

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI BAŐKANLIĐI

86760

KRONİK HEPATİT B'Lİ OLGULARDA İNTERFERON-ALFA + LAMUVİDİN
KOMBİNE TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİNİN VE GÜVENİRLİĞİNİN
ARAŐTIRILMASI

T 86760

UZMANLIK TEZİ

DR.H.CEM GÜL

ANKARA 1999

T.C. YÜKSEKÖĐRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖNSÖZ

Bu tez konusu, Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi Enfeksiyon hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Volkan ÖZGÜVEN tarafından 24 Haziran 1998 gün ve Inf.Hst: 0530-330-98 sayılı yazısı ile verilmiştir.

Dünyada 400 milyondan fazla kişi Hepatit B virüsü ile infektidir. Kronik B hepatiti, sonuçta karaciğer sirozuna ve karaciğer kanserine yol açması nedeni ile çok ciddi bir sağlık sorunudur.

Kronik Hepatit B gelişmiş olguların tedavisinde denenen hiçbir ajanla tatminkar sonuçlar alınamamıştır. Kronik Hepatit B tedavisinde ilk onaylanmış ilaç İnterferon- α dır. İnterferon- α uygulanan hastaların ancak %25-%40'ında uzun süreli kalıcı cevap sağlanabilmektedir. Bu uzun süreli kalıcı cevap oranını arttırabilmek için İnterferonlarla beraber bir çok ilaç kombinasyonları denenmektedir. Günümüzde bu kombinasyon tedavileri içerisinde en ümit verici olanı ise, bir nükleozid analogu olan Lamivudin dir.

Çalışmamızda, biyokimyasal, immünolojik ve histopatolojik olarak HBV nedenli Kronik Aktif Hepatit olduğu belirlenmiş ve daha önce hiçbir tedavi kullanmamış (naive) hastalara uygulanan IFN- α 5MÜ/gün + LAM 2x150 mg/gün kombine tedavisin, etkinliğinin ve güvenirliliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda ve yetişmemde büyük emekleri geçen, başta GATA Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sn. Doç. Dr. Volkan ÖZGÜVEN olmak üzere, çalışmamın yönlendirilmesinde ve hazırlanmasında görüşlerini esirgemeyen Sn. Doç. Dr. Can Polat EYİGÜN'e, Sn. Doç. Dr. Levent GÖRENEK, Sn. Doç. Dr. A. Bülent BEŞİRBELLİOĞLU ve Uz. Dr. İsmail Yaşar AVCI'ya, çalışmamın yürütülmesinde her yönden ilgi ve yardımlarını gördüğüm İmmünoloji B.D Bşk. Sn. Doç. Dr. Ali ŞENGÜL'e, Uz. Dr. Ali İNAL'a ve tüm

immünoloji personeline, hasta takibi ve çalışmamın uygulanmasındaki yardımlarından dolayı asistan arkadaşlarım Dr. Efraim ADAM'a, Dr. Kutsal L KER'e, Dr. Gürkan MERT'e, Dr.Ömer COŐKUN'a, Dr. Vedat TURHAN'a, Dr. Levent HAYAT'a, Dr. Onur SAYGUN'a, Dr. Dilek OLCAY'a, Dr. Duran TOK'a, Dr. Mesut ORTATATLI'ya, Dr. Fakih AYDIN'a, Dr. Mehmet CAN'a ve Dr. Özgür GÜNER'e, kliniğimizde görevli, hemşire, sekreter ve tüm personele teőekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

I.	GİRİŞ	1
II.	GENEL BİLGİLER.....	3
	A. HBV'nin YAPISI.....	3
	1. HBV'nin genom organizasyonu.....	4
	2. HBV'nin replikasyon stratejisi.....	6
	B. HBV ANTİJENLERİ.....	7
	1. Kılıf proteinleri.....	7
	2. Kor proteinleri.....	9
	3. P proteini.....	10
	4. X proteini	10
	C. EPİDEMİYOLOJİ	11
	D. PATOGENEZ VE İMMÜNOPATOGENEZ.....	12
	E. KRONİK HBV KLİNİĞİ.....	14
	F. TANI.....	16
	1. HBsAg/anti-HBs sistemi.....	16
	2. HBcAg/anti-HBc sistemi.....	16
	3. HBeAg/anti-HBe sistemi.....	17
	4. Pre-S/anti-Pre-S sistemi.....	17
	5. HBV-DNA.....	18
	G. TEDAVİ.....	19
	1. Tedavideki amaçlar.....	19
	2. Günümüzde KHB'de tedavi.....	20
	a) Alfa İnterferon tedavisi.....	20
	b) Nükleozid analogları ile tedavi.....	23
	c) Kombine tedaviler.....	26
	d) Diğer tedaviler.....	27
	e) Deneysel tedaviler.....	28
III.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
IV.	BULGULAR.....	32
V.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	43
VI.	ÖZET.....	51
VII.	İNGİLİZCE ÖZET.....	52
VIII.	KAYNAKLAR.....	53

I. GİRİŞ

Tüm dünyada yaygın bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkan kronik viral hepatitlerin önemli bir bölümünden Hepatit B Virüsünün (HBV) sorumlu olduğu bilinmektedir. Günümüzde 400 milyon kronik Hepatit B Yüzey Antijeni (HBsAg) taşıyıcısı olduğu ve her yıl 50 milyon yeni olgunun bu sayıya eklendiği tahmin edilmektedir (79). Kronikleşmiş olguların ise %30'u karaciğer sirozuna (KS) veya hepatosellüler kansere (HSK) ilerlemektedir (41). Bu morbiditelerden en sık görüleni KS ($\approx$ %80), daha az olanı ise HSK'dır ($\approx$ %15-20) (61). HBV enfeksiyonu (HBVİ) nedenli HSK, halen kanserden ölümlerin temel nedenlerinden birisini oluşturmaktadır (103). Dünyada 1995 yılında ölen yaklaşık 52 milyon kişinin 1.1 milyonunun ölümünden HBV'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir (93).

Bu özellikleri nedeni ile HBVİ, araştırmacıları tedavi ve korunma yöntemlerinin belirlenmesi yönünde çalışmaya sevk etmiştir. Geliştirilen bağışıklama protokolleri ile hastalıktan korunmada oldukça başarılı sonuçlar alınmasına rağmen, Kronik Hepatit B (KHB) gelişmiş olguların tedavisinde denenen hiçbir ajan ile tatminkar sonuçlar alınamamıştır. KHB tedavisinde ilk onaylanmış ilaç İnterferon- α (IFN- α) dır(1). IFN- α Antiviral, immünomodülatör ve anti proliferatif etkiye sahiptir (79). IFN- α uygulanan hastaların ancak %25-40'ında uzun süreli kalıcı cevap sağlanır (36). Hastaların çoğu IFN- α tedavisinden yeterince faydalanamaz. KHB'de kalıcı cevap oranını arttırabilmek için IFN- α ile kullanılacak bir çok ilaç kombinasyonları denenmektedir.

Günümüzde üzerinde en çok durulan tedavi kombinasyonları; bugüne kadar tedavinin temelini oluşturan interferonlarla, nükleozid analoglarının (NA) birlikte kullanılması yoluyla yapılan tedavilerdir. Bir immünomodülatör ile bir antiviral ajanın birlikte kullanılmasının aditif veya sinerjistik etki yapacağı düşünülmektedir (2).

Nükleozid analogları içinde günümüzde kombinasyon tedavisinde en ümit verici ilaç Lamivudin (LAM)'dir. Bir sitozin analogu olan LAM Hepadnavirüs replikasyonu için gerekli bir enzim olan reverse transcriptase (RT) aktivitesini bloke ederek DNA sentezini, dolayısı ile virüs replikasyonunu inhibe eder (87,42).

Bu çalışmada; biyokimyasal, immünolojik ve histopatolojik olarak HBV nedenli Kronik Aktif Hepatit (KAH) olduğu belirlenmiş ve daha önce hiçbir tedavi kullanmamış (naive) hastalara uygulanan IFN-  5M /gün + LAM 2x150 mg/gün kombine tedavisinin etkinliğinin ve güvenirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.



II. GENEL BİLGİLER

A. HBV VIROLOJİSİ:

1. HBV'nin Yapısı: HBV, Hepadnaviridae ailesinin Orthohepadnavirüs cinsinde yer alan hepatotropik, zarflı ve kısmen çift sarmallı bir DNA virüsüdür. Sadece 3200 nükleotidden oluşan genomik yapısı nedeniyle, bilinen tüm hayvan DNA virüsleri içinde en küçük olanıdır. Hepadnaviridae ailesinin üyeleri içinde insanlarda infeksiyon oluşturan tek tür HBV'dir. HBV'ye çok benzeyen, aynı familya üyesi bazı hayvan virüsleri de belirlenmiştir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin doğusunda ağaç sincapları (Woodchuck), Kaliforniya'da yer sincapları, Çin'de ve ABD'de Pekin ördekleri, diğer bazı uçucu ve kemirici konaklardan bu virüsler izole edilmiştir (41).

HBV'nin kısmen saflaştırılmış preparasyonları elektron mikroskopunda incelendiğinde; büyüklük, yapı ve miktar gibi değişik özellikleri bakımından birbirine benzemeyen üç tip partiküle rastlanır (76,77,56,86),

- a) Yaklaşık 42 nm. (42-47nm.) çapında, infeksiyel özellikte, tam bir viryon yapısında, küresel şekilli Dane partikülleri,
- b) Yaklaşık 22 nm. (16-25nm.) çapında, içinde nükleik asit bulunmayan, noninfeksiyel, küresel partiküller (HBsAg),
- c) Özellikle replikasyon söz konusu olduğunda kişilerin serumlarında bulunan, 22 nm. çapında, 50-500 nm uzunluğunda nükleik asit içermeyen, noninfeksiyel tübüler partiküller.

Her üç form da infekte konak serumunda yüksek miktarda (200-500 µg/ml) saptanabilen ve HBsAg adı verilen 7-8 nm. genişliğinde ortak yüzey antijene sahip olup, immünojeniktir (48). Yüzey antikoru (anti-HBs) ile reaksiyon verirler. Viryonun iç bölümünü 27-28 nm. çapında hegzagonal nükleokapsid (internal core) oluşturur. Kor partikülünün içinde endojen viral DNA polimeraz (DNAP) ve bununla sıkı ilişkili olarak tek bir molekül şeklinde kısmen çift sarmallı sirküler DNA bulunur. Noninfeksiyel formlar daha fazla miktarda üretilir ve kanda dolaşan HBsAg'nin büyük kısmını 22 nm'lik küresel partiküller oluşturur. Dane Partiküllerinin miktarı 10^4 - 10^9 /ml arasında iken, noninfeksiyel küresel partiküllerin miktarı 10^{13} /ml veya daha fazladır. Küçük

yuvarlak HBsAg partikülleri sezyum klorürde 1.18 g/ml'lik bir yoğunluğa sahiptir. Olgun viryonların buoyant dansitesi yaklaşık 1.22 g/ml'dir (48).

HBV'nin, insanlar için infektivitesini 30-32°C'de altı ay ve -20°C'de ise 15 yıl koruduğu gösterilmiştir. HBV, serumdayken 60°C'de dört saat süreyle infektivitesini kaybetmez, ancak albumin içindeyken 60°C'de 10 saat sonra infektivitesini kaybetmektedir. Serumdaki infektivitesi 90°C'de 20 dakikada kaybolmaktadır. Ayrıca 160°C'de kuru ısıda ancak bir saat sonra infektivite kaybolmaktadır (41).

2. HBV'nin Genom ve Organizasyonu: HBV, kısmen çift sarmallı, sirküler bir DNA molekülü taşıır. DNA'nın molekül Ağırlığı 2.3×10^6 dalton, G+C oranı ise yaklaşık %49'dur. HBV-DNA; 3200 nükleotid taşıyan uzun (L veya negatif) ve 1800-2700 nükleotid içeren kısa (S veya pozitif) zincir olmak üzere iki sarmaldan oluşmuştur. Bu zincirler ortak baz çiftlerine sahip olup, sirküler bir yapı halinde bulunmakla beraber herbirinin 3' ve 5' uçları birleşik olmadığından aslında linear moleküllerdir. İki sarmal arasında değişik uzunlukta tek sarmallı bir bölge vardır. Negatif zincirin 5' ucunda, sentez sırasında pirimer olarak görev yapan terminal bir protein bulunurken; pozitif zincirin 5' ucunda aynı işlevi yerine getiren bir RNA oligomeri vardır. Negatif sarmalın 3' ucu ise 9-10 nükleotidlik artık uç (terminal redundancy) ile sonlanır. Bu alan viral replikasyon sırasında pozitif DNA sarmalının sentezindeki "template switching" işlemindeki DNAP'ın da etkisi ile kısa zincirin tamamlanmasında ve sonuçta süper kıvrımlı, tamamen çift sarmallı, çember şeklindeki DNA molekülünün oluşumunda rol oynar (28,95).

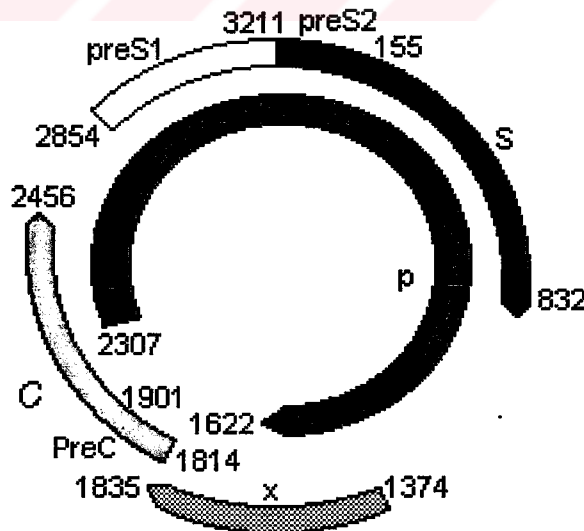
Moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler HBV genom yapısının ortaya konmasında, nükleotid dizilişi ve gen bölgelerinin belirlenmesinde büyük katkılar sağlamıştır. HBV'de genetik bilginin tamamı uzun sarmal üzerinde kodlanmış olup bu sarmal S, C, X ve P kısaltmaları ile gösterilen dört değişik "protein kodlayan nükleik asit dizisi" (open reading frame: ORF)'ne sahiptir. ORF'lerin transkripsiyonu promoter (prom = başlatıcı) ve enhancer (enh = güçlendirici) denilen düzenleyici dizinler tarafından kontrol edilmektedir. HBV genomunda fonksiyonel olarak tanımlanmış en az 4 promoter (pre-S1 prom, S prom, X prom ve pre C prom) ve 2 enhancer (Enh 1 ve Enh 2) bölgesi bulunmaktadır. Ayrıca S geni içinde yer alan ve Enh 1 ile bağlantılı olarak glukokortikoid varlığında gen ekspresyonunu yaklaşık 5 kat arttıran bir elemanın (GRE: glukokortikoid responsive element) varlığı da tanımlanmıştır (86,95). HBV-DNA'daki genler, arka arkaya dizilmiş ve birbirinden tamamen ayrı bölgelerde

bulunmazlar, aksine bazı bölgelerde içiçe girmiş diğer bir deyişle birbirleri ile çakışmış durumdadırlar. Örneğin genomun en uzun geni olan P geni, X ve C genleri ile kısmen, S geni ile tamamen çakışmış halde bulunmakta, sonuç olarak uzun sarmal 1.5 defa okunmaktadır (şekil-1). Bu özellik nedeni ile HBV, bilinen hayvan virüsleri içinde en küçük genomik yapıya sahip olmakla birlikte, kendini kodlama kapasitesi en fazla olan virüstur (49). HBV-DNA'daki bu 4 gen bölgesi(S, C, X, P) şu proteinleri kodlar,

- | | |
|--------------------------------------|------------------------------|
| 1. S gen bölgesi: Yüzey proteinleri | 3. X gen bölgesi: X proteini |
| 2. C gen bölgesi: Kapsid proteinleri | 4. P gen bölgesi: DNAP |

Ancak başlangıç kodonları farklı olduğu için S geni üzerinde pre-S1, pre-S2 ve S olmak üzere üç, C geni üzerinde ise pre-C ve C olmak üzere iki bölge bulunmakta; dolayısıyla farklı başlangıç kodonlarından sentezlenen proteinler de farklı olmaktadır (Şekil 1). Bu nedenle 4 adet ORF'ye sahip olmasına rağmen HBV tarafından aşağıda gösterildiği gibi yedi değişik polipeptid üretilmektedir (54).

- | | |
|---|-----------------------------|
| 1. Pre-S1 : LHBs (Large yüzey proteini) | 5. C : HBcAg (Kor antijeni) |
| 2. Pre-S : MHBs (Middle yüzey proteini) | 6. P : DNAP |
| 3. S : SHBs (Small yüzey proteini) | 7. X : HbxAg (x antijeni) |
| 4. Pre-C/C : HBeAg (e antijeni) | |



Şekil-1: HBV Genomunun Şematik Görünümü (10)

3. HBV'nin Replikasyon Stratejisi: HBV'nin konak hücreye bağlanmasında rol oynadığı düşünülen fibronektin, transferrin reseptörü, apolipoprotein H, polimerize insan serum albumini, pre-S2 glikan, HBV bağlayan faktör gibi bir çok reseptör adayı tanımlanmıştır (49). Son yıllarda her ne kadar, S proteinine özgü bazı reseptörlerin (endosetin II, siyaloglikoprotein gibi) varlığı gösterilmiş olsa da, HBV'nin hepatositlere tutunmasında L ve M proteinlerinin de önemli olduğu saptanmıştır. İn vitro olarak pre-S1 ve pre-S2'de karaciğerde spesifik tutunma bölgeleri saptanmıştır (77,104). Pre-S1 ürünü olan L proteini, karaciğer plazma membranına ve mononükleer hücrelere bağlanabilir. Mononükleer hücrelerde saptanmakla birlikte, HBV'nin bu hücrelerde aktif olarak replike olduğuna dair bir kanıt yoktur. L ve M proteinleri hepatoblastoma hücrelerine direkt olarak tutunabilir (77). Hepadnavirüs'ların replikasyonu ile ilgili bilgilerin çoğu hayvan modelleri üzerinde yürütülen çalışmalar sonucunda elde edilmiş olup viral replikasyonda üç önemli özellik vardır (54);

a) DNA sarmalının sentezi sırasında negatif iplikçiğin sentezi pozitif iplikçiğin sentezinden önce tamamlanmalıdır.

b) Viral polimeraz aynı zamanda, RT olarak fonksiyon görür.

c) Negatif iplikçiğin sentezinde 5' ucuna kovalen olarak bağlı terminal protein "prime" edilirken, pozitif iplikçiğin Priming'i viral genomik RNA'dan derive olan bir oligoribonükleotiddir.

Hepatosite bağlanan virüsün konak hücre çekirdeğine nasıl ulaştığı tam olarak aydınlanamamıştır. HBV; muhtemelen reseptöre bağımlı endositoz yoluyla hücre içine girmekte, viral DNA ile nükleokapsid viryondan ayrılmakta ve işlenmeden konak hücre çekirdeğine taşınmaktadır.

Kısmen çift sarmallı ve her iki ucu serbest halde bulunan DNA'nın kısa sarmalının eksik olan bölümü endojen DNAP tarafından tamamlanır. Bu sırada uzun sarmalın 5' ve 3' uçları arasındaki açıklık da onarılır ve sonuçta tümüyle çift sarmallı, süper kıvrımlı, uçları kapalı sirküler yapıda bir HBV-DNA (cccDNA) oluşur. Replikasyonun normal seyri sırasında HBV-DNA'nın konak genomuna integrasyonu görülmez. HBV ile infekte bazı kişilerin serumlarında nadir olarak HBcAg'nin varlığı gösterilmiş olsa da, bu antijen viral replikasyon sırasında konak hücre çekirdeğinde sıklıkla belirlenebilmektedir. Bu nedenle HBcAg'nin nükleusa girmesinin cccDNA'nın ortaya çıkmasından önce olduğu tahmin edilmektedir (104,54,9).

Kalıp olarak cccDNA'dan konak hücre RNA polimerazının (RNA polimeraz II) yardımı ve viral düzenleyicilerin (4 adet promoter, 2 adet enhancer) etkisiyle viral RNA'lar sentezlenir. HBV-RNA'ların hepsinin 3' uçları aynı nükleotiddedir. Bunlar C genine ait ORF'den gelen sinyalin özelliğine göre ya mRNA ya da pregenom görevi yapar. HBV'da fonksiyonu bilinen 4 mRNA transkripti tanımlanmıştır. Genomdan daha uzun olan 3.5 kilobaytlık (kb) kalıp, viral replikasyondan ve preC/C ile polimeraz proteinlerinin ekspresyonlarından sorumludur. 2.4 kb'lık transkript pre-S1, pre-S2 ve HBsAg'yi kodlarken, 2.1 kb'lık olanı pre-S1 haricindeki yüzey proteinlerini kodlamaktadır. 0.7 kb'lık en küçük olan kalıp ise X proteininden sorumludur.

