST: Aspartat transaminaz

CccDNA: Covalently Closed Circular Deoksiribonükleik Asit

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

HAI: Histolojik Aktivite İndeksi

HBcAg : Hepatitis B core Antigen

HBsAg : Hepatitis B surface Antigen

HBeAg : Hepatitis B e Antigen

HBV : Hepatit B Virüsü

HSK : Hepatosellüler Karsinom

HCV : Hepatit C Virüsü

HDV : Hepatit D Virüsü

KHB : Kronik Hepatit B

KVY : Kalıcı Viral Yanıt

LHBs : Büyük HBs proteini

MHBs : Orta HBs proteini

mRNA : Messenger Ribonükleik Asit

NK : Natural Killer

NÜS: Normal Üst Sınır

ORF : Açık Okuma Çerçevesi

PT: Protrombin time

PEG-IFN : Pegile İnterferon

Pre C : Prekor

qHBsAg : HBsAg kantitasyonu

RT : Revers Transkriptaz

SHBs : Küçük HBs proteini

USG : Ultrasonografi

GİRİŞ VE AMAÇ

Dünyada yaklaşık 2 milyar kişinin karşılaşmış olduğu Hepatit B virüsünü, şu an yaklaşık 400 milyon kişinin taşıdığı, yılda da 1 milyon kişinin Hepatit B enfeksiyonu veya Hepatit B ilişkili son dönem karaciğer hastalığı nedeniyle hayatını kaybettiği tahmin edilmektedir.

Kronik Hepatit B enfeksiyonu temel olarak inaktif Hepatit B taşıyıcılığı, HBeAg pozitif Kronik Hepatit B ve HBeAg negatif Kronik Hepatit B enfeksiyonu biçiminde sınıflandırılmaktadır. Doğal seyir incelendiğinde ise; immun toleran, immun klirens, inaktif HBsAg taşıyıcılığı, HBeAg negatif Kronik Hepatit B fazlarından oluşmaktadır.

Tedavi ve hastaların ilk değerlendirilmesinde HBV DNA düzeyinin PCR ile tespitine dayalı metodlar kullanılmaktadır. Ancak bu yöntem pahalı, her merkezde bulunmayan, yapılabilmesi için ileri derecede eğitimli personel gerektiren bir yöntemdir. qHBsAg düzeyi ise; ELİSA temelli yöntemler ile tespit edilebilen, ucuz, günümüzde pek çok merkezde çalışılabilen bir parametredir.

Yakın zamanda HBsAg kantitatif değerleri ile hastalığın klinik evre, fibrosiz skoru ve tedavi yanıtları arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar bildirilmeye başlanmıştır. Jaroszewicz ve arkadaşlarının Kronik Hepatit B (KHB) enfeksiyonu evrelerine göre HBsAg seviyesini karşılaştırdıkları çalışmada; HBsAg seviyesinin immün toleran ve immün klerans fazda en yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar HBsAg kantitatif ölçümünün reaktivasyonu tanımlamada kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ülkemizden bildirilen bir çalışmada ise; sirotik olmayan hastalarda viral yük ile HBsAg düzeyleri arasında negatif kolerasyon olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmada ayrıca düşük HBsAg düzeyleri ve düşük HBV-DNA düzeyine sahip bireylerin prognozunun daha iyi olduğu ileri sürülmüştür. Chan ve ark. ise çalışmalarında HBsAg düşüşünün daha iyi immün kontrolü gösterdiğini bildirerek, bu düşüş ile birlikte hastaların bir kısmında HBsAg kaybı tespit etmişlerdir (Chan 2007).

Özaras ve ark. tedavi etkinliğinin değerlendirmesinde HBsAg ve HBV DNA düzeyinin birlikte değerlendirilmesinin daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (Özaras 2008). Brunetto ve ark. ise; HBe Ag negatif Kronik Hepatit B'li hastalarda peg-interferon tedavisi sırasında HBsAg düzeyi takibinin tedavi stratejisi belirlemede etkili olacağını ifade etmişlerdir (Brunetto 2009).

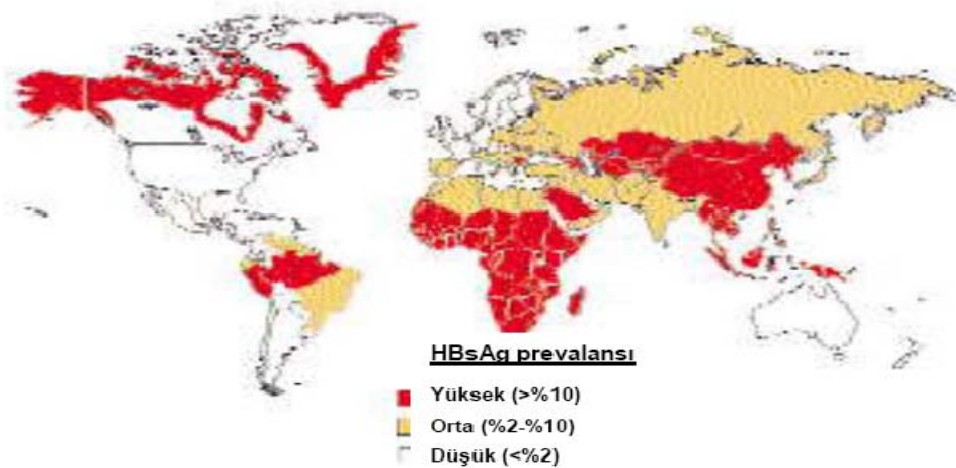
Bu çalışmalar doğrultusunda HBeAg pozitif ve negatif hasta grubunda HBsAg düzeyi ile HBV DNA düzeyi, hastalığın histopatolojisi arasındaki ilişkiyi araştırmayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epidemiyoloji

Otuz yılı aşkın süredir etkili profilaktik aşı kullanılıyor olmasına rağmen, KHB enfeksiyonu halen günümüzde siroz ve hepatoselüler karsinomaya (HCC) kadar ilerleyerek insan hayatını tehdit eden global bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya üzerinde yaklaşık 2 milyar insan HBV ile enfekte olup, bunların yaklaşık 350 milyon kadarında kronik enfeksiyon gelişmektedir. Ayrıca her yıl yaklaşık 620 bin kişi hepatit B enfeksiyonuna sekonder gelişen siroz ve hepatoselüler karsinoma sonucu hayatını kaybetmektedir (Weinbaum 2008, Brunetto 2009). HBV enfeksiyonunun dünya üzerindeki dağılımı şekil 1’de gösterilmiştir.

Ülkemizde de HBV’ne bağlı kronik hepatit ve komplikasyonları, ayrıca hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) taşıyıcılığı önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. HBV sıklığı yönünden Türkiye orta endemik bir bölge olup, toplum genelinde HBsAg pozitifliği %5 olarak bildirilmektedir (Emekdaş 2006, Özaras 2008).



Şekil 1. HBV enfeksiyonunun dünya üzerindeki dağılımı

HBV; ilk defa Blumberg ve arkadaşları tarafından 1965 yılında Avustralya (Au) antijeni olarak tanımlanan bir serum proteini olarak rapor edilmiş olup, 1970 yılında ise; tüm virionun elektron mikroskopi görüntüleri saptanarak “Dane Partikülleri” adını

almıştır. Sonrasında 42 nm büyüklüğündeki infeksiyöz Dane partikülleri dışında 22 nm'lik noninfeksiyöz sferik ve filamentöz partiküller de elektron mikroskopunda tarif edilmiştir.

2.2. Bulaş Yolları

1. Enfekte kan ve vücut sıvıları ile mukozal ya da kütanöz temas (perkütan): Çoğul transfüzyon yapılan hastalar, hemodiyaliz hastaları, damar içi uyuşturucu bağımlıları, dövme yaptırılanlar, cerrahlar, patologlar, hemodiyaliz çalışanları, sağlık çalışanları risk gruplarıdır.

2. Cinsel temas: En çok risk taşıyanlar homoseksüellerdir. Ayrıca eşleri HBV ile kronik enfekte olanlar, başka bir cinsel yolla bulaşan hastalığı olanlar, çok eşliler de risk altındadır.

3. Enfekte anneden yeni doğana bulaş (perinatal-vertikal): Bulaş; nadiren gebelik sırasında olup, asıl bulaş doğum sırasında gerçekleşir. HBeAg pozitif anneden doğan çocukların %70-90'ı enfekte olur. Bunlarda enfeksiyon %90 kronikleşir. HBeAg negatif anneden doğanların ise %10-40'ı enfekte olur. Bunların da %40-70'inde enfeksiyon kronikleşir. Anne sütünde HBsAg gösterilmiştir ve süt teorik olarak bulaştırıcıdır ama bu durum çocuğu süttten kesmeyi gerektirmez.

4. Enfekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temas (horizontal): Amerika Birleşik Devletleri'ndeki hastalık kontrol merkezi (CDC) verilerine göre vakaların yaklaşık yarısında HBV bulaşı için riskli olabilecek bir temasın olmadığı bildirilmiştir. Ancak çeşitli vücut sıvılarında HBsAg gösterildiğinden gerçekte bunların yarısında riskli bir temas söz konusudur. Plevra, periton sıvısında, tükürük ve semende serumdaki kadar virion bulunur (Taşyaran 2003, Özdemir 2007).

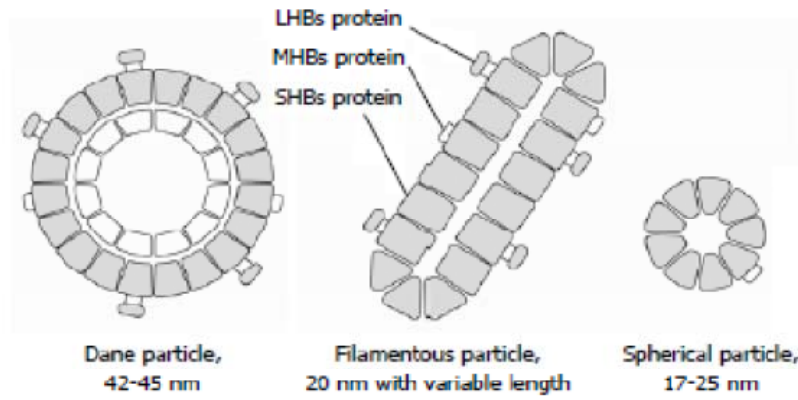
2.3. Viroloji

Küçük, zarflı bir DNA virusu olan HBV, 40-42 nm büyüklüğünde olup, yaklaşık 3200 nükleotid içeren kısmi çift zincirli çembersel DNA ikozahedral bir kapsid ile çevrilidir. HBV bir DNA virusu olmasına karşın revers transkriptaz enzimini kodlar ve RNA aracılığı ile replike olur (Goodman 2007, Lüsebrink 2009). Zarflı bir virus olmasına

karşın eter, düşük pH, ısı, dondurma ve çözmeye karşı oldukça dirençlidir. Bu özellikler virüsün kişiden kişiye geçişinde önemli rol oynar.

2.3.1. Virus genomu

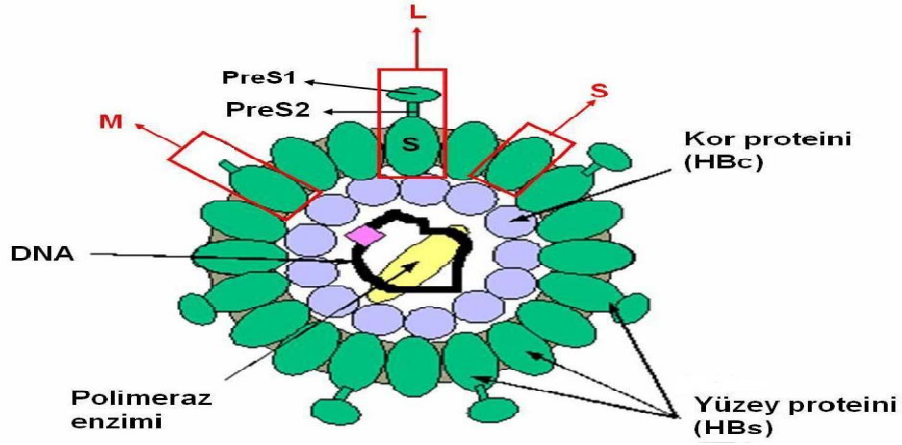
Hasta insanların serumunda üç farklı partikül bulunmuştur. Bunlardan ilki 42 nm çapında küresel görünümlü viral yapının tamamını içeren Dane partikülü olup, diğerleri 22 nm çaplı sferik ve 22 nm çaplı filamentöz partiküllerdir. Bu yapılar sadece zarf glikoproteinleri ve konağa ait lipidleri içermektedir.



Şekil 2. HBV partiküllerinin şematik yapısı

Sferik partiküller SHBs proteininden oluşur ve en çok bulunan form budur. Filamentöz partiküller ise; small HBs (SHBs), medium HBs (MHBs) ve large HBs (LHBs) proteininden oluşmaktadır. Her üç form da piyasada bulunan HBsAg araştıran yöntemlerle serumda tespit edilebilir ve toplamı HBsAg olarak adlandırılır.

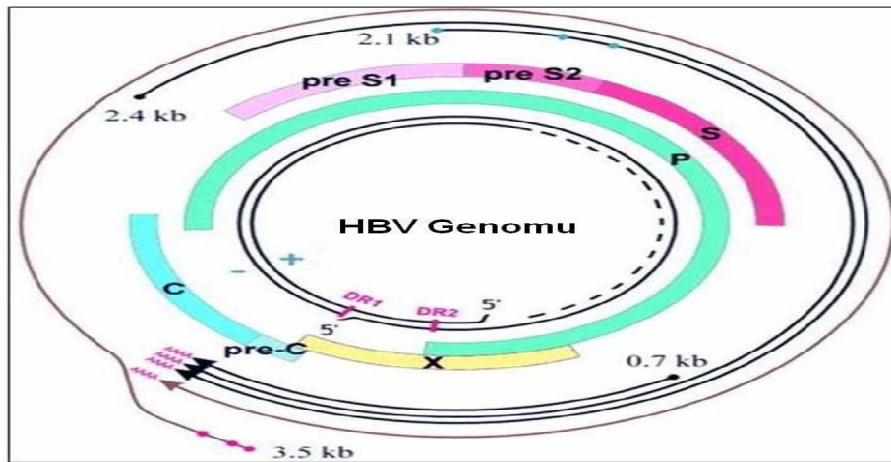
İç kısımda kor antijeni (HBcAg), genom ve viral DNA polimeraz içeren 27 nm çaplı nükleokapsid bulunur. Bunu dışta 7 nm kalınlığındaki zarf antijeni (HBsAg) çevreler (şekil 2). Kor içindeki genom insan DNA virusları içinde bilinen en küçük genomdur. HBV virionunun şematik yapısı şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. HBV virionunun şematik yapısı

HBV genomu dört açık okuma çerçevesi (open reading frame, ORF) oluşturacak şekilde organize olmuştur (şekil 4).

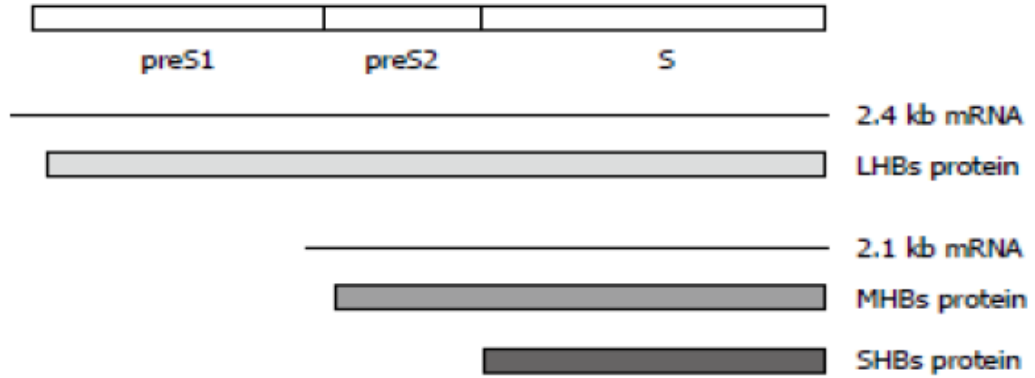
S geni: Hepatitis B surface antijeni (HBsAg) kodlayan gendir. Pre S1, preS2, S bölgelerinden oluşur. Önceleri Avustralya (Au) antijeni olarak adlandırılan S proteini, hepatositlerden salınır ve hepatik hasarda önemli rol oynar. HBsAg viral nükleokapsidi saran zarfı oluşturur. HBsAg nükleusta değil konak sitoplazmasında üretilir. HBsAg'deki aminoasit farklılıklarına göre a, d, y, w ve r antijenik yapı farklılıkları oluşur. Ancak "a" bütün HBsAg pozitif hastalarda olup, buna karşı oluşan anti-HBs antikoruna bağışıklığı sağlar.



