

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HEPATİT B VİRÜSÜNE (HBV) BAĞLI KARACİĞER YETMEZLİĞİ
NEDENİYLE KARACİĞER TRANSPLANTASYONU YAPILAN
HASTALARDA UZUN DÖNEMDE HBIG (HEPATİT B İMMÜNGLOBULİN)
+ LAMİVUDİN PROFLAKSİSİNİN ETKİNLİĞİNİN VE KARACİĞER
DOKUSUNDA HBV VARLIĞININ PCR (*POLYMERASE CHAIN REACTION*)
İLE RETROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Deniz MUT

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Zeki KARASU

İZMİR 2014

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimin başlangıcından itibaren güler yüz ve hoşgörüsüyle hep yanımda olduğunu hissettiren, daha iyi bir çalışma ortamı sunan ve deneyimleri ile eğitim hayatıma birçok katkısı olan başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Fehmi Akçiçek olmak üzere kliniğimizin çok değerli öğretim üyelerine,

Bilgi ve tecrübeleriyle daha doğru, daha üstün bir bakış açısı kazandıran, tez çalışmamın belirlenmesi ve sonuçlanması sürecinde desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanı hocam Sayın Prof. Dr. Zeki Karasu'ya,

Hastalarımızın laboratuvar sonuçlarına erişimimizde bize yardımcı olan Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Selda Erensoy'a,

Gerek gastroenteroloji rotasyonum boyunca gerekse sonraki uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan Sayın Yrd. Doç. Dr. İlker Turan'a,

Fikir alışverişinde bulunduğum, sıkıntı ve sevinçleri paylaştığım tüm çalışma arkadaşlarıma,

Bıkmadan usanmadan yardımına koşan, her zaman sabırla yanımda olan Uzm. Dr. Zeki Gökhan Sürmeli'ye ve desteklerini hiç esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Dr.Deniz MUT

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	v
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÖZET	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	4
2.1 Hepatit B virüsü	4
2.1.1 Genom Yapısı	4
2.1.2 Replikasyon	7
2.1.2.1 HBV Mutantları	8
2.1.3 Patogenez ve İmmünoloji	12
2.1.4 Bulaş Yolları	13
2.1.5 Tedavi Seçenekleri	14
2.1.5.1 Pegile İnterferon Kullanımı	15
2.1.5.2 Oral Antiviral Tedavi	15
2.1.5.3 Karaciğer transplantasyonu	19
2.2 Nakil Sonrası HBV Rekürrensini Önlenmesi	21
2.2.1 HBV Rekürrensini Önlemek İçin Nakil Öncesi Tedavi	21
2.2.2 HBV Rekürrensini Önlemek İçin Nakil Sonrası Tedavi	22

2.2.2.1 HBIG ile Monoterapi	22
2.2.2.2 Lamivudin ile Monoterapi	24
2.2.2.3 Kombinasyon Tedavisi	25
2.2.2.4 HBIG içermeyen profilaksi rejimleri	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1 Hasta grubu.....	30
3.2 Yöntem	31
3.3 Serolojik değerlendirme	31
3.4 Doku HBV DNA varlığının değerlendirilmesi	32
3.5 İstatistiksel Analiz	33
3.6 Transplantasyon sonrası antiviral profilaksi.....	33
3.7 Transplantasyon sonrası immüsupresyon.....	33
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	42
6. KAYNAKLAR	51

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

TABLolar:

Tablo 1. Child-Turcotte-Pugh (CTP) sınıflaması.....	20
Tablo 2. Hasta grubunun klinik ve demografik bilgileri	35
Tablo 3. Nakil öncesi hasta serum viral belirteçleri	36
Tablo 4. Hasta özelliklerinin ve serolojik belirteçlerinin doku HBV DNA varlığına etkisi	37
Tablo 5. Nakil öncesi antiviral kullanımı ile doku HBV DNA varlığı ilişkisi.....	38
Tablo 6. Nakil sonrası kullanılan antiviral ilaçların doku HBV DNA varlığı ile ilişkisi	39
Tablo 7. Nakil sonrası kullanılan immünsupresif ilaçların doku HBV DNA varlığı ile ilişkisi	40
Tablo 8. Eksplant patoloji sonuçları ile doku HBV DNA varlığı ilişkisi.....	41
Tablo 9. Serum Anti-HBs düzeyi ile doku HBV DNA ilişkisi	41

ŞEKİLLER:

Şekil 1. HBV genom yapısı	5
Şekil 2. HBV replikasyon basamakları	8

KISALTMALAR DİZİNİ

HBIG	:	Hepatit B İmmünglobulin
HBV	:	Hepatit B Virüsü
HDV	:	Hepatit Delta Virüsü
HIV	:	Human Immunodeficiency Virus (İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü)
Anti HAV IgG	:	Hepatit A Virüsü İmmünglobulin G Antikoru
HBsAg	:	Hepatit B Yüzey Antijeni
HBeAg	:	Hepatit B Zarf Antijeni
HBcAg	:	Hepatit B Kor Antijeni
HBxAg	:	Hepatit B x Antijeni
AntiHBs	:	Hepatit B Yüzey Antikoru
AntiHBe	:	Hepatit B Zarf Antikoru
AntiHBc	:	Hepatit B Kor Antikoru
ORF	:	Open Reading Frame
cccDNA	:	Kapalı Kovalen Sirküler DNA
MELD	:	Model For End-Stage Liver Disease
CTP	:	Child-Turcotte Pugh
PCR	:	Polimerase Chain Reaction
mRNA	:	Messenger RNA
tRNA	:	Transfer RNA
iv	:	İntravenöz
im	:	İntramuskuler
AFP	:	Alfa Fetoprotein
CEA	:	Karsinoembriyonik Antijen

- IBM** : International Business Machines
- SPSS** : Statistical Package For Social Sciences
- ECDC** : Avrupa Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi

ÖZET

Kronik hepatit B enfeksiyonunun tedavisindeki ilerlemelere rağmen birçok hepatit B virüsüne (HBV) bağlı son dönem karaciğer yetmezliği hastasında karaciğer nakli tek seçenektir. Günümüzde nakil sonrası hepatit B immünglobulin (HBIG) ve oral antiviral ilaçların kullanılmasıyla HBV reenfeksiyonu neredeyse tamamen baskılanabilmektedir. Ancak halen transplantasyon sonrası HBV varlığının sürüp sürmediğini gösteren bir belirteç yoktur. Öyle ki; serum HBsAg ve HBV DNA negatif saptansa da karaciğer dokusunda viral replikasyonun devam ettiği gösterilen hastalar mevcuttur. Yapılan bazı çalışmalarda ise HBV reaktivasyon riskinin hepatositlerde total HBV DNA ve cccDNA varlığının devam etmesine bağlı olduğu öne sürülmüştür.

Biz de bu çalışmamızda hastanemizde uygulanan profilaktik tedavi modeli ile nakil sonrası hasta serumunda virüse ait serolojik bulgu saptanmasa bile karaciğer dokusunda HBV varlığının devam edip etmediğini saptamayı amaçladık. Bu nedenle 1998-2009 yılları arasında HBV'ye bağlı karaciğer sirozu nedeniyle karaciğer nakli yapılan, nakil sonrası en az 3 yılını doldurup serum viral belirteçleri negatif olan hastaların karaciğer dokusunda HBV DNA varlığını inceledik. Çalışmamızda 152 hastanın dosyası retrospektif olarak incelendi. İki hasta; karaciğer biyopsisi ile yeterli doku örneği alınamamış olduğundan çalışmaya dahil edilmedi. 150 hastanın tümünün biyopsi esnasında serum HBsAg ve HBV DNA'sı negatif iken 18'inin (%12) karaciğer biyopsisinde HBV DNA pozitif saptandı. İntrahepatik HBV DNA varlığının devam etmesinin; hastaların nakil öncesi serum viral belirteçlerinin durumu, hepatoselüler karsinom varlığı, aldıkları antiviral tedavinin farklılığı ve yine nakil sonrası aldıkları antiviral ve immünsupresif tedavinin farklılığı ile ilişkisi olmadığı görüldü.

Çalışmamızda hastalarımızın %12'sinde intrahepatik HBV DNA varlığının devam ettiği saptanmasına rağmen HBV rekürrensi izlenmemiş olması şu an için doku HBV DNA varlığının HBV rekürrensini tahmin etmede başarılı bir belirteç olmadığını göstermektedir.

1. GİRİŞ

Kronik hepatit B enfeksiyonunun tedavisindeki ilerlemelere rağmen, hepatit B virüsüne (HBV) bağlı son dönem karaciğer yetmezliği hastalarının çoğu için önde gelen tedavi seçeneği karaciğer naklidir. 1980'lerde kronik hepatit B'ye bağlı karaciğer yetmezliği olan hastalara yapılan karaciğer nakilleri % 80-100'e varan greft reenfeksiyonu nedeniyle hayal kırıklığı yaratmıştır (1). 1980'lerin sonlarında reenfeksiyonun önlenmesinde ve tedavisinde hepatit B immünglobulin (HBIG) ve ardından nükleos(t)id analoglarının kullanılması ile karaciğer nakli sonuçlarında anlamlı gelişmeler sağlanmış; HBV ilişkili siroza bağlı nakil yapılan hastalarda 1 yıllık genel sağkalım % 85, 5 yıllık sağkalım %75'e yükselmiştir (2).

Hepatit D süperenfeksiyonu, fulminan hepatik yetmezlik, transplantasyon öncesi HBeAg negatifliği ve saptanamayan serum HBV DNA düzeyi transplantasyon sonrası düşük reenfeksiyon oranları ile ilişkilidir. Bu durum fulminan hepatik yetmezlikte hızlı HBV klirensi, HDV süper enfeksiyonunda da HBV replikasyonunun baskılanmasına bağlıdır. Fakat transplantasyon sonrası düşük reenfeksiyon oranı ile ilişkili en önemli faktör nakil esnasındaki düşük virüs yüküne sahip olmaktır.

Karaciğer nakli sonrası hepatit B virüs reenfeksiyonunun yüksek oranlarda olmasının sebebi, nakil sonrası başlanan immüsupresyon tedavisi ve HBV'nin periferik kan mononükleer hücreleri ve dalak gibi karaciğer dışı doku ve organlarda da bulunuyor olması olabilir (3).

Transplantasyon sonrası reenfeksiyonun önlenmesi nakil öncesi antiviral tedaviye başlamak ve nakil sonrası da HBIG ile kombine şekilde antiviral tedaviye devam etmekle mümkün olmaktadır. HBIG'in kullanılabilirliğinden önce kronik

hepatit B hastalarına özellikle de aktif HBV replikasyonu olanlara (HBeAg veya HBV DNA pozitif olanlar) karaciğer nakli yapılması tartışmalı hale gelmiştir (4). Tek başına HBIG profilaksisi ile hepatit B rekürrensi anlamlı derecede azalmasına rağmen, aktif viral replikasyonu olan hastalar arasında 2 yıl içinde rekürrens riski %70-96 gibi bir oranla oldukça yüksektir (5-7). Bir nükleosid (dideoksi sitozin) analog olan lamivudin oral olarak kullanılan, HBV DNA sentezinin güçlü bir inhibitörüdür. Nükleos(t)id analoglarından ilk kullanıma giren ajan olması nedeniyle en çok kullanılan ve en çok deneyim sahibi olunan antiviral ilaçtır. Birçok çalışma lamivudin monoterapisinin karaciğer nakli sonrası greft reenfeksiyonunu önleyebildiğini göstermiş fakat uzun süreli tedavi ile ilaç direnci geliştiği görülmüştür. Lamivudin monoterapisi ile ortaya çıkan direnç ve greft reenfeksiyon oranı, lamivudin ve HBIG kombinasyon tedavisi ile karşılaştırılmış, yüksek direnç gelişimi ve yüksek rekürrens oranı nedeniyle lamivudin monoterapisi terk edilmiştir. (8-10). HBIG ve lamivudin tedavilerinin kombine edilmesi ile ise nakil sonrası reenfeksiyon oranını %10'un altına düşürmüştür (11). Son 10 yıl içinde kronik hepatit B tedavisi için 4 farklı nükleos(t)id analogu (adefovir dipivoksil, telbivudin, entekavir, tenofovir) daha onay almıştır. Ancak ömür boyu kombinasyon profilaksisi, özellikle de yüksek doz intravenöz HBIG infüzyonu, çok pahalı ve sakıncalı olabilmektedir. HBIG; immün aracılıklı reaksiyonlara, anafilaksiye, civa zehirlenmesine ve kanla taşınan enfeksiyon bulaşmasına neden olabilmektedir.

HBV reenfeksiyonu, serumda HBsAg'nin ve/veya HBV DNA'nın yeniden ortaya çıkması ile tanınmaktadır. Genellikle HBsAg pozitifliği daha önce saptanmaktadır. Bu hastalara karaciğer biyopsisi yapıldığında da immünohistokimyasal boyama ile hepatositlerde HBsAg ve HBcAg varlığı gösterilebilir. Ancak bazı çalışmalar göstermiştir ki, PCR yöntemi ile HBV DNA,

serumda HBsAg yeniden ortaya çıkmadan ya da serum aminotransferaz yüksekliği olmadan evvel saptanabilmektedir (12). Tersine, HBIG kullanılmadan sadece nükleos(t)id analogları ile reenfeksiyon gelişiminin engellenmesi hedeflenen hastalarda HBsAg pozitif kalmış fakat serumda HBV DNA tespit edilmemiştir (13).

Nakil öncesi ölçülebilir HBV DNA düzeyi olanlar ve HBeAg pozitif olanlarda tek başına HBIG profilaksisi ile reenfeksiyonu önlemek mümkün olmamaktadır. Nakil öncesi nükleos(t)id analogları ile antiviral tedavi başlanması transplant esnasındaki dolaşımdaki virüs yükünü azaltarak ve HBIG yarı ömrünü uzatarak reenfeksiyon riskini azaltmaktadır.

Birçok transplant merkezinde halen, HBV'ye bağlı karaciğer yetmezliği nedeniyle karaciğer nakli yapılan hastalara nakil sonrası uygulanan HBIG dozu, süresi ve seçilen antiviral ajanlar değişiklik göstermektedir. Çoğu merkez çalışmalarında nakil sonrası gelişen rekürrensi, serumda HBsAg'nin yeniden ortaya çıkması ve/veya serumda HBV DNA varlığının gösterilmesi olarak tanımlamaktadır. Ancak serumda HBsAg veya HBV DNA saptanmasa bile doku düzeyinde HBV DNA varlığı gösterilebilmektedir. Bu da günümüzde nakil öncesi ve sonrası uyguladığımız antiviral tedaviler ile halen virüsü tam olarak eradike edemediğimizi düşündürmektedir. Serumda viral replikasyon belirteçleri negatif iken dokuda HBV DNA varlığının devam etmesi hastalık rekürrensini göstermemektedir. Hastanın kliniğine yansımayan bu durumun prognoz üzerine etkisi halen bilinmemektedir.

Bu çalışmamızda da hastanemizde uygulanan tedavi modeli ile nakil sonrası hasta serumunda virüse ait serolojik bulgu saptanmasa bile karaciğer dokusunda HBV varlığının devam edip etmediğini saptamayı amaçladık. Bu nedenle 1998-2009 yılları arasında HBV'ye bağlı karaciğer sirozu nedeniyle karaciğer nakli yapılan,

nakil sonrası en az 3 yılını doldurup serum viral belirteçleri negatif olan hastaların karaciğer dokusunda HBV DNA varlığını inceledik.