Translasyon sırasında oluşan pregenom, kor partikülü içine yerleşir. Konak hücre sitoplazmasında devam eden replikasyon boyunca 3.5 kb'lık RNA'dan (+RNA) DNAP'ın RT etkisi ile (-) DNA sarmalı sentezlenir (54). Negatif sarmal da pozitif sarmal için kalıp görevi üstlenir. DNAP'ın etkisi ile (+) DNA sarmalının sentezi devam ederken kılıf proteinleri kor kısmını çevreleyerek DNAP'ın etkisini sürdürmesini önler. Sonuçta (+) DNA zincirinin sentezi tamamlanmadan kesintiye uğrar ve bu ikinci DNA sentezi eksik kalır. Oluşan kısmen çift sarmallı DNA, kor partikülü ile birlikte HBsAg ve konak hücre membranına ait lipid içeren materyalle kaplanmış olarak hücreden atılır.

B. HBV ANTİJENLERİ:

1. Kılıf (yüzey) Proteinleri: HBV-S geni tarafından kodlanan kılıf (yüzey) proteinleri (HBs), hem Dane partiküllerinin yüzeyinde hem de infekte hastaların karaciğer ve serumlarında saptanan 22 nm. çapındaki küresel ve tübüler partiküllerin yapısında bulunmaktadır. Daha önceleri S gen ürününün tek bir protein molekülünden oluştuğu sanılmış ancak son yıllarda jel elektroforez tekniği ile yapılan çalışmalar; yüzey proteinlerinin değişik molekül ağırlıklarında (24bin-42bin dalton arasında), glikolize ve nonglikolize altı farklı polipeptidin değişik oranlarda biraraya gelmesi ile oluştuğunu ortaya koymuştur. Aslında tek gen tarafından kodlanan bu proteinlerdeki farklılıklar sentezin aynı gen üzerindeki farklı başlangıç kodonlarından başlaması nedeni ile olmaktadır. 2850 ile 3174. nükleotidler arasında yer alan pre-S1 gen bölgesi 108 aminoasitten oluşan polipeptidi sentezlerken 3174-157. Nükleotidler arasında bulunan pre-S2 bölgesi 55 aminoasitlik bir protein molekülünü, 157-833. Nükleotidler arasındaki S bölgesi ise 226 aminoasitten oluşan polipeptid sentezini gerçekleştirmektedir.

Her üç bölgenin başlangıç kodonları farklı olmakla beraber ortak 3' ucuna sahip olduklarından, sentez hangi kodondan başlarsa başlasın aynı 3' ucunda sonlanmakta ve üç değişik protein molekülü sentezlenmektedir (28,56).

a) Okuma işlemi gen üzerindeki ilk kodondan başlarsa pre-S1 + pre-S2 + S bölgelerinin tümü okunacağından, kılıfın büyük proteini (Large protein: LHBs) sentezlenir. Glikolize edilmiş formu 39 kDa ağırlığındadır. LHBs en fazla Dane partiküllerinin yüzeyinde bulunur. Viryonun konak hücreye bağlanmasında L proteinin rolü olduğuna inanılmaktadır. Henüz tam olarak tanımlanmış bir reseptör olmamasına rağmen LHBs'nin 21-47. aminoasitleri arasındaki bölgenin hepatositlere tutunma özelliğine sahip olduğu saptanmış ve bu bölgeye karşı oluşturulan antikorların bağlanmayı engellediği gösterilmiştir. Asemptomatik HBsAg taşıyıcılarında düşük düzeyde ama devamlı üretilen LHBs'nin hepatositlerde lezyon oluşumuna ve HSK gelişimine neden olabileceği düşünülmektedir. Hepatosit içinde pre-S1 ürünlerinin birikimi endoplazmik retikulumda dilatasyona neden olmakta, hücreler balonlaşmakta, hidropik ve eozinofilik özellik kazanarak buzlu cam görünümünü almakta, sonuçta koagülasyon nekrozu ile hücreler ölmektedir (104).

b) Okuma işlemi S geni üzerindeki ikinci kodondan başlarsa bu kez pre-S2 + S bölgelerinin ürünü olan orta protein (Middle protein: MHBS) sentezlenir. Bu protein 33 kDa molekül ağırlığındadır. Replikasyon olmadığı durumlarda HBsAg içinde yer almaz. Bu nedenle pre-S2 antijenin varlığı viral replikasyonun bir göstergesi olarak kabul edilir (9). L ve M proteinleri enfeksiyonun erken dönemlerinde ortaya çıkmakta ve bunlara karşı gelişen antikorların gösterilmesi iyileşmenin habercisi olarak gösterilmektedir (96).

c) Okuma işlemi sadece S bölgesini içerir ise kılıfın küçük proteini (Small protein: SHBS) sentezlenir. Bu protein 24 kDa molekül ağırlığındadır. HBsAg'nin büyük bir kısmını oluşturan SHBs kılıfın majör proteini olarak bilinir ve B lenfositler için epitopik bölgeye sahiptir. Daha önce sadece S proteini ihtiva ettiği sanılan klasik HBsAg'nin son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda değişik oranlarda diğer kılıf proteinlerini (L ve M) de içerdiği anlaşılmıştır. Kanda dolaşan S geni ürünlerinin yaklaşık % 5-15'i M, % 1-2'si L ve geri kalan kısmı S proteininden oluşmaktadır.

SHBs'yi oluşturan aminoasitlerin belli bölgelerdeki diziliş farklılıklarına göre HBsAg üzerinde en az 5 antijenik determinant (a, d/y ve w/r) bulunduğu saptanmıştır. Bütün subtiplerde ortak olarak yer alan guruba özgül "a" determinanı;

124-147. aminoasitler arasındaki hidrofilik bir bölgedir. Konvelasan serumdaki antikor bağlayan aktivitenin % 80'i bu bölgede olup, "a" determinantına karşı oluşan antikorlar HBV'nin hepatositlere bağlanmasını engeller ve tüm subtiplere karşı etkili bir bağışıklık sağlar. Viryonun dış yüzünde bulunan "a" determinanı; aşı ve doğal infeksiyon sonrası oluşan anti-HBs'lerin büyük kısmını bağlama özelliğine sahiptir (96).

HBsAg'nin diğer iki determinanı d/y ve w/r dir. Bu determinantların 4 subtipi (adw, ard, ayw, ayr) halinde bulunur. Son çalışmalar ile 9 değişik HBsAg subtipi (ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrg+ ve adrg-) tanımlanmıştır. HBsAg subtipleri arasında biyolojik farklılıklara rastlanmaz. Yeryüzündeki dağılımları da benzer değildir. Bu nedenlerle epidemiyolojik çalışmalarda, HBsAg subtiplerinin saptanması, infeksiyon kaynağının izinin sürülmesi ve HBV'nin bireyler veya toplumlar arasındaki yayılımının izlenmesinde önemli ipuçları verir. A.B.D'de " w " subtipi "r " subtipinden daha yaygın iken, Tayland'da en sık görülen subtip "r" dir. "adw"; Kuzey Avrupa, Amerika ve Avustralya'da, "ayr"; Doğu Avrupa, Doğu Akdeniz, Kuzey ve Orta Asya ve Türkiye'de predominanttır. Malezya, Japonya, Tayland ve Endonezya'da "adr" daha sık olmakla beraber "adw" subtipine de rastlanmaktadır (6,62).

2. Kor Proteinleri: HBV genomunun C geninde bir ORF bulunmasına rağmen, gen üzerinde okuma işleminin başladığı iki farklı kodon yer alır. Bu nedenle pre-C ve C olmak üzere iki bölgeye ayrılan C geni, antijenik özellikleri farklı HBeAg ve HBcAg olmak üzere farklı iki değişik protein sentezleme kabiliyetine sahiptir.

Yüksek düzeyde HBsAg taşıyıcılarının serumları üzerinde yürütülen çalışmalarda, bu serumların bol miktarda HBeAg içerdiği saptanmış; replikasyonda rol oynayan pre-C/C geni tarafından sentezlenmesi nedeni ile HBeAg'nin aktif HBV replikasyonunun belirlenmesinde uygun bir marker olabileceği düşünülmüş ve uzun yıllar vireminin tespit edilmesi amacı ile önemli bir parametre olarak kullanılmıştır. Ancak HBV-DNA testlerinin yaygın olarak kullanılmaya başlanması ve "e" antikor (anti-HBe) ile birlikte HBV-DNA seropozitifliği de gösteren kronik hepatitli hastalarda bir HBV mutantının tanımlanmasından sonra gerek HBeAg gerekse anti-HBe'nin vireminin saptanmasında çok güvenilir parametreler olmadığı anlaşılmıştır (47).

HBV ile infekte hasta hepatositlerinde intranükleer olarak yerleşen HBcAg C geninin ikinci bölgesi tarafından sentezlenir. HBeAg ekstrasellüler ortama sekrete

edildiği halde, HBcAg için böyle bir durum söz konusu değildir. Bu nedenle dolaşımda serbest halde HBcAg'ye rastlanmaz. Kanda sadece Dane partiküllerinin içinde bulunur. Serum defalarca dondurulup, çözülür veya lipid eriticiler ile muamele edilir ise viryonlar parçalanır ve HBcAg serbestleşir (9). Aktif hastalık döneminde ve aşırı viral replikasyon gösteren olgularda sitoplazmada da yaygın olarak saptanabilir (77,104). HBeAg ve HBcAg oldukça immünojeniktir. HBcAg'nin immünojenitesi HBsAg'den 100 kat daha fazladır. Gerek HBeAg'ye gerekse HBcAg'ye karşı hem hücresel hem de humoral cevap gelişir. Erken beliren ve uzun süre kalıcı özelliği olan kor antikor (anti-HBc), HBV'ı geçiren sağlıklı bireyler yanında persistan HBV'lı hasta serumlarında da bulunur. anti-HBc IgM akut dönemde; HBsAg'nin kaybolup anti-HBs'nin henüz belirmediği dönemde (Window period) pozitifleşir. Fakat bu antikorların tek başına akut infeksiyon göstergesi olarak algılanması yanlıştır. Çünkü bazı HBsAg taşıyıcıları ile çoğu kronik hepatitli hastalarda düşük titrede de olsa bu antikora rastlanır. Dolayısıyla anti-HBc gM'nin pozitifliğinden çok negatif bulunması daha değerlidir (56,9,60).

3. P Proteini: Genomun dörtte üçünü oluşturan Pol (P) geni ise RT aktivitesine sahip DNAP enzimini kodlar. P geninin ürünü olan bu poliproteinin immünolojik özelliği vardır ve Anti-DNAP antikorlarını, hastalardan alınan kan örneklerinde, sentetik peptid antijenleri ile göstermek mümkündür. P geninin çeşitli bölgeleri, (-) DNA zinciri sentezinde "primer" rolü oynamak gibi, replikasyonun belirli aşamalarında regülatör olarak görev yapar (37).

4. X Proteini: X geni ürünü olan 154 aminoasitlik X proteini, yapısal olmayan, karaciğerde bulunan ve replikasyonda rol oynayan bir antijendir (HBxAg). Transjenik farelerde HBxAg'nin HSK gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir. Bazı araştırmacılar, çeşitli hasta gruplarında x antikor (anti-HbxAg) varlığını araştırmışlar ve bu göstergenin insanlarda da HSK'nın erken tanı göstergesi olabileceğini öne sürmüşlerdir (91). Son yıllarda, dokuda HBxAg ve serumda anti-HBx araştırmalarını konu alan çalışmalar yapılmakta olup, X proteininin konakçı genlerinden Major Histocompatibility Complex (MHC) sınıf I ve MHC sınıf II ile İntersellüler Adezyon Molekülü-1 (ICAM-1) gibi bazı moleküllerin genleri için transaktivatör işlevinde bulunduğu, MHC ekspresyonunu arttırıcı özelliği ve patogenezdaki rolleri üzerinde durulmaktadır. (28)

C.EPIDEMİYOLOJİ:

HBVİ prevalansı, HBsAg ve Anti-HBs gibi kalıcı ve güvenilir göstergelerinin serumda kolaylıkla saptanabilmesi nedeni ile hemen hemen tüm dünya ülkelerinde oldukça iyi araştırılabilmektedir. Bu araştırmalar sonucunda HBVİ prevalanslarına göre dünya; düşük, orta ve yüksek endemisite bölgelerine ayrılmıştır (11). HBV endemisitesinin düşük olduğu bölgelerde HBsAg taşıyıcılık prevalansı % 2'den azdır. Erişkinler açısından infeksiyonla karşılaşma oranı da % 20'yi aşmaz. Bu bölgelerde cinsel temas en önemli bulaşma nedenidir. Düşük endemisite profili, Kuzey Amerika, Kuzey ve Batı Avrupa, Avustralya, Yeni Zellanda gibi gelişmiş ülkelerde görülmektedir. Bu ülkelerde genel popülasyonda HBVİ insidansı düşük iken; eşcinseller, çok partnerli heteroseksüeller, damar içi uyuşturucu bağımlıları gibi risk gruplarında ve Eskimolar, Yeni Zellanda Maorileri, Avustralya yerlileri, ABD zencileri gibi bazı etnik guruplarda infeksiyon endemiktir (78).

Orta endemisite profili Güney ve Doğu Avrupa, Güney ve Orta Amerika, Orta Asya ile Türkiye'nin de içinde bulunduğu Ortadoğuda izlenmektedir. Bu grupta toplumda HBsAg pozitifliği % 2-10 arasında değişmektedir ve erişkinlerin % 20-60'ında anti-HBs pozitifliği bulunmaktadır.

Asya ve Afrika gibi yüksek endemisite gösteren bölgelerde HBVİ'nun epidemiyolojik paterni oldukça farklıdır. Toplumun % 10'dan fazlası HBV ile kronik olarak infektidir ve erişkinlerin % 70'den fazlası daha önce geçirilmiş infeksiyon kanıtı (Anti-HBs) taşırlar. Dünyada HBsAg dağılımı ile KHB ve HSK arasında güçlü bir epidemiyolojik ilişki vardır. Güneydoğu Asya ve Güney Sahra Afrikası gibi yüksek endemisite görülen infeksiyonun bebeklikte alınması ve en yüksek taşıyıcılık kitlesini çocukların oluşturması, HSK insidansının bu bölgelerde yüksek olmasının nedenidir (37).

Ülkemizde 1972 yılından günümüze kadar donörler, donör dışı normal popülasyon, çocuklar ve risk gurupları gibi çeşitli guruplarda HBsAg seroprevalansı, Enzyme Immunoassay (EIA) yöntemi ile bölgeden bölgeye değişmek üzere % 3.9-12.5 olarak belirlenmiştir. Diyarbakır'dan genellikle % 10'un üzerindeki değerler bildirilmekle birlikte, ülkemizde ortalama HBsAg seroprevalansı % 7-8.5 oranında saptanmıştır (104,58). Bu sonuçlar orta derece endemik bir bölge olduğumuzu ve yurdumuzda 4 milyon civarında taşıyıcı bulunduğunu göstermektedir. anti-HBs'nin

tarandığı çalışmalarda elde edilen verilere göre anti-HBs pozitifliği oranı % 20.6-52.3 arasında değişmektedir (58). Böylece Türkiye’de HBV enfeksiyonunu seroprevalansının (HBsAg pozitifliği+anti-HBs pozitifliği) % 25-60 arasında olduğu söylenebilir ki bu oranlar gelişmiş ülkelere göre oldukça yüksektir.

D. PATOGENEZ VE İMMÜNOPATOGENEZ:

HBVİ, akut veya kronik olarak HBV ile enfekte hepatositlerin nekrozu ve bununla birlikte gelişen inflamatuvar ve rejeneratif yanıtlardan oluşan bir sendromu ifade eder. Primer HBVİ çok hafif bir karaciğer hastalığı ile seyredebileceği gibi, şiddeti hafiften fulminana kadar değişebilen akut hepatit de gelişebilir. Persistan HBVİ’de bazen karaciğer histolojik ve biyokimyasal olarak normale yakın ya da normal olabilmekle birlikte; bazen de Kronik Persistan Hepatit (KPH) veya Kronik Aktif Hepatit (KAH) şeklinde tanımlanan sendromlar da görülebilir (41).

HBVİ’de hepatosit zedelenmesine katkıda bulunan tüm olası mekanizmalar ortaya konulamamakla birlikte, mevcut patolojik süreçten, konakçı immün yanıtının sorumlu olabileceğine ilişkin güçlü kanıtlar bulunmaktadır (41).

Akut veya KHB’nin şiddeti ile ilişkili olan birkaç faktör belirlenmiştir ve bunlar patogeneze hakkında bize ipuçları sağlamaktadır. Bunlar arasında enfeksiyöz virüs miktarı önemli bir faktördür. Duyarlı şahıs ne kadar yüksek dozda HBV ile enfekte olursa, inkübasyon süresi o oranda kısa ve akut hepatit tablosu o oranda şiddetli olur. İkinci önemli faktör yaştır. Çok genç yaşlarda görülen HBVİ’de çok hafif bir enfeksiyon tablosu görülmektedir. Ayrıca immünitesi zayıf bazı konakçılarda, immünolojik olarak normal olan bireylere oranla akut tablonun daha hafif olduğu gözlenmiştir (41).

Hepatosit hasarından sorumlu olabilecek en azından üç mekanizma belirlenmiştir. Bunlardan ilki ve pek çok kişi tarafından kabul edildiği gibi en önemlisi; HBV ile enfekte hepatositlere yönelmiş olan MHC sınıf I’e bağımlı sitotoksik (CD8+) T lenfosit yanıtıdır.

Esasen HBV’nin direkt sitopatik etkisinin bulunmadığı kabul edilmektedir; ancak, in vitro çalışmalar, hücre kültürlerindeki HBcAg ekspresse eden enfekte hepatositler üzerine HBV’nin sitopatik etkisi bulunduğu konusunda ciddi kuşkular uyandırmıştır. Bu durum, ikinci bir mekanizma olarak, HBcAg ekspresyonunun hücrelere toksik olabileceğine işaret etmekte ve böyle bir mekanizmanın in vivo HBcAg ekspresyonu sırasında da geçerli olabileceğini düşündürmektedir (41).

Karaciğer hücre hasarının üçüncü olası mekanizması; HBsAg'nin yüksek düzeyde ekspresyonu ve yetersiz sekresyonudur (41).

Hastalığın ilerlemesi, viral replikasyonun karaciğerde devam etmesi ile hastanın özellikle immünolojik durumunun bir kombinasyonu sonucunda gerçekleşir. Virüsün, aksi yöndeki tüm kuşkulara rağmen direkt sitopatik etkisinin olmadığı ve infekte hepatositlerin lizisinin, konakçı immün yanıtına bağlı olduğu kabul edilmektedir (25).

HBV'nin replikatif ve integre olmak üzere iki dönemi mevcuttur. Replikatif dönemde, HBcAg ve diğer bazı viral antijenler hepatosit membranına eksprese edilmiş durumdadır. HBV-DNA ise hepatosit içinde epizomal formda bulunmaktadır. Hasta serumunda HBeAg ve HBV-DNA pozitifdir. Bu antijenlere karşı gelişen immün yanıtta da hücresel düzeyde bazı farklılıklar belirlenmiştir. Perioral mononükleer hücrelerin büyük bölümü T lenfositlerden oluşmakta, CD 8+ T hücreleri daha baskın olarak görev almaktadır (61). HBe antijenemisi döneminde hasta yüksek düzeyde bulaştırıcıdır ve hepatik inflamasyon da hızla ilerlemektedir. Süresi değişken olmakla birlikte sıklıkla birkaç yıl sonra HBeAg kandan kaybolur ve Anti-HBe saptanmaya başlar. Böylece replikatif dönem son bularak integrasyon dönem başlamış olur.

Integrasyon döneminde, viryon hepatosit içine girer ve HBcAg hepatosit membranından nükleusa taşınır. Başlangıçta virüs kendi viral DNA'sını kullanarak replike olurken, daha sonra viral DNA konakçı DNA'sına integre olur ve konakçı DNA'yı virüs için transkripsiyon yapmaya başlar. Hepatositler HBsAg sekrete eder, fakat kor göstergeleri yapılmaz. Bu integre hücre klonları, malign transformasyonun ve özellikle HSK'nın temelini oluştururlar (73). Hasta serumunda, virüs replikasyonunun azaldığını ya da sona erdiğini ve düşük aktiviteyi yansıtan Anti-HBe antikoru gösterilebilir. Bununla birlikte, Anti-HBe pozitif bulunmuş bazı hastalarda viral replikasyonun devam ettiği, serumda HBV-DNA ve/veya hepatosit nükleusunda HBcAg saptanmasıyla gösterilmiştir (9). Integre dönemde inflamatuvar infiltrasyon, otoimmün hepatittekine benzer şekilde, daha çok helper T lenfositleri ve B lenfositlerinden oluşmaktadır. Membranda antijen sunumu olup olmadığı bilinmemektedir. KHB'nin değişik dönemlerinde replikatif ve non-replikatif (integre) dönemlerin birbirini izleyebildiği gösterilmiştir (85).