Şekil 4. HBV genomunun şematik yapısı

HBsAg; küçük, orta ve büyük HBs proteinlerine (SHBs, MHBs ve LHBs) ayrılır. SHBs; 24 kDa ağırlığında olup, genomun S bölgesi tarafından kodlanmaktadır. S geninin üretim bölgesi preS bölgesi olarak isimlendirilir ve AUG kodonunun lokalizasyonuna göre

preS1 ve preS2 olarak iki alt bölgeye ayrılmıştır. Senteze birinci AUG kodonundan başlanırsa 39 kDa büyüklüğünde ve reseptör bağlamada görevli olan preS1 proteinini de içeren L ünitesi (LHBs: preS1+preS2+S) oluşurken; sentez ikinci AUG kodonundan başlarsa 31kDa büyüklüğünde ve fonksiyonu tam olarak bilinmeyen (MHBs: preS2+S) üretilir (şekil 5).



Şekil 5. S/preS1/preS2 genlerinin, RNA transkripsiyonun şematik sunumu

C geni: Kor veya nükleokapsid genidir. Hepatitis B kor antijeni (HBcAg) kodlar. HBcAg, sadece karaciğer hücresinde tespit edilebilir. HBcAg hepatosit endoplazmik retikulumunda yapısal değişikliğe uğrayarak HBeAg'e dönüşür. Bu olay C geninin Pre-C bölgesince sürekli kontrol altında tutulur. Bu yapılarda ayrıca kısa bir prekor (pre C) başlangıç sekansı vardır. Hücrede prekor sekansında translasyon başladığında, HBeAg salınımı başlar ki, bu prekor sekansının sinyal sekansı gibi davrandığını gösterir. Ekstrasellüler alanda HBeAg solubl formdadır. C kodonunda translasyon başladığında, tam uzunluğa sahip C polipeptidi sentezlenip, hücre içindeki kor partiküllerinde toparlanır. HBeAg, replikasyonun ve enfeksiyözitenin göstergesidir. HBeAg negatif prekor mutantlarda bu antijen salınmamakta, fakat replikasyon devam etmektedir.

P geni: Viral genomun büyük bir kısmını (dörtte üçünü) kaplar. C geninin karboksisi ucu ile, S geninin tamamıyla ve X geninin aminoterminali ile örtüşür. DNA bağımlı DNA polimeraz ve RNA bağımlı revers transkriptaz aktivitesindeki temel bir polipeptidi kodlar. HBV, infekte hücre çekirdeğinde bir minikromozom şeklinde bulunan ve kovalent bağlı çembersel DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA) adı verilen replikasyon ve transkripsiyon stratejisine sahiptir. DNA polimeraz, pregenomik RNA ile birlikte kor

partikülünde toplanır ve pregenomik RNA'nın genomik DNA'ya dönüşmesi ile baslar. DNA bağımlı DNA polimeraz ve RNA bağımlı revers transkriptazı kodlar.

X geni: Viral replikasyon için önemli olan iki transkripsiyon aktivatörünü kodladığı düşünülen küçük bir genidir. HBxAg' yi kodlar. Bu antijen hepatosit gen aktivatörü olarak bilinir. Onkojeniteyi potansiyalize eden, hepatosellüler kanser veya kronikleşme ile ilişkili antijendir.

2.3.2 Genotip ve Serotipler

HBV genotipleri, tüm genom dizisinde %8'i ve S geninde %4'ü aşan farklılık taşıyan varyantlar olarak tanımlanmaktadır. Buna göre HBV'nun, A'dan H'ye kadar 8 majör genotipi mevcuttur. Coğrafi olarak genotipik dağılım farklılık göstermektedir. Genotip A; Kuzey Amerika, Afrika ve Kuzey Avrupa'da, B ve C; Asya ve Pasifik'te, D; Akdeniz ülkeleri ve Hindistanda, E; Sahra-altı Afrika'da, F; Orta ve Güney Amerika'da yaygın görülmektedir. Genotip G; Kuzey Amerika, Fransa ve Tayvan'da tespit edilmiş ve genotip H'nin dağılımı henüz anlaşılammıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, dominant olarak D genotipi ile karşılaşılımıştır (Kato 2002, Leblebicioğlu 2004) (şekil 6).



Şekil 6. HBV genotiplerinin coğrafi dağılımı

Ayrıca viral zarf glikoproteinlerinin antijenik farklılıklarına göre de en az dört stabil serolojik HBV alt tipi tanımlanmıştır. Bu tiplerin tümü "a" olarak belirtilen majör serolojik belirteç taşırlar; ayrıca d/y ve w/r olarak ifade edilen iki bağımsız ve dimorfik

göstergeye de sahiptirler. Buna göre de HBV alt tipleri adw, ayw, adr ve ayr olarak isimlendirilmiştir (Schaefer 2007). Moleküler düzeyde tanımlanmış olan bütün bu antijenik varyantlar, S geni içindeki dizi polimorfizmlerinden kaynaklanmaktadır (Kramwis 2005). Ancak bugüne kadar polimorfizm gösteren bu tipler arasında önemli biyolojik ya da patojenik farklılıklar saptanmamıştır. Dolayısıyla immünodominant olan ve nötralizan antikor yapımını indükleyen “a” antijeni hepsinde ortak olduğundan, herhangi bir serotipe karşı immünizasyon, tüm tiplere karşı çapraz koruma sağlamaktadır. S geninin dizi analizi hem genotipleri hem de serotipleri tanımlayabilmesine karşın, genotipler ve serotipler tam olarak birbiri ile örtüşmemekte, serotip benzerlikleri genetik ilişkiyi doğrulamamaktadır. Virusun coğrafi dağılımı ile genotipler arasındaki ilişki, serotiplere göre daha uyumlu olduğundan moleküler epidemiyolojik çalışmalar için genotip tespitinin daha yararlı olduğu ifade edilmektedir.

2.4. Hepatit B Virus Mutantları

2.4.1. Prekor/Kor Geni Mutasyonları

Kuzey Avrupa ve Amerika’da kronik HBV hastalarının birçoğunda HBeAg pozitifliği ve aktif viral replikasyon izlenirken, Güney Avrupa ve Asya’lı hastalarda HBeAg negatifliğine rağmen ciddi karaciğer hastalığı ve aktif viremi tablosu vardır. Bu hastalarda yapılan çalışmalarda, prekor bölgesinin dizi analizinde 1896. nükleotidde G-A değişimi ile sonuçlanan nokta mutasyonu gösterilmiştir. Bu mutasyon (prekor stop kodon mutasyonu; PSKM), HBeAg üretiminin durdurulmasına, ancak kor proteini üretiminin devam etmesine yol açmaktadır. Bu tip varyant virüslerin, fulminant karaciğer yetmezliği ve ciddi kronik karaciğer hastalığı ile ilişkisi de belirlenmiştir. PSKM, genotip B, C, D ve E’nin predominant olduğu ülkelerde yaygın olarak görülmektedir (Jazayeri 2010).

Bir diğer mutasyon, bazal kor promotor (BKP) bölgesini etkilemekte ve prekor/kor RNA’larının transkripsiyonunda azalma şeklinde kendini göstermektedir. BKP bölgesinde A1762T ve G1764A mutasyonları, viral genotiplere bağlı olarak yalnız ya da prekor mutasyonları ile birlikte görülebilirler. A1762T ve G1764A çift mutasyonunun varlığı ise, HBeAg sentezinde azalmaya ve viral yükte artışa neden olmaktadır. Genel olarak bu mutasyon tipi sıklıkla A genotipi ile enfekte kişilerde ortaya çıkmaktadır. BKP bölgesinde oluşan mutasyonlar, daha az prekor ve kor transkriptinin ve kor proteininin oluşmasına

neden olur; ancak pre-genomik RNA transkripsiyonunu ya da polimeraz/kor proteinlerinin translasyonunu etkilemezler (Ustaçelebi 2007, Liu 2010).

Kor proteininin arjininden zengin karboksi terminali, hem pre-genomik RNA'nın bağlanma bölgesini, hem de önemli B ve sitotoksik T hücre epitoplarını içermektedir. Kronik HBV enfeksiyonunda, virüsle enfekte hepatositlerin sitotoksik T lenfositleri tarafından temizlendiği dönemlerde, bu epitoplarda mutasyonu olan virüsler seçilmektedir. Bu bölgede sıklıkla mutasyon izlenen sıcak noktalar; majör sitotoksik T hücre epitopları olan 18-30. aminoasit (aa)'ler, yardımcı T hücre epitopları olan 50-70. aa'ler ve iki önemli B lenfosit epitopu olan 75-90 ve 120-140. aa'ler arasındaki bölgelerdir. Kor geninde izlenen mutasyon oranları, PSKM varlığı, HBeAg sentezi ve karaciğer hastalığının aktivitesi ile ilişkilidir (Ustaçelebi 2007).

2.4.2. Yüzey geni mutasyonları

Pre-S bölgesi HBV genomunun en yüksek heterojenlik izlenen bölgesidir. Hepatit B virüsü taşıyıcılarında bu bölgede nokta mutasyonları ve delesyonlar görülür. HBsAg 'a' antijenik yapısındaki glisinine yerine arjinin aminoasitinin gelmesi sonucu, anti-HBs'nin etki edemeyeceği, koruyuculuğunun olmadığı mutantlar gelişir.

2.4.3. Polimeraz bölgesinde izlenen mutasyonlar

KHB tedavisinde nükleozit/ nükleotid analoglarının kullanımı ile, polimeraz geninde mutasyon taşıyan ilaçlara dirençli virüsler seçilerek klinik etkinlikte azalmaya neden olurlar. Lamivudin alan hastalarda ilk yılda % 14-32, 4. yılın sonunda ise % 70 direnç görülür.

2.4.4. X Geni Mutasyonları

X proteininin sentezi ve özellikleri, bazal kor promotor (BKP) ya da Enhancer-II gibi replikasyonun kontrolünde görev alan regülatör bölgelerde meydana gelecek mutasyonlardan etkilenmektedir. BKP bölgesinin X geni ile çakışmasına bağlı olarak, A1762T ve G1764A kor promotor mutasyonları X geninde de değişikliklere sebep olabilir. Ek olarak BKP bölgesinde izlenen tüm delesyon ve insersiyonlar, X geninde çerçeve kayması (frame shift) oluşturarak dallı ve kısa X proteinlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu mutant proteinler ise HBx antijeninin transaktivasyon aktivitesini, karboksi

terminalinde 130-140. aa'ler arasında yer alan fonksiyonel bölgenin sentezlenememesine bağlı olarak gelişir (Ustaçelebi 2007).

2.5. Virus Replikasyonu

Karaciğerin parankimal hücreleri (hepatositler) HBV'nun primer hedefidir. Ancak virüsün hepatositlere ve diğer duyarlı hücelere giriş mekanizmaları, uygun hücre kültürü sistemlerinin olmaması nedeniyle halen tam olarak aydınlatılamamıştır. HBV replikasyonunun en önemli özelliği olan "DNA genomunun RNA'nın ters transkripsiyonu ile çoğaltılması" olayının olağan dışı bir uygulama olması nedeniyle, virusun replikasyon döngüsü ile ilgili çalışmaların ve elde edilen bilgilerin çoğu transkripsiyon sonrası döneme aittir (Leistner 2008).

2.5.1 Hücreye Tutunma ve Giriş

Virüsün hücreye giriş yolağı, virus-konak ilişkisinin temel belirleyicisidir. Yapılan çalışmalar, HBV partikülünün hepatosit yüzeyindeki heparan sülfat proteoglikanlarının karbonhidrat yan zincirlerine enerjiden bağımsız bir mekanizma ile tutunduğunu göstermiştir. Zayıf ve geri dönüşebilir özellikteki bu primer tutunmayı takiben, virionun hücreye girişini sağlayacak özgül bir reseptöre daha bağlanması gerekmektedir; ancak HBV için özgül olan bu reseptör henüz tanımlanamamıştır. Son yıllarda bu konu üzerinde yoğunlaşan çalışmalar, hepatosit yüzeyindeki pürinerjik reseptörlerin ve asialoglikoprotein moleküllerinin HBV'nun hücreye girişi için reseptör adayları olabileceğini göstermektedir (Taylor 2010, Zhang 2011).

Hücre yüzey reseptörleri ile ilgili birçok bilinmeyene rağmen, virusun hücreye hangi yapılarıyla tutunduğu iyi bilinmektedir. HBV'nun hepatositlere tutunması, zarf yapısında en fazla yoğunlukta bulunan büyük zarf proteinleri (LHBs) ile olmaktadır. Buna karşın tutunma olayında preS1 bölgesinin farklı motiflerinin ve preS2 bölgesinin de rolü olduğu ileri sürülmektedir (Zhang 2011).

Hepatit B virusunun hücreye penetrasyonu ile ilgili olarak da bilgilerimiz kısıtlıdır. Virionların hücre yüzey reseptörlerine bağlanmasından sonra membran füzyonu sonucu pH-bağımsız bir mekanizma ile girişin gerçekleştiği birçok kanıtla desteklenmektedir.

Sitoplazmaya geçen nükleokapsidler, hücrenin transport sistemi ile çekirdek membranına taşınır ve burada kapsidin enzimatik olarak parçalanması ile viral DNA çekirdek porlarından içeri bırakılır. Hücre çekirdeğine giren viral genom tamir edilerek cccDNA (covalently closed circular DNA) formunda epizomal bir mini kromozom oluşturulmaktadır (Sohn 2008).

2.5.2. Transkripsiyon ve Translasyon

Hücre çekirdeğinde oluşan cccDNA, konağın RNA polimeraz II enzimi için kalıp görevi yaparak dört RNA transkriptinin sentezini gerçekleştirir . Transkripsiyon olayı dört promotor (preS1, preS2, C ve X) ve iki enhancer (Enh-I ve Enh-II) bölge tarafından kontrol edilmektedir (Zhang 2010). Bunlardan S/preS2 promotorunun karaciğer hücrelerine olan özgülüğü düşük iken, preS1 ve C promotorları karaciğer için çok özgüldür ve C promotorunun bu özelliği virus hepatotropizminin esas belirleyicisidir.

Sentezlenen viral RNA transkriptleri çekirdekten sitoplazmaya geçerek protein sentezini başlatırlar. Buna göre, kor proteini (HBcAg), erken protein (HBeAg) ve polimeraz proteini sentezi 3.5 kb büyüklüğündeki genomik RNA'dan; zarf proteinleri (HBsAg) 2.1/2.4 kb büyüklüğündeki subgenomik RNA'dan; X proteini (HBx) ise 0.7 kb büyüklüğündeki RNA'dan sentezlenmektedir (Locarnini 2004, Sohn 2008). Prekor proteini, sahip olduğu öncü (leader) dizi sayesinde endoplazmik retikulum (ER)'a taşınır ve burada işlenerek HBe antijenini oluşturur. Bir transkripsiyon faktörü olan HBx ise, kendisi çekirdeğe girmeden, çekirdeğe girecek olan hücrel sitoplazmik transkripsiyon faktörleri ile etkileşmekte ve bu şekilde HBV promotor aktivitesini artırmaktadır (Beck 2007). Sentezlenen zarf proteinleri (HBsAg) de, ER'a giderek glikozillenmekte ve ER membranına integre olmaktadır. Kor ve polimeraz proteinleri, pregenomik RNA (pgRNA)'yı çevreleyerek HBV RNA içeren kapsidleri oluşturmaktadır. Hepatit B virusunun replikasyon döngüsü şekil 7'de gösterilmiştir.

sonlanırken; ikinci yol nükleokapsidin çekirdeğe geri taşınmasıyla cccDNA havuzunun çoğaltılması ve yeni döngünün başlamasını sağlar. Ancak virusun olgunlaşması viral DNA'nın pozitif zincir sentezi tamamlanmadan gerçekleştiğinden, progeni virionlarda DNA genomu gevşek kısmi çift zincirli olarak kalmaktadır (Martinot 2002).

Subviral partiküller ise, SHBs ve MHBs proteinlerinin sentez sonrası hızla oligomerize olarak pre-Golgi kompartmanından tomurcuklanması ve veziküler transport ile hücre dışına atılması ile oluşur. Buna karşın LHBs, diğer viral proteinlerin yokluğunda salınamamaktadır. L ünitelerini içeren partiküller, sferikten ziyade filamentöz morfoloji kazanırlar ve hücre dışına atılamadıkları için ER ve Golgi içinde kalırlar. Bu tür hasarlı hücreler, patolojik olarak, HBV ile enfekte hastaların karaciğer biyopsi örneklerinde, sitoplazmik görünüşleri nedeniyle "buzlu cam hücreleri" olarak isimlendirilirler (Bruss 2007).

2.6. Patogenez

Virüs ile konak ilişkisi, virüsün immün sisteme yakalanmadan çoğalma ve yayılmaya çalışması ile konağın kendisine en az zarar ile onu elimine etmesi esasına dayanan son derece dinamik bir süreçtir. Yapılan çalışmalar, HBV'nün hepatositlerde hasarının immüнопatolojik mekanizmalar ile ortaya çıktığını vurgulamaktadır. HBV'nün hücreler üzerine direkt sitotoksik etki göstermemesi ile ilgili elde edilen bulgular, tüm HBV taşıyıcılarının asemptomatik olması ile uyumaktadır. Bu görüş bazı araştırmacılar tarafından, asemptomatik taşıyıcıların virülansı düşük suşlar ile enfekte olmasına bağlanmakla birlikte, epidemiyolojik verilerin çok azı bu düşüncüyü desteklemektedir (Kimbi 2005).

