

**T.C**  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA VİRAL DİNAMİĞİN VE T HÜCRE**  
**ALT GRUPLARINDAKİ DEĞİŞİMİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Onur ÖZDEMİR**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Yrd. Doç. Dr. Sevil UYGUN İLİKHAN**

**ZONGULDAK**

**2015**

**T.C**  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA VİRAL DİNAMİĞİN VE T HÜCRE**  
**ALT GRUPLARINDAKİ DEĞİŞİMİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Onur ÖZDEMİR**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Yrd. Doç. Dr. Sevil UYGUN İLİKHAN**

**ZONGULDAK**

**2015**

## TEZ ONAY TUTANAĞI

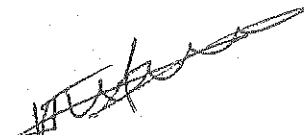
Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı :Kronik Hepatit B Hastalarında Viral Dinamiğin ve T.Hücre Alt Gruplarındaki Değişimin Araştırılması

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Onur ÖZDEMİR

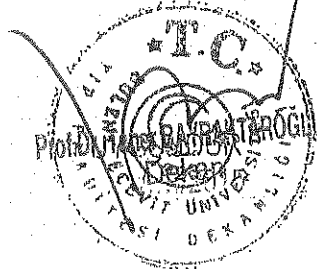
Tez Savunma Tarihi : 22/04/2015

Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr. Sevil UYGUN İLİKHAN

  
Prof.Dr. Hüseyin ENGİN  
Jüri Başkanı

  
Yrd.Doç.Dr. Sevil UYGUN İLİKHAN

  
Yrd. Doç.Dr. Ahmet Tarık EMİNLER



## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresi boyunca değerli bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyip ufkumu açan en başta değerli Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hüseyin ENGİN olmak üzere eğitim hayatıma katkıda bulunan İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine; çalışma sürecinde ve tezimin her aşamasında bana destek olan, yol gösteren ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Sevil UYGUN İLİKHAN'a ve Prof. Dr. Yücel ÜSTÜNDAĞ'a, hayatımın en önemli dönemlerinden birini paylaştığım sevgili asistan arkadaşlarıma, sabır ve emekleriyle bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili aileme ve eşime, sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

**Dr. Onur ÖZDEMİR**  
**ZONGULDAK 2015**

## ÖZET

**Özdemir Onur, Kronik Hepatit B Hastalarında Viral Dinamiğin Ve T Hücre Alt Gruplarındaki Değişimin Araştırılması, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Zonguldak 2015.**

Biz çalışmamızda antiviral tedavi altında kronik viral hepatit B hastalarındaki tedavinin ilk 6 ayındaki periferik kan T lenfosit dinamiğini ve viral kinetik ile ilişkisini göstermeyi amaçladık. Daha önce tedavi almamış toplam 31 naif hasta çalışmaya dâhil edildi. En az 6 ay süre ile 16 hastaya 300 mg/gün telbivudin, 15 hastaya 100 mg/gün lamivudin tedavisi verildi. Klinik, biyokimyasal, immünolojik ve viral parametrelerin bazal değerleri ve 1., 6. ay sonrasında belirlendi. Grupların başlangıç karakteristik özellikleri benzerdi. Serum HBV DNA yükü PCR ile ve periferik T hücre subgrupları düzeyleri, lenfosit, monosit, granülosit, CD19<sup>+</sup> B Lenfosit, NK (doğal öldürücü) hücre, NKT (doğal öldürücü T) hücre, CD3<sup>+</sup> T lenfosit, CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> aktive CD8<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositleri, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositleri ve CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> oranı flow sitometri ile ölçüldü. Tedavi periyodu boyunca HBV DNA seviyesindeki azalma ve periferik kan lenfosit dinamikleri için çok basamaklı analiz yapıldı. Grupların başlangıç HBV DNA değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0,953). 1. ve 6. aylarda her iki grupta ölçülemeyecek düzeylere düşen HBV DNA değerlerinin her iki grupta ki değerleri incelendiğinde bu aylarda da anlamlı fark bulunmadı. Aktive T lenfosit belirteci olan CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> düzeylerine bakıldığında her iki grupta anlamlı fark yoktu. Her iki grupta benzer olarak 1. ayda anlamlı derecede artış gözlenirken 6. aydaki değerler arasında anlamlı fark gözlemedik. T hücre aktivasyonunu düzenleyen önemli bir eş uyaran belirteci olan CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> düzeylerinde iki grup arasında fark yoktu, ancak takip eden süreçte 1. ayda anlamlı derecede yüksek bulduk. Bir ve altıncı aylardaki değerlerde ise her iki grup için anlamlı fark yoktu. Her iki grupta CD4/CD8 oranı benzerdi ve takiplerde de CD4/CD8 oranlarında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> T hücre düzeyleri viral yükteki azalma ile ters yönde, her iki grupta da 1. ayda artış dikkati çekti. Ancak viral yükteki ölçülemeyecek düzeyler devam ettiği halde CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> düzeylerindeki ilk bir aydaki bariz artışın ortadan kalktığı, bir plato çizdiği

gözlemlendi. Bu durumun viral yük ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızı kısıtlayan önemli faktör uzun takip süremiz olmamasıdır. Her iki grupta benzer T lenfosit altgrup değişikliklerinin olması telbivudin ve lamivudin antiviral tedavisinin T lenfosit dinamiğinde CD4/CD8 oranı, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> üzerine farklılık arz eden bir etkisi olmadığını düşündürmektedir. T hücre aktivasyonu, antiviral immün yanıtta, doku hasarı ve viral klirenste önemli bir rol oynamaktadır. Çalışmamızdaki bulgular kronik viral hepatit B hastalarında immün yanıtta kritik role sahip eş uyaran (CD28+) pozitif CD8<sup>+</sup>sitotoksik T hücreleri ile aktive T lenfosit belirteci olan CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> düzeylerinin viral yük ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir. Kronik viral hepatit B tedavisinde immün mekanizmalar üzerine yoğunlaşarak yeni tedavi modalitelerinin tedavi başarısını arttıracaklarını düşünmekteyiz. Bu konuda daha geniş kapsamlı ileri çalışmalara gereksinim vardır.

**Anahtar kelimeler:** Tenofovir, lamivudin, CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> T hücreler, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> T hücreler, CD4/CD8 oranı.

## ABSTRACT

**Ozdemir O, Investigations of Viral Dynamics and T cell subpopulation changes In Patients With Chronic Active Hepatitis B, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey, 2015.**

Here in, we aimed to show the association between viral kinetics and peripheral T cell dynamics in chronic hepatitis B patients under treatment in first 6 months. Totally 31 treatment naive patients were included in the trial. For at least 6 months, 16 patients were treated with 300 mg/d telbivudine, and 15 patients with 100 mg/d lamivudine. At the first and sixth months, clinical, biochemical, immunologic and viral parameters were checked. The beginning characteristics of both groups were similar. The serum HBV DNA viral load was determined with PCR and the peripheral T cell subgroups, lymphocyte, monocyte, granulocyte, CD19<sup>+</sup> B lymphocytes, natural killer T cells, CD3<sup>+</sup> T cells, CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> T cells, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> T cell ratios and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio were analyzed by flow cytometry. The decrease in HBV viral load and peripheral T cell dynamics were determined by multivariate analysis. There were no statistically significant difference among two groups in HBV DNA viral loads at the beginning (p=0,953). At the end of the first and sixth months the HBV DNA viral loads were nearly undetectable in both groups and again there were no statistically significant difference among two groups. CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> the markers of activated Cytotoxic T lymphocytes levels were also not significantly different. In both groups at the end of the first month there were a significant increase but the sixth month levels were also similar among two groups. Similarly, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> Cytotoxic T lymphocytes levels were also not different among two groups at the beginning, first and sixth months and at the end of the first month there was a significant increase in the serum level in both groups. The CD4/CD8 ratio was also same in two groups and there was no significant increase during the therapy. The CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> T cell levels were negatively correlated with the viral load and both of these T cell levels were significantly high at the end of the first month. On the other hand although the viral load went on being undetectable during the trial the increase in CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> levels stopped and a plateau was seen. This may be related to the viral load. The most important limiting

factor in this trial is the limited follow up time. The similar T cell subtypes among the groups may mean that both of these antiviral agents have similar effects on CD4/CD8, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>. T cell activation play important roles on immune response, tissue defect and viral clearance. Our results support the idea that in patients with chronic hepatitis B the ratios of both CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> Cytotoxic T lymphocytes and the activated Cytotoxic T cell (CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>) are associated with viral load. We also think that, concentrating on immune mechanisms may increase the efficacy of the therapy in chronic hepatitis B. further trials are necessary.

**Key Words:** Tenofovir, lamivudine, CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> T cells, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> T cells, CD4/ CD8 ratio.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ .....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
TABLO DİZİNİ .....	x
ŞEKİL DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	4
2.1.Hepatit B Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi .....	4
2.1.1. Hepatit B enfeksiyonunun prevalansı.....	4
2.1.2 HBV Genotipleri.....	5
2.1.3 Ülkemizde Hepatit B epidemiyolojisi.....	6
2.1.4. Hepatit B virusun bulaş yolları .....	7
2.2. Hepatit B Virusunun Moleküler Virolojisi.....	8
2.3. Viral Replikasyon.....	11
2.4 HBV enfeksiyonun immünolojik mekanizmalar .....	13
2.4.1. Akut hepatit B’ de hücrel immün yanıt .....	14
2.4.2. Kronik hepatit B’ de hücrel immün yanıt.....	14
2.4.3. Humoral immün yanıt.....	15
2.4.4. HBV neden kronikleşir? .....	16
2.4.5. Alevlenmenin immün temeli .....	16
2.4.6. İnaktif taşıyıcılıkta immünite .....	16
2.5. Hepatit B Enfeksiyonlarının Klinik Seyri .....	17
2.5.1. Akut HBV enfeksiyonu klinik bulguları.....	17
2.5.2. Kronik HBV enfeksiyonunda klinik bulgular.....	19
2.5.3 Kronik hepatit B enfeksiyonunda doğal seyir.....	19
2.5.4 Kronik hepatit B enfeksiyonunda prognoz .....	23
2.6. HBV Serolojik ve Klinik Tanı.....	24
2.6.1. Serolojik tanı.....	25

2.6.2. HBV –DNA .....	26
2.6.3. Laboratuvar .....	26
2.7. HBV Enfeksiyonunda Tedavi .....	27
2.7.1. Akut hepatit B tedavisi .....	27
2.7.2. Kronik hepatit B tedavisi .....	27
2.7.3. Hepatit B yönetimi için kılavuzlar .....	28
2.7.4. KHB enfeksiyonunda kimlere tedavi verilmelidir? .....	28
2.7.5. Anti viral tedavi .....	30
2.7.5.1 Kronik hepatit B enfeksiyonunda interferon .....	31
2.7.5.2 Kronik hepatit B enfeksiyonunda nükleosid ve nükleotid analogları ..	32
2.7.6. KHB enfeksiyonunda tedavi takibi .....	37
2.7.7. KHB enfeksiyonunda tedaviyi sonlandırma zamanı .....	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	39
3.1. Çalışma Dâhil Edilen Hastalar .....	39
3.2. HBV DNA nın Kantitatif Tespiti .....	40
3.3. Periferik Lenfositler ve subgruplarının Flowsitometri ile Analizi .....	40
3.4. Seroloji ve Karaciğer Fonksiyon Testleri .....	40
3.5. Histopatolojik değerlendirme .....	41
3.6. İstatistiksel Analiz .....	41
4. BULGULAR .....	42
5. TARTIŞMA .....	47
6. SONUÇLAR .....	51
7. KAYNAKLAR .....	52
8. EKLER .....	67
Ek 1. Etik Kurul Onayı .....	67

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AASLD</b>	: Amerika Karaciğer Hastalıkları Derneği
<b>APASL</b>	: Asya Pasifik Karaciğer araştırma Derneği
<b>ALT</b>	: Alanin Transferaz
<b>Anti-HBe</b>	: Hepatit Virüs e Antikoru
<b>Anti-HBs</b>	: Hepatit Virüs Yüzey Antikoru
<b>cccDNA</b>	: Covalently Closed Complementer DNA
<b>CD4<sup>+</sup></b>	: T Helper
<b>CD8<sup>+</sup></b>	: T supressör / sitotoksik
<b>CTL</b>	: Sitotoksik T Lenfosit
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>EASL</b>	: Avrupa Karaciğer Araştırma Derneği
<b>HSK</b>	: Hepatosellüler Karsinom
<b>HBeAg</b>	: Hepatit B e Antijeni
<b>HBcAg</b>	: Hepatit B Kor Antijeni
<b>HBsAg</b>	: Hepatit B Yüzey Antijeni
<b>IFN</b>	: Interferon
<b>HBV</b>	: Hepatit B Virüsü
<b>MHC</b>	: Class I Major Histokompatibilite (Major doku uygunluk kompleksi)
<b>NK</b>	: Doğal Öldürücü Hücre
<b>ORF</b>	: Open Reading Frame
<b>PCR</b>	: Polimerize Zincir Reaksiyonu.
<b>pgRNA</b>	: Pregenomik RNA
<b>RNA</b>	: Ribonükleikasit
<b>RT</b>	: Revers Transkriptaz
<b>SUT</b>	: Sağlık Uygulama Tebliği
<b>TKAD</b>	: Türk Karaciğer Araştırma Derneği
<b>TNF-alfa</b>	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
<b>VHSD</b>	: Viral Hepatitle Savaşım Derneği

## TABLO DİZİNİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Tablo 1. Dünyada HBV Endemisite Bölgeleri .....	5
Tablo 2. HBV genotiplerinin coğrafi dağılımı.....	6
Tablo 3. TÜRK HEP çalışması HBsAg pozitifliğinin yaşlara göre dağılımı .....	7
Tablo 4. Viral Hepatitle savaşım Derneği Saha sonuçları .....	7
Tablo 5. HBV' nin bulaşma yolları ve bulaşma yollarına göre risk grupları .....	8
Tablo 6. Hepatotrop Bir Virüsle Karşılaşan Karaciğerde Gelişen Adaptif İmmün Yanıt.....	17
Tablo 7. Yaşa göre HBV enfeksiyonunda kronikleşme riski .....	20
Tablo 8. Kronik hepatit B enfeksiyonunda hastalık progresyonunu etkileyen risk faktörleri .....	23
Tablo 9. Kronik hepatit b enfeksiyonunda hepatosellüler karsinom riski .....	24
Tablo 10. İnaktif hepatit B taşıyıcısı tanımı.....	29
Tablo 11. HBeAg pozitif hastalarda tedavi yaklaşımı .....	29
Tablo 12. HBeAg negatif hastalarda tedavi yaklaşımı .....	30
Tablo 13. Mevcut antiviral ajanların avantaj ve dez avantajları .....	31
Tablo 14. Hastaların Karakteristik Özellikleri.....	42
Tablo 15: Başlangıç T lenfosit altgrup değerleri. ....	43

## ŞEKİL DİZİNİ

<b><u>Şekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 1. Hepatit B virüsüne ait morfolojik partiküller ve HBV genomu. ....	10
Şekil 2. HBV replikasyonun şematik gösterimi .....	12
Şekil 3. Kronik Hepatit B Enfeksiyonu Doğal Seyri .....	20
Şekil 4. Telbivudin ve lamivudin gruplarındaki hastaların 0., 1. ve 6. Aylardaki CD8 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> değişimi .....	44
Şekil 5. Telbivudin ve lamivudin gruplarındaki hastaların 0., 1. ve 6. Aylardaki CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> değişimi .....	45
Şekil 6. Telbivudin ve lamivudin gruplarındaki CD4/CD8 oranlarının zaman içindeki değişimi .....	45
Şekil 7. HBV DNA değerlerinin 0., 1. Ve 6. Aylardaki değişimi tumgrafikler çerçeve en ve boyları eşit olsun.....	46

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya çapında Hepatit B virus ile enfekte 300 milyondan fazla insan, virusun neden olduğu morbidite ve mortaliteyi etkileyen birçok durum ile karşı karşıyadır. Her yıl siroz, son dönem karaciğer yetmezliği ve hepatosellüler karsinom gibi HBV enfeksiyonunun komplikasyonlarına bağlı 1 milyondan fazla ölüm meydana gelmektedir. (1-3). Ülkemizde ise, Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği (TKAD) tarafınca 2008-2011 yılları arasında yapılan TÜRK HEP çalışmasında, HBsAg pozitifliği %4, anti-HBc total pozitifliği %30,6, anti-HBs pozitifliği ise %32 olarak saptanmıştır. Yine aynı çalışmada HBsAg pozitifliğinin yaşla arttığı belirlenmiştir. (16,17).

Hepatit B virüs enfeksiyonu akut ve kronik süreçlerde değişen spektrumda hastalıklara yol açmaktadır. Akut süreç, subklinik hepatit, anikterik hepatit, ikterik hepatit ya da fulminan hepatit formlarında olabilir. Kronik süreçte ise, inaktif/asemptomatik taşıyıcılık, kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinom yer alır (69,70). Hastalığın bu değişen spektrumu enfeksiyonun alındığı yaş, HBV düzeyi ve konağın immün yanıtı gibi pek çok parametre ile ilişkilidir. Enfeksiyon tablosu virüsün alınmasından 1 ila 4 ay süren inkubasyon periyodunun ardından ortaya çıkar. Yetişkinlerin %70' inde ve 5 yaş altı çocukların %90'ında bulantı, iştahsızlık, yorgunluk, hafif ateş ve sağ üst kadranda ağrısının görülebildiği subklinik bir tablo söz konusudur. Kas, eklem ağrıları ve ürtiker gibi karaciğer dışı organlara ait yakınmalarda sıklıkla görülür. Akut enfeksiyon semptomları 1-3 ayda geriler. Bu akut dönemin tedavisi daha çok destek tedavisinden oluşur ve hospitalizasyon nadiren gerekir. Hepatik transaminaz düzeyleri [Alanin transaminaz (ALT), Aspartat transaminaz (AST)] hepatosellüler hasarı ile orantılı birkaç yüz ile 20000 IU/L arasında değişir. Serum bilirubin düzeyleri genellikle 20 mg/dl' nin altındadır. Hafif düzeyde anemi ve lenfositoz görülebilir. Daha ağır hastalık durumunda protrombin zamanında uzama ve serum albümin düzeyinde azalma olabilir (57).

Hepatit B, diğer hepatit virüslerinden farklı olarak sitopatik bir virüs değildir. Kronik zedelenme immün mekanizmalar ile olmaktadır. Temel mekanizma, bağışıklık sistemi hücrelerinin HBV ile enfekte karaciğer hücrelerini ortadan kaldırmasıdır. Akut enfeksiyon sürecindeki ilk adım, hepatositlerin HBV ile

enfeksiyonudur ve bu enfeksiyon sonucu hücre yüzeylerinde en önemlileri viral nükleokapsid antijenleri; HBcAg ve HBeAg olan viral yüzey antijenleri gelişir. Bu antijenlerin class I major histokompatibilite (MHC) proteinlerinin hedefidir. Böylelikle sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonu ve bu hücrelerin lizisi gerçekleşir. Konağın bu hücrel immün yanıtı karaciğer hücre hasarının nedenidir. Kişilerin immün yanıtları farklı olduğundan kimileri virüsten başarıyla temizlenirken diğerleri bunu başaramaz (42).

Kronik hepatit B tedavisinde ana hedef serum HBV DNA' sını sürekli baskılamak ve saptanabilir değerlerin altında tutmaktır. Böylece siroz, HSK ve ölüm gibi istenmeyen uzun dönem olumsuz klinik seyrin engellenmesi hedeflenmektedir. HBV DNA yüksek seyreden hastalarda karaciğer hasarı, siroz, hepatosellüler karsinom ve ölüm riski daha fazladır. HBV replikasyonu doğrudan sitopatik etki göstermediği halde, yapılan kohort çalışmalarının sonuçları, viral replikasyonun devamı ile karaciğer hasarının derecesinin ilişkili olduğunu göstermektedir. Dolayısı ile anti-viral tedaviden beklenen uzun süreli viral supresyondur. Günümüzde bu amaca yönelik olarak ise iki grup ilaç kullanılmaktadır; immün modülatörler (Alfa interferon ve pegillenmiş formları) ve viral polimeraz inhibitörleri (Nukleosid ve nükleotid analogları). IFN'lar çeşitli hücrelerde bulunan reseptörlerine bağlanarak antiviral ve immünmodülatör etkilerini başlatırlar. Makrofajlar, natural killer (NK) hücreler ve sitotoksik T hücrelerinin aktivitesini arttırarak virüsle infekte olmuş hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlarlar. IFN'ların immün sistem etkileri; hücrel immüniteyi ve antikor sentezini düzenleme, antijenlerin ekspresyonu ve tanınmasını arttırma, NK hücre aktivitesini arttırma olarak sıralanabilir. IFN'ların belki de en önemli immünoregülatör etkisi, hücre yüzeyindeki major histokompatibilite (MHC) antijenlerinin ekspresyonunu arttırmasıdır. Nukleosid /nükleotid analogları ise, selluler DNA polimerazlara bağlanmak için doğal substratlar ile yarışan, yeni yapılmakta olan DNA'ya bağlandıklarında ise DNA zincir sentezini durdurup, viral replikasyonu susturan bileşiklerdir (DNA polimeraz inhibitörleri). Çoğu nukleosid analogları sitoplâzma bulunan enzimler tarafından nukleosid 5'-trifosfatlara fosforillenir; ardından virüs-özgün polimerazlar ile etkileşir. Her bir nukleosid/nükleotid analogu kendine özgü metabolik ve farmakolojik özellikleri ile etki, etkinlik ve toksisite açısından farklılık gösterir.