Erişkinde AHB büyük çoğunlukla tam şifa ile sonlanmasına rağmen, henüz tam olarak aydınlatılamamış nedenlerle hastaların %10 kadarında kronikleşmektedir.

Kronik hepatit gelişen hastaların, virüse karşı zayıf bir hücrel immün yanıt gösterdikleri bilinmektedir (25). Bu durum özellikle; lösemili, renal yetersizliği olan, organ nakli yapılmış, immünsupressif tedavi alan hastalarda, homoseksüellerde, Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS)'li hastalarda ve yenidoğanlarda önemlidir. Bu yanıtın zayıf olması nedeniyle ya hafif bir karaciğer hasarı olur, ya da hiç hasar görülmez ve virüs, karaciğer fonksiyonları normal iken prolifer olmaya devam eder. Bu tip hastaların karaciğerlerinin, hepatosellüler nekroz olmaksızın çok fazla miktarda HBsAg içerdiği gösterilmiştir (31). Hücrel immün yanıtı biraz daha iyi olan KHB hastalarında ise hepatosellüler nekroz devam eder, yine de immün yanıt, virüsün klirensi için yeterli olmaz (25). Virüsle infekte hepatositlerin lizisindeki yetersizlik birkaç mekanizmayla olmaktadır. Bu durum, artmış supressör (regülatör) T lenfosit fonksiyonuna, sitotoksik (Killer) lenfositlerde defekte ya da hücre membranındaki blokan antikörlere bağlı olabilir.

Sitotoksik T lenfositler, infekte hepatosit yüzeyinde viral antijeni yalnızca MHC sınıf I antijenleri beraberliğinde tanımaktadır. Lizisteki yetersizlik, MHC sınıf I antijen ya da viral antijen sunumunda yetersizlik nedeniyle de olabilir (20).

Neonatal hastalıkta ise kronisitenin, maternal Anti-HBc antikörlarının in utero dönemde, hepatosit membranında viral kor antijenlerinin ekspresyonunu bloke etmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (79).

Erişkin döneminde edinilmiş KHB'li bazı hastalarda, MHC sınıf I antijenlerinin hepatosit membranı üzerinde yetersiz ekspresyonu ile sonuçlanan, yetersiz α ve γ -IFN yapımı söz konusudur (41).

E. KRONİK HBV KLİNİĞİ:

İkterik AHB nedeniyle hastaneye yatırılmış olan 429 hastanın 1-5 yıllık takiplerinde, %90'ının HBsAg negatif hale geldiği ve %10'unda ise HBsAg'nin persiste ettiği gözlenmiştir. Kroniklik paterni için birçok değişik görüş öne sürülmüştür. Ancak genel inanış, HBsAg'nin persiste ettiği hastaların %70'inde KPH ve %30'unda ise KAH geliştiği şeklindedir.

HBV ile persistan infeksiyon sıklıkla asemptomatiktir ve tanı çoğunlukla kan bağıışı ya da rutin kan taramaları sırasında HBsAg'nin pozitif ve/veya serum transaminazlarının hafif yüksek bulunmasıyla konur. Kronik hepatit sıklıkla sessiz bir hastalıktır, semptomlar karaciğer hasarının şiddeti ile orantısızdır.

HBsAg taşıyıcılığı ile kronik hepatitin kesin ayırımı, histolojik olarak karaciğerde kronik nekroinflamatuvar hastalığın varlığının gösterilmesiyle yapılabilir. HBsAg pozitif iken serum transaminaz düzeylerinin yüksek bulunması kronik hepatiti düşündüren bir kanıt olmakla birlikte, transaminaz düzeylerindeki bu yükselme, HBsAg'den bağımsız olarak; kronik Hepatit C Virüs (HCV) infeksiyonu, alkolik karaciğer hastalığı, ilaca bağlı değişiklikler ve nonalkolik yağlı karaciğer gibi diğer nedenlere bağlı olarak da ortaya çıkmış olabilir.

Kronik HBV infeksiyonu klinik olarak genellikle sessizdir. En sık belirti yorgunluktur ve genellikle hafif ve intermittan özellik gösterir. Daha az olarak iştahsızlık, bulantı, karın ağrısı, kilo kaybı ve koyu renkli idrar gibi belirti ve bulgular saptanır. Kronik hepatit kliniği genellikle biyokimyasal ve histolojik aktiviteyi yansıtmaz. KS gelişiminde klinik belirtiler daha belirginleşir ve hastalarda devamlı yorgunluk, iş yapamama, zayıflama, bulantı, iştahsızlık, karında şişlik, ödem, kaşıntı, koyu renkli idrar ve sarılık gibi belirtiler gözlenir. Kronik HBV izleyen HSK klinik olarak sessizdir ve çapı 10 cm'yi aştıktan sonra kilo kaybı, karın ağrısı, halsizlik ve kaslarda güç kaybı gibi belirtiler ortaya çıkar (104).

KHB'de Poliarteritis Nodosa (PAN), glomerülonefritler ve esansiyel mikst kriyoglobulinemi (EMK) gibi ekstra-hepatik tutulumlar görülebilir. Nekrozitan bir vaskülit olan PAN ile HBV ilişkisi uzun yıllardan beri bilinmektedir. PAN'lı hastalardaki HBsAg pozitifliği % 30-70 arasında değişmektedir (7). HBV ile oluşan PAN patogenezi HBsAg içeren immünkomplekslere bağlanmaktadır. Bu olgularda, tutulan damarlarda biyopside, HBV ile ilişkili antijenler gösterilmiştir.

HBV'un glomerülonefrite neden olduğu ilk kez 1970'li yıllarda anlaşılmıştır. HBV özellikle çocuklarda membranöz (MGN), erişkinlerde ise membranoproliferatif (MPGN) glomerülonefrite yol açar. Bu olgularda temel tablo nefrotik sendrom olup genellikle karaciğer tutulumu ikinci plandadır. Hastalığın patogenezinde sürekli viral uyarı sonucu oluşan antijen-antikor komplekslerinin glomerüle çökmesi suçlanmaktadır (7).

EMK nedeni belli olmayan ve multisistem tutulumuna yol açan bir hastalıktır. Yapılan bir çalışmada EMK'li hastaların kriyoprsipitatlarında HBsAg varlığını göstererek HBV'nin rolüne dikkat çekmişlerdir (7). EMK'lerde HBV'nin rolü HCV'ye göre daha azdır. Tüm kronik karaciğer hastalıklarında EMK oranı % 41.5 iken bu oran HCV'de % 54.3, HBV'de ise % 15'dir (7).

F. TANI:

Yukarıda belirtilen HBV antijenlerine karşı özgül antikorlar meydana gelmekte ve bu antijen/antikorların serum örneklerinde incelenmesi ile, infeksiyon tanısı konmakta; hastaların takibi ile toplumların ve çeşitli risk gruplarının taramaları yapılabilmektedir. Serolojik tanı amacıyla en sık başvuru alan metotlar şunlardır;

1. HBsAg/Anti-HBs Sistemi: HBV'nin yolaçtığı kronik viral hepatitlerin tanısında en önemli kriter, serumda HBsAg saptanmasıdır. İnfeksiyon göstergesi olarak kabul edilen HBsAg varlığı, viryon replikasyonu ile eş anlamlı değildir; yapılan incelemeler, sağlıklı taşıyıcılarda HBsAg üretiminin devam ettiği dönemlerde infeksiyöz virüs partiküllerinin bulunmadığını göstermiştir. KHB olgularının en belirgin özelliği, HBsAg'nin serumda 20 haftayı aşan bir süreyle saptanabilir olmasıdır. Bu arada bazı endemik bölgelerde KHB veya KS tanısı almış ancak HBsAg negatif bulunan olguların % 30-40'ında HBV-DNA'nın saptanmış olması, "HBsAg negatif KHB" olgularının varlığına işaret etmektedir; Bu tip olgularda "a" determinant bölgesi içinde veya dışında meydana gelebilecek mutasyonlar sonucu ortaya çıkan "yeni HBV suşlarına ait HBsAg'nin ticari kitlerle saptanamadığı anlaşılmaktadır. Öte yandan KHB olgularında Anti-HBs antikorlarının sentezlendiği; bu durumda oluşacak HBsAg/Anti-HBs immükomplekslerinin, HBsAg'nin saptanmasını engelleyeceği de ileri sürülmüştür.

2. HBcAg/Anti-HBc Sistemi: Erken infeksiyon döneminde gelişen spesifik antikorlar anti-HBc IgM tarafından nötralize edildiği için HBcAg'nin serumda saptanması oldukça güçtür; bu nedenle kor bölgesi ile ilgili, pratik önemi olan tek belirteç anti-HBc (total ve IgG) antikorlarıdır. Özellikle iyileşme ile sonlanan akut olgularda, HBsAg'nin kaybolup, henüz Anti-HBs'nin belirmediği "boşluk" döneminde, infeksiyonun tek göstergesi bu antikorlardır ve bu dönemde serumun infeksiyöz olduğu kabul edilir. Anti-HBc antikorları en erken beliren ve uzun süre kalıcı olan antikorlardır. Anti-HBc'nin, akut dönemin yanı sıra, konvalesan dönemde de pozitif bulunması, bu antikor aktivitesine sahip IgM sınıfı immünglobulinlerin araştırılmasını önemli kılar. Ancak Anti-HBc IgM'nin, sadece akut dönemde pozitif olabileceğini düşünmek hatalıdır; günümüzde kullanılan duyarlı teknikler ile, akut olguların yanı sıra, taşıyıcıların %20'sinde, KHB'lerin ise %80'inde düşük titrede de olsa bu

antikorlar saptanabilmektedir (37). Ancak farklı gruplardaki pozitiflik karşılaştırıldığında, önemli titre düzey farkları bulunmaktadır. Gerçekten de akut olgularda çok yüksek değerlerde iken, diğer tip olgularda düşük düzeydedir. Günümüzde ticari olarak satılan bazı Anti-HBc IgM kitlerinin pozitiflik kriteri yüksek tutularak, bu belirtecin sadece akut olgularda pozitif bulunması sağlanmıştır. Pratik olarak Anti-HBc IgM'nin, pozitifliği yerine negatif bulunması önemlidir; çünkü bu antikorların negatif bulunması, HBsAg pozitif olgularda akut enfeksiyon olasılığını ortadan kaldırır. Son yıllarda Anti-HBc IgM antikorlarının α -IFN tedavisine yanıtın izlenmesinde önemli olup olmadığı tartışılmaktadır (88). Ayrıca geliştirilen bazı tekniklerle bu serolojik göstergenin sayısal tayini de artık mümkündür. KHB olgularının %70'inde Anti-HBc IgM düzeyi 10-100 IU (Paul Ehrlich Institute, PEI) arasındayken; AHB olgularının %85'inde ise, bu düzey 100 IU'den fazladır. Ayrıca, Svedberg sedimantasyon katsayısına göre de ayırım yapılabilmektedir. Buna göre, 19S özelliğindeki antikorların akut olgularda; 7S özelliğindeki ise kronik olgularda bulunduğu anlaşılmıştır. Anti-HBc IgM titresinin karaciğer harabiyeti ile yakın ilgisi olduğu kabul ediliyorsa da; replikasyonun göstergesi olup olamayacağı tartışmalıdır.

3. HBeAg/AntiHBe Sistemi: Akut olgularda serumda HBeAg, HBsAg ile hemen hemen aynı dönemde belirir ve HBsAg'den daha önce kaybolur. HBeAg'nin varlığı viral partiküllerin, DNAp ve HBV-DNA'nın serumda bulunduğunu kısmende olsa gösterir; kısaca HBeAg, enfeksiyözitenin ve aktif replikasyonun kaba bir işaretidir. HBeAg'nin kaybolması ve özellikle spesifik antikor olan Anti-HBe'nin belirlenmesi, bir kural olmamakla birlikte iyileşmeye doğru gidişi ifade edebilmektedir.

Son yıllarda HBV-DNA ile ilgili hibridizasyon ve özellikle Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) çalışmalarının yaygınlaşması, HBe/Anti-HBe sisteminin güvenilir replikasyon göstergeleri olarak ele alınmalarında bazı kuşkuların doğmasına yol açmıştır. Örneğin, HBeAg negatif olgularda aktif replikasyonun göstergesi olan HBV-DNA'nın pozitif bulunması (19); özellikle PCR gibi duyarlı yöntemlerle Anti-HBe pozitif olguların %80'inde HBV-DNA'nın gösterilmesi (50) ve aksine HBeAg pozitif bazı olgularda HBV-DNA'ya rastlanmaması (83); bazı klasik bilgilerin zaman içinde değişebildiğini kanıtlamaktadır.

4. Pre-S/Anti-Pre-S Sistemi: Son yıllarda yapılan çalışmalar, Pre-S1 ve Pre-S2 antijenlerinin varlığının, HBeAg'ye oranla replikasyonun daha kesin göstergeleri olarak değerlendirilmesine yol açmıştır. Bu antijenler, HBsAg ile birlikte ortaya

çıkarmakta ve iyileşme ile sonlanan olgularda, çok daha erkenden yerlerini Anti-Pre-S antikorlarına bırakmaktadırlar (37). Bu durumda, henüz HBsAg pozitif olgularda saptanan Pre-S/Anti-Pre-S serokonversiyonu, kronikleşmenin olmayacağını erken bir göstergesi olarak kabul edilir. Bazı çalışmalarda serumda yüksek titrede Pre-S epizotlarına rastlanmasının aktif viral replikasyon ile paralellik gösterdiği (32); bazılarında ise bu ilişkinin saptanmadığı savunulmuştur (73). Ayrıca α -IFN tedavisine yanıtın izlenmesinde Pre-S antijenlerinin uygun bir gösterge olup olmadığı konusunda da farklı görüşler öne sürülmüştür (71). Konu ile ilgili standardizasyon çalışmalarının yakın bir zamanda tamamlanması, bu antijen/antikor sisteminin gerçek değerinin daha net olarak belirlenmesini sağlayacaktır (29).

5. HBV-DNA: Bindokuzyüzseksenli yıllarda, moleküler biyolojik tekniklerin tıp alanında yaygın bir şekilde kullanımı gündeme gelmiş ve HBV'nin de içinde bulunduğu çeşitli etkenlerin nükleik asitlerini araştırma yöntemleri geliştirilmiştir.

Bu tekniklerden HBV enfeksiyonlarının tanısında, serumdaki HBV-DNA'nın saptanmasına yönelik olarak en sık kullanılan yöntemler moleküler hibridizasyon (MH) ve PCR'dir. MH yöntemlerinden başlıcaları ise dot-blot hibridizasyon ve slot-blot hibridizasyondur. Bu iki teknik diğerlerine oranla daha basit, ucuz ve duyarlıdır. HBV-DNA, biyokimyasal olarak hepatitin belirtileri çıkmadan önce serumda saptanabilmekte ve hem akut hem de kronik hastalıkta serumda belirlenebilmektedir. Slot-blot hibridizasyon yöntemi 10-500 pg/ml titredeki HBV-DNA'yı saptayabilmektedir; alt limit yaklaşık 10^6 genom eşdeğeri/ml'dir. Buna karşılık, sıvı faz hibridizasyonu ve branched DNA (bDNA) tekniği, bu iki yöntemle göre daha duyarlı, ancak daha pahalı ve karmaşık yöntemlerdir (79).

HBV-DNA'nın yeni ve daha duyarlı yöntemlerle serumda saptanması klinik açıdan çok yararlıdır; çünkü HBV-DNA'nın serumdan kaybolması, viral replikasyonun olmadığı veya azaldığını ve genellikle hastalıkta rezolüsyon gelişmekte olduğunu göstermektedir. HBV-DNA ve HBeAg'nin ikisi birden saptanabiliyor ise, HBV-DNA'nın miktarı ile HBeAg'nin optik densitesi arasında yakın bir ilişki vardır (39). Serumdaki HBV-DNA miktarının, α -IFN tedavisi amacıyla KHB'li hastaların seçiminde prognostik önemi olduğu gösterilmiştir (79).

Son araştırmalar, HBV-DNA PCR yönteminin, klasik HBV-DNA hibridizasyon yöntemlerinden daha duyarlı olduğunu göstermiştir (59,105). HBV-DNA PCR yaklaşık olarak 10-50 genom eşdeğeri/ml gibi eser miktardaki HBV-DNA'yı

saptayabilmektedir. Böylece, HBV-DNA hibridizasyon testleri negatif olan birçok hastada HBV-DNA, PCR ile saptanabilmektedir (79,59). HBV-DNA PCR'nin en önemli sakıncası, elde olmayan sebeplerle kontaminasyona bağlı yalancı pozitiflik riskidir (79). Saptama limiti yaklaşık 10 pg/ml olan hibridizasyon yöntemleri ile Anti-HBe pozitif olan hastaların serumunda HBV-DNA nadiren saptanabilmektedir. Oysa, sıvı faz hibridizasyonu, bDNA tekniği ve HBV-DNA PCR ile bu hastalardaki düşük HBV-DNA düzeyleri dahi saptanabilmektedir (50,79,105).

G.TEDAVİ:

1. Tedavide Amaçlar: Hepatit B'ye bağlı kronik karaciğer hastalığına yakalanan hastaların karaciğer biyopsi sonuçlarının da sıklıkla KAH veya KS belirlenmektedir. Bu kaçınılmaz sonun önlenmesi için etkin bir tedaviye gereksinim duyulmaktadır.

KHB'de tedavinin temel amaçları; virüsün kalıcı olarak baskılanması ya da yok edilmesi ve böylece karaciğer hastalığının remisyona girmesinin sağlanmasıdır. Diğer önemli bir amaç ise infektiviteyi azaltmak; HBeAg, HBV-DNA ve DNAP gibi serumdaki viral replikasyon göstergelerinin kalıcı olarak eliminasyonunu sağlamaktır. HBeAg serokonversiyonu, genellikle serumdan HBV-DNA ve DNAP'nin kaybolması ile izdüşmektedir, ayrıca serum transaminaz düzeyleri belirgin şekilde düşmekte ve karaciğerin histolojik görünümü düzelmektedir (18,53,70). HBeAg ve HBV-DNA'nın serumdan kaybolması ile karaciğer dokusundaki HBV-DNA miktarının azaldığı, replikatif virüs formlarının kaybolduğu gözlenmektedir (29). Uygulanan tedavi ile HBsAg klirensi ve HBV taşıyıcılığının tamamen sonlandırılması ise daha güçtür ve tedaviye yanıt veren hastaların çok az bir kısmında, tedavinin tamamlanmasından sonraki ilk yıl içinde gerçekleşebilir. Bununla birlikte, son zamanlarda hasta takip sürelerinin uzatılmasına paralel olarak, HBsAg'nin negatifleştiği hasta sayısında artış olduğu bildirilmektedir (51).

Tedaviye yanıtın klasik tanımı, HBeAg ve HBV-DNA'nın serumdan kalıcı olarak kaybolması şeklindedir. Ancak bu göstergelerin serumdan kaybolması eş zamanlı olmayabilir. ABD'de α -IFN ile yapılan bir çalışmada, hastaların %10'unda HBV-DNA'nın negatifleştiği, HBeAg'nin ise pozitifliğinin devam ettiği bildirilmiştir (56). Bu durumdaki hastalara belirsiz yanıt veren olgular adı verilmiştir. Bu hastalarda biyokimyasal ve histolojik olarak da düzelmenin olduğu görülmüştür. Bu hastalarda

gözlem döneminin ikinci yılı içinde HBeAg gecikmiş olarak negatifleşmiştir. Bu örneğin, tedaviye yanıtın gözlenmesinde HBV-DNA'nın HBeAg'ye üstünlüğünü vurguladığı söylenebilir. Son yıllarda HBV-DNA pozitifliğine rağmen transaminaz düzeylerinin normal düzeylerde devam etmesi tedavide başarı kriteri olarak kabul edilmektedir (89).

KHB'li bir hastaya; hastanın daha iyi yönlendirilmesine yardımcı olmak, hastalığın histolojik şiddeti, prognozu ve karaciğer harabiyetinin düzeyinin bilinmesi ve hastalığın aciliyetinin gösterilmesi amacı ile karaciğer biyopsisinin yapılması artık günümüzde bir tıbbi zorunluluk haline gelmiştir.