Sitopatik etki oluşturmadığı kabul edilmesine rağmen, çeşitli deneysel modellerde hepadnavirusların hepatositleri farklı mekanizmalarla apoptozise götürdüğü tespit edilmiştir. Örneğin HBV'nün replikasyonu sırasında, çok fazla miktarda sentezlenen LHBs hücre içinde birikimi nedeniyle apoptozisi indüklediği gösterilmiştir. Bir diğer mekanizma ise, HBx proteininin p53 ile ilişkili olan ve olmayan yollarla apoptozisi indüklemesidir (Ishicawa 1999, Deguchi 2004).

Viral mutasyonların patogeneze üzerine etkileri ile ilgili veriler; bazı HBV mutantlarının farklı klinik tablolara neden olabildiğini, enfeksiyonun doğal seyrini değiştirebildiğini ve antiviral ajanlara direnç oluşturabildiğini göstermektedir. Örneğin prekor stop kodon mutasyonları HBeAg'nin kaybına, kor promotör mutasyonları viral replikasyonun artışına, RT/polimeraz gen mutasyonları antivirallere karşı dirence ve yüzey geni mutasyonları HBsAg antijenitesinin değişmesine ve nötralizan antikorlardan kaçışa yol açmaktadır.

Viral varyantların ve bazı viral proteinlerin hepatositler üzerindeki direkt biyolojik etkilerinden ayrı olarak, günümüzde hepatit B enfeksiyonlarının patogenezinde konak immün yanıtının, özellikle de virusa özgül CD8+ T hücre yanıtının, temel rolü oynadığı görüşü kabul edilmektedir (Nguyen 2009).

Bilindiği gibi, viral enfeksiyonlara karşı en önemli doğal immün yanıt mekanizmaları, virüsün hücreleri enfekte etmesini takiben ortaya çıkan tip 1 interferon (IFN alfa-beta) ve NK hücre yanıtıdır. Ancak ilginç olarak, HBV enfeksiyonunda doğal bağışıklık mekanizmalarının, gerek vireminin kontrolüne gerekse karaciğer hücre hasarına önemli bir katkısı yoktur. Şempanzelerde yapılan çalışmalar, virüse özgül T hücre yanıtı oluşuncaya kadar, hepatositlerde histolojik ve biyokimyasal anlamda harabiyetin ortaya çıkmadığını göstermiştir (Deguchi 2004, Nyguen 2009). Bunun nedeni, enfeksiyonun ilk dönemlerinde özgül immün yanıt oluşuncaya kadar virüsün kendisini başarılı bir şekilde saklamasından kaynaklanmaktadır. Zira HBV'nün replikasyon stratejisi, doğal immün yanıtın tanıma mekanizmalarından kaçış için oldukça elverişlidir (Persing 1996). Dolayısıyla HBV patogenezinde katkıda bulunacak olan özgül immün yanıt elemanları (T lenfositleri) oluşuncaya kadar hepatosit harabiyeti de ortaya çıkmamaktadır. Yapılan çalışmalar, HBV immünopatogenezinde rol oynayan hücrelerin primer olarak sitotoksik CD8+ T hücreleri (CTL) olduğunu, CD4+ T hücrelerinin ise dolaylı olarak sitotoksin salgılarıyla CTL aktivasyonuna ve kalıcılığına katkıda bulunmak suretiyle etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Nyguen 2009).

Sitotoksik T lenfositleri tarafından virüsün temizlenmesi iki farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bunlardan birisi, erken dönemde gerçekleşen sitopatik olmayan mekanizmalardır ve CTL, hepatositleri öldürmeksizin antiviral etki gösteren interferon-gama (IFN- γ) ve tümör nekrozis faktör (TNF- α) salgılayarak virüs ekspresyonu ve replikasyonunu sınırlandırmaktadır. Diğerisi ise, daha geç dönemde gerçekleşen sitopatik

mekanizmadır ve HBV'na özgül CTL'nin, enfekte hücreleri MHC sınıf I antijenleri ile tanıyarak Fas ligand/perforin yolağı ile öldürmesi sonucu karaciğer hastalığı ortaya çıkmaktadır.

Kendiliğinden iyileşen akut hepatit B'li hastalarda, virusun birçok antijenine (kor, polimeraz, zarf proteinleri) karşı güçlü CTL yanıtları ortaya çıkmakta ve iyileşmeden sonra uzun bir süre kalıcı olmaktadır. Bu durum, HBV'na karşı CTL yanıtının poliklonal ve çoklu özgülükte olduğunu vurgulamaktadır (Nyguen 2009).

Akut enfeksiyonda ayrıca, kor ve polimeraz proteinlerine karşı güçlü CD4+ T hücre (TH) yanıtlarının oluştuğu da gösterilmiştir. Kendiliğinden iyileşen akut HBV enfeksiyonlarının aksine, kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda T hücre yanıtı oldukça zayıf ve sınırlı özgülüktedir. Bunun nedeni tam olarak açıklığa kavuşmamış olmakla birlikte, T hücrelerinde delesyon, anerji, tükenme, gelişim ve fonksiyon bozuklukları gibi faktörlerin etkili olabileceği düşünülmektedir (Zuckerman 2003). Virusun persistansında öngörülen bir diğer mekanizma da, viral kaçış mutasyonlarıdır. Zira kronik HBV enfeksiyonlarında mutasyonlar sonucu B ve T hücre epitoplarının inaktive olduğu ya da değiştiği gösterilmiştir (Hsu 2004). Kronik enfeksiyonlarda T hücre yanıtının yetersiz kalmasında, viral yükün yüksek olmasının da önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu durumda antiviral tedavi, kronik hepatit B'li hastalarda CTL yanıtını düzeltebilir (Knodell 2003).

Hepatit B virus enfeksiyonunda, hücrel immün yanıt virüsle enfekte hücreleri elimine ederken, humoral immün yanıt da dolaşımdaki viral partikülleri temizlemekte ve virusun yayılımını sınırlamaktadır. Virusa karşı oluşan nötralizan antikorlar aynı zamanda virusun duyarlı hücrelere girmesini de önlemektedir. Ancak nötralizan antikorlar, akut enfeksiyonun geç dönemlerinde devreye girdiğinden klinik iyileşmenin olduğu hastalarda HBV reaktivasyonu ve/veya reeneksiyonunu önlemede görev almaktadırlar (Knodell 2003). HBV enfeksiyonunun patogeneğinde humoral immün yanıtın da rolü vardır. Enfeksiyon sırasında çok yüksek düzeylerde sentezlenen ve salgılanan HBsAg, kendisine karşı oluşan antikorlarla (anti-HBs) immün kompleksler oluşturarak damar endoteli, eklemler ve böbreklerde birikmekte ve immün kompleks hastalıklarına neden olabilmektedir. İndüklenen tip III aşırı duyarlılık reaksiyonları sonucu hastalık sırasında deri döküntüleri, artralji ve böbrek harabiyetinin ortaya çıkması nadir değildir.

2.7. Hastalığın Karakteristik Histopatolojik Özellikleri

Kronik hepatitlerde karaciğerde çok sayıda histopatolojik değişiklik izlenebilir. Skoring sistemlerinde biyopside izlenen her morfolojik bulgu derecelendirilmez, söz konusu hastalığın gidişine en fazla etki ettiği bilinen bulgular skorlanırken diğerleri rapor içinde tanımlanır. İyi bir skoring sisteminde skorlanan histopatolojik bulguların hastalığın seyri üzerinde etkisi olmalıdır. Derecelendirilen histopatolojik lezyonların tanımı çok net bir şekilde yapılmalıdır. Hastalığın seyri ve prognoz ile skoring sistemi arasında gösterilebilir bir ilişkinin bulunması gereklidir. Derecelendirme ve evreleme, etyolojiden bağımsız olarak, tüm kronik hepatitlerde yapılır.

Derece; karaciğerdeki iltihap ve hepatosellüler hasarın bir göstergesi olup, diferansiasyonu gösterir. Evreleme ise; karaciğerde gelişen fibrozisin miktarını (yaygınlık) gösterir. Bu nedenle Mason-trikrom gibi bağ dokusuna yönelik boyanmanın yapıldığı bir preparatta değerlendirme yapılmalıdır. Bağ dokusu portal fibrozis, köprüleşme fibrozisi ve siroz şeklinde ilerler. Bunlara karşılık gelen numaralar verilerek evreleme yapılır (Zarski 2002, Rousset 2005).

Kronik hepatit olgularının histopatolojik değerlendirmesinde çeşitli skoring sistemleri kullanılmaktadır. Günümüzde bu amaçla yaygın olarak kullanılan sistem Ishak'ın modifiye histolojik aktivite indeksi derecelendirme ve evreleme sistemidir. Bu skoring sisteminin özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

<i>Modifiye HAI derecelendirilmesi</i>	skor
A. Periportal veya periseptal interface hepatiti	
Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alanda)	1
Hafif/orta (fokal, portal alanların çoğunda)	2
Orta (trakt ya da septaların %50'den azında)	3
Şiddetli (trakt ya da septaların %50'den fazlasında)	4
B. Konfluent nekroz	
Yok	0
Fokal konfluent nekroz	1
Zon 3 nekroz (bazı alanlarda)	2
Zon 3 nekroz (çoğu alanlarda)	3
Zon 3 nekroz+seyrek portal-santral köprüleşme	4
Zon 3 nekroz+ çok sayıda portal-santral köprüleşme	5
Panasiner veya multiasiner nekroz	6
C.Fokal litik nekroz, apopitozis ve fokal enflamasyon	
Yok	0
1 veya daha fazla odak (100'lük büyütmede)	1
2-4 odak	2
5-10 odak	3
10'dan fazla odak	4
D. Portal enflamasyon	
Yok	0
Hafif (bazı veya tüm portal alanlarda)	1
Orta (bazı veya tüm portal alanlarda)	2
Orta/belirgin (tüm portal alanlarda)	3
Belirgin (tüm portal alanlarda)	4
Modifiye HAI evrelendirmesi: Yapısal değişiklikler, fibrozis, siroz	
Fibrozis yok	0
Birkaç portal alanda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	1
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	2
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve seyrek portal-portal (P-P) köprüleşme	3
Portal alanlarda fibröz genişleme ve belirgin köprüleşme	4
Belirgin köprüleşme (P-P ve/veya P-C) ile seyrek nodül (inkomplet siroz)	5
siroz	6

Tablo 1. Modifiye Ishak Histolojik Aktivite İndeksi

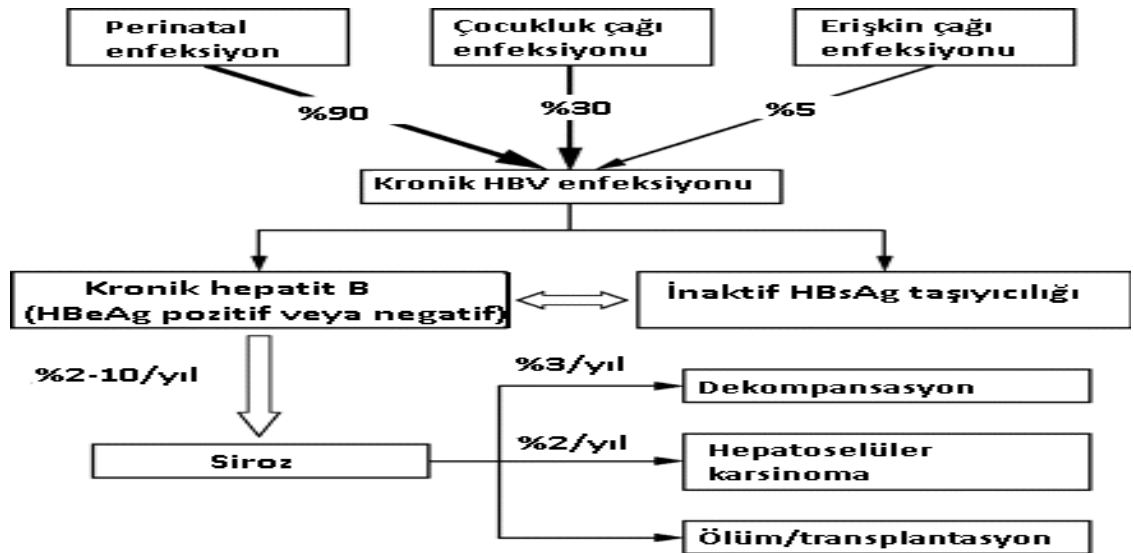
2.8. Hepatit B Virus İnfeksiyonunda Klinik

Hepatit B virüs enfeksiyonu akut veya kronik hepatit olarak iki ana formda incelenir:

Akut HBV Enfeksiyonu Klinik Bulguları: Akut viral hepatitte enfeksiyonun seyri inkübasyon dönemi, preikterik, ikterik ve konvelesan dönem olmak üzere başlıca dört kategoride incelenebilir. İnkübasyon süresi 60-180 gün arasında değişmektedir. Akut HBV enfeksiyonunun klinik bulguları ve enfeksiyonun seyri pek çok duruma bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bunlar arasında enfeksiyonun alındığı yaş, virüsün genetik yapısı, eşlik eden bir başka hepatotrop virüs enfeksiyonunun varlığı, konakçının immun durumu önemli faktörlerdendir. Akut HBV enfeksiyonuna spesifik, diğer akut viral hepatit sebeplerinden ayırımını sağlayan klinik bulgu yoktur. Sarılıkla gelen bir hastada sarılıklı hasta ile temas, intravenöz ilaç bağımlılığı, kan transfüzyonu öyküsü, geçirilmiş cerrahi ya da hastanede yatış, kronik karaciğer hastalığına ait aile öyküsü ve viral hepatit etkeni ile olası temas anamnezde araştırıldığında pozitif veri elde edilirse, akut viral hepatit araştırılmalıdır. HBV ile enfekte olan erişkinlerin sadece %5-20 kadarında akut hepatit klinik belirtileri ortaya çıkmaktadır. Bulantı, kusma, grip benzeri şikayetler, yorgunluk ve halsizlik, sağ üst kadranda hafif künt bir ağrı en belirgin semptomlar arasındadır (Zarski 2002). Serum hastalığı benzeri klinik tablo akut HBV enfeksiyonu olan hastaların %10 kadarında gelişmektedir. İmmun kompleks oluşumuna bağlı olarak gelişen ve üritikeryal veya makulopapüler raş, artraljinin eşlik ettiği bu tabloda, sıklıkla romatoid faktör pozitifliği de mevcuttur. Akut hepatit B seyrinde nadiren de olsa, hastalığın akut fazında pankreatit kliniğine rastlanılabilir. Hastaların %30 kadarında amilaz yüksekliği de saptanabilir. Nadiren de olsa miyokardit, perikardit, plevral effüzyon, aplastik anemi, ensefalit ve polinörit bildirilen diğer klinik bulgulardandır. Preikterik dönemdeki bu semptomlar genellikle 3-10 gün kadar sürer. Bu dönemde ayrıca iştahsızlığa eşlik eden yemek ve sigara tiksintisi, hepatiti akla getirecek semptomlar arasındadır. İkterik dönemde, preikterik dönemdeki hastaya rahatsızlık verici bu bulgularda görülen düzelmeye birlikte sarılık, hafif kaşıntı, idrar renginde koyulaşma, dışkı renginde açılma gözlenir. Serum bilirubini %2,5-3 mg üzerinde olduğu durumda sklerada ikter klinik olarak aşikar hale gelir. Sarılığın süresi nadiren 4 haftayı geçer, genellikle 1-3 hafta kadar sürer. Fizik muayenede, minimal nonspesifik bulgulara rastlanılabileceği gibi, sarılık ve genellikle hassasiyetin de eşlik ettiği hepatomegali (%10), lenfadenopati (%5), ve splenomegali (%5)

olarak masif hepatic destrüksiyon olmaksızın, bütün hepatositlerden infeksiyon temizlenebilir. İnfeksiyonun klerensi ile birlikte dolaşımdan HBsAg ve HBeAg kaybolur. Anti HBs antikoru serumda saptanmaya başlar. Kendi kendine sınırlanmış bir infeksiyon kliniğinde, viral antijenlerin kaybindan sonra ve antiHBs antikoru görünmesinden sonra dahi, kanda düşük düzeyde HBV DNA, tüm yaşam boyu olmasa da yıllar boyu saptanabilir (Hoofnagle 2007, Lok 2007). Bu DNA'nın bütün viriyonları ya da bütün HBV genomunu içerip içermediği tam olarak bilinmemekle birlikte, hayvan çalışmalarında bu serumun inokulasyonu infeksiyon ile sonlanmamıştır.