Henüz kronik HBV enfeksiyonu olan olgularda tedavisinin immünomodülatör özelliklere sahip olup olmadığı bilinmemektedir. Biz bu çalışmamızda antiviral tedavi altında kronik viral hepatit B hastalarındaki tedavinin ilk 6 ayındaki periferik kan T lenfosit dinamiğini ve viral kinetik ile ilişkisini araştırmayı planladık. Böylece lamivudin ve telbivudin ile sağlanan virolojik süpresyonda ilacın antiviral etkinliği dışında olası immünomodülatör etkinliğinin varlığı araştırılacaktır.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Hepatit B Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Hepatit B Virus enfeksiyonu toplumsal bir sağlık sorunudur. 1980 den beri etkili aşıların bulunmasına rağmen, dünya nüfusunun yaklaşık 1/3' ünün HBV ile serolojik ilişkisi mevcuttur. Dünya çapında Hepatit B virus ile enfekte 300 milyondan fazla insan, virusun neden olduğu morbidite ve mortaliteyi etkileyen birçok durum ile karşı karşıyadır. Her yıl siroz, son dönem karaciğer yetmezliği ve hepatosellüler karsinom gibi HBV enfeksiyonunun komplikasyonlarına bağlı 1 milyondan fazla ölüm meydana gelmektedir. (1-3).

#### 2.1.1. Hepatit B enfeksiyonunun prevalansı

HBV enfeksiyonu prevalansı coğrafi bölgeye ve popülasyonların alt gruplarına göre büyük ölçüde değişim göstermektedir. DSÖ'ne göre dünya popülasyonunun yaklaşık %45' i HBV prevalansının yüksek (HBsAg pozitif olan olguların popülasyonun % 8'i ve üzerinde) olduğu bölgelerde , % 43' ü orta endemisitenin (HBsAg pozitifliği %2-7) olduğu bölgelerde ve sadece % 12' sinin düşük endemisiteye (HBsAg pozitifliği %2'nin altında) sahip bölgelerde yaşadığı belirtilmektedir (4).Dünya' da HBV' nin coğrafik dağılımı; düşük, orta ve yüksek endemik ülkeler olarak belirlenmiştir (5,6)

**Düşük endemisite bölgeleri:** HBsAg pozitifliği %2' den azdır. ABD, Kanada, Avustralya, Batı-Kuzey Avrupa, Yeni Zelanda gibi ülkeleri kapsar. Sıklıkla cinsel temas ile daha az oranda parenteral yolla bulaş söz konusudur. Enfeksiyon yüksek riskli yetişkinleri etkiler.

**Orta endemisite bölgeleri:** HBsAg pozitifliği %2-7 arasındadır. Türkiye, Akdeniz ve Karadeniz kıyısı olan ülkeler, Rusya, Japonya, doğu Avrupa ülkelerini kapsar. Perkütan, cinsel temas, horizontal ve eşit oranda perinatal bulaş söz konusudur.

**Yüksek endemisite bölgeleri:** HBsAg pozitifliği %8' den fazladır. Afrika, Güney Doğu ve doğu Asya, Pasifik Adaları' nı kapsar. Perinatal bulaş ön plandadır.

**Tablo 1.** Dünyada HBV Endemisite Bölgeleri (4)

Özellik	Yüksek endemisite	Orta endemisite	Düşük endemisite
<b>Kronik enfeksiyon oranı (%)</b>	5-20	2-5	0.1-2
<b>Bölgeler</b>	Güneydoğu Asya, Çin, Alaska, Eskimo bölgesi, Sahra altı Afrika	Doğu Avrupa, Akdeniz bölgesi, Orta Asya, Latin ve Güney Amerika, Orta Doğu	ABD, Kanada, Batı Avrupa, Avustralya, Yeni Zelanda
<b>Enfeksiyonun alındığı yaş</b>	Perinatal, erken çocukluk dönemi	Çocukluk dönemi	Yetişkin yaş
<b>Geçiş yolu</b>	Maternal ve perinatal	Perkütan	Sekstüel, perkütan
<b>Baskın fenotip</b>	B,C	F,H,D	A

### 2.1.2. HBV Genotipleri

Hepatit B virüsünün A-J arası 10 genotipi tanımlanmıştır. Genotip A: Sahra altı Afrika, Kuzey Avrupa, Batı Afrika' da; Genotip B: Tayvan ve Vietnam' da daha sık olmak üzere Pasifik bölgesinde; Genotip C: Çin'de Japonya'da ve Kore' de; Genotip D: Afrika, Avrupa, Akdeniz bölgesi ve Hindistan'da; Genotip E: Batı Afrika'da; Genotip F: Orta ve Güney Amerika' da; Genotip G: Fransa, Almanya, ABD' de; Genotip H: Orta Amerika' da; Genotip I: Vietnam ve Laos'ta; Genotip J: Japonya'da görülmektedir (7,8). Ülkemizde baskın olan genotip D ve subtip ayw dir (9,10).

HBsAg gen ekspresyonunun baskılanması amacıyla interferon, pegile interferon ve antiviral ilaçlar kullanılmaktadır. Bunlardan özellikle interferonlara terapötik yanıtın genotipe bağlı değişiklik gösterdiği bilinmektedir. C genotipi ile enfekte olan kişilerde B genotipi ile enfekte olan kişilere göre daha şiddetli karaciğer hastalığı (siroz, hepato selüler anser) bildirilmiştir. İnterferon tedavisi kesildikten 6-12 ay sonra kalıcı ALT normalleşmesi ve HBeAg serokonversiyonunun A ve B genotiplerinde, C ve D genotiplerine göre daha fazla olduğu gösterilmiştir.

Asya' daki HBeAg pozitif hastalarda B genotipi hâkim olup hem standart hem de pegile interferona duyarlıdır, C genotipi olanlarda pegile interferona yanıt

standart interferona göre daha iyidir. Uzun dönemli takip yapılan çalışmalarda A genotipi ile enfekte olan kişilere interferon tedavisi uygulandığında oldukça iyi HBsAg kaybı olduğu (%20) görülmesine rağmen bu oranlar genotip B, C ve D' de belirgin düşüktür. İnterferon tedavisine yanıt, Genotip A ve B ile enfekte olan kişilerde, genotip C ve D ile enfekte olan kişilere göre daha yüksektir. Pegile interferon tedavisi kesildikten üç yıl sonra HBeAg negatifleşmesi A ve B genotipindeki kişilerde, C ve D genotipindeki kişilere göre yüksektir (11-14).

Çoğu klinik çalışmada lamivudin, adefovir, entekavir ve telbivudin tedavilerine yanıtlar farklı HBV genotipleri açısından benzer bulunmuştur. Yakın tarihli bir metaanalizde de HBV genotipleri ile nükleos(t)id analoglarına yanıt arasında bir farklılık olmadığı saptanmıştır (14,15).

**Tablo 2.** HBV genotiplerinin coğrafi dağılımı (14,15)

<b>Genotip</b>	<b>Coğrafi dağılım</b>
A	Kuzeybatı Avrupa, Kuzey Amerika, Orta Afrika
B	Güneydoğu Asya, Çin, Japonya
C	Güneydoğu Asya, Çin, Japonya
D	Akdeniz Bölgesi (Türkiye), Güney Avrupa, Hindistan
E	Afrika
F	Amerikan Yerlileri, Orta ve Güney Amerika, Polinezya
G	Fransa, A.B.D.
H	Orta Amerika

### 2.1.3 Ülkemizde Hepatit B epidemiyolojisi

Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği (TKAD) tarafınca 2008-2011 yılları arasında yapılan TÜRK HEP çalışmasında, HBsAg pozitifliği %4, anti-HBc total pozitifliği %30,6, anti-HBs pozitifliği ise %32 olarak saptanmıştır. Yine aynı çalışmada HBsAg pozitifliğinin yaşla arttığı belirlenmiştir (16,17).

**Tablo 3.** TÜRK HEP çalışması HBsAg pozitifliğinin yaşlara göre dağılımı (16,17)

YAŞ	DAĞILIM(%)
18-29	2,7
30-39	3,9
40-49	4,6
50-59	5,3
60-69	4,4
70 ve üzeri	4,4

Viral Hepatitle Savaşım Derneği (VHSD) ve Sağlık Bakanlığı işbirliği ile yapılan bir başka çalışmada ise; 2008-2011 yılları arasında tüm ülke çapında, HBsAg pozitifliği, anti-HBs dağılımı yıllara ve coğrafi bölgelere göre belirlenmiştir. Buna göre 2008’ de 41,905 hastada HBsAg pozitifliği %2,4, 2009’ da 47,378 hastada %1,9, 2010’ da 39,146, 2011’ de ise 21,869 hastada %2,7 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada HBsAg pozitifliği Güney Doğu Anadolu Bölgesi’nde %4,1, Doğu Anadolu Bölgesi’ nde %3,7, İç Anadolu Bölgesi’ nde %3,4, Marmara Bölgesi’ nde %2,4, Karadeniz Bölgesi’ nde %1,7, Ege Bölgesi’ nde %1,4 olarak belirlenmiştir (18).

**Tablo 4.** Viral Hepatitle savaşım Derneği Saha sonuçları (18)

YIL(n)	HBsAG pozitif(%)	HBsAg negatif(%)	Anti-HBs pozitif(%)	Anti-HBs negatif(%)
2008 (n=41,905)	2,4	97,6	10	90
2009 (n=47,378)	1,9	98,1	9,1	90,9
2010 (n=39,146)	3	97	5	95
2011 (n=21869)	2,7	97,3	4,6	95,4

#### 2.1.4. Hepatit B virusun bulaş yolları

HBV enfeksiyonunun en önemli rezervuarı kronik HBV taşıyıcılarıdır. Tüm dünyada yaklaşık 600 milyon HBV taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir. Taşıyıcılar veya akut hastalık geçiren kişiler hastalığın bulaşmasında etkilidir. Tüm HBsAg pozitif

kişiler bulaştırıcıdır. HBeAg pozitifliği durumunda ise bulaştırıcılık çok daha yüksektir; çünkü HBeAg yüksek titrede HBV varlığının göstergesidir (19). HBV bulaşmasından enfekte kan ve vücut sıvıları (semen, vajinal sıvılar, tükürük gibi) sorumludur. Fekal oral yolla bulaşmasa da enfekte bireyin kan veya salgısı hasarlı mukoza ile temas ederse bulaşma söz konusu olabilir. Virüs geçişinde göz ve bütünlüğü bozulmuş deri de önemli rol oynar (20-23).

Virüsün dört ana bulaşma paterni vardır: Enfekte kan veya vücut salgıları ile parenteral temas (perkütan), cinsel temas, enfekte anneden yeni doğana bulaşma (perinatal-vertikal), enfekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temas (horizontal) (24-27).

**Tablo 5.** HBV' nin bulaşma yolları ve bulaşma yollarına göre risk grupları (24-27)

Bulaşma yolu	Risk grupları
<b>Perkütan (parantral) bulaşma</b>	Çoğul transfüzyon yapılan hastalar, hemodiyaliz hastaları, damar içi uyuşturucu bağımlıları ve dövme (tatuaj) yaptırılanlar, sağlık personeli
<b>Cinsel temasla bulaşma</b>	Erkek eşcinseller ve çok partnerli heteroseksüeller, HBV taşıyıcılarının cinsel partnerleri
<b>Vertikal (perinatal) bulaşma</b>	HBV taşıyıcısı annelerin bebekleri
<b>Horizontal bulaşma</b>	Kötü hijyen ve düşük sosyoekonomik durum, mental özürlüler, kalabalık yaşam şartları (yatılı okul, kışla, hapisane, yurt)

## 2.2. Hepatit B Virusunun Moleküler Virolojisi

HBV, Hepadnaviridae ailesinin ortohepadnavirüs cinsinin üyesidir. 3200 nükleotidden oluşan genom yapısına sahip, hepatotropik, kısmen çift sarmallı, zarflı bir DNA virüsüdür. Diğer aile üyelerinden farklı olarak sadece insan ve şempanzelerin karaciğerlerinde infeksiyon oluşturur (28). HBV'ye ait ilk bulgular 1964 yılında, Blumberg ve ark.'nın Avustralyalı yerlilerin serumlarında polimorfik serum proteinleri üzerine yaptıkları çalışmada elde edilmiştir (29). Avusturalya (Au) antijeni olarak adlandırdıkları antijen ile hepatit B hastalığı arasındaki ilişkiyi ilk kez göstermişlerdir. 1970 yılında ise Dane ve ark. HBV ile enfekte hastaların

serumlarında yaptıkları çalışmada, yüzeyinde Au antijenini içeren virüs benzeri yapıları bulmuşlar ve bu yapıların HBV olduğunu belirtmişlerdir (30).

HBV bir DNA virüsü olmasına karşın ters transkriptaz (revers transkriptaz; RT) enzimini kodlar ve RNA aracılığı ile replike olur. Viral genom yaklaşık 3200 nükleotidden oluşan oldukça küçük ve kısmen çift ( $\approx$  % 70), kısmen tek iplikli ( $\approx$  % 30) çembersel DNA'dan oluşur ve ikozahedral bir kapsid içerisinde bulunur; bunun dışında da üç farklı yüzey antijenini taşıyan lipit yapıları zarf yer alır. HBV ile enfekte hastaların kanında elektron mikroskobu ile üç ayrı viral partikül gösterilmiştir.

Bunlar:

1-Dane partikülleri; Yaklaşık 42 nm. (42-47 nm.) çapında ve küresel şekillidir. İnfektif özellikte, tam bir viryon yapısındadır. Yapısında bir adet sirküler, kısmi çift sarmallı DNA, DNA polimeraz ve Rnase H aktiviteli enzim, ikozahedral yapıda, tek bir fosfoprotein (HBcAg) kopyalarından oluşan kapsid ve virüsün kodladığı üç adet protein (HBsAg) ve hücreden kazanılan, lipitlerden meydana gelen zarf bulunur.

2-Küresel partiküller; Yaklaşık 22 nm. (16-25 nm.) çapındadır. Non-İnfektifdirler ve içinde nükleik asit bulundurmazlar.

3-Tübüler partiküller; 22 nm çapında, 50-500 nm uzunluğundadırlar. Non-İnfektifdirler ve içinde nükleik asit bulundurmazlar. Özellikle replikasyonun olduğu kişilerin serumunda bulunurlar.

Her üç formda infekte konak serumunda yüksek miktarda (200-500 mg/ml) tespit edilebilen ve HBsAg olarak isimlendirilen ortak yüzey antijenine sahip olup, immünojeniktir. Anti-HBs antikoru ile reaksiyon verirler. Non-İnfektif formlar daha fazla miktarda üretilir ve kanda dolaşan HBsAg'nin büyük kısmını 22 nm'lik küresel partiküller oluşturur (31-33). HBV genomu 4 açık okuma bölgesi (open reading frame, ORF) içermektedir. Bunlar S, C, X ve P bölgeleridir.

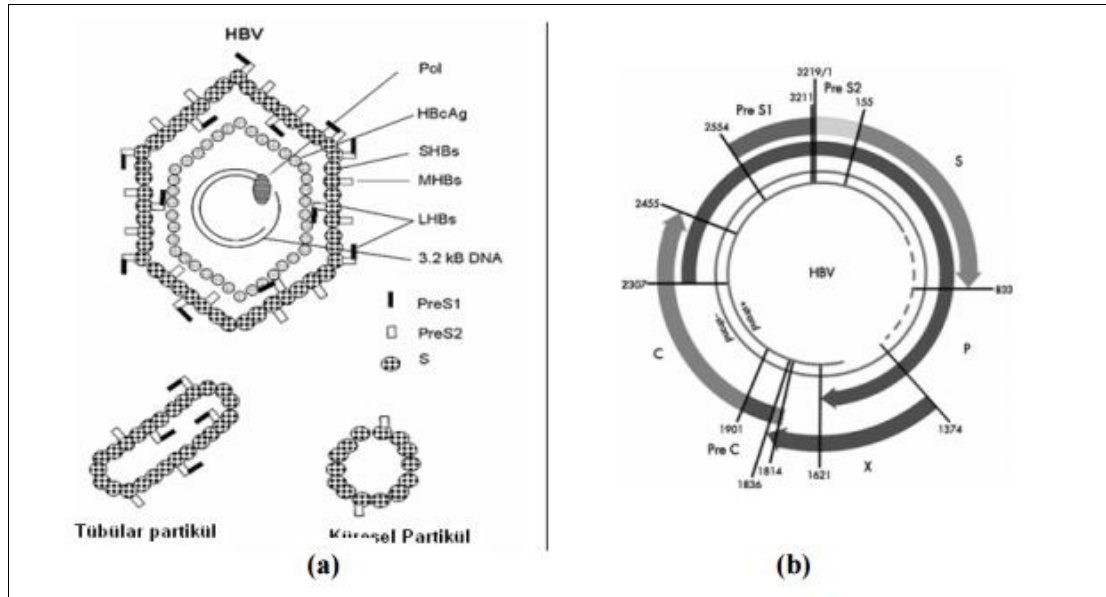
1. S geni: Pre-S1, pre-S2 ve S bölgelerinden oluşmakta olup, virüsün yüzey veya zarf antijenini (hepatitis B surface antigen-HBsAg) kodlayan genidir. HBsAg viral nükleokapsidi saran zarfı oluşturur. Dane partikülü HBV' nin tamamını oluşturur ve HBsAg nükleusta değil konak sitoplazmasında üretilir. HBsAg' deki aminoasit farklılıklarına göre a, d, y, w ve r antijenik yapı farklılıkları oluşur. "a" bütün HBsAg pozitif hastalarda olup, buna karşı oluşan anti-HBs antikoru bağışıklığı sağlar. Buradaki antijenik farklılıktan dolayı adw, ayw, adr, ayr diye 4 alt tipi vardır.

2. C geni: Kor veya nükleokapsid genidir. Kor partikülü içinde toplanan hepatit B core antigen (HBcAg)' ini kodlar. HBcAg sadece karaciğer hücresinde tespit edilebilir. Bu antijenin karboksi terminalinin bir bölümünden HBeAg kodlanarak ekstrasellüler bölgeye salınır. Ekstrasellüler alanda HBeAg solubl formdadır. HBeAg, replikasyonun ve enfeksiyözitenin göstergesidir. Bu viral antijenik yapılara karşı insanın immün sistemi çeşitli antikorlar oluşturarak yanıt verir. Laboratuvar teknikleri ile bunların saptanması yoluyla enfeksiyonun hangi aşamada (geçirilmiş, akut ya da kronik) olduğuna dair bilgi edinilebilir.

3. P geni: P proteini (polimeraz geni), viral genomun büyük bir kısmını (dörtte üçünü) kaplar. DNA bağımlı DNA polimeraz ve Ribonükleik Asit (RNA) bağımlı revers transkriptaz aktivitesindeki temel bir polipeptidi kodlar.

4. X geni: X geni HBV genomundaki en küçük gen bölgesidir. 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, hepatoma veya kronikleşme ile ilişkili antijendir (34,35).

**Şekil 1.** Hepatit B virüsüne ait morfolojik partiküller ve HBV genomu.



(a) HBV ile enfekte hastaların kanında Tubüler, Küresel ve Dane partikülü olmak üzere üç farklı morfolojide virüs partikülü bulunur (31,33)

(b) HBV genomu dairesel, parçalı çift zincirlidir ve C, S, P ve X ORF bölgeleri bulunmaktadır (34,35)

Virusun kapsidi 27 nm çapındadır; çekirdek antijeni (HBcAg), enfektivite antijeni (HBeAg) ve viral genom ile polimeraz enzimini içerir. Konak hücre yüzeyinden kazanılmış olan lipid zarf üzerinde üç formda viral yüzey antijeni bulunur. Büyük (L) pre-S1' i, orta (M) pre-S2' yi ve küçük (S) HBsAg' yi meydana getirir.

HBV zarflı bir virüs olmasına rağmen diğer zarflı virüslere göre çevre koşullarına daha dirençlidir. Eter, asit (pH 2,4 de en az 6 saat) ve ısı (98°'de 1 dakika, 60°'de 10 saat)'da immunojenite ve antijenik özellik kaybolmadığı halde enfektivite kaybolmaktadır. Eğer virüs yoğunluğu çok fazla ise bu işlemler sonucu inaktivasyon tam olmamaktadır. HBsAg, %2,5 sodyum hipoklorit varlığında 3 dakikada antijenik özelliğini ve enfektivitesini kaybetmektedir. Serumda enfektivite doğrudan kaynatmakla 2 dakikada, 14 121°C'de 0,5 atm basınç altında 20 dakikada, 160°C'de 10 saatte kaybolmaktadır. Son çalışmalar HBV'nin sodyum hipoklorit ile 10 dakikada, % 0,1–2 aköz gluteraldehit, %70 izopropil alkol, %80 etil alkolde 2 dakikada inaktive olduğunu göstermiştir. HBV, 30-32°C'de saklandığında en az altı ay, -20°C'de 15 yıl enfektif özelliğini korur. HBsAg içeren kan ve kan ürünlerinin ultraviyole ışınlarına tabi tutulması enfektiviteyi etkilemez (36).