Tedavi sonrası ise karaciğer biyopsisi, hastada virolojik olarak yanıt yoksa hastalığın klinik gidişine göre belirlenmelidir. Eğer hastada kalıcı olarak biyokimyasal, klinik ve virolojik yanıt var ise tedavideki histopatolojik cevabı görebilmek için 6 aydan az omamak kaydı ile bir yıl içinde yapılmalıdır.

2. Günümüzde KHB'de Tedavi:

a) Alfa İnterferon Tedavisi: KHB tedavisinde günümüze kadar çok sayıda ilaçlar kullanılmış, fakat ya etkisiz yada çok toksik bulunduklarından terk edilmiştir. KHB tedavisinde 1992 yılında FDA (Food and Drug Administration) tarafından ilk onaylanmış ilaç IFN- α dır (1). Geniş biyolojik aktiviteye sahip olan interferonlar viral enfeksiyonlar, kimyasal interferon uyarıcıları (poliriboinisik asid, fitohemagglütinin), corynebacterium parvum ve bakteri endotoksinleri gibi çeşitli indükleyicilerin varlığında salgılanırlar. En potent indükleyici ise çift zincirli RNA'dır (dsRNA). Antiviral, immünomodülatör ve antiproliferatif etkileri olan IFN'ler son derece potent sitokinler olup α , beta (β), gamma (γ) olmak üzere 3 tipe ayrılırlar (79).

IFN- α , çoğunlukla monositler ve trasforme B lenfositler tarafından bazı antijenler ve virüslerin uyarısı ile üretilir. 30 kadar alt tipi (IFN- α 2a, IFN- α 2a ...) vardır. Klinikte en yaygın kullanılan IFN, IFN- α dır. IFN- β , Virüsler ve poliribonükleotidlerin uyarısı ile fibroblastlardan salgılanır. Tek tipi vardır. IFN- γ ise antijen veya fitohemagglütinin gibi mitojenlerin uyarısıyla T lenfositlerce salgılanır. IFN- γ 'nın, α ve β IFN'a göre immünomodülatör etkisi daha fazla iken antiviral etkisi daha azdır.

IFN'nin indüklediği proteinler olan 2'-5' oligoadenilat sentetaz (2'-5' OAS) ve protein kinaz (PK), çift sarmallı RNA varlığında protein sentezini inhibe eder.

2'-5' OAS; adenilat oligomerleri üretir, bunlar da latent sellüler endoribonükleazı (Rnase L) aktive ederek hem sellüler hem de viral RNA'ların ayrılmasını sağlar. Lökositlerdeki yükselmiş 2'-5' OAS aktiviteleri interferona maruziyet veya endojen salınımı için gösterge olabilir (33).

PK, selektif olarak protein sentezinde yel alan bir protein olan uzamayı başlatıcı faktör'ü (eIF-2) fosforiller ve inaktive eder. IFN aynı zamanda transmetilasyon reaksiyonlarını inhibe etmek suretiyle m-RNA kappingini bloke eder (33). Kısaca bu mekanizmalarla IFN viral replikasyonu sınırlar, yayılmasını önler (22,26).

IFN'ler hücrel immünite ve antikor sentezini düzenleme, antijenlerin ekspresyonunu ve tanınmasını artırma ve naturel killer hücre aktivitesini arttırarak immünomodölatör etki yapar. IFN, hepatosit yüzeyinde (MHC) sınıf I moleküllerini arttırarak infekte hepatositin yüzeyindeki virüs antijenlerinin sitotoksik T hücreleri tarafından tanınmasını ve infekte hepatositin yok edilmesini sağlar (12).

IFN'ler, normal hücrede reversibl, neoplastik hücrede irreversibl sitostaz yaparak antiproliferatif etkide bulunurlar. Bu etki sayesinde KHB'ye bağlı HSK engelleyebildiği gibi Hair cell lösemi, kronik miyelositik lösemi, AIDS, kaposi sarkomu gibi malinitelerde de kullanılır (26).

Günümüzde HBV tedavisinde yaygın olarak kullanılan IFN'ler genellikle iyi tolere edilebilir ve yan etkiler basit tedbirlerle giderilebilir. IFN kullanılan hemen her vakada karşılaşılan en sık yan etki, tedavinin 1. haftasında ateş, üşüme, titreme, miyalji, artralji ve baş ağrısı gibi gripal infeksiyon benzeri (flu-like sendrom) bir tablonun gelişmesidir. Enjeksiyondan yarım saat önce parasetamol verilmesi bu yan etkilerin ortaya çıkışını azaltır ve hastalar daha iyi tolere edip, tedaviye daha çabuk adapte olurlar.

Halsizlik, kas ağrısı, asteni, bulantı, kusma, ishal, saç dökülmesi, irritabilite, konsantrasyon kaybı, somnolans ve depresyon gibi yan etkiler tedavi ilerledikçe görülmeye başlar. Santral sinir sistemi ve psikiyatrik problemi olan hastalarda depresyon ortaya çıkma ihtimali ve şiddeti artacağından bu gibi predispoze faktörlere karşı dikkatli olunmalıdır. IFN'ler bakteriyel infeksiyon riskini de arttırabilir (26,57,80,69).

Ciddi kalp hastalığı, renal yetmezlik, diyabet, depresyon, gebelik bulunanlara ve nötrofil sayısı $1500/\text{mm}^3$, trombosit sayısı $80000/\text{mm}^3$, albumin 3 gr/dl altında, total bilirubin 5mgr./dl, Protrombin zamanı 15 saniyenin üzerinde, ANA 1/160'dan

yüksek ve özellikle tiroid'e ait otoimmün hastalık hikayesi olanlara IFN verilmesi kontrendikedir. Tedavi öncesi biyokimya, tam kan, anti-Nükleer antikor (ANA), anti-Mitokondrial Antikor (AMA), anti-double stranded-DNA (anti-dsDNA) ve tiroid fonksiyon testleri (serbest T3, serbest T4, TSH) mutlaka yapılmalıdır (82).

Altı aydan fazla süredir ALT düzeyleri normalin en az 1.5 katından daha yüksek seyreden ve serum HBeAg ve/veya HBV-DNA pozitif olan kompanse KHB'li hastalar IFN- α tedavisine adaydırlar (46). Tedaviye en iyi cevap yüksek ALT (>100İÜ/ml), düşük HBV-DNA (<200pg/ml) düzeyine sahip, biyopside orta veya şiddetli inflamatuvar aktivite gösteren vakalarda alınır (13).

IFN tedavisi farklı doz ve sürelerde denenmesine rağmen en çok denenen ve tercih edilen tedavi; 4-6 ay süreyle haftada 27-30 Milyon Ünite (MÜ) kullanılmasıdır. Bu total doz, her gün 4.5-5 MÜ veya haftalık 3 kez 9-10 MÜ dozunda kullanılabilir (35). Bu tedavi şeması, histopatolojik olarak karaciğerde aktif inflamasyonu fazla olan, kompanse KHB'li ve HBV-DNA düzeyleri düşük tipik vakalar için en çok önerilen şemadır (80,7,56). Yüksek doz IFN- α verilmesi, daha düşük dozlarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmayan ancak biraz daha yüksek kalıcı cevap oranlarının elde edilmesine imkan verir (46).

IFN- α uygulanan hastaların ancak % 25-40'ında uzun süreli kalıcı cevap sağlanabilmektedir (36). Bu kalıcı cevap oranları çeşitli çalışmalarda değişiklikler göstermektedir. Üç-dört ay süreyle 5 MÜ/gün veya haftada 3 kez 10 MÜ kullanılan tipik vakalarda kalıcı cevap % 30-40 bulunmuştur (23,35). Diğer bir çalışmada ise % 30-50 oranında cevap alınmıştır (68,90). Sekizyüzotuzyediyi vakadan oluşan bir çalışmada, HBV-DNA, HBeAg, HBsAg kaybı, tedavi gurubunda sırasıyla % 37, 33, 7.8, kontrol gurubunda ise % 17, 12, 1.8 oranında bulunmuştur ve IFN- α 'nın anti-HBe oluşumu ve ALT'nin normalleşmesi üzerine önemli etkisi olduğu belirtilmiştir (101).

Daha önce çeşitli doz ve aralıklarla sadece IFN- α kullanan hastalar ile yapılan çalışmalarda HBV-DNA negatifleşme oranı, 61 hastalık bir çalışmada %23, 23 hastalık bir çalışmada %26, 33 hastalık bir çalışmada %70, 837 hastalık çalışmada %37 bulunurken, diğer iki çalışmada ise %33 ve %43 bulunmuştur (81,101,94,16,15). Haftada beş gün 5 MÜ IFN- α ile 6 ay süre ile yapılan diğer bir çalışmada ise, 6. Ayın sonunda HBV-DNA negatifleşmesi %76 iken, 6 aylık takiplerin sonunda %68 bulunmuştur (92).

Haftada beş kez 5 MÜ IFN- α ile yapılan 6 aylık bir çalışma sonucunda ALT normalizasyonu tedavi bitiminde %72 bulunmuştur (92). Haftada 3 kez 4.5 MÜ IFN- α ile 6 ay yapılan çalışmada tedavi sonunda ALT normalizasyonu %60 bulunmuştur (15). Yine haftada 3 kez 4,5 MÜ IFN- α ile yapılan 6 aylık bir çalışmada ise %38 bulunmuştur (16).

IFN- α 'ya cevap veren hastalarda etki genellikle yıllarca devam etmektedir. Hatta zamanla HBsAg kaybolma oranı artmaktadır. Bir çalışmada IFN'ye cevap veren 23 hasta 3-7 yıl izlenmiş ve 20 hastada replikasyon belirleyicileri negatif kalmaya devam etmiş, 13'ünde HBsAg de kaybolmuştur (23). 130 hastanın 11 yıl izlendiği çalışmada, tedavi ile 31 hastada (%30) HBeAg/HBV-DNA kaybı görülmüş, izlem süresi sonunda tedaviye cevap verenlerin %94'ünde, vermeyenlerin ise %40'ında HBeAg negatifliği gelişmiştir (50). Diğer bir çalışmada ise 5 yılın sonunda toplam %56 HBeAg, %11.6 HBsAg kaybı tespit edilmiştir (67). Spontan HBeAg kaybı % 5-7, spontan HBsAg kaybı ise daha nadirdir (82). Bir çalışmada HBeAg negatifleştikten sonra HBsAg kaybolma oranı 9 yılda toplam %86 (%8/yıl), tedaviye cevap vermeyen fakat daha sonra spontan olarak HBeAg'si negatifleşen vakalarda ise % 11 bulunmuştur (55). Diğer yapılan çalışmalarda ise HBsAg kaybolma oranları sırası ile % 25, %11.6, %6.9 bulunmuştur (67).

Nüks oranları ile ilgili farklı veriler elde edilmiştir. Cevap verenlerin % 5-10'unda 10 yıl içinde reaktivasyon olabilir. Bu genellikle geçicidir ve yeniden serokonversiyonla sonlanır (56). Ancak yapılan çalışmalar, HBsAg kaybından ziyade HBeAg kaybının prognostik değerinin daha fazla olduğunu göstermektedir.

IFN tedavisinin KS ve HSK'i önlemeye etkisi olup olmadığı yakın zamana kadar tartışma konusuydu. HBeAg (+) vakalarda siroz gelişme riski % 12/yıl, HBeAg (-) vakalarda %1/yıl olarak hesaplanmıştır. Yapılan çalışmalarda IFN'nin KS gelişimini %13, HSK riskini ise %4 azaltabileceği tahmin edilmiştir. Yeni yapılan bir çalışmada, IFN kullanılan 94 vakada 5 yıl içinde %7, 10 yılda %17 oranında HSK gelişmiş, tedavi almayan 219 hastada ise bu oranlar %19.9 ve %30.8 olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak IFN'nin HSK'i önleme oranının yaklaşık %40 olduğu hesaplanmıştır (46). IFN'nin 35 yaşındaki bir hastanın toplam ömrünü 3.1 yıl, sıkıntısız yaşam süresini 3-4 yıl uzatacağı hesaplanmıştır (47).

b) Nükleozid Analogları İle Tedavi: IFN- α uygulanan hastalarda uzun süre kalıcı cevap oranı %25-40 oranındadır (36). Kalıcı cevap oranını artırabilmek

amacıyla günümüzde bir çok ilaç denenmektedir. Bu amaçla NA dünyada yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve büyük ümitler bağlanmıştır.

b.1. Lamivudin: LAM, (3-thiacytidine), 2,3-dideoxy-3'thiacytidine'nin (-) enantiyomeridir. Bir sitozin analogu olan LAM, hepadnavirüs replikasyonu için gerekli bir enzim olan RT aktivitesini bloke ederek DNA sentezini, dolayısı ile virüs replikasyonunu inhibe eder (87,42). LAM en çok incelenen ve en az yan etkisi olan NA'dır. Mitokondrial DNA sentezini inhibe etmez ve viral DNA sentezini inhibe edecek konsantrasyonlarda hematopoiezisi baskılamadığından diğer NA'dan daha az yan etkiye sahiptir. HIV'in inhibisyonuna sebep olduğu için bu hastalarda kullanılırken HBV koinfeksiyonu olan hastaların viral replikasyonunu durdurduğunun fark edilmesi üzerine KHB çalışmaları içine girmiştir. 1995 yılında ABD'de HIV pozitif hastaların tedavisi için lisans almış olan LAM, Aralık 1998 tarihinde de KHB tedavisinde kullanım için FDA onayı almıştır.

LAM, oldukça iyi tolere edilen bir ilaçtır. Yan etkiler genellikle ilacın kesilmesini veya doz değişimini gerektirecek ölçülerde değildir. Hafif epigastrik rahatsızlık, diyare ve parestezi nadiren bildirilmiştir. Pankreatit yapabileceği bildirilmesine rağmen oldukça seyrek görülmektedir.

HBV ile infekte hastaların doz aralığını saptamaya yönelik çalışmalarda LAM'ın 28 gün ile 6 ay süreyle 5 mg'dan 600 mg'a kadar olan dozlarda kullanılması öngörülmüştür (63). Ancak 100 mg/gün ile serum HBV-DNA'da % 95'den fazla inhibisyon elde edilmiş, dozu daha fazla arttırmanın ek bir yararı bulunmamıştır, 1.ayın sonunda hastaların % 40'ında bu etkiye ulaşmak mümkündür (46). Daha önce tedavi kullanmamış 51 hastalık bir çalışmada, günlük 25, 100 ve 300 mg/gün LAM 6 ay süreyle denenmiş ve tedavi sonunda 25 mg/gün LAM alan hastaların %58'inde, 100 mg/gün kullananların %93'ünde, 300 mg/gün kullananların % 88'inde HBV-DNA tespit edilemeyecek düzeye inmiştir (64). Tedavi sonunda ALT normalleşmesi sırasıyla %64, %45 ve %36 olarak saptanmıştır. Diğer bir çalışmada 358 hastaya bir yıl süreyle 100 mg LAM verilmiş ve tedavi sonunda % 98 oranında HBV-DNA negatifleşmesi görülmüştür (52). Başka bir çalışmada, 137 kişilik hasta grubunda 1 yıl süreyle LAM 100mg verilmiş, 1 yılın sonunda HBV-DNA %44 oranında negatifleşmiştir (43).

Daha önce hiç tedavi görmemiş hastalarla yapılan diğer bir çalışmada, 226 hastaya 1 yıl süresince 100 mg/gün LAM kullanılmış. Tedavi sonunda HBeAg

serokonversiyonu % 18, histolojik iyileşme % 35 olarak bulunmuştur (K6). Yapıl başka bir çalışmada, 137 hastaya 1 yıl süreyle 100 mg/gün LAM verilmiş. 1 yılın sonunda karaciğer patolojisinde, Histolojik Aktivite İndeksi (HAI)'inde başlangıca göre > 2 puan fazla iyileşme %52, HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu %32, ALT normalizasyonu %42 olarak bulunmuştur (43). Daha önce IFN tedavisine cevap vermeyen 238 hastada 100 mg/gün LAM ile 1 yıl süre ile yapılan çalışmada; %33 oranında HBeAg kaybı izlenmiştir (44). Ancak bütün bu çalışmaların ortak noktası tedavi kesildikten sonra HBV-DNA'nın tekrar pozitifleşmesidir. Bunun en önemli sebebi ise infekte hepatosit içinde ilaç etkisine dayanıklı, yarı ömrü aylar seviyesinde uzun olan viral orijinli cccDNA'nın bulunmasıdır. Yapılan bir çalışmada 1 yıl LAM tedavisi alan hastalar, tedavi öncesi ve sonrası karaciğerdeki HBV-DNA varlığını in-situ hibridizasyonla araştırılmış ve hiçbir fark olmadığını bulunmuştur (59). Virüsün eradike edilmesi için ilacın ne kadar süre ile verilmesi gerektiği bilinmemekle beraber, 2-5 yıl gibi bir süre tahmin edilmektedir.

LAM'ın uzun süre kullanılmasının en önemli sorunlarından biri direnç sorunudur. Çeşitli araştırmalarda LAM kullanan hastaların %8-17'sinde tekrar HBV-DNA'nın pozitifleştiğini göstermektedir (38,8). Direnç genellikle tedavinin 6. ayında gelişmektedir. LAM kullanan hastalarda pol geninin YMDD (Tyrosine, Methionine, Aspartate, Aspartate) motifinde mutasyonlar görülebilmektedir (97).

Bu ilk bulgular ilacın emniyeti ile birleşince tedavi potansiyeli yüksek bir ilaç olacağını göstermektedir.

b.2. Famciclovir: Acyclic guanine türevi olan Famciclovir (FCV), penciclovirin (PCV) oral alınan formudur. Antiherpetik ilaç olarak geliştirilmiştir. Tüm NA'larda olduğu gibi PCV'nin aktif hale geçebilmesi için intrasellüler ortamda fosforile edilmelisi gerekmektedir. Dokuda, ekstrasellüler ortamda fazla miktarda fosfatlar ve nükleotidazlar bulunduğundan bu enzimler ile hızla parçalanırlar. Herpes Simpleks Virüs ile infekte hücreler önce PCV'ye, PCV ise Pensiklovir Monofosfat (PC-MP) şekline dönüştürülür. Bu reaksiyon virüs tarafından sentezlenen "deoksinkinaz" ile olur ancak HBV tarafından bu enzim sentezlenemediğinden bu işlemin HBV ile infekte hücrelerde nasıl geliştiği bilinmemektedir. Bugün için KHB tedavisinde FCV ile faz II çalışmaları devam etmektedir.

b.3. Fialuridine: Fialuridine (FIAU), mitokondrium DNA'sı ile birleştikten sonra yapısında bulunan "3' hidroksil" gurubu sayesinde fazla ester bağları oluşturup irreversible DNA parçalanmasına sebep olmaktadır (84).

FIAU mitokondrial DNA sentezini de inhibe ettiği için mitokondrial toksik bir ajandır. "Memeli DNAP gamma" mitokondrium içindeki DNA sentezi için gerekli bir enzimdir. Bu enzimi FIAU inhibe ederek toksik etkiyi oluşturur. 24 hastalık ,6 ay süren bir çalışmada tedavinin 3. ayında toksik tablonun oluşması (karaciğer yetmezliği, miyopati, pankreatit, nöropati, laktik asidoz) ve 5 hastanın ölümü ile bu tedavi protokolü durdurulmuştur (17).

b.4. Diğer Nükleozid Analogları: Son yıllarda, geniş antiviral yelpazeye sahip olan acyclic NA da HBV infeksiyonlarında denenmektedir. Henüz faz I-II çalışmaları yeni tamamlanan Adefovir ile yapılan çalışmalarda kısa süreli kullanımlarında iyi tolere edildiği, etkin bir replikasyon durdurucu olduğu ancak ilacın kesilmesinden sonra viral replikasyonun kaldığı yerden devam ettiği gözlenmektedir (30). Özellikle küçük bir denemede LAM'a dirençli mutantların adefovir'e hassas olduğunun gösterilmesi ilerisi için ümit vericidir (53).

Bir guanosine analogu olan Lobucavir molekül bazında potent bir antiviral ajandır. Faz II çalışmaları bu ilacın da HBV-DNA'yı suprese etmekte çok etkili olduğunu göstermiş, ancak 2 yıl süreyle yüksek doz verilen deney hayvanlarında aynı anda bir çok organda neoplastik değişikliklerin ortaya çıkması faz III çalışmalarının durdurulmasına neden olmuştur.

Diğer bir NA olan Ganciclovir daha çok transplantasyon hastalarında denenmiş ve etkili bulunmuş bir ilaçtır. Ancak KHB'de kullanımına dair yeterli veri yoktur.

c) Kombine Tedaviler: KHB'de tedavide; iki immünomodülatör ilaç, bir immünomodülatör ve bir antiviral ilaç, iki antiviral ilaç veya çoklu kombinasyonlar yapılarak kalıcı cevap oranları arttırılmaya çalışılmıştır.