Kronik HBV enfeksiyonu; serumda >6 ay HBsAg pozitifliği ya da HBsAg pozitifliği ile birlikte anti-HBc IgM negatifliği olarak tanımlanan bir tablodur. Kronik enfeksiyon gelişme riski yaşla ters orantılı olup, enfeksiyonu perinatal dönemde kazanan bebeklerde en yüksek (%90) orandadır. 1-5 yaş arasındaki çocukların %25-90'ında kronik enfeksiyon gelişirken, bu oran büyük çocuk ve erişkinlerde %5-10 arasındadır. Kronik enfeksiyonu olan hastalar, siroz ve hepatoselüler karsinoma (HCC) gelişimi açısından yüksek risk altındadır. Karaciğer biyopsi örneklerindeki histolojik paterne göre kronik enfeksiyonlu kişiler; kronik persistan hepatit, kronik aktif hepatit ve siroz şeklinde gruplandırılırlar. Histolojik hasarın derecesi sıklıkla semptomlarla uyumlu değildir ve ciddi kronik karaciğer hastalığı olan kişiler, genellikle ileri hastalık evresine kadar asemptomatik seyrederler. Kronik aktif hepatitli kişilerde fibroz ve siroz gelişimine yatkınlık vardır. Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 9. Kronik hepatit B enfeksiyonunun doğal seyri

Kronik hepatit B enfeksiyonunun doğal gelişimi 5 dönemde gruplandırılabilir; ancak bunların ardışık olarak ortaya çıkma şartı yoktur.

İmmün Tolerans Fazı: Konak, bu evrede HBV'nin replikasyonuna immüntolerandır, replikasyon sürer. Karaciğer inflamasyonu minimaldir ve siroza progresyon nadirdir. Sağlıklı erişkinlerde bu evre iki-dört hafta sürerken, çocuklarda, özellikle enfeksiyonu vertikal yolla almış yenidoğanlarda 10 yıllarca sürebilmektedir. HBeAg pozitifliği, yüksek HBV replikasyonu düzeyleri (HBV DNA > 10⁷ copy), normal transaminaz düzeyleri, hafif veya sıfır karaciğer nekroenflamasyonu ve sıfır ya da yavaş fibrozis progresyonu ile karakterize olur (Lok 2007). Bu fazda, spontan HBeAg kaybı oranı çok düşüktür. Bu ilk faz, perinatal olarak veya yaşamın ilk yıllarında enfekte olan hastalarda daha sık veya daha uzundur. Yüksek viremi düzeyleri nedeniyle, bu hastalarda yüksek bulaştırıcılık bulunur.

İmmün Reaktif Faz: Viral replikasyonu kontrol etme (viral temizlenme) dönemidir ve inkomplet immün yanıtın gelişmesi ile karakterizedir. HBeAg pozitifliği, düşük replikasyon düzeyi (düşük serum HBV DNA düzeyleri ile ortaya çıkar), artmış veya dalgalanan transaminaz düzeyleri, orta veya şiddetli karaciğer nekroenflamasyonu veya önceki faza oranla daha hızlı fibrozis progresyonu ile karakterize olur (Martinot 2002). Bu faz haftalar veya yıllarca sürebilir. Ayrıca, spontan HBeAg kaybı oranı da artmıştır.

İnaktif HBsAg Taşıyıcılığı: Asemptomatik HBsAg taşıyıcılığı, altı aydan uzun süren HBsAg pozitifliğinin olması, karaciğer hastalığı kliniğinin olmaması, bir yıllık sürede üçer ay arayla bakılan transaminazların normal olması ile tanımlanır. Karaciğer histolojileri normal veya minimal değişiklikler içerir. Bir tek kontrol ile HBeAg negatif/Anti-HBe pozitif, tespit edilemeyen veya çok düşük serum HBV-DNA seviyelerine sahip (< 2000 IU/ml) ve normal serum ALT'si olan hastalar uygun bir takip olmadıkça inaktif HBsAg taşıyıcısı sınıfına konulmamalıdır. Çünkü HBeAg negatif hastalar, geniş ALT dalgalanmalarına sahiptir ve başvuruda yaklaşık %20-30'unda, normal ALT seviyelerine rağmen histolojik olarak dökümanente edilmiş kronik hepatit vardır. Erişkin inaktif HBsAg taşıyıcılarının uzun dönem takip çalışmaları bu kişilerin %15-24'ünde HBeAg negatif kronik hepatit geliştiğini ve bunlarında %1-17'sinde HBeAg reversiyonu olduğunu göstermektedir. Serokonversiyon sonrası çoğu hasta HBeAg negatif/Anti-HBe pozitif olarak kalır. Serokonversiyon genellikle hepatitin stabilize olması, ALT

seviyelerinde normalleşme ve HBV-DNA'nın tespit edilemez veya çok düşük (< 200 IU/ml) seviyelere gerilemesi ile karakterizedir (Sharma 2005).

HBsAg serokonversiyonu hastaların yıllık %1-3'ünde görülür, spontan olarak HBsAg kaybı ve anti-HBs antikor oluşması ile kendini gösterir. İnaktif HBsAg taşıyıcılarının ilerleyen zamanlarda %30-40'ında spontan reaktivasyon görülebilmektedir. Bundan da önemlisi inaktif HBsAg taşıyıcıları karşımıza herhangi bir zamanda siroz veya siroz olmadan hepatosellüler karsinom tablosu ile gelebilmektedir (Iloeje 2006).

Tüm dünyada kronik viral hepatit alanında hızlı ilerlemelere rağmen, inaktif HBsAg taşıyıcılarının uzun dönem sonuçları ve siroza dönüşüm riskleri tam olarak anlaşılammıştır. Önceleri inaktif HBsAg taşıyıcılarının siroz gelişim risklerinin düşük olduğu kabul edilirken, son zamanlarda yapılan çalışmalarda hastalığın bu evresinin masum bir süreç olmadığı ve oldukça ciddi sonuçlar ortaya çıktığı görülmüştür. Tayvan'da yapılan çalışmalarda yıllık siroz gelişim insidansının % 0.74-0.9 olduğu görülmüştür. Yine Tayvan'da yapılan yeni bir çalışmada 1965 inaktif HBsAg taşıyıcısı 25 yıl boyunca takip edilmiş ve bu hastalarda kümülatif siroz gelişim insidansı yaklaşık %15 olarak saptanmıştır (Chu 2009).

HBeAg-negatif KHB: HBeAg-negatif KHB, KHB'nin doğal seyrinde daha ileriki bir fazı temsil eder. HBV DNA düzeyi ($>10^4$ kopya/ml), yüksek transaminaz düzeyleri ve sürüp giden nekroinflamasyonla karakterizedir. HBeAg negatif ve HBeAg pozitif KHB arasında klinik, serolojik ve virolojik farklılıklar vardır. Bu dönemdeki hastalar genellikle HBeAg pozitif KHB'li hastalara göre daha yaşlıdır ve karaciğer hastalıkları daha ileri düzeydedir. Çünkü bu dönem KHB infeksiyon sürecinin ileri evresidir. Bu dönemin önemli bir özelliği transaminaz düzeyinin dalgalı bir seyir göstermesidir. Bu hastaların yaklaşık %30'unda ilk başvuruda ALT düzeyleri normaldir. Bu nedenle inaktif HBsAg taşıyıcılığı durumu ile HBeAg negatif KHB arasında ayırıcı tanı yapılmalıdır. Bu nedenle hastaların en az yılda bir kez serum ALT ve üç ayda bir HBV DNA düzeylerinin izlenmesi, HBeAg negatif kronik aktif hepatitli olgularda alevlenmelerin tespitine imkan verir (Knoll 2005, Papatheodoridis 2008).

HBsAg Kaybından Sonraki HBsAg-negatif Faz:

HBsAg'nin negatifleşmesinden sonra gelişen evrede, düşük düzey HBV replikasyonu, karaciğerde HBV DNA tespiti ile devam edebilir. Genel olarak anti-HBs ile

birlikte ya da tek başına anti-HBc saptanır. HBsAg ve HBV DNA negatifliğine bağlı olarak siroz, dekompanseasyon ve HCC riski azalmaktadır. Ancak bu hastalarda immün süpresyon, HBV reaktivasyonuna yol açabilir. Bu dönemin gizli HBV enfeksiyonu ile ilişkisi ise belirli değildir (Krajden 2005).

Gizli Hepatit B Enfeksiyonu: Gizli (okült) hepatit B enfeksiyonu, periferik kan ya da karaciğerde HBsAg saptanamazken, duyarlı nükleik asit saptama yöntemleri ile HBV DNA'nın tespit edildiği durumlar olarak tanımlanır. Okült hepatit B; açıklanamayan karaciğer hastalığı (HCC ve kriptojenik siroz) olanlarda, spontan olarak veya interferon (IFN) tedavisinden sonra iyileşen kronik enfeksiyonlu HBV seropozitif hastalarda ve karaciğer hastalığı bulgusu olmayan hemodiyaliz hastaları ve kan vericileri gibi HBV seronegatif kişilerde görülmektedir. Okült HBV enfeksiyonunun prevalansı ile ilgili veriler yeterli olmamakla birlikte, Kuzey Amerika'da HCC'lı hastalarda %16, anti-HBc pozitif kan vericilerinde %2 ve hemodiyaliz hastalarında %4 oranında bildirilmektedir. Ayrıca kronik HCV enfeksiyonu olan kişilerin karaciğer biyopsi örneklerinde %50 ve serum örneklerinde %30'a varan oranlarda HBV DNA pozitifliği tespit edilmiştir. Okült HBV enfeksiyonunun, HBsAg'yi kodlayan ya da transkripsiyonu kontrol eden bölgelerin mutasyonu sonucunda antijenite ya da ekspresyon düzeylerinin değişimine bağlı olarak gelişebileceği düşünülmektedir.

2.9. Hepatit B Virus Enfeksiyonlarının Tanısı

Hepatit B virusunun in vitro olarak hücre kültürlerinde üretilmemesi nedeniyle HBV enfeksiyonlarının tanısı temel olarak serolojik ve moleküler yöntemlere dayanmaktadır.

2.9.1.Serolojik Tanı: Bu amaçla, virusa ait antijenler ve bunlara karşı konak tarafından oluşturulan antikolar saptanmaktadır (Mauss 2009). HBV göstergelerinin saptanmasında en yaygın olarak kullanılan serolojik testler ELISA (manuel, yarı veya tam otomatize) ve kemilüminesans (tam otomatize) yöntemleridir.

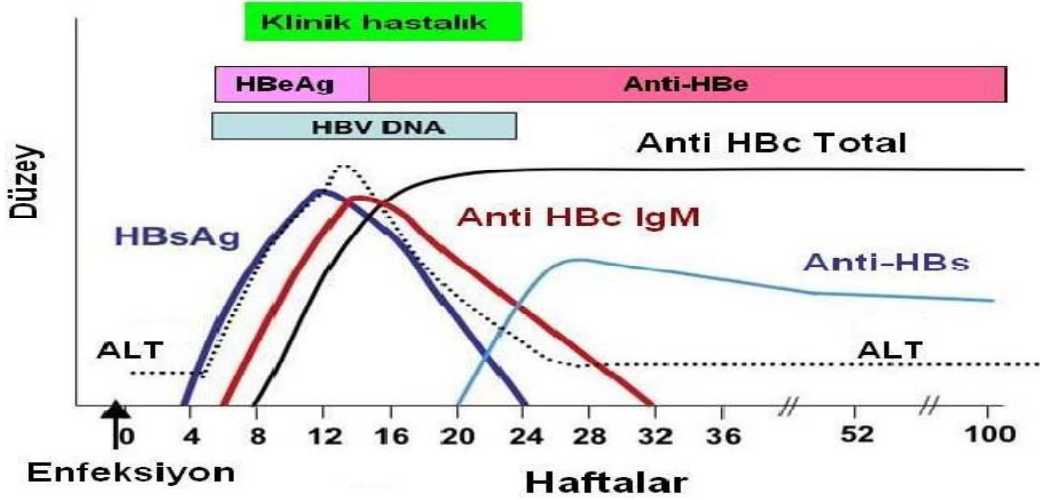
Serolojik tanıda ilk adım, HBV enfeksiyonunun akut ya da kronik olduğunun saptanmasıdır. Akut HBV enfeksiyonu sırasında saptanan ilk gösterge HBsAg'dir. Hastalık belirtileri başlamadan 3-5 hafta önce serumda saptanabilir düzeye ulaşmakta ve akut

enfeksiyon sırasında en yüksek düzeye çıkmaktadır. İyileşme ile sonuçlanan olgularda HBsAg, 2-6 ay içinde azalarak kaybolmakta ve kısa bir süre sonra HBsAg'ye karşı oluşan ve genellikle hayat boyu kalıcı olan antiHBs antikorları ortaya çıkmaktadır.

Anti-HBs antikorları nötralizan özelliğe sahip koruyucu antikorlardır. Aslında anti-HBs, akut hastalık sırasında daha erken dönemde oluşmakta, ancak çok fazla miktarda HBsAg varlığı nedeniyle antijen tarafından bloke edilmekte ve bu şekilde oluşan immün komplekslerin anti-HBs'nin saptanmasını maskeleydiği düşünülmektedir. HBsAg'nin kaybolduğu ve henüz anti-HBs antikorlarının saptanmadığı bu döneme "pencere dönemi" adı verilir. Bu dönemde hem HBsAg hem de anti-HBs negatif olarak bulunduğundan, akut enfeksiyonun tek göstergesi anti-HBc IgM ve/veya total pozitifliği'dir. Akut enfeksiyondan sonra anti-HBs antikorlarının oluşması, iyileşmeyi ve kazanılan bağışıklığı ifade eder. Anti-HBs pozitifliği, geçirilmiş akut enfeksiyon dışında hepatit B aşısı ile bağışıklama, hepatit B immünoglobulin uygulaması, kan transfüzyonu ve anneden bebeğe pasif geçiş durumlarında da saptanabilmektedir. Serum anti-HBs düzeyinin >10 mIU/ml olması enfeksiyona karşı koruyuculuk sağlamaktadır (Hatzakis 2006).

Akut enfeksiyon sırasında HBsAg'nin ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra serumda HBeAg belirlemekte ve HBsAg negatifleşmeden önce kaybolmaktadır. Serumda HBeAg'nin varlığı, bulaşıcılık, enfektivite ve aktif viral replikasyon ile ilişkilidir. HBeAg kaybolduktan kısa bir süre sonra anti-HBe antikorları ortaya çıkmakta; bu serokonversiyon ise viral replikasyonda azalmayı ve hastalık prognozunun iyiye gittiğini göstermektedir. Ancak prekor mutantlar, HBeAg eksprese etmeden aktif replikasyon göstererek, siroz ve HCC gelişimi için yüksek risk oluştururlar.

Kor proteinine karşı oluşan IgM tipi antikorlar, HBsAg'nin pozitifleşmesinden kısa bir süre sonra oluşan ilk HBV antikorlarıdır (Şekil 8). Anti-HBc IgM pozitifliği virusla yeni karşılaşmayı işaret ettiğinden, akut HBV enfeksiyonu için tanısal değer taşır. Daha sonra anti-HBc IgM, yerini anti-HBc IgG/total antikorlarına bırakmakta ve bu antikorlar da genellikle serumda hayat boyu kalmaktadırlar. Bu nedenle anti-HBc IgG pozitifliği anti-HBs varlığı ile birlikte doğal olarak geçirilen enfeksiyona karşı gelişen bağışık yanıtı gösterir.



Şekil 10. İyileşme ile sonuçlanan akut HBV enfeksiyonunda tanısal göstergeler

2.9.2. Moleküler Tanı

Hepatit B enfeksiyonunun tanısında moleküler yöntemlerin kullanım alanları; (a) Kantitatif viral yük testleri, (b) Genotiplendirme testleri, (c) İlaç direncinde mutasyon varlığını saptayan testler ve (d) Kor promotör/prekor bölge mutasyon testleri olmak üzere dört amaca yöneliktir.

Kantitatif HBV DNA testlerinin, kronik hepatit B'nin ilk değerlendirmesi sırasında ve prognozun takibinde olduğu kadar, tedavinin başlamasında ve antiviral ajanlara karşı yanıtın takibinde de büyük önemi vardır (Bowden 2006). Plazma ya da serumda HBV DNA'nın tespiti, kronik HBV enfeksiyonunun tanı kriterlerinden biri olduğundan, serolojik testlerle birlikte HBV DNA düzeyinin de çalışılması bir gerekliliktir.

HBV genotipleri ile kronik enfeksiyon gelişim riski ve tedaviye yanıt arasında yakın ilişki olduğu bildirilmektedir. Örneğin genotip B ile enfekte olan hastalar, genotip C ile enfekte olanlara göre daha iyi progresyon göstermektedir. Benzer olarak farklı genotiplerin antiviral tedaviye olan yanıtları da farklı olabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı moleküler yöntemler ile HBV genotiplendirmesinin yapılması önerilmektedir. Genotiplendirme için DNA dizi analizi ve Line Prob Assay gibi yöntemler kullanılabilir (Keeffe 2006).

Tedavi alan kronik hepatit B'li hastalarda, antiviral ilaçlara karşı direnç gelişiminin izlenmesinde viral yük takibinin yapılması ve tedaviye yanıtızlığın olduğu durumlarda

dirence neden olan mutasyonların saptanması için de yine moleküler yöntemlerden yararlanılmaktadır.