### **2.3. Viral Replikasyon**

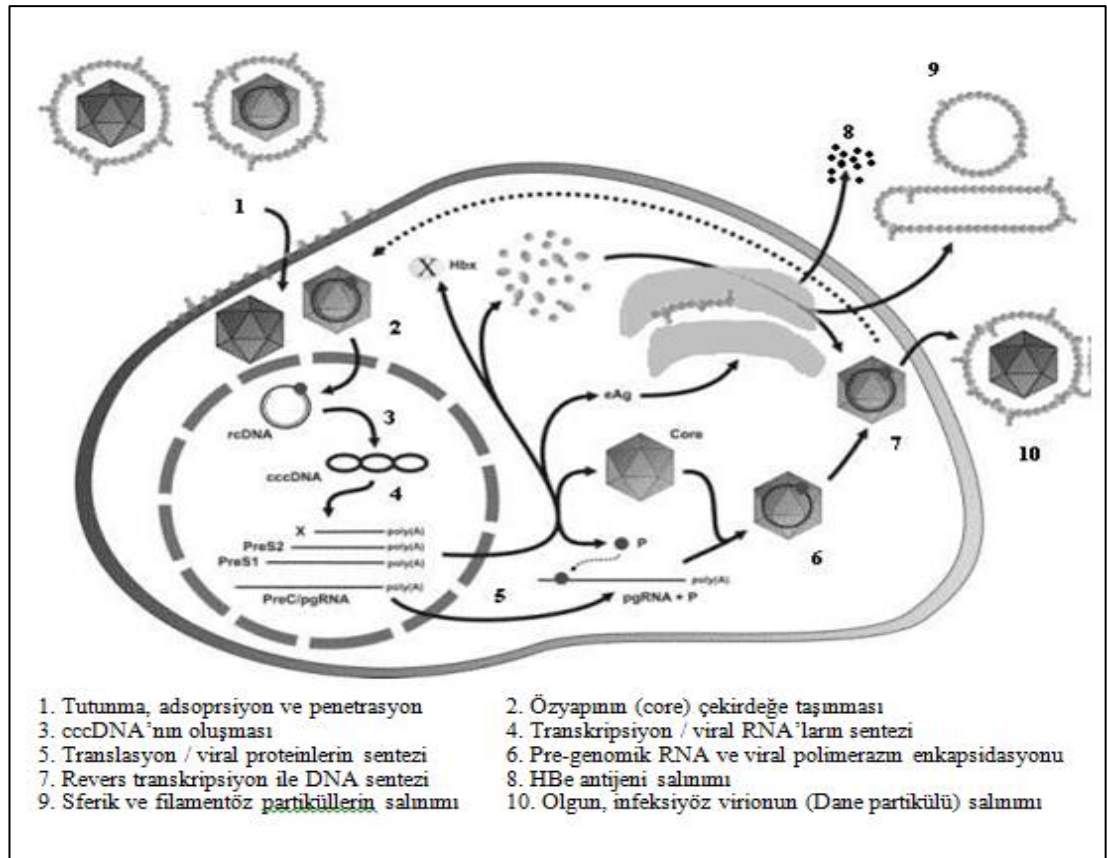
HBV replikasyonu virüsün hücre yüzeyine tutunması ve hücre içine girmesi ile başlamaktadır. HBV replikasyonu hepatosite tutunma ile başlayarak, serbest virus salınımına kadar çeşitli aşamalar gösterir. HBV'nin hepatositlere tutunması, zarf yapısında bulunan preS1 bölgesindeki 21-47. aminoasitler aracılığı ile olur.

Tutunmanın ardından, virüs zarfı ile hepatosit membranı arasında füzyon gerçekleşir ve nükleokapsid hepatosit sitoplazmasına salınır. Bir takım enzimatik reaksiyonlar sonucunda kapsid parçalanır, viral DNA ve polimeraz enzimi hepatosit nükleusuna taşınır (37,38). Çekirdekte HBV genomundaki pozitif iplikteki eksik nükleotidler tamamlanır ve pozitif ve negatif ipliğin 5' ve 3' uçları birbirine bağlanarak virus genomu plazmid benzeri cccDNA (covalently closed complementer DNA) formunu alır. Bu yapı viral pregenomik RNA (pgRNA) için kalıp görevi gördüğünden enfeksiyonun başladığını gösterir. Virus enfeksiyonundan 24 saat sonra karaciğerde cccDNA varlığı gösterilmiştir. cccDNA oldukça stabil bir yapıdır,



hepatosit içinde DNA giraz ve topoizomerazların etkisiyle süpersarmal oluşturur ve bir minikromozom halinde kalır. Enfekte hepatositlerde yaklaşık 25-50 kopya bulunan cccDNA'nın yarı ömrü 14-50 gün kadardır. Hepatosit çekirdeğindeki cccDNA rezervuarı, HBV enfeksiyonunun persistansında en önemli faktördür (41). cccDNA'nın pozitif ipliği kalıp olarak kullanılarak, konak hücrenin RNA polimeraz II enzimi tarafından pregenomik RNA (pg RNA) ve diğer viral mRNA'lar sentezlenir. pgRNA ve diğer mRNA'lar daha sonra sitoplâzma aktararak viral proteinlerin translasyonu sağlanır. Sitoplâzma revers transkriptaz enzimi pgRNA'ya bağlanarak kor proteinlerinin nükleokapsit oluşturmasını tetikler. Bu olgunlaşmamış nükleokapsit içerisinde revers transkriptaz enzimi parçalı çift zincirli virüs DNA' sını sentezler. Bu aşamadan sonra nükleokapsidin etrafı yüzey antijenleri ile çevrilerek virion oluşur veya cccDNA havuzunu artırmak için nükleokapsit çekirdeğe göç eder (39,40).

**Şekil 2.** HBV replikasyonun şematik gösterimi



## 2.4. HBV enfeksiyonunun immünolojik mekanizmalar

Hepatit B, diğer hepatit virüslerinden farklı olarak sitopatik bir virüs değildir. Kronik zedelenme immün mekanizmalar ile olmaktadır. Temel mekanizma, bağışıklık sistemi hücrelerinin HBV ile enfekte karaciğer hücrelerini ortadan kaldırmasıdır. Akut enfeksiyon sürecindeki ilk adım, hepatositlerin HBV ile enfeksiyonudur ve bu enfeksiyon sonucu hücre yüzeylerinde en önemlileri viral nükleokapsid antijenleri; HBcAg ve HBeAg olan viral yüzey antijenleri gelişir. Bu antijenlerin class I major histokompatibilite (MHC) proteinlerinin hedefidir. Böylelikle sitotoksik T hücrelerinin aktivasyonu ve bu hücrelerin lizisi gerçekleşir. Konağın bu hücrel immün yanıtı karaciğer hücre hasarının nedenidir. Kişilerin immün yanıtları farklı olduğundan kimileri virüsten başarıyla temizlenirken diğerleri bunu başaramaz (42).

HBcAg, T hücrelerine hem bağımlı, hem de bağımsız olarak virüs-özgün B hücrelerini uyararak anti-HBc antikoru oluşturabilir (44). HBcAg özellikle Th1 tipi immün yanıtı indüklerken, HBeAg' ne karşı anti-viral temizleme mekanizmalarını zayıflatan Th0 veya Th2 tipi immün yanıt gelişir (45). Th1 fonksiyonel fenotipi ile CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin HBV enfeksiyonunda antiviral etkinlik gösterdiği düşünülür (43,46). HBV-özgün CTL'ler enfeksiyonu sınırlamaları haricinde karaciğerdeki doku hasarından da sorumludur. Kronik HBV enfeksiyonunda kanda CTL yanıtı zayıf olmakla beraber karaciğerde aktif devam eder (49). Portal aralıkta ve hepatik lobüllerde CD8<sup>+</sup> T hücre hâkim mononükleer hücre infiltrasyonu ile birlikte hepatosit nekrozu görülür. Devamlı oluşan CTL yanıtı karaciğer hasarına neden olmaktadır. CTL'ler sitokinler aracılığıyla makrofaj ve NK hücrelerinin kemotaksisine neden olur. HBsAg' yi çok fazla eksprese eden olgularda bunun sonucu fulminan hepatit gelişebilir (50).

Virüsle enfekte hepatositlerin lizisinden sitotoksik hücreler sorumlu olmasına rağmen sayıları oldukça azdır. Bu nedenle devreye ikincil mekanizmalar girmektedir. Sitokinlerin rol aldığı bu ikinci olayda özellikle TNF-alfa ve IFN-gama önemli role sahiptir. Sitokinler konak savunmasında viral replikasyonu baskılar, baskın immün yanıt tipini belirler. İmmün yanıtın etkili olması için tip 1 sitokin salınımı gereklidir. Akut yanıt yetersizse enfeksiyon kronikleşir, optimal düzeyden az olan enflamatuvar yanıt sebebiyle hepatik fibrozis gelişir (47,48).

Bu süreçte HBV; konak savunmasından kurtulmak için farklı yollar izlemektedir. T hücreleri tarafından tanınmaktan kurtulur (zayıf antijen sunumu, antijenik değişim, virüsün immün sistemin güç ulaştığı yerlere saklanması) ya da konak immün yanıtını baskılayarak yaşayabilir (Th 1 sitokin yanıtının azalması, virüs özgün T hücrelerinin tükenmesi) (51). HBV enfeksiyonunda CTL'lerin hastalığın kontrolünde önemli rolü olmasına rağmen kronik enfeksiyonda CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtının hiç olmadığı veya zayıf olduğu gösterilmiştir (51, 52).

Devam eden immün reaksiyonlar sonucunda dolaşımda, içerisinde HBsAg barındıran immunkompleksler oluşabilir. Bu immunkompleksler HBV enfeksiyonu sırasında gelişen poliartrit, glomerülonefrit, miks tip kriyoglobülinemi ve Guillian-Barre sendromu gibi ekstrahepatik patolojilerin sebebi olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak immün yanıtın gücü ve kalitesi HBV enfeksiyonun doğal seyirinde major belirleyici faktördür. Çeşitli viral proteinlere karşı immün tolerans etkin bir virüs temizliği oluşmasını engellemektedir. Ancak virüs temizliğinde pek etkili olamayan immün yanıt, karaciğer hasarına yol açmaktadır. İmmün yanıtın kalitesi ve şiddetini belirleyen konak faktörleri hastalığın seyirinde önemli görünmektedir (53).

#### **2.4.1. Akut hepatit B' de hücrel immün yanıt**

Bulaştan sonra 4-7 hafta kadar süren önce düşük ardından yüksek viremi dönemlerini HBV' ye özgü CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> yanıtları izler. Çok güçlü olan bu yanıtlar daha çok Th1 yönündedir. CD8<sup>+</sup> hücrelerinin proliferasyonu, IFN- $\gamma$  üretimi ve litik aktiviteleri enfeksiyonu başarılı olarak kontrol edebilecek düzeydedir (54). Virüsün erken kontrolünde NK ve NKT hücreleri önemli rol oynar; enfeksiyonun tam olarak kontrolü ve bu kontrolün devam etmesi CD8<sup>+</sup> hücrelerine bağlıdır.

#### **2.4.2. Kronik hepatit B' de hücrel immün yanıt**

Kronik HBV enfeksiyonunda T hücre yanıtları gerek karaciğer dokusunda gerekse periferik kanda ya yoktur ya da oldukça düşüktür ve viral proteinlere dar olarak

odaklanmıştır. Bununla beraber bir grup hastada hatırı sayılır T hücre yanıtları dikkati çekmektedir.

Kronik hepatit gelişen hastalarda T hücre fonksiyon bozuklukları net olarak tanımlanmıştır. Ancak bunun sebep mi yoksa sonuç mu olduğu net değildir. Kronikleşen HBV enfeksiyonu olgularında CD4<sup>+</sup> yanıtı saptanamayacak düzeydedir. Özellikle HBV-DNA'nın zirveye çıktığı fazda, perifer kanında T hücre yanıtı çok baskılanmıştır. CD8<sup>+</sup> yanıtı ise iyileşen hasta grubunda olduğu gibi çok yönlü ve özgündür. Ancak CD8<sup>+</sup> repertuarı yetersizdir ve hastalığı kontrol edebilecek dominant epitoplara değil diğer daha önemsiz epitoplara yönelmiştir (41). Ayrıca, özgün T hücreleri karaciğere çekilir. Özgün T hücrelerinin yanında, onlardan çok daha fazla sayıda özgün olmayan T hücreleri, karaciğerde infiltrasyona katılır. Hepatosit hasarının önemli ölçüde bu özgün olmayan hücrelerden kaynaklandığı düşünülmektedir. HBV enfeksiyonu kronikleşince, edinilmiş immünitede gerileme gözlenir. Örneğin, virüse özgü CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücreleri azalır; virüse özgü antikorlar ise kısıtlı olarak üretilir. Oysa iyileşen HBV enfeksiyonu olgularında CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> bellek T hücreleri aracılığıyla yıllar sonra bile saptanabilecek bir immün yanıt varlığı söz konusudur (41).

### **2.4.3. Humoral immün yanıt**

Humoral immün yanıt HBV enfeksiyonu kontrolünde önemli yer tutar. Özellikle serbest partiküllerin nötralizasyonu antikorlar aracılığı ile sağlanır. Konak hücresinin enfekte olmasından önce bu koruma önemlidir. Enfekte olduktan sonra ise ortadan kaldırılması artık hücrel immün yanıtla mümkün olur. Bu yüzden de diğer birçok hastalığın kontrolünde olduğu gibi HBV' nin kontrolünde de hücrel ve humoral immünitenin birlikte etkin şekilde çalışması gereklidir. CD4<sup>+</sup> T hücreleri yoksa CD8<sup>+</sup> aktivitesi ve antikor yanıtı bozulur; virüse özgü CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin yokluğunda da viremi devam eder ve sadece antikor yanıtı ile kontrol edilemez (55).

#### **2.4.4. HBV neden kronikleşir?**

HBV enfeksiyonu, konağın hücresel ve humoral immün mekanizmalarının etkin mücadelesine rağmen bazı vakalarda kronikleşir. Bu birden çok parametre tarafınca belirlenir. Örneğin enfeksiyonun alındığı yaş kronikleşmede önemlidir. Erken yaşta alınması durumunda çoğu enfeksiyon kronikleşirken, erişkin yaşta alınanların %1-32' ü kronikleşir. Virüsün genotipi ve viral yük miktarı da önemlidir: Genotip B daha selim bir seyir izler ve düşük viral yük, iyileşme ile sonuçlanma açısından konağa avantaj sağlar (55). Konağın genetik yapısı da antiviral immün yapıları erken ve etkili harekete geçirmesi açısından önemlidir.

#### **2.4.5. Alevlenmenin immün temeli**

Viral yükün çok yüksek olduğu hastalarda T hücre yanıtı en zayıftır (56). Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri içinde reaktivasyonlar gözlenebilir. Bu alevlenmenin hemen öncesinde HBV nükleokapsit antijenlerine karşı oluşan CD4<sup>+</sup> T hücre yanıtında bir artış vardır. Alevlenme sırasında T hücre yanıtındaki bu toparlanma, IL-12 ve Th1 sitokin artışına yol açar ve HBeAg serokonversiyonu gerçekleşebilir. Bu değişikliklere ALT düzeyinde anlamlı bir artış da eşlik edebilir. Özetle kronik HBV seyrinde görülen T hücrelerinin yanıtındaki yetersizlik geri dönüşsüz değildir. Özellikle viral yükün azalması, T hücre fonksiyonlarındaki düzelmeyi kolaylaştırır.

#### **2.4.6. İnaktif taşıyıcılıkta immünite**

İnaktif HBV taşıyıcılarında aktif karaciğer hasarı yoktur. Virüs etkin bir şekilde kontrol altına alınmıştır. Karaciğerde mevcut CD8<sup>+</sup> hücrelerinin çoğu HBV' ye özgün hücrelerdir (56). Bu hücrelerin proliferasyonları ve anti-viral sitokin salgılama yetenekleri de normaldir. İnaktif taşıyıcılık, HBV replikasyonunu, özgün T hücreleri ile belli ölçüde kontrol altına alındığı durumu yansıtmaktadır. Neden HBV replikasyonunun tamamen durdurulamadığı ve özgün antikorların oluşamadığı ise tam olarak açıklanamamıştır.

**Tablo 6.** Hepatotrop bir virüsle karşılaşan karaciğerde gelişen adaptif immün yanıt.

1	Virüs, hepatositlerden ve dendritik hücrelerden IFN- $\alpha$ , IL-12, IL-15 ve IL-18 salgılanmasını indükler.
2	IFN- $\alpha$ , kemokin (MIP-1a) ligandının üretimini artırır.
3	MIP-1a, karaciğerin NK hücrelerince infiltrasyonunu sağlar.
4	IFN- $\alpha$ , IL-12, IL-15 ve IL-18, NK hücrelerini aktive eder.
5	NK hücreleri IFN- $\gamma$ üretir
6	IFN- $\gamma$ , sinüzoidal hücrelerce üretilen kemokin ligandlarının (CXCL-9 ve CXCL-10) ekspresyonunu artırır.
7	Kemokin ligandları, aktive T hücrelerini karaciğere çeker.
8	IFN, karaciğerde antijen sunan hücrelerde ko-stimulatuvar hücreleri indükler ve T hücreleri aktif hale gelir.

## 2.5. Hepatit B Enfeksiyonlarının Klinik Seyri

Enfeksiyon tablosu virüsün alınmasından 1 ila 4 ay süren inkubasyon periyodunun ardından ortaya çıkar. Yetişkinlerin %70' inde ve 5 yaş altı çocukların %90'ında bulantı, iştahsızlık, yorgunluk, hafif ateş ve sağ üst kadranda ağrısının görülebildiği subklinik bir tablo söz konusudur. Kas, eklem ağrıları ve ürtiker gibi karaciğer dışı organlara ait yakınmalarda sıklıkla görülür. Akut enfeksiyon semptomları 1–3 ayda geriler. Bu akut dönemin tedavisi daha çok destek tedavisinden oluşur ve hospitalizasyon nadiren gerekir. Hepatik transaminaz düzeyleri [Alanin transaminaz (ALT), Aspartat transaminaz (AST)] hepatoselüler hasarı ile orantılı birkaç yüz ile 20000 IU/L arasında değişir. Serum bilirubin düzeyleri genellikle 20 mg/dl' nin altındadır. Hafif düzeyde anemi ve lenfositoz görülebilir. Daha ağır hastalık durumunda protrombin zamanında uzama ve serum albümin düzeyinde azalma olabilir (57).

### 2.5.1. Akut HBV enfeksiyonu klinik bulguları

Akut viral hepatitte enfeksiyonun seyri inkubasyon dönemi, preikterik dönem, ikterik dönem ve konvelesan dönem olmak üzere başlıca dört kategoride incelenebilir. Akut enfeksiyonun inkubasyon periyodu 60-180 gündür. Bu dönemdeki klinik bulgular ve seyir birçok faktöre göre değişmektedir. Bunlar arasında enfeksiyonun alındığı yaş,

virüsün genetik yapısı, eşlik eden bir başka hepatotrop virüs enfeksiyonunun varlığı, konakçının immün durumu önemli faktörlerdendir. Sarılık şikâyeti ile gelen hastanın öyküsünde sarılıklı hasta ile temas, intravenöz ilaç bağımlılığı, kan transfüzyonu öyküsü, geçirilmiş cerrahi veya hastanede yatış, kronik karaciğer hastalığına ait aile öyküsü ve viral hepatit etkeni ile olası temas mevcut ise akut viral hepatit araştırılmalıdır. Akut hepatit kliniği, HBV ile enfekte olan erişkinlerin sadece %5-20 kadarında ortaya çıkmaktadır. Sarılığın görülme olasılığı ise beş yaşın altındaki çocuklarda %10 civarında iken daha büyük çocuk ve erişkinlerde olguların %50'sinde sarılık görülür. Önde gelen semptomlar, bulantı-kusma, grip benzeri şikâyetler, yorgunluk ve halsizlik, sağ üst kadranda hafif künt bir ağrıdır. Serum hastalığı benzeri klinik tablo akut HBV enfeksiyonu olan hastaların %10 kadarında gelişmektedir. İmmün kompleks oluşumuna bağlı olarak gelişen ve ürtikeryal veya makulopapüler raş, artralji ile seyreden 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 efüzyon, aplastik anemi, ensefalit ve polinörit bildirilen diğer klinik bulgulardandır. Preikterik dönemdeki bu semptomlar genellikle 3–10 gün kadar sürer. İkterik dönemde, preikterik dönemdeki hastaya rahatsızlık verici bu bulgularda genellikle görülen düzelmeye birlikte sarılık, hafif kaşıntı, idrar renginde koyulaşma, dışkı renginde açılma gözlenir. Serum bilirübini %2,5–3 mg üzerinde olduğu durumda skleral ikter klinik olarak aşikâr hale gelir. Sarılığın süresi nadiren 4 haftayı geçer, genellikle 1-3 hafta kadar sürer.

Fizik muayenede, minimal nonözgün bulgulara rastlanılabileceği gibi, sarılık ve genellikle hassasiyetin de eşlik ettiği hepatomegali (%10), splenomegali (%5) ve lenfadenopati (%5) saptanabilir (58-60). Vaskülit, immün kompleks nefriti, artrit, poliarteritis nodosa, glomerulonefrit, eritema nodosum, Guillain Barre Sendromu gibi genellikle immün kompleks fenomenini yansıtan ekstrahepatik bulgulara da rastlanabilir (59,60). Akut HBV enfeksiyonu geçiren erişkin hastaların büyük çoğunluğu, tam olarak iyileşme gösterir. Akut HBV enfeksiyonunun gidişatı konağın HBV' ye karşı sergilediği immün cevap ile bağlantılıdır.

### **2.5.2. Kronik HBV enfeksiyonunda klinik bulgular**

Akut HBV enfeksiyonu ardından, hastaların %5-10'unda kronikleşme olur. Altı aydan daha uzun süren HBsAg pozitifliği saptanması durumunda kronik enfeksiyon araştırılmalıdır. Bu hastaların bir kısmında sadece HBsAg taşıyıcılığı devam ederken geri kalanlarda hem HBsAg pozitifdir hem de virüs replikasyonu ile beraber karaciğerde hasar da devam eder (60,61). Bu iki gruptaki ayırım karaciğerin histopatolojik incelemesi ile konulur. HBsAg pozitif, transaminaz yüksekliği olan kronik bir hastada immünohistokimyasal yöntemlerle HBsAg ve HBcAg gösterildiğinde kesin tanı konulur (63). Kronik hepatit çoğunlukla sessiz seyreden bir hastalıktır ve genellikle tesadüfen HBsAg pozitif bulunduğu orta derecede transaminaz yüksekliği de varsa tanısı konabilir. Yorgunluk en önemli semptomdur ve bulantı, üst abdominal ağrı, kas ve eklem ağrıları eşlik edebilir. Klinik bulgu olarak ta sarılık, spider nevüs, splenomegali ile küçülmüş veya büyümüş karaciğer görülebilir (61,63). Kronik HBV enfeksiyonu olan hastaların siroz, hepatosellüler karsinom ve karaciğer yetmezliği olma riskleri artmıştır (1-3).