2. GENEL BİLGİ

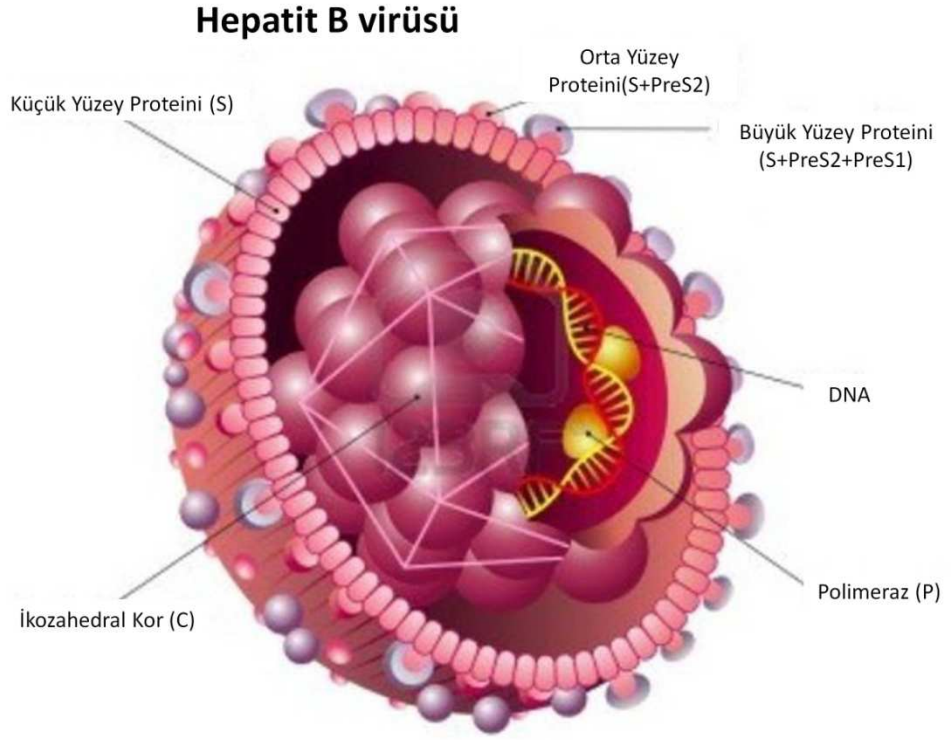
Hepatit B, tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunudur. Dünyada 2 milyar kişinin hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonundan etkilendiği, 400 milyon kişinin kronik olarak HBV ile enfekte olduğu ve HBV ile ilişkili ölümlerin yılda 1 milyon kişi olduğu tahmin edilmektedir (14). Türkiye’de ise yaklaşık 3 milyon kişinin HBV ile enfekte olduğu bilinmektedir (15).

2.1 Hepatit B virüsü

2.1.1 Genom Yapısı

HBV kısmen çift sarmallı, sirküler bir DNA molekülü taşır. HBV DNA 3200 nükleotid taşıyan uzun negatif zincirinden ve 1800–2700 nükleotid taşıyan kısa pozitif zincirinden oluşur. Bu zincirler ortak baz çiftlerine sahiptir ve sirküler yapı halinde bulunmakla birlikte her birinin 3’ ve 5’ uçları birleşik olmadığından aslında lineer moleküllerdir. DNA bir dış lipoprotein zarfı ve nükleokapsid proteinlerinden oluşan bir kor yapısı ile çevrelenmiştir.

HBV’de genetik bilginin tamamı uzun zincir üzerinde kodlanmış olup bu sarmal S, C, X ve P kısaltmaları ile gösterilen dört değişik protein kodlayan nükleik asit dizisine (ORF: *open reading frame*) sahiptir. ORF’lerin transkripsiyonu *promoter* (başlatıcı) ve *enhancer* (güçlendirici) denilen düzenleyici dizinler tarafından kontrol edilir. (Şekil 1)



Uzun zincirdeki S geni yüzey proteinlerini, C geni kapsid proteinlerini, X geni X proteinini ve P geni de DNA polimerazı kodlamaktadır. Pre-S1, pre-S2, S, pre-C, C, P, X olmak üzere başlama bölgelerinin farklı olmasından dolayı HBV tarafından toplam yedi değişik polipeptid üretilmektedir.

HBsAg yapısı incelendiğinde büyüklükleri birbirinden farklı 3 tip molekül olduğu görülmüştür: küçük (Small: S), orta (Medium: M) ve büyük (Large: L) moleküller. S proteini 24 kilodalton (kd) dur ve virüsün majör zarf proteinidir. L proteini (39kd) ve M proteini (31kd) de virüs zarf proteinleridir. Okunmanın pre-S1 bölgesinden başlanması halinde oluşan L proteininin hepatosit yüzeyindeki reseptöre bağlanmada görev yaptığı düşünülmektedir. Okunmanın pre-S2 bölgesinden başlanması halinde oluşan M proteininin işlevi bilinmemektedir. Bu üç zarf proteini glikolize ya da non-glikolize halde bulunabilir.

Zarf içinde 27nm'lik nükleokapsid-kor bulunmaktadır. HBcAg'nin polimerleşmesi ve replikasyon öncesi pregenomik RNA ve DNA polimerazı çevrelemesi sonucunda oluşur. Bu ikozohedral yapı viral DNA'yı eksojen nükleazların degradasyon etkisinden korur.

Her iki DNA zincirinin 5' ucunda hidrojen bağları ile bağlı ek yapılar vardır ve bunlar DNA sentezinin başlaması için gereklidir. Negatif zincirin 5' ucunda polimeraz, pozitif zincirin 5' ucunda ise oligonükleotid RNA bulunur. Her iki zincirin 5' uçlarında bulunan kısa tekrar sekansları olan DR1 ve DR2 de replikasyonun başlamasında önem taşır.

X proteininin fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak X proteininin ORF'de mutasyon taşıyan viral genomların hücre kültürlerinde aktif infeksiyon oluşturmadığı için X proteininin replikasyonda rol aldığı düşünülebilir. Hem HBV'nin hem de hücresel bazı genlerin düzenlenmesinde rolü olabileceği düşünülmektedir. HBV genlerinin transkripsiyonel promoterlerinin regülasyonunu sağladığı varsayılmaktadır. Diğer taraftan X proteini tümör supressor gen ürününün (p53) işlevini bozar. Bu durum HBV ile ilişkili hepatokarsinogenez sürecinin ilk aşamasında, X proteininin etkili olduğunu düşündürmekte ve HBxAg'nin hepatoselüler karsinom gelişiminde rol oynayabileceğini akla getirmektedir.

Pre-C proteini ise C peptidinin yanı sıra 29 aminoasitten oluşan bir rezidü içerir ve bu polipeptid yapı pre-C proteinini endoplazmik retikuluma taşıyan bir sinyal sekansına sahiptir. Endoplazmik retikulumda pre-C proteini bazı süreçlerden geçer ve ilk 19 aminoasitini ve karboksi terminalindeki bazı aminoasitlerini konakçı proteazları aracılığı ile kaybederek HBeAg oluşturulur. 16kd'luk HBeAg proteininin

fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Muhtemelen viral infeksiyonun devamlılığı için gerekli olan immün toleransı sağlamaktadır.

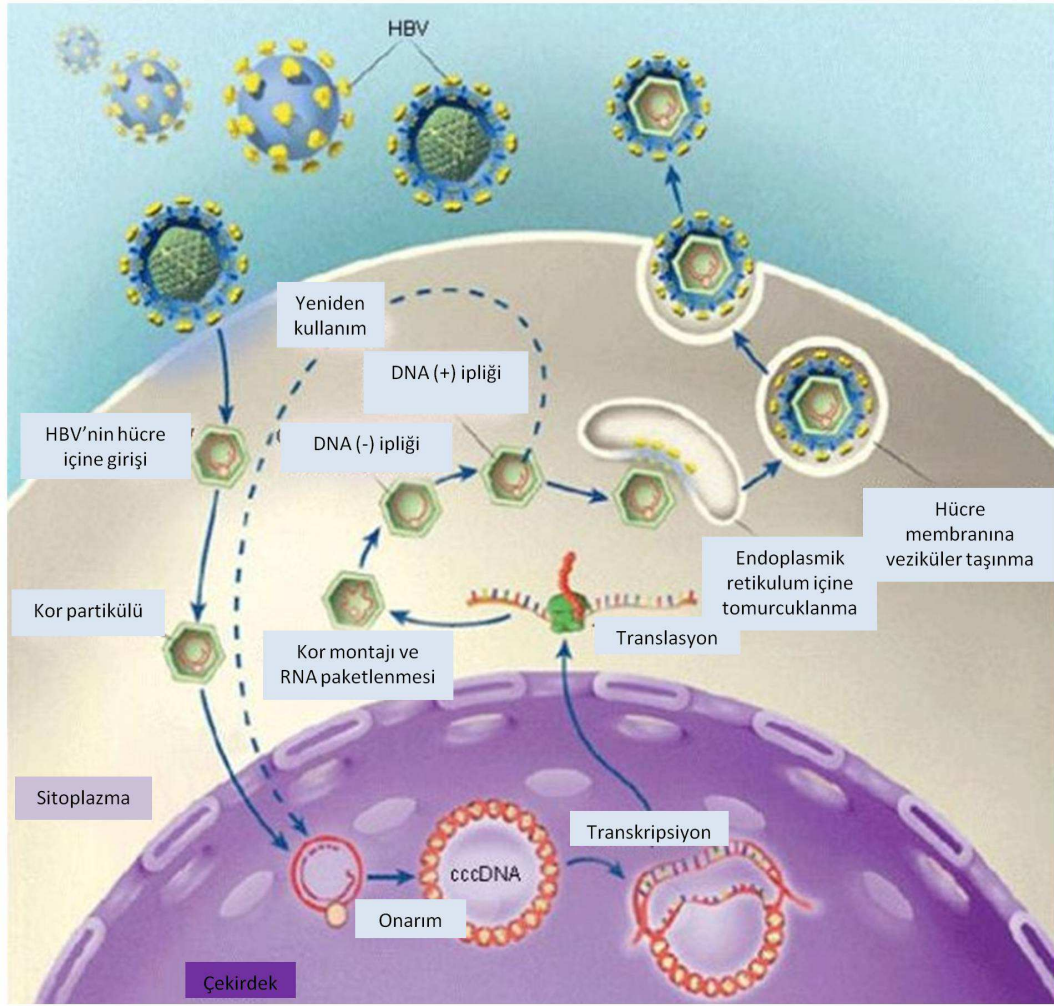
C geninin ikinci bölgesi tarafından sentezlenen HBcAg 29 aminoasitlik ek sekanstan mahrum olduğu için endoplazmik retikuluma giremez ve konak hücre sitoplazmasında kalır ve viral DNA'ya sıkıca bağlanır.

2.1.2 Replikasyon

HBV en küçük genomik yapıya sahip olmasına rağmen kendini kodlama kapasitesi en fazla olan virüstür. Bu özellik (üst üste binen) “*overlapping reading frame*” lerin kullanılması ve translasyonun aynı ORF üzerindeki farklı bölgelerden başlaması ile de farklı proteinlerin sentezlenmesi sonucunda mümkün olmaktadır.

HBV replikasyonu kısaca şu basamakları içerir (Şekil 2):

1. Viral bağlanma ve hepatosite giriş
2. Hepatosit sitoplazmasında virüs zarfının ve kapsidinin ayrılması
3. Hepatosit nükleusunda cccDNA'nın sentezi
4. Viral DNA sentezi için gerekli olan genomik ve pregenomik RNA sentezi; viral protein sentezi için gerekli olan viral transkriptlerin oluşturulması
5. Sitoplazmada viral transkriptlerin translasyonu
6. Sitoplazmada viral korların oluşturulması ile genomik RNA'nın paketlenmesi
7. *Reverse transkriptase* enzimi ile negatif ve pozitif DNA zincirlerinin oluşturulması
8. Viral korların zarfla çevrelenerek hücre dışına transportu veya viral korların nükleusa geri taşınması



Şekil 2. HBV replikasyon basamakları

Klasik retrovirüslerden (HIV gibi) farklı olarak viral RNA sentezi için HBV DNA'sının konakçı genomu içine integrasyonu şart değildir. HBV transkriptleri episomal DNA'dan sentez edilir. HBV DNA integrasyonu kronik enfeksiyonda olur. cccDNA molekülleri hepatosit hücre bölünmesi yolu ile yayılırken nükleokapsid kolları ile de diğer hücelere horizontal yayılım gösterir.

2.1.2.1 HBV Mutantları

HBV *reverse transcriptase* enziminin hata düzeltme yeteneği olmaması nedeniyle nükleotid yerleşiminde yanlışlıklar meydana gelebilmekte ve sonuçta

genom yapısında mutasyonel değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Buna karşın genlerin üst üste binmesinden dolayı bir genetik bölgedeki mutasyonun birden fazla gende avantaj sağlayan mutasyon yapma olasılığı düşük olmakta ve HBV’de RNA virüslerinde görüldüğü sıklıkta mutasyon görülmemektedir.

Klinik seyir, tedavi ve korunma açısından önemli sonuçlar yaratan bu duruma tahmin edilenden daha sık rastlanmaktadır. HBV ile enfekte olgulardan elde edilen değişik suşlar üzerinde yürütülen çalışmalar genom üzerindeki herhangi bir yerde (S, preC/C, X, P, promoter ve enhancer) mutasyonların ortaya çıkabileceğini göstermektedir. Mutasyonların çoğu tek nükleotid yer değişimi şeklinde olurken, bazen delesyonlar veya insersiyonlar da görülebilmektedir.

Mutasyonlar tanıda karışıklıklara, aşı çalışmalarında başarısızlıklara, kanser gelişmesine ve ilaç dirençlerine yol açar. Bu nedenle HBV mutantlarının önemi her geçen gün biraz daha artmaktadır.

-Yüzey mutantları:

HBsAg’i kodlayan S genine ait bazı mutasyonlar HBsAg’nin immünojenitesini değiştirebilir (16). Bu durum pratikte iki önemli soruna yol açabilir:

- 1) HBsAg negatif HBV enfeksiyonu (*occult* HBV enfeksiyonu),
- 2) Aşının ve HBIG’in korumasından kaçan HBV enfeksiyonları.

Mevcut HBV enfeksiyonunun göstergesi olan HBsAg tespiti için kullanılan ticari kitler AntiHBs/HBsAg bağlanması esasına göre tespit yapmaktadırlar. HBsAg’nin antijenik yapısı değiştğinde ticari kitlerin tanıyamadığı HBsAg molekülleri meydana gelebilir. Bu durumda gerçekte HBV ile enfekte olan kişilerde HBsAg negatif saptanabilir.

HBV yüzey mutasyonları karaciğer nakilli hastalarda da önem taşımaktadır. HBIG tedavisine rağmen HBsAg'nin tekrar saptanması mutasyonu akla getirmekte ve yapılan çalışmalarda sıklıkla yüzey antijeninin 145. aminoasidinde mutasyon saptanmaktadır. Bu nedenle greft enfeksiyonlarının önlenmesinde kodon 145-mutant yüzey antijenine karşı oluşan monoklonal spesifik antikörlerin kullanılabileceği düşünülmektedir (17).

- Pre-kor/Kor bölgesi mutasyonları:

HBeAg, virüsün replikasyonunun bir göstergesi olmasına rağmen bazı replikatif enfeksiyonlarda HBeAg negatif saptanmaktadır. Bunun çoğunlukla 2 sebebi vardır: Pre-kor durdurma kodonu mutasyonu ve kor promoter bölgesi mutasyonları.

Pre-kor bölgesi mutantlarının fulminan hepatitle ilişkisi bildirilmiş olmasına rağmen her türlü hastalık kliniğinde var olduğu anlaşılmıştır. Hastalığın ileri evrelerinde seçtikleri için genellikle kötü prognozla ilişkili oldukları görülmektedir. Antiviral tedavi bakımından pre-kor mutantlar bir farklılık yaratmamaktadır.

Kor promoter bölgesindeki T1774A ve T1776G mutasyonları kor proteini ekspresyonunu artırırken HBeAg sekresyonunu azaltırlar. Klinik ve tedavi ile ilişkileri tam olarak anlaşılmamıştır.

- Polimeraz mutasyonları (Antiviral direnç mutasyonları):

Polimeraz geni HBV'nin en büyük geni olup diğer 3 genle de overlapp yapmaktadır. Bu nedenle gen üzerindeki değişiklik hemen daima diğer genlerde de değişikliğe neden olmaktadır. Bunun için doğal olarak polimeraz mutasyonlarına çok az rastlanır.

Bugün için polimeraz geni mutasyonları dendiğinde akla nükleos(t)id analoglarına karşı direnç sağlayan mutasyonlar gelmektedir. Bu mutasyonlar virüsün ilaçlara karşı hassasiyetini azaltmaktadırlar. Böylece ilaç baskısı altında seçilmektedirler.

İlaç direnciyle ilişkili mutasyonlar iki grup altında incelenebilir. Birincisi doğrudan doğruya ilaca olan hassasiyeti azaltan mutasyonlar ki bunlara primer direnç mutasyonları denir. Diğeri ise sekonder direnç mutasyonları olarak bilinen virüsün bozulan bazı özelliklerini yerine getiren tamamlayıcı mutasyonlardır.

Polimeraz geni içinde A'dan E'ye 5 domain ayırt edilmektedir. Bunlar diğeri RNA'ya bağımlı polimerazlarda da mevcuttur. Her bir domain nükleotidlerin veya şablon RNA'nın bağlandığı alanlar veya katalitik alanlar olabilir. Nükleosid analoglarının viral enfeksiyonlarda yaygın kullanılmasıyla bu alanlardaki mutasyonlar daha fazla dikkati çekmektedir.