2.10. Hepatit B Virus Enfeksiyonlarının Tedavisi

Hepatit B virusuna karşı etkin antiviral aktivite gösteren birçok ajanın varlığına rağmen, genel bir prensip olarak, akut HBV enfeksiyonlarında özgül antiviral tedavi uygulanmamaktadır. Semptomatik akut hepatit B'li hastalara destekleyici tedavinin uygulanması yeterlidir. Bunlar arasında yatak istirahati, kusma ve diyare nedeniyle ortaya çıkan sıvı kaybının giderilmesi, ateş ve eklem ağrılarının antipiretik ve analjeziklerle semptomatik tedavisi yer almaktadır.

Kronik hepatit B'li hastalarda ise antiviral tedavi, siroz ve HCC gelişiminin önlenmesi ve riskin azaltılması amacıyla uygulanmaktadır. Tedavinin başarısı; virusun süpresyonu (HBV DNA'nın negatifleşmesi, HBeAg ve HBsAg kaybı) ve karaciğer fonksiyonlarının düzelmesi (ALT düzeyinin normale dönmesi, karaciğer histolojisinin düzelmesi) ile ölçülmektedir (Fung 2004). Tedaviye, virüsün replikasyon durumu (viral yük) ve karaciğer hastalığının düzeyi dikkate alınarak başlanmakta ve tedavi protokolü hastanın yaşı, tedaviye uyumu ve HBeAg durumuna göre düzenlenmektedir (Jafri 2010).

2.10.1. HbeAg pozitif hastalarda tedavi kriterleri:

HBV DNA düzeyi ≥ 20.000 IU/ml ve HBeAg (+) olan hastalar ALT düzeylerine göre tedavi edilir. Bu grup hastalardan ALT değerleri yüksek olanlar tedavi için uygun adaylardır. Tedavide ilk tercih edilecek ajanlar PEG-IFN alfa 2a/2b, entecavir veya tenofovir'dir. HBV DNA düzeyi ≥ 20.000 IU/ml ve ALT düzeyi normal hastalarda IFN'a yanıt oranı düşük olduğundan entecavir veya tenofovir tercih edilmelidir (Tabak 2009).

2.10.2. HBeAg negatif hastalarda tedavi kriterleri:

ALT seviyesi normal olan hastalarda HBV DNA ≥ 20.000 IU/ml olan hastalara biyopsi yapılarak Evre >2 , HAI >8 entecavir veya tenofovir tedavisi önerilmektedir. ALT düzeyi yüksek olan hastalardan ise; HBV DNA ≥ 2000 IU/ml olanlara entecavir veya tenofovir tedavisi önerilmektedir (Tabak 2009).

2.10.3. Tedavide Kullanılan İlaçlar

İnterferon alfa(α): IFN α ; immünomodulatör, antiviral ve antiproliferatif etkileri olan ve doğal olarak vücutta sentezlenen bir sitokindir.

Standart IFN- α ; 1992' de HBV tedavisinde kullanılabilen bir ajan olarak kabul edildi. IFN- α ; 5 MU-10 MU arasında değişen dozlarda haftada 3 kez veya gün aşırı olarak uygulanır.

Pegile IFN α (PEG-IFN) : IFN' a polietilenglikol (PEG) molekülünün eklenmesi; yarı ömürde anlamlı uzamaya sebep olarak haftada bir kez uygulama imkanı sağlamaktadır. Bir çok merkezde standart IFN α , yerini PEG-IFN' a bırakmıştır.

Lamivudin: Kronik B hepatitinde onaylanmış ilk oral ilaçtır. Bir sitozin analogu olan lamivudin (LAM) sitozin ile rekabete girer ve DNA sentezini sonlandırarak virus replikasyonunu bloke eder (Akarca 2009).

Adefovir Dipivoksil: Adefovirin ön ilacıdır. Adefovir; adenzin monofosfatın bir asiklik nükleot(z)id analogudur. Hüresel kinazlar tarafından aktif metabolit olan adefovir difosfata fosforillenir. Adefovir difosfat doğal substrat deoksiadenozin trifosfat ile yarışarak ve viral DNA içine girdikten sonra DNA zincirinin sonlanmasına neden olarak HBV DNA polimerazı inhibe eder (ters transkriptaz) (Hadziyannis 2003).

HBeAg negatif hastalarda 48 haftalık tedavi sonucunda serumda HBV DNA kaybı %51, ALT normalizasyonu %72, histolojik iyileşme ise %64 oranında saptanmıştır.

Entekavir: Siklopentil guanozin nükleozid analogudur. Viral DNA polimeraza selektif aktivite gösterir. İntrasellüler yüksek konsantrasyona ulaşarak hem wild virüse hem lamivudin dirençli virüse etkilidir. Lamivudin dirençli suşlara etki için 20-30 kat daha yüksek konsantrasyon gereklidir.

Tenofovir: Tenofovir disokproksil fumarate, HIV enfeksiyonu tedavisinde kullanılan bir nükleozid analogudur. Kronik hepatit B tedavisinde FDA'den ağustos 2008'de onay almıştır. Lamivudin ve entekavire dirençli olgularda ilk seçenektir.

Telbivudin: HBV'ye karşı güçlü antiviral aktivitesi olan bir L-nükleosid analogudur. HBV DNA'yı reverse transkriptazın doğal substratı (sentetik timidin analogu) ile yarışarak inhibe eder. DNA zincirinin sonlanmasına neden olur.

Emtrisitabin (FTC): HIV ve HBV replikasyonunun güçlü bir inhibitörüdür. Yalnızca FTC ve FTC-tenofovir kombinasyonu olarak HIV tedavisinde onaylanmıştır. Yapısal olarak LAM benzerliği nedeniyle aynı dirençli mutantları seçmektedir.

2.11. HBsAg Kantitasyonu

HBV enfeksiyonunun tanısında 40 yılı aşkın süredir kullanılan HBsAg günümüzde halen önemini korumaktadır. HBsAg serokonversiyonu, KHB hastalarında başarılı tedavinin esas göstergesidir. Fakat spontan HBsAg serokonversiyonu nadir olup, interferon tedavisi ile bu oran biraz artarak Avrupalı hastalarda %2.25'e, Asyalı hastalarda ise; % 0.43'e yükselbilmektedir. HBsAg seviyesini etkileyen faktörler keşfedildikçe HBsAg serokonversiyonunda da artış olacağı umut edilmektedir.

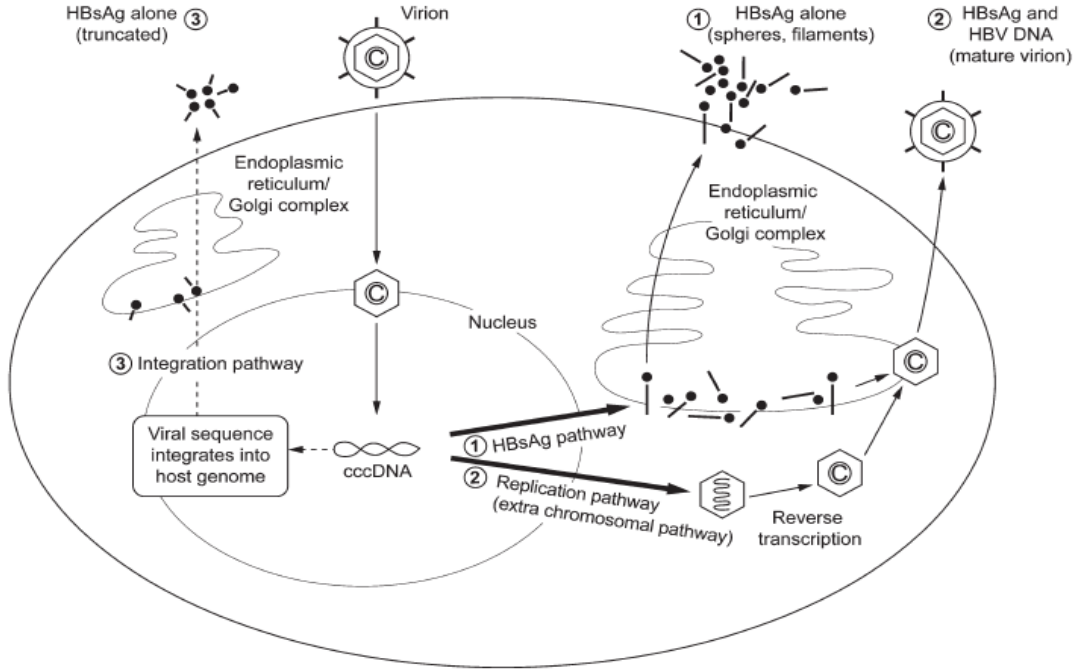
HBV, Hepadnavirus ailesinden olup zarf, çekirdek, kısmen çift sarmal DNA genomu ve viral polimerazdan oluşur. İki katlı kabuğu vardır. Dış katmanda Hepatit B yüzey antijeni olarak bilinen (HBsAg) zarf proteini bulunup; küçük, orta ve büyük HBs proteinlerine (SHBs, MHBs ve LHBs) ayrılır. İçteki kabuk Hepatit B core proteini olarak bilinen çekirdek proteinidir ve viral polimeraz ve HBV genomunu içinde barındırır. Serumda bu tam virion dışında daha küçük, enfektif olmayan subviral partiküller bulunur ki bunlar 22 nm boyutlarında sferik ve filamentöz partiküllerdir. Sferik partiküller; SHBs proteininden oluşur ve serumda en çok bulunan form budur. Filamentöz partiküller ise; SHBs, MHBs ve LHBs proteininden oluşmaktadır. Piyasada bulunan HBsAg ölçen yöntemlerle her üç form serumda tespit edilebilir ve toplamı HBsAg olarak adlandırılır.

Geçmişte HBsAg'yi kalitatif olarak ölçme imkanı sağlayan radyoimmünassay ve enzimimmünassay gibi yöntemler kullanılmış olup, kantitatif olarak HBsAg seviyesini ölçen yöntemler yakın zamanda kullanılmaya başlanmıştır. Bunlardan biri Architect HBsAg QT (Abbott Diagnostic, Wiesbaden, Germany) chemiluminesens mikropartikül immünassay olup klinikte yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Architect HBsAg QT, insan serum ve plazmasındaki HBsAg konsantrasyonunun kantitatif belirlenmesi için chemiflex

olarak adlandırılan esnek bir tahlil protokolü olan iki aşamalı bir immunassaydır. İlk aşamada örnek ve paramanyetik mikropartiküllerle kaplı anti-HBs birleştirilir. Örnekte bulunan HBsAg mikropartiküllerle kaplı anti-HBs ile bağlanır. Yıkamadan sonra acridinium işaretli anti-HBs konjugatı eklenir. Bir yıkamanın ardından, pretrigger ve trigger solusyonları reaksiyon karışımına eklenir. Ortaya çıkan chemiluminesens reaksiyonu relatif ışık ünitesi (RLU) olarak ölçülür. Örnekte bulunan HBsAg miktarı ile Architect immunassay sistem optiğinin ölçtüğü RLU arasında doğrusal bir ilişki vardır. Architect HBsAg tam otomatik bir sistemdir ve 0.2 ng/ml'lik HBsAg'ye kadar tespit edebilir (Muhlebacher 2008, Nyugen 2009).

Sık kullanılan diğer bir yöntem ise; Elecsys HBsAg II (Roche Diagnostic Indianapolis, IN, USA). İlk inkubasyon basamağında, örnekteki antijen-sandviç kompleksi oluşturmak için ruthenium kompleksi ile işaretlenmiş HBsAg spesifik monoklonal /poliklonal (koyun) antikoru ve biyotinilated monoklonal HBsAg spesifik antikoları ile reaksiyona girer. İkinci basamakta, streptovidin kaplı mikropartiküller eklenir ve biyotin ve streptovidin ile etkileşim sonucu katı faza geçer. Bu eşik indeksi olarak rapor edilir ve eğer index 1.0'dan daha büyükse örnek reaktif kabul edilir (Muhlebacher 2008).

HBsAg proteininin primer fonksiyonu viral komponentleri çevrelemektir. Ayrıca enfeksiyon sürecini başlatmak için hücre membranına tutunmada majör rol oynar. HBsAg konak genomuna entegre olmuş HBV DNA'dan konak enzimleri kullanılarak ya da transkripsiyonel aktif cccDNA molekülünün translasyonu sonucu üretilmektedir. cccDNA, bir mini kromozom olup, viral bir şablon olarak görev yapar ve KHB enfeksiyonunun devamlılığı için havuzu yeniler. Bu yüzden KHB tedavisinde cccDNA'nın biyolojisini anlamak gereklidir. Fakat cccDNA'yı incelemek için invaziv işlem gerektiğinden cccDNA yerine kullanılabilir marker arayışına gidilmiştir. Bu amaçla HBsAg ile cccDNA arasındaki ilişkinin araştırıldığı birçok çalışmada HBsAg kantitatif düzeyinin teorik olarak karaciğerdeki total cccDNA seviyesini ve cccDNA'nın transkripsiyonel aktivitesini yansıttığı gösterilmiştir (Thomas 2005).



Şekil 11. Hbs Ag üretim yolları

HBsAg'nin viral monitorizasyonda kullanılabileceğine dair verilerin artmasından sonra qHBsAg, virolojik cevabın tahmini için araştırılmaya başlandı. Yakın zamanda Peg-interferon+lamivudin (PEG-IFN +LAM) ile tedavi edilen HBeAg pozitif ve negatif her iki hasta grubunda qHBsAg 'de 12. ve 24. haftalardaki 0.5 ve 1 log azalmanın kalıcı viral yanıt (KVY) için yüksek prediktif değeri olduğu gösterilmiştir.

Ayrıca KHB enfeksiyonun fazlarına göre HBsAg kantitatif düzeyinin incelendiği çalışmalarda en yüksek HBsAg titresini immun tolerans fazda saptanırken, en düşük değer inaktif HBsAg taşıyıcılarında tespit edilmiştir.

Çalışmalarda HBeAg pozitif ve negatif hastalarda HBsAg kantitatif düzeyinin HBV DNA düzeyi ile arasındaki korelasyon araştırılmış. HBeAg pozitif hastalarda pozitif korelasyon tespit edilirken, HBeAg negatif hastalarda korelasyon saptanmamıştır.

Bu bilgiler doğrultusunda biz de çalışmamızda HBsAg kantitatif düzeyi ile HBV DNA düzeyi ve karaciğer histopatolojisini arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Grubu ve Yöntem

Çalışma 2009-2012 yılları arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi'nde takip edilen 18-65 yaş arası, daha önce hiç antiviral tedavi almamış kronik hepatit B tanısı alan hastaların retrospektif olarak taranması esasına dayandırıldı. 185 hasta çalışmaya dahil edildi. Modifiye Ishak skorlama sistemine göre rapor edilen biyopsi sonuçlarına göre HAI<4 ise hafif şiddette inflamasyon, HAI 4-8 ise orta şiddette inflamasyon, HAI >8 ise ağır şiddette inflamasyon kabul edildi. Yine histopatolojik incelemede fibrozis evresi <2 ise hafif fibrozis, fibrozisi 2-3 ise orta fibrozis, fibrozisi >3 ise ağır fibrozis olarak kabul edildi. Çalışmaya alınan hastalarda serum qHBsAg, qHBe düzeyleri makro ELISA yöntemiyle ARCHITEC (Abbott Laboratoies) cihazı ile çalışılırken, HBV-DNA düzeyleri kantitatif PCR yöntemiyle (Taqman, Roche Diagnostic Systems) çalışılmıştır. Ülkemizde KHB enfeksiyonunda yüksek oranda D genotipi ile karşılaşıldığından (Serin 2005, Emekdaş 2012) çalışmaya alınan hastalarda genotip tayini yapılmamıştır Hastaların çalışmaya alınma ve alınmama kriterleri tablo 2'de gösterilmiştir.

Çalışmaya alınma kriterleri:

18-65 yaş arası
HBsAg 6 aydan uzun süredir pozitif olan HBeAg pozitif-negatif hastalar
Daha önce KHB enfeksiyonu için hiç antiviral tedavi almamış hastalar
İmmün supresif durumu olmaması

Çalışmaya alınmama kriterleri:

Geçmişte KHB enfeksiyonu için antiviral tedavi alanlar
Hepatit C, D veya HIV ile koinfeksiyon varlığı
Son 12 ay içinde immün modülatör tedavi alanlar
Dekompanze karaciğer sirozu
Otoimmün hepatit
Malignite varlığı

Tablo 2. Hastaların çalışmaya alınma ve alınmama kriterleri

3.2. İstatistiksel Analiz

İstatiksel analiz için SPSS 16.0 for windows programı kullanıldı.

Bağımsız grup karşılaştırmalarında sayısal değişkenler için normal dağılım koşulu sağlandığı durumlarda T test, normal dağılım koşulu sağlanmadığı durumlarda Mann-Whitney U test kullanıldı.

İstatiksel anlamlılık düzeyi p değerinin 0.05'ten küçük olması durumu kabul edildi. İstatiksel anlamlı kabul edilen hastalardan HBsAg kantitatif düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki ilişkiyi belirlemek için Pearson analizinden yararlanıldı. Buna göre r: 0-24 zayıf korelasyon, 25-49 arası orta şiddette korelasyon, 50-74 arası kuvvetli korelasyon, 75-100; çok kuvvetli korelasyon olarak belirlendi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza daha önceden KHB enfeksiyonu için tedavi almamış, yaş ortalaması 42.59 ± 13.08 olan 117 erkek, 68 kadın 185 kronik hepatit B hastası dahil edildi. 35 hastanın HBeAg'si pozitif iken, 150 hastanın HBeAg'si negatif (Tablo 3).