### **2.5.3 Kronik hepatit B enfeksiyonunda doğal seyir**

HBV enfeksiyonunun seyrini belirleyen iki önemli etken vardır; biri HBV enfeksiyonunun edinildiği yaş, diğeri enfeksiyon anındaki immun sistemin yeterliliğidir (64). Eğer enfeksiyon vertikal (perinatal) yolla yenidoğan döneminde edinilmiş ise HBV enfeksiyonu subklinik seyredecek ve yüksek oranda kronikleşecektir (64). Erişkin yaşta horizontal yolla edinilen HBV enfeksiyonu ise semptomatik seyredecek ve sıklıkla HBsAg klirensi sağlanacak, %5-7 oranında kronikleşme ile sonlanacaktır (64)

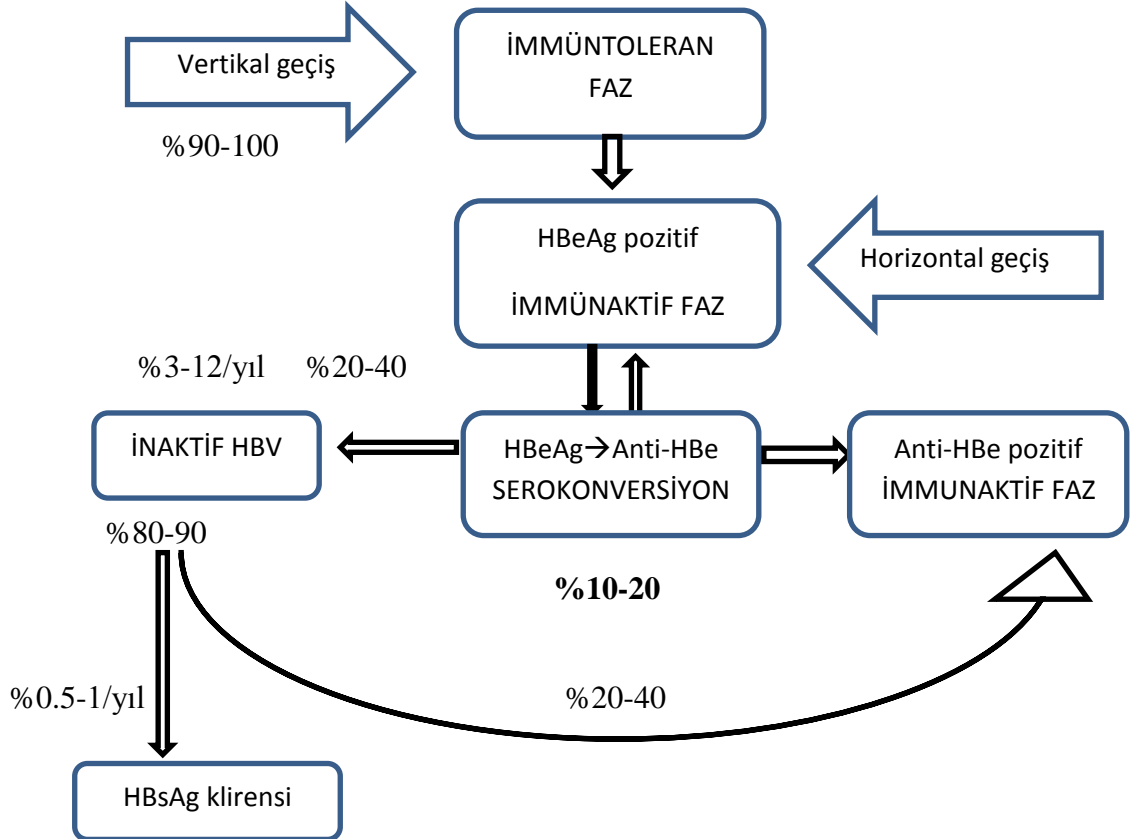


**Tablo 7.** Yaşa göre HBV enfeksiyonunda kronikleşme riski (64)

Yaş	HBV enfeksiyonu kronikleşme riski
Yenidoğan	%90
İnfant-2 yaş	%50
2-5 yaş	%25-30
>5 yaş	%5-7

HBV enfeksiyonu virüs, hepatosit ve immun sistem hücreleri arasındaki dinamik bir süreçtir. Dolayısıyla enfeksiyonun seyri komplike bir süreçtir (65). İmmüntolerans, immünaktif, serokonversiyon, inaktif taşıyıcılık ve HBsAg klirensi olarak adlandırılan fazlarda seyreden HBV enfeksiyonunda, fazlar ardışık seyretemeyebilir, siklusun her fazı her hastada görülmeyeceği gibi bazen önceki faza geri dönüş de olabilmektedir (64).

**Şekil 3.** Kronik Hepatit B Enfeksiyonu Doğal Seyri (64)



Perinatal HBV enfeksiyonunun edinilmesinden sonra HBeAg antijen pozitif, ALT düzeyi normal, HBV DNA 20.000 IU/mL üzerindedir. Bu dönem immüntoleran faz olarak adlandırılır (66-68). Bu fazda HBeAg adeta immüntoleran protein olarak immün sistemin virüsü tanımasına engel olur. HBV plasentadan geçmese de, hayvan modellerinde maternal HBeAg' nin transplasental geçişi ve fetüs T-helper hücrelerinde yanıtınlığı indüklediği öne sürölmektedir. Bu fazda öne sürölen diğer mekanizmalar; antijen işlenmesi ve antijenin majör doku uygunluk kompleksi (MHC) klas 1' e sunumunda yetersizlik, virüs spesifik efektör hücrelerde matürasyon değişikliğidir (69,70). HBV sitopatik bir virüs değildir; yani HBV genomu, hepatosit DNA' sına entegre olup hepatosite zarar vermeden yalnızca çoğalarak yıllarca kalır (replikatif süreç). İmmüntoleran faz genotipe göre değişken bir süre gösterir; Genotip A, B ve D' de 20-30 yaşına kadar, genotip C' de %50' sinde 30-40 yaşına kadar sürebilir (70). Hepatosellöler sürecin başlaması için immün sistemin hepatit B' yi tanıması gerekecektir. Bu yüzden bu fazda karaciğerde inflamasyon ve fibrozis yok ya da minimaldir (68). İmmüntoleran fazda spontan antijen kaybı çok nadirdir. Bu hastalar yüksek viremi nedeni ile yüksek bulaşıcılık gösterirler (68). Erişkin yaşta edinilen enfeksiyonlarda bu faz genellikle görülmez veya fark edilemeyecek kadar kısadır (64).

HBeAg pozitif immünaktif faz, horizontal yolla HBV bulaşı olan bireylerde enfeksiyonun alınmasından kısa bir süre sonra başlar (66-69). Vertikal yolla bulaş olan hastalarda ise bu faz immüntoleran fazın ardından başlar (64). İmmüntoleran fazın sona ermesini ya da başka bir deyişle immün istemin uyanarak HBV' yi tanımasını ve immün yanıtın oluşmasını tetikleyen faktörler henüz net değildir. Viral antijenlerin intrahepatik hücresel düzeyde dağılımında veya sunumunda değişiklik olması öne sürölen mekanizmalardır. Histopatolojik incelemede HBcAg' nin nükleer ekspresyonunun azalması, öte yandan sitoplazmik ekspresyonunun artması bunu desteklemektedir. Bu fazda HBeAg pozitif, ALT düzeyi artmış, HBV DNA en az 2000IU/mL ve üzerindedir. Bu fazda sitotoksik immün yanıt ile hepatosit hasarı olması, histopatolojide aktif inflamasyonu getirir, fibrozis değişen derecelerde eşlik edebilir (66-68). Olguların büyük kısmında klinik bulgular belirsizdir. Rutin tetkikler esnasında ortaya çıkarlar. Hastaların bir bölümünde akut hepatit ile ilişkili semptomlar görülür (69). Bu durum, öncesinde klinik HBV öyküsünü bilmeyen

hastaların yanlılıkla akut hepatit tanısını almasına neden olabilir. Üstelik hem akut hepatit hem de kronik hepatit zemininde alevlenme halinde anti-HBc IgM ve alfa fetoprotein artışı görülebilir (69,71). Bu fazda olguların çok azında hepatik dekompanse ve yetmezlik hali görülür. Bu faz, HBeAg' nin klirensi yani antiHBe antikora serokonversiyonu ile sonlanır. İmmün klirens veya serokonversiyon fazı sağlanması ile antiHBe pozitifleşir, ALT ve HBV DNA progresif düşüş gösterir (66-68). HBeAg klirensi, ister spontan olsun ister anti-viral tedavi ile sağlansın, hepatik dekompanse riskini azaltır, sağ kalımı iyileştirir. Oysa 'persistan HBeAg seropozitifliği' nadir görülsede, siroz, hepatosellüler karsinom ve karaciğer ile ilişkili ölüm riskini arttırmaktadır (72). Hatta 40 yaşından sonra oluşan serokonversiyonlar 'gecikmiş serokonversiyon' olarak adlandırılır, Genotip C' de olduğu gibi, hastalık progresyon riski taşırlar (69,73). Serokonversiyon sonrası az da olsa, reversiyon, yani HBeAg pozitifliğine dönüş olabilir, bu süreç hepatit atakları ile seyreder, özellikle genotip C ve F ile enfekte olgularda görülür (69).

Anti HBeAg pozitif immünaktif faz, kronik HBV enfeksiyonunun majör immün fazlarından biridir (66-69). HBeAg pozitifliğinden anti-HBe antikör pozitifliğine serokonversiyon sonrası hastaların %10-20 kadarı, antikörleri pozitifleşse de HBV DNA ve ALT değerinde yükseklik ile immünaktif kalabilir (74). İnaktif HBV enfeksiyonlu olgularda %20-40 kadarı bir veya daha fazla reaktivasyon ile bu faza geçiş gösterir (74). Bu fazda ALT ve HBV DNA dalgalı seyir gösterebilir. HBV DNA 2000-2 milyon IU/mL olup sıklıkla HBeAg pozitif immünaktif fazdaki hastaların HBV DNA' sından daha düşük seviyelerdedir (66-68). Histopatolojik açıdan karaciğerde inflamasyon ve fibrozis orta veya şiddetli derecede bulunabilir (66-68). HBV genomunda 'precore (PC)' ve 'bazal core promoter (BCP)' mutasyonlar bu fazdaki olgularda bildirilmiştir (75). Bu mutant formlar özellikle Akdeniz ve Ortadoğu' da yoğunlukta görülen genotiplerde saklanmıştır (76,77). Bu fazda, mutant formların önemi, immün sistemin elemesinden kaçabilmeleri ve dolayısıyla daha persistan kalabilmeleridir (75-77). İnaktif faz, kronik HBV enfeksiyonunun diğer majör immün fazıdır. Bu fazda Anti-HBe pozitif, ALT normal düzeyde, HBV DNA 2000 IU/mL nin altında veya negatiftir (66-68). Bu fazda karaciğerde inflamasyon ve fibrozis yoktur veya minimaldir. İnaktif fazda yıllar boyu

izlenen hastalarda karaciğer fibrozisinin ilerlemediği gösterilmiştir (66-68). HBs antijen klirensi, kronik hepatit B enfeksiyonunda kür kabul edilir (78). Her yıl için Avrupa’ da hastaların %0,5-2’ sinde, Asya ülkelerinde ise %0,5-0,8’ inde HBsAg klirensi görülebilir (76-78). Bu hastaların prognozunun iyi olduğu düşünülse de siroz ve hepatosellüler karsinom riski dışlanamaz (79). HBsAg klirensi sonrası 10 yıllık takipte kovalen kapatılmış sirküler HBV DNA’ nın pozitif kalabildiği gösterilmiştir (69,79). Ayrıca bazı hastaların hem ‘wild’ tip hem de pre-S1 bölgesindeki mutant formlar ile enfekte olduğu düşünülmektedir. Pre-S1 mutasyonu HBsAg ekspresyonunu azaltmaktadır (64,69). HBsAg klirensi olsa da hepatosellüler karsinom riski yüksek olguların, sıklıkla klirens yaşının 50 üzeri olduğu, delta virüs veya hepatit C virüs ile koinfekte olduğu, hatta bazı olguların klirens öncesi aslında belgelenmemiş geri dönüşümsüz karaciğer hasarı olduğu ileri sürülmektedir (79).

#### 2.5.4 Kronik hepatit B enfeksiyonunda prognoz

Kronik HBV enfeksiyonunda hastalık progresyonu, siroz ve hepatosellüler karsinom gelişme riski, hastaya ve virüse bağlı faktörlere göre değişir. Hastaya ilişkin olarak; erkek cinsiyet, 40 yaş üzeri olmak, alkol tüketim öyküsü, ailede hepatosellüler karsinom varlığı, yüksek ALT önemli risk faktörleridir. Viral faktörlerden HBV DNA’ nın yüksek olması, genotip C-D, bazal korpromoter (BCP) mutasyonu, pre-S gen delesyonu, HBx gen mutasyonu hastalık progresyon riskini artırır (80).

**Tablo 8.** Kronik hepatit B enfeksiyonunda hastalık progresyonunu etkileyen risk faktörleri (80)

Hastaya ait faktörler	Virüse ait faktörler
Erkek cinsiyet	Yüksek viral yük
40 yaş üzeri	Genotip C
Alkol tüketimi	Genotip D
Aflatoksin maruziyeti	BCP mutasyonu
Yüksek ALT	Pre-S delesyonu
Ailede hepatosellüler karsinom öyküsü	HbX gen mutasyonu
	Koenfeksiyon:HCV, HDV

REVEAL çalışmasında siroz ve hepatosellüler karsinom gelişimini belirleyen en önemli bağımsız faktörün viral yük olduğu bulunmuştur (81). Genotiplere göre bakıldığında, özellikle genotip D' de siroz riski, genotip C' de hepatosellüler karsinom riski diğer genotiplere göre daha yüksek oranlardadır. Hepatit D virüs ile koenfeksiyon siroz riskini, hepatit C virüs ile koenfeksiyon hepatosellüler karsinom riskini arttırmaktadır (75).

Kronik HBV enfeksiyonunun immüntoleran ve immünaktif fazında hepatosellüler karsinom riski, genel popülasyona göre belirgin artmıştır (84). İnaktif fazda, siroz insidansı Asya' da %0,07/yıl, Batı' da %0,01/yıl iken; hepatosellüler karsinom insidansı Asya' da %0,2/yıl, Batı' da %0,02/yıl dır. HBeAg pozitif hepatitlerde siroz insidansı Asya' da %1,6/yıl, Batı' da %3,8/yıl iken, HBeAg negatif hepatitlerde ise bu insidans Asya' da %2,8/yıl, Batı' da %9,7/yıl olarak bildirilmiştir. İnaktif faz, kronik hepatit B ve kompanse sirozda yıllık hepatosellüler karsinom insidansı karşılaştırıldığında sırasıyla Asya ülkelerinde % 0.2, 0.6, 3.7; Batı' da % 0.02, 0.3, 2.2 ve ABD' de % 0.01, 0.9, 3.3 olarak rapor edilmiştir (83,84).

**Tablo 9.** Kronik hepatit b enfeksiyonunda hepatosellüler karsinom riski

Klinik	HBVDNA (IU/mL)	HBeAg	ALT	Karaciğer histolojisi	HSK riski (40 yaş üzeri)
İmmüntoleran	>20 000	Pozitif	Normal	Normal	+++
İmmünaktif	>2 000	Pozitif veya negatif	Artmış	Hafif-orta şiddetli inflamasyon/fibrozis	+++
İnaktif	<2 000	Negatif	Normal	İyileşen histoloji	++
HBsAg klirensi	<2 000	-	normal	İyileşen histoloji	+

## 2.6. HBV Serolojik ve Klinik Tanı

Bu hastalığın tanısında geleneksel olarak HBV antijen ve antikorlarının serolojik yöntemlerle belirlenmesi kullanılmaktadır (85). Son yıllarda HBV DNA'nın moleküler yöntemlerle saptanması giderek yaygınlaşmaktadır. Bu yöntem viral replikasyonun en iyi şekilde gösterilmesi, serolojik göstergelerin doğrulanması, tanı

ve tedavinin takibi ve mutant virüs enfeksiyonlarının neden olduğu karışıklıkların aydınlatılması açısından önemlidir (86).

### 2.6.1. Serolojik tanı

Farklı duyarlılık ve özgüllükteki serolojik testler ile HBV antijen ve antikorları saptanabilmektedir. RIA ve EIA yaygın olarak kullanılan ve duyarlılık ve özgüllüğü yüksek olan testlerdir. Bu amaçla HBsAg, HBeAg, anti-HBs antikor, anti-HBe antikor, anti-HBc IgM, anti-HBc IgG serolojik olarak saptanabilirken, HBcAg ise sadece hepatositlerde bulunduğundan saptanamaz. Bu yöntemlerle kanda 0.25–0,5 ng/mL HBsAg ve 1 mIU/mL anti-HBs saptanabilir (87). Serolojik testler akut ve kronik HBV enfeksiyonunun ayrılmasında, enfektivite değerlendirilmesinde, immünite araştırılmasında, kan ve organ donörlerinin taranması amacı ile kullanılır (88). Ayrıca gelişmiş laboratuvarlarda çoğu kez araştırma ve/veya sağaltımın izlenmesi amacıyla yönelik olarak, insan serum ve dokularında HBV-DNA dot blot hibridizasyon, insan serumunda kantitatif HBV DNA sıvı faz hibridizasyon yöntemleri ile saptanabilmektedir. Yine insan serumunda HBV-DNA dallanmış-branched-DNA sinyal amplifikasyon yöntemi ile kantitatif olarak saptanabilmektedir. Son zamanlarda serumda HBV-DNA'yı kalitatif ve kantitatif olarak saptamaya yönelik çok duyarlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler sayesinde serumda 10 kopya HBV-DNA/ ml saptanabilmekte ve de duyarlılık dot blot hibridizasyondan 100-1000 kez fazla olmaktadır (89,90).

#### Hepatit B Enfeksiyonunun Klinik Görünümlerinde Seroloji:

1. Akut hepatit B: İyileşme sürecine girmiş bir akut B hepatitinde bunun ilk göstergesi HBeAg'nin negatifleşmesidir. Bu serokonversiyonun erkenden oluşması hastalığın kronikleşmeyeceğini gösteren önemli bir işarettir.

2. Pencere dönemi: Akut hepatitin iyileşme sürecinde HBeAg negatifleşmesini, bir süre sonra HBsAg'nin negatifleşmesi izler. Bazı olgularda bu antijenlerin kaybolduğu dönemde Anti-HBe ve Anti-HBs henüz oluşmamıştır. Bu döneme “pencere dönemi” adı verilmektedir.

3. Bağışıklık evresi: Hepatit B enfeksiyonu sonlanmış ve bağışıklık kazanılmıştır. Bu dönemde anti-HBe (-), anti-HBc (hepatit B virüs kor antijenine karşı oluşan antikor) (-), anti-HBs (-) bulunacaktır.

4. Kronik Hepatit B: HBsAg pozitifliği 6 aydan daha uzun süre devam etmiştir. Kronik hepatitin başlangıcında aktif viral replikasyonu yansıtan HBe-Ag ve HBV DNA pozitifliği saptanır.

5. Kronik Hepatit B'nin nonreplikatif fazı: Viral genom hepatosit DNA'sına integre olmuştur. Viral proteinlerin sentezi bu şekilde gerçekleşir, ancak serbest viral DNA bulunmaz (91,92).

### **2.6.2. HBV –DNA**

Günümüzde HBV ile ilgili çalışmalarda moleküler yöntemler kullanılarak HBV DNA araştırılması gittikçe yaygınlaşmaktadır. Hem kalitatif hem de kantitatif yönden HBV DNA araştırılabilmektedir. Bu testler serumda 10 kopya/ml gibi az bir virüs 15 miktarını bile saptayacak kadar yüksek duyarlılıktadır (93). Ancak çeşitli kantitatif test sonuçları arasında standardizasyon sorunu bulunmaktadır. Moleküler yöntemlerin kullanım alanları; serolojik yöntemlerin tanıda yetersiz kaldığı durumlar, mutant suşların tespiti, antiviral ilaç direncinin belirlenmesi, antiviral tedaviye karar verme ve tedavinin izlenmesi ve genotip tayini olarak özetlenebilir (93,94).

### **2.6.3. Laboratuvar**

Kronik hepatit B'de alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve gamaglobulin orta derecede yükselmektedir. Serum bilirubin ve albümini ciddi hastalık dışında normaldir. Serum transaminazları karaciğerdeki hastalığın ciddiyetini tam olarak yansıtmaz. Ancak yaklaşık bir fikir vermesi açısından hafif şiddette < 100 IU, orta şiddette 100-400 IU, ağır şiddette > 400 IU olarak kullanılmaktadır (95).

## **2.7. HBV Enfeksiyonunda Tedavi**

### **2.7.1. Akut hepatit B tedavisi**

Akut HBV enfeksiyonunda tedavi esası semptomaya yönelik olup özgün bir tedavi bulunmamaktadır. Hastaların sadece %0,1-%0,5' inde fulminan hepatit gelişimi olur ve geri kalan hastalar müdahale ve antiviral tedavi gereksinimi olmadan iyileşir (96). Hastalara öncelikle istirahat önerilir ve diyet kısıtlamasına gerek yoktur (97).

Klinik ve biyokimyasal iyileşme sağlanıncaya kadar alkol alımının yanı sıra; başta analjezik, trankilizan ve sedatifler olmak üzere hepatotoksik ilaç kullanımı yasaklanmalıdır. Hastaneye yatırılarak izlenmesi gerek hastalar; ciddi bulantı, mental durum değişikliği, hepatik ensefalopati kliniği olanlar, protrombin zamanı 17 saniyenin üzerinde, bilirubin düzeyi 15-20 mg/dl' nin üzerinde ve 2-3 hafta boyunca bilirubin düzeyi sabit seyrederken transaminazlarda hızlı düşüş gösteren olgulardır (98,99).