Günümüzde üzerinde en çok durulan tedavi kombinasyonları, tedavinin temelini oluşturan IFN ile NA'ların birlikte kullanımıyla yapılan tedavilerdir. Bir immünomodulatuvar ile bir antiviralin birlikte kullanılmasının aditif veya sinerjistik etki yapacağı düşünülmektedir (2).

c.1.İnterferon Ve Nükleozid Analogu Kombinasyonları: Son yılların en çok ümit veren tedavisi olan LAM tedavisi tek başına etkin bir şekilde HBV replikasyonunu

bloke etmektedir. Ancak uzun süre tek başına LAM kullanılması halinde tedavi sonunda viral replikasyonun yeniden başlaması ve %40 hastada direnç gelişmesi yeni tedavi seçeneklerini akla getirmiştir. Bu seçeneklerden ilk akla gelen LAM IFN kombinasyonudur. LAM son 5 yıldır KHB tedavisinde kullanılmasına rağmen kombine tedavi çalışmaları sınırlıdır. 16 hafta boyunca IFN+LAM kombinasyonu kullanan 20 hastada tedavi sonrası HBV-DNA negatifleştiği halde takipler sırasında 19 hastada HBV-DNA tekrar pozitif olmuştur (63). IFN tedavisine cevap verdiği halde nüks gelişen 52 hastaya 6 ay süresince haftada 3 kez 9 MÜ IFN- α , 150 mg/gün LAM 2 yıl süreyle verilmiş, 1 yılı tamamlayan 37 hastada %78 HBV-DNA negatifliği, iki yıllık tedaviyi tamamlayabilen 5 hastanın 3'ünde (%40 kalıcı cevap) HBV-DNA pozitif bulunmuştur (4). Daha önce IFN tedavisine cevap vermeyen hasta grupları ile yapılan çalışmada, hastalar 3 guruba ayrılmış, 1. guruba LAM 100mg/gün 52 hafta, 2. guruba plasebo, 3. guruba ise ilk 8 hafta LAM 100mg/gün daha sonra 16 hafta boyunca aynı dozda LAM ilaveten haftada 3 kez 10 MÜ IFN- α uygulanmış, 52 hafta sonunda sırasıyla histolojik iyileşme (HAİ'de ≥ 2 puan) % 52, %16, %32, HBeAg kaybı %33, %13, %21, HBeAg serokonversiyonu %18, %13, %12, kalıcı ALT normalleşmesi %44, %15, %18 bulunmuştur (12). Bugüne kadar daha önce hiç tedavi almamış KHB'li hastalarda IFN+LAM kombine tedavisi çalışmasına rastlanmamıştır. Sadece devam eden bir çalışmada 17 hastaya 6 ay süre ile haftada 3 kez 10 MÜ IFN- α ve IFN ile başlayarak 2 yıl süre ile LAM 150 mg/gün 2 yıl süre ile verilmesi planlanmıştır. 1 yıllık tedavi sonunda ALT normalizasyonu % 82, HBV-DNA negatifleşmesi %71 olarak bulunmuştur (3).

IFN- α +LAM kombinasyonlarının IFN- α 'nın yaptığı yan etkilere ilave bir yan etkisinin bulunmaması da bu kombinasyonu cazip hale getirmektedir.

KHB tedavisinde pek çok NA denenmektedir. Bunlardan FCV ve IFN ile yapılan, 5 hastayı kapsayan çalışmada 20 hafta sonunda 2 hastada HBV-DNA negatifliği görülmüştür (1). Adefovir, lobucavir gibi diğer NA ile kombine tedavi çalışmaları bulunmamaktadır.

c.2. Interferon, Timozin- α 1 Kombinasyonu: Timus bezinden doğal olarak salınan T lenfosit olgunlaşmasında rolü olan bir immünomodülatör madde olan timozin- α 1'in antiviral etkisi de olduğu bilinmektedir. IFN- α tedavisine yanıtı 11

hastada 6 ay boyunca düşük doz lenfoblastoid IFN+ timozin- α 1 verilmiş hastaların %55'inde 12.ayda HBV-DNA negatifliği elde edilmiştir (75).

c.3. Interferon, HBV Aşı Kombinasyonları: IFN+HBV aşı kombinasyonu uygulanan 15 hastanın 8'inde 1 yılın sonunda ALT normalleşmesi sağlanmıştır, diğer yapılan bir çalışmada ise IFN+HBV aşısı uygulanan hastaların %62'sinde, sadece HBV aşısı kullanan hastaların %55.6'sında 6 ayın sonunda HBV-DNA negatifleşmiştir (74).

d) Diğer Tedaviler: Kortikosteroidler (KS), Levamizol, Interlokin-2 (IL-2) ve Koloni Sitimule Edici Faktör (CSF) KHB tedavisinde denenmiştir.

IFN tedavisine iyi cevap kriterlerinden biri serum ALT yüksekliğidir. Özellikle ALT seviyesi düşük olan hastalarda IFN ile tedavi öncesi KS verilir kesildikten sonra ALT alevlenmesi görülebilmektedir. ALT yüksekliğinden sonra IFN ile tedavilerde başarılı sonuçlar alınmıştır.

Levamizol, nonspesifik immün sistemi artıran bir ilaçtır. Ancak yapılan çalışma sonuçları IFN ile tedavi edilen hastalardan elde edilen sonuçlardan daha kötü ve yan etkisi fazla olmuştur (99).

IL-2 ile KHB tedavisinde başarılı sonuçlar elde edilememesine rağmen CSF ile özellikle tedaviye dirençli KHB'de yapılmış başarılı çalışmalar vardır (100). CSF KHB'de özellikle lökopenik hastalarda IFN'yi daha iyi tolere edebilmeleri amacıyla belli çalışma çerçevesinde kullanılmalıdır. CSF'nin HBV enfeksiyonundaki diğer bir yeri ise HBV profilaksisinde standart aşılama cevap vermeyen kişilerde aşının etkinliğini arttırmasıdır (34).

e) Deneysel Tedaviler: Antisense oligonükleotid'ler, ribozim'ler, DNA aşıları, anti-HBs pozitif hastalardan kemik iliği transplantasyonu veya uygun T hücre nakli ve proteaz inhibitörleri gibi tedavi seçenekleri henüz deneysel aşamada olup kısa sürede olmasa da gelecekte KHB tedavisinde uzun süreli kalıcı cevap oranını arttıracığına inanılmaktadır (45).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, Ocak 1997-Ocak 1999 tarihleri arasında Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi (GATA) Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı (A.D.) klinik ve polikliniğine başvuran, yaşları 21-43 arasında değişen HBsAg'si pozitif, HBeAg'si pozitif veya negatif, serum HBV-DNA'sı pozitif, serum ALT $\geq 1,5$ x normalin üst sınırı (NÜS) ve ALT < 10 x NÜS olan 2'si kadın, 23'ü erkek toplam 25 hasta dahil edildi.

HCV, HDV ve HIV ile koinfekte hastalar, dekompanze karaciğer hastalığı (serum bilirübin >3 mg/dl, 3 sn.'den fazla uzamış protrombin zamanı, serum albümin <3gr/dl, assit hikayesi, özofagus varis kanaması veya hepatik ensefalopati), nöropsikiyatrik bozukluğu, kardiyak problemi, otoimmün hepatiti (ANA>1:160) olan hastalar ve gebeler çalışma dışı bırakıldı.

Hastalarda; çalışmaya almak için herhangi bir sistemik antiviral ajan, immünomodülatör, sitotoksik ajan veya kortikosteroid tedavi altında bulunmama koşulları arandı. Hastaların hiçbiri daha önce IFN- α tedavisi almamışlardı.

Hastalar tedaviye alınmadan önce tedaviye uygun olup olmadıkları yönünden poliklinikte araştırıldılar. Karaciğer biyopsileri, tedaviden 6 ay önceki süre içinde yapıldı. Tedaviye uygun olan hastalar ayaktan takip edilmek üzere günlük 5 MÜ IFN- α -2b subkutan (Intron A, Schering-Plough, İrlanda) + Lamivudin 2x150 mg/gün oral (Epivir kap. 150 mg., Glaxo-Wellcome, İngiltere) kombine tedavisi aldılar.

Hastalara, enjeksiyonların nasıl yapılacağı gösterilip ilk dozları hemşire kontrolünde yapıldı. Daha sonraki enjeksiyonlar hastaların kendileri tarafından deltoid, karın cildi ve uyluk bölgesine subkutan olarak yapıldı. Hastalar yan etkiler yönünden bilgilendirildiler. İlk günlerde enjeksiyon öncesinde parasetamol 500 mg

tablet antipiretik olarak önerildi. Hastalarda, oluşan yan etkileri kaydetmeleri ve bir sonraki ziyaretlerinde bildirmeleri istendi. Yan etkiler hazırlanan takip formlarına işlendi.

Hastalara ilk ay her hafta, sonraki aylarda ayda bir kez tam kan tetkiki yapıldı. İlk ay ve daha sonraki aylarda ayda bir kez serum transaminazları, HBV-DNA PCR ve TSH kontrolleri yapıldı. HBeAg pozitif (wild tip) hastalar bu testlere ilave olarak HBeAg ve anti-HBe de araştırıldı. Tedavi bitiminden sonraki takip periyotlarında 3. ve 6. aylarda serum transaminazları, HBV-DNA-PCR, HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe kontrolleri yapıldı.

Viral ve serolojik markırlar, GATA İmmünoloji B.D. laboratuvarlarında, EIA yöntemi (Dia Sorin s.r.l, 13040 SALUGGIA "VERCELLI"-ITALY) ile çalışıldı.

Serum transaminazları, GATA Biyokimya ve Klinik Biyokimya A.D. laboratuvarlarında, Technicon R-A otoanalizörleri kullanılarak çalışıldı.

TSH , T3 ve T4 GATAF Nükleer Tıp A.D laboratuvarlarında automed chemiluminesan yöntemi ile (Chiron/Diagnostics, GmbH, Almanya) çalışıldı.

ANA, GATA İmmünoloji B.D. laboratuvarlarında indirekt florasan antikor tekniği ile (Meridian Diagnostics Europe, Hep-2 IFTEST system, Almanya) çalışıldı. ds-DNA ve AMA ise kantitatif EIA tekniği ile (IMTEC, Immun diagnostika, GmbH, Almanya) çalışıldı.

HBV-DNA-PCR incelemeleri; GATA İmmünoloji B.D laboratuvarlarında kalitatif PCR yöntemiyle (Vienna-Lab.Labordiagnostika GmbH, Avusturya) çalışıldı.

Histolojik incelemelerde, hastalara birincisi tedavi başlangıcından önceki 6 ay içerisinde, ikincisi tedavi bitiminden 6 ay sonra olmak üzere 2 kez karaciğer iğne biyopsisi yapıldı (Hepafix biyopsi seti, Braun AG, Melsungen, Germany). Bütün biyopsi örnekleri GATA Patoloji A.D Başkanlığında değerlendirildi. Birbirine bitişik en az 3 portal alan içeren biyopsi örnekleri uygun materyal olarak kabul edildi. Yapılan bu biyopsiler Knodell HAI'e göre skorlandı. Bu skrolama, yüksek skorların daha ciddi hastalığı gösterdiği, 0'dan 22'ye kadar bir skalada hepatitin histolojik aktivitesini gösteren bir sayısal değerlendirmedir. Total Knodell skoru, periportal bridging (köprüleşme) nekrozu (0-10), intralobüler dejenerasyon(0-4), fokal nekroz (0-4), portal inflamasyon (0-4) ve fibrozis (0-4) için verilen rakamların toplamıdır. İlk üç komponentin toplamı olan nekroinflamatuvar aktivite, tedavinin başarısının değerlendirilmesinde kriter olarak kullanıldı.

Histolojik yanıt; tedavi öncesi ve tedavi bitiminden 6 ay sonra yapılan 2 biyopsi arasındaki nekroinflamatuvar aktivite skorundaki ≥ 2 puanlık düşüş olarak tanımlandı. Fibrozis ve nekroinflamatuvar aktivite her bir hastada tedavi öncesi ve tedavi sonrası biyopsi materyalleri karşılaştırılarak değerlendirildi.

Altı aylık kombinasyon tedavisinin bitiminde HBV-DNA (+), ALT düzeyi yüksek olan hastalar tedaviye cevapsız, HBV-DNA (-), ALT düzeyi normal olan hastalar kısmi cevap alınmış, tedavi bitiminden 6 ay sonra ise, HBV-DNA (-), ALT düzeyi normal olan hastalar tam cevap alınmış olarak kabul edildi.

Demografik veriler ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerler olarak verildi.

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası, HBeAg negatifleşmelerinin, wild ve prekor mutant tip suşla infekte hastaların ALT normalizasyonunun farklarının ve HBV-DNA'ları negatifleşmesi yönünden karşılaştırılmasında Fisher's Exact Chi-Square testi, ALT, HAI ve fibrozisteki değişikliklerin karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. Çalışmamızda İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Windows 7.0 programından yararlanıldı.

IV. BULGULAR

Çalışmaya alınan ve KHB tanısı ile izlenen 2'si (%8) kadın, 23'ü (%92) erkek toplam 25 hastanın; yaş ortalaması 29.44 ± 6.06 (range:21-43) idi. Tedaviye alınan hastaların tümünde (%100) HBsAg ve HBV-DNA, onbeşinde (%60) HBeAg, onunda (%40) Anti-HBe pozitif (Tablo-I). Hastaların tümünde transaminaz değerleri normalin en az 1,5 kat üzerinde idi.

Tablo-I: Hastaların Demografik Özellikleri

	Erkek	Kadın
Hasta Sayısı	23	2
Yaş Ortalaması	$28,44 \pm 5,14$	$41 \pm 2,83$
HBeAg Pozitifliği	13	2
Anti-HBe Pozitifliği	10	-
HBV-DNA Pozitifliği	23	2

Tedavi öncesi tüm hastaların HBV-DNA'sı pozitif. Tedavi bitiminde 17 (%68) hastada HBV-DNA negatifleşirken, 8 (%32) hastada pozitiflik devam etti. Hastaların tedavi öncesi ve tedavi bitiminde HBV-DNA'larının negatifleşmesi yönünden birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,0001$). Tedavi bitiminde 18 (%72) hastanın ALT düzeyleri normal değerlere indi (< 40 Ü/L). ALT düzeyleri normalleşen hastaların 17'sinde HBV-DNA negatifleşirken, bir hastada HBV-DNA pozitifliği devam etti. HBV-DNA'sı pozitif seyreden 7 hastanın ALT düzeyide yüksek idi. Tedavi bitiminden 6 ay sonra HBV-DNA'sı negatifleşen 17 hastanın 6'sında (%35) HBV-DNA yeniden pozitifleşti (relaps). Hastaların tedavi öncesi ve tedavi bitiminden 6 ay sonraki HBV-DNA'ların negatifleşmesi yönünden birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,001$). Ancak HBV-DNA'sı pozitifleşen bu hastaların 5'inde ALT seviyeleri normal düzeylerde devam etti (Tablo-II, Şekil-2)

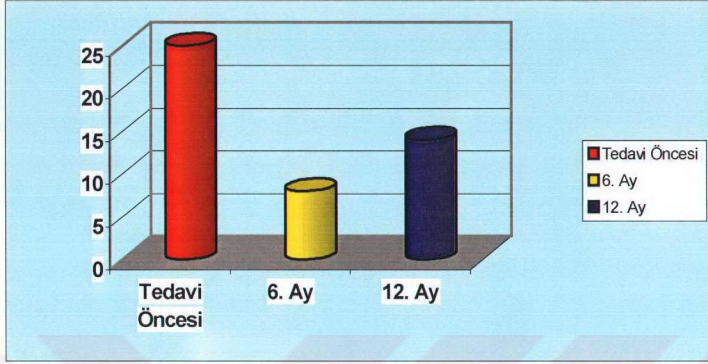
Tablo-II: Tedavi önce ve sonrası ALT, HBV-DNA değışiklikleri

Adı-Soyadı	Yaş	Cins	ALT*(U/L)	HBV-DNA**	ALT**	HBV-DNA#	ALT#
A.B	39	K	70	-	35	+	34
B.T	30	E	179	-	32	-	31
B.K	25	E	148	-	22	-	20
A.E	30	E	241	-	17	-	19
B.E	25	E	92	-	20	+	21
B.Ö	31	E	97	-	26	-	24
C.E	27	E	130	+	22	+	20
Ç.H	29	E	91	-	34	+	33
D.A	30	E	76	+	63	+	67
H.B	29	E	120	-	34	+	65
H.Y	25	E	60	-	37	+	62
H.F	32	E	100	-	22	-	22
H.D	33	E	133	+	142	+	144
İ.A	41	E	239	+	62	+	61
İ.Ç	30	E	65	-	34	-	33
İ.A	33	E	65	+	50	+	57
K.A	24	E	314	-	32	-	30
M.A	31	E	62	+	67	+	63
N.S	21	E	203	+	62	+	64
N.B	23	E	62	-	32	-	30
Y.İ	38	E	71	-	28	-	25
Y.A	22	E	161	-	15	-	17
Y.G	22	E	170	+	284	+	270
S.E	43	K	118	-	21	+	20
S.B	23	E	90	-	34	-	35

* Tedaviden önceki değerler

Tedaviden bitiminden 6 ay sonraki değerler

** Tedavi bitimindeki değerler

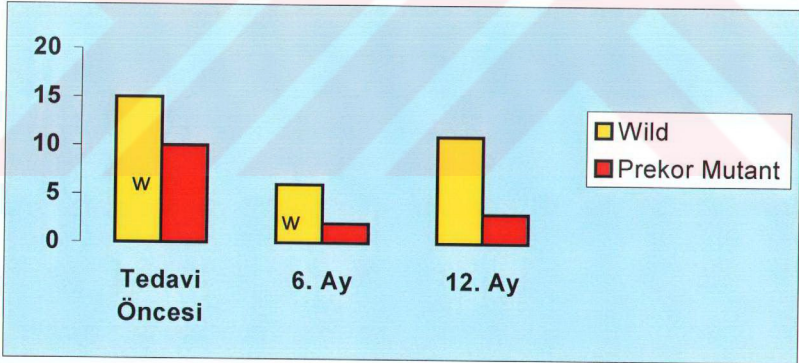


Şekil-2: Tedavi öncesi, 6. ay ve 12. ay'lardaki HBV-DNA pozitifliği

Tedavi bitiminde ve takip sonucunda hiçbir hastada HBsAg/anti-HBs serokonversiyonu oluşmadı. Tedavi öncesi 15 hastada HBeAg pozitifliği (%60) bulunmaktaydı (wild tip). Tedavi bitiminde Wild tip enfeksiyonlu 15 hastanın 9 (%60)'unda HBV-DNA negatif olup, 10 hastada (%66) HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu gelişti. Tedavi bitiminden 6 ay sonra ise wild tip enfeksiyonlu hastaların 5'inde HBV-DNA tekrar pozitifleşti. Sadece 4 (%26,7) hastada tedavi bitiminden 6 ay sonra HBV-DNA negatifliği mevcut idi (Tablo-III,V, şekil 3). HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu gelişen hastalarda tedavi bitiminden 6 ay sonra yeniden HBeAg pozitifleşmesi görülmeydi. Tedavi öncesi ve tedavi bitiminde HBeAg negatifleşmesi birbirleriyle karşılaştırıldığında azalma görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.061$; Fisher's Exact Chi-Square).

Tedavi öncesi 10 hastada (%40) anti-HBe pozitifliği (prekor mutant) vardı. Tedavi bitiminde bu hastaların %80'inde (8 hasta) HBV-DNA negatifleşti. Tedavi bitiminden 6 ay sonra ise, 1 hastada HBV-DNA yeniden pozitifleşti (relaps). Yedi hastada (%70) tedavi bitiminden 6 ay sonra HBV-DNA negatifliği mevcut idi. (Tablo- III, V, şekil 3).

Wild tip enfeksiyonlu hastalar ile prekor mutant suşlu hastaların tedavi bitiminde HBV-DNA'ların negatifleşmesi yönünden aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.402$; Fisher's Exact Chi-Square). Tedavi bitiminden 6 ay sonra wild tip enfeksiyonlu hastalar ile mutant suş enfeksiyonlu hastaların HBV-DNA'larının negatifleşmesi yönünden birbirleriyle karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.049$; Fisher's Exact Chi-Square).



Şekil-3: Tedavi öncesi, 6. ay ve 12. ay'daki, wild ve prekor mutant suş'lu hastalarda HBV-DNA pozitifliği

Tablo-III: Tedavi öncesi ve tedavi bitiminde HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu

Adı-Soyadı	HBeAg*	Anti-HBe*	HBeAg#	Anti-HBe#
A.B	+	-	-	+
B.T	-	+	-	+
B.K	+	-	-	+
A.E	-	+	-	+
B.E	+	-	-	+
B.Ö	-	+	-	+
C.E	+	-	-	+
Ç.H	+	-	-	+
D.A	+	-	+	-
H.B	-	+	-	+
H.Y	+	-	+	-
H.F	+	-	-	+
H.D	-	+	-	+
İ.A	-	+	-	+
İ.Ç	+	-	-	+
İ.A	+	-	+	-
K.A	-	+	-	+
M.A	+	-	-	+
N.S	+	-	+	-
N.B	-	+	-	+
Y.İ	-	+	-	+
Y.A	-	+	-	+
Y.G	+	-	+	-
S.E	+	-	-	+
S.B	+	-	-	+

* Tedavi Öncesi

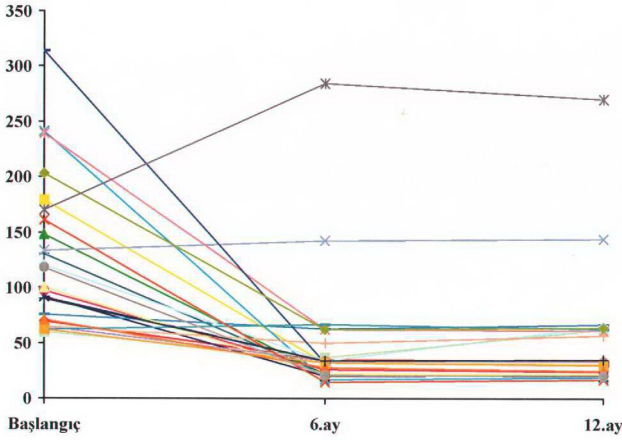
Tedavi Sonrası

Tedavi öncesi hastaların ALT düzeyi normalin üst sınırının en az 1.5 kat üzerindeydi. Tedavi bitiminde 18 hastanın (%72) ALT seviyesi normal düzeylerde bulundu. ALT düzeyleri normal seviyeye düşen hastaların 17'sinde (%68) HBV-DNA negatifti. Sadece 1 hastada HBV-DNA pozitifliği devam etmekte idi.

Tedavi öncesi hastaların ALT ortalaması $126.28 \pm 66,99$, tedavi bitiminde ALT ortalaması 49.08 ± 55.45 olarak bulundu. Tedavi öncesi ve tedavi bitimindeki ALT düzeyleri birbirleriyle karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.0001$; Wilcoxon test). Tedavi bitiminden 6 ay sonraki ALT ortalaması ise 50.96 ± 53.40 idi. Tedavi öncesi ile tedavi bitiminden 6 ay sonraki ALT düzeyleri birbirleriyle karşılaştırıldığında da aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.0001$; Wilcoxon test) (Tablo II, Şekil 4). Tedavi sonrası ve tedavi bitiminden 6 ay sonraki ALT düzeyleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulundu ($r: 0.955$, $p < 0.0001$; Wilcoxon test)

ALT düzeyi normale düşen hastaların 10'unun tedavi öncesi HBeAg'si pozitif, 8'inin anti HBe'si pozitif (Tablo-IV). HBeAg'si pozitif hastalar ile anti-HBe'si pozitif hastalar tedavi bitiminde ALT'lerin normalleşmesi yönünden karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.659$; Fisher's Exact Chi-Square).

Tedavi bitiminden 6 ay sonra ise 16 (%64) hastada ALT normal seviyelerde devam ederken, sadece 2 hastada ALT yeniden yükseldi. Bu hastaların aynı zamanda HBV-DNA'ları da pozitif. ALT'si normal seviyelerde olan hastaların 11'inde HBV-DNA negatifken, 5'inde pozitif. Tedavi bitiminden 6 ay sonra ALT'si normal seviyede devam eden hastaların tedavi öncesi 9'unun HBeAg'si pozitif, 7'sinin ise anti-HBe'si pozitif (Tablo-IV). HBeAg'si pozitif hastalar ile anti-HBe'si pozitif hastalar tedavi bitiminden 6 ay sonra ALT'lerin normalleşmesi yönünden karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.691$; Fisher's Exact Chi-Square).



Şekil- 4: Tedavi öncesi, 6.ay ve 12. aydaki ALT değişiklikleri

Tedavi öncesi hastaların HAI ortalaması 7.1 ± 4.05 , tedavi bitiminden 6 ay sonraki HAI ortalaması ise, 4.8 ± 3.42 olarak bulundu. Tedavi öncesine göre sağlanan düşüş istatistiksel olarak anlamlı idi ($P < 0.01$; Wilcoxon test). On yedi hastada (%68) HAI' de en az 2 puanlık düşüş görüldü. HAI'de düşüş görülen hastaların ise 10'unu wild tip, 7'sini prekor mutant suş ile infekte hastalar oluşturmaktaydı. Üç (%12) hastada herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Bu hastaların ise 2'si wild tip, 1'i prekor mutant suş ile infekte hastalardı. Beş (%20) hastada tedavi öncesine göre HAI'de artış görüldü. Artış görülen hastaların 3'ü wild tip, 2'si prekor mutant suş ile infekte hastalardı (Tablo IV, V, Şekil-5).

Tedavi öncesi yapılan biyopsilerdeki fibrozis ortalaması 1.48 ± 1.23 iken, tedavi sonrası fibrozis ortalaması 1.08 ± 1.08 olarak bulundu. Yedi (%28) hastada tedavi öncesine göre fibroziste azalma görülmesine rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.093$; Wilcoxon test). Fibroziste azalma görülen hastaların 5'i wild tip, 2'si prekor mutant suş ile infekte hastalardı. On altı (%64) hastada herhangi bir değişiklik olmadı. Bu hastaların ise 10'u wild tip, 6'sı prekor mutant suşla infekte hastalardı.

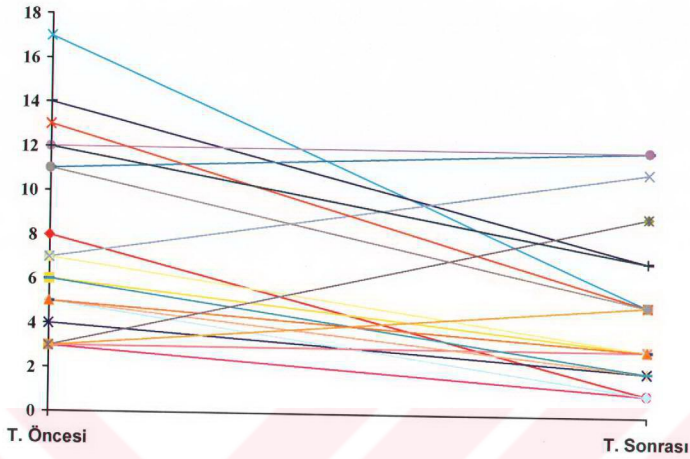
İki (%8) hastada tedavi öncesine göre fibroziste artış gözlemlendi. Fibrosizde artış görülen hastalar ise prekor mutant suş ile infekte hastalardan oluştu. (Tablo IV, V).

Tablo-IV: Tedavi önce ve sonrası Histolojik Aktivite İndeksi ve Fibrozis'deki değişiklikleri

Adı-Soyadı	HAİ ve Fibrozis*	HAİ ve Fibrozis#
A.B	8-1	1-0
B.T	6-0	3-0
B.K	5-0	3-0
A.E	17-3	5-3
B.E	4-0	2-0
B.Ö	3-0	1-0
C.E	3-1	3-1
Ç.H	14-4	7-1
D.A	11-3	12-3
H.B	5-3	1-0
H.Y	7-1	3-0
H.F	7-3	3-1
H.D	7-1	11-3
İ.A	3-1	3-0
İ.Ç	12-3	12-3
İ.A	5-3	2-1
K.A	5-0	3-1
M.A	6-1	2-1
N.S	3-1	9-1
N.B	3-1	5-1
Y.İ	5-1	3-1
Y.A	13-1	5-1
Y.G	3-1	9-1
S.E	11-1	5-1
S.B	12-3	7-3

* Tedavi Öncesi Değerler

Tedavi Sonrası Değer



Şekil-5: Tedavi öncesi ve tedavisonrası.HistolojikAktiviteİndeksindeki değişiklikler

Tablo-V: Wild tip ve prekor mutant suş'lu hastalarda çeşitli parametrelerdeki değişiklikler

PARAMETRELER	Wild Tip(n=15)		Prekor Mutant Tip(n=10)	
	6.ay	12.ay	6.ay	12.ay
HBV-DNA Pozitifliği	6(%40)	11(%73,3)	2(%20)	3(%30)
ALT Normalizasyonu	10(%66,6)	8(%53,3)	9(%90)	7(%70)
HAİ En Az 2 Puanlık Düşüş		10(%66,6)		7(%70)
HAİ Yükseliş		3(%20)		2(%20)
HAİ Sabit Kalan		2(%13,3)		1(%10)
Fibrozis, Azalan		5(%33,3)		2(%20)
Fibrozis, Sabit Kalan		10(%66,6)		6(%60)
Fibrozis, Artan		-		2(%20)

Ateş, tedavi sırasında en sık görülen yan etki idi. Ateş ile beraber en sık görülen yan etkiler ise titreme, baş ağrısı, halsizlik ve kas ağrısı gibi şikayetlerdi.

Tedavinin 4. ayında 1 hastamızda hipotiroidi gelişmesi üzerine hastaya spesifik tedavi başlandı. Bir hastamızda tedavinin 5. ayının sonuna doğru ağır depresyon ve intihar düşüncesi gelişmesi üzerine antidepresan tedavi başlandı. Bir hastamızda tedavinin 3. ayında pnömoni gelişti ve bu hastaya antibiyoterapi başlandı. 20 hastamızda tedavi sonunda ortalama 4.5 kg'a. varan kilo kaybı gözlemlendi. Tedavi sırasında gelişen yan etkiler ve görülme oranları Tablo- VI'da gösterilmiştir.

Tablo-VI: En sık gözlenen yan etkiler

Yan Etkiler	Sayı (%)
Ateş	23 (%92)
Halsizlik	20 (%80)
Kilo Kaybı	20 (%80)
Baş Ağrısı	17 (%68)
Miyalji	14 (%56)
İmpotans*	12 (%52)
Alopesi	9 (%36)
Sağ Hipokondriun Ağrısı	8 (%32)
Bulantı	6 (%24)
Uyku Bozukluğu	4 (%16)
İnjesiyon Yerde Eritem	4 (%16)
Kusma	2 (%8)
Depresyon ve İntihar Düşüncesi	1 (%4)
Hipotiroidi	1 (%4)
İnfeksiyonlar	1 (54)
Aritmi	1 (%4)

* Tedaviye alınan erkek hastalarda görülen etki

Tedavi sırasında hematolojik parametrelerde (lökosit, trombosit, hemoglobin) de değişiklikler gözlenmiştir. Bu değişiklikler Tablo-V'de gösterilmiştir. Bir hastamızda tedavinin 4. ayında lökosit sayısının $1000/\text{mm}^3$ 'ün altına düşmesi üzerine tedaviye 5

gün ara verip, bu süre içinde hastaya 1µg/kg/gün GM-CSF (Granülosit Monosit-Koloni Stimulan Faktör) uygulandı. Sonra tedaviye haftada 3 kez 5 MÜ IFN-α + 2x150 mg/gün Lamivudin ile devam edildi (Tablo-VII).

Tablo-VII: Hematolojik parametre ortalamalarındaki değişiklikler

Parametreler	A	1	2	3	4	5
Lökosit/mm ³	6650	3530-%47	3100-%53	3375-%49	3410-%48	4520-%32
Trombosit/mm ³	205 bin	145bin-%29	128bin-%37	117bin-%42	121bin-%41	141bin-%31
Hemoglobin mg/dl	15.3	14.8-%3	14-%8	13.6-%11	13.1-%14	13.4-%12

A: Tedavi öncesi ortalama değerler

1: Birinci, 2: İkinci, 3: Üçüncü haftadaki ortalama değerler ve tedavi öncesine göre düşüş oranı

4: Üçüncü aydaki, 5: Altıncı aydaki ortalama değerler ve tedavi öncesine göre düşüş oranları

V. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde KHB gelişmiş olguların tedavisinde denenen hiç bir ajan ile tatminkar sonuçlar alınamamıştır. KHB tedavisinde ilk onaylanmış ilaç IFN- α dır (x,c). KHBVİ'nin tedavisinde; ALT yüksekliği (>100 Ü/L), HBeAg ve HBV-DNA'nın pozitif ve titresinin düşük olması (<200 pg/ml), karaciğer biyopsisinde orta veya şiddetli inflamatuvar aktivite görülmesi, HBVİ süresinin kısa olması ya da olgunun anamnezinde Akut HBVİ'nin varlığı, cinsiyetin kadın olması, eşlik eden renal yetmezlik, otoimmün hastalık ya da HIV enfeksiyonu gibi hastalıkların bulunmaması, IFN- α 'ya olan yanıtı olumlu yönde etkilemektedir (K3,V32,28). IFN- α ile yapılan çalışmalarda uzun süreli kalıcı cevap ancak %25-40 oranında değişmektedir (x,c).

Bu kalıcı cevap oranını arttırabilmek için IFN- α ile bir çok ilaç kombinasyonları denenmiştir. Bu kombinasyonlar içinde en çok IFN- α ve bir NA olan LAM ile yapılan kombinasyonlar ümit verici görülmektedir. IFN- α +LAM kombinasyonunda bir immünomodülatör ile bir antiviralin birlikte kullanımının aditif ve/veya sinerjistik etki yaparak uzun süreli cevap oranını arttıracığı düşünülmektedir (d).

Çalışmamızda, wild suş ile infekte hastalarda tedavi başarısının izlenmesinde HBV-DNA, HBeAg, ALT düzeyleri ve histopatolojik değişim, prekor mutant suş ile infekte hastalarda ise HBV-DNA, ALT ve histopatolojik değişim, kriter olarak kullanıldılar. Altı aylık kombinasyon tedavisinin bitiminde HBV-DNA (+), ALT düzeyi yüksek olan hastalar tedaviye cevapsız, tedavi bitiminde HBV-DNA (-), ALT düzeyi normal olan hastalar kısmi cevap alınmış, tedavi bitiminden 6 ay sonra ise, HBV-DNA (-), ALT düzeyi normal olan hastalar tam cevap alınmış olarak kabul edilmiştir.

Tedavi başlangıcında 25 hastanın tümünün HBV-DNA'sı pozitif bulunmuştur. Tedavi bitiminde 17(%68) hastada HBV-DNA negatifleşirken, 8 (%32) hastada pozitiflik devam etmiştir. Hastaların tedavi öncesi ve tedavi bitiminde HBV-DNA'larının negatifleşmesi yönünden birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,0001$). Tedavi bitiminden 6 ay sonra HBV-DNA'sı negatifleşen 17 hastanın 6 (%35)'sında HBV-DNA yeniden pozitifleşmiştir (relaps). Hastaların tedavi öncesi ve tedavi bitiminden 6 ay sonraki HBV-DNA'ların negatifleşmesi yönünden birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarında

istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,001$). Tedavi bitiminden 6 ay sonra ise hastaların 11(%44)'de HBV-DNA negatif bulundu.

Tedavi öncesinde HBV-DNA'sı pozitif olan hastaların 15(%60)'inin HBeAg'si pozitif, 10(%40)'nun anti-HBs'si pozitif olarak belirlenmiştir. Tedavi bitiminde mutant suş ile infekte 10 hastanın 8(%80)'inde, Wild tip infeksiyonla infekte 15 hastanın 9(%60)'da HBV-DNA negatif olarak bulundu. Wild tip infeksiyonlu hastalar ile mutant suş ile infekte hastaların 6.ayda HBV-DNA'larını negatifleşmesi yönünden karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.402$). Tedavi bitiminden 6 ay sonra, Wild tip suş ile infekte hastaların 5'inde HBV-DNA yeniden pozitifleşirken, sadece 4 hastada HBV-DNA negatifliği devam etti. Wild tip suşla infekte hastaların tedavi bitiminden 6 ay sonraki HBV-DNA negatifleşme oranı % 26,7 (4/15) bulundu. Prekor mutant suş ile infekte hastaların sadece 1'inde HBV-DNA yeniden pozitifleşirken, 7 hastada HBV-DNA negatifliği devam etti. Prekor mutant suş ile infekte hastaların tedavi bitiminden 6 ay sonraki HBV-DNA negatifleşme oranı %70 (7/10) bulundu. Tedavi bitiminden 6 ay sonraki wild tip suş ile infekte hastalar ile prekor mutant suş ile infekte hastaların HBV-DNA'larının negatifleşmesi yönünden karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.049$).

Daha önce çeşitli doz ve aralıklarla sadece IFN- α kullanan hastalar ile yapılan çalışmalarda HBV-DNA negatifleşme oranı, 61 hastalık bir çalışmada %23, 23 hastalık bir çalışmada %26, 33 hastalık bir çalışmada %70, 837 hastalık çalışmada %37 bulunurken, diğer iki çalışmada ise %33 ve %43 bulunmuştur (81,101,94,16,15). Haftada beş gün 5 MÜ IFN- α ile 6 ay süre ile yapılan diğer bir çalışmada ise, 6. Ayın sonunda HBV-DNA negatifleşmesi %76 bulunurken, 6 aylık takiplerin sonunda %68 bulunmuştur (92).

Daha önce tedavi kullanmamış hastalarda sadece LAM ile yapılan çalışmalarda; 51 hastalık bir çalışmada 25mg, 100mg ve 300mg LAM 6 ay boyunca verilmiş, altı ayın sonunda sırasıyla %58, %93 ve %88 oranında HBV-DNA negatifleşmesi görülmüştür (64). Tedavi bırakıldıktan sonra ise, tüm hastalarda HBV-DNA yeniden pozitifleşmiştir. Diğer bir çalışmada 358 hastaya bir yıl süreyle 100 mg LAM verilmiş ve tedavi sonunda % 98 oranında HBV-DNA negatifleşmesi görülmüştür (52). Bir diğer çalışmada, 137 kişilik hasta grubunda 1 yıl süreyle LAM 100 mg verilmiş, 1 yılın sonunda HBV-DNA %44 oranında negatifleşmiştir (43).

Dünyada IFN- α + LAM kombine tedavisi alan hastalarla yapılan çalışma çok olmamakla birlikte, daha önce IFN- α tedavisine cevap verdiği halde nüks gelişen hastalarda yapılan 52 hastalık bir çalışmada 6 ay süresince haftada üç kez 9 MÜ IFN- α + LAM 100 mg/gün 2 yıl süreyle verilmiş, bir yılı tamamlayan 37 hastada %75 HBV-DNA negatifliği bulunmuştur (4). Nüks gelişen hastalarda yapılan diğer bir çalışmada ise, 20 hastaya 16 hafta boyunca haftada 3 kez 10 MÜ IFN- α + LAM 2x100 mg/gün verilmiş, tedavi sonrası tüm hastalarda HBV-DNA negatifleştiği halde, 6 aylık takip sonucunda, 19 hastada HBV-DNA yeniden pozitifleşmiştir (63). Bugüne kadar daha önce hiç tedavi almamış KHB'li hastalarda IFN- α +LAM kombine tedavisi çalışmasına rastlanmamıştır. Sadece devam eden bir çalışmada 17 hastaya 6 ay süre ile haftada 3 kez 10 MÜ IFN- α ve IFN ile başlayarak LAM 150 mg/gün 2 yıl süre ile verilmesi planlanmıştır. Bir yıllık tedavi sonunda HBV-DNA negatifleşmesi %71 olarak bulunmuştur (3).

Haftada beş gün 5 MÜ IFN- α ile 6 ay süresince yapılan bir çalışmada tedavi bitiminde wild tip hastaların %70'inde HBV-DNA negatifleşirken, takipler sırasında nüks görülmemiştir. Yine aynı çalışmada prekor mutant virüs ile infekte hastaların 6.ayda %77 HBV-DNA kaybı görülürken, takipler sırasında 1 hastada relaps görülmüştür (92).

Yapılan diğer bir çalışmada, Prekor mutant virüs ile infekte bulunan 124 hastaya 1 yıl süreyle LAM 100 mg/gün verilmiş, tedavi sonunda %64 oranında cevap elde edilmesine rağmen tedavi sonrası 6 aylık takipte tedaviye cevap oranı %16'ya düşmüştür (44).

Literatürde tek başına IFN- α 'nın değişik doz ve sürelerde kullanılması ile elde edilen HBV-DNA negatiflik oranları oldukça değişkendir (%26-%76). Hasta gruplarının tam olarak standardize edilemeyişi, IFN- α dozunun ve kullanım süresinin farklılığı, günlük veya haftada 3 kez kullanıma sıklığı gibi faktörlerin değişik çalışmalarda farklı olması nedeni ile tek başına IFN- α 'nın HBV-DNA'yı negatifleştirme oranlarını kıyaslamak mümkün olamamaktadır. Buna karşın, tek başına IFN- α tedavisinin kalıcı cevap oranı düşük ve tek başına LAM tedavisinde nüks oranı (yeniden HBV-DNA pozitifleşmesi) yüksek olduğu için IFN- α +LAM kombinasyonu daha akılcı görülmektedir. Kalıcı cevap oranını arttırmak için tedavi

süresi uzatılabilir. Bu konuda devam eden çalışmaların sonuçları yayınlandıkça tedavi süresi, doz hakkında daha detaylı bilgilere sahip olabileceğimiz kanaatindeyiz.

Çalışmamızda, tedavi öncesi 15 (%60) hastada HBeAg pozitifliği bulunmaktaydı. Tedavi bitiminde bu hastaların 10(%66)'unda HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu gelişti. Serokonversiyon gelişen hastalarda tedavi bitiminden 6 ay sonra yeniden HBeAg pozitifleşmesi görülmeydi. Tedavi sonrası HBeAg pozitifliği oranı tedavi öncesine göre azalmasına rağmen, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.061$).

IFN- α ile yapılan çalışmalarda HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu oranları %15-61 arasında olup çok değişken bulunmuştur (VH,Bb).

LAM ile yapılan çeşitli çalışmalarda ise HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu % 17-33 arasında bulunmuştur (43,44).

IFN- α +LAM kombinasyonu ile yapılan çalışmalarda ise, tedaviye dirençli vakalarda yapılan bir çalışmada, 20 hastanın 4'ünde (%20) HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu gelişmiş, diğer bir çalışmada ise, HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu % 12 olarak bulunmuştur (63).

Çalışmamızda görülen HBeAg/anti-HBe serokonversiyon oranı literatürde görülen oranlardan daha yüksek bulunmuştur. Bu oran tek başına IFN- α veya tek başına LAM ile elde edilen oranlardan daha ümit verici görülmektedir.

Tedavi öncesi hastaların ALT düzeyi normalin ($<40\text{Ü/L}$) en az 1.5 kat üzerindeydi. Tedavi bitiminde 18 hastanın (%72) ALT seviyesi normal düzeylerde bulunuyordu. Tedavi öncesi hastaların ALT ortalaması 126.28 ± 66.99 , tedavi bitiminde ALT ortalaması 49.08 ± 55.45 olarak bulundu. Tedavi öncesi ve tedavi bitimindeki ALT düzeyleri birbirleriyle karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.0001$). ALT düzeyleri normal seviyeye düşen hastaların 17'sinde HBV-DNA negatifti. Sadece 1 hastada HBV-DNA pozitifliği devam etmekte idi.

ALT düzeyi normale düşen hastaların 10'unun tedavi öncesi HBeAg'si pozitif, 8'inin anti-HBe'si pozitifti. HBeAg'si pozitif hastalar ile anti-HBe'si pozitif hastalar 6.ayın sonunda ALT'lerin normalleşmesi yönünden karşılaştırıldığı zaman aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.659$).

Tedavi bitiminden 6 ay sonra ise 16 (%64) hastada ALT normal seviyelerde devam ederken, sadece 2 hastada ALT yeniden yükseldi. Bu hastaların aynı zamanda HBV-DNA'ları pozitif idi. Tedavi bitiminden 6 ay sonraki ALT ortalaması ise 50.96 ± 53.40 idi. Tedavi öncesi ile tedavi bitiminden 6 ay sonraki ALT düzeyleri birbirleriyle karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.0001$). Tedavi sonrası ve tedavi bitiminden 6 ay sonraki ALT düzeyleri birbirleriyle karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak pozitif korelasyon bulundu ($r: 0.955$, $p < 0.0001$).

ALT'si normal seviyelerde olan hastaların 11'inde HBV-DNA negatifken, 5'inde pozitif idi. Tedavi bitiminden 6 ay sonra ALT'si normal seviyede devam eden hastaların tedavi öncesi 9'unun HBeAg'si pozitif, 7'sinin ise anti-HBe'si pozitif idi. HBeAg'si pozitif hastalar ile anti-HBe'si pozitif hastalar tedavi bitiminden 6 ay sonra ALT'lerin normalleşmesi yönünden karşılaştırıldığı zaman aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p = 0.691$). Son yıllarda HBV-DNA pozitifliğine rağmen transaminaz değerlerinin normal sınırlarda devam etmesi tedavide başarı kriteri olarak kabul edilmektedir (89).

Haftada beş kez 5 MÜ IFN- α ile yapılan 6 aylık bir çalışmada sonucunda ALT normalizasyonu tedavi bitiminde %72 bulunmuştur (VHD). Haftada 3 kez 4.5 MÜ IFN- α ile 6 ay yapılan çalışmada tedavi sonunda ALT normalizasyonu %60 bulunmuştur (15). Yine haftada 3 kez 4,5 MÜ IFN- α ile yapılan 6 aylık bir çalışmada ise %38 bulunmuştur (16).

Sadece LAM ile yapılan bir çalışmada, günde 100 mg LAM 1 yıl verilmiş, tedavi bittikten 4 ay sonra ALT normalizasyonu %41 bulunmuştur (43). Diğer bir çalışmada LAM 100mg/gün üç yıl verilmiş, 3 yılın sonunda ALT normalizasyonu % 49 bulunmuştur (44). İnterferon tedavisi başarısız olunan hastalarla yapılan bir çalışmada, 52 hafta LAM 100mg/gün verilmiş, tedavi sonunda ALT normalizasyonu %44 bulunmuştur.

İnterferon tedavisine başarısız olunan 52 hastalık bir çalışmada, 8 hafta LAM 100mg/gün daha sonra 16 hafta boyunca aynı dozda LAM ilaveten haftada 3 kez 10 MÜ IFN- α uygulanmış, 52 hafta sonunda ALT normalizasyonu %18 bulunmuştur

Daha önce hiç tedavi almamış hastalarda devam eden bir çalışmada hastalara 6 ay haftada 3 kez 10 MÜ IFN- α ve IFN- α ile başlamak üzere 2 yıl LAM

100 mg verilmesi planlanmış, 1 yılı bitiren hastalarda ALT normalizasyonu %82 olarak bulunmuştur (3)

Çalışmamızda 6 aylık tedavi bitiminde ALT normalizasyonu total olarak %72, tedavi bitiminden 6 ay sonra ise total olarak %64 olarak bulunmuştur. Bu oranlar literatürle uyumlu görülmektedir. Ancak IFN- α 'nın doz ve süresinin standardize edilmemiş olması nedeni ile sonuçları sağlıklı olarak kıyaslamak mümkün olmamaktadır. Tek başına LAM kullanılan çalışmalarda ise bu oranlardan daha düşük olarak bulundu. IFN- α + LAM kombinasyonu ile yapılan çalışma sayısı oldukça kısıtlı ve çalışma sonuçları henüz yayınlanmadığından sağlıklı bir kıyaslama yapmak mümkün olmamaktadır.

Çalışmamızdaki hastaların HAI'de tedavi sonrasında, tedavi öncesine oranla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş saptandı ($p<0.01$). On yedi hastada (%68) HAI' de en az 2 puanlık düşüş görüldü. HAI'de düşüş görülen hastaların ise 10'u wild tip, 7'sini prekor mutant suş ile infekte hastalar oluşturmaktaydı. 3 (%12) hastada herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Bu hastaların ise 2'si wild tip, 1'i prekor mutant suş ile infekte hastalardı. Beş (%20) hastada tedavi öncesine göre HAI'de artış görüldü. Artış görülen hastaların 3'ü wild tip, 2'si prekor mutant suş ile infekte hastalardı.

Sadece IFN- α ile 6 ay süresince haftada 3 kez 4,5 MÜ ile yapılan iki ayrı çalışmada, HAI'de %48'lik ve %62'lik bir düzelme bildirilmiştir (15,16).

Sadece LAM ile yapılan iki ayrı çalışmada Hilde %52'lik bir düzelme bildirilmiştir (43).

Tedaviye dirençli hastalarda IFN- α + LAM kombine tedavisi ile yapılan başka bir çalışmada ise, Hilde %32 lik bir iyileşme görülmüştür.

Çalışmamızda histopatolojik aktivitelerin azalma oranı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bizim bulduğumuz bu oran (%68) literatürdeki oranlardan biraz daha yüksek görülmektedir. Histopatolojik düzelmenin daha iyi değerlendirilebilmesi için kontrol biyopsilerinin tedavi bitiminden en az 4-5 yıl sonra yapılması önerilmektedir (61).Çalışmamızda kontrol biyopsileri daha geç yapılabilseydi bu oranlar daha sağlıklı değerlendirilebilmesi mümkün olabilecekti.

Tedavi öncesi yapılan biyopsilerdeki fibrozis ortalaması 1.48 ± 1.23 iken, tedavi sonrası fibrozis ortalaması 1.08 ± 1.08 olarak bulundu. Yedi (%28) hastada tedavi öncesine göre fibrozis de azalma görülmesine rağmen bu istatistiksel olarak

anlamli bulunmadı ($p=0.093$). Fibroziste azalma görülen hastaların 5'i (%33.3) wild tip, 2'si (%20) prekor mutant suş ile infekte hastalardı. 16 (%64) hastada herhangi bir değişiklik olmadı. Bu hastaların ise 10'u (%66.6) wild tip, 6'sı (%60) prekor mutant suşla infekte hastalardı. İki (%8) hastada tedavi öncesine göre fibrozis de artış gözleendi. Fibroziste artış görülen hastaların ise, prekor mutant suş ile infekte hastalardan oluşmuştu.

Tek başına IFN- α ile yapılan çalışmalarda fibroziste herhangi bir azalma görülmemiştir (15,16). Sadece LAM ile yapılan çalışmada fibroziste %11'lik bir azalma görülmüştür (66).

Tek başına IFN- α ile yapılan çalışmalarda fibroziste azalma görülmediği olağandır. Ancak tek başına LAM kullanılan bir çalışmada %12 oranında fibroziste bir gerileme ve IFN- α +LAM kullanılan çalışmamızda ise fibroziste %28 oranında bir azalma görülmüştür.

KHBVİ'nun tedavisinden amaçlanan nihai hedef, HBsAg/anti-HBs serokonversiyonudur. Çalışmamızda hiçbir hastada HBsAg/anti-HBs serokonversiyonu görülmez iken; Perillo ve ark. IFN- α ile HBsAg kaybını, 85 kişilik çalışma grubunda 10 olguda (%12) belirlemişler, 43 kişilik kontrol grubunda ise hiçbir hastada bu bulguyu saptayamamışlardır (70). Bu oran çeşitli çalışmalarda %4-24 olarak verilmiş ve izlem süresinin 3 yıla kadar uzatılması ile %65'lere çıkabileceği bildirilmiştir (65,81,101). Çalışmamızda HBsAg/Anti-HBs serokonversiyonunun gözlenmemesinin olası nedeni; tedavi sonrası izlem süremizin altı ayla sınırlı kalması, buna karşın tedaviye yanıt veren hastalarda HBsAg/Anti-HBs serokonversiyonunun, genellikle tedavinin bitiminden sonraki ilk bir yıl içinde ve hastaların %10-15'inde görülmesi olabilir (72).

IFN- α + LAM kombinasyonu ile tedavi sırasında en çok karşılaştığımız yan etkiler; ateş (%92), halsizlik (%80), baş ağrısı (%68), miyalji (%56) sağ hipokondriyum ağrısı (%32)'dir. Hastaların yalnızca birinde (%4) hipotiroidi gelişmesi üzerine spesifik tedavi başlandı. Bir hastamızda lökosit sayısının $1000/\text{mm}^3$ ün altına düşmesi nedeniyle tedaviye 5 gün ara verilip, bu süre içinde $1\mu\text{g/kg/gün}$ GM-CSF uygulandı. Sonra tedaviye haftada 3 kez 5 MÜ IFN- α + 2×150 mg/gün LAM ile devam edildi. Yine 1 (%4) hastada ağır depresyon ve intihar düşüncesi gelişmesi nedeniyle

5. ayın sonuna doğru antidepresan tedavi başlandı. Diğer yan etkiler ya geçici ya da hafif özellikte olup, doz ayarlaması ve ilacın kesilmesini gerektirmemiştir. Yapılan bir çalışmada IFN- α verilen hastalardan yalnızca %9'unda halsizlik nedeniyle doz ayarlamasına gereksinim duyulmuş ve yalnızca bir hastada bu yan etki nedeniyle ilaç kesilmiştir. Bu tedavi grubunda psikiyatrik yan etkiler %17 oranında bildirilmiş ve 0çoğunlukla önceden bir psikiyatrik bozukluğun varlığı ile ilişkili bulunmuştur (79).

Bizim çalışmamızda ağır depresyon ve intihar düşüncesi görülen hastada da, tedavi öncesi zeminde bir psikopatolojinin varlığı, psikiyatri konsültasyonu ile ortaya konulmuştur. Bu veriler, IFN- α tedavisi sırasında ortaya çıkabilecek psikiyatrik yan etkiler için önceden mevcut psikopatolojinin önemli bir predispozisyon olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda oluşan yan etkiler tek başına IFN- α kullanılan çalışmalarla benzer bulunmuş, LAM bağlı önemli bir yan etki görülmemiştir.

Sonuç olarak;

1) Çalışmamız KHBVİ'lu naive (daha önce hiç tedavi almamış hasta) hastalarda yapılan ilk çalışmalardandır.

2) Çalışmamızda 6.ayın sonunda; HBV-DNA negatifleşmesi % 68, ALT normalizasyonu %72 bulunmuştur.

3) Çalışmamızda tedavi bitiminden sonraki altı aylık takip sonunda HBV- DNA negatifleşmesi %44, ALT normalizasyonu %64, HAI'de en az iki puanlık düşüş %68 olarak bulunmuştur.

4) KHBVİ'lu hastalar günlük 5 MÜ İFN- α +LAM 2x150 mg/gün kombine tedavisini iyi tolere etmişlerdir. Bu kombinasyonlarda oluşan yan etkiler tek başına IFN kullanılan çalışmalarla benzer bulunmuştur.

5) Kalıcı cevap oranını arttırabilmek ve/veya değerlendirebilmek için daha uzun süreli tedavi rejimlerine ve daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

VI.ÖZET

Bu çalışmada; biyokimyasal, immünolojik ve histopatolojik olarak HBV nedenli Kronik Aktif Hepatit (KAH) olduğu belirlenmiş ve daha önce hiçbir tedavi kullanmamış (naive), yaşları 21-43 arasında değişen 2'si kadın, 23'ü erkek toplam 25 hastaya uygulanan IFN- α 2b 5MÜ/gün, subkutan+LAM 2x150 mg/gün, oral kombine tedavisine yanıtların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Tedavi bitiminde 17 (%68) hastada HBV-DNA negatifleşirken, 8 (%32) hastada pozitiflik devam etti ve bu negatifleşme oranı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,0001$). Tedavi bitiminde HBV-DNA'sı negatifleşen 17 hastanın 11'inde (%44) tedavi bitiminden 6 ay sonra da HBV-DNA negatifliği devam etti ($p<0,001$). Altısında (%35) HBV-DNA yeniden pozitifleşti (relaps). Ancak HBV-DNA'sı pozitifleşen bu hastaların 5'inde ALT seviyeleri normal düzeylerde devam etti.

Wild tip ile infekte olan 15 hastanın 10'nunda (%66) tedavi bitiminde HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu gelişti. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.061$). Tedavi bitiminden 6 ay sonra yeniden HBeAg pozitifleşmesi görülmedi.

Tedavi bitiminde ve takip sonucunda hiçbir hastada HBsAg/anti-HBs serokonversiyonu oluşmadı.

Tedavi bitiminde 18 hastanın (%72) ALT seviyesi normal düzeylerde bulundu ($p<0.0001$). Tedavi bitiminden 6 ay sonra ise 16 (%64) hastada ALT normal seviyelerde devam ederken ($p<0.0001$), sadece 2 hastada ALT yeniden yükseldi.

Onyed hastada (%68) HAI'de en az 2 puanlık düşüş görüldü. HAI'deki bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.01$).

Yedi (%28) hastada tedavi öncesine göre fibrozisde azalma görülmesine rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.093$).

Çalışmamızda, tedavi sırasında ciddi bir yan etki gözlenmedi.

Sonuç olarak IFN- α +LAM kombine tedavisi alan hastalarda, bu tedavi oldukça emniyetli ve güvenilir bulunmuş, %64'lik biyokimyasal, %44 virolojik ve %68'lik histolojik yanıt elde edilmiştir.

VII.SUMMARY

EVALUATION OF SAFETY AND EFFICACY OF LAMIVUDINE PLUS INTERFERON THERAPY IN PATIENTS IN CHRONIC HEPATITIS B

The aim of the recent study was to evaluate the efficacy (virological, biochemical and histological response) and safety of therapy with IFN- α 2b 5MÜ, daily subcutaneous + LAM 150 mg bid, orally in naive patients with HBV related Chronic Active Hepatitis (CAH-B) and previously untreated (native) patients. Eligible patients were included 2 women and 23 men, aged 21 to 43 years.

Seventeen patients (68%) became HBV-DNA negative by PCR and 8 still HBV-DNA positive at the end of therapy. The Ratio of HBV negativity was statistically significant ($p<0,0001$). HBV-DNA negativity was seen in 11 patients (%44) at 6 months after the end of therapy ($p<0,001$). In 6 whose HBV-DNA became positive (relaps), their ALT levels were in normal range.at 6 months after the end of therapy.

HBeAg/anti-HBe seroconversion occurred in 10 of 15 (66%) patients infected with wild type virus at the end of therapy and at 6 months after but, this difference was not significant, statistically ($p=0,061$).

HBsAg clearance was not seen in any patient neither at the end of therapy nor at 6 months the end of therapy.

ALT levels were normal in 18 patients (72%) at the end of the therapy ($p<0,0001$) and remained normal in 16 patients (64%) at 6 months after the end of therapy ($p<0,0001$).

At least two-point reduction in HAI was found in 17 patients (68%) according to liver biopsies of pre and post treatment ($p<0,01$). And also reduction in fibrosis was seen in 7 patients (28%), but not statistically significant ($p=0,093$). In our study, there was no serious sideeffect.

In conclusion, this study showed that IFN- α +LAM combination therapy in patients with HBV related CAH-B resulted in a significant virological (44%), biochemical (64%) and histological (68%) responses and has been found rather safe and well-tolerated.

VIII. KAYNAKLAR

1. Adriana, R.M., Daryl, T.Y., Robin, M.K., Stephen, E.S., Hoofnagle, J.H.: Combination Therapy with Famciclovir and Interferon- α for the Treatment of Chronic Hepatitis B, *The Journal of Infections Diseases*, 178: 1483 - 7, 1998
2. Akarca, U.S. : Kronik B ve Delta Hepatitinde Kombine Tedaviler, III. Ulusal Hepatoloji Kongresi, 40 - 41, 1999
3. Akarca, U.S.: Kronik B ve Delta hepatitinde kombine tedaviler, III. Ulusal hepatoloji kongresi, İstanbul, 41 – 42, 1999.
4. Akarca, U.S., Yılmaz, M., Ersöz, G., Karasu, Z., Günşar, F., Batur, Y.: Interferon plus lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B with and without HBeAg who relapsed after interferon treatment, *J. Hepatology*, 30 (suppl 1): 135, 1999.
5. Almeida, J.D., Rubenstein, D., Stott, E.J.: New Antigen-Antibody System in Australia Antigen Positive Hepatitis. *Lancet*, 2:1225-1227, 1971.
6. Arauz-Ruiz, P., Norder, H., Visona, K.A., Magnusius, L.O.: Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Central America reflected in the genetic variability of small gene, *JID*, 176: 851 – 818, 1997.
7. Aşar, E.: Kronik B ve Delta hepatitinde ekstra hepatik tutulumlar, III. Ulusal hepatoloji kongresi, 22 –23, 1999-08-26.
8. Aye, T.T., Bartholomeusz, A., Shaw, T., Bowden, S., Breschkin, A., McMillan, J., Angus, P., Locarnini, S.: Hepatitis B virus polymerase mutations during antiviral therapy in a patient following liver transplantation, *J. Hepatology*, 26: 1148 – 1153, 1997.
9. Badur, S.: Hepatit B virüsü (HBV), Moleküler biyoloji ve serolojik tanı, *Viral hepatit 94*, (Ed) Kılıçturgay, K., İstanbul, Nobel kitapçevleri, 65 – 90, 1994.
10. Badur, S.: Hepatit B Virüsü-Moleküler Viroloji ve Serolojik Tanı. *Viral Hepatit' 94*, (Eds) Kılıçturgay, K. *Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 1994, 65-90.
11. Balık, İ.: Hepatit B epidemiyolojisi, *Viral hepatit 94*, (Ed) Kılıçturgay, K., 1. baskı , İstanbul, Nobel tıp kitapçevleri, 91 – 101, 1994.

12. Balık, İ.: İnterferonların tedavide kullanımı, Viral Hepatit 98, (Ed) Kılıçturgay, K., Viral hepatitle savaşım derneği yayınları, 108 – 109, 1998.
13. Balık, İ.: İnterferonların tedavide kullanımı, Viral Hepatit 98, (Ed) Kılıçturgay, K., Viral hepatitle savaşım derneği yayınları, 110 – 111, 1998.
14. Balık, İ.: Hepatit B Epidemiyolojisi. Viral Hepatit' 94, (Eds) Kılıçturgay, K. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 1994, 91-101.
15. Beker, CM.: İnterferon alfa tedavisi kullanan kronik aktif hepatit B'li hastalarda HBV-DNA'nın niceliksel ölçümünün değerlendirilmesi, GATA, Beker, CM., Tez, 31 – 39, 1997.
16. Beşirbellioğlu, AB., Gül, HC., Eyigün, CP., Hacıbektaşoğlu, A., van Thiel.: İnterferon therapy of Turkish patients with chronic hepatitis B virus infections, Hepatogastroenterology, 46 (25): 387 – 390, 1999.
17. Brahmans, D.: Deaths in US fialuridine trials, Lancet 343: 1494 – 1495, 1994.
18. Brunetto, M.S., Oliveri, F., Colombatto, P.: Treatment of Chronic Anti-HBe Positive Hepatitis B with IFN- α . J.Hepatol., Sup. No, Vol 22, 42-44, 1995.
19. Carloni, G., Collaca, S., Delfini, C.: Detection of HBV Infectivity by Slot Hybridization in HBeAg Negative Chronic Carriers: HBV-DNA in Sera of Asymptomatic and Symptomatic Subjects. J.Med.Virol., 21:15, 1987.
20. Chu, C-M., Shyu, W-C., Kuo, R-W.: HLA Class I Antigen Display on Hepatocyte Membrane in Chronic HBV Infection: Its Role in the Pathogenesis of Chronic Type B Hepatitis. Hepatology, 7:1311, 1987.
21. de Man, RA., Schalm, SW., Main, J., Thomas, HC., Fevery, J., Nevens, F., Staley, H.: A dose ranging study to determine the antiviral activity and safety of lamivudine in patients with chronic hepatitis B infection , Gut, 34: S5, 1993.
22. Dianzani, F., Antonelli, G., Capobianchi, MR.: The biological basis for the clinical use of interferon, J. Hepatology, 5 – 10, 1990.
23. Di Bisceglie, AM.: Long term outcome of interferon alpha therapy for chronic hepatitis B, J. Hepatology, 22 (suppl.1): 65-7, 1995.
24. DiBisceglie, A.M., Waggoner, J.G., Hoofnagle, J.H.: HBV-DNA in Liver of Chronic Carriers: Correlation with Serum Markers and Changes Associated with Loss of HBsAg after Antiviral Therapy. Gastroenterology, 93:1236-1241, 1987.
25. Dudley, F.J., Fox R.A., Sherlock, S.: Cellular Immunity and Hepatitis Associated (Australia) Antigen Liver Disease. Lancet, i:743, 1972.

26. Eddleston, ALWF. and Dixon, B.: Interferons in the treatment of chronic viral infection of the liver , 1. edit, UK, Pennie press, 1990.
27. Fattovich, G., Giustina, G., Brollo, L., Guido, M., Pontisso, P., Noventa, F., Alberti, A.: Therapy for chronic hepatitis B with lymphoblastoid interferon alpha and levamisole, *Hepatology*, 16: 1115 – 1119, 1992.
28. Ganem, D.: Hepadnaviridae and their replication, *Fields Virology*, (Eds) Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., 3 rd. Ed. Lippincott, Raven Press, 2703 – 2737, 1996.
29. Gerber, M.A., Thung, S.N.: The PreS2 Region of Hepatitis B Virüs; More Questions than Answers. *Hepatology*, 9:238, 1989.
30. Gilson, RJC., Chopra, K., Murray – Lyon, I., Newell, A., Nelson, M., Teder, RS., Toole, T., Jaffe, HS., Hellmann, N., Weller, IVD.: A placebo controlled
31. Hadziyannis, S., Vissoulis, C., Moussourous, A.: Cytoplasmic Localization of Australia Antigen in the Liver. *Lancet*, I:976, 1972.
32. Harrison,T.J.: HBV-DNA in Peripheral Blood Leukocytes: A Brief Review. *J.Med.Virol.*, 31:33, 1990.
33. Hayden, FG.: Antiviral agents, *Principles and Practice of Infectious Diseases* (Eds) Mandell, GL., Bennet, JE., Dolin, R., 4th edition, New York, Churchill Livingstone, 411 – 437, 1995.
34. Hess, G., Kreiter, F., Kusters, W., Deusch, K.: The effect of granulocyte macrophage colony stimulating factor on hepatitis B vaccination in haemodialysis patients, *J. Viral Hepatitis*, 3: 149 – 153, 1996.
35. Hoofnagle, J.H. : Therapy of Viral Hepatitis, *Digestion*, 59: 563-578, 1998.
36. Hoofnagle, J.H., Dabisceghe, A.M.: The Treatment of Chronic Viral Hepatitis. *N.Eng.J.Med.*, 38:577 - 93, 1997.
37. Holliger, FB.: Hepatitis B virus, *Virology*, (Eds) Fields, BN., Knipe, DM., 2nd edition, New York, Raven Press, 2171 – 2238, 1990.
38. Honkoop, P., Niesters, HG., de Man, RA., Osterhaus, AD., Schalm, SW.: Lamivudine resistance in immunocompetent chronic hepatitis B incidence and patterns, *J. Hepatology*, 26: 1393 – 1395, 1997.
39. Hu, K-Q., Yu, C-H., Vierling, J.M.: Direct Detection of Circulating HCV RNA Using Probes from the 5' Untranslated Region. *J.Clin.Invest.*, 89:2040, 1992.

40. Ikeda, K., Saitoh, S., Suzuki, Y., et al.: Interferon decreases hepatocellular carcinogenesis in patients with cirrhosis caused by the hepatitis B virus: a pilot study, *Cancer*, 82: 827 – 835, 1998.
41. Ikeda, T., Lever, A.M.L., Thomas, H.C.: Evidence for a Deficiency of Interferon Production in Patients with Chronic HBV Infection Acquired in Adult life. *Hepatology*, 6:962, 1986.
42. Karayalçın, S.: Kronik Hepatit B ve C'de Tedavi, *Güncel Gastroenteroloji*, 1: 76-77, 1997.
43. Karayalçın, S.: Kronik Hepatit – B'de nükleozid analogları ile tedavi, III. Ulusal hepatoloji kongresi, 34 - 35, 1999.
44. Karayalçın, S.: Kronik Hepatit – B'de nükleozid analogları ile tedavi, III. Ulusal hepatoloji kongresi, 35 - 36, 1999.
45. Karayalçın, S.: Kronik Hepatit B ve C'de Tedavi, *Güncel Gastroenteroloji*, 1: 77 – 78, 1997.
46. Kaymakoglu, S.: Kronik B hepatitinde Interferon tedavisi, III. Ulusal hepatoloji kongresi, 25 - 7, 1999.
47. Kılıçturgay, K.: Hepatit B virüsünde (HBV) mutasyon ve getirdiği sorunlar, *Viral Hepatit Dergisi*, 1: 1 – 7, 1995.
48. Kıyan, M.: HBV İnfeksiyonu, (Ed) Kılıçturgay, K., *Viral Hepatit* 98, 68-69, 1998
49. Kıyan, M.: HBV İnfeksiyonu, *Viral Hepatit* 98, (Ed) Kılıçturgay K., *Viral hepatitle savaşım derneği yayınları*, 70 - 71, 1998.
50. Krogsgaard, K.: HBV-DNA in Serum. *Applied Molecular Biology in the Evaluation of Hepatitis B Infection*. *Liver*, 8:257, 1988.
51. Kuhns, M., McNamara, A., Mason, A.: Serum and Liver HBV-DNA in Chronic Hepatitis B after Sustained Loss of Surface Antigen. *Gastroenterology*, 103: 1649-1656, 1992.
52. Lai, CL., Chinen, RN., Leung, NW., Chang, TT., Guan, R., Tai, DI., Ng, KY., Wu, PC., Dent, JC., Barber, J., Stephenson, SL., Gray, DF.: Asia Hepatitis Lamivudine for chronic hepatitis B, *N. Engl. J. Med.*, 339: 61 – 68, 1998.
53. Lai, C.L., Lok, A.S.F., Lin, H.J.: Placebo-controlled Trial of Recombinant Alpha-2 Interferon in Chinese HBsAg Carrier Children. *Lancet*, 2:877-880, 1987.

54. Lau, JYN., Wright, TL.: Molecular virology and pathogenesis of hepatitis B, *Lancet*, 342: 1335 – 1340, 1993.
55. Lau, DTY., Everhart, J., Kleiner, DE., et al.: Long term follow up of patients with chronic hepatitis B treated with interferon alfa, *Gastroenterology*.
56. Lee, WM.: Hepatitis B virus infection, *N. Engl. J. Med.*, 337: 1733 – 1745, 1997.
57. Lok ASF. Treatment of chronic hepatitis B . Viral hepatitis A to F: an update . AASLD postgraduate course , Chicago, 22 – 28, 1994.
58. Mistık, R., Balık, İ.: Viral Hepatitle Savaşım Derneği Raporu, 1998.
59. Miller, R.H., Robinson, W.S.: Hepatitis B Viral DNA Forms in Infected Liver. *Virology*, 137:390-399, 1984.
60. Milich, DR., Sallberg, M., Maruyama, T.: The humoral immune response in acute and chronic hepatitis B virus infection *Sprinter Semin, Immunopathol*, 17: 149 – 166, 1995.
61. Monjardino, J., Velosa, J., Thomas, H.C.: Serum HBV-DNA Detected by PCR in Dot Blot Negative HBV Chronic Carriers with Acute Liver Disease. *J.Hepatol.*, 13:44, 1991.
62. Moraes, MT., Gomes, SA., Niel, C.: Sequence analysis of pre S/S gene of hepatitis B virus strains of genotypes A, D and F isolated in Brasil, *Arch Virol*, 141: 1767 – 1773, 1996.
63. Mutimer, D., Naoumov, N., Honkoop, P., Marinos, G., Ahmed, M., de Man, R., McPhillips, P., Johnson, M., Williams, R., Elias, E., Schalm, S.: Combination alpha interferon and lamivudine therapy for alpha interferon resistant chronic hepatitis B infection, *J. Hepatology*, 28: 923 – 929, 1998.
64. Nevens, F., Main, J., Honkoop, P., Tyrrell, DL., Barber, J., Sullivan, MT., Fevery, J., De Man, RA., Thomas, HC.: Lamivudine therapy for chronic hepatitis B : a six month randomized dose ranging study, *Gastroenterology*, 113: 1258 – 1263, 1997.
65. Neurath, A.R., Jameson, B.A., Huima, T.: Hepatitis B Virüs Proteins Eliciting Protective Immunity. *Microbiol. Sci.*, 4:45, 1987.
66. Nicolaos, CT., Riccardo, V., Giuseppe, P., Jenny, H., Maria, H., Maria, B., et al.: Efficacy of lamivudine in patients with hepatitis B e antigen negative/hepatitis B virus DNA positive (Precore Mutant) chronic hepatitis B, *hepatology*, 29: 889 – 896, 1999.

67. Niderau, C., Heintges, T., Lange, S., et al.: Long term follow up of HBeAg positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B, N. Engl. J. Med., 334: 1422 – 1427, 1996.
68. Ökten, A.: B tipi viral hepatit, Viral hepatit 1994, (Ed) Kılıçturgay, K., Nobel kitapevi, Viral hepatitle savaşıım derneği, 107 – 114, 1994.
69. Perrilio, R.P., Mason, A.L.: Therapy for hepatitis B virus infection, Gastroenterology .Clin.North. Am., 23: 581 – 601, 1994.,
70. . Perrillo, R.P., Regenstein, F.G., Peters, M.G.: Prednisone Withdrawal Followed by Recombinant Alpha Interferon in the Treatment of Chronic Type B Hepatitis: A Randomized, Controlled Trial. Ann.Intern.Med., 114:629-634, 1991.
71. Perrillo, R.P., Schiff, E.R., Davis, G.L.: A Randomized, Controlled Trial of Interferon Alpha-2b alone and after Prednisone Withdrawal, in the Treatment of Chronic Hepatitis B. N.Eng.J.Med., 323:295-301, 1990.
72. Perez, V., Findor, J., Tanno, H., Sorda, J.: A Controlled Trial of High-dose Interferon, alone and following Prednisone Withdrawal, in the Treatment of Chronic Hepatitis B: Long-term Follow Up. Gut, 8:32 (suppl), 1992.
73. Petit, M.A., Zoulin, F., Berthillon, P.: PreS1 Antigen-Antibody Patterns Following Interferon Therapy in Acute and Chronic Hepatitis B. J.Hepatol., 20:47, 1994.
74. Pol, S., Couillin, I., Michel, M.L., Driss, F., Nalpas, B., Carnot, F., Berthelot, P., Brechot, C.: Immunotherapy of chronic hepatitis B by anti HBV vaccine, Acta Gastroenterology Belg., 61: 228 – 233, 1998.
75. Rasi, G., Mutchnick, M.G., Di Virgilio, D., Sinibaldi – Allebona, P., Colella, F., Favalli, C., Garaci, E.: Combination low dose lymphoblastoid interferon and thymosin alpha 1 therapy in the treatment of chronic hepatitis B, J. Viral Hepatitis 3: 191 – 196, 1996.
76. Robinson, W.S. : Hepadnaviridae: Hepatitis B virus and hepatitis delta virus. Principles and Practice of Infectious Disease, (Eds) Mandell, G.L., Bennett, J.E., Douglas, R.G. Fourth Edition, Vol. 1. New York, Churchill Livingstone Inc. 1204 – 1231, 1995.
77. Robinson, W.S. : Hepadnaviridae and their replication. Fundamental Virology, (Eds) Fields, B.N., Knipe, D.M. 2 nd. Ed. New York, Raven Press Ltd. 989 – 1022, 1991.

78. Robinson, WS.: Hepatitis B virus and Hepatitis D virus, Principles and Practice of Infectious Diseases (Eds) Mandell, GL., Bennet, JE., Dolin, R., 4th edition, New York, Churchill Livingstone, 1406 – 1439, 1995.
79. Robinson, W.S.: Hepatitis B Virüs and Hepatitis D Virüs. Principles and Practice of Infectious Diseases, (Eds) Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R. Fourth Edition, Vol.2. New York, Churchill Livingstone Inc. 1995, 1406-1439.
80. Rogers, et al. Hepatitis B virus: Clinical disease, Viral hepatitis, (Ed) Richard, AW., 1. Edit, New York, Marcel Dekker, 134 – 146, 1997.
81. Ruiz-Moreno, M., Rua, M.J., Molina, J.: Prospective, Randomized Controlled Trial of Interferon Alpha in Children with Chronic Hepatitis B. Hepatology, 13: 1035-1039, 1991.
82. Saracco, G and Rizzetto, M.: A practical guide to the use of interferons in the management of hepatitis virus infections, Drugs, 53: 74 – 85, 1997.
83. Schweitzer, I.L., Dunn, A.E.F., Peters, R.L.: Viral Hepatitis in Neonates and Infants. Am.J.Med., 55:762, 1973.
84. Schwartz, MN.: Mitochondrial toxicity New adverse drug effects, N. Engl. J. Med., 17: 1146 – 1148, 1995.
85. Scullard, G.H., Pollard, R.B., Smith, J.L.: Antiviral Treatment of Chronic HBV Infection. Changes in Viral Markers with Interferon Combined with Adenine Arabinoside. J.Infect.Dis., 143:772-783, 1981.
86. Serter, D. : Hepatit Virüsleri ve Viral Hepatitler: Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 175 – 206, 1997
87. Severini, A., Liu, X.Y., Wilson, J.S., Tyrrell, D.L.: Mechanism of inhibition of duck hepatitis B virus polymerase by (-) - beta-L-2', 3'-dideoxy-3'-thiacytidine, Antimicrob Agents Chemotherapy, 39: 1430 -1435, 1995.
88. Smedile, A., Bergmann, K.F., Baroudy, B.M.: Riboprobe Assay for HDV RNA: A Sensitive Method for the Detection of the HDV Genome in Clinical Serum Samples. J.Hepatol., 30:20, 1990.
89. Solko, WS., Tekla, GJ.: Goal of antiviral therapy: Viral clearance or ALT normalization, J. Hepatology, suppl:1, 1998
90. Şentürk, H.: Kronik viral hepatit tedavisi, Günümüzde virüs hepatitleri, (Ed) Yücel, A., Tabak, F., Bulaşıcı hastalıklarla savaşım derneği, 2.baskı, 73 – 87, 1998.

91. Takano, S., Omata, M., Yokosuka, O.: Effects of Antiviral Agents on Chronic Hepatitis B: Analysis Using Cox Proportional Hazard Model. *Dig.Dis.Sci.*, 37:1633-1643, 1992.
92. Taşova, Y., Saltoğlu, N., Erbudak, Ö., Aksu, H.S.: Kronik Hepatit B infeksiyonlarında interferon tedavisi, *Viral hepatit dergisi*, 1: 46 – 50, 1998.
93. The world healthy report 1996: fostering development world healthy forum, 18: 1-8, 1997
94. Theilmann, L., Salfeld, J., Kommerell, B., Pfaff, E.: Detection of Antibodies to Proteins Encoded by the X Region of Hepatitis B Virüs in Sera of Patients with Chronic Hepatitis B Virüs Infection: Correlation with Other Hepatitis B Virüs Markers. *Hepatogastroenterol.*, 3:35, 1988.
95. Thiollais, P., Pourcel, C., Dejean, A.: The hepatitis B virus , *Nature*, 317: 489 – 495, 1985.
96. Thomas, HC., Carman, WF.: Envelope andprecor/core variants of hepatitis B virus, *Viral hepatitis*, (Eds) Martin, PM, *Gastroenterol clin N. Amer.*, 23: 499 – 514, 1994.
97. Tipples, GA., Ma, MM., Fischer, KP., Bain, VG., Kneteman, NM., Tyrrell, DL.: Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo, *Hepatology* 24: 714 – 717, 1996.
98. Tong, M.J., Thursby, M., Rakelaj, A.: Studies of the Maternal-Infant Transmission of the Virüses which Cause Acute Hepatitis. *Gastroenterology*, 80:999, 1981.
99. Xiong, X., Flores, C., Gibbs, C., Toole, J.: Lack of cross resistance to PMEA for humman hepatitis B DNA polymerases which express lamivudine resistance codons, *Hepatology*, 26 (suppl): 431A, 1997.
100. van Thiel, DH., Friedlander, L., Kania, RJ., Molloy, PJ., Hassanein, T., Faruki, H.: A preliminary experience with GM – CSF plus interferon in patients with HBV and HCV resistant to interferon therapy, *J. Viral Hepatitis*, 4 (suppl 1): 101 – 106, 1997.
101. Wong, DKH., Cheung, AM., O'Rourke, K., et al.: Effect of alpha interferon treatment in patients with hepatitis B e antigene positive chronic hepatitis B: a meta analysis, *Ann Intern Med.*, 119: 312 – 323, 1993.
102. Wong, JB., Koff, SF., Tine, F., Pauker, SG.: Cost effectiveness of interferon alfa 2b treatment for hepatitis B e antigen positive chronic hepatitis B, *Ann Intern Med.*, 122: 664 – 675, 1995.

103. Wong, V.C., Ip, H.M., Reesink, H.V.: Prevention of the HBsAg Carrier State in Newborn Infants of Mothers Who Are Chronic Carriers of HBsAg and HBeAg by Administration of Hepatitis B Vaccine and Hepatitis B Immunglobulin. Lancet, 1:921-926, 1984.
104. Yenen, OŞ.: Hepatit B, Enfeksiyon Hastalıkları, (Ed) Wilke, TA., Söyletir, G., Doğanay, M., 1. baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 664 – 691, 1996
105. Yoakum, G.H., Korba, B.E., Lechner, J.R.: High Frequency Transfection and Cytopathology of HBV Core Antigen Gene in Human Cells. Science, 222:385-389, 1983.



DOKÜMANASYON MERKEZİ