Hasta			Cinsiyet		Total
			Kadın	Erkek	
HBeAg	(+)	Sayısı Yüzde	12 %36.7	23 %63.3	35 %18.9
	(-)	Sayısı Yüzde	56 %37.2	94 %62.8	150 %81.1
Total	Sayı Yüzde		68 %36.8	117 %63.2	185 %100

Tablo 3. Çalışmaya alınan hastaların cinsiyete ve HBeAg durumuna göre dağılımı

Çalışmaya dahil edilen hastaların ortalama demografik, histolojik, laboratuvar özellikleri tablo 4'te belirtilmiştir.

Hasta özellikleri	Total
Yaş	42.59 ± 12.57
qHBsAg (iu/ml)	2405.89 ± 1132.27
qHBeAg (iu/ml)	100.76 ± 288.52
HBV DNA (copy)	174060000 ± 344926000
AST (U/L)	58.18 ± 76.11
ALT (U/L)	85.72 ± 113.48
ALP (U/L)	69.93 ± 20.96
GGT (U/L)	32.65 ± 30.78
Total bilirubin (mg/dl)	0.85 ± 0.65
Direk bilirubin (mg/dl)	0.19 ± 0.33
Albumin (g/dl)	4.2 ± 0.37
AFP (IU/ml)	4.24 ± 10.128
Wbc ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	7.031 ± 2.05
Hb (g/dl)	14.04 ± 1.78
Plt ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	238.63 ± 71.93
PT	1.07 ± 0.13
PTT	30.82 ± 7.42
Evre	2.23 ± 0.76
HAİ	7.77 ± 2.59

Tablo 4. Hastaların ortalama demografik, histolojik, laboratuvar özellikleri

Ülkemizde KHB enfeksiyonunda yüksek oranda D genotipi ile karşılaşıldığından çalışmaya alınan hastalarda genotip tayini yapılmamıştır.

Çalışmamıza alınan hastaların %10.3' ü evre 1, %48.6'ı evre 2, %21.1'i evre 3, %14.6'ı evre 4, %5.4'ü evre 5 idi. Hastaların evre ve histolojik aktivite indeks durumuna göre dağılım oranları tablo 5 ve 6'da gösterilmiştir.

Hasta Özellikleri			HBeAg		Total
			Pozitif	Negatif	
Evre	1	Sayı Yüzde	2 (%10.5)	17 (%89.5)	19 (%10.3)
	2	Sayı Yüzde	16 (%17.8)	74 (%82.2)	90 (%48.6)
	3	Sayı Yüzde	10 (%25.6)	29 (%74.4)	39 (%21.1)
	4	Sayı Yüzde	6 (%22.2)	21 (%77.8)	27 (%14.6)
	5	Sayı Yüzde	1 (%10)	9 (%90)	10 (%5.4)
Total		Sayı	35	150	185 (%100)

Tablo 5. Evreye göre hastaların dağılım oranları

Histolojik aktivite indeksi (HAI)	Miktar (yüzde)
1-4	16 (%8)
5-9	81 (%58)
10-15	78 (%44)

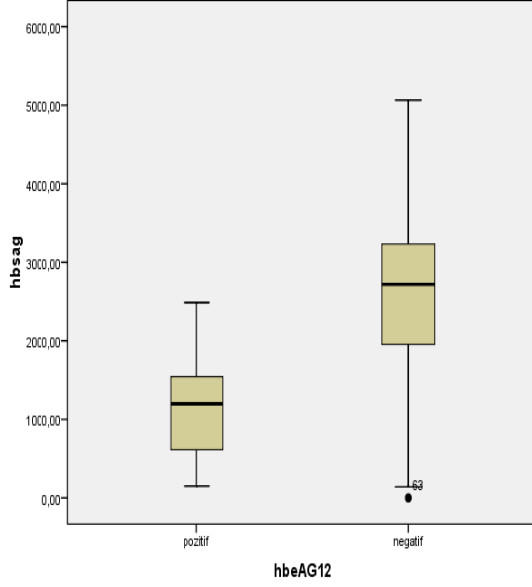
Tablo 6. Histolojik aktivite indeksine göre hastaların dağılım oranları

Çalışmamızda kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalar HBeAg durumuna göre iki gruba ayrılarak incelendi. HBeAg pozitif ve negatif KHB'li olguların demografik, histolojik ve laboratuvar özellikleri tablo 7'de gösterilmiştir. AST, ALT, AFP, PT, PTT, total bilirubin, direk bilirubin, albümin, kolesterol, trigliserid, beyaz küre, hemoglobin, trombosit sayısı, evre ve histolojik aktivite indeksi açısından her iki grup arasında anlamlı fark yoktu. Serum HBV DNA düzeyi HbeAg pozitif grupta HBeAg negatif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (p=0.000). Serum qHBsAg düzeyi ise; viral yükün tersine HBeAg negatif grupta pozitif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (p=0.000). HBeAg pozitif hastaların yaş ortalaması HBeAg negatif hastalara göre daha küçüktü (p=0.000).

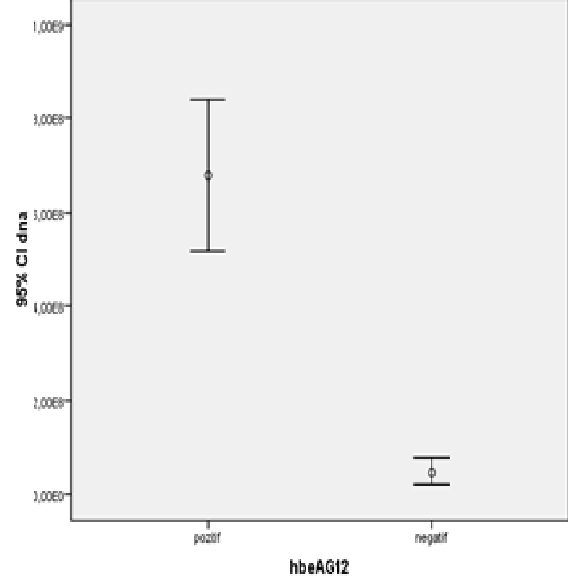
Kronik Hepatit B'li hastalar			
Hasta özellikleri	HBeAg(+) (n=35)	HBeAg(-) (n=150)	P değeri
Yaş	32.42±12.09	44.97±11.52	0.000
qHBsAg (ıu/ml)	1225.41±659.84	2681.14±1038.88	0.000
HBV DNAx10 ⁸ (copy)	6,749±4.265	0,57202±1,809	0.000
AST (U/L)	81.88±141.27	51.35±51.12	0.61
ALT (U/L)	121.86±172.92	77.63±96.04	0.56
T. bilirubin (mg/dl)	0.74±0.35	0.88±0.7	0.29
D. bilirubin (mg/dl)	0.15±0.09	0.2±0.36	0.48
Albumin	4.14±0.38	4.21±0.36	0.35
Total kolesterol (mg/dl)	156.75±34.39	171.94±34.72	0.06
Trigliserid (mg/dl)	104.48±43.17	115.69±53.54	0.29
AFP,ıU/ml	3.1±2.24	5.05±11.2	0.51
Wbc (×10 ³ /μL)	7.18±2.44	6.99±1.96	0.65
Hb (g/dl)	13.5±1.99	14.16±1.73	0.71
Plt (×10 ³ /μL)	263.96±81.3	232.55±68.48	0.12
PT	1.09±0.11	1.11±0.13	0.51
PTT	30.81±4.53	30.82±7.97	0.99
Evre	2.65±0,93	2.54±0.78	0.32
HAİ	8.6±2.59	8.56±2.58	0.36

Tablo 7. HBeAg negatif ve HBeAg pozitif KHB'li olguların demografik, histolojik ve laboratuvar özellikleri

HBeAg pozitif ve negatif hastalarda ortalama HBsAg ve HBV DNA düzeyleri şekil 12 ve 13'de gösterilmiştir.



Şekil 12. HBeAg pozitif ve negatif hastalarda ortalama HBsAg değeri



Şekil 13. HBe Ag pozitif ve negatif hastalarda ortalama HBV DNA değeri

Hastalarımızı fibrozis derecesine göre evre 3'den az (evre 1-3) ve evre 4 ve üzeri fibrozisi olanlar (evre 4-5) olarak 2 gruba ayırarak incelediğimizde ortalama HBsAg, HBeAg, HBV DNA düzeyleri açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Ağır fibrozisi olan hastalar; HBeAg durumlarına göre iki gruba ayrılarak incelendi. HBsAg, HBV DNA, AST, ALT değerleri ölçüldü. Viral yük; HBeAg pozitif grupta anlamlı ölçüde yüksek bulunurken ($p=0.002$), HBsAg seviyesi; tersine HBeAg negatif grupta anlamlı ölçüde yüksek bulundu ($p=0.001$)(tablo 8).

Evre 4-5 fibrozisi olan hastalar (n=37)			
	HBeAg (+) (n=7)	HBeAg(-) (n=30)	P
HBV DNA (copy)x10 ⁸	5.65±5.24	1.23±2.59	0.002
HBsAg (ıu/ml)	1566.69±555.991	2653.45±1084.21	0.001

Tablo 8. HBeAg pozitif ve negatif evre 4-5 fibrozisi olan hastalarda HBsAg ve HBV DNA düzeylerinin karşılaştırılması

HBeAg (+) ve (-) evre1-3 fibrozisi olan hastalar incelendiğinde; ağır fibrozisi olan hastalarda olduğu gibi viral yük; HBeAg pozitif grupta yüksek bulunurken ($p=0.000$), HBsAg seviyesi; HBeAg negatif grupta anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p=0.000$) (tablo 9).

Evre 1-3 fibrozisli hastalar (n=148)	HBeAg (+) (n=28)	HBeAg(-) (n=120)	P
HBV DNA PCR (copy)	7.02±4.050	4.05±1.522	0.000
HBsAg (ıu/ml)	1140.46±671.866	2688.08±1030.87	0.000

Tablo 9. HBeAg pozitif ve negatif hafif-orta fibrozisi olan hastalarda HBsAg ve HBV DNA düzeylerinin karşılaştırılması

Hastalar HAI indeksine göre 0-4, 5-9, 10-18' lik gruplara ayrılarak incelendi. Hastaların yaşı, HBsAg, HBeAg, HBV DNA, AST, ALT, AFP düzeylerinin ortalamaları alındı (Tablo 10). Evrede olduğu gibi histolojik aktivite indeksine göre de her iki grup arasında HBsAg, HBeAg, HBV DNA düzeyleri arasında istatistiksel fark saptanmazken; AST, ALT düzeyleri HAI'si yüksek olan grupta diğerlerine göre anlamlı yüksek bulundu (Tablo 10).

HAI	0-4	5-9	10-18	P
AST	29.62±11.36	43.77±44.76	87.05±108.2	0.000
ALT	37.81±19.49	63.94±85.05	130.32±145.42	0.000
Yaş	33.81±8.75	41.12±12.19	46.92±13.81	0.000

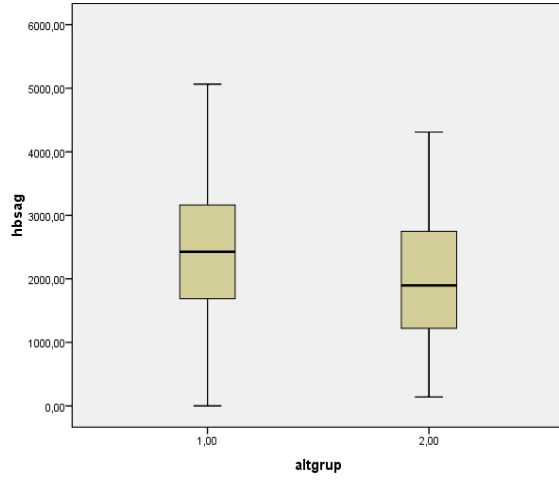
Tablo 10. Histolojik aktivite indeksine göre hastaların değerlendirilmesi

ALT seviyesinde normalin üst sınırı (NÜS) 55 U/L baz alındı. Hastalar $ALT \leq 2NÜS$ ve $ALT > 2NÜS$ olmak üzere iki gruba ayrılarak incelendi. Her iki grupta HBsAg, HBV DNA düzeyleri ölçüldü (Tablo 11). $ALT \leq 2NÜS$ olan grupta HBsAg düzeyi anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.003$). HBV DNA düzeyi $ALT > 2NÜS$ olan grupta anlamlı yüksek bulundu ($p=0.000$) (tablo 11).

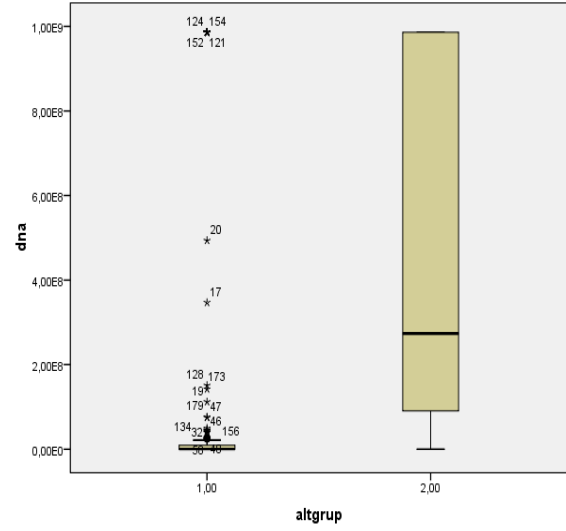
	$ALT \leq 2NÜS(n=147)$	$ALT > 2NÜS(n=38)$	<i>p</i>
HBV DNA PCRx10 ⁸	1.007±2.8182	4.5785±4.17310	0.000
HBsAg (ıu/ml)	2495.69±1134.96	2057.4±1063.21	0.003
Evre	2.47±1.04	2.89±0.95	0.02
HAI	8.13±3.11	10.18±2.41	0.000

Tablo 11. Hastaların ALT seviyesine gruplandırılarak incelenmesi

ALT gruplarına göre (grup 1: $ALT \leq 2NÜS$, grup 2: $ALT > 2NÜS$) ortalama HBsAg ve HBV DNA düzeyleri şekil 14 ve 15'te gösterilmiştir.



Şekil 14. ALT gruplarına göre ortalama HBsAg değerleri



Şekil 15. ALT gruplarına göre ortalama HBV DNA değerleri

Çalışmamızda HBeAg pozitif ve negatif hasta gruplarında serum qHBsAg düzeyi ile yaş, cinsiyet, HBV DNA, qHBeAg, AST, ALT, AFP, ALP, GGT, total bilirubin, direk bilirubin, glukoz, trigliserid, albümin, PT, PTT, HAI'nin şiddeti ve fibrozis evresi arasında korelasyon analizleri yapıldı.

HBeAg pozitif grupta HBsAg seviyesi ile HBV DNA arasında negatif yönde orta düzey korelasyon saptanırken, HBeAg negatif grupta yine negatif yönde fakat zayıf düzey korelasyon saptandı (tablo 12).

	HBeAg (+) hasta		HbeAg (-) hasta	
	HBsAg(IU/ml)	HBV DNA (copy)	HBsAg (IU/ml)	HBV DNA(copy)
HBsAg	1	-0.481	1	-0.197
HBV DNA	-0.481	1	-0.197	1
AST	-	-	-0.257	0.467
ALT	-	-	-0.236	0.48
Evre	-	-	-	0.217
HAI	-	-	-	0.229

Tablo 12. HBeAg pozitif ve negatif hastalarda HBsAg, HBV DNA ile diğer parametreler arasındaki korelasyon (Pearson'a göre düzenlenmiştir).

qHBsAg düzeyi ile evre- HAI arasında her iki grupta da korelasyon saptanmadı. qHBsAg seviyesi ile transaminaz düzeyi arasında ise; HBeAg pozitif grupta korelasyon saptanmazken, HBeAg negatif grupta negatif yönde orta düzey korelasyon saptandı.

HBV DNA ile AST, ALT arasında HBeAg pozitif grupta anlamlı ilişki saptanmazken, HBeAg negatif grupta pozitif yönde orta düzey ilişki saptandı.

HBV DNA düzeyi ile evre ve HAI arasında HBeAg pozitif grupta anlamlı ilişki saptanmazken, HBeAg negatif grupta pozitif yönde zayıf düzey ilişki saptanmıştır (Tablo 12).

Ayrıca çalışmamızda serum HBeAg seviyesi ile; HBsAg seviyesi arasında negatif yönde, kuvvetli anlamlı korelasyon ($r=0.54$, $p=0.002$), serum HbeAg seviyesi ile HBV DNA düzeyi arasında pozitif yönde, kuvvetli anlamlı korelasyon ($r=0.51$, $p=0.004$) saptanmış olup, çalışılan diğer parametrelerle arasında korelasyon saptanmamıştır.

Fibrozis derecesine göre (Evre 4-5: ağır fibrozis, Evre 1-3: hafif-orta fibrozis) olarak iki gruba ayırarak incelediğimiz çalışmada her iki grupta qHBsAg ile HBV DNA düzeyi arasında negatif yönde anlamlı korelasyon tespit edilmiştir. Hafif düzeyde fibrozisi olan grupta hastalarda HBsAg seviyesi ile transaminaz düzeyleri arasında negatif

korelasyon gösterilirken, ağır fibrozisli hastalarda pozitif korelasyon tespit edilmiştir (Tablo 13).

	Hafif –orta fibrotik hastalar			Ağır fibrotik hastalar		
	HBsAg	HBV DNA	HbeAg	HBsAg	HBV DNA	HBeAg
HBsAg	1	-0.523	-0.483	1	-0.398	-
HBV DNA	-0.523	1	0.727	-0.398	-	0.477
HbeAg	-0.484	0.726	1	-	0.477	1
AST	-0.213	0.178	-	-	0.524	0.887
ALT	-0.223	0.231	-	-	0.572	0.806

Tablo 13. Hafif-orta ve ağır derecede fibrozisi olan hastalarda HBsAg, HBV DNA, HBeAg arasındaki korelasyon (Pearson'a göre düzenlenmiştir.)

5. TARTIŞMA

Dünyada yaklaşık 2 milyar kişinin karşılaşmış olduğu Hepatit B virüsünü, şu an yaklaşık 400 milyon kişinin taşıdığı, yılda da 1 milyon kişinin Hepatit B enfeksiyonu veya Hepatit B ilişkili son dönem karaciğer hastalığı nedeniyle hayatını kaybettiği tahmin edilmektedir. Tüm dünyada önemli morbidite ve mortalite nedeni olarak karşımıza çıkan kronik Hepatit B enfeksiyonu ülkemizde de önemli bir sağlık sorunudur.

Kronik HBV enfeksiyonunun rutin tanısında HBV serolojik belirteçleri ve transaminaz düzeyi kullanılırken (Fung 2004), viral replikasyonu ve tedaviye yanıtı değerlendirmede HBV DNA düzeyi kullanılmaktadır. Fakat HBV DNA düzeyinin belirlenmesi için deneyimli personel gerekmesi ve yüksek maliyetli oluşu nedeniyle her merkezde çalışılmamaktadır (Jafri 2010). Günümüzde HBsAg seviyesi kantitatif metodlarla her merkezde kolaylıkla ölçülebildiğinden, serum HBsAg düzeyinin HBV DNA düzeyi yerine kullanılıp kullanılmayacağına ilişkin çalışmalara ağırlık verilmiş olup, qHBsAg düzeyi ile HBV DNA düzeyi arasındaki ilişki araştırılmaktadır. Ayrıca serum qHBsAg düzeyinin tedaviye yanıtı değerlendirmede kullanılıp kullanılmayacağını araştıran çalışmalar bildirilmeye başlamıştır.

Yapılan bu çalışmalar doğrultusunda biz de KHB enfeksiyonu olan hastaların serum HBsAg kantitatif düzeyi ile HBV DNA düzeyi başta olmak üzere diğer parametrelerle ilişkisini HBeAg pozitif ve negatif hastalarda araştırdık.

HBeAg negatifliği (Anti-HBe (+)'liği) kronik hepatit B enfeksiyonunun daha ileri safhalarında gelişeceği için HBeAg pozitif hastalar negatif hastalara göre daha küçük yaşta olmaktadır. Bizim çalışmamızda da HBeAg pozitif hastalar HBeAg negatif hastalara göre daha küçük yaş ortalamasına sahiptiler ($p=0.000$).

KHB enfeksiyonu doğal gidişatına göre dört fazda incelenir: İmmun tolerans (İT), immün kilirens (İK), düşük replikatif faz (LR), HBeAg (-) KHB (ENH). İmmun tolerans faz; HBeAg (+) anneden perinatal geçişle oluşmakta ve hayatın ilk iki, üç dekadında yüksek viral yük, normal ALT ve minimal histolojik değişiklikle karakterize olup, sonrasında immün klirens fazına geçilmektedir. Bu dönem yüksek viral yük, artmış ALT, orta veya ileri histolojik değişiklikle karakterizedir. Bu dönemin sonrasında %95 oranında HBeAg

serokonversiyonu gelişerek düşük replikatif faza (HBV DNA<2000 iu/ml olup, sürekli normal ALT) geçilir. HBeAg (-) KHB enfeksiyonunda ise; HBV DNA>2000 iu/ml olup, transaminaz seviyesi dalgalı seyir göstermektedir.

220 genotip B/C KHB hastasının fazlara göre (32 İT , 55 İC, 50 LR, 83 ENH) incelendiği çalışmada qHbsAg düzeyi; HBeAg pozitif grupta HBeAg negatif gruba göre anlamlı ölçüde yüksek bulunurken, (p=0.001). qHBsAg seviyesi en yüksek İT, en düşük de LR fazda saptanmıştır (Nguyen 2009). Asya'da fazlara göre yapılan bir diğer çalışmada ortalama HBsAg titresi İT fazda 4.53, İC fazda 4.03, LR fazda 2.86, ENH 'de ise 3.35 log iu/ml saptanmış olup, Avrupa'da yapılan çalışma ile benzer sonuçlar elde edilmiştir (Mühlbacher 2008).

Bizim çalışmamızda ise; qHBsAg seviyesi HBeAg pozitif hasta grubunda negatif gruba göre anlamlı ölçüde düşük bulunurken (p=0.000), HBV DNA düzeyi HBeAg pozitif hasta grubunda anlamlı ölçüde yüksek (p=0.000) bulundu.

HBV DNA; viral replikasyon göstergesi olması nedeniyle HBeAg pozitif hasta grubunda daha yüksek seviyede olması beklenir. Bizim çalışmamızda da yapılan diğer çalışmalarla benzer şekilde HBV DNA seviyesi HBeAg pozitif hasta grubunda negatif gruba göre anlamlı ölçüde yüksek bulundu (p=0,000).

HBsAg; konak genomuna entegre olmuş HBV DNA molekülünden konak enzimleri kullanılarak ya da transkripsiyonel aktif cccDNA molekülünün translasyonu sonucu üretilmektedir. Dolayısıyla teorik olarak qHBsAg düzeyinin intrahepatik HBV DNA, cccDNA miktarını ve cccDNA'nın transkripsiyonel aktivitesini yansıttığı düşüncesine varılmıştır. cccDNA; infekte hepatosit sayısını tam olarak yansıtmasına rağmen, cccDNA'nın dokuda değerlendirilmesi için kompleks tetkikler ve invaziv girişim gerektiğinden kullanımı kısıtlıdır. HBV DNA ise; viral replikasyonu gösteren bir parametre olup, pahalı bir tetkik olması sebebiyle her merkezde çalışılmamaktadır. Bu nedenle qHBsAg düzeyinin HBV DNA ve cccDNA yerine kullanılıp kullanılmayacağına ilişkin çalışmaların sayısı artmıştır. Chan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada qHBsAg düzeyi ile HBV DNA ve cccDNA arasındaki ilişkinin hastalığın fazlarına göre değişiklik gösterdiği bildirilmektedir. Bu çalışmada HBeAg pozitif hasta grubunda HBsAg titresi ile HBV DNA ve cccDNA arasında pozitif korelasyon saptanırken, HBeAg negatif grupta korelasyon görülmediği bildirilmiştir (Chan 2007). Jang (2011) ve ark.'nın yaptığı çalışmada bunu

destekler niteliktedir. Nyguen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise; HBsAg ile HBV DNA arasında sadece immun klirens fazda pozitif korelasyon saptanırken ($r=0.77$, $p=0.0001$), diğer fazlarda korelasyon saptanmamıştır. Seth ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmekle birlikte HBsAg ile HBV DNA arasında akut hepatit B enfeksiyonu boyunca pozitif yönde kuvvetli korelasyon ($r=0.79$, $p<0.01$) olduğuna dikkat çekilmiştir. Ayrıca bu çalışmada HBV genotipinin de HBsAg ile HBV DNA arasındaki korelasyonu etkilediği bildirilmiş olup, D genotipinde korelasyon saptanırken, A genotipinde korelasyon saptanmamıştır (Seth 2012). Jaroszewich ve ark. da Seth ve ark. gibi akut hepatit B enfeksiyonu boyunca HBsAg ile HBV DNA arasında pozitif korelasyon tespit ederken, KHB'yi fazlara göre ayırarak inceledikleri çalışmalarında HBV DNA ile qHBsAg düzeyi arasında korelasyon tespit etmemişlerdir (Jaroszewicz 2010).

HBsAg seviyesinin HBV DNA seviyesine oranına bakılarak yapılan çalışmalarda bu oranın düşük replikatif fazda en yüksek olduğuna dikkat çekilmiştir. Chan ve ark.'nın yaptığı çalışmada bu oranın HBsAg subviral partiküllerinin virionlara oranını yansıttığı bildirilmiş olup, tüm HBeAg pozitif hastalarda 0.5-0.6 arasında seyrettiği benzerlik bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada HBsAg seviyesinin çok yüksek seyrettiği durumlarda (100.000 iu/ml) immun tolerans fazı desteklediği bildirilmiş olup, qHBsAg düzeyinin immun tolerans ve klirens fazın ayrılamadığı durumlarda kullanımının faydalı olabileceği düşüncesine varılmıştır.

Yapılan çalışmaların çoğunda HBsAg düzeyinin HBeAg pozitif hasta grubunda negatif gruba kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Manesis 2007, Jaroszewicz 2010). HBeAg negatif hastalarda düşük HBV DNA ve cccDNA'ya sekonder HBsAg'nin düşük seyretmesi şaşırtıcı değildir (Wong 2004, Wursthom 2006).

Fakat bazı çalışmalarda bu durumun tersi sonuçlar bildirilmiştir. Özdil ve arkadaşlarının 92 KHB (32 sirotik, 60 nonsirotik) hastası ile yaptıkları çalışmada viral yük HBeAg pozitif hasta grubunda yüksek bulunurken ($p<0.0001$), HBsAg seviyesi HBeAg negatif grupta daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$) (Özdil 2009). Bizim çalışmamızda da Özdil ve ark. ile benzer şekilde HBV DNA seviyesi HBeAg pozitif grupta yüksek bulunurken, HBsAg seviyesi HBeAg negatif hasta grubunda yüksek bulunmuştur ($p=0.000$). Çalışmamızda HBeAg pozitif grupta ortalama HBsAg titresini 1141.41 ± 659.84 iken, HBeAg negatif grupta 2664.14 ± 1019.88 bulundu. Bu sonuçlar diğer çalışmalardan farklı olarak HBsAg'nin replikasyon için gerekli olmayabileceğini destekler niteliktedir. HBsAg viral zarf

proteinidir. Yapısal bir protein olması nedeniyle viral yük artışına HBsAg artışının eşlik etmesi beklenir. Çoğu çalışma bunu desteklemektedir. Özdil ve ark. nın yaptığı çalışmada nonsirotik hasta grubunda HBsAg ile HBV DNA arasındaki negatif korelasyona dikkat çekilmiştir ($p<0.01$). Bazı vakalarda HBsAg (-) iken, HBV DNA'nın pozitif olması durumunda HBsAg sentezleyen gende mutasyon olduğu düşünülür ki, HBsAg düşük iken HBV DNA seviyesinin yüksek olması durumunun da benzer mutasyonlarla (özellikle de HBsAg' e karşı gelişen antikorların bağlantı bölgesi olan 'a determinantında gelişen mutasyonlarla) açıklanabileceği düşünülmektedir. Yine bu çalışmada hastalarda siroz geliştiğinde viral yükün nonsirotik gruba göre daha düşük seyrettiği bildirilmiş olup, aynı zamanda bu sirotik grupta viral yükteki düşüşe istatistiki olarak anlamlı olmasa da HBsAg titresinde artışın eşlik ettiği bildirilmiştir. Yüksek HBsAg seviyesi varlığında immun cevabın güçlü bir şekilde aktive olduğu ve bu durumun da karaciğerdeki hasarı daha da şiddetlendirdiği görüşüne varılmıştır.

Bizim çalışmamızda ise; HBeAg pozitif hasta grubunda HBsAg ile HBV DNA seviyesi arasında negatif yönde güçlü korelasyon tespit edilirken ($r=0.53$, $p=0.003$), HBeAg negatif hasta grubunda iki parametre arasında anlamlı korelasyon tespit edilmemiştir. Hastalarımızı fibrozis derecesine göre iki gruba (Evre 1-3: Hafif-orta derecede fibrozis, Evre 4-5: Ağır derecede fibrozis) ayırarak incelediğimizde ise; ortalama HBsAg, HBeAg ve HBV DNA seviyesi bakımından her iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmezken, HBsAg ile HBV DNA arasında her iki grupta da negatif korelasyon saptanmıştır.

HBeAg pozitif KHB enfeksiyonunda yüksek ALT seviyesi immuntolerans fazı immunklirens fazından ayırmada kullanılmaktadır. Günümüzde yapılan çalışmalarda ALT seviyesinin tek başına karaciğerdeki hasarı değerlendirmede kullanılmasının çok da doğru sonuçlar vermediği, bu amaçla önemsiz fibrozisi belirlemede HBeAg pozitif hastalarda HBsAg kantitatif düzeyinin kullanılabilmesi bildirilmektedir. Dolayısıyla karaciğer biyopsisine ihtiyacın azalacağı yönünde bildirimler vardır. Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda HBsAg seviyesi ile fibrozis derecesi arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. İmmuntolerans fazda normal/ yüksek normal ALT seviyesi, minimal fibrozis ile karşılaştırılırken, hepatositlerin immuno histokimyasal boyanmasında yüksek oranda HBsAg ile karşılaştırılırken, immunklirens fazda immun cevap başlayıp ALT seviyesi, fibrozis derecesi artarken viral baskılanma sayesinde HBsAg seviyesi düşmektedir (Mani 2009). Bu fazda HBsAg seviyesindeki düşüşün preS/S mutantlarının oluşumuyla da ilgili

olabileceği bildirilmektedir (Pollicino 2012). Yapılan bazı çalışmalarda ise; yüksek HBsAg seviyesinin her zaman iyi sonuçlar doğurmadığı ve hatta yüksek HBsAg seviyesinin HCC gelişim riskini artırdığı yönünde bildirimler mevcuttur (Tseng 2012). Kay- Seto ve arkadaşları 140 HbeAg pozitif KHB hastasını ALT düzeyine göre normal, normalin 1-2 kat üstü, normalin 2 kat üstü olarak (ALT normal değer kadın ve erkeklerde sırasıyla 30 ve 19 U/l kabul edilmiş) üç gruba ayırarak inceledikleri çalışmada ortalama HBsAg seviyesini sırasıyla 105.02 IU/ml, 40.49 IU/ml, 9.3 IU/ml bulmuşlardır. Bu çalışmada HBsAg kantitatif düzeyi ile HBV DNA arasında pozitif yönde ılımlı korelasyon ($p<0.001$, $r=-0.450$), HBsAg kantitatif düzeyi ile ALT arasında ise; negatif yönde ılımlı korelasyon ($p<0.001$, $r=-0.449$) saptanmıştır. HBsAg seviyesi ile fibrozis derecesi ve HAI arasında negatif yönde ılımlı korelasyon tespit edilmiştir.

Kronik hepatit B enfeksiyonunda tedavi kararı verirken HBV DNA ve ALT düzeyi dikkate alınmaktadır. ALT düzeyinde eşik değer olarak normalin iki kat altı ve iki kat üstü kullanılmaktadır. Biz de bu bilgiler doğrultusunda hastalarımızı $ALT \leq 2NÜS$ ve $ALT > 2NÜS$ olarak iki gruba ayırarak inceledik. (ALT üst sınır 55 kabul edilmiştir.) $ALT \leq 2NÜS$ olan grupta HBsAg seviyesi diğer gruba göre anlamlı ölçüde yüksek bulunurken ($p=0.003$), HBV DNA seviyesi $ALT > 2NÜS$ olan grupta diğer gruba göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Fibrozis ve nekroinflamasyon derecesi ise; $ALT > 2NÜS$ olan grupta istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.02$, $p=0.000$).

KHB tedavisinde asıl amaç; HBsAg serokonversiyonudur. Fakat spontan HBsAg serokonversiyonu nadir olup, Peg-IFN tedavisi ile HBsAg seroklirens oranı Avrupalı hastalarda %2.25, Asyalı hastalarda %0.43 olarak bildirilmektedir. Antiviral ilaçlar viral yükü erken dönemde baskılamasına rağmen, hepatosit içindeki hepatit B virüsünü tam olarak eradike edememektedir. İnaktif HBsAg taşıyıcılarının serumlarında bile HBsAg uzun yıllar pozitif kalabilmektedir. Son zamanlarda HBsAg kantitatif düzeyinin Peg-IFN veya nükleozid/nükleotid analoglarına yanıtı değerlendirmede kullanılıp kullanılmayacağına ilişkin çalışmaların sayısı artmıştır. Peg-IFN tedavisine yanıtı değerlendirmede HBsAg kantitatif düzeyinin kullanımına yönelik çalışmalar HBeAg pozitif grupta ilk defa 1994 yılında, HbeAg negatif grupta ise 2007 yılında yapılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda Peg-IFN tedavisinde kalıcı virolojik yanıtı (HBeAg serokonversiyonu, HBV DNA ≤ 2000 IU/ml) tahmin etmede HBsAg seviyesinin HBV DNA'dan daha güvenilir olduğu sonucuna varılmış olup, HBsAg seviyesindeki düşüşün Peg-IFN tedavisine yanıt veren

olgularda yanıtızsızlara göre daha fazla olduğuna dikkat çekilmiştir (Kay-seto 2012). Ayrıca bazal HBsAg seviyesi düşük olan hastalarda kalıcı virolojik yanıt oranının daha yüksek olduğu kanısına varılmıştır (Brunetto 2009).

HBeAg negatif hastalarda ise; peg-IFN tedavisine yanıt oranı düşük olduğundan, kalıcı virolojik yanıtı önceden tahmin etmek daha büyük önem arz etmekle birlikte bu konuda yapılan çalışmalar sınırlıdır. Yapılan çalışmalar doğrultusunda genotip D HbeAg (-) hastalarda 12. Haftada HBsAg'de düşüş yok ve HBV DNA seviyesinde <2 log azalma varsa tedavinin kesilmesi önerilmektedir (Yuen 2011).

HBeAg pozitif hastalarda HBsAg seviyesindeki düşüşün Peg-IFN tedavisi alan grupta nükleozid/nükleotid analogu alan gruba göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. (Reijnders 2011).

HBeAg negatif hastalarda nükleozid/ nükleotid analogları ile tedavide HBsAg seviyesinde düşüşü görmek için uzun süreli tedaviler gerekmektedir (Brunetto 2009).

Lee ve arkadaşlarının 101 naive KHB hastasına entekavir tedavisi vererek yaptıkları çalışmada HBeAg pozitif hastalarda 3. ay HBsAg seviyesinin <3000 IU/ml ($p=0.026$) ise; 12. ayda HBV DNA negatifleşmesi ve HBeAg serokonversiyonu tahmin etmede bağımsız tahmin edici faktör olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir (Lee 2010).

HBeAg pozitif hasta grubunda bazal HBsAg titresinin düşük olması HBeAg serokonversiyonu ile uyumlu bulunmuş. HBeAg negatif grupta ise; tedavi sırasında HBsAg titresi sürekli arttığından HBsAg kantitatif düzeyinin tedavi takibinde kullanılmayacağı sonucuna varılmıştır (Lee 2009, Lee 2010).

Sonuç olarak; HBsAg kantitatif düzeyi ile HBV DNA ve karaciğer histopatolojisi arasındaki ilişkiyi araştıran pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların büyük kısmında qHBsAg düzeyi ile HBV DNA arasında HBeAg pozitif hasta grubunda pozitif korelasyon saptanırken, HBeAg negatif grupta korelasyon gösterilmemiştir.

Bizim çalışmamızda ise; HBeAg (+) ve (-) her iki hasta grubunda qHBsAg düzeyi ile HBV DNA arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Çalışmamız sonuçlarına göre qHBsAg düzeyi ile HBV DNA düzeyini öngörmek mümkün değildir.

qHbsAg düzeyinin tedavi takibinde kullanılıp kullanılmayacağını araştıran çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Peg-IFN tedavisinin takibinde faydalı olabileceği kanısına varılırken, nükleozid analogları ile yapılan çalışmalar yüz güldürücü nitelikte değildir. qHBsAg düzeyi ile viral yük arasındaki ilişki ve qHBsAg düzeyinin tedavi takibinde kullanılıp kullanılmayacağı konusu net olmayıp daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Asia-Pacific Steering Committee Members. Chronic Hepatitis B: treatment alert. *Liver International*. 2006;26:47-58
2. Akarca S, Kronik B hepatitinde interferon dışı tedaviler ve interferon ile yapılan kombinasyonlar. *Viral Hepatit* 2009;156-164
3. Aye TT, Uchida T, Becker SO, et al. Variations of hepatitis B virus precore/core genes sequence in acute and fulminant hepatitis B. *Dig Dis Sci* 1994;39: 1281- 7.
4. Beck J, Nassal M. Hepatitis B virus replication. *World J Gastroenterol* 2007; 13(1): 48-64
5. Bowden S. Serological and molecular diagnosis. *Semin Liver Dis* 2006; 26(2): 97-103.
6. Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F et al. Hepatitis B surface antigen levels: a guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg negative chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2009; 29:1141-50.
7. Bruss V. Hepatitis B virus morphogenesis. *World J Gastroenterol* 2007; 13(1): 65-73.
8. Chan HLY, Wong VWS. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2007;5:1462-8.
9. Ching-Lung Lai, Edward G et al. Telbivudin versus lamivudin in patients with chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2007; 357—60
10. Chu CM, Liaw YF. Incidence and risk factors of progression to cirrhosis in inactive carriers of hepatitis B virus. *J Gastroenterol.* 2009;104:1693-9.
11. Deguchi M, Yamashita N, Kagita M, Asari S, Iwatani Y, Tsuchida T, et al. Quantitation of hepatitis B surface antigen by an automated chemiluminescent microparticle immunoassay. *J Virol Methods*. 2004;115:217-22.
12. Dore GJ, Cooper DA et al. Efficacy of tenofovir disoproxil fumarate in antiretroviral therapy- naive and experienced patients coinfectd with HIV1 and Hepatitis B virus. *J. Infect Dis* 2004;189
13. Emekdaş G, Çavuşlu Ş, Öncül O, Artuk Ç, Aksoy A. Trends in hepatitis B and hepatitis C virus among blood donors over 16 years in Turkey. *Eur J Epidemiol* 2006; 21: 299-305.
14. Fung SK, Lok AS. Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? *Hepatology* 2004; 40(4): 790-2.
15. Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in Chronic liver diseases. *J Hepatol.* 2007; 598-607.
16. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, et al. Long term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2005;352:2673-81
17. Hatzakis A, Magiorkinis E, Haida C. HBV virological assessment. *J Hepat* 2006; 44: 71-6.
18. Heathcote J, Gane E et al. A randomized, double-blind, comparison of tenofovir versus adefovir for the treatment of HBeAg positive chronic hepatitis ; *AASLD* 2007:34-7

19. Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, Fleischer R, Lok AS. Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop. *Hepatology*. 2007;45:1056-75.
20. Hsu HY, Chang MH, Ni YH, Chen HL. Survey of hepatitis B surface variant infection in children 15 years after a nationwide vaccination programme in Taiwan. *Gut*. 2004;53:1499-503.
21. Iloeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology*. 2006;130:678-86.
22. Ishikawa T, Ganem D. The pre-S domain of the large viral envelope protein determines host range in avian hepatitis B viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92:6259-63
23. Jaroszewicz J, Serrano BC, Wursthorn K. HBsAg levels in the natural history of hepatitis B virus infection: a European perspective. *J Gastroenterol Hepatol* 2010;52: 514-22
24. Jang JW, Yoo SH et al. Serum hepatitis B surface antigen levels in the natural history of chronic hepatitis B infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34:1337-46.
25. Jazayeri SM, Alavian SM, Carman WF. Hepatitis B virus: origin and evolution. *J Viral Hepat* 2010; 17: 229-35.
26. Jafri SM, Lok AS. Antiviral therapy for chronic hepatitis B. *Clin Liver Dis* 2010; 14(3): 425-38.
27. Kato H, Orito E, Gish RG, Sugauchi F, Suzuki S, Ueda R, et al. Characteristics of hepatitis B virus isolates of genotype G and their phylogenetic differences from the other six genotypes (A through F). *J Virol*. 2002;76: 6131-7
28. Kay- seto W, Ka-Ho Wong D et al. High hepatitis B surface antigen levels predict insignificant fibrosis in hepatitis Be antigen positive chronic hepatitis B. *Plos One*. 2012;126-30
29. Keeffe EB, Dieterich DT, Han SH, Jacobson IM, Martin P, Schiff ER, et al. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: an Update. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4(8): 936-62
30. Kimbi GC, Kramvis A, Kew MC. Integration of hepatitis B virus DNA into chromosomal DNA during acute hepatitis B. *World J Gastroenterol*. 2005;11:6416–21.
31. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wolmann J. Formulation and application of a numerical Scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *J Hepatol*. 2003;38:382-6.
32. Knoll A, Pietrzyk M, Loss M, Goetz WA, Jilg W. Solid organ transplantation in HBsAg-negative patients with antibodies to HBV core antigen: low risk of HBV reactivation. *Transplantation* 2005; 79(11): 1631-3.
33. Kramvis A, Kew M, François G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 2005; 23: 2409-23.
34. Krajden M, McNabb G, Petric M. The laboratory diagnosis of hepatitis B virus. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2005; 16(2): 65-72.
35. Kuo A, Chung RT. Tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of lamivudine resistant hepatitis B. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;266
36. Lai CL, Shouval D, Lok AS et al. Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006;354

37. Lai CL, Gane E et al. Two-year results from the GLOBE trial in patients with hepatitis B: greater clinical and antiviral efficacy for telbivudine and lamivudine. *Hepatology* 2006; 44:222-9
38. Leblebicioglu H, Eroglu C. Acute hepatitis B virus infection in Turkey: Epidemiology and genotype distribution. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10:537-41
39. Lee JH, Kim SJ, Ahn SH et al. Correlation between quantitative serum HBsAg and HBV DNA test in Korean patients who showed high level of HBsAg. *J Clin Pathol.* 2010; 63:1027-1031
40. Lee MH, Lee DM, Kim SS et al. Correlation of serum Hepatitis B surface antigen level with response to entecavir in naive patients with chronic hepatitis B. *J Med Virol.* 83:1178-1186
41. Leistner CM, Gruen-Bernhard S, Glebe D. Role of glycosaminoglycans for binding and infection of hepatitis B virus. *Cell Microbiol* 2008; 10(1): 122-33.
42. Liang TJ, Hasegawa K, Remon N, Wands JR, Ben-Porath E. A hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. *N Engl J Med* 1991;324:1705-9.
43. Liu Y, Zhong Y, Zou Z, Xu Z, Li B, Ren X, et al. Features and clinical implications of hepatitis B virus genotypes and mutations in basal core promoter/precore region in 507 Chinese patients with acute and chronic hepatitis B. *J Clin Virol* 2010; 243-7.
44. Locarnini S. Molecular virology of hepatitis B virus. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 3-10
45. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology.* 2007;45:507-39.
46. Lok AS, Heathcote EJ, Hoofnagle JH. Management of hepatitis B: 2000-summary of a workshop. *Gastroenterology.* 2001;120:1828-53.
47. Lüsebrink J, Schildgen V, Schildgen O et al. HBV – Virology. *Hepatology* 2009; 55-74
48. Manesis EK, Hadziyannis ES, Angelopoulou OP, Hadziyannis SJ. Prediction of treatment-related HBsAg loss in HBeAg-negative chronic hepatitis B: a clue from serum HBsAg levels. *Antivir Ther* 2007;12:73–82
49. Mani H, Kleiner DE. Liver biopsy findings in chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009;49:61-71
50. Martinot-Peignoux M, Boyer N, Colombat M, Akremi R, Pham BN, Ollivier S, et al. Serum hepatitis B virus DNA levels and liver histology in inactive HBsAg carriers. *J Hepatol.* 2002;36:543-46.
51. Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H. Acute and chronic hepatitis B - Diagnostic tests. In *Hepatology* 2009; 113-8
52. Mühlbacher A, Weber B, Bürgisser P, Eiras A, Cabrera J, Louisirirochanakul S, et al. Multicenter study of a new fully automated HBsAg screening assay with enhanced sensitivity for the detection of HBV mutants. *Med Microbiol Immunol.* 2008;197:55-64.
53. Nguyen T, Desmond P, Locarnini S. The role of quantitative hepatitis B serology in the natural history and management of chronic hepatitis B. *Hepatol Int.* 2009;3:5-15
54. Ozaras R, Tabak F, Tahan V, Ozturk R, Akin H, Mert A, Senturk H. Correlation of quantitative assay of HBsAg and HBV DNA levels during chronic HBV treatment *Dig Dis Sci.* 2008;53:2995-8.
55. Özdemir D, Kurt H. Hepatit B Virusu Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. *Viral Hepatit 2007, Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını, İstanbul.* 2007; 108-117.

56. Ozdil B, Cosar AM, Akkız H. Negative correlation between viral load and HBsAg levels in chronic HBV-infected patients. *Arch virol* 2009;154: 1451-5.
57. Papatheodoridis GV, Hadziyannis E, Tsochatzis E, Chrysanthos N, Georgiou A, Kafiri G, et al. Serum apoptotic caspase activity as a marker of severity in HBeAg negative chronic hepatitis B virus infection. *Gut*. 2008;57:500-06.
58. Persing DH, Varmus HE, Ganem D. Inhibition of secretion of hepatitis B surface antigen by a related presurface polypeptide. *Science*. 1986;234:1388-94
59. Pollicino T, Ammaddeo G et al. Impact of hepatitis B virus preS/S genomic variability on HBV surface antigen and HBV DNA serum levels. *Hepatology*. 2012;58:45-67
60. Reijnders JGP, Rijckborst V et al. Kinetics of hepatitis B surface antigen differ between treatment with peginterferon and entecavir. *Journal of hepatology* .2011; 54: 449-454
61. Risting MB, Crippin J et al. Tenofovir disoproxil fumarate therapy for chronic hepatitis B in HIV-HBV coinfecting individuals for whom interferon- α and lamivudine therapy have failed. *J Infect Dis* 2002; 186-90
62. Rousselet MC, Michalak S, Dupre F, Croue A, Bedossa P, Saint-Andre JP. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. *Hepatology*. 2005;41:257-64.
63. Seth AK. HBsAg quantification in clinical practice. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2012;1(2):75-80.
64. Schaefer S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 14-21.
65. Sharma SK, Saini N, Chwla Y. Hepatitis B virus: inactive carriers. *Virol J*. 2005;2:82.
66. Sohn JA, Litwin S, Seeger C. Mechanism for cccDNA synthesis in hepadnaviruses. *Plos One* 2008; 4(11): 1-6
67. Sterneck M, Kalinina T, Gunther S, et al. Functional analysis of HBV genomes from patients with fulminant hepatitis. *Hepatology*. 1998;28: 1390-7
68. Tabak F, Balık İ. Kronik B hepatiti tedavisinde nükleozid analogları, *Viral Hepatit* 2009; 192-206
69. Taşyaran MA. HBV Enfeksiyonu Epidemiyolojisi. *Viral Hepatit* 2003; 121-128
70. Taylor JM, Han Z. Purinergic receptor functionality is necessary for infection of human hepatocytes by hepatitis delta virus and hepatitis B virus. *PLoS One* 2010; 5: 157-84
71. Thomas HC, Lemon S, Zuckerman et al. *AJ. Viral Hepatitis. Structure and molecular virology*. 2005;149-180
72. Tseng TC, Lin CL et al. High levels of hepatitis B surface antigen increase risk of hepatocellular carcinoma in patients with low HBV load. *Gastroenterology*. 2012;142:1140-49
73. Ustaçelebi Ş, Ergünay K. Hepatit B Virusunun (HBV) Moleküler Virolojisi. *Viral Hepatit* 2007; 96-107
74. Venkateshan VS, Lieberman K, Kim DU, et al. Hepatitis B-associated glomerulonephritis: pathology, pathogenesis, and clinical course. *Medicine* 1990;69: 200- 16
75. Weinbaum CM, Williams I, Mast EE, Wang SA, Finelli L, Wasley A, et al; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. *MMWR Recomm Rep* 2008; 57: 1-20

76. Wong DK, Yuen MF et al. Quantitation of covalently closed circular hepatitis B virus DNA in chronic hepatitis B patients. *Hepatology* 2004; 40: 915-24
77. Wursthorn K, Dandri M et al. Peg- IFN alpha- 2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006; 44:675-84
78. Yuen Chan HL, Thompson A et al. Hepatitis B surface antigen quantification: Why and how to use it in 2011-A core group report. *Journal of Hepatol.* 2011;48:56-65
79. Zarski JP, Ganem D, Wright TL. Hepatitis B virus, *Clinical Virology*. 2002;623-57
80. Zhang X, Lin SM, Chen TY, Liu M, Ye F, Chen YR, et al. Glycoprotein receptor interacts with the preS1 domain of hepatitis B virus in vivo and in vitro. *Arch Virol* 2011;510-15
81. Zuckerman JN, Zuckerman AJ. Mutations of the surface protein of hepatitis B virus. *Antiviral Res.* 2003;60:75-78
82. Serin MS, Akkiz H, Abaylı B, Emekdas G. Genotyping of hepatitis B virus isolated from chronic hepatitis B patients in the South of Turkey by DNA cycle-sequencing method. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005;53(1):57-60.
83. Emekdaş G, Tezcan S, Aslan G, Serin MS, Sezgin O, Ucbilek E. Determination of hepatitis B virus genotypes in chronic hepatitis B patients in Mersin province, Turkey. *Mikrobiyol Bul.* 2012 Jul; 46 (3):432-445.