Akut fulminant B hepatiti, sarılık ve koagülopatiyle birlikte karaciğer fonksiyonlarının hızla bozulması ve hepatik ensefalopatinin varlığıyla tanımlanan bir klinik tablodur. Hasta mutlaka yoğun bakım ünitesinde izlenmeli ve bir an önce en yakın karaciğer transplantasyonu yapılabilecek merkeze sevki planlanmalıdır. Karaciğer transplantasyonu yapılamayanlarda mortalite yüksektir (100,101).

### **2.7.2. Kronik hepatit B tedavisi**

Kronik hepatit B tedavisinde ana hedef serum HBV DNA' sını sürekli baskılamak ve saptanabilir değerlerin altında tutmaktır. Böylece siroz, HSK ve ölüm gibi istenmeyen uzun dönem olumsuz klinik seyirin engellenmesi hedeflenmektedir. HBV DNA yüksek seyreden hastalarda karaciğer hasarı, siroz, hepatosellüler karsinom ve ölüm riski daha fazladır.

Tedavinin hedefleri HBeAg-pozitif ve HBeAg-negatif hastalarda farklıdır. HBeAg-pozitif hastalarda HBeAg serokonversiyonu istenen hedef olmakla beraber asıl arzulanan HBsAg serokonversiyonudur. Ancak günümüz ilaçları ile bu çok az hastada mümkün olmaktadır. Kronik hepatit B enfeksiyonunu tam olarak eradike



etmek, infekte hepatositin nükleusunda cccDNA (covalently closed circular DNA) persistansı nedeni ile mümkün değildir. Bu molekül hepatositin nükleusunda hücrenin ömrünün sonuna kadar kalır ve replikasyon için kalıp görevi görür. Daha da önemlisi, HBV genomu konak genomuna integre olarak onkogenezi başlatır ve hepatosellüler karsinom gelişimine neden olur (102).

### **2.7.3. Hepatit B yönetimi için kılavuzlar**

Günümüzde kronik hepatit B tedavisi yönetimi için ulusal ve uluslar arası birçok kılavuz mevcuttur. AASLD (Amerika Karaciğer Hastalıkları Derneği) hepatit B tedavi kılavuzu, APASL (Asya Pasifik Karaciğer araştırma Derneği) ve EASL (Avrupa Karaciğer Araştırma Derneği) kılavuzları ülkemizde ve tüm dünyada kullanılan kılavuzlardır. Ülkemizde ayrıca TKAD (Türk Karaciğer Araştırma Derneği), VHSD (Viral Hepatitle Savaşım Derneği) uzlaşi raporları yararlanılacak kılavuzlardır. Ülkemizde Sağlık Uygulama tebliği (SUT) tedavi belirlemede ve reçetelemede esas belirleyicidir.

Aralarında küçük farklılıklar olmasına karşın mevcut kılavuzların önerileri birbirlerine benzemektedir. Kılavuzlarda ki önemli ortak nokta, hiçbirinde kombinasyon tedavisinin öneri olarak verilmemesidir.

Tüm kılavuzlar tedavi için, karaciğer hasarının biyokimyasal delili olan ALT yüksekliğini (normalin 1,5 katı) ve serum HBV DNA seviyesinin 20000 IU/mL veya 100000kopya/mL üzerinde olmasını önermektedir. Spesifik olarak dekompanse sirozlu hastalarda nükleos(t)id analogları önerilir.

### **2.7.4. KHB enfeksiyonunda kimlere tedavi verilmelidir?**

Kronik hepatit B olgularında tedavinin planlanması için hastalığın hangi evrede olduğunun belirlenmesi gerekir. İnaktif hepatit B taşıyıcıları ile immüntoleran olgularda tedavi önerilmez (103,104). İmmüntoleran evrede HBeAg-pozitif, HBV DNA düzeyi yüksek (sıklıkla >108 IU/mL) ve ALT düzeyi normaldir, karaciğer hasarı yoktur veya minimaldir. Bu olguların 3-6 ay ara ile takibi önerilir. İnaktif hepatit B taşıyıcılarında antiHBe pozitifdir.

İnaktif taşıyıcılık; AASLD ve EASL rehberlerinde ALT düzeyinin en az bir yıl süre ile normal ve HBV DNA' nın <2.000 IU/mL olması (103,104), APASL rehberinde ALT'nin 3 yıl süre ile normal ve HBV DNA' nın <20000IU/mL olması olarak tanımlanmıştır (105).

**Tablo 10.** İnaktif hepatit B taşıyıcısı tanımı (105)

	HBV DNA(IU/mL)	ALT	ALT Üst Sınırı
AASLD (9)	<2000	Normal(1 yıl süre ile)	Kadın: 19 IU/mL Erkek: 30IU/mL
APASL (10)	<20000	Normal(1 yıl süre ile)	Tanımlanmamış
EASL (8)	<2000	Normal(3 yıl süre ile)	40 IU/mL

Rehberlere göre HBeAg pozitif ve negatif hastalar arasında tedavilerde farklılar mevcuttur. Hastalarda ALT düzeyi normalin üst sınırının iki katında fazla ise ve HBV DNA düzeyi sınır değerin üzerinde ise üç rehberde de tedavi önerilmektedir. HBV DNA düzeyi yüksek, ALT normal veya normalin üst sınırının iki katından düşük ise kılavuzların tedaviye yaklaşımları farklılıklar gösteririr (103-105)

**Tablo 11.** HBeAg pozitif hastalarda tedavi yaklaşımı

	HBV DNA IU/mL	ALT	Yaklaşım
AASLD (9)	≥20.000	1-2xNÜS	3 ay ara ile ALT izlemi 6 ay ara ile HBeAg izlemi >40 ise karaciğer biopsisi önerilir
	≥20.000	≥2xNÜS	1-3 ay ara ile ALT ve HBeAg izlemi Aynı şekilde devam ederse tedavi Karaciğer biopsisi opsiyoneldir
APASL (10)	≥20.000	1-2xNÜS	1-3 ay ara ile ALT ve HBeAg izlemi Aynı şekilde devam ederse tedavi veya yaş>40 ise karaciğer biopsisi önerilir
	≥20.000	1-5xNÜS	3-6 ay ara ile ALT ve HBeAg izlemi Aynı şekilde devam ederse tedavi önerilir
EASL (8)	≥20.000	>5XNÜS	Tedavi önerilir
	≥2.000	1-2XNÜS	Karaciğer biopsisi önerilir
	≥20.000	>2XNÜS	Tedavi önerilir

**Tablo 12.** HBeAg negatif hastalarda tedavi yaklaşımı

	HBV DNA IU/mL	ALT	Yaklaşım
<b>AASLD (9)</b>	≥2.000	1-2xNÜS	Karaciğer biopsisi önerilir
	≥20.000	≥2xNÜS	Tedavi önerilir Karaciğer biopsisi opsiyoneldir
<b>APASL (10)</b>	≥2.000	1-2xNÜS	1-3 ay ara ile ALT izlemi yaş>40 ise karaciğer biopsisi önerilir
	≥2.000	≥2xNÜS	3-6 ay ara ile ALT izlemi devam ederse tedavi veya yaş>40 ise karaciğer biopsisi önerilir
<b>EASL (8)</b>	≥2.000	1-2xNÜS	Karaciğer biopsisi önerilir
	≥20.000	≥2xNÜS	Tedavi önerilir

Sirozlu hastalarda ALT' de yükselme olmayabilir, bu yüzden tedaviye başlamada ALT değeri dikkate alınmaz. ESAL rehberinde saptanabilir HBV olan tüm siroz olgularına tedavi önerilmektedir (103). AASLD rehberinde; kompanse siroz hastalarında HBV DNA  $\geq 2.000$  IU/mL ise tedavi verilmesi, HBV DNA  $< 2.000$  IU/mL ise takibi, ALT yüksekliği var ise tedavi önerilir. Dekompanse siroz olgularında ise saptanabilir HBV DNA var ise tedavi önerilir, transplant için adaydır(105). APASL kılavuzunda; dekompanse siroz olgularının tedavi edilmesi ve transplant açısından değerlendirilmesi önerilir. Kompanse sirozda ise HBV DNA  $\geq 2.000$  IU/mL ise tedavi verilmesi, HBV DNA  $< 2.000$  IU/mL ise 3 ay ara ile takibi önerilir (104).

### 2.7.5. Anti viral tedavi

HBV replikasyonu doğrudan sitopatik etki göstermediği halde, yapılan kohort çalışmalarının sonuçları, viral replikasyonun devamı ile karaciğer hasarının derecesinin ilişkili olduğunu göstermektedir. Dolayısı ile anti-viral tedaviden beklenen uzun süreli viral supresyondur. Günümüzde bu amaca yönelik olarak ise iki grup ilaç kullanılmaktadır:

1. İmmun modülatörler (Alfa interferon ve pegillenmiş formları)
2. Viral polimeraz inhibitörleri (Nukleosid ve nükleotid analogları)

Tedavide kullanılacak ilaç belirlenirken serum ALT seviyesi, serum HBV DNA düzeyi ve karaciğer histolojisinin yanında ilaç yan etkileri ve hastanın yaşı, komorbid faktörler, tolerasyonu da önemlidir. Her tedavi her hasta için uygun değildir. İnterferon ve nükleos(t)id analoglarının herbirinin avantajı ve dezavantajı vardır.

**Tablo 13.** Mevcut antiviral ajanların avantaj ve dez avantajları (107)

İlaçlar	Avantajlar	Dezavantajlar
Peginterferon	Süresi belirli tedavi (12 ay) Tedavi sonrasında uzun süreli cevap HBsAg kaybı (%5-8)	Enjeksiyon ile verilmesi Yan etki sık Pahalı Yüksek viremili hastalarda cevap hızı düşük
Nükleos(t)id analogları	Önemsiz yan etkiler Virus replikasyonunun güçlü inhibisyonu İnterferonlara göre ucuz Oral kullanım, iyi tolerasyon	İlaç direnci Uzun ve belirsiz tedavi süresi Düşük olasılıklı HBsAg kaybı Uzun dönem verildiğinde yüksek maliyet

### 2.7.5.1 Kronik hepatit B enfeksiyonunda interferon

İmmun modülatör özellikte olan interferonlar 1982’ de HBV enfeksiyonu tedavisinde ilk onay alan ilaçtır. IFN’ların başlıca anti-viral, immünomodulator ve antiproliferatif (anti-tümöral) etkileri vardır. Uzun süreli tedavi gerektirmeyip tedavinin belli bir süreyi kapsaması ve ilaca karşı direnç gelişmemesi avantajı iken yan etki profil ve düşük kalıcı remisyon oranları dezavantajlarıdır.

IFN infekte hepatosit yüzeyinde HLA klas 1 antijen ekspresyonunu artırır ve CD8+CTL aktivitesini zenginleştirir böylelikle hepatositin yüzeyindeki virüs antijenlerinin sitotoksik T hücreleri tarafından tanınmasını ve infekte hepatositin yok edilmesini sağlar. Makrofajlar, natural killer hücreler ve sitotoksik T hücrelerinin aktivitesini artırarak virüsle infekte olmuş hücrelerin eliminasyonunu sağlarlar. Aynı zamanda interferon sitokin üretimini uyararak viral replikasyonu baskılar. IFN yokluğunda infekte hepatosit tanınmamakta ve dolayısıyla yok edilemediğinden enfeksiyon eradike edilememektedir. Yani bir nevi immüntolerans olmaktadır. HBV enfeksiyonunun kronikleşmesinden sorumlu mekanizmalar tam olarak

aydınlatılamamış olmasına rağmen, genetik ya da edinsel IFN üretiminde bir defekt olması en önemli nedenlerden biri olarak kabul edilmektedir. Gerçekten de HBsAg taşıyıcılarında, kronik HDV ve HCV hepatitlerinde endojen IFN üretim defekti tespit edilmiştir (106,107). İnterferon molekülüne polietilenglikol polimerinin bağlanmasıyla plazma yarı ömrü daha uzun olan pegile interferonlar elde edilmiştir. Peginterferon alfa-2b 1.0µg/kg, peginterferon alfa-2a 180µgr haftada tek doz olarak uygulanır. KHB için önerilen kullanım süresi 48 haftadır (102,103). HBeAg pozitif hastalarda pegile interferon ile tedavi sonu HBeAg serokonversiyonu %30, saptanamaz HBV DNA %24 olarak bildirilmektedir. HBeAg negatif hastalarda ise tedavi sonu yanıt oranı % 38-44 ve en az 6 aylık takip sonrası kalıcı yanıt oranı % 20-30 olarak bildirilmektedir (102).

#### **2.7.5.2. Kronik hepatit B enfeksiyonunda nükleosid ve nükleotid analogları**

Viral replikasyonu önleyerek viral çoğalmayı baskılayan oral kullanımlı ant-viral ajanlardır. Biyoyararlanımları çok iyidir. Özellikle dekompanse sirozlu hastalarda INF' lar kullanılamayacağı için alternatifleri yoktur. Nükleosid ve nükleotid analogları HBV DNA' nın birinci ve ikinci ipliklerinin sentezi sırasında doğal nükleosidlerle yer değiştirmektedirler. Bu ilaçlar viral revers transkriptaz ve DNA polimerazın kompetatif inhibitörleridirler.

Bu gruptaki ilaçların etkin olabilmesi için bir yıldan daha uzun süreli kullanımları gerekir. Ancak uzun süreli monoterapide en büyük risk ilaç direnci ve çapraz direnç gelişmesidir. Nükleos(t)id analoglarının cccDNA' yı temizlemes interferonlara göre daha güçtür. Bu nedenle Nükleos(t)id analogları ile bir yıllık tedavi sonrasında HBsAg klirensi nadirdir (108).

#### **Lamivudin,**

Kronik HBV enfeksiyonu tedavisinde 1998 yılında FDA (Food and Drug Administration) onayı almış, güvenilirliği ve etkinliği ispatlanmış bir nükleozid (Sitozin) analogudur. Lamivudin, intrasellüler hepatosit kinazlar tarafından fosforile edilerek aktive metaboliti trifosfata dönüşür. Bu form, HBV polimerazın doğal substratı olan nükleozit trifosfatla yarışmaya girerek polimeraz enzimini bloke

etmekte ve böylece viral replikasyon durmaktadır (109,110). HBeAg'i pozitif ve negatif kronik HBV infeksiyonlarında, kompanze ya da dekompanze sirozlu hastalarda ve çocuklardaki kronik HBV infeksiyonlarının tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (111). LAM; HBV supresyonu için 100 mg/gün oral kullanılır ve vücutta yarı ömrü yaklaşık 6 saat kadardır. Lamuvidin; gebeliğin son trimestrinde olan, sirozlu, karaciğer nakilli, kemoterapi alan ve immünsüpresif tedavi kullanan hastalarda tedavi ve aktivasyonu engellemek için kullanılabilir. Diğer nükleotid analoglarına göre 8 daha ucuz olmakla birlikte ilaca karşı gelişen direnç ve buna bağlı olarak zamanla tedaviye yanıtın azalması dezavantajıdır (117). Lamivudin genellikle çok iyi tolere edilir. Yapılan çalışmalarda ilacın kesilmesini gerektiren bir yan etkiye rastlanmamıştır. İlaça alerjik reaksiyon gelişen kişilerde tedaviye devam edilmemesi önerilir (118). Kronik hepatit B tedavisinde lamivudin kullanımını sınırlandıran en önemli özellik tedavide kullanıldığı sürenin artmasıyla doğru orantılı olarak artan ilaca karşı direnç gelişimidir (1.yıl %14–32, 2.yıl %38, 3.yıl %53 ve 4.yıl % 67)(112). HBV polimerazının primer katalitik bölgesi “revers transkriptaz” enzimidir. Bu enzim A, B, C ve D domainleri içerir. C domaininin rt203-rt206 kodonlarını oluşturan tirozin(Y), metiyonin(M), aspartat(D), aspartat(D) motifinde oluşan mutasyonlar lamivudin direnci ile bağlantılı mutasyonlar olarak bilinmektedir. 204. pozisyondaki metionin aminoasitinin başka bir aminoasit ile değişimine sebep olan mutasyonlar ilacın da etkili olamamasına yol açmaktadırlar (113-115). Direnç genellikle tedavi öncesi HBV-DNA'sı yüksek olan ve uzun süre tedaviye rağmen yüksek kalan hastalarda daha çoğunlukla görülür (116).

### **Adefovir Dipivoksil (ADV),**

Adenozin monofosfatın nükleotid analogudur. Oral biyoyararlanımı yüksektir. Eylül 2002 tarihinden itibaren kronik hepatit B tedavisinde kullanılmak üzere ruhsat almıştır. Oral alındıktan sonra gastrointestinal sistemde absorpsiyon süresince ve sonrasında hızlı bir şekilde spesifik olmayan esterazlarla enzimatik hidrolize uğrar ve adefovir oluşur. Hücre içinde fosforilasyon reaksiyonlarına uğrayarak aktif molekül olan adefovir difosfata dönüşür. Aktif formu, hem reverse transkriptazı hem de DNA polimerazı inhibe ederek HBV DNA zincirinin sonlanmasına neden olur. İn-vitro ve klinik çalışmalarda hem vahşi tip virüsü hem de

lamivudin dirençli kökenleri inhibe ettiği gösterilmiştir (111). 52 haftalık tedavi sonunda elde edilen HBeAg kaybı ve HBeAg serokonversiyonu lamivudinden daha düşük bulunmuştur. Yavaş etkili bir ilaç olup etkinlik için tedavinin ikinci yılında değerlendirme yapmak gerekir. Etkinliği lamivudine göre daha az ancak direnç gelişme potansiyeli lamivudine göre oldukça düşüktür (1,2, 3, 4 ve 5 yıllık tedavi sonrası direnç oranları sırasıyla; % 0, % 3, % 11, % 18 ve % 29 olarak bildirilmiştir) (118).

Adefovir dipivoksilin erişkin dozu 10 mg/gün' dür. Karaciğer yetersizliğinde doz ayarlanması gerekmez. Böbrek hastalığında ise kreatin klirensi 50 ml/dk altına indiğinde doz ayarlanması gerekir. Kreatinin klerensi 20-49 ml/dk arasında iken gün aşırı 10 mg/gün, 10-19 ml/dk arasında iken üç günde bir 10 mg/gün, hemodiyaliz hastalarında ise hemodiyalizden sonra haftada bir 10 mg/gün önerilmektedir (118). Direnç gelişme mekanizması lamivudinden farklıdır. HBV polimeraz geninin B ve D domainlerinde nokta mutasyonlar (A181V, N236T) meydana gelerek direnç geliştiği gösterilmiştir. N236T mutasyonu gelişen hastalarda lamivudin duyarlılığı, dolayısıyla telbivudin ve entekavir duyarlılığı devam etmektedir. Adefovir klinik ve virolojik olarak lamivudin direnci olan HBV enfeksiyonlarında, dekompanse siroz ve transplantasyon sonrası rekürrens olan vakalar dâhil etkili bulunmuştur. Adefovir dirençli mutasyonların lamivudin duyarlılığı devam eder (119).

Önemli dezavantajı ise potansiyel nefrotoksik etkisi ve renal yetmezlikte doz azaltımına gidilmesidir (119). Dört-beş yıllık adefovir tedavisi sonrası kompanse karaciğer hastalığı olanların % 3'ünde, transplant hastalarının % 12'sinde, dekompanse sirozlu hastaların ise ilk yıl içinde % 28'inde nefrotoksisite geliştiği görülmüştür. Son iki grupta yüksek nefrotoksisite oranlarının, adefovirin direkt toksik etkisi ya da diğer nefrotoksik ilaçların bir arada kullanılması veya primer hastalığın ilerlemesi ile ilgili olup olmadığı değildir. Adefovir kullanan hastalarda kreatinin düzeylerinin kontrolünün yanı sıra, bir yılın üzerinde ilaç kullanılacak her hastanın, renal yetmezlik açısından predispoze faktörlerin araştırılması önerilmektedir (111). Son yıllarda onay alarak kullanımda olan bir diğer nükleotit analogu olan tenofovirle ilgili çalışmalarda, HBeAg negatif ve pozitif hastalarda, etkinlik açısından adefovirden üstün olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda yayınlanan tedavi rehberlerinde adefovirin, yerini tenofovire bıraktığı gözlenmiştir (111).

### **Entekavir,**

A.B.D.'de 2005, Türkiye'de ise 2007 yılında ruhsat alarak kronik hepatit B tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Siklopentil 2'- deoksiguanozin nükleozid analogu, HBV polimerazın potent inhibitörüdür. FDA tarafından kronik hepatit B hastaları için 0.5 mg/ gün naive hastalarda ve 1 mg/gün LAM refrakter hastalarda onaylanmıştır. HBV replikasyonunu, diğer nükleozid ya da nükleotit analoglarından farklı olarak, 3 ayrı basamakta inhibe etmektedir. HBV'nin üç basamaklı inhibisyonu, HBVDNA' nın yüksek baskılanma oranlarını sağlamış, in-vitro çalışmalarda entekavirin lamivudin ve adefovire oranla daha güçlü bir antiviral olduğu gösterilmiştir (111). Entekavirin 24 haftalık kullanımında HBV DNA düzeyinde 4 log azalma veya LAM'dan 10 kat fazla azalma gözlenmiştir. Hem HBeAg pozitif, hem de HBeAg negatif naive hastalarda bir yıl süreli entekavir LAM'a üstün bulunmuştur. Entekavir ile 48 haftalık tedavi sonunda HBeAg serokonversiyonu % 21, HBV DNA negatifleşmesi % 67, ALT normalizasyonu % 68 olarak bildirilmiştir. LAM dirençli 23 viruste kalıcı inhibisyon 1mg/gün 48 haftalık tedavide 0,5 mg/gün' lük tedaviye üstün bulunmuştur. Entekavir direnci nadirdir ve sadece LAM dirençli olgularda bildirilmiştir. Entekavir direncinin gelişmesi için lamivudin direnç mutasyonlarının yanında (rt M204V ve rt L180M) HBV polimerazda ek mutasyonların (rt I169T, rtT84S/A/I/LG/C/M, rt S202G/C/I, rt M205I/V) da olması gerektiği bildirilmiştir (111). Entekavire dirençli HBV adefovir ve tenofovire duyarlı iken, LAM'a dirençlidir. Entekavir tedavisi alan naive hastalarda 48–96 haftalık tedavide direnç gözlenmemiştir.