Enzimin katalitik bölgesinde yer alan C domain'indeki ve B domain'indeki 180, 181. kodon mutasyonlarının primer lamivudin direnci mutasyonları olduğu anlaşılmıştır. Primer lamivudin direnci mutasyonları rtM204V/I/S ± rtL180M, rtA181T/V olarak saptanmıştır. Telafi edici, sekonder mutasyonlar ise rtL80V/I, rtI169T, rtV173L, rtT184S ve rtQ215S mutasyonlarıdır. İlk yıllarda primer lamivudin mutasyonlarının virüsün replikasyon kapasitesini azalttığı saptanmış ve bu mutasyonların çok da zararlı olmayabileceği düşünülmüştü. Ancak hemen arkasından sekonder mutasyonların virüsün replikasyon kapasitesini yerine koyduğu ve lamivudin direnci geliştikten sonra karaciğer hasarının devam ettiği anlaşılmıştır. Adı geçen mutasyonlar deoksinükleotid trifosfat bağlanma bölgesinde üç boyutlu yapıda bozulma meydana getirerek lamivudinin oxathiolan halkasının bağlanmasını

engellemektedirler. Mutasyonlar lamivudine karşı hassasiyeti 100-10.000 misli azaltırlar.

A domain'i mutasyonu olan rtL80V/I mutasyonunun ve diğer iki mutasyonun (rtA181T ve rtQ215S) adefovir ile çapraz direnç yarattığı saptanmıştır. Bu nedenle lamivudin direnci olanlarda adefovir direnci daha sık görülmektedir. İlk tanımlanan adefovir direnci mutasyonları rtA181T, N236T değişiklikleridir. Ancak yakın zamanlarda rtV214A, rtQ215S ve rtI233V mutasyonlarının da adefovir hassasiyetini azalttığı saptanmıştır. Bunlardan rtN236T dışındakilerin lamivudine olan hassasiyeti de azalttığı bilinmektedir.

Polimeraz B domainindeki rtI169T veya rtS184G, C domainindeki rtS202I ve E domainindeki rtM250V mutasyonları entekavir direncine neden olmaktadır. Tenofovire karşı direnç oluşturan bir mutasyon henüz saptanmamıştır.

-X Mutantları:

X gen bölgesi virüsün replikasyonu ve ekspresyonu için çok önemlidir. HBxAg regülatör bir protein olup HBV genleri yanında farklı hücresel gen promotorlerini aktive edebilme kapasitesine sahiptir. Bu nedenle X-ORF de meydana gelen mutasyonlar beklenenden daha az viral gen ekspresyonu ve replikasyonuna sahip bir fenotip oluşturur (18). X geninde meydana gelen değişik mutasyonların fonksiyonel önemi tam olarak açıklığa kavuşmamış olmakla beraber bu tip varyantların enfektiviteleri zayıf, replikasyon seviyeleri düşüktür.

2.1.3 Patogenez ve İmmünoloji

Hem akut hem de kronik HBV enfeksiyonunda meydana gelen karaciğer hücre hasarı immünolojik cevap sonucunda oluşur. HBV enfeksiyonunda hem hücresel

hem de humoral immün cevap oluşur ve her ikisi de enfeksiyonun sınırlandırılması ve ortadan kaldırılmasında önemli rol oynar.

HLA sınıf 1 sitotoksik T lenfositlerinin oluşturduğu cevabın karaciğer hücre hasarının esas mekanizması olduğu düşünülmektedir. Virüse karşı geliştirilen immün cevaba göre 2 farklı sonuç gelişebilir. Ya immün cevap yeterli olur ve virüs inaktive edilir, sistemden uzaklaştırılır ya da yetersiz immün yanıt nedeniyle sürekli inflamatuvar bir ortam meydana gelir, rejenerasyon ve fibrozis uyarılarak kronik hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinomaya kadar bir dizi karaciğer hastalığı ortaya çıkar.

2.1.4 Bulaş Yolları

HBV'nin inkübasyon süresi 45-160 gündür (ortalama 120 gün). Virüs kanda ve seröz sıvılarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Enfekte kan ya da vücut sıvılarının deri ya da mukoz membranlara teması insanlarda HBV enfeksiyonun bulaşının en önemli yoludur. HBsAg'i hemen hemen tüm vücut sıvılarında gösterilmiş olmasına rağmen sadece serum, meni ve tükürüğün bulaştırıcı olduğu saptanmıştır, anne sütü ve idrar ile bulaş olmaz. HBeAg varlığı yüksek miktarda HBV varlığını ve yüksek oranda bulaş riskini gösterir.

Feçes, idrar, gözyaşı, anne sütü, safra, pankreas sıvısında HBsAg ve HBV DNA partikülleri izole edilmiş olmasına rağmen bu sıvılarla bulaş gösterilememiştir. Kan emen artropodlar ile bulaş teorik olarak mümkün olmasına karşın, pratik hayatta gösterilememiştir.

HBV çevrede 7 günden fazla yaşayabildiği için, cansız objelerle de indirek inokülasyon görülmektedir. HBsAg pozitif tükürüğe oral maruziyet ile bulaş olmaz

iken hayvanlarda virüs pozitif olan tükürüğün subkutan inokülasyonu ile enfeksiyonun bulaştırılabildiği gösterilmiştir.

Kişiden kişiye bulaş seksüel temas dışında uzun süre aynı evin paylaşılması gibi durumlarda da olabilir. Buradaki bulaş yolu bilinmemektedir. Ancak en olası yol deri ve mukoz membranlardaki çatlaklardan enfekte kan ya da tükürük materyalinin bulaşmasıdır. Kanda virüs miktarı çok fazla olduğu için çok ufak bir kan damlasında ya da vücut sıvısında oldukça fazla sayıda virüs vardır. Ayrıca evlerde kronik enfekte kişilerden yüzeylere HBsAg kontaminasyonu yaygındır ve HBV bu ortamlarda uzun süre canlı kalabilir.

Perinatal HBV bulaşı iyi bilinmektedir. HBeAg pozitif olan annelerden doğan infantlar en çok risk altındadır ve bunlarda altı aylık dönemde enfeksiyon %70-90'lara kadar ulaşır. Bu olguların %90'ından fazlası da kronikleşir. HBeAg negatif annelerden doğan çocuklarda ise perinatal enfeksiyon riski %10-40'tır ve bunların da %40-70'i kronikleşir. HBsAg pozitif anneden doğan ancak perinatal dönemde enfekte olmayan çocuğun erken çocuklukta enfeksiyon riski çok fazladır. Bu nedenle yenidoğanların hemen aşılması çok önemlidir.

2.1.5 Tedavi Seçenekleri

Kronik hepatit B hastalığının tedavisinde mevcut tedavi seçenekleri ile virüsün eradikasyonu sağlanamadığı için tedavide virüs replikasyonunun durdurulması, karaciğerdeki inflamasyon ve nekrozun durdurulması, siroz ve kanser gibi oluşabilecek komplikasyonların önlenmesi amaçlanmıştır.

HBeAg (+) hastalarda HBeAg negatifleşmesi, AntiHBe oluşması, HBV DNA'nın PCR ile negatifleşmesi ve transaminazların normale inmesi tedaviye cevap olarak kabul edilmektedir. HBeAg (-) hastalarda HBeAg serokonversiyonu gibi bir

kavram söz konusu olmadığı için HBV DNA'daki düşüş ve ALT normalleşmesi esas alınmaktadır. Ancak bu kriterlerin kalıcı cevabı yansıtmada yetersiz olduğu görülmüştür.

Kronik hepatit B tedavisindeki seçenekler; immün modülatörler (standart ve pegile interferonlar) ve viral polimeraz inhibitörleri (nükleosid ve nükleotid analogları) dir. İnterferon bir immün modülatör ilaç olması dolayısı ile endojen immün cevabın aktif olduğu kişilerde daha etkili olmaktadır. Antiviral etkili olan ilaçlar da endojen immün cevabı olan kişilerde etkili olmakta, hastalık aktivitesinin olmadığı durumlarda etkisiz olmaktadır.

Ülkemizde lamivudin, adefovir, entekavir, telbivudin ve tenofovir kronik hepatit B tedavisinde kullanım onayı almış, mevcut ilaçlardır.

2.1.5.1 Pegile İnterferon Kullanımı

HBeAg pozitif, viral yükü düşük olan (HBV DNA $<2 \times 10^6$ IU/ml) ve ALT'si yüksek olan (ALT $>2 \times$ Normalin üst sınırı) hastalarda peg-interferonların etkisi daha yüksektir. ALT normal olan veya HBV DNA $> 10^9$ IU/ml olan hastalara peg-interferonlar verilmemelidir (19). İnterferonların etkinliği genotip D olan kronik HBV enfeksiyonunda yok denecek kadar azdır. Ülkemizdeki kronik HBV hastalarının hemen tamamının genotip D ile enfekte oldukları düşünüldüğünde, ülkemizdeki hastalar için interferonlar iyi bir tedavi seçeneği değildir.

2.1.5.2 Oral Antiviral Tedavi

Tenofovir ve entekavirin direnç ve antiviral etkinlik yönünden daha avantajlı oldukları göz önünde bulundurulduğunda kompanse sirozlu hastalarda ilk seçenek

ilaçlar tenofovir veya entekavir olmalıdır (20). Lamivudin ve telbivudin yüksek dirençten dolayı ilk seçenek olmamalıdır.

Dekompanse sirozlu hasta tedavi edilirken transplant merkezi ile işbirliği içinde olunmalıdır. Tenofovir veya entakavir ilk seçenek ilaçlardır. Pegile interferonlar ise kontrendikedir.

-Lamivudin:

Yan etkisi olmayan, oral kullanılan, kısa sürede etkili olan bu ilacın kullanılması kronik hepatit B tedavisinde gerçek bir devrim olmuştur. Dideoksi sitozin analogu olan lamivudin DNA zincir sentezini bloke ederek HBV replikasyonunu durdurur. Bu sayede kısa zamanda HBV DNA negatifleşir ve buna paralel olarak ALT düzeylerinde düşme meydana gelir. Ancak virüsün pregenomik RNA'sı ve mRNA'larının sentezini sağlayan kapalı, kovalen, sirküler cccDNA yapısına etkisi olmaz. Bu nedenle virüs replikasyonu bloke olduğu halde virüs hepatositlerin içinde varlığını devam ettirir.

Genellikle 1-2 yıllık tedavilerde tedavi kesildikten sonra virüsün replikasyonu yeniden başlamaktadır. Uzun süreli tedavide de virüs varlığını devam ettirdiği ve ciddi ilaç baskısı altında olduğu için ilacın etki etmediği mutant suşların seçilmesi söz konusudur. Dirençli mutantlar genellikle 6-9 aylık tedaviden sonra seçilmektedirler. Başlangıç HBV DNA düzeyi yüksek olanlarda direnç gelişme riski daha fazladır. Bu mutantların polimeraz enziminin aktif katalitik bölgesindeki rtM204V/I/S mutasyonu sonucu meydana geldiği bilinmektedir. 180. kodonda oluşan mutasyon virüsün uyumunu arttırmakta ve direnç gelişimine katkıda bulunmaktadır.

Direnç sorununa karşın, lamivudin kullanıldığı ve etkili olduğu sürece karaciğer histolojisini belirgin biçimde düzeltmektedir. Histolojik siroza sahip hastalarda bile fibrozisin gerilediği görülmektedir. Ancak direnç geliştikten sonra histolojik bozulma devam etmektedir.

-Adefovir dipivoxil:

Adefovir dipivoxil; adefovir adlı adenozin monofosfat analogunun ön ilacıdır. Adefovir de oral kullanılan nükleotid *reverse transcriptase* inhibitörlerinden biridir. Bu şekilde HBV replikasyonunu bloke etmektedir. Ayrıca polimeraz proteininin priming fonksiyonunu da bozmaktadır. Bir yıllık kullanımdan sonra adefovire karşı direnç gösteren rtN236T (asparagin→treonin) mutasyonu gelişebilmektedir (21). Bu mutant lamivudine hassastır. Adefovirin 10 mg/gün dozlarında özellikle dekompanse sirozlu hastalarda yılda %30'lara varan nefrotoksisite bildirilmektedir. Transplantasyon alıcılarında da nefrotoksisitenin önemli olabileceği anlaşılmaktadır.

İlk basamak tedavi olarak verildiğinde lamivudin kadar etkili olmayabilir. Lamivudin ile birlikte verildiğinde tedavi etkinliği artmamakta fakat direnç oranı azalmaktadır. Tanımlanan adefovire dirençli mutasyonun lamivudine hassas olması iki ilacın kombinasyonunun mantıklı olduğunu düşündürmektedir.

-Entekavir:

Bir deoksiganosin analogu olan entekavir, HBV DNA sentezinde DNA zincir uzamasını bloke etmek yanında adefovir gibi priming fonksiyonunu da bozmaktadır. Entekavir tedavisi sırasında da rtT184G, rtI169T, rtM250V ve rtS202I mutasyonlarından birkaçının meydana geldiği gösterilmiştir. Entekavir direnç

mutasyonları lamivudine de dirençli olmakla beraber adefovire ve tenofovire karşı hassastırlar.

-Telbivudin:

Telbivudin ya da L-deoksitimidin (LdT), timidinin L deoksi modifikasyonu olan nükleosid analogu bir antiviraldir. Fosforilasyon sonrası, aktif formu HBV DNA polimeraz tarafından sentezlenen DNA zincirine katılabilmek için timidin ile yarışır. Klinik çalışmalarda, telbivudinin lamivudine oranla hepatit B replikasyonunu baskılamada daha potent bir antiviral olduğu gösterilmiştir. Ancak antiviral direnç telbivudin için de ciddi bir sorundur. Lamivudin dirençli kökenlerin, telbivudine de çapraz direnç gösterdikleri bilinmektedir.

-Tenofovir:

Tenofovir HIV tedavisinde kullanılmakta olan ve 2008 yılından beri kronik hepatit B tedavisinde de kullanılan bir nükleotid analogudur. Nükleosid analoglarına karşı çapraz direnç göstermemesi ve DNA polimerazdaki mutasyonlara karşı yüksek genetik bariyere sahip olması avantajlarıdır. Yapısal olarak adefovire benzemektedir ancak adefovirden daha az nefrotoksiktir ve daha yüksek dozda kullanılmaktadır. Ayrıca primer olarak adefovir tedavisine cevapsız hastalarda da kullanılmaktadır (22). Bugüne kadar, 6 yıldır tenofovir tedavisi almakta olan kronik hepatit B hastaları arasında, tenofovire karşı direnç geliştiği onaylanan bir hasta olmamıştır (23). Tenofovirin mükemmel etkisi ve yüksek genetik bariyeri sayesinde ileri karaciğer fibrozisinde dahi regresyon izlenmiştir (24).

2.1.5.3 Karaciğer transplantasyonu

Altta yatan sebebi ne olursa olsun akut veya kronik karaciğer yetmezliğinde günümüzde etkinliği kanıtlanmış en önemli tedavi seçeneği karaciğer transplantasyonudur.

Karaciğer transplantasyon endikasyonları içerisinde karaciğer sirozu birinci sırada gelmektedir. Siroza yol açan nedenler ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Amerika ve Avrupa'da karaciğer transplantasyonu endikasyonları arasında viral hepatit C (HCV) ve alkolik siroz ilk sırayı alırken, ülkemizde ise transplantasyon yapılan erişkin hastaların % 60-70'den fazlasını kronik viral hepatit B'ye bağlı siroz vakaları oluşturmaktadır.

HBV'ye bağlı kompanse sirozu olan hastaların antiviral tedavi almadan 5 yıllık sağkalım oranı %84, 10 yıllık sağkalım oranı %68 iken dekompanse sirozlu hastaların 5 yıllık sağkalım oranı ise sadece %14' dür (25). Lamivudin, adefovir gibi oral kullanılan nükleos(t)id analoglarının kullanıma girmesiyle bu oranlarda belirgin iyileşme olsa da son dönem karaciğer hastalığının tedavisinde altın standart halen karaciğer transplantasyonudur. Ancak endikasyonların giderek genişlemesi sebebiyle karaciğer nakline gereksinim duyan hasta sayısı ciddi artışlar göstermiş, buna karşın kadaverik organ temininde aynı oranda artış sağlanamamıştır. Bu da canlı vericiden karaciğer naklini gündeme getirerek, karaciğer nakli bekleyen hastalar için yeni bir çıkış kapısı olmuştur.

Bu aşamada en dikkat edilecek kısım, hastaların nakil ihtiyacı açısından değerlendirilmesi olmaktadır. Hastanın mevcut hastalığının doğal seyri, transplantasyon sonrası beklenen sağkalım süresi ile dikkatlice karşılaştırılmalıdır. Bunun için de sirozun spesifik komplikasyonlarını ve hasta sağkalım süresini tahmin

etmede Child-Turcotte-Pugh (CTP) sınıflaması ve MELD (*model for end stage liver disease*) skoru gibi belirteçler kullanılmaktadır.

CTP skoru sirozlu hastalar arasında mortalite riskinin hızlıca değerlendirilmesi açısından kullanışlıdır. Skorlamadaki parametrelerin sınırlarının belirlenmiş olması da kullanım kolaylığı sağlamaktadır.

Tablo 1. Child-Turcotte-Pugh (CTP) sınıflaması

	1 puan	2 puan	3 puan
Ensefalopati (grade)*	yok	1 ve 2	3 ve 4
Assit	yok	hafif	orta
Bilirubin (mg/dl)	1-2	2-3	>3
Albumin (g/dl)	3.5	2.8-3.5	<2.8
Protrombin zamanı (sn uzaması)	1-4	4-6	>6
ya da INR	<1.7	1.7-2.3	>2.3

*Evreleme Trey,Burns ve Saunder'a göre yapılmıştır (26).

CTP skoru 10 veya üzeri olan (sınıf C) nakil listesinde bekleyen hastaların üçte birinin 1 yıl içinde ölmesi beklenebilir (27). Tersine, CTP skoru 7-9 olan (sınıf B) hastaların 5 yıllık sağkalım ihtimali %80, CTP skoru 5-6 olan (sınıf A) hastaların ise nakilsiz %90 oranında 5 yıldan fazla sağkalım şansı vardır (28).

MELD skoru ise hem karaciğer nakil listesinde bekleyen hastaların 3 aylık sağkalım süresi hakkında fikir verir hem de nakil sonrası mortalite riskini belirler. MELD skoru INR, serum kreatinin ve bilirubin seviyelerine göre hastaya 6 ile 40 arasında bir skor belirler. Skoru 6 olan hastanın 3 aylık tahmini sağkalım yüzdesi %90 iken, skoru 40 olan hastanın %7 civarındadır (29).

Sonuç olarak, CTP skoru 7 veya üzerinde ve MELD skoru 15 veya üzerinde olan hastaların sağkalımlarının uzatılması karaciğer nakli ile mümkün olacaktır. CTP skoru 7 ve üzeri, MELD skoru 10 ve üzeri olan sirozlu hastalar ve asit, varis kanaması, ensefalopati gibi ilk dekompanzasyon bulgusunun ortaya çıktığı tüm sirotik hastalar nakil için ilgili merkezlere yönlendirilmelidirler.

2.2 Nakil Sonrası HBV Rekürrensini Önlenmesi

HBV reenfeksiyonu, serumda HBsAg'nin ve/veya HBV DNA'nın yeniden ortaya çıkması ile tanınmaktadır.

Bu hastalara karaciğer biyopsisi yapıldığında da immünohistokimyasal boyama ile hepatositlerde HBsAg ve HBcAg varlığı gösterilebilir. HBIG profilaksisi altındaki hastalarda PCR yöntemi ile HBV DNA, serumda HBsAg yeniden ortaya çıkmadan ya da serum aminotransferaz yüksekliği olmadan evvel saptanabilmektedir. Tersine, HBIG kullanılmadan sadece nükleos(t)id analogları ile reenfeksiyon gelişiminin engellenmesi hedeflenen hastalarda HBsAg pozitif kalmış fakat serumda HBV DNA tespit edilmemiştir (13).

2.2.1 HBV Rekürrensini Önlemek İçin Nakil Öncesi Tedavi

HBV'ye bağlı karaciğer sirozu olup da nakil bekleyen hastalar reenfeksiyon açısından düşük ve yüksek riskli olarak 2 gruba ayrılabilir. Yüksek riskli grupta; HBeAg pozitif veya HBeAg negatif ancak yüksek serum HBV DNA seviyesi olanlar ile nakil öncesi antiviral ilaç direnci olan hastalar vardır (3, 31). Hepatit D süperenfeksiyonu, fulminan hepatik yetmezlik, transplantasyon öncesi HBeAg negatifliği ve saptanamayan serum HBV DNA düzeyi transplantasyon sonrası düşük reenfeksiyon oranları ile ilişkilidir (32). Bu durum fulminan hepatik yetmezlikte hızlı HBV klirensi, HDV süperenfeksiyonunda da HBV replikasyonunun baskılanmasına

bağlıdır. Fakat transplantasyon sonrası düşük reenfeksiyon oranı ile ilişkili en önemli faktör nakil öncesi düşük virüs yüküne sahip olmaktır.

HBV'ye bağlı dekompanse sirozu olup, serumunda saptanabilir düzeyde HBV DNA'sı olan (serum HBV DNA düzeyi ve serum ALT seviyesi ne olursa olsun) tüm hastalara en kısa sürede nükleos(t)id analog ile antiviral tedavi başlanmalıdır. Antiviral tedavi viral replikasyonu baskılar, mevcut karaciğer hastalığının ilerlemesini önler, nakil listesinde beklemekte olan hastaların sağ kalımını arttırarak nakil olabilmelerine imkan tanır. 104 haftalık antiviral tedavi sonrasında dekompanse karaciğer sirozu olan hastaların bilirubin ve albumin düzeylerinde anlamlı iyileşme olduğu ve bu hastaların CTP skorunda 1 puan ve daha fazla düzelme olduğu görülmüştür (30). Ayrıca nakil sonrası HBV reenfeksiyonun önlenmesi de nakil öncesi antiviral tedavi kullanımına ve nakil sonrası yine antiviral tedavi ile kombine HBIG kullanımına bağlıdır. Bu tedavi stratejisi ile HBV reenfeksiyon oranı %10'un altına indirilmiştir (11).

Karaciğer nakli sonrası hepatit B virüs reenfeksiyonunun yüksek oranlarda olmasının sebebi, nakil sonrası başlanan immünsupresyon tedavisi ve HBV'nin periferik kan mononükleer hücreleri ve dalak gibi karaciğer dışı doku ve organlarda da bulunuyor olması olabilir.(3).

2.2.2 HBV Rekürrensini Önlemek İçin Nakil Sonrası Tedavi

2.2.2.1 HBIG ile Monoterapi

HBIG ilk olarak 1975 yılında kullanılmaya başlanmıştır. HBIG ile hastaya pasif immünizasyon sağlanmaktadır (33). HBIG'in kullanılabilirliğinden önce kronik hepatit B hastalarına özellikle de aktif HBV replikasyonu olanlara (HBeAg veya HBV DNA pozitif olanlar) karaciğer nakli yapılması tartışmalıydı (4). Hepatit B

immünglobulinin keşfi, karaciğer transplantasyonu sonrası hepatit B profilaksisinde bir dönüm noktası olmuştur.

HBIG, hepatit B yüzey antijenine karşı yüksek antikor seviyesi olan donörlerin plazmasından elde edilir. Nakil sonrası hepatit B rekürrensini önlemedeki mekanizması halen tam olarak bilinmemektedir. HBIG'in naif hepatositleri, varsayılan HBV reseptörlerini bloke ederek, ekstrahepatik alanlardan salınan hepatit B virüslerine karşı koruduğu düşünülmektedir (34) . Diğer olasılıklar ise; immün kompleks oluşturarak dolaşımdaki virionları nötralize etmesi ve antikor bağımlı hücrel sitotoksisteyi tetikleyerek enfekte hepatositleri ortadan kaldırmasıdır (35) (36).

HBIG'in karaciğer nakli sonrası hepatit B rekürrensini önlemedeki yararı 1993 yılında Avrupa'da yapılan çok merkezli bir çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada nakil sonrası HBIG alan ile almayan hastalar arasında hepatit B rekürrensinde anlamlı oranda azalma olduğu görülmüştür. (%36 ya %75, $p<0.001$) (37).

HBIG, Amerika ve Avrupa'daki çoğu nakil merkezinde, anhepatik fazda 10,000 IU intravenöz bolus olarak uygulanmakta, nakil sonrası ilk 1 hafta boyunca hergün 10,000 IU, sonrasında ise AntiHBs titresine göre (genelde ayda bir 10,000 IU) uygulanmaktadır (38). AntiHBs titresinin 100 IU/L olması koruyucu olarak düşünülmektedir (39). Ancak oral antiviral verilmeden yapılan başka bazı çalışmalarda da 500 IU/L üzerindeki AntiHBs titresinin reenfeksiyon oranını daha fazla azalttığı bildirilmiştir (38).

Tek başına HBIG profilaksisi ile hepatit B rekürrensi anlamlı derecede azalmasına rağmen, aktif viral replikasyonu olan hastalar arasında 2 yıl içinde rekürrens riski %70-96 gibi bir oranla oldukça yüksektir (5-7). Hepatit B rekürrensi

ya yetersiz HBIG dozu ya da HBIG bağlanma bölgesinde gelişen mutasyonlar ile ilişkilidir (6). Nakil sonrası uzun süreli HBIG tedavisine rağmen HBV reenfeksiyonu gelişebilmektedir. Bunun nedeni de uzun süreli tedavi ile ortaya çıkan HBIG dirençli mutant virüslerdir. Mutasyonlar HBV genomunun pre S/S bölgesinde, HBsAg'nin 'a' determinantında, yani HBV antikor bağlanma bölgesinde değişiklik yaratarak HBIG'in etkisini azaltmaktadır (40-42).

HBIG monoterapisi ile rekürrens oranının yüksek olması, tedavinin tekrarlayan parenteral uygulama ve düzenli monitörizasyon gerektirmesi, oldukça da maliyetli bir tedavi olması dezavantajdır. Öyle ki; 2005 yılında Amerika'da kullanılan rejimlerin ilk yıl maliyetinin (intravenöz uygulama setleri ve HBIG infüzyonu boyunca hasta monitörizasyonu da dahil) 80.000\$ ile 200.000\$ arasında olduğu belirtilmiştir (43). Bunun yanında HBIG'in baş ağrısı, *flushing*, göğüs ağrısı, anafaksi, cıva zehirlenmesi gibi önemli yan etkileri ve insan plazma havuzundan üretiliyor olması nedeniyle de kanla bulaşan enfeksiyon riski mevcuttur (38).

2.2.2.2 Lamivudin ile Monoterapi

HBV tedavisinde lamivudinin onay alması, karaciğer nakli sonrası kronik hepatit B hastalarının yönetiminde ikinci dönüm noktası olmuştur.

Bir nükleosid (dideoksi sitozin) analogu olan lamivudin oral olarak kullanılan, HBV DNA sentezinin güçlü bir inhibitörüdür. Nükleos(t)id analoglarından ilk kullanıma giren ajan olması nedeniyle en çok kullanılan ve en çok deneyim sahibi olunan antiviral ilaçtır. Birçok çalışma lamivudin monoterapisinin karaciğer nakli sonrası greft reenfeksiyonunu önleyebildiğini göstermiş fakat uzun süreli tedavi ile ilaç direnci geliştiği görülmüştür.

Lamivudin sadece nakil esnasındaki virüs yükünü azaltmada değil karaciğer fonksiyonlarını iyileştirerek nakil ihtiyacının önlenmesinde ve nakil yapılmasının ertelenmesinde de etkili bulunmuştur (11). Ancak lamivudin, virüsün pregenomik RNA'sı ve mRNA'larının sentezini sağlayan cccDNA yapısına etkili değildir. Bu nedenle virüs replikasyonu bloke olduğu halde virüs hepatositlerin içinde varlığını devam ettirir. Uzun süreli tedavide virüs varlığını devam ettirdiği ve ciddi ilaç baskısı altında olduğu için ilacın etki etmediği mutant suşların seçilmesi söz konusudur. Nitekim bir yıllık tedavide %20 civarında olan direnç oranı 5 yıllık tedavide %70'lere kadar çıkmaktadır. Dirençli mutantlar genellikle 6-9 aylık tedaviden sonra seçilmektedirler. Başlangıç HBV DNA düzeyi yüksek olanlarda direnç gelişme riski daha fazladır. Bu mutantların HBV DNA polimeraz enziminin aktif katalitik bölgesindeki rtM204V/I/S mutasyonu sonucu meydana geldiği bilinmektedir. Oluşan bu mutasyon virüsün uyumunu artırmakta ve direnç gelişimine katkıda bulunmaktadır.

Ortaya çıkan ilaç direncine immüsupresyonun da büyük etkisi olduğu gösterilmiştir. Lamivudin tedavisinin ilk yılında immünkompetan hastaların % 15'inde, immüsuprese hastaların ise % 45'inde ilaç direnci saptanmıştır (44, 45).

Lamivudin monoterapisi ile ortaya çıkan direnç ve greft reenfeksiyon oranı, lamivudin ve HBIG kombinasyon tedavisi ile karşılaştırılmış, yüksek direnç gelişimi ve yüksek rekürrens oranı nedeniyle lamivudin monoterapisi terk edilmiştir. (8-10).

2.2.2.3 Kombinasyon Tedavisi

Karaciğer nakli sonrası hepatit B rekürrens oranı HBIG ve lamivudinin kombine edilmesiyle daha da azalmıştır (5 yılda %5'in altında rekürrens oranı) (35).

Bu iki ajanın sinerjistik etkisi her ikisinin de etki mekanizmasının ve direnç profilinin farklı olması ile açıklanmaktadır (46).

Yüksek viral yük varlığında HBIG'in bağlama kapasitesi aşılmakta ve bu da HBIG profilaksisini etkisiz hale getirmektedir. Bu durumda tedaviye lamivudin eklenip viral replikasyon baskılanarak HBIG'in etkinliği arttırılabilir. HBIG ile yapılan pasif immünizasyon viral replikasyonun daha düşük olduğu ekstrahepatik alanlarda virüsü sınırlandırarak antikor bağımlı virüs yıkımını da uyarabilir.

Birçok transplant merkezi AntiHBs titre düzeyini baz alarak bir profilaksi rejimi benimsemiştir. Fakat hala kombinasyon tedavisi ile optimal AntiHBs düzeyinin, tedavideki optimal HBIG dozunun, uygulama süresinin ve sıklığının ne olması gerektiği konusunda fikir birliği sağlanmamıştır.

-Yüksek doz intravenöz (iv) HBIG ve Lamivudin Kombinasyonu

Tek başına HBIG veya lamivudin profilaksisi alan hastalarda görülen yüksek rekürrens oranlarının üstesinden kombinasyon tedavileri kullanılarak gelinmiştir (47) (48).

Yüksek doz HBIG ve lamivudin ile kombinasyon tedavisi birçok merkezde araştırılmış, 1-2 yıllık hasta takibi sonunda % 10'un altında HBV rekürrens oranı ile cesaret verici sonuçlar elde edilmiştir (46, 49-52).

Genel olarak lamivudin tedavisine nakil esnasındaki viral yükü azaltmak amacıyla nakil öncesinde başlanmaktadır. Nakil sonrası ilk hafta, her gün 10000 IU iv HBIG verilirken, sonrasında ayda 10000 IU sabit dozunda veya AntiHBs titresinin >100 IU/L olarak idamesini sağlayacak şekilde değişen dozlarda HBIG uygulanmaktadır (6, 20, 49).

Ancak ne yazık ki, aşık HBV rekürrensi olmadan da, yüksek doz iv HBIG almış hastaların % 45'inde nakilden sonraki 10 yılda, serumda, periferik kan mononükleer hücrelerinde veya karaciğer dokusunda HBV DNA PCR ile saptanabilmektedir (6, 53). Bu da yüksek doz iv HBIG/lamivudin kombinasyon profilaksisinin HBV'yi eradike edemediğini ve çoğu hastanın yaşam boyu HBIG ihtiyacı olduğunu göstermektedir.

Yüksek doz iv HBIG/lamivudin kombinasyonunun oldukça pahalı bir rejim olması bu tedavinin kullanımını sınırlamaktadır. Bu tedavinin nakil sonrası ilk yılda 100.000 dolardan, sonraki her yıl ise 50.000 dolardan fazlasına mal olduğu tahmin edilmektedir (54). Tedavinin kullanımını sınırlayan diğer bir faktör de invazif bir uygulama gerektirmesi ve bazı ülkelerde HBIG olmamasıdır.

- Düşük doz intramuskuler (im) HBIG ve Lamivudin Kombinasyonu

Yüksek doz iv HBIG/lamivudin kombinasyon tedavisinin yüksek maliyetli oluşu, nakil sonrası profilakside yeni rejimlerin araştırılmaya başlanmasına neden olmuştur. Nakil öncesi lamivudin direnci olmayan hastalar arasında nakil sonrası HBV rekürrensini önlemede; düşük doz im HBIG/lamivudin kombinasyonu en çok araştırılan ve en maliyet-etkin bulunan rejim olmuştur (55-59).

Birçok merkezde yapılan büyük çalışmalarda düşük doz iv HBIG/lamivudin ve düşük doz im HBIG/lamivudin kombinasyonları (ilk bir hafta günde 400-800 U; takipte ayda bir 400-800 U) sonrası HBV rekürrens oranlarının benzer olduğu görülmüştür (13, 31, 35, 56). Ayrıca düşük doz im HBIG/lamivudin kombinasyonu ile tedavi maliyetinde % 50'den fazla azalma sağlanmıştır. 2010 yılında yayınlanan bir başka çalışmada ise HBV rekürrens oranının uygulanan HBIG rejimi ya da transplant merkezine bağlı olmayıp özellikle hastaların nakil öncesi HBeAg durumu

ve nakil esnasındaki HBV DNA düzeyi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada; eğer hastalara nakil öncesi viral replikasyonu baskılamaya yönelik uygun antiviral tedavi başlanırsa, nakil sonrası düşük doz im HBIG veya yüksek doz iv HBIG tedavisi ile rekürrens açısından benzer sonuçlar alınacağı savunulmuştur (60).

2.2.2.4 HBIG içermeyen profilaksi rejimleri

Süresiz HBIG tedavisinin yüksek maliyeti ve uygulanmasındaki zorluklar, gerçekten pasif bağışıklamaya gerek olup olmadığı konusunda tartışmalara yol açmıştır. Monoterapi veya lamivudin ile kombinasyon şeklinde başlanan HBIG tedavisini sonlandırmak amaçlı ilk yaklaşım HBIG veya HBIG/lamivudin tedavisinden lamivudin monoterapisine geçmek olmuştur. Ancak bu noktada hangi hastalarda HBIG tedavisinin kesilemeyeceğini belirlemek önemlidir. Nakil esnasında viral replikasyonu olmayanlar, en az 2 yıl HBIG tedavisi almış olanlar, HBIG kesilmeden önce HBV DNA'sı PCR ile negatif saptananlar HBIG tedavisinin sonlandırılması için aday olabilirler (61).

HBIG tedavisini sonlandırmada ikinci yaklaşım ise HBIG/lamivudin kombinasyonunu antiviral ajanların kombinasyonuna değiştirmek olmuştur (62). Son 10 yıl içinde kronik hepatit B tedavisi için 4 farklı nükleos(t)id analogu daha onay almıştır.

Telbivudin ve entekaviri içeren bu yeni nükleosid analogları lamivudinden daha yüksek antiviral etkiye sahiptirler.

Adefovir ve tenofoviri içeren nükleotid analogları lamivudine dirençli HBV'ye etkili olup her ikisi de kurtarma tedavisinde kullanılmaktadır. Adefovir düşük antiviral etkinliği nedeniyle çoğunlukla bir nükleosid analogu ile kombine olarak

kullanılırken şu ana kadar direnç gelişimi gösterilmemiş olan tenofovir, lamivudin dirençli olgularda tek başına kullanılabilir.

Entekavir ve tenofovir dūřuk direnç profilleri nedeniyle karacięer nakli sonrası HBV rekürrensini önlemede olduęu kadar HBIG ięermeyen tedavi rejimlerinde de tercih edilir olmuřlardır (63).

Yapılan sınırlı sayıda çalışmada gösterilmiştir ki, nakil sonrası lamivudin ve adefovir ile yapılan kombinasyon tedavisi ile HBIG ve lamivudin ile yapılan kombinasyon tedavisinin rekürrens oranları benzerdir (64-66). Ayrıca oral nükleosid ve nükleotid analoglarının kombine kullanımı ile yapılan profilaksi HBIG içeren standart profilaksi rejimine göre çok daha maliyet etkindir (64).

Farmakoekonomik avantajlarının yanında bu rejimin sağladığı diğer bir avantaj da hastaların yaşam kalitesi üzerinedir. HBIG uygulaması kan tahlili ile AntiHBs titre ölçümü yapılmasını gerektirdiğinden ve yine bu tedavi parenteral olarak hastane koşullarında uygulandığından sık hastane başvurusu gerektirmektedir. Oral nükleosid ve nükleotid analog kombinasyonları ile yapılan profilaksi böbrek fonksiyon testlerinin takibini gerektirse de, standart rejime göre hastane başvuru sıklığını azaltmaktadır. Ayrıca HBIG tedavisine hasta uyumsuzluğu % 15 civarındayken, oral antiviral ajanlar ile yapılan profilaksi tedavisine hasta uyumsuzluğu % 1'in altındadır (67, 68).

Ancak bu antiviral ajanların nakil sonrası profilaksidede kullanımları ile ilgili yapılan çalışmalar küçük hasta grupları ve kısa izlem süreleri ile kısıtlı olduğundan, bu alanda kullanımlarının daha geniş kitlelerce kabul edilmesi için daha büyük, randomize, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Nakil sonrası HBV rekürrensini önlemeye yönelik üçüncü yaklaşım ise aktif HBV aşılmasının kullanılmasıdır. HBIG ile yapılan başarılı pasif immünprofilaksi, aynı etkinin daha ucuz bir şekilde aktif bağışıklama ile de başarılabilceğini düşündürmüştür. Aşı antijenlerine karşı B hücre yanıtının oluşmasında T lenfositler de etkilidir. Bu nedenle de immüsupresyon aşı yanıtına etki etmektedir (69). Nakil sonrası hastalar aşığı iyi tolere etmelerine rağmen aşığı verdikleri yanıt düşük olmakta (<% 25) ve oluşan antikor seviyeleri hızlıca düşmektedir (70).

Yeni hepatit B aşığı ya da yeni adjuvanlarla kombine edilmiş konvansiyonel aşığı transplant alıcılarında AntiHBs cevabını geliştirmede umut vaat etmektedir. Bu yaklaşımın klinik uygulamada yaygınlaştırılması ve önerilmesi için daha fazla klinik çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hasta grubu

Çalışmamızda, HBV'ye bağlı karaciğer yetmezliği nedeniyle karaciğer nakli yapılan hastaların serumunda virüse ait serolojik bulgu saptanmasa bile karaciğer dokusunda HBV DNA varlığının devam edip etmediğini belirlemeyi amaçladık. Bu nedenle de 1998-2009 yılları arasında HBV'ye bağlı karaciğer sirozu nedeniyle karaciğer nakli yapılmış, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji kliniği organ nakli polikliniğinde takip edilen hastaların dosyalarını retrospektif olarak inceledik.

Ocak 1998 ile Kasım 2009 tarihleri arasında 745'i erişkin; toplam 892 hastaya karaciğer transplantasyonu yapılmıştır. Bu hastaların 421'i (%56,5) HBV ilişkili akut ya da kronik karaciğer hastalığı nedeniyle nakil olmuştur. Çalışmamıza bu hastalardan 18 yaş üzerinde, transplantasyonunun üzerinden en az 3 yıl geçmiş,

serum HBsAg ve HBV DNA'sı negatif olup, onamı alınarak kontrol karaciğer biyopsisi yapılmış 152 hastayı dahil ettik.

3.2 Yöntem

Çalışmamız retrospektif dosya taraması olarak, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Kurulu'nun 14-4.1/5 karar numarası ile 18.08.2014 tarihinde etik kurul onayı alınarak yapıldı.

Hastaların cinsiyetleri, nakil tarihleri, nakil esnasındaki yaşları, nakilin kadavradan veya canlı donörden yapıldığı, nakil öncesi varsa almakta oldukları antiviral ajanlar, nakil öncesi serum hepatit belirteçleri (AntiHAV IgG, HBsAg, AntiHBs, HBeAg, AntiHBe, HBV DNA, Anti-delta, Delta RNA) ile AFP ve CA19-9 düzeyleri kaydedildi. Child-Turcotte-Pugh sınıflamaları yapıldı. MELD skorları hesaplandı.

Nakil sonrası ise hastalara uygulanan immünsupresif ve antiviral ajanlar, eksplant karaciğer patoloji sonuçları, karaciğer biyopsi tarihleri, karaciğer HBV DNA varlığı ve biyopsi tarihine en yakın tarihteki serum HBV DNA, HBsAg ve AntiHBs düzeyleri kaydedildi.

3.3 Serolojik değerlendirme

HBV enfeksiyonunun serolojik değerlendirmesinde; hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), kantitatif hepatit B yüzey antikoru (AntiHBs), hepatit B e antijeni (HBeAg), hepatit B e antikoru (AntiHBe) ve hepatit B kor antikoru (AntiHBc) kullanıldı. Serolojik belirteçler Abbott AxSYM System, Abbott Diagnostics (Chicago, IL, USA) otomatize immunassay sistemi ile değerlendirildi.

Serum HBV DNA değerlendirmesi ise 1998 ve 2009 yılları arasında birçok farklı ticari markanın yöntemleri ile değerlendirilmiş olup, sırasıyla şöyledir:

- 2004 yılından önce (ölçüm aralığı 5 ile 2000 pg / ml) Digene Hybrid Capture Assay; Digene Diagnostics, Silver Spring, MD, USA ticari kiti ile değerlendirilmiş, test negatif çıkarsa da en düşük saptama limiti yaklaşık 4000 kopya/ml olan PCR yöntemi kullanıldı.
- 2004-2007 ve 2008-2009 yılları arasında (ölçüm aralığı 2000 ile 1×10^8 IU / ml) Versant HBV DNA (bDNA), Bayer Diagnostics
- 2007-2008 ve 2009-2010 yılları arasında (ölçüm aralığı 20 ile 1.7×10^8 IU / ml) COBAS Ampliprep TaqMan (Roche Molecular Diagnostics, real time PCR)

Anti-delta antikoru (Murex Biotech, Dartford, İngiltere) mikroenzim immünassay ile değerlendirildi.

3.4 Doku HBV DNA varlığının değerlendirilmesi

Nakil sonrası en az 3 yılını dolduran ve serum HBsAg ve HBV DNA'sı negatif olan hastalardan onam verenlere karaciğer biyopsisi uygulandı. Hepatit B serum viral replikasyon belirteçleri negatif olsa da dokuda HBV DNA varlığının belirlenmesi amaçlandı.

Karaciğer biyopsi örneklerinde HBV DNA varlığı, PCR (HBV S primerleri, HBV P7-P8 primerleri, LIPA primerleri) ve jel elektroforezi ile değerlendirildi (Innogenetics N. V. Ghent, Belçika).

3.5 İstatistiksel Analiz

Veri analizleri Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilim Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. İstatistik paket programı olarak IBM (*International Business Machines*), SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) 20.0 yazılımı kullanılmıştır. İki grup arasındaki nümerik verilerin karşılaştırılmasında *Mann-Whitney U* testi, kategorik verilerin karşılaştırılmasında *Ki-kare* (gerektiğinde *Fisher's exact test*) analizi kullanılmıştır. Tüm hipotez kontrolleri $\alpha=0,05$ önem seviyesinde uygulanmıştır.

3.6 Transplantasyon sonrası antiviral profilaksi

Hastanemizde antiviral profilaktik rejim olarak transplantasyonun anhepatik fazında 4000 IU HBIG (2000 IU im, 2000 IU iv), sonrasında transplantasyonu izleyen 5-20 gün boyunca, günlük 800-1600 IU HBIG im ya da 1500 IU HBIG iv olarak serum HBsAg negatifleşene ve AntiHBs titresi 200 IU/L ve üzeri olana kadar uygulanmaktadır. İzlemede AntiHBs düzeyleri düzenli olarak monitörize edilen hastaların, AntiHBs titresini 50 IU/L üzerinde tutmak amacıyla her 1-4 haftada 200-1000 IU HBIG im uygulandı.

Nakil öncesi entekavir (0,5 mg/gün), adefovir dipivoksil (10 mg/gün) ve lamivudin (100 mg/gün) gibi antiviral tedavi alan hastanın tedavisine aynı ajan ile devam edildi. Nakil öncesi antiviral tedavi almayan hastaların tümüne lamivudin tedavisi başlandı.

3.7 Transplantasyon sonrası immüsupresyon

Nakil sonrası immüsupresif tedavi olarak hastalara kontrendike durumları olmadıkça (böbrek yetmezliği gibi) prednisolon ve kalsinörin inhibitörü (siklosporin

veya takrolimus) kombinasyonu veya everolimus, rapamisin, mikofenolat mofetil, mikofenolik asit, azatiyoprin, basiliksimab tedavileri çeşitli kombinasyonlar halinde başlandı. Operasyon esnasında prednisolon 500 mg dozunda iv uygulandı. Sonrasında prednisolon dozu 8 günde 100 mg dan 20 mg'a ve 2 ay içinde de 20 mg'dan 10 mg'a düşüldü. Steroid dozu 6-12 ayda tamamen kesildi. Takrolimus dozu kan hedef düzeyi 5-10 ng/ml, siklosporin 100-200 ng/ml, rapamisin 5-15 ng/ml olacak şekilde ayarlandı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda 152 hastanın dosyası retrospektif olarak incelendi. İki hasta; karaciğer biyopsisi ile yeterli doku örneği alınamamış olduğundan çalışmaya dahil edilmedi. Hasta grubunun klinik ve demografik özellikleri tablo 2'de belirtilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 150 hastanın tümünün biyopsi esnasında serum HBsAg ve HBV DNA'sı negatif iken 18'inin (%12) karaciğer biyopsisinde HBV DNA pozitif, 132 hastanın (%88) ise negatif saptandı. Hastalarımızın 34'ü (%22,7) kadın, 116'sı (%77,3) erkek idi. Cinsiyet farklılığının doku HBV DNA varlığına etkisinin olmadığı görüldü ($p:1,000$).

Hasta grubunun nakil esnasındaki ortalama yaşı 47 olup, hastaların yaşları 18 ile 64 arasında değişmekteydi.

108 hastaya (%72) canlı vericiden, 42 (%28) hastaya kadavradan karaciğer nakli yapılmıştı. Canlı vericiden veya kadavradan nakil yapılmasının doku HBV DNA varlığına etkisinin olmadığı görüldü ($p:0,101$).

Her hastanın nakil öncesi dekompanse bulguları (asit, ensefalopati gibi) bilinmediğinden, ancak 81 tanesinin Child-Turcotte-Pugh sınıflaması yapılabilirdi.

Hastaların %11,1'i sınıf A, %29,7'si B, %59,2'si ise C sınıfına dahildi. A, B veya C sınıfına dahil olmanın doku HBV DNA varlığına etkisi olmadığı görüldü ($p:0,260$).

Hasta grubunun ortanca MELD skoru 16,5 olup, 6 ile 39 arasında değişmekteydi.

Tablo 2. Hasta grubunun klinik ve demografik bilgileri

	Sayı	%
Cinsiyet (n=150)		
Kadın	34	22,7
Erkek	116	77,3
Donör tipi (n=150)		
Canlı	108	72
Kadavra	42	28
Child-Turcotte-Pugh sınıfı (n=81)		
A	9	11,1
B	24	29,7
C	48	59,2

150 hastanın 41'inde hepatoselüler karsinom mevcuttu. Bu hastalardan nakil öncesi AFP değeri bilinen 35'inin ortalama AFP değeri 33,36 olup; 1,5 ile 433 arasında değişmekteydi. Hastaların ortalama CA 19-9 değeri ise 62,4834 olup; 0,6 ile 368,3 arasında değişmekteydi. Serum AFP ($p:1,000$) ve CA19-9 ($p:0,045$) düzeylerinin doku HBV DNA pozitifliği üzerine anlamlı etkisi olmadığı görüldü.

Hasta grubundaki 121 hastadan nakil öncesi 11'inin (%9,1) HBeAg'i pozitif, 110'unun (%90,9) HBeAg'i negatifti. 122 hastadan nakil öncesi 49'unun (%40,2)

serumunda saptanabilir düzeyde HBV DNA mevcuttu. 113 hastadan nakil öncesi 64'ünün (%56,6) Anti-delta pozitifliği mevcuttu (Tablo 3).

Tablo 3. Nakil öncesi hasta serum viral belirteçleri

	Pozitif(%)	Negatif(%)	Toplam
HBsAg	150 (%100)	0 (%0)	150
HBeAg	11 (%9,1)	110 (%90,9)	121
HBV DNA	49 (%40,2)	73 (%59,8)	122
Anti delta	64 (%56,6)	49 (%43,4)	113
Delta RNA	25 (%78,1)	7 (%21,9)	32
Anti HAV Ig G	93 (%96,9)	3 (%3,1)	96

Nakilden önce hastanın Anti HAV IgG ($p:0,063$), HBsAg ($p:1,000$), HBeAg ($p:0,638$)'inin pozitif olması, serumda saptanabilir düzeyde HBV DNA olması ($p:0,159$), Anti delta ($p:0,592$) veya delta RNA ($p:0,201$) pozitifliğinin doku HBV DNA varlığı üzerine etkisi olmadığı görüldü. (Tablo 4)

Tablo 4. Hasta özelliklerinin ve serolojik belirteçlerinin doku HBV DNA varlığına etkisi

	Doku HBV DNA		Doku HBV DNA		<i>p</i>
	negatif		pozitif		
Toplam hasta	132	%88	18	%12	
Cinsiyet (n=150)					
Kadın	30	%88,2	4	%11,8	1,000
Erkek	102	%87,9	14	%12,1	
Donör (n=150)					
Canlı	92	%85,2	16	%14,8	0,101
Kadavra	40	%95,2	2	%4,8	
Child-Turcotte-Pugh sınıfı (n=81)					
A	9	%100	0	%0	0,260
B	21	%87,5	3	%12,5	
C	39	%81,3	9	%18,8	
HBeAg (n=121)					
(+)	9	%81,8	2	%18,2	0,638
(-)	96	%87,3	14	%12,7	
HBV DNA (n=122)					
(+)	40	%81,6	9	%18,4	0,180
(-)	66	%90,4	7	%9,6	

Hastalar içinde nakil öncesi hiç antiviral tedavi almayanlar (21 kişi, %14) olduğu gibi, ilaç kullanımı olup olmadığı bilgisine ulaşamadıklarımız da mevcuttu. Sadece lamivudin (47 kişi; %31,4), adefovir dipivoksil (4 kişi; %2,7) veya entekavir (3 kişi; %2) kullanmış olan hastalar ile (1 kişi; %0,7) nakil öncesi dönemde ayrı

zamanlarda lamivudin, adefovir ve entekavir kullananlar da mevcuttu. 7 hasta (%4,7) ise nakil öncesi ayrı zamanlarda lamivudin ve adefovir tedavisi almıştı. Yine 1 hastanın (%0,7) nakil öncesinde interferon, lamivudin, adefovir kullanımı mevcuttu. Hastaların nakil öncesi aldığı antiviral ajanlar karşılaştırıldığında doku HBV DNA varlığı üzerine anlamlı etkileri olmadığı görüldü. (tablo 5)

Tablo 5. Nakil öncesi antiviral kullanımı ile doku HBV DNA varlığı ilişkisi

	Doku HBV DNA (-)		Doku HBV DNA (+)		n	p
İnterferon	7	%87,5	1	%12,5	8	1,000
Lamivudin	47	%82,5	10	%17,5	57	0,323
Adefovir	13	%100	0	%0	13	1,86
Entekavir	4	%100	0	%0	4	1,000
Nakil öncesi antiviral kullanımı yok	19	%90,5	2	%9,5	21	
İlaç kullanımı bilinmeyen	58	%89,2	7	%10,8	65	

Hastalarımızın aldıkları antiviral tedavinin doku HBV DNA varlığı ile ilişkisi tablo 6'da görülmektedir.

Tablo 6. Nakil sonrası kullanılan antiviral ilaçların doku HBV DNA varlığı ile ilişkisi

	Doku HBV DNA (-)		Doku HBV DNA (+)		n	p
Lamivudin	126	%88,1	17	%11,9	143	0,545
Adefovir	11	%78,6	3	%21,4	14	0,379
Telbivudin	14	%87,5	2	%12,5	16	1,000
Entekavir	12	%92,3	1	%7,7	13	1,000
Tenofovir	27	%87,1	4	%12,9	31	1,000

Nakil sonrası herhangi bir dönemde lamivudin ($p:0,545$), adefovir ($p:0,379$), telbivudin ($p:1,000$), entekavir ($p:1,000$) veya tenofovir ($p:1,000$) tedavilerinden hangisinin kullanıldığının doku HBV DNA varlığı üzerine etkili olmadığı görülmüştür.

Hastalara nakil sonrasında immüsupresyon amaçlı metilprednizolon, takrolimus (FK), siklosporin, everolimus, basiliksimab, mikofenolat mofetil, mikofenolik asit, azatiyoprin, rapamisin (sirolimus) gibi ajanlar kullanılmıştır. Her hasta birçok kombinasyon tedavisi almış, nakil sonrası izlem döneminde de klinik gidişlerine, laboratuvar verilerine göre tedavi değişikliği yapılmıştır. Hastaların nakil sonrası izlemlerinin herhangi bir döneminde bu ajanlardan hangilerine maruz kaldıklarının doku HBV DNA varlığı üzerine etkili olmadığı görülmüştür. (tablo 7)

Tablo 7. Nakil sonrası kullanılan immünsupresif ilaçların doku HBV DNA varlığı ile ilişkisi

	Doku HBV DNA		Doku HBV DNA		n	p
	(-)	(+)	(-)	(+)		
Metilprednisolon	130	%88,4	17	%11,6	147	0,228
Takrolimus	110	%87,3	16	%12,7	126	0,741
Siklosporin A	24	%92,3	2	%7,7	26	0,740
Rapamisin	35	%85,4	6	%14,6	41	0,579
Everolimus	9	%69,2	4	%30,8	13	0,054
Basiliksimab	9	%90	1	%10	10	1,000
Mikofenolat Mofetil	46	%86,8	7	%13,2	53	0,754
Mikofenolik Asit	9	%100	0	%0	9	0,601
Azatiyoprin	2	%100	0	%0	2	1,000
Bilinmeyen	1		0		1	

Hastaların eksplant patoloji sonuçları incelendiğinde 43 hastanın (%28,6) karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinomu, 35 hastanın da (%23,3) karaciğer sirozu ile birlikte displastik nodüllerinin olduğu görüldü. Hepatoselüler karsinomu olan 43 hastanın 4 tanesinin doku HBV DNA'sı pozitif saptandı. Hastaların karaciğer sirozu ile birlikte hepatoselüler karsinomunun veya displastik nodüllerinin olmasının doku HBV DNA varlığı üzerine etkisi olmadığı görüldü. (Tablo 8)

Tablo 8. Eksplant patoloji sonuçları ile doku HBV DNA varlığı ilişkisi

	Doku HBV DNA (-)		Doku HBV DNA (+)		n	p
Karaciğer sirozu	50	%81,9	11	%18,1	61	0,400
Karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinom	39	%90,6	4	%9,4	43	
Karaciğer sirozu ve displastik nodül	32	%91,4	3	%8,6	35	
Bilinmeyen	11	%100	0	%0	11	
Toplam	132	%88	18	%12	150	

Biyopsi yapıldığı zaman AntiHBs düzeyi sıfır olan 19 hasta vardı. Bunlardan 2 tanesinin doku HBV DNA'sının pozitif olduğu görüldü. AntiHBs düzeyinin sıfır olması (AntiHbs-) ile sıfırdan büyük olmasının (AntiHBs+) doku HBV DNA varlığı üzerine etkisi olmadığı görüldü ($p:1,000$). (Tablo 9)

Tablo 9. Serum Anti-HBs düzeyi ile doku HBV DNA ilişkisi

	Doku HBV DNA (-)		Doku HBV DNA (+)		n	p
Anti HBs (-)	17	%89,5	2	%10,5	19	1,000
Anti HBs (+)*	115	%87,8	16	%12,2	131	

*Anti HBs > 0 mIU/mL olan hastalar 'AntiHBs (+)', AntiHBs= 0 mIU/mL olanlar ise 'AntiHBs (-)' olarak gruplandırılmıştır.

5. TARTIŞMA

Hepatit B virüs enfeksiyonu tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de önemli bir halk sağlığı sorunudur. Avrupa Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (ECDC)’nin Eylül 2010’da hepatit B’ye ilişkin teknik raporunda Türkiye’de genel popülasyonda hepatit B prevalansı bölgelere göre %2-8 arasında bildirilmiştir. Siroz hastalarında HBsAg prevalansı %64, hepatoselüler karsinom vakalarında HBsAg prevalansı ise %54 olarak bildirilmiştir (71).

Ülkemizde HBV’ye bağlı gelişen karaciğer yetmezliği nedeniyle yapılan karaciğer nakilleri tüm nakillerin %60’ını oluşturmaktadır. Son dönem ve akut karaciğer yetmezliği gelişen hastalara kadavradan yeterli organ bulabilmek oldukça güçtür. Bu organ ihtiyacı açığı canlıdan yapılan transplantasyonlar ile kapatılmaya çalışılmaktadır. Yetersizlikler içinde gerçekleştirilen operasyonlardan sonra da transplante edilen organın işlevini yerine getirmesini devam ettirebilmek bu nedenle oldukça önem taşımaktadır.

HBV rekürrensi, HBV ilişkili karaciğer hastalığına bağlı karaciğer nakli yapılmış olan hastalarda greft disfonksiyonunun yaygın nedenidir. Transplantasyondan sonra spontan greft reenfeksiyon riski %80 civarı iken rekürrensi önlemek için nakil sonrası HBIG ve nükleos(t)id analoglarının kombine kullanımı ile bu risk %10’un altına düşmüştür (46, 49, 51, 72). Böylece HBV ilişkili hastalık nedeniyle karaciğer nakli yapılmış olup yeterli immünprofilaksi alan hastalar ile diğer karaciğer hastalıkları nedeniyle nakil yapılmış hastaların 10 yıllık sağkalım oranları benzer ya da daha iyi hale gelmiştir (73). Günümüzde uygulanan HBIG ve nükleos(t)id analogu kombinasyon tedavisi nakil sonrası HBV rekürrensini önlemede oldukça etkili olmasına rağmen; bu tedavinin süresiz devam ettirilmesi ve yüksek

maliyeti nedeniyle son birkaç yıldır intravenöz HBIG tedavisi gereksinimi azaltmak ya da kesmek için çeşitli metodlar öne sürülmüştür. Bunlar; intramuskuler HBIG kullanımı, antiviral ajan ile monoterapi ve HBV aşılmasıdır. Viral heterojenite ve nakil öncesi veya esnasında hastaların farklı viral replikasyon düzeylerinin olması hasta popülasyonun çok çeşitli olmasına yol açmaktadır. Bu çeşitlilik de hasta bazında farklı profilaksi rejimlerinin olması gerektiği görüşünü ortaya çıkartmaktadır. HBIG ve nükleos(t)id analog tedavisi birçok merkezde uygulanmakta ise de ideal profilaktik rejimin nasıl olması gerektiği hala tartışmalıdır. Bu nedenle de her nakil merkezi, kendi deneyimi ile oluşturduğu tedavi modelini hastalarına uygulamaktadır.

Serumda HBV DNA'nın ya da HBsAg'nin yeniden ortaya çıkması HBV reenfeksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Serumda HBsAg yeniden ortaya çıkmadan ya da serum aminotransferaz yüksekliği olmadan önce PCR ile HBV DNA varlığı saptanabilmektedir (12). HBV DNA nakil sonrası hiçbir klinik belirtiyeye yol açmadan karaciğer dokusunda ya da polimorfonükleer hücreler içinde; serum HBsAg ve HBV DNA negatif olsa dahi, varlığına devam edebilmektedir (6). HBV hata eğilimli viral '*reverse transcriptase*' ile çoğalmakta (74) ve konakta genetik olarak farklı ama yakından ilişkili varyantların birikimine yol açabilmektedir. Bu viral varyantlar da konakta farklı dokulara yönelim ve ilgi gösterebilmektedir. Esas hedef hücreler hepatositler olarak tanımlanmış olsa da HBV ve hepadnavirüs ailesinin diğer üyelerinin lenfositlere karşı da yönelimleri tanımlanmıştır (75, 76). Lenfositlerin hepadnavirüsler ile enfekte olabilmesi virüsün bağışıklık hücreleri ile tanınmasından kaçmasına ve lenfositlerin özellikle de ilaç dirençli HBV rezervuarı olmasına neden olabilmektedir (77, 78). Karaciğer nakli alıcılarında lenfosit ilişkili viral varyantların

periferik kan mononükleer hücrelerinde bulunuyor olmasının nakil sonrası greft reenfeksiyonuna etki edebileceğini öne süren yayınlar mevcuttur (79-81).

HBV reaktivasyonu için enfekte hepatositlerin çekirdeğinde HBV'nin cccDNA formu şeklinde varlığını devam ettirmesi de bir risk faktörü olarak düşünülmektedir. cccDNA, HBV'nin yaşam döngüsünde, sonraki nesil HBV virüslerinin üretimi için transkripsiyonel kalıp rolü oynayan bir ara formdur. Virüs ile enfeksiyonu ortadan kaldırmayı sınırlandıran olay, enfekte hücrelerde cccDNA rezervuarlarını temizlemenin zorluğudur (82). Daha önceki çalışmalar karaciğerden cccDNA'nın temizlenmesinde iki immün aracılıklı mekanizma önermektedir. Biri; enfekte hücrelerin ortadan kaldırılıp, enfekte olmayan hücrelerin bunların yerini aldığı sitolitik mekanizma (83, 84), diğeri de sitolitik olmayan, sitokin aracılı mekanizmadır (85, 86). Bunların her ikisi de sonuç olarak kronik hepatit B enfeksiyonunu gidermek için gereklidir. Diğeryandan, son çalışmalar da cccDNA'nın kaybolmasının pek mümkün olmadığını göstermektedir, öyle ki akut hastalıktan kurtulularda bile cccDNA varlığının devam ettiği bildirilmektedir (8). Adefovir dipivoxil (87) ve pegile interferon alfa (88) ile tedavi edilen hastalarda intrahepatik cccDNA'da anlamlı azalma olduğu bildirilmesine rağmen, şimdiye kadar hiçbir tedavi ortadan kaldırılması ile ilişkili bulunmamıştır. Matematiksel modelleme, karaciğerin cccDNA'dan temizlenmesi için belki de nükleos(t)id analogları ile 10 yıldan fazla süre başarılı tedavi gerektiğini önermektedir (87). Nakil sonrası dönemde, intrahepatik total HBV DNA ve cccDNA'nın saptanmasının HBV rekürrensini öngörmede uygun belirteçler olduğunu belirten veriler mevcuttur.

Biz de çalışmamızda, HBV'ye bağlı karaciğer yetmezliği nedeniyle nakil yapılmış, nakil sonrası en az 3 yıllık izlemde serum HBsAg ve HBV DNA'sı negatif olan hastaların karaciğer biyopsisi ile intrahepatik HBV DNA varlığını tespit etmeyi

ve doku HBV DNA varlığı üzerine etkili olabilecek risk faktörlerini belirlemeyi amaçladık. Serum HBV DNA'sı negatif olan 150 hastadan 18'inin (%12) karaciğer biyopsisinde HBV DNA varlığının devam ettiğini saptadık. 150 hastadan 122 tanesinin nakil öncesi serum HBV DNA düzeyi bilinmekteydi. Doku HBV DNA'sı pozitif saptanan hastaların %18,4'ünün nakil öncesi serum HBV DNA'sı ölçülebilir düzeydeydi. 150 hastanın nakil öncesi 68'inin herhangi bir antiviral ilaç kullanıp kullanmadığı bilinmemekle beraber antiviral ajan kullananların da %30'unda doku HBV DNA pozitif saptandı.

2003 yılında Fransa'da Bruno Roche ve arkadaşları, 284 HBsAg pozitif karaciğer transplant hastasını dahil ettikleri bir çalışmada, bu hastaların nakil sonrası 10 yıllık izlem süresince elde edilen sonuçlarını paylaşmışlardır. Bu hasta grubundan 44 hastanın nakilden 10 yıl sonra serum, karaciğer ve periferik kan mononükleer hücreleri PCR ile HBV DNA varlığı açısından değerlendirilmiştir. 18 hastanın serum HBV DNA'sı pozitif saptanmıştır. Bu 18 hastanın 9'unun karaciğerinde, 12'sinin de polimorfonükleer hücrelerinde HBV DNA varlığı gösterilmiştir. Serum HBV DNA'sı negatif olanlar içinden ise 1 hastanın karaciğer dokusunda, yine 1 diğer hastanın da polimorfonükleer hücrelerinde HBV DNA varlığı saptanmıştır. cccDNA'sı pozitif saptanan bir hasta daha vardır ki bunun hem karaciğer hem de serum HBV DNA'sı pozitifdir. Çalışmada hastaların %44'ünün karaciğer hücrelerinde HBV DNA saptanmışken sadece %10'unda cccDNA varlığının devam ettiği görülmüştür (6). Bu çalışmanın bizim çalışmamızdan farkı değerlendirmeye alınan hastaların serum HBsAg'i negatif olsa dahi serum HBV DNA'ları pozitif olan hastaları da içeriyor olmasıdır. Bu nedenle bizim çalışmamızda intrahepatik HBV DNA varlığı %18 gibi daha düşük bir oranda saptanmıştır. Bir diğer fark da hastaların nakil sonrası takip

süreleridir, bu çalışmada tüm hastalar nakil sonrası en az 10 yılını doldurmuş iken bizim çalışmamızda hastalar nakil sonrası en az 3 yılını doldurmuşlardır.

2007 yılında Hussain ve arkadaşlarının Amerika'da yayınladığı bir başka çalışmada da; 5-35 ay önce karaciğer nakli yapılmış 25 hastadan elde edilen 47 biyopside HBV DNA ve cccDNA sırasıyla %83 ve %17 saptanmıştır (89). Sadece 2 hastada HBV rekürrensi gelişmiştir ve bu iki hastanın da diğer hastalara oranla nakil esnasındaki serum HBV DNA düzeyleri anlamlı ($p = 0,046$) yüksek saptanmıştır. Yine her iki hasta da nakil öncesi herhangi bir antiviral tedavi almamıştır. Bu çalışmada intrahepatik HBV DNA varlığının HBV rekürrensi için bir belirteç olmadığı savunulmuştur. Ancak bu çalışmaya dahil edilen hastaların çoğunun HBeAg'i pozitif olup HBV replikasyonu transplantasyon sırasında devam etmekteydi. Bu iki faktör dahi HBV rekürrensi gelişmesi ihtimalini yüksek kılmaktadır.

2010 yılında C. S. Coffin ve arkadaşlarının Amerika'da yayınladığı bir başka çalışmada en az 6 ay antiviral tedavi aldıktan sonra serum HBV DNA negatifleşip karaciğer nakli yapılmış olan 9 hastanın tümünün eksplant karaciğer dokusunda HBV DNA ve cccDNA varlığının devam ettiği gösterilmiştir. %83 hastanın (5/6) periferik kan mononükleer hücrelerinde, %43 hastanın (3/7) plazmasında HBV DNA '*sensitive PCR/nucleic acid hybridization*' yöntemi ile tespit edilmiştir (90). Bu çalışmanın sonucu da yukarıda bahsedilen Hussain ve arkadaşlarının verileri ile uyumluluk göstermektedir. Ancak bu çalışmanın bizim ve diğer çalışmalardan farkı hastaların eksplant karaciğer dokularının ve operasyon öncesi kan örneklerinin değerlendirilmiş olmasıdır. Dokuda HBV DNA'nın varlığının serum viral belirteçlerinin negatif olmasına rağmen devam ettiği gösterilen bu çalışmada, hastalarda uzun dönem izlemde rekürrens gelişip gelişmeyeceği takip edilmelidir.

Nakil sonrası karaciğer biyopsi analizleri göstermektedir ki greftte HBV DNA varlığını devam ettirirken cccDNA orta vadede düşüşe geçmektedir. Hussain ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçları da daha önce bahsettiğimiz Fransa’da yapılmış çalışmanın sonucu ile benzerlik göstermektedir. Ancak cccDNA yokluğunda greftte HBV DNA varlığının saptanmasının devam ediyor olması cccDNA tahlillerinin duyarlılığı ve HBV DNA integrasyonu olasılığı hakkında düşündürmektedir. Eğer hepatic HBV DNA varlığının saptanması, entegre HBV DNA ile uyuşmuyorsa, düşük miktardaki cccDNA’nın HBV replikasyonuna izin verdiği düşünülebilir (91). Bizim çalışmamızda karaciğer biyopsisinde HBV DNA varlığı devam eden 18 hastanın polikliniğimizde yapılan son kontrollerinde, 1 hastanın HBsAg’i pozitifleşmiş ancak halen serum HBV DNA’sı negatif izlenmekteydi. Bu da intrahepatik HBV DNA varlığının gerçekten de nakil sonrası rekürrensi öngörmede kullanılabilir bir belirteç olup olmadığı hakkında düşündürmektedir. Bu açıdan bizim çalışma sonucumuz da Hussain ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu gibi görünmektedir.

2010 yılında İtalya’da Ilaria Lenci ve arkadaşlarının yayınladığı bir diğer çalışmada ise transplant esnasında serum HBV DNA’sı negatif olan 44 HBsAg pozitif hastanın intrahepatik HBV DNA ve cccDNA varlığı PCR ile değerlendirilmiştir. Hastalar ortalama 88,3 ay izlenmiştir. Bu sürede hem intrahepatik HBV DNA hem de cccDNA varlığı devam eden sadece 1 hastada HBV rekürrensi görülmüştür. Diğer 43 hastadan 2 tanesinde ise cccDNA yokluğunda intrahepatik HBV DNA varlığının devam ettiği görülmüştür (92). Bu çalışmanın bizim çalışmamızdan farkı seçilen hastaların nakil öncesi tümünün HBeAg negatif olması, nakil esnasında düşük viremiye sahip olmalarıdır. Bu nedenle bizden daha düşük oranda intrahepatik HBV DNA varlığı saptanması muhtemeldir. Bu çalışma

ayrıca önceden bahsettiğimiz Fransa ve Amerika çalışmalarının tersine özellikle cccDNA varlığının HBV rekürrensini öngören bir belirteç olarak kullanılabileceğini savunurken, cccDNA yokluğunda intrahepatik HBV DNA varlığının devam ediyor olmasını açıklığa kavuşturamamıştır.

2014 yılında Kore’de HBV’ye bağlı karaciğer yetmezliği nedeniyle nakil yapılmış 70 hastanın, nakledilen karaciğerine 3 kez biyopsi yapılarak greftteki HBV DNA ve cccDNA düzeylerindeki değişiklikler değerlendirilmiştir. İlk biyopsi nakil esnasında donör hepatektomi materyaline yapılmıştır. İkinci biyopsi, karaciğer nakledilip reperfüzyon sağlandıktan hemen sonra yapılmıştır. Üçüncü biyopsi ise nakil sonrasındaki izlemde sadece 18 hastaya yapılmıştır. Nakil sonrası izlemde grefte HBV DNA pozitifliği %41,4’den %22,2’ye gerilerken cccDNA’da gerileme saptanmamıştır (biyopsi 2 de % 4.3, biyopsi 3 de % 5.6). Reperfüzyon sonrası HBV DNA’nın rekürrens ile güçlü korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (93). HBV DNA uygun profilaksi ile düşerken, cccDNA grefte varlığını devam ettirmiştir. cccDNA HBV yaşam döngüsünde, hepatositte antiviral ajanlara dirençli oluşu ile stabil bir havuz olarak muhafaza edilen, önemli bir araçtır. Belki de bu şekilde profilaksi başarısının kısıtlanmasında rol oynamaktadır (94). Bu çalışma Ilaria Lenci ve arkadaşlarının çalışmasındaki gibi, bizim çalışmamızın ise aksine, doku HBV DNA varlığını rekürrens göstergesi için daha uygun bir belirteç olarak kabul etmektedir.

Geçmişteki bazı çalışmalarda gösterilmiş ki, HBV DNA uzun süre periferik mononükleer hücreler gibi karaciğer dışı alanlarda da varlığını devam ettirebilmektedir. Ama hala bu durumun HBV reaktivasyonu üzerine olan etkisi açık değildir (6, 80). Hem bizim çalışmamızın hem de bahsettiğimiz diğer çalışmaların zayıf olduğu nokta karaciğer dışı alanlarda özellikle de periferik mononükleer hücrelerin HBV DNA varlığı açısından değerlendirilmemiş olmasıdır. Bu alanların

HBV DNA rezervuarı olması muhtemeldir ancak hala tartışılmakta olan kısım şu ki; polimorfonükleer hücrelerdeki HBV DNA'nın dolaşımdan adsorbe edilen virionlardan türeyebileceğidir (95, 96). *Real-time PCR* kullanılarak yapılmış çalışmalardan birinde, HBV ile enfekte immünkompetan hastalarda polimorfonükleer hücrelerin cccDNA pozitifliğinin son derece nadir olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmadaki cccDNA/total DNA oranının <%1 olması da büyük olasılıkla kontaminasyonu yansıtmaktadır. Bu nedenle polimorfonükleer hücrelerin viral rezervuar olarak fonksiyon gösterme olasılığının olmadığı düşünülmektedir (96). Ayrıca tüm bunların yanında transplantasyon sırasında HBV ile enfekte halde olan polimorfonükleer hücrelerin, transplantasyondan yıllar sonra halen yaşıyor olmasının gerçekliği bulunmadığının belirtildiği çalışmalar da mevcuttur (92).

Gelecekte greft HBV DNA miktarındaki değişimi bilmek önem kazanacaktır. Greft HBV DNA'sındaki yükselişin ya da greft cccDNA'sının yeniden ortaya çıkışı geç HBV rekürrensini tahmin etmemizde yol gösterici olabilir (91). Karaciğerde HBV DNA ve cccDNA'nın saptanması, güçlü antiviral ilaçların kullanıldığı bu yeni çağda HBV enfeksiyonu yönetiminde umut verici yeni araçlardır. Bu yeni araçların eksiklikleri ise; nakil sonrası sık karaciğer biyopsisi yapmanın zorluğu, düşük sayıda HBV rekürrensi saptanan hasta olması, tahlilin henüz standardize edilmemiş olmasıdır. Gelecekte karaciğer dokusunda HBV DNA'nın tespit edildiği test, hangi hastaların nakil sonrası profilaksi tedavisinin kesilebileceğini ya da azaltılabileceğini belirlemeye yardımcı olacaktır. 2011 yılında Ilaria Lenci ve arkadaşlarının yayınladığı bir başka çalışmada da nakil sonrası HBV rekürrens profilaksisinin, rekürrens açısından düşük riskli olarak seçilen bir grup hastada tamamen kesilmesinin mümkün ve de güvenli olabileceği öne sürülmüştür. Düşük riskli hasta grubu; nakil esnasında serum HBV DNA ve HBeAg'i negatif olanlar ve nakilden en

az 3 yıl sonra intrahepatik total ve cccDNA varlığı saptanmayanlar olarak belirtmişlerdir. Ancak bu çalışmada da rekürrens olmadan ve cccDNA yokluğunda intrahepatik HBV DNA varlığının neyi yansıttığı anlamlandırılmamış; testin özgüllüğünün düşük olduğu bu nedenle de yanlış pozitif sonuçlara yol açtığı düşünülmüştür (97). Ancak şu da unutulmamalıdır ki, HBV enfeksiyonunun belirgin tam iyileşme ve aşılama rağmen süresiz devam edebildiğini savunan görüşler de mevcuttur (91).

Bu çalışmamızda, HBV'ye bağlı karaciğer yetmezliği nedeniyle karaciğer nakli yapılan ve etkili profilaktik tedavi alan hastalarda (serum HBsAg ve HBV DNA negatif olan hastalar) dahi karaciğer dokusunda HBV DNA varlığının devam etmekte olduğunu saptadık. İntrahepatik HBV DNA varlığının devam etmesinin hastaların nakil öncesi serum viral belirteçlerinin durumu, hepatoselüler karsinom varlığı, aldıkları antiviral tedavinin farklılığı ve yine nakil sonrası aldıkları antiviral ve immünsupresif tedavinin farklılığı ile ilişkisi olmadığını gösterdik. Çalışmamızda hastalarımızın %12'sinde intrahepatik HBV DNA varlığının devam ettiği saptanmasına rağmen HBV rekürrensi izlenmemiş olması şu an için doku HBV DNA varlığının HBV rekürrensini tahmin etmede başarılı bir belirteç olduğunu gösterememektedir. Gelecekte, doku HBV DNA pozitifliği olan hastalarda greft reenfeksiyonu görülecek mi? Şu an doku HBV DNA'sı negatif olan hastalarda sonradan pozitifleşme durumu olacak mı? Doku HBV DNA düzeyindeki değişikliklere bakılarak profilaksi tedavisini kesme ya da azaltma gibi tedavi değişiklikleri yapılabilecek mi? Tüm bu soruların yanıtı için daha uzun hasta izlem süreli, daha fazla hasta sayılı, çok merkezli çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

1. O'Grady JG, Smith HM, Davies SE, Daniels HM, Donaldson PT, Tan KC, et al. Hepatitis B virus reinfection after orthotopic liver transplantation. Serological and clinical implications. *Journal of hepatology*. 1992;14(1):104-11.
2. Burra P, Germani G, Adam R, Karam V, Marzano A, Lampertico P, et al. Liver transplantation for HBV-related cirrhosis in Europe: an ELTR study on evolution and outcomes. *Journal of hepatology*. 2013;58(2):287-96.
3. Omata M. Significance of extrahepatic replication of hepatitis B virus. *Hepatology*. 1990;12(2):364-6.
4. Van Thiel DH, Schade RR, Gavalier JS, Shaw BW, Jr., Iwatsuki S, Starzl TE. Medical aspects of liver transplantation. *Hepatology*. 1984;4(1 Suppl):79S-83S.
5. Samuel D, Bismuth A, Mathieu D, Arulnaden JL, Reynes M, Benhamou JP, et al. Passive immunoprophylaxis after liver transplantation in HBsAg-positive patients. *Lancet*. 1991;337(8745):813-5.
6. Roche B, Feray C, Gigou M, Roque-Afonso AM, Arulnaden JL, Delvart V, et al. HBV DNA persistence 10 years after liver transplantation despite successful anti-HBS passive immunoprophylaxis. *Hepatology*. 2003;38(1):86-95.
7. Devlin J, Smith HM, O'Grady JG, Portmann B, Tan KC, Williams R. Impact of immunoprophylaxis and patient selection on outcome of transplantation for HBsAg-positive liver recipients. *Journal of hepatology*. 1994;21(2):204-10.
8. Perrillo RP, Wright T, Rakela J, Levy G, Schiff E, Gish R, et al. A multicenter United States-Canadian trial to assess lamivudine monotherapy before and after liver transplantation for chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2001;33(2):424-32.
9. Chen YS, Wang CC, de Villa VH, Wang SH, Cheng YF, Huang TL, et al. Prevention of de novo hepatitis B virus infection in living donor liver

- transplantation using hepatitis B core antibody positive donors. *Clinical transplantation*. 2002;16(6):405-9.
10. Yu AS, Vierling JM, Colquhoun SD, Arnaout WS, Chan CK, Khanafshar E, et al. Transmission of hepatitis B infection from hepatitis B core antibody--positive liver allografts is prevented by lamivudine therapy. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2001;7(6):513-7.
 11. Lok AS. Prevention of recurrent hepatitis B post-liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2002;8(10 Suppl 1):S67-73.
 12. Wong SN, Chu CJ, Wai CT, Howell T, Moore C, Fontana RJ, et al. Low risk of hepatitis B virus recurrence after withdrawal of long-term hepatitis B immunoglobulin in patients receiving maintenance nucleos(t)ide analogue therapy. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2007;13(3):374-81.
 13. Fung J, Cheung C, Chan SC, Yuen MF, Chok KS, Sharr W, et al. Entecavir monotherapy is effective in suppressing hepatitis B virus after liver transplantation. *Gastroenterology*. 2011;141(4):1212-9.
 14. Pungpapong S, Kim WR, Poterucha JJ. Natural history of hepatitis B virus infection: an update for clinicians. *Mayo Clinic proceedings*. 2007;82(8):967-75.
 15. Akarca US. Chronic hepatitis B. A guideline to diagnosis, approach, management, and follow-up 2007. Turkish Association for the Study of Liver.

The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology. 2008;19(4):207-30.

16. Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. *Journal of viral hepatitis*. 1997;4 Suppl 1:11-20.
17. McMahon G, Ehrlich PH, Moustafa ZA, McCarthy LA, Dottavio D, Tolpin MD, et al. Genetic alterations in the gene encoding the major HBsAg: DNA and immunological analysis of recurrent HBsAg derived from monoclonal antibody-treated liver transplant patients. *Hepatology*. 1992;15(5):757-66.
18. Uchida T, Saitoh T, Shinzawa H. Mutations of the X region of hepatitis B virus and their clinical implications. *Pathology international*. 1997;47(4):183-93.
19. Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H, Zeuzem S, Akarca US, Cakaloglu Y, et al. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet*. 2005;365(9454):123-9.
20. EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. *Journal of hepatology*. 2009;50(2):227-42.
21. Angus P, Vaughan R, Xiong S, Yang H, Delaney W, Gibbs C, et al. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology*. 2003;125(2):292-7.
22. Peng CY, Chien RN, Liaw YF. Hepatitis B virus-related decompensated liver cirrhosis: benefits of antiviral therapy. *Journal of hepatology*. 2012;57(2):442-50.
23. Snow-Lampart A, Chappell B, Curtis M, Zhu Y, Myrick F, Schawalder J, et al. No resistance to tenofovir disoproxil fumarate detected after up to 144 weeks of

- therapy in patients monoinfected with chronic hepatitis B virus. *Hepatology*. 2011;53(3):763-73.
24. Marcellin P, Gane E, Buti M, Afdhal N, Sievert W, Jacobson IM, et al. Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: a 5-year open-label follow-up study. *Lancet*. 2013;381(9865):468-75.
 25. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2001;34(6):1225-41.
 26. Trey C, Burns DG, Saunders SJ. Treatment of hepatic coma by exchange blood transfusion. *The New England journal of medicine*. 1966;274(9):473-81.
 27. Oellerich M, Burdelski M, Lautz HU, Binder L, Pichlmayr R. Predictors of one-year pretransplant survival in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 1991;14(6):1029-34.
 28. Shetty K, Rybicki L, Carey WD. The Child-Pugh classification as a prognostic indicator for survival in primary sclerosing cholangitis. *Hepatology*. 1997;25(5):1049-53.
 29. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*. 2000;31(4):864-71.
 30. Perrillo RP, Hann HW, Schiff E, Mutimer D, Willems B, Leung N, et al. Extended treatment with lamivudine and adefovir dipivoxil in chronic hepatitis B patients with lamivudine resistance. *Hepatology international*. 2011;5(2):654-63.
 31. Marzano A, Gaia S, Ghisetti V, Carenzi S, Premoli A, Debernardi-Venon W, et al. Viral load at the time of liver transplantation and risk of hepatitis B virus recurrence. *Liver transplantation : official publication of the American*

Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society. 2005;11(4):402-9.

32. Vargas HE, Dodson FS, Rakela J. A concise update on the status of liver transplantation for hepatitis B virus: the challenges in 2002. Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society. 2002;8(1):2-9.
33. Schreiber IR, Schiff ER. Prevention and treatment of recurrent Hepatitis B after liver transplantation: the current role of nucleoside and nucleotide analogues. Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 2006;5:8.
34. Shouval D, Samuel D. Hepatitis B immune globulin to prevent hepatitis B virus graft reinfection following liver transplantation: a concise review. Hepatology. 2000;32(6):1189-95.
35. Celis E, Abraham KG, Miller RW. Modulation of the immunological response to hepatitis B virus by antibodies. Hepatology. 1987;7(3):563-8.
36. Sawyer RG, McGory RW, Gaffey MJ, McCullough CC, Shephard BL, Houlgrave CW, et al. Improved clinical outcomes with liver transplantation for hepatitis B-induced chronic liver failure using passive immunization. Annals of surgery. 1998;227(6):841-50.
37. Samuel D, Muller R, Alexander G, Fassati L, Ducot B, Benhamou JP, et al. Liver transplantation in European patients with the hepatitis B surface antigen. The New England journal of medicine. 1993;329(25):1842-7.
38. Terrault NA, Zhou S, Combs C, Hahn JA, Lake JR, Roberts JP, et al. Prophylaxis in liver transplant recipients using a fixed dosing schedule of hepatitis B immunoglobulin. Hepatology. 1996;24(6):1327-33.

39. Davis JL, Cattamanchi A, Cuevas LE, Hopewell PC, Steingart KR. Diagnostic accuracy of same-day microscopy versus standard microscopy for pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet infectious diseases*. 2013;13(2):147-54.
40. Protzer-Knolle U, Naumann U, Bartenschlager R, Berg T, Hopf U, Meyer zum Buschenfelde KH, et al. Hepatitis B virus with antigenically altered hepatitis B surface antigen is selected by high-dose hepatitis B immune globulin after liver transplantation. *Hepatology*. 1998;27(1):254-63.
41. Trautwein C, Schrem H, Tillmann HL, Kubicka S, Walker D, Boker KH, et al. Hepatitis B virus mutations in the pre-S genome before and after liver transplantation. *Hepatology*. 1996;24(3):482-8.
42. Hwang S, Lee SG, Ahn CS, Kim KH, Moon DB, Ha TY, et al. Prevention of hepatitis B recurrence after living donor liver transplantation: primary high-dose hepatitis B immunoglobulin monotherapy and rescue antiviral therapy. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2008;14(6):770-8.
43. Mohanty SR, Cotler SJ. Management of hepatitis B in liver transplant patients. *Journal of clinical gastroenterology*. 2005;39(1):58-63.
44. Lok AS, Heathcote EJ, Hoofnagle JH. Management of hepatitis B: 2000--summary of a workshop. *Gastroenterology*. 2001;120(7):1828-53.
45. Seehofer D, Rayes N, Berg T, Neuhaus R, Muller AR, Hopf U, et al. Lamivudine as first- and second-line treatment of hepatitis B infection after liver transplantation. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2000;13(4):290-6.

46. Markowitz JS, Martin P, Conrad AJ, Markmann JF, Seu P, Yersiz H, et al. Prophylaxis against hepatitis B recurrence following liver transplantation using combination lamivudine and hepatitis B immune globulin. *Hepatology*. 1998;28(2):585-9.
47. Avolio AW, Nure E, Pompili M, Barbarino R, Basso M, Caccamo L, et al. Liver transplantation for hepatitis B virus patients: long-term results of three therapeutic approaches. *Transplantation proceedings*. 2008;40(6):1961-4.
48. Loomba R, Rowley AK, Wesley R, Smith KG, Liang TJ, Pucino F, et al. Hepatitis B immunoglobulin and Lamivudine improve hepatitis B-related outcomes after liver transplantation: meta-analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2008;6(6):696-700.
49. Marzano A, Salizzoni M, Debernardi-Venon W, Smedile A, Franchello A, Ciancio A, et al. Prevention of hepatitis B virus recurrence after liver transplantation in cirrhotic patients treated with lamivudine and passive immunoprophylaxis. *Journal of hepatology*. 2001;34(6):903-10.
50. Han SH, Ofman J, Holt C, King K, Kunder G, Chen P, et al. An efficacy and cost-effectiveness analysis of combination hepatitis B immune globulin and lamivudine to prevent recurrent hepatitis B after orthotopic liver transplantation compared with hepatitis B immune globulin monotherapy. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2000;6(6):741-8.
51. Steinmuller T, Seehofer D, Rayes N, Muller AR, Settmacher U, Jonas S, et al. Increasing applicability of liver transplantation for patients with hepatitis B-related liver disease. *Hepatology*. 2002;35(6):1528-35.

52. Rosenau J, Tillmann HL, Bahr MJ, Trautwein C, Boeker KH, Nashan B, et al. Successful hepatitis B reinfection prophylaxis with lamivudine and hepatitis B immune globulin in patients with positive HBV-DNA at time of liver transplantation. *Transplantation proceedings*. 2001;33(7-8):3637-8.
53. Karasu Z, Akyildiz M, Kilic M, Zeytunlu M, Aydin U, Tekin F, et al. Living donor liver transplantation for hepatitis B cirrhosis. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2007;22(12):2124-9.
54. Dan YY, Wai CT, Yeoh KG, Lim SG. Prophylactic strategies for hepatitis B patients undergoing liver transplant: a cost-effectiveness analysis. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2006;12(5):736-46.
55. Zheng S, Chen Y, Liang T, Lu A, Wang W, Shen Y, et al. Prevention of hepatitis B recurrence after liver transplantation using lamivudine or lamivudine combined with hepatitis B Immunoglobulin prophylaxis. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2006;12(2):253-8.
56. Jiao ZY, Yan LN, Li B, Zeng Y, Wen TF, Lu SC, et al. [Liver transplantation for chronic hepatitis B patients with lamivudine monotherapy or lamivudine combined with individualized low-dose hepatitis B immunoglobulin treatment]. *Zhonghua gan zang bing za zhi = Zhonghua ganzangbing zazhi = Chinese journal of hepatology*. 2007;15(11):804-8.
57. Gane EJ, Angus PW, Strasser S, Crawford DH, Ring J, Jeffrey GP, et al. Lamivudine plus low-dose hepatitis B immunoglobulin to prevent recurrent hepatitis B following liver transplantation. *Gastroenterology*. 2007;132(3):931-7.

58. Karademir S, Astarcioglu H, Akarsu M, Ozkardesler S, Ozzeybek D, Sayiner A, et al. Prophylactic use of low-dose, on-demand, intramuscular hepatitis B immunoglobulin and lamivudine after liver transplantation. *Transplantation proceedings*. 2006;38(2):579-83.
59. Angus PW, McCaughan GW, Gane EJ, Crawford DH, Harley H. Combination low-dose hepatitis B immune globulin and lamivudine therapy provides effective prophylaxis against posttransplantation hepatitis B. *Liver transplantation* 2000;6(4):429-33.
60. Degertekin B, Han SH, Keeffe EB, Schiff ER, Luketic VA, Brown RS, Jr., et al. Impact of virologic breakthrough and HBIG regimen on hepatitis B recurrence after liver transplantation. *American journal of transplantation* 2010;10(8):1823-33.
61. Jiang L, Jiang LS, Cheng NS, Yan LN. Current prophylactic strategies against hepatitis B virus recurrence after liver transplantation. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2009;15(20):2489-99.
62. Wong TC, Fung JY, Lo CM. Prevention of recurrent hepatitis B infection after liver transplantation. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international*. 2013;12(5):465-72.
63. Cholongitas E, Papatheodoridis GV. Review of the pharmacological management of hepatitis B viral infection before and after liver transplantation. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2013;19(48):9189-97.
64. Angus PW, Patterson SJ, Strasser SI, McCaughan GW, Gane E. A randomized study of adefovir dipivoxil in place of HBIG in combination with lamivudine as post-liver transplantation hepatitis B prophylaxis. *Hepatology*. 2008;48(5):1460-6.

65. Lo CM, Liu CL, Lau GK, Chan SC, Ng IO, Fan ST. Liver transplantation for chronic hepatitis B with lamivudine-resistant YMDD mutant using add-on adefovir dipivoxil plus lamivudine. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society.* 2005;11(7):807-13.
66. Nath DS, Kalis A, Nelson S, Payne WD, Lake JR, Humar A. Hepatitis B prophylaxis post-liver transplant without maintenance hepatitis B immunoglobulin therapy. *Clinical transplantation.* 2006;20(2):206-10.
67. Buti M, Mas A, Prieto M, Casafont F, Gonzalez A, Miras M, et al. Adherence to Lamivudine after an early withdrawal of hepatitis B immune globulin plays an important role in the long-term prevention of hepatitis B virus recurrence. *Transplantation.* 2007;84(5):650-4.
68. Schiff E, Lai CL, Hadziyannis S, Neuhaus P, Terrault N, Colombo M, et al. Adefovir dipivoxil for wait-listed and post-liver transplantation patients with lamivudine-resistant hepatitis B: final long-term results. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society.* 2007;13(3):349-60.
69. Stark K, Gunther M, Schonfeld C, Tullius SG, Bienzle U. Immunisations in solid-organ transplant recipients. *Lancet.* 2002;359(9310):957-65.
70. Chalasani N, Smallwood G, Halcomb J, Fried MW, Boyer TD. Is vaccination against hepatitis B infection indicated in patients waiting for or after orthotopic liver transplantation? *Liver transplantation and surgery : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society.* 1998;4(2):128-32.

71. (ECDC) ECfDPaC. Hepatitis B and C in the EU neighbourhood: prevalence, burden of disease and screening policies. 2010.
72. Samuel D, Forns X, Berenguer M, Trautwein C, Burroughs A, Rizzetto M, et al. Report of the monothematic EASL conference on liver transplantation for viral hepatitis (Paris, France, January 12-14, 2006). *Journal of hepatology*. 2006;45(1):127-43.
73. Kim WR, Poterucha JJ, Kremers WK, Ishitani MB, Dickson ER. Outcome of liver transplantation for hepatitis B in the United States. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2004;10(8):968-74.
74. Nassal M. Hepatitis B viruses: reverse transcription a different way. *Virus research*. 2008;134(1-2):235-49.
75. Michalak TI. Occult persistence and lymphotropism of hepadnaviral infection: insights from the woodchuck viral hepatitis model. *Immunological reviews*. 2000;174:98-111.
76. Mason A, Wick M, White H, Perrillo R. Hepatitis B virus replication in diverse cell types during chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*. 1993;18(4):781-9.
77. Lew YY, Michalak TI. In vitro and in vivo infectivity and pathogenicity of the lymphoid cell-derived woodchuck hepatitis virus. *Journal of virology*. 2001;75(4):1770-82.
78. Michalak TI, Mulrooney PM, Coffin CS. Low doses of hepadnavirus induce infection of the lymphatic system that does not engage the liver. *Journal of virology*. 2004;78(4):1730-8.

79. Brind A, Jiang J, Samuel D, Gigou M, Feray C, Brechot C, et al. Evidence for selection of hepatitis B mutants after liver transplantation through peripheral blood mononuclear cell infection. *Journal of hepatology*. 1997;26(2):228-35.
80. Feray C, Zignego AL, Samuel D, Bismuth A, Reynes M, Tiollais P, et al. Persistent hepatitis B virus infection of mononuclear blood cells without concomitant liver infection. The liver transplantation model. *Transplantation*. 1990;49(6):1155-8.
81. Petit MA, Buffello-Le Guillou D, Roche B, Dussaix E, Duclos-Vallee JC, Feray C, et al. Residual hepatitis B virus particles in liver transplant recipients receiving lamivudine: PCR quantitation of HBV DNA and ELISA of preS1 antigen. *Journal of medical virology*. 2001;65(3):493-504.
82. Mason WS, Cullen J, Moraleda G, Saputelli J, Aldrich CE, Miller DS, et al. Lamivudine therapy of WHV-infected woodchucks. *Virology*. 1998;245(1):18-32.
83. Fourel I, Cullen JM, Saputelli J, Aldrich CE, Schaffer P, Averett DR, et al. Evidence that hepatocyte turnover is required for rapid clearance of duck hepatitis B virus during antiviral therapy of chronically infected ducks. *Journal of virology*. 1994;68(12):8321-30.
84. Guo JT, Zhou H, Liu C, Aldrich C, Saputelli J, Whitaker T, et al. Apoptosis and regeneration of hepatocytes during recovery from transient hepadnavirus infections. *Journal of virology*. 2000;74(3):1495-505.
85. Thimme R, Wieland S, Steiger C, Ghayeb J, Reimann KA, Purcell RH, et al. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *Journal of virology*. 2003;77(1):68-76.
86. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, Shapiro M, Purcell R, Chisari FV. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science*. 1999;284(5415):825-9.

87. Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, Wursthorn K, Petersen J, Lau G, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology*. 2004;126(7):1750-8.
88. Sung JJ, Wong ML, Bowden S, Liew CT, Hui AY, Wong VW, et al. Intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA can be a predictor of sustained response to therapy. *Gastroenterology*. 2005;128(7):1890-7.
89. Hussain M, Soldevila-Pico C, Emre S, Luketic V, Lok AS. Presence of intrahepatic (total and ccc) HBV DNA is not predictive of HBV recurrence after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2007;13(8):1137-44.
90. Coffin CS, Mulrooney-Cousins PM, Peters MG, van Marle G, Roberts JP, Michalak TI, et al. Molecular characterization of intrahepatic and extrahepatic hepatitis B virus (HBV) reservoirs in patients on suppressive antiviral therapy. *Journal of viral hepatitis*. 2011;18(6):415-23.
91. Samuel D, Roque-Afonso AM. New sensitive tools for hepatitis B virus (HBV) detection in liver transplantation: what will be their impact on the prophylaxis of HBV infection? *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2007;13(8):1084-7.
92. Lenci I, Marcuccilli F, Tisone G, Di Paolo D, Tariciotti L, Ciotti M, et al. Total and covalently closed circular DNA detection in liver tissue of long-term survivors transplanted for HBV-related cirrhosis. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2010;42(8):578-84.

93. Kwon CH, Suh KS, Shin JO, Kim SJ, Joh JW. Change of hepatitis B virus DNA and covalently closed circular DNA status in liver graft after liver transplantation. *Transplantation proceedings*. 2014;46(3):835-7.
94. Moraleda G, Saputelli J, Aldrich CE, Averett D, Condreay L, Mason WS. Lack of effect of antiviral therapy in nondividing hepatocyte cultures on the closed circular DNA of woodchuck hepatitis virus. *Journal of virology*. 1997;71(12):9392-9.
95. Umeda M, Marusawa H, Seno H, Katsurada A, Nabeshima M, Egawa H, et al. Hepatitis B virus infection in lymphatic tissues in inactive hepatitis B carriers. *Journal of hepatology*. 2005;42(6):806-12.
96. Mazet-Wagner AA, Baclet MC, Loustaud-Ratti V, Denis F, Alain S. Real-time PCR quantitation of hepatitis B virus total DNA and covalently closed circular DNA in peripheral blood mononuclear cells from hepatitis B virus-infected patients. *Journal of virological methods*. 2006;138(1-2):70-9.
97. Lenci I, Tisone G, Di Paolo D, Marcuccilli F, Tariciotti L, Ciotti M, et al. Safety of complete and sustained prophylaxis withdrawal in patients liver-transplanted for HBV-related cirrhosis at low risk of HBV recurrence. *Journal of hepatology*. 2011;55(3):587-93.