Yan etkileri; baş ağrısı, sersemlik, letarji, abdominal rahatsızlık, bulantı, ishal ve fotosensitivitedir(120). Tek başına veya diğer antiretroviral ilaçlarla birlikte 30 verildiğinde laktik asidoz ve hepatomegali yapabileceği unutulmamalıdır. Yemekler emilimini azaltır (38). Kreatin klirensi 50 ml/dk'nın altında olan hastalarda doz ayarlanması gerekir. Yan etki profili ve güvenlik açısından lamivudine benzerdir (118,121).

### **Tenofovir,**

Bir asiklik adenin nükleotid analogu olan tenofovir hem HBV hem de HIV' te in vivo ve in vitro güçlü etkilidir (122). Tenofovir HIV enfeksiyonunda kullanılmak



için lisans almış ve HIV/HBV koenfeksiyonlu hastalarda yaygın olarak değerlendirilmiştir (123,124). Ön ilaç olan tenofovir disoproksilin fumarat tuzudur. Oral yol ile alınımından sonra absorbe edilir ve bir nükleotid monofosfat analogu olan tenofovire; Tenofovir de daha sonra T hücrelerinde iki fosforilasyon reaksiyonu sonucu hücresel enzimlerle zorunlu bir zincir sonlandırıcısı olan etkin metaboliti tenofovir difosfata dönüşür. Tenofovir difosfat doğal deoksiadenozin 5 trifosfat substratı ile yarışarak HBV polimeraz aktivitesini inhibe eder. DNA içine girdikten sonra DNA zincirini sonlandırır (125,126). 245 mg tenofovir disoproksil fumarata eşdeğer 300 mg'lık tablet günde tek doz şeklinde uygulanmaktadır (125,126,127). Kreatinin klirensi 50 mL/dak. altında olanlarda doz ayarlaması yapılmalıdır (125,127). Fakat bazı araştırmacılar böbrek yetmezliğinde kullanılmamasını önermektedir. Dekompense karaciğer hastalığı olan kişilerde iyi tolere edilir(126). HBV DNA düzeyini baskılamada adefovire göre erken ve güçlü etkinliği mevcuttur. Hem HBeAg pozitif hem de HBeAg negatif hastalarda HBV replikasyonu kontrolünde sırasıyla % 75 ve % 93 oranında etkilidir (128). Nükleozid analoglarına karşı çapraz direnç göstermemesi avantajının yanında DNA polimerazdaki mutasyonlara karşı yüksek genetik bariyere sahip olması, direnç açısından daha az sorun yaşanacağını düşündürmektedir (129).

### **Telbivudine,**

Telbivudin ya da L-deoksitimidin (LdT), timidinin L deoksi modifikasyonu olan nükleozid analogu bir antiviraldir. Fosforilasyon sonrası aktif formu, HBV-DNA polimeraz tarafından sentezlenen DNA zincirine katılabilmek için timidin ile yarışır. 2006 yılında A.B.D.'de kronik hepatit B hastalarının tedavisinde ruhsat olarak kullanıma girmiştir. Klinik çalışmalarda, telbivudinin lamivudine oranla hepatit B replikasyonunu baskılamada daha potent bir antiviral olduğu gösterilmiştir. Ancak antiviral direnç telbivudin için de bir sorundur ve lamivudine göre daha düşük oranlarda direnç geliştiği bildirilmektedir (111). Tedaviden bir yıl sonra HBeAg pozitif hastaların %5'inde, HBeAg negatif hastaların %2'sinde, 2 yıl sonra ise sırası ile %25 ve %11'inde genotipik direnç gelişmiştir. Telbivudin direnci ya tek başına M204I ya da L180M mutasyonu ile birlikte olmaktadır. Bu direnç lamivudini de etkilediğinden telbivudin direnci gelişen hastalarda lamivudine geçilmez (119).

Günlük onay alan dozu 600 mg'dır ve kreatinin klirensi <50 olan hastalarda doz ayarlanması gerekmektedir. İyi tolere edilir ve yan etki profili lamivudine benzerdir. Telbivudin için önemli bir özellik prelinik toksikolojik testlerde embriyo üzerine mutajenik ya da karsinojenik etkinliği olduğu saptanmamıştır. Bu nedenle gebelikte kullanımını açısından B grubunda yer alan ilaçlar içindedir (111).

#### **2.7.6. KHB enfeksiyonunda tedavi takibi**

KHB tedavisinde pegile interferon alfa alan hastalarda; ilk hafta sonunda, birinci ayda, üçüncü ayda ve daha sonra üçer ay arayla ALT ve diğer karaciğer enzimleri ve tam kan sayımı yapılmalıdır. Tedavi süresince her 3-6 ayda bir, tedavi bitiminde ve tedavi kesildikten sonra her 6 ayda bir HBV DNA bakılmalıdır (130,131). Nükleoz(t)id analogu kullanan hastalarda ise; tedavi süresince ALT takibi üçer ay ara ile yapılmalıdır. HBV DNA düzeyleri her 3-6 ayda bir bakılmalıdır. Oral nükleoz(t)id analogları tedavisi alanlar için güncel tedavi takip stratejisi; serum HBV DNA düzeyinin 12. ve 24. haftada değerlendirilmesidir. 24. hafta sonunda elde edilen sonuçlar virolojik yanıt, tam yanıt, kısmi yanıt veya yetersiz yanıt şeklinde kategorize edilmektedir. Tam yanıt, HBV DNA düzeyi <60IU/ml; kısmi yanıt HBV DNA düzeyi 60-<2000 IU/ml; yetersiz yanıt ise HBV DNA düzeyinin >2000 IU/ml olmasıdır (130).

#### **2.7.7. KHB enfeksiyonunda tedaviyi sonlandırma zamanı**

HBeAg (+) hastalarda antiviral tedavinin HBV DNA düzeyi PCR ile ölçülemeyecek düzeylere inene ve HBeAg serokonversiyonu oluşuncaya kadar verilmesi; sonrasında ise tedaviye 12 ay devam edilmesi önerilmektedir. HBeAg serokonversiyonu olan ancak HBV DNA ölçülebilir düzeyde olup aynı seviyede sebat eden hastalarda tedaviye 6 ay daha devam edilmesi önerilir, hasta siroz değilse tedavi kesilebilir. HBeAg kaybı olmazsa uzun süre tedavi edilmelidir. Çünkü bu hastalarda tedavinin ilerleyen zamanlarında HBeAg serokonversiyonu sağlanabilmektedir. Ayrıca bu hastalarda HBeAg serokonversiyonu olmadan tedavi kesilirse vireminin tekrarlama riski yüksektir. Relaps gelişen hastalarda tekrar tedavi verilebilir (132). HBeAg (-)

hastalarda tedavinin güvenli bir biçimde sona erdirilme zamanı tam olarak belirlenmemektedir. HBeAg negatif KHB' li hastalarda serum HBV DNA negatifliği uzun süre devam etse bile relapslar sık görülür. Peg IFN tedavisi ile serum HBsAg konsantrasyonu azalırsa kalıcı virolojik yanıtın oluşma olasılığı yüksektir. Bu hastalarda saptanamayan HBV DNA düzeylerine ulaşıldıktan sonra oral antivirallerle (Lam ve ADV hariç) uzun süreli tedavi verildiğinde relaps gelişme oranı daha düşüktür. Bu hastalarda uygun tedavi süresi halen bilinmemektedir (132,133).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışmaya Dâhil Edilen Hastalar

Bu çalışmaya Kasım 2012 ile Aralık 2014 tarihleri arasında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hepatoloji Polikliniği' ne başvuran hastalardan seçildi. Klinik bulgularla ve laboratuvar sonuçları ile değerlendirildikten sonra kronik hepatit B tanısı alan hastalar arasından 300 mg/gün telbivudin (16) ve 100 mg/gün lamivudin (15) tedavisi başlanan toplamda 31 naif gönüllü hasta çalışmaya dâhil edildi. Bütün gönüllülerden detaylı tıbbi öykü alındı ve tipik fizik muayene yapıldı. Kronik hepatit B tanısı AASLD (Amerika Karaciğer Hastalıkları Derneği) hepatit B tedavi kılavuzu, APASL (Asya Pasifik Karaciğer Araştırma Derneği) ve EASL (Avrupa Karaciğer Araştırma Derneği) kılavuzları baz alınarak hastaların biyokimyasal, virolojik histolojik verileri değerlendirilerek konuldu (103-105). Hastalığın fazları ise rutin karaciğer testleri ve HBV antijenleri (HBsAg ve HBeAg) ve antikorları (anti-HBs, anti-HBc ve anti-HBe) ile belirlendi (103-105).

Tedavi öncesi 1 yıl içinde immünsüpresif veya antiviral tedavi alan hastalar, aynı zamanda HCV, HDV, HIV enfeksiyonları, karaciğer sirozu, HBV dışında diğer karaciğer hastalıkları olan, hamilelik, malignite, kronik renal yetmezlik veya bunlarla karışabilen diğer ciddi medikal hastalıklar çalışma dışı bırakıldı.

Hastalar lamivudin ve telbivudin tedavisi alanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. AASLD, APASL ve EASL kılavuzlarının önerilerine uygun şekilde 0.,1. ve 6. ay kontrollerinde ayrıntılı fizik muayenenin yanı sıra hemogram, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) gibi karaciğer hasarı ve nekrozu ile ilişkili testleri, alkalen fosfataz (ALP), gama glutamil transpeptidaz (GGT) gibi kolestaz testleri, total ve direk bilirubin gibi karaciğerin organik anyon transportu ve ilaç metabolizasyon kapasitesi ile ilgili testleri ve total protein, albümin ve protrombin zamanı gibi karaciğerin biyosentetik kapasitesini gösteren testleri kayıt edildi.

### **3.2. HBV DNA'nın Kantitatif Tespiti**

Serum HBV DNA yükü, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu esaslı olan; COBAS Taqman HBV test (Roche Diagnostic, ABD) sistemi kullanılarak çalışıldı. Bu test serum ve plazmadaki HBV DNA'nın kantitatif tespitinde kullanılan gerçek zamanlı bir nükleik asit amplifikasyon testidir. A'dan H'ye kadar sekiz genotipi saptayabilen oldukça duyarlı, geniş dinamik aralığa sahiptir.

### **3.3. Periferik Lenfositler ve Subgruplarının Flowsitometri ile Analizi**

Periferik kan lenfosit fenotipleri Beckman Coulter tarafından önerilen immünoflürans prosedürünü izleyerek analiz edildi. Kısaca, CD19<sup>+</sup> B lenfositleri, CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> Natural Killer Hücreler, CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup> NKT Hücreler, CD3<sup>+</sup> T lenfositleri, CD4<sup>+</sup> Yardımcı T lenfositleri, CD8<sup>+</sup> T lenfositleri, CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> aktive sitotoksik T lenfositleri, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> sitotoksik T lenfositleri alt gruplarını belirlemek için, FITC, PE, ECD, PC5 ve PC7 florokromları ile işaretli fare anti-insan monoklonal antikorlarından Beckman Coulter (İmmünotech, Marsilya Fransa)10 mikrolitre alınarak, periferik kan örnekleri ile oda sıcaklığında ve karanlıkta 15 dakika inkübe edildi. Eritrositler İmmünoPrep (Beckman Coulter, Miami, FL, USA) cihazı kullanılarak parçalandı ve 488 nm Argon iyon lazer ile donatılmış Beckman Coulter Cytomics FC500 beş renkli flow sitometri cihazında örnekler incelendi. Her analiz için 30000 hücre toplandı. Kaluza (sürüm 1,0) akım sitometre analiz yazılımı (Beckman Coulter, Miami, FL, ABD) lenfositlerin fenotipik analizi değerlendirmek için kullanıldı.

### **3.4. Seroloji ve Karaciğer Fonksiyon Testleri**

Serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve bilirubin düzeyleri dâhil biyokimyasal incelemeler rutin otomatik teknikler ile test edildi. Hepatit B belirteçleri (HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, Anti-HBcAb IgM) saptamak için enzim immünofloresan testi kullanıldı. Deneysel yöntemler reaktif kiti içinde açıklanan kurallarına göre yapıldı.

### **3.5. Histopatolojik değerlendirme**

Tedavi başlangıcında alınan karaciğer biopsi materyelleri dünyada ve ülkemizde en sık kullanılan İşhak ve arkadaşlarının 1995 yılında yayınladıkları Modifiye Knoddel Sistemi' ne göre fibrozis-evre skoru olarak kayıt edildi.

### **3.6. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel değerlendirme SPSS 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum), kategorik yapıdaki veriler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler bakımından grupların karşılaştırılması Ki-kare testi ile yapıldı. Sayısal değişkenler bakımından iki grubun karşılaştırılmasında parametrik test varsayımları sağlandığında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, sağlanmadığında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tekrarlı lmler, parametrik test varsayımları sağlandığında tekrarlı ölçümlerde varyans analizi ile sağlanmadığında ise Friedman testi ile değerlendirildi. Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonrasında, alt grupların ikişerli karşılaştırılması Bonferroni testi ile Friedman testinden sonra ikili karşılaştırmalar Dunn testi ile yapıldı ve  $p<0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Toplam 31 hasta çalışmaya dâhil edildi. Telbivudin tedavisi alan 16 hastanın 9 (%56,3)' u erkek, 7 (%43,8)' si kadın, lamivudin alan 15 hastanın 7 (%46,7)'si erkek, 8 (%53,3)' i kadındı (Tablo 14). Her iki grup yaş ve cinsiyet bakımından benzerdi ( $p>0,005$ ). Hastaların ortalama yaşı  $42,8 \pm 12,2$  iken telbivudin ve lamivudin gruplarında bu değer sırasıyla  $41,06 \pm 10,5$ ,  $44 \pm 13,9$  idi. Başlangıçta her iki grubun hemoglobin, AST, ALT, GGT, ALP, total ve direk bilirübin değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası anlamlı fark saptanmadı. Her iki gruptaki hastaların Child skorları A, MELD skorları 6 olarak belirlendi. Hastaların tedavi öncesi yapılan karaciğer histopatoloji sonuçları ile değerlendirildiğinde ise her iki grubun fibrozis evre skorlarında anlamlı fark bulunmadı. Hastaların karakteristik özellikler tablo 14'te verilmiştir.

**Tablo 14.** Hastaların Karakteristik Özellikleri

Karakteristik özellikler	Telbivudin(n=16)	Lamivudin(n=15)
Cinsiyet E/K	9/7	7/8
Yaş	$41,06 \pm 10,5$	$44 \pm 13,9$
Hgb (gr/dl)	$14,1 \pm 1,2$	$13,5 \pm 1,7$
ALT(U/L)	$43,5 \pm 43,1$	$35 \pm 24,7$
AST(U/L)	$35,2 \pm 39,8$	$24,3 \pm 8,2$
ALP(U/L)	$75,3 \pm 17,8$	$72,5 \pm 15,8$
GGT(U/L)	$23,8 \pm 12,9$	$28,8 \pm 25,2$
T.Bil/D.Bil	$0,54 \pm 0,22 / 0,22 \pm 0,08$	$0,62 \pm 0,18 / 0,24 \pm 0,08$
HBV DNA(IU/ml)	$315595,44 \pm 717090,981$	$323155,20 \pm 621544,86$
<b>Histopatolojik Evre</b>		
Evre 1 fibrozis	%6,2 (1/16)	--
Evre 2 fibrozis	%17,6 (3/16)	%(46,6)
Evre 3 fibrozis	%56,2 (9/16)	%(40)
Evre 4 fibrozis	%17,6 (3/16)	%(13,3)

Telbivudin lamivudin gruplarındaki hastaların T hücre altgrupları başlangıç değerlerine göre analiz edildi. İki grup arasında başlangıç T lenfosit alt grupları arasında anlamlı fark yoktu.

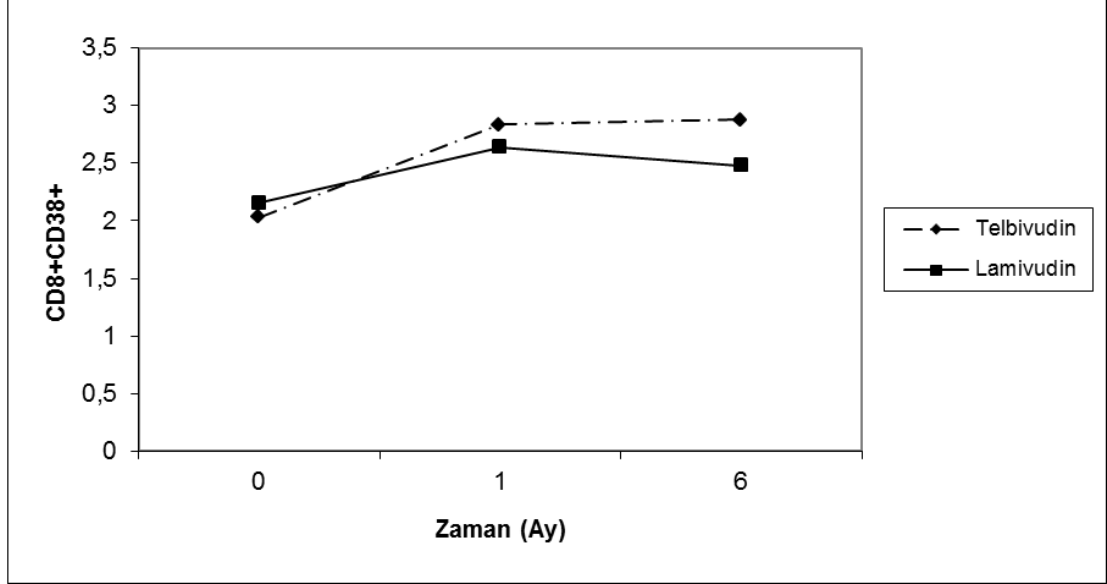
**Tablo 15:** Başlangıç T lenfosit altgrup değerleri.

T lenfosit altgrupları	Telbivudin	Lamivudin
Beyaz küre $10^9/L$	6,5 ± 1,9	7,6 ± 1,4
Lenfosit(%)	37 ± 11,3	34,4 ± 6,9
Monosit(%)	8,6 ± 2,3	7,5 ± 1,3
Granülosit(%)	50,3 ± 12,3	54,5 ± 6,8
B hücreleri	13 ± 4,1	12,2 ± 3,8
NK	14,4 ± 4	13,7 ± 5,2
NKT	6,3 ± 3,7	4,8 ± 3,8
CD3 <sup>+</sup> T hücreler	62,5 ± 5,3	64,2 ± 6
CD4/CD8 oranı	1,8 ± 0,5	2,2 ± 0,7
CD8 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> T hücreler	2 ± 1,1	2,1 ± 0,4
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> T hücreler	14,3 ± 7,3	10,6 ± 3,6

Telbivudin ve lamivudin gruplarındaki hastalar CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> düzeyleri ile incelendiğinde 0., 1. ve 6. aylarda her iki grup arasında anlamlı fark yoktu. Bu değerler 0., 1. ve 6. aylar için sırası ile p=0,707, p=0,644, p=0,419 idi. Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiklerinde ise her iki grupta 0. ile 1. aylar arasında zaman ile artış yönünde anlamlı fark olmasına karşı 0. ile 6. ay ve 1. ve 6. aylar arasında anlamlı fark saptanmadı. Telbivudin grubunda 0. ve 1. aylar için p=0,018, 0. ve 6. aylar için p=0,072, 1. ve 6. aylar için p=1,000' dı. Lamivudin grubunda ise bu değerler 0. ve 1. aylar için p=0,004, 0. ve 6. aylar için p=0,098, 1. ve 6. aylar için p=0,751' di.

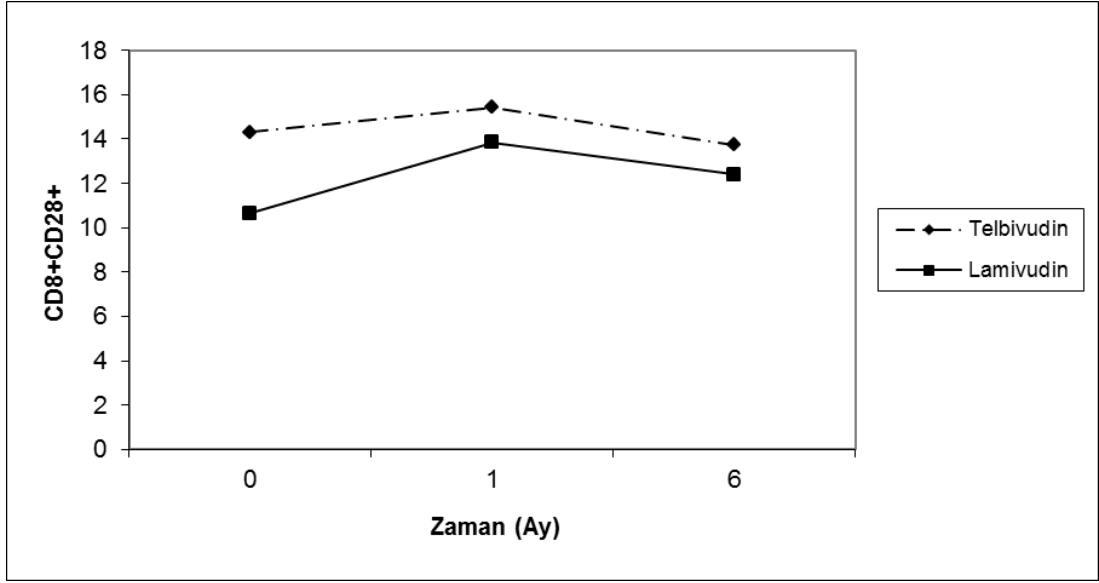


**Şekil 4.** Telbivudin ve lamivudin gruplarındaki hastaların 0., 1. ve 6. Aylardaki CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> değişimi



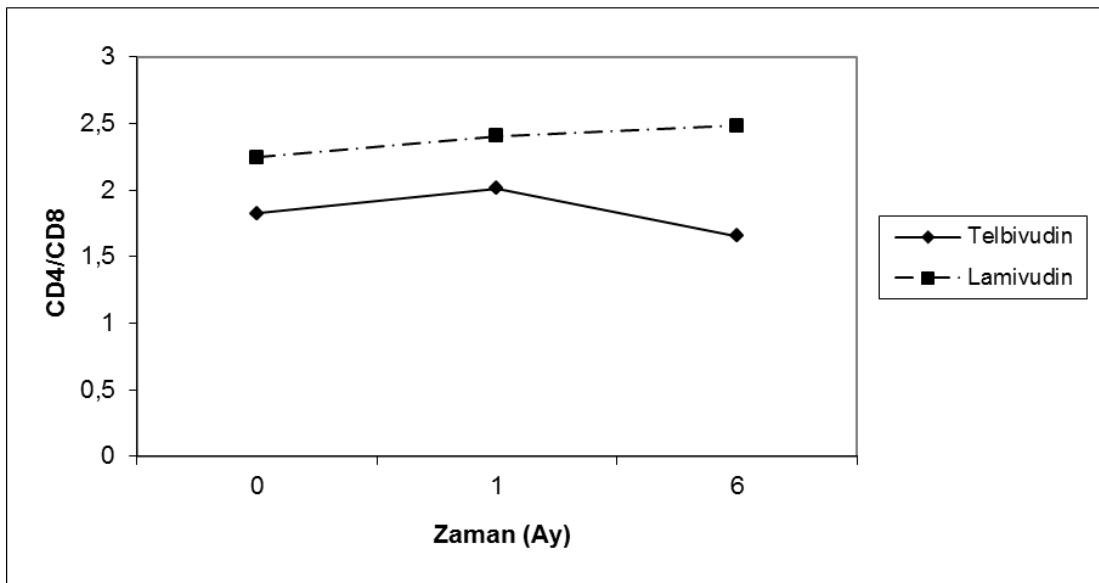
Grupların CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> düzeyleri incelendiğinde 0., 1. ve 6. aylarda her iki grup arasında anlamlı fark yoktu. Bu değerler 0., 1. ve 6. Aylar için sırası ile p=0,086, p=0,740, p=0,390 idi. Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiklerinde ise her iki grupta 0. ile 1. aylar arasında zaman ile artış yönünde anlamlı fark olmasına karşı 0. ile 6. ay ve 1. ve 6. aylar arasında anlamlı fark saptanmadı. Telbivudin grubunda 0. ve 1. aylar için p=0,040, 0. ve 6. aylar için p=0,231, 1. ve 6. aylar için p=1,000' dı. Lamivudin grubunda ise bu değerler 0. ve 1. aylar için p=0,035, 0. ve 6. aylar için p=0,259, 1. ve 6. aylar için p=0,870' di.

**Şekil 5.** Telbivudin ve lamivudin gruplarındaki hastaların 0., 1. ve 6. Aylardaki CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> değişimi



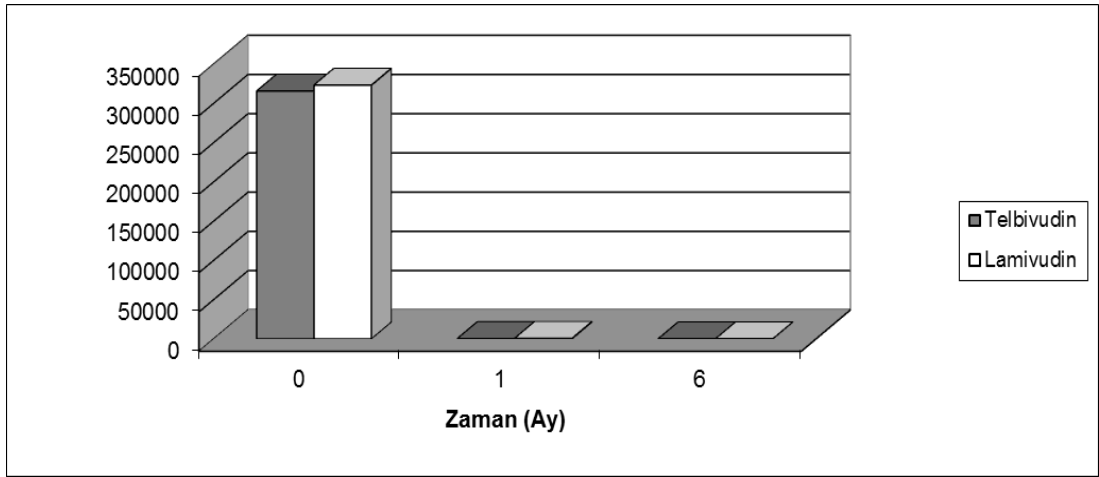
CD4/CD8 oranı değerlerinde telbivudin ve lamivudin grupları arasında 0., 1. ve 6. aylarda anlamlı fark saptanmadı. 0. ay p=0,097, 1. ay p=0,281, 6. ay p=0,650. Zaman içindeki değişimleri incelendiğinde her iki grupta fark gösterilmedi. Telbivudin grubunda p=0,097, lamivudin grubunda p=0,395

**Şekil 6.** Telbivudin ve lamivudin gruplarındaki CD4/CD8 oranlarının zaman içindeki değişimi



Grupların başlangıç (0. Ay) HBV DNA değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı  $p=0.953$ . 1. ve 6. Aylarda her iki grupta ölçülemeyecek düzeylere düşen HBV DNA larinin her iki grupta ki değerleri incelendiğinde bu aylarda da anlamlı fark bulunmadı. Bu değerler 0., 1. ve 6. aylarda sırasıyla  $p=0,953$ ,  $p=0,892$ ,  $p=0,984$ ' di. HBV DNA' nın 0., 1., ve 6. aylar içindeki grupların kendi içlerindeki ardışık değişimlerine bakıldığında anlamlı fark saptandı. Bu değerler Telbivudin grubunda 0. ve 1. aylar için  $p<0,001$ , 0. ve 6. aylar için  $p<0,001$ , 1. ve 6. aylar için  $p=1,000$ ' dı. Lamivudin grubunda ise bu değerler 0. ve 1. aylar için  $p= p<0,001$ , 0. ve 6. aylar için  $p<0,001$ , 1. ve 6. aylar için  $p=1,000$ ' di.

**Şekil 7.** HBV DNA değerlerinin 0., 1. Ve 6. Aylardaki değişimi



## 5. TARTIŞMA

Kronik viral hepatit B, önemli bir halk sağlığı problemidir. Tüm dünyada 350 milyonun üzerinde insanı etkilediği düşünülmektedir. Karaciğer sirozu, hepatosellüler karsinom gibi komplikasyonlara bağlı yıllık bir milyonun üzerinde ölüme neden olan kronik viral hepatit B progresif bir hastalık olmakla birlikte hastalık etkeni olan hepatit B virüsü, sitopatik olmayan bir virustur (134, 135, 136). Hepatit B enfeksiyonuna bağlı klinik sonuçlar konak immün yanıtının gücüne ve kalitesine bağlı ortaya çıkmaktadır. Hücresel bağışıklık HBV enfeksiyonuna bağlı sonuçların ortaya çıkmasında kritik rol oynamaktadır (2, 3). Özellikle HBV' ye karşı HBV özgül CD8<sup>+</sup> T hücre yanıtının viral klirens ve hastalık patogenezinde belirleyici role sahip olduğu düşünülmektedir (137,138).

T hücre aktivasyonu için 2 sinyal gerekmektedir. Bunlardan bir tanesi MHC molekülü ile hücre yüzeyinde sunulan antijenin T hücre reseptörü (TCR)' nün bağlanmasıdır. TCR ile hücre yüzeyi arasındaki etkileşim tek başına naif ve bellek CD8<sup>+</sup> T hücrelerin optimal aktivasyonu için yeterli olmamaktadır (139). Genellikle T hücrelerin tam aktivasyon ve yaşayabilmeleri için ikinci bir sinyal (eş uyaran) gerekmektedir. Dolayısı ile en iyi tanımlanmış eş uyaran olan CD28<sup>+</sup> ile antijen sunucu hücre (APC) yüzeyindeki CD86 veya CD80 arasındaki etkileşimdir (139,140). CD28 temel eş uyaran molekül olup, T hücrelerini aktive ederek naif CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin proliferasyonunu ve sitotoksik T lenfositlere (CTL) ve memory CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin farklılaşmasına neden olmaktadır (140). CTL enfekte hücrelerde apoptoza neden olarak hücre ölümünde rol almaktadır (140).

Enfekte hücreler ile T lenfositler arasındaki etkileşim ile ortaya çıkan aktivasyon sonucu T lenfosit altgruplarında da değişiklikler olmaktadır. T lenfosit altgruplarından CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> Sitotoksik T hücre aktivasyonunu yansıtmaktadır (141,142). Cao ve ark. tarafından yapılan çalışmada adefovir tedavisine yanıt alınan 13 hepatit B hastasında T lenfosit altgruplarının dinamikleri 72 haftalık bir takip sonuçları ile incelenmiş. Hepatit B hastaları, hepatit B taşıyıcıları ve kontrol grupları karşılaştırıldığında CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücreleri kronik hepatit B hastaları ve HBV taşıyıcılarında kontrol grubundaki hastalara göre daha düşük bulunmuş. T hücre altgruplarında ise her üç grup arasında anlamlı fark gözlenmemiş. CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> T

hücreleri düzeylerine bakıldığında, kronik hepatit B hasta grubunda, HBV taşıyıcıları ve sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık gösteren yükseklik saptanmıştır. 72 haftalık takip sonrasında adefovir tedavisi ile viral yükteki azalmaya paralel  $CD8^+CD38^+$  T hücrelerinde de tedavi öncesi  $53,9\pm 18,4$  oranlarından  $20,1\pm 11,3$  oranlarına düştüğünü gözlemlemişler. T hücre aktivasyon parametrelerinden olan  $CD8^+CD38^+$  T hücrelerindeki bu düşüşü viral yükteki azalmaya ve adefovir tedavisinin etkileşimine bağlı olduğu düşünülmüş. Çalışmalarında  $CD8^+CD28^+$  ve  $CD8^+CD38^+$  T hücre düzeyleri kronik hepatit B ve HBV taşıyıcısı gruplarında düşük olmakla birlikte kontrol grubuna göre anlamlı fark göstermemiş. Adefovir tedavisi öncesi ve sonrasında  $CD8^+CD28^+$  ve  $CD8^+CD38^+$  T hücre düzeyleri anlamlı fark göstermemiş (142).

Tilling ve ark. 131 insan immün yetmezlik virüsü (HIV)' lü hastada en uzun 96 haftalık takip sonuçlarını değerlendirdikleri çalışmada hastalara antiviral tedavi olarak zidovudin, lamivudin, abacavir ve amprenavir başlanmış. Antiviral tedavi öncesi  $CD8^+CD38^+$  T hücre değerlerinin tedavinin ilk iki haftasında viral yükteki azalmaya paralel olarak bariz bir şekilde düştüğü görülmüş. Viral yük 52 kopya/ml altında sebat eden hastalarda  $CD8^+CD38^+$  T hücre düzeyleri HIV enfeksiyonunda rezidüel viral replikasyonun bir belirteci olabileceği ifade edilmiş (143). Ayrıca Lechner ve ark. yaptıkları bir çalışmada HCV enfeksiyonunda hepatosit hasarını gösteren ALT'nin maksimal yükselişi zamanında aktivasyon belirteci olan  $CD8^+CD38^+$  hücrelerinde yüksek olduğunu gözlemlemişler (144). T hücre aracılı antiviral immün yanıt aktivasyonunda kritik bir role sahip olan  $CD28^+$  en iyi bilinen bir eş uyaran belirteçtir. Li ve ark. 70 kronik hepatit B hastası üzerinde yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre  $CD8^+CD28^+$  düzeylerinin anlamlı fark göstermediğini tespit etmişler. Etkin bir antiviral tedavi altında hastalar takip edildiğinde 52. haftada başlangıç düzeyleri ile kıyaslandığında  $CD8^+CD28^+$  T hücrelerinin kronik hepatit B hastalarında artış gösterdiği gözlenmiş.  $CD8^+CD28^+$  /  $CD8^+CD28^-$  T hücre oranlarına bakıldığında bu oranların tedavi sürecinde HBV DNA düzeyleri ile ters bir ilişkisi ortaya konulmuş.  $CD8^+$  T hücrede  $CD28$  ekspresyonu ve  $CD8^+CD28^+$  /  $CD8^+CD28^-$  oranlarındaki anormalliklerin T hücre aktivasyon regülasyonu bozukluğunu yansıttığını ve bu durumun kronik viral hepatit B enfeksiyonu patogenezi ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (145).

Cao ve ark. kronik hepatit B hastalarında CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> düzeylerini sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlar. Kronik hepatit B hastalarını HBeAg pozitif ve HBeAg- negatif olmak üzere iki gruba ayırdıklarında ise bu iki grup arasında CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> düzeyleri arasında fark bulmamışlar. Serum HBV DNA düzeyleri ile CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> düzeyleri arasında kronik HBV hastaları arasında anlamlı fark bulunmamış. Eş uyaran moleküllerin yapımındaki anormalliklerin T hücre aktivasyonundaki regülasyon bozukluğunu yansıtıyor olması ve kronik HBV enfeksiyon şiddeti ve patogenezi ile ilişkili olduğunu belirtmişler (146).

Kronik viral hepatit B hastalarında doku hasarında asıl role sahip olduğu kabul edilen T lenfositlerin alt gruplarına bakıldığında bazı araştırmacılar CD8<sup>+</sup> T lenfosit oranının CD4<sup>+</sup> T lenfositler ile karşılaştırıldığında artış göstermesi sonucu CD4/CD8 oranının azaldığını göstermiş olmalarına rağmen (147, 148,149), bazı araştırmacılar anlamlı fark bulmamışlar (150,151).

Biz çalışmamızda antiviral tedavi altında kronik viral hepatit B hastalarındaki T lenfosit dinamiğini göstermeyi amaçladık. Telbivudin ve lamivudin tedavisi alan hastaların başlangıç, 1. ve 6. aylarda takiplerindeki T lenfosit alt gruplarını karşılaştırdık. Her iki grupta CD4/CD8 oranı benzerdi ve takiplerde de CD4/CD8 oranlarında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. T hücre aktivasyonunu düzenleyen önemli bir eş uyaran belirteci olan CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> düzeyleri iki grup arasında fark göstermediği gibi takip eden süreçte de bir ayda anlamlı derecede yüksek bulduk. Bir ve altıncı aylardaki değerlerde ise her iki grup için anlamlı fark yoktu. Aktive T lenfosit belirteci olan CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> düzeylerine bakıldığında her iki grupta anlamlı fark yoktu. Her iki grupta benzer olarak 1. ayda anlamlı derecede artış gözlenirken 6. aydaki değerler arasında anlamlı fark gözlemlenmedi. Telbivudin ve lamivudin tedavisi altında hastalarda takibin 1. ayında HBV DNA ölçülemeyecek düzeylere düşmekle birlikte 6. aya kadar bu şekilde sebat etmiştir. CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> T hücre düzeyleri viral yükteki azalma ile ters yönde, her iki grupta da 1. ayda artış dikkati çekti. Ancak viral yükteki ölçülemeyecek düzeyler devam ettiği halde CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> düzeylerindeki ilk bir aydaki bariz artışın ortadan kalktığı, bir plato çizdiği gözlemlendi. Bu durumun viral yük ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak önceki çalışmalardaki gibi uzun takip süremiz olmaması çalışmamızı kısıtlayan önemli bir faktördür. Her iki grupta benzer T lenfosit altgrup

değişikliklerinin olması telbivudin ve lamivudin antiviral tedavisinin T lenfosit dinamiğinde CD4/CD8, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> üzerine farklılık arz eden bir etkisi olmadığını düşündürmektedir.

## 6. SONUÇLAR

T hücre aktivasyonu, antiviral immün yanıtta, doku hasarı ve viral klirenste önemli bir rol oynamaktadır. Çalışmamızdaki bulgular kronik viral hepatit B hastalarında immün yanıtta kritik role sahip eş uyarıcı (CD28+) pozitif, CD8+ sitotoksik T hücreleri ile aktive T lenfosit belirteci olan CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> düzeylerinin viral yük ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir. Kronik viral hepatit B tedavisinde immün mekanizmalar üzerine yoğunlaşarak yeni tedavi modalitelerinin tedavi başarısını arttıracaklarını düşünmekteyiz. Bu konuda daha geniş kapsamlı ileri çalışmalara gereksinim vardır.



## 7. KAYNAKLAR

1. Ott JJ, Stevens GA, Groger J, Wiersma ST Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine* 2012 Mar 9;30(12):2212-9
2. WHO Executive board (2009) Viral hepatitis. Report by the Secretariat. EB126/15,12 November 2009
3. Thomas D, Zoulim F. New challenges in viral hepatitis. *Gut*. 2012 may;61 Suppl 1:i1-5
4. Mast EE, Margolis HS, Fiore AE, et al; Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children, and adolescents. *MMWR Recomm Rep*. 23;54 (RR-16): 1-31, 2005.
5. Alter MJ. Epidemiology and prevention of hepatitis B. *Semin Liv Dis* 2003;23:39-46
6. Nelson CB. Global and regional estimates of HBV-related disease burden. World Health Organization Regional Office for the Western Pacific's working group meeting on viral hepatitis B, Tokyo, Japan, 26-28 June 2002 (RS/2002/GE/05).
7. Kurbanov F1, Tanaka Y, Mizokami M. Genotype X/C recombinant (putative genotype D) of hepatitis B virus is rare in Hanoi, Vietnam--genotypes B4 and C1 predominate.
8. Kurbanov F1, Tanaka Y, Mizokami M. Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus.
9. Emekdaş G, Tezcan S, Aslan G, Serin MS, Sezgin O, Uçbilek E, Ulger M, Altıntaş E, Döğen A Determination of hepatitis B virus genotypes in chronic hepatitis B patients in Mersin province, Turkey. *Mikrobiyol Bul*. 2012 jul;46(3):432-445

10. Serin MS1, Akkiz H, Abayli B, Oksuz M, Aslan G, 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
11. Liu CJ, Kao JH, Chen DS. Therapeutic implications oh hepatitis B virüs genotypes. *Liver Int* 2005; 25: 1097-1107
12. Erhardt A, Blondin D, Hauck K, et al. Response to interferon to alfa is hepatitis B virüs genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut* 2005;54: 1009-1013.
13. Moucari R, Martinot-Peignoux M, Mackiewicz V, et al. Influence of genotype on hepatitis B surface antigen kinetics in hepatitis B e antigen-negative patients treated with pegylated interferon-alpha2a. *Antivir Ther* 2009;14: 1183-1188
14. Buster EH1, Hansen BE, Lau GK, Piratvisuth T, Zeuzem S, Steyerberg EW, Janssen HL. Factors that predict response of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B to peginterferon-alfa. *Gastroenterology* 2009;137:2002-2009
15. Kao JH1. Hepatitis B viral genotypes: clinical relevance and molecular characteristics. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17: 613-624
16. Tözün N, Özdoğan O, Çakaloğlu Y, et al. A Nationwide Prevalence Study and Risk Factors for Hepatitis A, B, C and D Infections in Turkey. The 61st Annual Meetin of the American Association fort he Study of Liver Diseases: The Live Meeting 2010. October 29-november 2 2010 Boston USA, poster no:789, *Hepatology* Vol 52 S1:697A
17. Torunoğlu MA. Türkiye’ de hepatit B hastalığının kontrolü. Hepatit aşılarında son durum. IX. Ulusal Viral Hepatit kongresi, 2008.
18. Tosun S. Türkiye’ de Viral Hepatit B: yayınlarının meta-analizi. *Viral Hepaiti Dergisi* 2013: 27-80

19. Alter HJ, Seeff LB, Kaplan PM, et al. Type B hepatitis: the infectivity of blood positive for e antigen and DNA polymerase after accidental needlestick exposure. *N Engl J Med* 1976; 295: 909-13.
20. Felek S. Karaciğer Ve Safra Yolları Enfeksiyonları. Sistemik Enfeksiyon Hastalıkları. İstanbul 2004. Nobel Tıp Kitabevi: 195-212.
21. Kanra G, Cengiz AB. Hepatit B Virüs Enfeksiyonu. *Katkı Pediatri Dergisi* 1998; 19: 610-19.
22. Yalçın K, Değertekin H, Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan. Akut Viral Hepatitler. *Gastroenteroloji Ankara. Türk Gastroenteroloji Vakfı* 2002: 467- 77.
23. Taşyaran MA, Tekeli E. HBV Enfeksiyonu Epidemiyolojisi. *Viral Hepatit* 2003. İstanbul 2003. Viral Hepatitle Savaşım Derneği: 121-28.
24. European guideline for the management of hepatitis B and C virus infections. *International Journal of STD & AIDS* 2010; 21: 669–67.
25. Rantala M, van de Laar MJ. Surveillance and epidemiology of hepatitis B and C in Europe a review. *Euro Surveillance Bull Eur Maladies Transmissibles Eur Commun Dis Bull* 2008; 13: 1560-69.
26. Urbanus AT, van Houdt R, van de Laar TJ, Coutinho RA. Viral hepatitis among men who have sex with men, epidemiology and public health consequences. *Euro Surveillance Bull Eur Maladies Transmissibles Eur Commun Dis Bull* 2009; 14: 1560-75.
27. Gilson RJ, de Ruitter A, Waite J, et al. Hepatitis B virus infection in patients attending a genitourinary medicine clinic: risk factors and vaccination coverage. *Sex Trans Inf* 1998;74: 110-15
28. Chisari, F.V. ve Ferrari, C., “Hepatitis B virus immunopathogenesis,” *Ann. Rev. Immunol.*, 13, 29-60, 1995.

29. Blumberg, B. S., "The discovery of Australia Antigen," Hepatitis B: The Hunt for Killer Virus, (Ed: Elworthy, S.) Princcenton University Pres, New Jersey, A.B.D., 72-83, 2002.
30. Dane, D.S., Cameron, C.H. ve Briggs, M., "Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis," Lancet, 4, 695-698, 1970.
31. Yenen OŞ: Viral hepatitler. Topçu AW, Söyletir G, Doganay M (Eds) İnfeksiyon Hastalıkları. 1. Baskı, İstanbul, Nobel Kitapevleri Ltd. Şti. 1996: 641–700.
32. Robinson WS: Hepadnaviridae and their replication. Fields BN, Knipe DM (Eds). Fundamenial Virology. 2 nd Ed. New York, Ravent Press, 1991; 989–1021.
33. Akan E: Viral hepatitler. Genel ve Özel Viroloji. 3. Baskı, İzmir, Saray Kitapevleri 1994; 502–549
34. Hollinger FB and Dienstag JL: Hepatitis B and D virusus, Manuel of Clinical Microbiology, 6th ed. (Ed: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH)'da, Washington DC, ASM Press, 1035–1044, 1999.
35. Bahn A, Hilberd K, Martine U, Westedt J, Von Weiz Sacker F, Wirth S; Selection of precore mutant after vertical transmission of different hepatitis B virus variants is correlated with fulminant hepatitis in infants, J Med Virol, 47: 336–41, 1995.
36. Ustaçelebi Ş. ve ark. Viroloji. Temel ve klinik mikrobiyoloji, 1999;18: 871–877
37. Ustaçelebi Ş, Ergünay K. Hepatit B virusunun moleküler virolojisi. Viral Hepatit 2007. Ed: Tekeli E, Balık İ, Tabak F. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını. İstanbul, 2007; 96-107
38. Torresi J, Locarnini S. Antiviral chemotherapy for the treatment of hepatitis B virus infections. Gastroenterology 2000; 118: 83-103
39. Ganem, D. ve Prince, A.M., "Hepatitis B virus infection–natural history and clinical consequences," N. Engl. J. Med., 350, 1118–1129, 2004.

40. Seeger, C. ve Mason, W.S., "Hepatitis B virus biology," *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 64, 51–68, 2000.
41. Jilbert AR, Burrell CJ, Triatni M, Kann M, Hepatitis B virus Replication. In: Lai CL, Locarnini S(eds). *Hepatitis B virus*, London: International Medical pres; 2002;43- 53
42. Wu J-C, Chen T-Z, Huang Y-S, et al: Natural history of Hepatitis D Viral Superinfection: Significance of Viremia Detected by Polymerase Chain Reaction. *Gastroenterology* 108: 796-802, 1995.
43. Kılıçturgay K. Viral Hepatitite İmmünopatogenez. In: Tekeli E, Balık (Eds.). *Viral Hepatit 2003*. 1. Baskı, İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği; 316-328, 1995.
44. Milich DR, McLachlan A. The nucleokapsid of hepatitis B virus both a T cell-independent and T cell-dependent antigen. *Science*, 234: 1398-1401, 1995.
45. Guidotti LG, Matzke B, Shaller H, et. al. High level hepatitis B virus replication in transgenic mice. *J Virol*, 69: 6158-6169, 1995.
46. Franco A, Guidotti LG, Hobbs MV, Chisari FV. Pathogenetic effector function of CD4<sup>+</sup> positive T helper cells in hepatitis B virus transgenic mice. *J Immunol*, 159: 2001-2008, 1997.
47. Koziel MJ. Immunology of viral heptitis. *Am J Med*, 100: 98-109, 1996.
48. Van Hecke E, Paradijs J, Molitor C, et. al. Hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocyte responses in patients with acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 20: 514-523, 1994.
49. Bilgiç A. Hepatit B Virüs ve Serolojik Tanı. *Aktüel Tıp Dergisi (Viral Hepatitler Sayısı)*, 2(3): 130-133, 2002.
50. Hatashi N, Mita E. Invlvement of Fas sytem-mediated apoptosis in pathogenesis of viral hepatitis. *J Viral Hepat*, 6: 357-365, 1999.

51. Kılıçturgay K. Viral Hepatitte İmmünopatogenez. In: Tekeli E, Balık (Eds.). Viral Hepatit 2003. 1. Baskı, İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 316-328, 1995.
52. Şentürk H. Kronik Hepatit B Tedavisi. Aktüel Tıp Dergisi (Viral Hepatitler Sayısı), 2 (3): 139- 142, 1997.
53. Dienstag JL, Isselbacher KJ. Acute viral hepatitis. In Braunwald E, Hauser SL, Fauci AS, Longo DL, Kasper DL, Jameson JL (eds.). Harrison's Principles of Internal Medicine, 15th ed, Vol, Macgraw Hill, Newyork; 1721-1737, 2001.
54. Dündar H, Saltoglu N. Hepatit Viruslarında Mutayon ve Getirdiği Sorunlar. In: Tekeli E, Balık (Eds.). Viral Hepatit 2003. 1.Baskı, İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 430-458, 2003.
55. Ferrari C, Urbani S, Boni C, Missale G. Hepatitis B: Why some recover and others don't. Acute and chronic liver diseases: Immunologic mechanisms and therapy. AASLD Postgraduate Course 45-51, 2002.
56. Thimme R, Bukh J, Spangenberg HC, Wieland S, Pemberton J, Steiger C, Govindarajan S, Purcell RH, Chisari FV. Viral and immunological determinants of hepatitis C virus clearance, persistence, and disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 99:15661-8., 2002
57. Lee WM. Hepatitis B virus infection, N Engl J Med 337: 1733-1745, 1997.
58. Amarapurkar DN, Amarapurkar AD. Extrahepatic manifestations of viral hepatitis. Ann Hepatol 1: 192-5, 2002.
59. Şenol E. Hepatit B. Galenos Aylık Tıp Dergisi, 1(12): 12-17, 1998.
60. Kılıçturgay K. Akut Viral Hepatitler. Aktüel Tıp Dergisi (Gastroenteroloji ve Hepatoloji Özel Sayısı), 8(5): 25- 31, 2003.
61. Şenol E. Hepatit B. Galenos Aylık Tıp Dergisi, 1(12): 12-17, 1998.

62. Krawitt EL. Chronic Hepatitis. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds.). Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th Ed. New York: Churchill-Livingstone; 1153-1159, 2003.
63. Kurt H. Hepatit B Virüs Enfeksiyonu. In: Tekeli E, Balık (Eds.). Viral Hepatit 2003. 1.Baskı, İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 129-134, 2003.
64. Mc Mahon BJ. Chronic hepatitis B virüs infection. Med Clin North Am 2014;98:39-54
65. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D, Hadziyannis E. The course of chronic hepatitis B virüs infectionand its management. Adv Phrmacol 2013;67: 247-92
66. Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, et al. Managment of hepatitis B: summary of a clinical research work shop. Hepatology 2007;45: 1056-75
67. Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B virüs infection. Lancet 2009;373:582-92
68. Kuo A, Gish R, Chronic hepatitis B virüs infection. Clin Liver Dis. 2012;16: 347-69
69. Liaw YF, Natural history of Chronic Hepatitis B virüs infection. In: Thomas HC, LOK ASF, Locarnini SA, Zuckerman AJ. Viral Hepatitis. 1st ed. Oxford: Wiey-Blackwell; 2014.p.143-53
70. Tran TT, Immune tolerant Hepatitis B: A clinical dilemma. Gastroent Hepatol 2011;7: 511-6
71. Lai M, Liaw YF. Chronic hepatitis B: past, present, and future. Clin Liver Dis. 2010;14: 531-46
72. Wursthorn K, Manns MP, Wendemeyer H. Natural history: the importance of viral load, liver damage and HCC. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2008;22: 1063-79
73. Tong MJ, Hsu L, Hsien C, et al. A comparison of hepatitis B viral markers of patients in different clinical stages of chronic infection. Hepatol Int 2010;4: 516-22

74. Mc Mahon BJ. Natural history of Chronic Hepatitis B. Clin Liver Dis. 2010;14: 381-96
75. Alexopoulou A. Mutans in the precore, core promoter, and core regions of hepatitis B virus, and their clinical relevance. Ann Gastroenterol 2009; 22: 13-23
76. Liaw YF, Brunetto MR, Hadziyannis S. The natural history of Chronic Hepatitis B virus infection and geographical differences. Antivir Ther 2010;15(Suppl 3):25-33
77. Hatzakis A, Van Damme P, Alcorn K, et al. The state of hepatitis B and C in the Mediterranean and Balkan Countries: report from a summit conference. J Viral Hepat 2013;20(Suppl 2):1-20
78. Martinot-Peignoux M, Lapalus M, Asselah T, Marcellin P. The role of HBsAg quantification for monitoring natural history and treatment outcome. Liver Int 2013;33(Suppl 1):125-32
79. Yuen MF, Wong DK, Fung J, et al. HBsAg seroclearance in chronic hepatitis B in Asian patients: replicative level and risk of hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 2008;135:1192-9
80. Hsu A, Lai CL, Yuen MF. Update of risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus infection. Curr Hepatitis Rep 2011;10: 106-11
81. Iloeje UH, Yang HI, Chen CJ. . Natural history of Chronic Hepatitis B: what exactly has REVEAL revealed? Liver Int 2012;32: 1333-41
82. McClune AC, Tong MJ. Chronic hepatitis B and hepatocellular carcinoma. Clin Liver Dis. 2010;14: 461-76
83. Chang MH. Prevention of hepatitis B virus infection and liver cancer. Recent results cancer res 2014;193: 75-95
84. Liaw YF. Natural history of chronic hepatitis B virus infection and long term outcome under treatment. Liver Int 2009;29: 100-7



85. Dienstag JL, Isselbacher KJ. Acute viral hepatitis. In Braunwald E, Hauser SL, Fauci AS, Longo DL, Kasper DL, Jameson JL (eds.). Harrison's Principles of Internal Medicine, 15th ed, Vol, Macgraw Hill, Newyork; 1721-1737, 2001.
86. Özdemir D, Cesur S, Çiftçi A, Balık. Kronik hepatit B'li hastalarda HBV DNA'nın önemi. *Viral Hepatit Derg* 1: 279–80, 2001.
87. Hodinka RL. Laboratory diagnosis of viral hepatitis. *Viral Hepatitis- Diagnosis, Therapy, and Prevention*. New Jersey: Humana Press 1999: 193-204.
88. Kurt H, Tekeli E, Balık İ. Hepatit B virus enfeksiyonu. *Viral Hepatit 2003*. Ankara, viral hepatitle savaşım derneği 2003; 129-34.
89. Feistone SM, Unoura M, Kobashi K, Hattor N and Purcell RH. Detection of serum Hepatitis B DNA in patients with chronic hepatitis using the polymerase chain reaction assay. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86: 312-316, 1989.
90. Urdea MS, Synthesis and charecterization of branched DNA (b DNA) for the direct and quantativ detection of CMV, HBV, HCV and HIV, *Clin Chem* 39: 725-726, 1989.
91. Hollinger FB: Hepatitis B Virus, *Fields Virology* 3rd ed. (Ed: Fields BW, Kripe DM, Howley PM) , 2: 2738–2761, 1995.
92. Badur S. Hepatit B virusu (HBV) moleküler biyoloji ve serolojik tanı, *Viral Hepatit*
93. Bilgiç A, Özaçar T. Hepatit B virus, Topçu AW, Söyletir G, Doanay M (eds). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2*, stanbul. Nobel Tıp Kitabevleri 2002; 1350-70. 41
94. Curry MP, Chopra S. Acute Viral Hepatitis. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone. 2005: 1426-41.
95. Hu K-Q. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *Journal of Viral Hepatitis* 9: 243-257, 2002.

96. Wright TL, Mamish D, Combs C, et al. Hepatitis B virus and apparent fulminant non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1992; 339: 952-55.
97. Curry MP, Chopra S, Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2005: 1426-41.
98. Curry MP, Chopra S, Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2005: 1426-41.
99. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 351-66.
100. Bismuth H, Samuel D, Castaing D, et al. Orthotopic liver transplantation in fulminant and subfulminant hepatitis. The Paul Brousse experience *Ann Surg* 1995; 222: 109-19.
101. Emond JC, Aran PP, Whittington PF, Broelsch CE, Baker AL. Liver transplantation in the management of fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 1989; 96: 1583-88.
102. Lok ASF, McMahon B. J. Chronic Hepatitis B: Update 2009, AASLD practice Guidelines *Hepatology* 2009; 50 :1-38
103. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 2012; 57(1):167-185
104. Lok AS, McMahon BJ Chronic hepatitis B; update 2009. *Hepatology* 2009; 50(3):661-662
105. Liaw YF, Kao JH, Piratvisut T, Chan HLY, Chien RN, Liu CJ et al. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis b: a 2012 update. *Hepatology International* 2012;6(3):531-561
106. Eddleston ALWF and Dixon B. Interferons in the treatment of chronic viral infection of the liver, 1. edit, UK, Pennine Press 1990.
107. Dianzani F, Antonelli G, Capobianchi MR. The biological basis for the clinical use of interferon. *J Hepatol* 5-10, 1990.

108. Perillo RP: Acute flares in chronic hepatitis B. The natural and unnatural history of an immunologically mediated liver disease. *Gastroenterology* 2001; 120:1009-1022
109. Dienstag, JL, Schiff, ER, Wright, TL, et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *N Engl J Med* 1999; 341:1256
110. Schalm SW, Heathcote J, Cianciara J et al. International Lamivudine Study Group. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. *Gut* 2000;46: 562–568
111. Yamazhan T. Kronik hepatit B tedavisinde güncel durum. *Ankem Derg* 2011;25:234-7.
112. Schalm SW, Heathcote J, Cianciara J et al. International Lamivudine Study Group. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. *Gut* 2000;46: 562–568
113. Chayama K, Suzuki Y, Kobayashi M, et al. Emergence and takeover of YMDD motif mutant hepatitis B virus during long-term lamivudine therapy and retakeover by wild type after cessation of therapy. *Hepatology* 1998;27: 1711-16.
114. Pas SD, Man RAD, Fries E, et al. The dynamics of mutations in the YMDD motif of the hepatitis B virus polymerase gene during and after lamivudine treatment as determined by reverse hybridisation. *J Clin Virol* 2002; 25: 63-71.
115. Tacke F, Gehrke C, Luedde T, et al. Basal core promoter and precore mutations in the hepatitis B virus genome enhance replication efficacy of lamivudine-resistant mutants. *J Virol* 2004;78:8524-35.
116. Dienstag J, Lai CL, Schiff E, et al. Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin Infect Dis* 2003;36: 687-96.

117. Yenice N, Mehtap Ö, Arıcan N, Gökden Y. Kronik hepatit B enfeksiyonunda lamivudin monoterapisi, interferon alfa monoterapisi ve kombinasyon tedavisi. Akademik Gastroenteroloji Dergisi 2006;5: 31-5.
118. Lok ASF, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. Hepatology 2007;45: 507-39.
119. Köksal İ. Kronik hepatit B’de genel tedavi yaklaşımı. In: Tabak F, Tosun S (eds). Viral hepatit 2013. Viral Hepatitle Savaşım Derneği. 1.baskı. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2013. 247-53.
120. Leblebicioğlu H,Usluer G,Ulusoy S;Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler; Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara,2008;585-591
121. Xu XW, Chen YG. Current therapy with nucleoside/nucleotide analogs for patients with chronic hepatitis B. Hepatobiliary Pancreat Dis Int 2006;5: 350-9.
122. Gallant JE, Deresinski S. Tenofovir disoproxil fumarate. Clin Infect Dis 2003;37: 944-950
123. Ristig MB, Crippin J, Aberg JA et al. Tenofovir disoproxil fumarate therapy for chronic hepatitis B in human immunodeficiency virus/hepatitis B viruscoinfected individuals for whom interferon alpha and lamivudine therapy have failed. J Infect Dis 2002;186:1844-1847
124. Peters MG, Andersen J, Lynch P et al. Randomized controlled study of tenofovir and adefovir in chronic hepatitis B virus and HIV infection: ACTG A5127. HEPATOLOGY 2006; 44: 1110-1116
125. Eroğlu C. Hepatit B Virüsünde Antiviral Direnç (Tanımlar, Mekanizmalar, Sıklık) Köksal Ğ, Leblebicioğlu H (eds.) Kronik Hepatitlerin Tanı ve Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. Bilimsel Tıp Ankara, 2009: 134-150
126. Jenh AM, Pham PA. Tenofovir disoproxil fumarate in the treatment of chronic hepatitis B. Expert Rev. Anti Infect Ther 2010; 8: 1079-1092. 59

127. Lok AS, McMahon BJ. Chronic Hepatitis B: Update 2009, American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2009; 3: 661-662
128. Carey I, Harrison PM. Monotherapy versus combination therapy for the treatment of chronic hepatitis B. *Expert Opin Drugs* 2009; 18: 1655-66
129. Yamazhan T, kronik hepatit b tedavisinde güncel durum; *ANKEM Derg* 2011;25(Ek 2):234-237
130. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; 45: 507-39.
131. Liaw YF, Leung N, Kao JH, et al. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatology International* 2008; 2: 263-83.
132. Emmet B. Keeffe, Douglas T. Dieterich, Steven-Huy B. Han, Ira M. Jacobson, Paul Martin, Eugene R. Schiff, Hillel Tobias. A Treatment Algorithm for the Management of Chronic Hepatitis B Virus Infection in the United States. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2008; 6: 1315–41.
133. Fung SK, Lok AS. Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection. *Hepatology* 2004; 40: 790-92.
134. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 24 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999;80: 827–41.
135. Maini MK, Boni C, Ogg GS, King AS, Reignat S, Lee CK, Larrubia JR, Webster GJ, McMichael AJ, Ferrari C, Williams R, Vergani D, Bertoletti A. Direct ex vivo analysis of hepatitis B virus-specific CD8(+) T cells associated with the control of infection. *Gastroenterology* 1999; 117: 1386-1396
136. Baumert TF, Thimme R, von Weizsäcker F. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 82-90

137. C. Boni, D. Laccabue, P. Lampertico et al., “Restored function of HBV-specific T cells after long-term effective therapy with nucleos(t)ide analogues,” *Gastroenterology*, vol. 143, no. 4, pp. 963–e9, 2012.
138. G. K. K. Lau, H. Cooksley, R.M. Ribeiro et al., “Impact of early viral kinetics on T-cell reactivity during antiviral therapy in chronic hepatitis B,” *Antiviral Therapy*, vol. 12, no. 5, pp. 705–718, 2007.
139. Strioga M, Pasukoniene V, Characiejus D. CD8+ CD28) and CD8+ CD57+ T cells and their role in health and disease *Immunology* 2011; 134, 17–32
140. D. Boćko, A. Kosmaczewska, L. Ciszak, R. Teodorowska, and I. Frydecka, “CD28 costimulatory molecule—expression, structure and function,” *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, vol. 50, no. 3, pp. 169–177, 2002.
141. Savarino A, Bottarel F, Malavasi F, Dianzani U. Role of CD38 in HIV-1 infection: an epiphenomenon of T-cell activation or an active player in virus/host interactions? *AIDS* 2000; 14: 1079-1089
142. Bofill M, Borthwick NJ. CD38 in health and disease. *Chem Immunol* 2000; 75: 218-234 Cao W, Qiu ZF, Li TS Parallel decline of CD8+CD38+ lymphocytes and viremia in treated hepatitis B patients *World J Gastroenterol* 2011 May 7; 17(17): 2191-2198
143. Tilling R, Kinloch S, Li-Ean Goh LE Parallel decline of CD8 /CD38 T cells and viraemia in response to quadruple highly active antiretroviral therapy in primary HIV infection *AIDS* 2002, 16: 589±596
144. Lechner F, Wong D K.H, Dunbar P.R Analysis of Successful Immune Responses in Persons Infected with Hepatitis C Virus *J. Exp. Med.* Volume 191, Number 9, May 1, 2000 1499–1512
145. Li X, Kong H, Tian L, Changes of Costimulatory Molecule CD28 on Circulating CD8+ T Cells Correlate with Disease Pathogenesis of Chronic Hepatitis B Hindawi Publishing Corporation *BioMed Research International* Volume 2014, Article ID 423181

146. Cao J, Zhang L, Huang S Aberrant production of soluble co-stimulatory molecules CTLA-4 and CD28 in patients with chronic hepatitis B *Microbial Pathogenesis* 51 (2011) 262e267
147. Thomas HC, Brown D, Routhier G et al. Inducer and suppressor T cells in hepatitis B virus induced liver disease. *Hepatology* 1982;2: 202-4.
148. Carella G, Chatenoud L, Degos F et al. Regulatory T cell subset imbalance in chronic active hepatitis. *J Clin Immunol* 1982; 2: 93-100.
149. Alexander GJM, Mondelli M, Naumov NV et al. Functional characterization of peripheral blood lymphocytes in chronic HBsAg carriers. *Clin Exp Immunol* 1986; 63: 498-507.
150. Robaeys G, De Groote J, Vandeputte M. Suppressor cell function in chronic liver disease. *Lancet* 1983; 2: 342.
151. Regeustein FG, Roodman ST, Perillo ST. Immunoregulatory T cell subsets in chronic hepatitis B virus infection: the influence of homosexuality. *Hepatology* 1983; 3: 951-4.

## 8. EKLER

### Ek 1. Etik Kurul Onayı



**T.C.  
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ  
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı**

TOPLANTI TARİHİ : 30/10/2012  
TOPLANTI NO : 2012/21

#### KARARLAR :

- 9- B.E.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Sevil UYGUN İLİKHAN'ın sorumluluğunda yapılacak olan 2012-127-30/10 Protokol no'lu "Kronik Hepatit B Hastalarında Viral Dinamiğin ve T.Hücre Alt Gruplarındaki Değişimin Araştırılması" konulu çalışmanın Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

**A S L I G İ B İ D İ R**

**Doç. Dr. Banu DOĞAN GÜN**  
B.E.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı