

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

HBE ANTİJEN NEGATİF KRONİK HEPATİT B TANISI OLAN EN AZ 5 YIL LAMİVUDİN
TEDAVİSİ ALMIŞ VİRAL YANITLI HASTALARDA TEDAVİNİN KESİLMESİNİN ETKİLERİ

Dr. Sevil Özer Sarı

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Cihan Yurdaydın

ANKARA
2009

ÖNSÖZ

Dahiliye asistanlık eğitimim süresince eğitimime katkıda bulunan başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Selim Karayalçın olmak üzere tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerine

Tezimin planlama ve yürütülmesinde bana yol gösteren ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Cihan Yurdaydın'a

Tez çalışmam süresince bana desteklerini esirgemeyen Gastroenteroloji Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ramazan İdilman'a

Ayrıca Hepaloji polikliniği çalışanı Leyla Ağbulut' a teşekkürlerimi sunarım

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	V
ŞEKİLLER.....	VI
TABLolar.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Viroloji.....	4
2.2. Epidemiyoloji ve Bulaş Yolları.....	8
2.3. HBV Enfeksiyonun Doğal Seyri.....	10
2.3.1. Akut HBV Enfeksiyonu.....	11
2.3.2. Kronik Hepatit B Enfeksiyonu.....	11
2.3.2.1. HBeAg Negatif Kronik Hepatit B.....	12
2.3.3. Kronik HBV Enfeksiyonunun Komplikasyonları ve Hasta Prognozu....	14
2.3.3.1. Kronik HBV Enfeksiyonu ve Siroz.....	14
2.3.3.2. Kronik HBV Enfeksiyonu ve HSK.....	14
2.3.4. KHB Tedavisi.....	15
2.3.4.1. Antiviral Direnç.....	16
2.3.4.2. Lamivudin (Zeffix [®] , Eпивir [®]).....	16
3. HASTALAR VE YÖNTEM.....	19
3.1. Hastalar.....	19
3.1.1. Araştırmaya dahil olma kriterleri.....	19

3.1.2. Araştırmaya dahil olmama kriterleri.....	19
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1 Veri toplama.....	20
3.2.2. Biyokimyasal testler ve HBV-DNA ölçümü.....	20
3.2.3. Karaciğer biyopsisi.....	21
3.3. Tanımlar.....	21
3.4. İstatistiksel değerlendirmeler.....	21
4. BULGULAR.....	22
4.1 Hasta özellikleri.....	22
4.2 Tedavinin kesilmesinin etkileri.....	23
5. TARTIŞMA.....	28
6. ÖZET.....	31
7. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY).....	33
8. KAYNAKLAR.....	35
9. EKLER	
Ek 1.Etik kurul onayı	

SİMGELER VE KISALTMALAR

HBV : Hepatit B Virüsü

KHB : Kronik hepatit B

HSK : Hepatosellüler kanser

HBeAg : Hepatit B e (zarf) antijeni

HBsAg : Hepatit B s (yüzey) antijeni

antiHBe: Hepatit B e antijenine karşı antikor

antiHBs : Hepatit B s antijenine karşı antikor

antiHBc: Hepatit B c (kor) antijenine karşı antikor

IFN :İnterferon

HCV : Hepatit C virüsü

HDV : Hepatit D virüsü

HIV : İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü

ALT: Alanin aminotransferaz

AST : Aspartat aminotransferaz

ALP : Alkalen fosfataz

GGT : Gama glutamil transferaz

PTZ : Protrombin zamanı

NA : Nükleozid analogları

PCR :Polimeraz zincir reaksiyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
1.1. Kronik HBV enfeksiyonunda tanısal belirteçler.....	2
2.1. HBV'nin temel yapısı.....	4
2.2. HBV'nin yaşam siklusu.....	7
2.3. HBV enfeksiyonunun dünya üzerindeki dağılımı.....	9
2.4. Kronik hepatit B enfeksiyonunda yıllara göre lamivudin direnç insidansı.....	18
4.2. Lamivudin tedavisi kesildikten sonra aylara göre kümülatif nüks oranları.....	24

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. HBV' nin bulaşma yolları ve bulaşma yollarına göre risk grupları.....	9
4.1. Hastaların bazal demografik, klinik ve laboratuvar verileri.....	23
4.2.1. Nüks eden ve etmeyen hastaların sayıları ve oranları.....	23
4.2.2. Cinsiyet-nüks ilişkisi.....	25
4.2.3. Lamivudin tedavi süresi, yaş, HAI, IFN kullanımının nüks ile ilişkisi.....	26
4.2.4. Nüks eden ve etmeyen hastaların bazal biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması.....	27

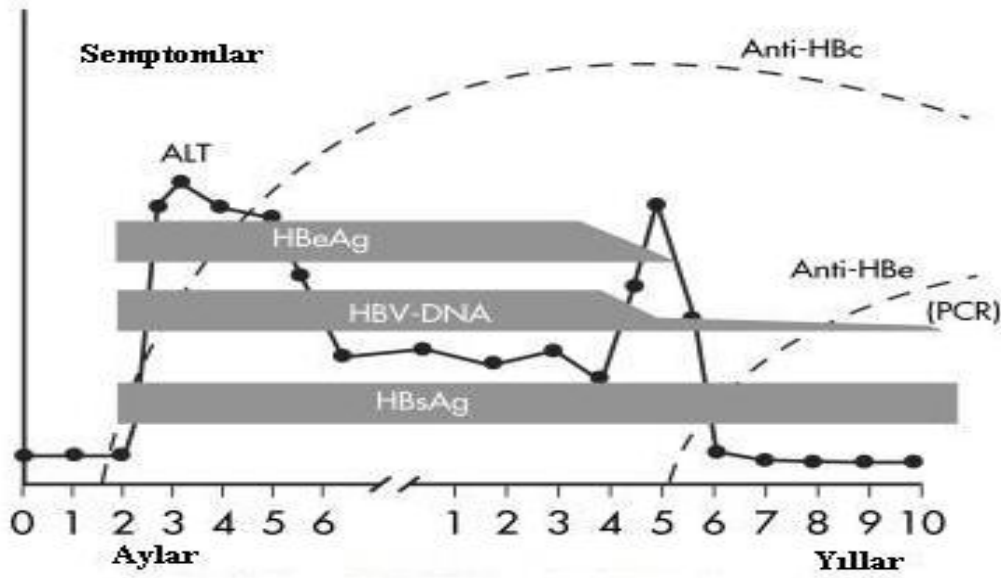
1. GİRİŞ

Hepatit B virüsü (HBV) ile enfeksiyon global bir sağlık sorunu olup, dünya çapında yaklaşık 2 milyar kişi bu virüsle enfektedir. Bunların 360 milyonu kronik hepatit B (KHB) hastası olup, her yıl 52.000 kişi akut B hepatit, 470.000 kişi ise HBV'ye bağlı siroz veya karaciğer kanseri nedeni ile ölmektedir. Primer karaciğer kanserleri ise en sık görülen kanserler arasında 6. sırada olup, primer karaciğer kanserlerinin %50'si KHB enfeksiyonu ile ilişkilidir.

Hastalığın doğal seyrine bakıldığında, perinatal veya erken çocukluk çağında gelişen enfeksiyonların %30-90'ında kronik enfeksiyon gelişmektedir. Erişkinlerde ise durum daha farklı olup, %95'inde doğal bağışıklık görülürken, yaklaşık %5'inde kronik enfeksiyon gelişmektedir. KHB'lerin bir kısmında inaktif taşıyıcılık durumu gelişebilir. Kronik hepatit B hastalarında yıllık siroz gelişme insidansı %2-10 arasındadır. Siroz gelişen hastaların her yıl %4'ünde dekompanzasyon, %2-8'nde ise hepatosellüler kanser (HSK) gelişmektedir ve %3'ü kaybedilmektedir.

KHB enfeksiyonunun; (1) immün tolerans, (2) HBeAg (Hepatit B virüs e antijeni) pozitif kronik hepatit (immün aktif), (3) inaktif HBsAg (Hepatit B virüs s antijeni) taşıyıcılığı (düşük replikatif veya non-replikatif) veya (4) HBeAg negatif kronik hepatit fazları vardır. İmmün tolerans fazda serumda HBsAg ve HBeAg saptanabilir. Serum HBVDNA düzeyi yüksektir. Serum aminotransferaz düzeyleri normaldir. İmmün aktif fazda ise serum HBVDNA düzeyi düşer, serum aminotransferaz düzeyleri yükselir. Bu fazda semptomlar ortaya çıkabilir ve aminotransferazlarda dalgalanmalar görülebilir. Bazı hastalarda bu alevlenmeler, HBeAg serokonversiyonu yani HBeAg'nin kaybolup antiHBe'nin ortaya çıkması durumu ile sonuçlanır. Düşük replikatif veya non-replikatif faz ise HBeAg serokonversiyonunu takip eder. Düşük serum HBVDNA düzeyleri mevcuttur. Serum aminotransferaz düzeyleri normaldir. HBV replikasyonu devam etmekle birlikte konak immün yanıtı ile birlikte çok düşük düzeylere kadar baskılanır. Bu duruma aynı zamanda inaktif taşıyıcılık durumu da denir. Bu fazı HBsAg'nin kaybolup antiHBs'nin oluşması yani HBV enfeksiyonunun rezolüsyonu izleyebilir.

İnaktif HBV taşıyıcılarının üçte birinde HBeAg reversiyonu olmadan kronik hepatit gelişebilir. Bu faz HBeAg negatif kronik hepatit fazıdır. HBeAg varlığı veya yokluğunun hastalığın doğal seyrini ve anti-viral tedaviye yanıtı etkilediği ileri sürülmektedir.



Şekil 1.1. Kronik HBV enfeksiyonunda tanısal belirteçler (Piccini & Nilsson: The Osler Medical Handbook, 2. edisyon'dan alınmıştır).

HBeAg negatif KHB enfeksiyonunun ülkemizde ve diğer Akdeniz ülkelerinde prevalansı yüksektir. Hastaların ortalama yaşı 36-45 olup, HBeAg pozitif KHB hastalarından daha ileri yaşta görülmektedir. Erkeklerde daha sıktır. HBeAg negatif KHB enfeksiyonunda HBsAg pozitif, antiHBc pozitif, HBeAg negatif ve serum HBVDNA düzeyleri ise saptanabilir düzeydedir. Serum aminotransferaz düzeyleri yüksek olup hepatik nekro-inflamasyon mevcuttur. Bu tipte HBeAg üretemeyen HBV varyantları ile enfeksiyon söz konusudur. Bu varyantların çoğunluğu pre-core ya da core mutasyonu geçirmiş olup, bu durum HBeAg translasyonunu önlemektedir. HBVDNA düzeyleri, HBeAg pozitif KHB enfeksiyonuna göre daha düşük düzeyde olmaya eğilimlidir. HBeAg negatif hastalarda klinik tablo üç farklı şekilde tariflenmiştir. 1) Serum aminotransferaz düzeylerinde ara ara normalleşmelerin olduğu tekrarlayan ataklar 2) Serum aminotransferaz yüksekliğinin ara ara yükseldiği, tekrarlayan ataklar ve 3) Devamlı serum aminotransferaz yüksekliği ile seyredenler. HBeAg negatif KHB hastalığı progresif olup karaciğer sirozu ve HSK görülme riski bulunmaktadır.

HBV, aşısı olmasına rağmen tam eradike edilememiş bir virüstür. İdeal anti-viral ajan henüz bulunmamaktadır. Bazı yeni anti-viral ajanlar değerlendirme aşamasındadır. Tedavide amaç kalıcı viral süpresyon ile birlikte biyokimyasal düzelme ve karaciğer histolojisinde iyileşmenin sağlanmasıdır. HBsAg'nin negatifleşmesini sağlamak ve antiHBs serokonversiyonu elde etmek oldukça güçtür.

Kronik HBV enfeksiyonu için ülkemizde onaylı anti-viral ajanlar olarak interferon (IFN), lamivudin, adefovir dipivoxil, entekavir, tenofovir disoproksil bulunmaktadır. IFN bir immün-modulator protein olup HBV enfeksiyonu tedavisinde için ilk onay alan ilaçtır. Uzun süreli bir tedavi gerektirmeyip tedavinin belli bir süreyi kapsaması ve ilaca karşı direnç gelişmemesi avantajı iken yan etki profili ve düşük kalıcı remisyon oranları bu ilacın kullanımı için dezavantaj oluşturmaktadır. Lamivudin, adefovir, entekavir, tenofovir disoproksil ve telbivudin viral replikasyonu önleyerek viral çoğalmayı baskılayan oral kullanımlı anti-viral ajanlardır. Bu ilaçlar iyi tolere edilir ve yan etki profilleri hemen hemen plaseboya benzerdir. Tedaviye zamanla direnç gelişimi, bu ilaçların önemli dezavantajlarıdır. Ayrıca HBeAg negatif KHB hastalarının bu oral anti-viraller ile tedavi süresini saptamak zor olup uzun süreli tedavi verilmesi önerilmektedir.

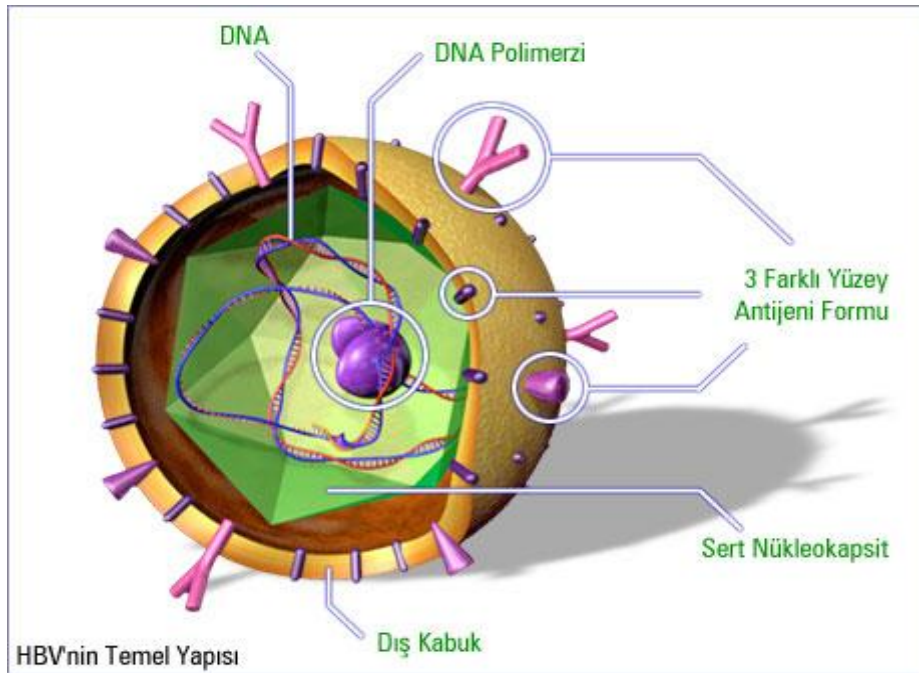
Sonuç olarak, HBV enfeksiyonu ülkemizde kronik karaciğer hastalığının en sık sebebi olup, önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Konağın immün yanıtı, hastalık seyrini etkilemektedir. HBV mutantları hastalığın doğal seyrini ve anti-viral tedaviye cevabı öngörmede önemlidir. Günümüze kadar elde edilen bilgilere rağmen HBeAg negatif KHB'nin doğal seyri halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle özellikle HBeAg negatif KHB'li hastaya yaklaşımda ve tedavi seçiminde henüz kabul edilmiş ortak bir yol mevcut değildir. Tedavide seçilecek ajan ve tedavi süresi halen tartışmalıdır.

Bu çalışmanın amacı en az 5 yıl süreyle tedavi almış HBeAg negatif kronik HBV'li ve viral yanıtı hastalarda ne kadar süreyle devam edileceği bilinmeyen lamivudin tedavisinin kesilmesinin ardından ortaya çıkacak etkilerin gözlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Viroloji

Hepatit B virüsü kısmen çift sarmallı dairesel bir DNA genomu içeren ikozohedral bir nükleokapsid özüne sahip, 42 nm çaplı, zarflı ancak eter dirençli bir viriondur¹ (Şekil 2.1). Hepadnavirüs grubunda yer alır, hepatotropik bir virüstür. Sadece 3200 nükleotidden oluşan genomik yapısı nedeni ile bilinen en küçük DNA virüsüdür. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde yaklaşık 42 nm çapında, küresel şekilde, ortada çekirdek (kor), etrafında zarf (yüzey antijeni) olan komplet virüs (Dane partikülü) veya sadece zarf proteininden oluşan içinde nükleik asit bulunmayan non-infektif küresel ve tübüler yapılar görülebilir. Kanda en fazla küresel şekilde yüzey antijeni (HBsAg) tespit edilir.^{2,3} İnfektif özelliğe sahip olan partikülü Dane partikülüdür.



HBV antijenik yapı bakımından en zengin virüstür. HBV'de genetik bilgi uzun sarmal üzerinde kodlanmıştır ve S, C, X ve P diye isimlendirilen 4 protein kodlayan nükleik asit dizisine sahiptir.²

Gen Bölgeleri:

- 1. C Gen Bölgesi :** C ve Pre-C genlerini içerir, HBcAg ve HBeAg'yi kodlar.
- 2. S Gen Bölgesi :** HBsAg determinantlarını (S, Pre-S 1 ve Pre-S 2) kodlar.
- 3. P Bölgesi :** DNA p'yi kodlar.
- 4.X Bölgesi :** HBxAg'yi kodlar (hepatosit gen aktivatörü?, hepatoma veya kronikleşme ile ilgili antijen?).

HBcAg: Hepatosit nükleusunda bulunur, serumda serbest halde saptanamaz. Antijenitesi çok güçlü olup, organizmada Anti-HBc gelişimine yol açar. Anti-HBc IgM, akut enfeksiyonda en erken beliren antikor olup, HBsAg/Anti-HBs serokonversiyonu döneminde, her ikisi de negatif iken (Pencere Fazı), hastanın akut HBV enfeksiyonu geçirdiğinin anlaşılmasını sağlar. Anti-HBc IgM, akut olgularda yüksek, bazı kronik olgularda ise düşük titrede bulunur. Serumda bu antikor negatif ise “olgu akut değildir” demek pratik olarak doğrudur.

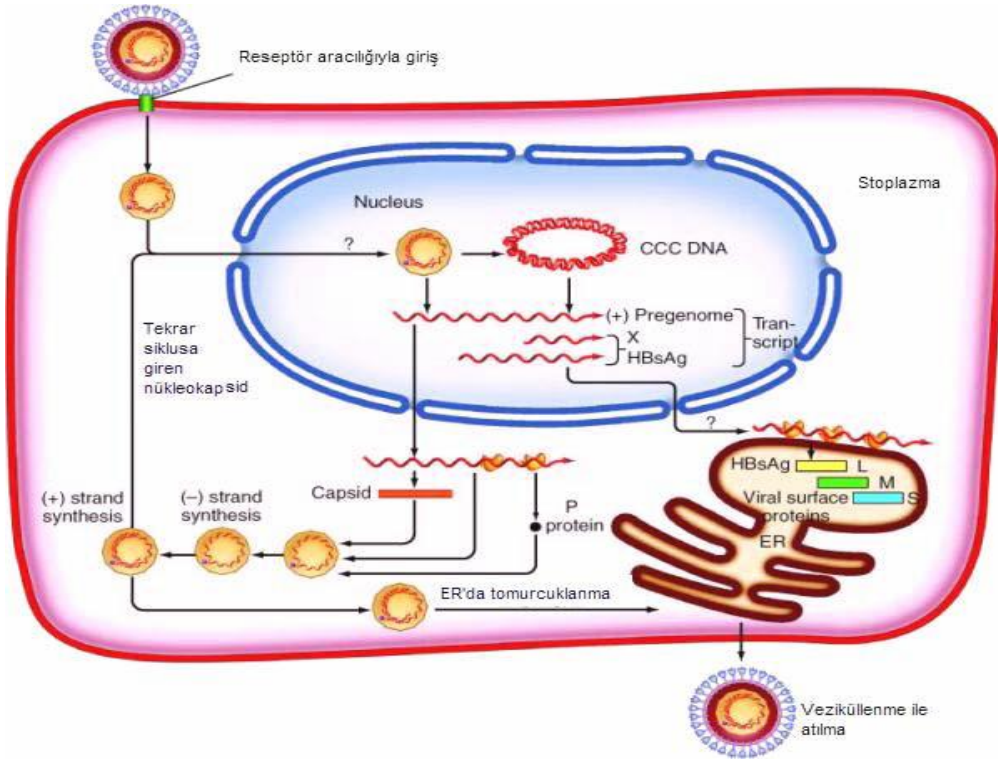
HBeAg: Yapısal bir Ag değil, HBcAg'nin hepatosit endoplazmik retikulumundaki yıkım ürünüdür. Viral replikasyon ve infektivite hakkında bilgi vermekle birlikte, kanıtı değildir. HBeAg (+) kan ile parenteral temas ile enfeksiyon gelişim şanssızlığı % 20-30 iken, Anti-HBe (+) olanda % 5 kadardır.

HBV DNA: Replikasyonun delili olarak kabul edilebilir. Viremi düzeyinin iyi bir belirteçidir.

HBsAg: HBV nükleokapsidini saran zarf antijenidir. HBsAg; üç farklı proteinden S Proteini, M Proteini ve Large Protein'inden oluşur.

Pre-S2: HBV, hepatosit yüzeyine Pre-S2 bölgesi ile bağlanarak enfeksiyonu başlatır. Pre-S2, replikasyon ile yakından ilişkilidir. Buna karşı gelişen Anti-Pre-S2 daha HBsAg negatifleşmeden önce belirlediği için, akut dönemde olunmasına karşın, kronikleşme riski olmayacağının en erken delilidir.

HBV'nin replikasyon döngüsü virusun hepatosite tutunması ile başlar. Zarfından sıyrılarak viral genom hepatosit içerisine girer. Hepatosit çekirdeğinde virion DNA polimerazı virion DNA'sının eksik ipliğini sentez eder ve çift iplikli kapalı çember şeklinde DNA oluşur. Oluşan DNA'nın hepatosit çekirdeği ile birleşerek sessiz kalan parçasına cccDNA adı verilir. Diğer DNA iplikçikleri hücre RNA polimerazı tarafından mRNA sentezi için kalıp olarak kullanılır. mRNA virus proteinlerinin sentezinde kullanılır. Ayrıca projeni DNA'sının negatif ipliği için kalıp görevi yapar. Daha sonra HBV projeni HBsAg içeren zarfı ile birlikte hücre zarından tomurcuklanarak hücreden ayrılır. Hastalığın tedavi sonrasında reaktivasyonundan esas sorumlu olan cccDNA'dır.^{4,5} HBV'nin viral genomunun uzun olan negatif zinciri üzerinden replikasyon yapan HBV cccDNA'sı, hepatosit nükleusunda çoğalmaya başlar. cccDNA'nın uzun bir yarı ömrü vardır ve burada hem mRNA üzerinden protein sentezi, hem de pregenomik RNA üzerinden nükleokapsid oluşumu sağlanır. RNA'nın reverse transkripsiyonu aracılığı ile replikasyon yapmasından dolayı çeşitli mutasyonlara maruz kalmaktadır ki bu da yaklaşık olarak 2×10^4 baz/bölge/sene'dir. Bu mutasyon oranı diğer DNA virüslerinden 100 kat daha fazladır.⁶ Bu mutasyonlar; prekor/kor mutasyonları: G1896A (stop kodon), A1762 ve G1764A (promotor) mutasyonları olarak bilinir ve HBeAg proteinin ekspresyonunu engellerler. Zarf mutasyonları: "a" determinantında görülür, aşılama antiHBs oluşamaz. Polimeraz mutasyonları: HBV polimeraz geninin C domaininin YMDD motif mutasyonları (M204V/I/S) ve M202I, M204I nokta mutasyonları; B domaininin L180M, V173L, A181V, S184G, I169T nokta mutasyonları; D domaininin N236T nokta mutasyonu ve E domaininin M250V nokta mutasyonu, çeşitli antiviral ilaçlara karşı oluşan nükleotid farklılıklarıdır. Bu mutasyonlarla ilaca karşı direnç gelişir.⁶ Ancak YMDD motif mutasyonları sadece ilaca bağlı olarak oluşmazlar, ilaç tedavisi almamış hastalarda da spontan gelişebilmektedirler.⁷



Şekil 2.2. HBV'nin yaşam siklusu

HBV genomları moleküler düzeyde incelenerek tanımlanmış 8 HBV genotipi mevcuttur. Bunlar A, B, C, D, E, F, G ve H genotipleridir. Bu genotiplerin de subgrupları tanımlanmıştır. Genotip tayini yapmak tedavi yanıtının ve hastalık seyrinin belirlenmesi açısından önemlidir. Bazı genotipler örneğin Ae, Bj, Aa, Ba, C ve D daha ciddi seyirli kronik HBV enfeksiyonuna yol açmaktadır ve HCC gelişme riski daha yüksektir. ⁸ Ülkemizde yapılan çalışmalarda dominant olarak D genotipi bulunmaktadır.⁹⁻¹¹ Genotiplerin coğrafi dağılımları şöyledir: Genotip A, Kuzeybatı Avrupa, Kuzey Amerika, Orta Afrika'da; Genotip B, Güneydoğu Asya, Çin, Japonya'da; Genotip C, Güneydoğu Asya, Çin, Japonya'da; Genotip D, Akdeniz Bölgesi (Türkiye), Güney Avrupa, Hindistan'da; Genotip E, Afrika'da; Genotip F, Amerikan Yerlileri, Orta ve Güney Amerika, Polinezya'da; Genotip G, A.B.D., Fransa'da, Genotip H, Orta Amerika'da görülür.²

Prekor ve kor bölgesindeki mutasyonlar Asya ve Avrupa toplumlarındaki HBeAg negatif KHB'lilerde %50-80 arasında bildirilmektedir. Bunlar sıklıkla D genotipinde gözlenirken A genotipinde oldukça seyrek olarak bulunmaktadır, çünkü D genotipindeki nükleotid dizileri

mutasyonlara uygunluk göstermektedir.¹² Tüm dünyada kronik hepatit B enfeksiyonunun büyük bir kısmı Asya ülkelerinde görüldüğü için en sık görülen genotipler genotip B ve genotip C'dir.

2.2. Epidemiyoloji ve Bulaş Yolları

HBV enfeksiyonu, önemli bir küresel sağlık problemi olup, tüm dünyada 2 milyar kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir. Bunlardan 400 milyonu kronik olarak enfekte olup tahminen yıllık 1 milyon kişi HBV ilişkili karaciğer hastalığından ölmektedir.¹³

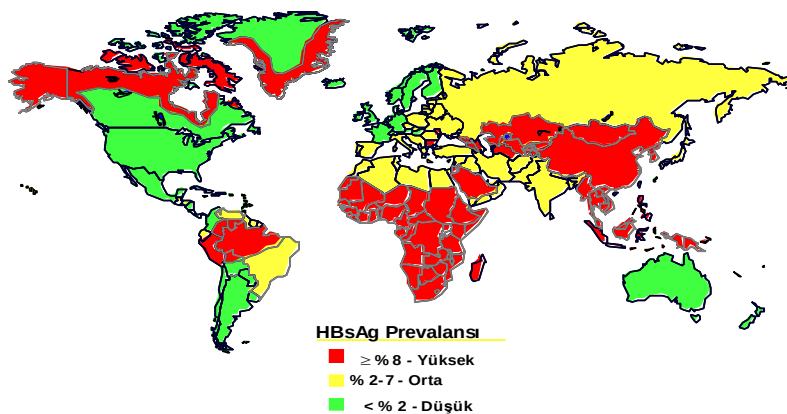
HBV, akut ve kronik hepatitin önemli nedenidir. HBV'nin endemik olduğu Afrika, Asya ve Akdeniz ülkelerinde yüksek oranda kronik HBV enfeksiyonuna rastlanılmaktadır. Dünya'da 400 milyona yakın HBV taşıyıcısı bulunmaktadır.

Esas bulaşma yolu perkütandır. Ayrıca seksüel yolla da bulaşabilir. Anneden çocuğa geçiş (vertikal), aile veya topluluk içi geçiş (horizontal) diğer önemli bulaş yollarıdır (Tablo 2.2). Ancak %40 vakada belli bir bulaş yolu bulunmamaktadır.

HBV endemisi dünyada 3 ayrı bölgeye ayrılır (Şekil 2.2). HBsAg sıklığının %2'den az olduğu "düşük endemi" bölgeleri: Batı Avrupa, Kuzey Amerika, Kuzey Avrupa ve Avustralya'dır. Bunlarda enfeksiyon erişkin yaşta alınır, bulaş cinsel yolla ve riskli gruplar: uyuşturucu alışkanlığı olanlar, homo ve heteroseksüellerdir. "Orta endemi" bölgeleri: Güney ve Doğu Avrupa, Güney ve Orta Amerika, Ortadoğu ve Japonya'dır. HBsAg sıklığı %2-10 arasındadır. Bulaş, daha çok çocukluk ve yeni doğan çağlarındadır. Riskli gruplar HBsAg pozitif ailelerin çocukları ve yeni doğanlardır. Temel bulaşım yolu horizontaldir. "Yüksek endemi" bölgeleri: Afrika, Güneydoğu ve Uzakdoğu Asya ile Pasifik adalarıdır. HBsAg sıklığı %10'dan daha fazladır. Temel bulaşım yolu vertikal daha sonra horizontaldir. Riskli gruplar ise yeni doğanlardır.²

Tablo 2.1. HBV' nin bulaşma yolları ve bulaşma yollarına göre risk grupları.

1-Perkutan (parenteral) bulaşma -Çoğul transfüzyon yapılan hastalar -Hemodiyaliz hastaları -Damar içi uyuşturucu bağımlıları ve dövme yaptıranlar -Sağlık personeli
2-Cinsel temasla bulaşma -Erkek eşcinseller ve çok partnerliheteroseksüeller -HBV taşıyıcılarının cinsel partnerleri
3-Vertikal bulaşma -HBV taşıyıcısı annelerin bebekleri
4-Horizontal bulaşma -Kötü hijyen ve düşük sosyoekonomik durum -Mental özürlüler



Şekil 2.3. HBV enfeksiyonunun dünya üzerindeki dağılımı

Türkiye’de HBV epidemiyolojisi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bunların sonucuna göre, ülkemizde yaklaşık 6,8 milyon sağlıklı kişide HBsAg pozitifliği vardır; antiHBs pozitifliği %30-40 arasında bulunmuştur. Bu sonuçlar ülkemizde HBV seropozitifliğinin %50’lere yakın olduğunu göstermektedir. Bu durum Türkiye’de halkın yarısının HBV ile temas ettiğini ortaya koymaktadır. Özellikle Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgelerinde HBV enfeksiyon sıklığı daha yüksektir.²

ABD’de 1980’lerin ortalarından sonra yeni edinilen HBV enfeksiyonunda tedricen bir azalma olduğu gözlenmiş,¹³⁻¹⁵ bu durum gebe kadınların taranması, infantların ve adölesanların aşılınması ve genel olarak güvenli enjeksiyon uygulamalarının başlaması gibi genel sağlık önlemlerine bağlanmıştır.¹⁶

2.3. HBV Enfeksiyonunun Seyri

Pek çok inaktif HBV taşıyıcısı, devamlı intrahepatik virüs replikasyonuna rağmen minimal karaciğer hasarı ile birlikte asemptomatiktir. Bu durum HBV’nin direk olarak hepatositlere sitotoksik olmadığını gösterir.^{17,18} Hepatosellüler hasarın ciddiyeti konak immün yanıtın gücü ile ayarlanır.¹⁹⁻²¹ Fulminan HBV enfeksiyonunda çok güçlü konak immün yanıtı sonucu, ciddi karaciğer hasarı sonrasında hızlı viral klirens gerçekleşir.²²⁻²⁴ Ancak neonatal dönemde immün sistem immatür olduğu için HBV’ye maruziyet durumunda minimal akut karaciğer hasarı oluşur, fakat kronik enfeksiyon oranı oldukça yüksektir (%90 civarı).

Akut HBV enfeksiyonunun iyileşmesinden sonra virüsün tamamen temizlendiği düşünülmekteydi. Ancak HBVDNA düzeyini ölçen duyarlı tekniklerin bulunmasından sonra, hastalarda viral antijenlerin kaybolup, antikorların ve spesifik sitotoksik T lenfositlerin oluşmasına rağmen, akut enfeksiyonun iyileşmesinden 10 yıl sonrasına kadar sıklıkla serumda veya karaciğerde eser düzeyde HBV genomu olduğu tespit edilmiştir.²⁵⁻²⁸ Bu durum akut enfeksiyondan sonra tam eradikasyonun nadir olduğunu göstermektedir. Yayınlanan bazı raporlarda akut enfeksiyonu geçirdikten ve serolojik iyileşme olduktan sonra kanser kemoterapisi veya nakil için immünsüpresif tedavi verilen hastalarda viral replikasyonda reaktivasyon görülmesi, bu durumu doğrulamaktadır.^{29,30}

2.3.1. Akut HBV Enfeksiyonu

Akut HBV enfeksiyonunda, 4-10 haftalık bir inkübasyon periyodu sonrasında HBsAg saptanabilir düzeylere ulaşır. Bunu kısa bir süre sonra hepatit B kor antijenine karşı antikor oluşumu takip eder. Bu antikor erken evrede IgM isotopu ağırlıklıdır.³¹ HBVDNA düzeyleri genelde çok yüksektir ve 200 milyon IU/mL ve 200 milyar IU/mL arasında değişir (10^9 kopya/ml - 10^{12} kopya/ml).³² Sirkülasyonda HBeAg, akut enfeksiyonda pek çok hastada saptanabilir ve bu hastalar enfeksiyonu kolaylıkla bulaştırabilirler.^{33,34} Aminotransferaz düzeyleri, viral enfeksiyon iyice yerleşene kadar yükselmez, çünkü virüsle enfekte hepatositlere karşı oluşan spesifik sitotoksik T lenfosit yanıtı için zamana ihtiyaç vardır. Enfekte yetişkinlerin yaklaşık %30-%50'sinde 6 haftadan 6 aya kadar sürebilen inkübasyon periyodu sonrası hastalık ikter ile ortaya çıkabilir.³⁵ Akut enfeksiyonun sonuçları hastanın yaşına ve enfeksiyon sırasındaki hastanın immün yanıt yeteneğine bağlıdır.³⁵⁻³⁸ Örneğin immün yanıtı tam olmayan neonatal bebeklerin ve infantların %90'ında kronikleşme görülürken, immünitesi sağlam olan erişkinlerin yalnızca %1-%5'inde kronikleşme görülür. Bu oran 1-5 yaş arası çocuklarda yaklaşık %30 civarında olup kronikleşme riski orta düzeydedir.³⁵⁻³⁸ Akut HBV enfeksiyonu müdehale veya antiviral tedavi gerekmeden kendiliğinden iyileşir. Hastaların %0,1- %0,5'inde fulminan hepatit gelişebilir.³⁹

2.3.2. Kronik HBV Enfeksiyonu

HBsAg 6 aydan daha uzun süreyle pozitif olması, serum HBV DNA $>10^5$ kopya/ml olması, ısrar eden ya da aralıklı ALT/AST yüksekliği, biyopside nekroinflamatuvar skor 4 olması kronik HBV enfeksiyonu olarak tanımlanır. Bu hastalarda HBeAg pozitif ya da negatif olabilir. Kronik HBV enfeksiyonu şu fazlarda değerlendirilir:

İmmün Tolerans Fazı: Doğumda HBV ile infekte kişilerde gözlenir. İmmün sistem immatürdür. HBV antijenlerine karşı sitotoksik T hücre aktivitesi gözlenmez. Doğumda HBV ile enfekte olanlarda kronikleşme oranı yüksektir. HBeAg (+), HBV DNA yüksek, ALT normal, KC inflamasyonu minimal veya yoktur. Progresyon gösterir ve tedaviye yanıt iyi değildir. Çocuk ve erişkin dönemde HBV ile infekte olanlarda immün tolerans fazı gözlenmez..⁴⁰

HBeAg pozitif kronik hepatit Fazı: HBeAg pozitif olarak saptanır. Sitotoksik T hücreleri ALT yüksekliğinden sorumludur. Genellikle HBV DNA $>10^5$ kopya/ml, ALT $> 2 \times$ normal düzeyindedir. KC'de değişen derecelerde inflamasyon ve fibrozis gözlenir.⁴⁰

İnaktif HBV Enfeksiyon Fazı: HBeAg serokonversiyonu (AntiHBe) vardır. ALT normal, HBV DNA $<10^5$ kopya/ml'dir. KC inflamasyonunda düzelme, Fibroziste iyileşme görülür. Tedaviye gerek yoktur. Kronik HBV enfeksiyon fazına tekrar dönebilir.⁴⁰

2.3.2.1. HBeAg Negatif Kronik HBV Fazı: İnaktif HBV taşıyıcılarının üçte birinde HBeAg reversiyonu olmadan kronik hepatit gelişebilir.⁴¹⁻⁴³ Bu taşıyıcılardan bazıları HBV genomunun kor ve prekor promotor bölgelerindeki mutasyondan dolayı HBeAg eksprese edemeyen HBV varyantlarından biri ile enfektidir.⁴⁴⁻⁴⁸ Pek çok hasta değişik süredeki inaktif HBV taşıyıcılığından sonra bu faza ilerlerken, bazı hastalarda direk HBeAg pozitif kronik hepatit fazından sonra HBeAg negatif kronik hepatit fazı gelişir.⁴⁹

Bu faz HBeAg negatifliği, antiHBe antikor pozitifliği, HBVDNA'nın saptanabilir düzeyde olması, serum ALT düzeylerinin yükselmesi ve karaciğerde devamlı nekroinflamasyonun histolojik bulguları ile karakterizedir.⁵⁰ HBeAg pozitif kronik hepatit B hastaları ile karşılaştırıldığında, HBeAg negatif kronik hepatit B hastaları genellikle daha yaşlıdır, daha düşük HBVDNA düzeyleri görülür ve karaciğer histolojisi daha ileri evrededir.⁵¹ Hastalığın gidişatı dalgalı bir seyir gösterir. Bu dalgalı seyri gösteren bir çalışmada 164 antiHBe antikorlu olan hasta, ortalama 21 ay süreyle takip edilmiştir.⁵² En az bir defa alevlenme gösteren 105 hastanın (%64), %70'inde hastalık aralarda ALT normalleşmelerinin olduğu tekrarlayan alevlenmeler şeklinde seyretmiştir. Bu dalgalı seyir nedeniyle bu hastaları inaktif taşıyıcılardan ayırmak için, seri ALT düzeyi (HBVDNA düzeyleri ile birlikte veya değil) test edilmelidir.⁵³

İlk yapılan çalışmalarda HBeAg negatif hepatit B virüslerinde, HBV genomunun prekor bölgesinde 1896. pozisyonda yer alan guanin, adenin yer değiştirmesi sonucu, HBeAg proteininin ilk sekansında translasyonel bir stop kodon oluşumuna yol açarak protein sentezinin inhibisyonuna yol açan bir mutasyon ortaya konmuştur.⁵⁴⁻⁵⁶ Daha sonra yapılan çalışmalarda HBeAg defektif virüse neden olan başka mutasyonlar tanımlanmıştır.^{57,58} İki büyük mutasyon grubu tanımlanmış olup bunlar; HBeAg sekresyonunu, transkripsiyonel

seviyede ayarlayan temel kor promotor bölge mutasyonları ve HBeAg üretimini translasyonel seviyede bloke eden prekor bölge mutasyonlarıdır.^{57,58} HBV genotiplerinin coğrafik dağılımı, 1896 stop kodonunun dünyadaki dağılımını etkilemektedir.⁵⁹ Kuzey Avrupa ve Birleşik Devletlerde HBeAg negatiflik oranı %10-40 iken Asya ve Güney Avrupa'da %30-80 olup HBeAg negatif hastaların dağılımı coğrafik bölgelere göre değişir.⁵⁷⁻⁶⁰

HBeAg negatif KHB'nin doğal seyri henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Bazı hastalarda hastalık, klinik olarak fark edilmeden sessiz olarak ilerler. Bu hastalarda serum HBVDNA düzeyleri enzim yüksekliğinden önce geçici olarak yükselebilir.⁵⁰ Genel olarak HBeAg negatif KHB potansiyel olarak ciddi ve ilerleyici bir kronik karaciğer hastalığı formudur.⁶¹⁻⁶² Bu hastaların çoğu HBeAg pozitif KHB fazından geçtiği için hastaların çoğunda belli düzeyde hepatik fibrozis zaten vardır. Kronik HBV enfeksiyon tanısı sırasında yapılan karaciğer histolojisi çalışmalarında, hastaların %50'sinde orta veya ciddi nekroinflamasyon ve fibrozis saptanırken, %25-40'ında siroz saptanmıştır.^{52,62-65} Spontan HBsAg klirensi nadir olup yıllık insidansı %0,5 - %1 arasındadır.⁶⁵

HBeAg negatif HBV'nin sebep olduğu hastalık genellikle 3-4 dekat boyunca asemptomatik seyreder ve ortalama 45 yaş civarında histolojik siroz evresine ulaşır.⁵² Sonrasında 10 yıl içinde hastaların %25'inde son dönem komplikasyonlar gelişir. Hepatit B alevlenmeleri hastalık progresyonunu hızlandırır.⁵² HBeAg negatif KHB'nin biyokimyasal ve virolojik seyirleri aralıklı viremi ve ALT yükselmelerinden devamlı viremi ve ALT yükselmelerine kadar değişiklik gösterebilir. Genel olarak 3 majör seyir vardır:^{52,57} (1) Aralarda virolojik ve biyokimyasal remisyon dönemlerinin olduğu reküren hepatit B atakları, (2) Hiç remisyonun olmadığı KHB, (3) Akut atakların gözlemlendiği ve hiç remisyonun olmadığı KHB. Sık ve bazen geç sonlanan remisyon dönemli hastalık seyri daha çok görülürken, HBeAg negatif KHB'nin spontan iyileşmesi nadirdir.^{52,57,59,66,67}

KHB çoğunlukla asemptomatik bir hastalık olup hastaların > %90'ında rutin kan testleri ile tanı konulur. Sık ve dikkatli takiplerin yapıldığı çalışmalarda, hastaların >%50sinde viremide ve ALT düzeylerinde majör dalgalanmalar saptanmıştır.⁵² HBVDNA düzeylerinin, hibridizasyon yönteminin duyarlılık sınırı altına düşmesi, hastaların %90'ında yılda bir kez gerçekleşirken, hastaların %60'ında yılda 6 veya daha fazla kez gerçekleşmiştir.⁵² Benzer şekilde hastaların %65'inde ALT düzeylerinde alevlenmeler görülmüş, %70'inde ise alevlenmeler arasında ALT

düzeyleri normale dönmüş. Tüm bu sonuçlara göre tek bir ölçümün ya da bazal ölçümün hastalık progresyonunu göstermede faydalı olmayacağı, aralıklı ALT ve HBVDNA düzeylerinin bakılması gerektiği anlaşılmaktadır.⁶⁸

Tüm kronik HBV enfeksiyon fazlarında hepatosellüler karsinom gelişme riski mevcuttur. Bu nedenle kronik enfeksiyonu olan tüm hastaların hastalık reaktivasyonu ve kronik HBV komplikasyonları açısından ömür boyu ALT, AST düzeyi takibi yapılmalıdır. ALT, AST yüksekse HBeAg, anti HBe, HBV DNA düzeyleri bakılmalıdır.⁶⁹

2.3.3. Kronik HBV Enfeksiyonunun Komplikasyonları ve Hasta Prognozu

Kronik HBV enfeksiyonu seyrinde hafif-orta fibrozis, kompanze siroz, hepatik dekompanzasyon ve HSK görülebilir.

2.3.3.1. Kronik HBV Enfeksiyonu ve Siroz

HBeAg pozitif KHB hastalarında yıllık siroz insidansı %2-5 arasında seyrederken, HBeAg negatif KHB hastalarında bu oran %8-10'lara kadar ulaşabilmektedir.^{66,67,70,71} HBV enfeksiyonu doğal seyrinde en geç faz olan HBeAg negatif KHB hastalarında sirozun daha sık görülüyor olmasının temel nedeni, bu hastaların daha ileri yaşlı ve daha ileri karaciğer hastalığına sahip olmalarıdır.^{66,70} Ayrıca hepatit B aktivitesinin uzun dönem remisyonda olması HBeAg negatif hastalarda, HBeAg pozitif hastalara göre daha az görülür.

Siroza progresyonda etkili diğer risk faktörleri genotip⁷², alkol alımı⁷³ ve birlikte HCV, HDV veya HIV ile enfekte olması sayılabilir.^{74,75}

2.3.3.2. Kronik HBV Enfeksiyonu ve HSK

HBV'nin artık kanıtlanmış bir karsinojen olduğu bilinmektedir. Hepatit B enfeksiyonu olan bir bireyde, olmayana göre HSK riski 100 kat artmıştır.⁷⁶ HSK için tek ve en önemli risk faktörü siroz olmasıdır. Sirozu olmayan HBV taşıyıcılarında yıllık HSK oranı %1'in altındayken, siroz olanlarda %2-3 arasında değişmektedir.^{49,77-78}

Yapılan çalışmalarda HSK gelişiminde belirleyici olan diğer faktörler ise HBeAg negatifliği ve yüksek HBVDNA düzeyleridir ($\geq 10^6$ kopya/ml için HR, 6.1; %95 CI, 2.9-12.7; $\geq 10^5$ - $<10^6$ kopya/ml için HR,6.6; %95 CI, 3.3-13.1; $\geq 10^4$ - $<10^5$ kopya/ml için HR,2.3; %95 CI, 1.1-4.9).⁷⁹ Unutulmamalıdır ki, siroz ve HSK için risk faktörleri aynıdır, bunlar; yüksek

HBVDNA düzeyleri, HBeAg negatifliği, ileri yaş ve erkek cinsiyettir. Siroz zaten önemli bir HSK risk faktörüdür.

Diğer çalışmalarda bulunan HSK için saptanan risk faktörleri: ALT yüksekliği, uzun süreli enfeksiyon, HCV ile ko-enfeksiyon⁸⁰ veya HDV ile ko-enfeksiyon, ailede HSK hikayesi olması,⁸¹ aşırı alkol alımı,^{73,82} sigara içilmesi,⁸³ HBV genotip C (vs genotip B)^{78,84} ve kor promotör mutasyonlarıdır.^{85,86} HBV enfeksiyonunun erken çocukluk döneminden beri olmasından dolayı Asya ve Afrika ırkında, beyaz ırka göre HSK riski çok daha fazladır.

2.3.4. KHB Tedavisi

Tedavide ideal hedef HBV eradikasyonu (HBsAg'nin klirensi) olmasına karşın gerçekçi hedef HBV'nin kalıcı supresyonunun sağlanması ve ileri karaciğer hasarının engellenmesidir. Kalıcı supresyon HBeAg pozitiflerde HBeAg serokonversiyonu, HBeAg negatiflerde kalıcı biyokimyasal ve virolojik yanıt, ALT'nin normal düzeye inmesi, histolojik nekroinflamatuvar aktivitede azalma ve HBV DNA kaybı olarak tanımlanabilir. ⁴

HBeAg pozitif Kronik HBV enfeksiyonu olanlarda HBV DNA>10⁵ kopya/ml, ALT>2 kat x normal limit, biopside inflamasyon ve orta düzeyde fibrozis, dalgalanmalı ALT düzeyleri (ancak ALT<2xULN) olanlarda biopside ılımlı veya ciddi nekroinflamasyon durumunda tedavi başlanır. İnaktif HBV fazında tedavi gereksizdir. Kemoterapi alacak hastalarda profilaktik tedavi başlanması gerekir. HBeAg negatif Kronik HBV enfeksiyonu olanlarda da tedavi endikasyonları HBeAg pozitif Kronik HBV enfeksiyonu ile aynıdır. ⁴

KHB tedavisinde kullanılan 6 tane tedavi ajanı mevcuttur. Bunlar: interferon (IFN) ve nükleozid analogları (NA) olan lamivudin, adefovir, entekavir, telbivudin ve tenofovir (Tablo 2.3.4.3). ⁴ IFN tedavisinde tanımlanmış sürelerde tedavi verilirken, NA ile tedavi spesifik sonlanım noktaları elde edilene kadar sürdürülmektedir. HBeAg pozitif kişilerde tedavi sonlanım noktaları iyi tanımlanmıştır. Bunlar HBeAg kaybı, HBeAg serokonversiyonu, ALT'nin normalleşmesi, histolojik düzelme, serum HBV DNA'nın saptanamaması, HBsAg klirensi, ccc DNA klirensidir. HBeAg serokonversiyonundan sonra tedavi kesildiğinde mevcut tedavilerle %50-%90 kalıcı viral supresyon elde edilebilmektedir. HBeAg negatif hastalarda ise tedavi sonlanım noktaları iyi tanımlanmamıştır. ALT'nin normalleşmesi, histolojik düzelme, serum HBV DNA'nın saptanamaması, HBsAg klirensi, ccc DNA klirensi HBeAg negatif hastalarda tedavinin sonlanım noktaları olarak değerlendirilebilir. PCR tekniği ile bakılan HBVDNA bir

yıldan uzun süre saptanamaz düzeyde bulunsa da relapslar siktir ve tedaviyi kesme kriteri belirsizdir.⁴

2.3.4.1. Antiviral Direnç

Uzun süreli NA tedavisi ile karşılaşılan en önemli sorun antiviral direnç mutasyonlarıdır. Tedavi öncesi serum HBVDNA düzeyleri, viral süpresyon hızı, tedavi süresi, daha önce NA tedavisi almış olması gibi durumlar direnç oranını etkilemektedir.⁸⁷ Genotipik direnç insidansı, dirençli mutanları saptamak için kullanılan yöntemin duyarlılığı ve test edilen hasta popülasyonu ile değişebilir.

Hiç NA kullanmayan hastalarda en fazla direnç oranı lamivudinde, en az direnç ise entekavirde görülmektedir.⁴ Antiviral direncin ilk ortaya çıkma şekli virolojik kırılma (breakthrough) olup, tedavi devam ederken ve virolojik yanıt alınmışken, serum HBVDNA düzeyinde $>1 \log_{10}$ IU/ml (10 kat) artış olması durumudur.⁴

Yapılan klinik çalışmalarda virolojik kırılmanın %30'dan fazlasının tedaviye uyum bozukluğu ile ortaya çıktığı saptanmıştır. Bu nedenle genetik direnç araştırmadan önce hastanın tedaviye uyumu sorgulanmalıdır.

Antiviral direnç mutasyonlarının bir diğer potansiyel sonucu, diğer NA ile çapraz direnç olup, gelecek tedavi seçeneklerini sınırlandırmaktadır. Ardışık NA monoterapisi alan hastalarda çoklu ilaç direnç mutasyonları gösterilmiştir.^{88,89} Ayrıca bir kez antiviral dirençli HBV mutantları oluştuktan sonra, bunlar virüs popülasyonunda birikirler. Lamivudin kesildikten 4 yıl sonra bile lamivudin direnci olan HBV mutantları saptanmıştır.⁸⁹

2.3.4.2. Lamivudin (Zeffix[®], Epivir[®])

Lamivudin 2'-3' dideoksi-3'-tiasitidin enantiomeridir. Aktif trifosfat çoğalmakta olan DNA zinciri ile birleşir, zincirde erken sonlanma nedeni ile DNA sentezi inhibe olur. 100 mg/gün dozunda kullanılır. Renal yetmezlikte doz ayarlaması yapılmalıdır.⁴

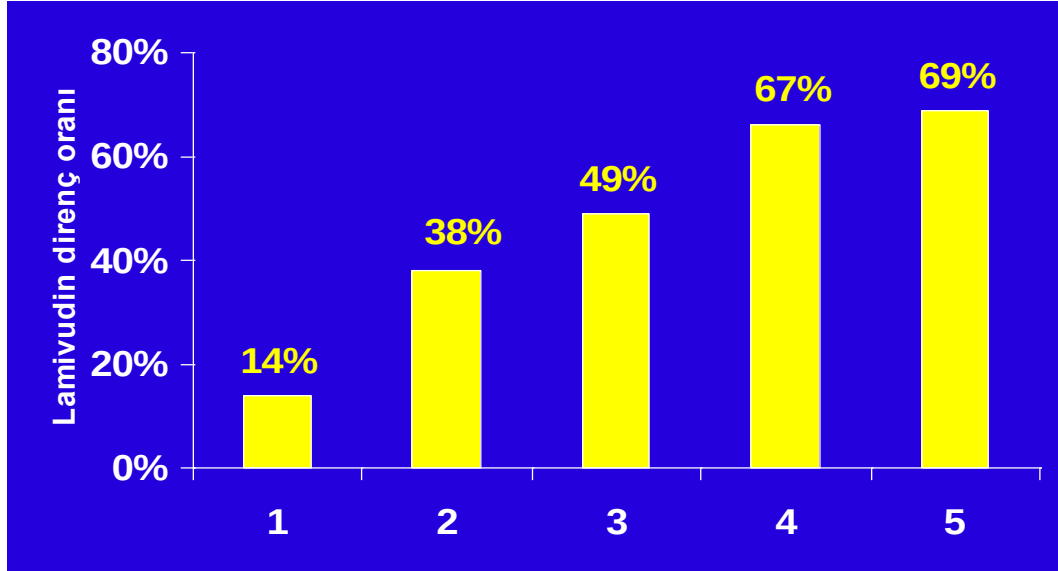
Lamivudin monoterapisi HBV replikasyonunun süpresyonunda ve karaciğer hastalığını iyileştirmede oldukça etkili bir tedavidir. Bir yıllık lamivudin tedavisi ile HBeAg serokonversiyon oranı 16 haftalık standart IFN- α tedavisi ile benzerdir, fakat pegIFN- α tedavisinden düşüktür.⁴ IFN- α tedavisine yanıtsızlarda, lamivudin tedavisine yanıt oranının,

hiç tedavi almayan hastalarla aynı olduğu ve bu hastalara tekrar lamivudin ile kombine IFN verilmesinin faydasının olmadığı vurgulanmıştır.⁹⁰

Lamivudin tedavisinin HBeAg negatif KHB hastalarında da faydalı olduğu gösterilmiştir.⁹¹⁻⁹⁵ Biyokimyasal ve virolojik yanıt tedavi ile %70-85 arasındadır. Ancak tedavi kesildikten sonra hastaların yaklaşık %90'ında relaps saptanmıştır.⁹² 54 hastanın 24 hafta Lamivudin tedavisi sonrası değerlendirilmesinde virolojik ve biyokimyasal yanıt %63 (34 hasta), histolojik iyileşme %60 (32 hasta) olarak saptanmıştır.⁹¹ Diğer çalışmalarda da 1 yıllık tedavi yanıtı %70 düzeyindedir. Tedavi süresi uzadıkça yanıt oranı Lamivudin dirençli mutantlara bağlı olarak düşer. İki yüz bir hastalık bir çalışmada virolojik remisyon 12. aydan 48. aya geçildiğinde %73'ten %34'e gerilemiş, biyokimyasal remisyon ise %84'den %36'ya gerilemiştir.⁹⁶ Diğer bir çalışmada devamlı virolojik yanıtın, 2 yıl lamivudin tedavisi sonrası %50'ye çıktığı görülmüştür. Bu çalışmadaki hastalarda PCR ile bakılan HBVDNA düzeyi 2 yıl süreyle saptanamaz düzeylerde bulunmuştur.⁹⁷ Lamivudin hepatositlerde bulunan cccDNA üzerinde etkili olmadığı için tedavi sonlandırıldıktan sonra relaps gözlenir. Bu nedenle tedaviye ne kadar süreyle devam edileceği bilinmemektedir. ^{93,94,98,99}

Lamivudin en sık görülen mutasyon YMDD mutasyonudur (rtM204V/I, rtL180M).^{100,101} Genotipik direnç, bir yıllık lamivudin tedavisi sonrası %14 ile %32 arasında değişmektedir ve tedavi süresi uzadıkça artmakta ve 5 yıllık tedavi sonrası bu oran %60-%70'lere çıkmaktadır.^{4,102} Lamivudin direncinde artışla ilgili faktörler: uzun tedavi süresi, tedavi öncesi serum HBVDNA düzeyinin yüksek olması ve tedavi başladıktan sonraki rezidüel virüs düzeyinin yüksek olmasıdır.¹⁰³ Bir çalışmada 6 ay lamivudin tedavisi sonrası ölçülen HBVDNA düzeylerinin 200 IU/ml (1000 kopya/ml)'den fazla olduğu hastalarda, daha düşük HBVDNA düzeyleri olan hastalara göre lamivudin direncinin daha fazla olduğu saptanmıştır (%63 vs. %13).¹⁰³ Lamivudin dirençli mutantların klinik seyri değişkendir. In vitro çalışmalarda rtM204V/I mutasyonunun HBV replikasyon hızını azalttığı fakat kompensatuvar mutasyonlarla tedavi sırasında replikasyon hızının tekrar restore edildiği gösterilmiştir.^{104,105} Virolojik kırılma genellikle biyokimyasal kırılma tarafından takip edilir. Bu durum bazı hastalarda karaciğer hastalığının akut kötüleşmesine, nadiren de hepatik dekompanzasyona yol açabilir.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ Aynı zamanda lamivudin direncine bağlı gelişen hepatit ataklarını, immün aracılı mekanizmalarla HBeAg serokonversiyonu takip edebilir.¹⁰⁶ Hepatit atakları aynı

zamanda tedavinin kesilmesinden sonra vahşi tip virüslerin hızlı ortaya çıkmasına bağlı gelişebilir.



Şekil2.4. Kronik hepatit B enfeksiyonunda yıllara göre lamivudin direnç insidansı

Devamlı lamivudin tedavisi alan hastaların takiplerinde ilaç dirençli mutantların ortaya çıkması ile kalıcı virolojik ve biyokimyasal yanıtın zamanla azaldığı gösterilmiştir.⁹⁶⁻⁹⁹ Viral süpresyonun durdurulabildiği durumlarda ise nekroinflamasyonun azaldığı, fibrozis skorunun düştüğü ve sirozun gerilediği gözlemlenmiştir.¹⁰⁹ Ancak histolojik iyileşme kırılma enfeksiyonları gelişenlerde gerilemiştir. Yapılan çalışmalarda hepatik dekompanzasyonun ve karaciğer ilişkili mortalitenin devamlı viral süpresyonu olan hastalarda daha düşük olduğu ortaya konmuştur.^{96,105}

Yapılan çok sayıda çalışmaya rağmen, halen daha HBeAg negatif hastalar için tedavi sonlanım noktası bilinmemektedir. PCR ile bakılan serum HBVDNA, sürekli negatif saptansa bile bu hastalarda tedavi sonrasında relapslar olabilir. Bu nedenle tedavinin ne kadar süre sonra sonlandırılması gerektiğine dair elde veri yoktur.

Bu çalışmanın amacı en az 5 yıl süreyle tedavi almış HBeAg negatif kronik HBV'li ve viral yanıtı hastalarda ne kadar süreyle devam edileceği bilinmeyen lamivudin tedavisinin kesilmesinin ardından ortaya çıkacak etkilerin gözlenmesidir.

3. HASTALAR VE YÖNTEM

3.1.Hastalar:

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı Karaciğer Hastalıkları İzlem Polikliniğinde takip edilen, 1 Ocak 2005 ile 1 Ocak 2009 tarihleri arasında HBeAg negatif olup en az 5 yıl nükleozid analogu olarak sadece lamivudin tedavisi almış, viral yanıtı kronik HBV enfeksiyonu olan ve tedavisi kesilen 23 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastalar tedavi kesildikten sonra en az 6 ay süreyle takip edildi.

3.1.1.Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri:

- 1-18-70 yaş arasında
- 2-HBeAg negatif Kronik Hepatit B enfeksiyonu tanısı olması
- 3-En az 5 yıl süre ile lamivudin tedavisi almış
- 4-NA'lardan sadece lamivudin tedavisi almış olmak
- 5-Tedavi altındayken hastaların rutin takiplerinde son 3 takipte HBV-DNA'nın negatif ve Karaciğer fonksiyon testlerinin normal olması
- 6-Tedavi kesilmeden önce yapılan karaciğer biyopsisinde karaciğer sirozuna yönelik bulgu saptanmaması

3.1.2.Araştırmaya dahil olmama kriterleri

- 1-HBeAg pozitif KHB enfeksiyonu olanlar
- 2-Lamivudin tedavisine virolojik yanıt alınamayan hastalar
- 3-Kombinasyon NA tedavisi almış hastalar
- 4-Diğer viral hepatit enfeksiyonu ile birlikte olan olgular (HCV, HDV, HIV)
- 5-Diğer nedenlere bağlı kronik karaciğer hastalığı olan hastalar
- 6-Karaciğer sirozu tanısı olanlar
- 7-5 yıldan daha kısa süreyle lamivudin tedavisi almış hastalar

3.2. Yöntem

Takip süreleri en az 5 yıl olup bu sürede sadece lamivudin tedavisi kullanmış, düzenli takipleri olan ve 5 yıl sonunda karaciğer hasar ve fonksiyon testleri (ALT, Total bilirubin, albümin, INR) normal, viral belirteçleri (HBVDNA düzeyi) negatif olan, karaciğer biyopsilerine göre siroz gelişimi saptanmayan HBeAg negatif kronik hepatit B tanılı 23 hastanın lamivudin tedavisi kesilerek bu çalışmaya alındı. Bu hastalar tedavi kesildikten sonra en az 6 ay süreyle takip edildi ve sonuçları toplanıp veri sistemine kaydedildi. Hastaların takipleri 1.,3. ve 6. ayda, 6. aydan sonra her 3 ayda bir yapıldı. Tedavinin kesilmesinin karaciğer fonksiyon testleri ve viral belirteçler üzerindeki etkileri saptandı. Takiplerinde yeniden tedavi endikasyonu doğan hastalar tedavilerinin düzenlenmesi için AÜTF Gastroenteroloji Bilim Dalı Karaciğer Hastalıkları İzlem Polikliniği'ne yönlendirilerek çalışmadan çıkarıldı.

3.2.1. Veri Toplama

Veri tabanına demografik özellikler (yaş, cinsiyet), tedavi başlangıcında ve tedavi kesildiği anda bakılmış kantitatif HBVDNA, ALT değerleri, PTZ, bilirubin ve albumin değerleri, hematokrit, trombosit ve beyaz küre sayımı, karaciğer biyopsi sonuçları kaydedildi. Tedavi kesildikten sonra 1., 3., 6. ve sonraki her 3 ayda bir kantitatif HBVDNA, ALT, AST değerleri, PTZ, INR, bilirubin ve albumin değerleri, hemogloblin, trombosit ve beyaz küre sayımı takipleri yapılarak kaydedildi.

3.2.2. Biyokimyasal testler ve HBVDNA ölçümü

Tüm hastaların serum AST, ALT, ALP, GGT, total bilirubin, albumin, viral belirteçleri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda standart yöntemlerle 24 kanallı otomatize kimyasal analizör ile ölçüldü. Tedavi kesilmeden önceki ve kesildikten sonraki takiplerde HBVDNA ölçümleri real time PCR Cobas Taqman yöntemi (eşik değer: 310 kopya/ml) ile yapıldı. 5 yıl lamivudin tedavisi almış hastaların tedavi başlanmadan önceki HBV-DNA ölçümleri ise hibrid capture sinyal amplifikasyon yöntemi (eşik değer: 5 pg/ml – 1.4×10^6 kopya/ml) ile yapılmıştı.

3.2.3.Karaciğer Biyopsisi

Hastalara tedavi kesilmeden önce karaciğer sirozu gelişimini ekarte etmek için onayları da alınarak karaciğer biyopsisi yapıldı ve sirozla uyumlu olmayanlar çalışmayla ilgili bilgilendirildi. Onay veren hastaların tedavileri kesilerek çalışmaya alındı.

3.3. Tanımlar

Virolojik yanıt, serum HBVDNA'nın negatifleşmesi; biyokimyasal yanıt, serum ALT düzeylerinin normal aralığa düşmesi olarak tanımlandı. Virolojik relaps (nüks) tedavi kesildikten sonra tekrarlayan en az iki ölçümde HBVDNA'nın saptanabilir düzeylerde (pozitif) olması olarak tanımlandı. Nüks eden hastalarda, lamivudin tedavisi kesildikten sonra 6 ay içinde nüks edenler erken nüks, 6 aydan sonra nüks edenler geç nüks olarak kabul edildi.^{4,110}

3.4. İstatistiksel Değerlendirmeler

Verilerin analizi için SPSS 16,0 programı kullanıldı. Sonuçlar ortanca (median) (minimum-maksimum) olarak verildi. Dağılımların normalliğine bakıldı. P değeri <0.05 olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Hasta Özellikleri

Ocak 2005 ve Ocak 2009 tarihleri arasında karaciğer polikliniğinde takip edilen ve 5 yıl lamivudin tedavisi almış hastalardan tedavisi kesilen 23 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastaların hepsi HBeAg negatif kronik hepatit B tanısına sahipti ve hepsinde hem biyokimyasal hem de viral remisyon yapılan ölçümlerle 3 kez teyit edilmişti. NA olarak sadece lamivudin tedavisi almışlar ve başka bir NA tedavilerinde kullanılmamıştı. Hastaların tedavi kesilmeden önce yapılan karaciğer biopsilerinde sirozla uyumlu bulgu saptanmamıştı. Hastaların hiçbirinde diğer virusların (HCV, HDV, HIV) yaptığı koenfeksiyon tablosu bulunmamaktaydı.

Çalışmaya dahil edilen 23 hastanın median yaşı 50 (27-69), median lamivudin tedavi süresi 63 ay (aralık 60-90 ay), lamivudin tedavisi kesildikten sonra median takip süresi 12 ay (aralık 4-45 ay), E/K: %69.6 / %30.4 bulundu. 23 hastanın 10'unda (%43.5) lamivudin tedavisi öncesi IFN kullanımı mevcuttu (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hastaların bazal demografik, klinik ve laboratuvar verileri

	23 lamivudin tedavisi kesilen HBeAg negatif KHB hastası
Yaş	50 (27-69)
Cinsiyet (E/K)	16/7
Önceki IFN kullanımı*	10 (%43.5)
Lamivudin tedavi süresi(ay)	63 ay (aralık 60-90 ay)
Takip süresi (ay)**	12 ay (aralık 4-45 ay)
Tedavi kesildiği andaki ALT (n<37 IU/ml)	45 (aralık 14-59 IU/ml)

*lamivudin tedavisi öncesinde verilen IFN tedavisi

**Lamivudin tedavisi kesildikten sonra hastaların takip süreleri

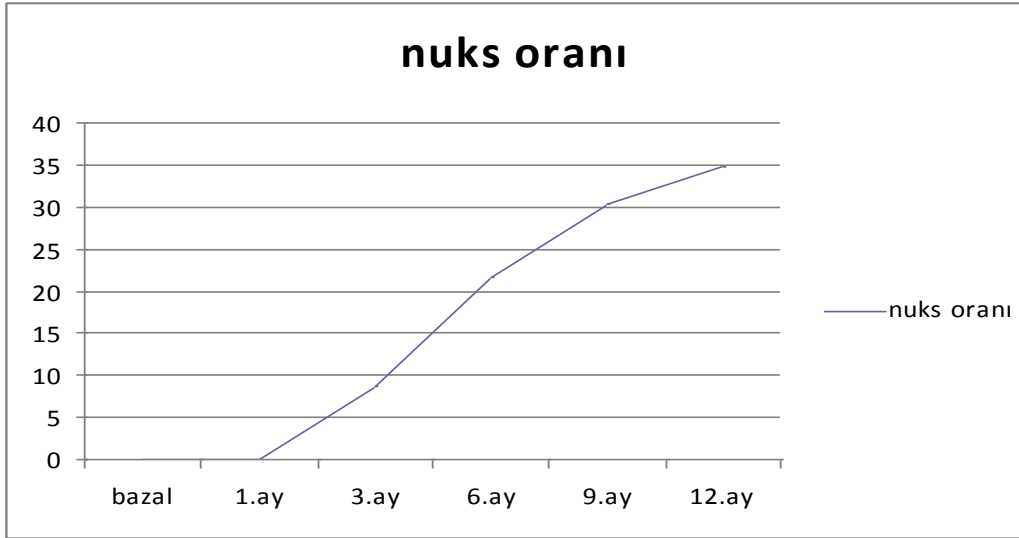
4.2. Tedavi Kesilmesinin Etkileri

Tedavisi kesilen hastaların %34.8 (8)'inde median 7 aylık (aralık 4-13 ay) tedavisiz süre sonunda nüks saptandı. Nüks eden hastalardan 2 (%8.7)'sinde erken nüks (≤ 6 ay), 6 (%26.1)'sında ise geç nüks (> 6 ay) saptandı (Tablo:4.2).

Tablo 4.2.1. Nüks eden ve etmeyen hastaların sayıları ve oranları

	Hasta sayısı	%
Erken nüks	2	8,7
Geç nüks	6	26,1
Nüks (-)	15	65,2

Tedavi kesildikten sonra aylara göre kümülatif relaps oranları değerlendirildiğinde 1. ayda %0, 3. ayda %8.7 (2/23), 6. ayda %21.7 (5/23), 9. ayda %30.4 (7/23), 12. ayda %34,8 (8/23) olarak gözlemlendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Lamivudin tedavisi kesildikten sonra aylara göre kümülatif nüks oranları

Kadın hastaların %71.4'ünde erkeklerin %62.5'inde nüks saptanmadı, kadınların %28.6'sında, erkeklerin %37.5'inde nüks gözlemlendi. Nüks eden ve etmeyen hastalar arasında cinsiyet açısından fark görülmedi ($p>0.05$).

Tablo 4.2.2. Cinsiyet-nüks ilişkisi

	Nüks (-)	Nüks (+)	Total
Kadın	n: 5 %71.4	n: 2 %28.6	n: 7 %100
Erkek	n: 10 %62.5	n: 6 %37.5	n: 16 %100

Nüks etmeyen 15 hastanın median lamivudin kullanma süresi 64 ay (60-90 ay) saptanırken, nüks eden 8 hastanın median lamivudin kullanma süresi 62 ay (60-76 ay) saptandı. Nüks eden ve etmeyen grupta lamivudin kullanma süreleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.392$). Lamivudin tedavisi kesilen hastalarda nüks edenlerde median yaş 50 (35-65), nüks etmeyenlerde median yaş 50 (27-69) saptandı ve iki grup arasında yaş açısından fark görülmedi ($p:0,825$). Tedavi kesildiği andaki karaciğer biyopsisindeki HAI (hepatik aktivite indeksi/knodell)'ye göre değerlendirildiğinde nüks olmayanlarda HAI median 5 (2-9), nüks olanlarda median 7 (1-13) saptandı. Nüks eden ve etmeyenler arasında HAI açısından anlamlı fark görülmedi ($p:0.087$). Nüks eden ve etmeyen hastalar IFN kullanımı açısından karşılaştırıldığında fark saptanmadı ($p:0.99$).

Tablo 4.2.3. Lamivudin tedavi süresi, yaş, HAI, IFN kullanımının nüks ile ilişkisi

	Nüks (+)	Nüks (-)	P değeri
Lamivudin tedavi süresi (ay)	62 ay (60-76 ay)	64 ay (60-90 ay)	0.39
Yaş	50 (35-65)	50 (27-69)	0.83
HAI (KC biopsisi)	7 (1-13)	5 (2-9)	0.08
IFN kullanımı	2	8	0.99

Nüks eden ve etmeyen hastaların bazal biyokimyasal değerlerine bakıldığında bazal ALT nüks edenlerde median 24.5 IU/ml (18-52 IU/ml), nüks etmeyenlerde median 26 IU/ml (14-59 IU/ml), bazal total bilirubin nüks edenlerde median 0.72 mg/dl (0.37-1.11 mg/dl), nüks etmeyenlerde median 0.79 mg/dl (0.31-2.11 mg/dl), bazal albumin nüks edenlerde median 4.6 g/dl (4.3-4.9 g/dl), nüks etmeyenlerde median 4.6 g/dl (4-5 g/dl), bazal INR nüks edenlerde median 1.07 (0.9-1.12), nüks etmeyenlerde median 1.0 (0.92-1.2) saptandı. Bazal biyokimyasal değerler açısından nüks eden ve nüks etmeyen grup arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.2.4. Nüks eden ve etmeyen hastaların bazal biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması

	Nüks(+)	Nüks (-)	P değeri
ALT (IU/ml)	24.5 (18-52)	26 (14-59)	0,88
Total Bilirubin (mg/dl)	0.72 (0.37-1.11)	0.79 (0.31-2.11)	0,87
Albumin (g/dl)	4.6 (4.3-4.9)	4.6 (4-5)	0,88
INR	1.07 (0.9-1.2)	1.0 (0.92-1.2)	0,93

Nüks eden hastaların nüks anındaki median HBV-DNA değeri 3.3×10^5 kopya/ml (10^5 - 10^6 kopya/ml), nüks anındaki median ALT değeri 39.5 IU/ml (min: 17 IU/ml, max: 344 IU/ml) olarak saptandı. Nüks gelişen 8 hastanın hepsinde nüks anındaki HBV-DNA değeri 1×10^5 kopya/ml'nin üzerindeyken nüks anındaki ALT değeri 4 hastada normal sınırlarda, 4 hastada ise normalin üzerinde saptandı (%50). Nüks gelişen hastaların hiçbirinde fatal seyir gözlenmedi. Hastaların hiçbirinde tedavi kesildiği anda ve takip süresinde HBsAg kaybı saptanmadı.

Nüks saptanmayan 15 hastanın 5'inde kontroller sırasında HBV-DNA'nın pozitifleştiği görüldü. Ancak bu pozitiflik sadece bir ölçümde saptandı ve bu 5 hastada HBV-DNA değeri 2. kontrolde yeniden negatif duruma geldi. Bu nedenle bu hastalar nüks olarak kabul edilmedi.

5. TARTIŞMA

Bu çalışma prospektif ve retrospektif değerlendirmelerin yapıldığı bir çalışmadır. HBeAg negatif KHB'li 5 yılın üzerinde lamivudin tedavisi almış, biyokimyasal ve viral yanıtli olguların tedavilerinin kesilip takibe alınmaları ile tedavinin kesilmesinin ardından ortaya çıkacak etkilerin gözlenmesi planlanmış aynı zamanda retrospektif olarak lamivudin kullanma süreleri ve önceki IFN kullanımları değerlendirilerek bu parametrelerin nüks üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma; tek merkezli olması, ve literatürde bu alanda yapılmış çalışmalara ihtiyaç duyulması nedeni ile önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın oluşturulmasında bazı problemlerle karşılaşmıştır. HBeAg negatif KHB tedavisinde belirlenmiş tek bir tedavi şekli veya süresinin olmaması, hastaların değişik zamanlarda değişik tedaviler almış olması ve uzun süreli lamivudin tedavisinin direnç gelişimi nedeniyle tek başına kullanımının tercih edilmemesi gibi sebeplerle 5 yıl süreli sadece lamivudin tedavisi almış hastaların bulunmasında güçlük çekildi. Sonuç olarak HBeAg negatif KHB tanısı olan ve 5 yıl süreyle aralıksız olarak lamivudin tedavisi almış, son 3 değerlendirmede biyokimyasal ve viral açıdan tedaviye yanıtli, karaciğer biyopsilerinde siroz ile uyumlu bulgu saptanmayan 23 hasta saptandı ve bu hastaların tedavileri kesilerek çalışmaya alındı.

Tüm dünyada olduğu gibi HBV enfeksiyonu ülkemizde de kronik karaciğer hastalığının en sık sebebi olup önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Günümüze kadar yapılan çalışmalara, elde edilen bilgilere rağmen HBeAg negatif HBV'nin seyri halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle özellikle HBeAg negatif KHB'li hastaya yaklaşımda ve tedavi seçiminde henüz kabul edilmiş ortak bir yol mevcut değildir. Tedavide seçilecek ajan ve tedavi süresi halen tartışmalıdır. Hastalığın coğrafi bölgelere göre farklılık gösteriyor olması, özellikle mutant tiplerin belli coğrafik dağılımları izlemesi, bölgelere göre doğal seyrinde farklılıkların ortaya konmasını ve tedaviye yanıtların belirlenmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır.¹¹¹ Türkiye'de zaten bilindiği üzere hemen tüm HBV enfeksiyonları genotip D enfeksiyonudur ve diğer Akdeniz ülkelerinde olduğu gibi en sık görülen kronik hepatit evresi HBeAg negatif KHB'dir.

Bu çalışma 5 yıl lamivudin tedavisi alan ve uygun kriterlere sahip olan hastalarda tedavinin sonlandırılarak hastaların takibe alındığı ilk ve tek çalışma olması nedeni ile önemlidir. Lamivudin tedavisi kesilen 23 hastanın median lamivudin kullanma süreleri 63 ay (60-90 ay), bu hastaların tedavileri kesildikten sonra median takip süreleri 12 aydır(4-45 ay).

23 hastada 5 yıl lamivudin tedavisi sonunda virolojik yanıt elde edilmişken tedavi sonlandırıldı. Tedavi kesilen hastalardan %34.8'ünde (8/23) hastada median 7 aylık süre sonunda nüks saptandı. Tedavi kesildikten sonra aylara göre kümülatif virolojik nüks oranları değerlendirildiğinde 3. ayda %8.7 (2/23), 6. ayda %21.7 (5/23), 9. ayda %30.4 (7/23), 12. ayda %34,8 (8/23) olarak gözlendi. Ayrıca virolojik nüks saptanan hastaların %50'sinde biyokimyasal nüks de geliştiği görüldü. Kore'den yapılan bir çalışmada¹¹² lamivudin yanıtı hastalarda tedavi kesildikten sonra virolojik nüks oranı %50 bulunmuştur. Kümülatif nüks oranları 3, 6 ve 10. aylarda %24, %47 ve %66 bulunmuştur. Japonya'dan bir çalışmada¹¹³ ise tedavi kesildikten sonra birinci, ikinci ve üçüncü yıllarda virolojik nüks %54.1, %70.8 ve %87.8 bulunmuştur ve bu hastaların %69.2'sinde total izlem süresi sonunda biyokimyasal nüks saptanmıştır. Ancak bu çalışmada hastaların lamivudin ile tedavi süreleri 0.1-5.6 yıl arasında değişmekte olup bu süre bizim çalışmamızdaki hastaların median lamivudin ile tedavi süresinden oldukça kısadır. Ayrıca hastalarının büyük kısmını HBeAg pozitif ve genotip C hastaları oluşturmakta olup bizim çalışmamızdaki hastalar genotip D ve HBeAg negatiftir. Kanada'dan yayınlanan başka bir çalışmada 2 yıllık tedavi alan hastaların tedavi kesildikten sonraki 2 yıllık takiplerinde virolojik yanıt %50 oranında saptanmıştır.⁹⁷ Bizim çalışmamızda tedavi kesildikten sonraki relaps oranları literatürden düşük olmakla birlikte tedavi kesilmesi sonrası yakın takibin önemini vurgulayacak oranda yüksektir.

Bu çalışmada tedavi kesildikten sonraki nüks ile hastaların yaşı arasında bir ilişki saptanmadı. Kore'den yapılan bir çalışmada ise¹¹⁴ lamivudin yanıtı tedavisi kesilen hastalardan nüks saptananlarda nüks'ün 40 yaş ve üzeri hastalarda ortaya çıktığı gözlenmiştir.

Bu çalışmada hasta sayısının az olması nedeni ile sadece nüks olan ve olmayan hastalar birbirleri ile karşılaştırılmış, erken nüks saptanan hasta sayısının 2, geç nüks saptanan hasta sayısının 6 kişi olması nedeni ile anlamlı sonuçlar elde edilemeyeceği için erken ve geç nükse etkili olan parametreler açısından herhangi bir istatistiki değerlendirme yapılamamıştır.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında 5 yıldan uzun süreli lamivudin tedavisi almış HBeAg negatif KHB'li, takiplerinde virolojik ve biyokimyasal yanıtı olan hastalarda lamivudin tedavisinin kesilmesi ile özellikle ilk 1 yıl içerisinde nükslerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Tedavi kesildikten sonraki relaps oranları yakın takibin önemini vurgulayacak oranda yüksektir. Hasta sayısının az olması nedeni ile nükse etkili faktörler açısından büyük oranda doğruluk yansıtacak veriler elde edilememiştir.

6. ÖZET

HBE ANTİJEN NEGATİF KRONİK HEPATİT B TANISI OLAN EN AZ 5 YIL LAMİVUDİN TEDAVİSİ ALMIŞ VİRAL YANITLI HASTALARDA TEDAVİNİN KESİLMESİNİN ETKİLERİ

Sarı S. Ö., Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Tezi, Ankara, 2009. Hepatit B virüsü (HBV) ile enfeksiyon global bir sağlık sorunu olup, dünya çapında yaklaşık 2 milyar kişi bu virüsle enfektidir. HBeAg negatif KHB enfeksiyonunun ülkemizde ve diğer Akdeniz ülkelerinde prevalansı yüksektir ve dünyada giderek artmaktadır. Lamivudin monoterapisi HBV replikasyonunun süpresyonunda ve karaciğer hastalığını iyileştirmede oldukça etkili bir tedavidir. Ancak bu tedaviye ne kadar süreyle devam edilmesi gerektiği ve tedavi kesildikten sonra ortaya çıkacak etkiler konusunda birçok soru işareti mevcuttur. Bu çalışmanın amacı 5 yıl süreyle tedavi almış HBeAg negatif kronik HBV'li ve viral yanıtı hastalarda lamivudin tedavisinin kesilmesinin ardından ortaya çıkacak etkilerin gözlenmesidir. 5 yıl nükleozid analogu olarak sadece lamivudin tedavisi almış, viral yanıtı , HBeAg negatif kronik HBV enfeksiyonu olan ve tedavisi kesilen 23 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların median yaşı 50 (27-69), median lamivudin tedavi süresi 63 ay (60-90 ay), lamivudin tedavisi kesildikten sonra median takip süresi 12 ay (4-45ay), E/K: 16/7 (%69.6 / %30.4)'ydi. 23 hastanın 10'unda (%43.5) lamivudin tedavisi öncesi IFN kullanımı olduğu saptandı. Tedavisi kesilen hastaların %34.8 (8)'inde median 7 aylık (4-13 ay) tedavisiz süre sonunda nüks saptandı. Nüks eden hastalardan 2 (%8.7)'sinde erken nüks (≤ 6 ay), 6 (%26.1)'sında ise geç nüks (> 6 ay) saptandı. Tedavi kesildikten sonra aylara göre kümülatif relaps oranları 1. ayda %0, 3. ayda %8.7 (2/23), 6. ayda %21.7 (5/23), 9. ayda %30.4 (7/23), 12. ayda %34,8 (8/23)'di. Nüks eden ve etmeyen hastalar arasında cinsiyet ($p>0.05$), yaş ($p:0,825$), lamivudin kullanma süreleri ($p=0.392$), lamivudin tedavisi öncesinde IFN kullanımı ($p:0.99$) ve tedavi kesilmeden önce yapılan karaciğer biyopsisindeki HAI ($p:0.087$) açısından fark saptanmadı. Bazal biyokimyasal değerler (ALT, total bilirubin, albumin, INR) açısından da nüks eden ve nüks etmeyen gruplar arasında fark görülmedi. Nüks gelişen 8 hastanın hepsinde nüks anındaki HBV-DNA değeri

1×10^5 kopya/ml'nin üzerindeydi. Nüks anındaki ALT değeri 4 hastada normal sınırlarda, 4 hastada ise normalin üzerinde saptandı (%50). 23 hastanın hiçbirinde tedavi kesildiği anda ve takip süresinde HBsAg kaybı saptanmadı. Bu çalışmada lamivudin tedavisinin kesilmesi ile hastalarda özellikle ilk 1 yıl içerisinde nükslerin ortaya çıktığı gözlemlendi. Bakılan değişkenlerle nüks arasında ilişki saptanmadı.

Anahtar sözcükler: HBeAg negatif kronik hepatit B, lamivudin, HBsAg, biyokimyasal ve virolojik nüks

7. SUMMARY

THE EFFECT OF DISCONTINUATION OF LAMIVUDIN THERAPY AT HBeAg-NEGATIVE CHRONIC HEPATITIS B PATIENTS WITH VIROLOGIC RESPONSE WHO HAVE USED THIS TREATMENT FOR AT LEAST 5 YEARS

Sarı S. Ö., Ankara University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine, Ankara, 2009.

Hepatitis B virus (HBV) infection is a challenging global health problem, affecting an estimated 2 billion persons worldwide. HBeAg negative chronic hepatitis B prevalence is high in our country and Mediterranean region and increasing worldwide. Monotherapy of Lamivudine is very effective for suppression of HBV replication and treatment of liver disease. However there are a lot of question about; how long the treatment must continue, and which adverse outcome will be seen if we discontinue this treatment. The purpose of this study is to determine the biochemical and virologic relaps rate and associated variables in HBeAg-negative chronic hepatitis B patients who had used this treatment for more than 5 years and who had maintained virologic response. We enrolled 23 HBeAg negative patient in this study. All of the patient had well followed up for at least 5 years and during this period had taken only lamivudin therapy as a nucleoside analogue therapy. After the 5 years with lamivudin treatment we include 23 patients who have normal liver function tests (ALT, bilirubin, albumin, INR), negative virologic markers (HBV-DNA) and no liver cirrhosis in the biopsy. We stopped their lamivudin treatment and followed for relapse at months 0,1,3 and then every 3 months thereafter. The median age of the 23 patient were 50 (27/69), median lamivudine therapy duration was 63 months (60-90), median follow-up period after the discontinuation of the lamivudin was 12 months (4-45), Male/Female: 16/7 (%69.6 / %30.4). During follow-up 8 patient (%34.8) showed relapse after the withdrawal of lamivudine therapy at median 7 months (4-13). The patients who were relapsed, two of them (8.7%) showed early recurrence (≤ 6 months), and six of them (26.1%) showed late recurrence (> 6 months). Cumulative rates of relapse after lamivudine discontinuation

according to the months ; at the 1 st month was %0, at the 3 rd month was %8.7 (2/23), at the 6 th month was %21.7 (5/23), at the 9 th month was %30.4 (7/23), at the 12 th month was %34,8 (8/23). Age (p:0,825), gender (p>0.05) , lamivudin treatment duration (p=0.392) , IFN therapy before the use of lamivudin (p:0.99) and HAI at liver biyopsy before discontinuation of the treatment (p:0.087) were not significantly different between two groups who had relapse or not. Also There was no difference in Basal biochemical values (ALT, total bilirubin, albumin, INR) between two groups. All of 8 patients who developed recurrence, HBV-DNA value at the time of recurrence was above 1×10^5 copy/ml. ALT value at the time of recurrence within normal limits in 4 patients and in 4 patients this value were detected above the normal limits. (%50). In none of 23 patients, no HBsAg loss was detected at the at the time of stopping the treatment and during the follow-up period . In conclusion, we have determined that after the discontinuation of the lamivudine treatment relapse occurred especially in the first year. No relationship was detected between any variables which was we monitored and relapse .

Key Words: HBeAg negative chronic hepatitis B, lamivudine, HBsAg, Biochemiacal and virologic relaps

8-KAYNAKLAR

1. Warren Levinson, Md, PhD, Ernest Jawetz Md, Ph D. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Lange Tıp Kitabı, Barış Kitabevi, 1998
2. Prof. Dr. Nurdan Tözün, Prof Dr. Halis Şimşek, Prof. Dr. Hasan Özkan, Prof Dr. İlkey Şimşek, Prof. Dr. Ali Gören. Klinik Gastroenteroloji ve Hepatoloji.MN Medikal ve Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
3. Robinson WS, Clyton, Greenman: DNA of a human hepatitis B virus candidate. J. Virol. 1974; 14:384-391
4. Anna S. F. Lok, Brian J. McMohan. AASLD Practice Guidelines. Chronic Hepatitis B. Hepatology 2007; 45 (2): 507-539
5. Man-Fung Yuen, Ching-Lung Lai, M.D., Effect of lamivudine therapy on the serum covalently closed-circular (ccc) DNA of chronic hepatitis B infection. Am J of Gastroenterology 2005; 100: 1099-1103
6. Buti M, Rodriguez-Frias F, ardi R. Hepatitis B virus genome variability and disease progression: the impact of pre-core mutants and HBV genotypes. J Clin Virol 2005; 34 (1): 79-82

7. Eren F, Tahan V, Türe F, Avşar E, Mert A, Tözün N, Kalaycı C. Do spontaneous YMDD motif mutations develop without lamivudin treatment. J Gastroenterol Hepatol 2004; 19 suppl: A774 (215)
8. Antonio Craxi, Cihan Yurdaydın, From viral pathobiology to treatment of hepatitis B virus infection EASL monothematic conference. Journal of Hepatology 44(2006) 1186-1195
9. Türe-Özdemir F, Duman D, Ertem D, Avşar E, Eren F, Özdoğan O, Kalaycı C, Aslan N, Bozdayı AM, Tözün N. Determination of hepatitis B genotips in patients with chronic hepatitis B virus infection in Turkey. Turk. J. Gastroeneterol 2005; 16(4): 183-87.
10. Bozdayı M, Bozkaya H, Türkyılmaz H, et al. Nucleotide divergences in the core promoter and precore region of genotype D hepatitis B virus in patients with persistently elevated or normal ALT levels. J. Clin. Virol. 2001; 21:91-101
11. Yalçın K, Değertekin H, Bahcecioğlu IH et al. Hepatitis B virus genotype D prevails in patients with persistently elevated or normal ALT levels in Turkey. Infection 2004; 32:24-29
12. Funk MI, Rosenberg DM, Lok AS. World-wide epidemiology of HBeAg negative chronic hepatitis B and associated with precore and core promoter variants. J Viral Hepat 2002; 9: 52-61
13. Mast EE, Mahoney FJ, Alter MJ, Margolis HS. Progress toward elimination of hepatitis B virus transmission in the United States. *Vaccine*. 1998;16(suppl):S48-S51

14. Alter MJ. Community acquired viral hepatitis B and C in the United States. *Gut*. 1993;34(2 suppl):S17-S19
15. Goldstein ST, Alter MJ, Williams IT, et al. Incidence and risk factors for acute hepatitis B in the United States, 1982-1998: implications for vaccination programs. *J Infect Dis*. 2002 Mar 15;185:713-719. Epub 2002 Feb 28.
16. Mast EE, Williams IT, Alter MJ, Margolis HS. Hepatitis B vaccination of adolescent and adult high-risk groups in the United States. *Vaccine*. 1998;16(suppl):S27-S29.
17. De Franchis R, Meucci G, Vecchi M, et al. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med*. 1993;118: 191-194.
18. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection—natural history and clinical consequences [published correction appears in *N Engl J Med*. 2004; 351:351]. *N Engl J Med*. 2004;350:1118-1129.
19. Villeneuve JP. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Virol*. 2005;34(suppl 1):S139-S142.
20. Eddleston AL, Mondelli M. Immunopathological mechanisms of liver cell injury in chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 1986;3(suppl 2):S17-S23.
21. Rapicetta M, Ferrari C, Levrero M. Viral determinants and host immune responses in the pathogenesis of HBV infection. *J Med Virol*. 2002;67:454-457.

22. Vassiliadis T, Garipidou V, Tziomalos K, Perifanis V, Giouleme O, Vakalopoulou S. Prevention of hepatitis B reactivation with lamivudine in hepatitis B virus carriers with hematologic malignancies treated with chemotherapy—a prospective case series. *Am J Hematol*. 2005;80:197-203.
23. Idilman R. Lamivudine prophylaxis in HBV carriers with haematooncological malignancies who receive chemotherapy. *J Antimicrob Chemother*. 2005 Jun;55:828-831. Epub 2005 Apr 22.
24. Lin PC, Poh SB, Lee MY, Hsiao LT, Chen PM, Chiou TJ. Fatal fulminant hepatitis B after withdrawal of prophylactic lamivudine in hematopoietic stem cell transplantation patients. *Int J Hematol*. 2005;81:349-351.
25. Yuki N, Nagaoka T, Yamashiro M, et al. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology*. 2003;37: 1172-1179.
26. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med*. 1996;2:1104-1108.
27. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, et al. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology*. 1998;27:1377-1382.
28. Marusawa H, Uemoto S, Hijikata M, et al. Latent hepatitis B virus infection in healthy individuals with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology*. 2000;31:488-495.
29. Blanpain C, Knoop C, Delforge ML, et al. Reactivation of hepatitis B after transplantation in patients with pre-existing anti-hepatitis B surface antigen

antibodies: report on three cases and review of the literature. *Transplantation*. 1998;66:883-886.

30. Coiffier B. Hepatitis B virus reactivation in patients receiving chemotherapy for cancer treatment: role of Lamivudine prophylaxis. *Cancer Invest*. 2006;24:548-552.
31. Hoofnagle JH. Serologic markers of hepatitis B virus infection. *Annu Rev Med*. 1981;32:1-11.
32. Ribeiro RM, Lo A, Perelson AS. Dynamics of hepatitis B virus infection. *Microbes Infect*. 2002;4:829-835.
33. Koff RS, Slavin MM, Connelly JD, Rosen DR. Contagiousness of acute hepatitis B: secondary attack rates in household contacts. *Gastroenterology*. 1977;72:297-300.
34. Kajino K, Jilbert AR, Saputelli J, Aldrich CE, Cullen J, Mason WS. Woodchuck hepatitis virus infections: very rapid recovery after a prolonged viremia and infection of virtually every hepatocyte. *J Virol*. 1994;68:5792- 5803.
35. McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis*. 1985;151:599-603.
36. Beasley RP, Trepo C, Stevens CE, Szmuness W. The e antigen and vertical transmission of hepatitis B surface antigen. *Am J Epidemiol*. 1977;105: 94-98.

37. Tassopoulos NC, Papaevangelou GJ, Sjogren MH, Roumeliotou- Karayannis A, Gerin JL, Purcell RH. Natural history of acute hepatitis B surface antigen-positive hepatitis in Greek adults. *Gastroenterology*. 1987;92: 1844-1850.
38. Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, et al. Incidence of hepatitis B virus infections in preschool children in Taiwan. *J Infect Dis*. 1982;146:198-204.
39. Wright TL, Mamish D, Combs C, et al. Hepatitis B virus and apparent fulminant non-A, non-B hepatitis. *Lancet*. 1992;339:952-955.
40. Surakit Pungpapong, MD; W. Ray Kim, MD; and John J. Poterucha, MD, Natural history of hepatitis b virus infection: An update for clinicians. *Mayo clin proc*. 2007;82(8):967-975
41. Chung HT, Lai CL, Lok AS. Pathogenic role of hepatitis B virus in hepatitis B surface antigen-negative decompensated cirrhosis. *Hepatology*. 1995;22:25-29.
42. Sung JJ, Chan HL, Wong ML, et al. Relationship of clinical and virological factors with hepatitis activity in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B virus-infected patients. *J Viral Hepat*. 2002;9:229-234.
43. Funk ML, Rosenberg DM, Lok AS. World-wide epidemiology of HBeAg-negative chronic hepatitis B and associated precore and core promoter variants. *J Viral Hepat*. 2002;9:52-61.
44. Brunetto MR, Giarin MM, Oliveri F, et al. Wild-type and e antigenminus hepatitis B viruses and course of chronic hepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88:4186-4190.

45. Chu CJ, Keeffe EB, Han SH, et al, US HBV Epidemiology Study Group. Prevalence of HBV precore/core promoter variants in the United States. *Hepatology*. 2003;38:619-628.
46. Carman WF, Jacyna MR, Hadziyannis S, et al. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet*. 1989;2:588-591.
47. Lok AS, Akarca U, Greene S. Mutations in the pre-core region of hepatitis B virus serve to enhance the stability of the secondary structure of the pre-genome encapsidation signal. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91:4077- 4081.
48. Okamoto H, Tsuda F, Akahane Y, et al. Hepatitis B virus with mutations in the core promoter for an e antigen-negative phenotype in carriers with antibody to e antigen. *J Virol*. 1994;68:8102-8110.
49. Hsu YS, Chien RN, Yeh CT, et al. Long-term outcome after spontaneous HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2002;35:1522-1527.
50. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2001;34(4 pt 1):617-624.
51. Yim HJ, Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology*. 2006;43(2 suppl 1):S173-S181.
52. Brunetto MR, Oliveri F, Coco B, et al. Outcome of anti-HBe positive chronic hepatitis B in alpha-interferon treated and untreated patients: a long term cohort study. *J Hepatol*. 2002;36:263-270.

53. Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Quantitative serum HBV DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection. *Hepatology*. 2002;36: 1408-1415.

54. Ganem D, Schneider RJ. Hepadnaviridae and their replication. In: Knipe DM, Howley C, editors. *Fields: in virology*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 2001. p. 2703–2737.

55. Brunetto MR, Stemler M, Schoedel F, Will H, Ottobrelli A, Rizzetto M, et al. Identification of HBV variants which cannot produce precore derived HBeAg and may be responsible for severe hepatitis. *Ital J Gastroenterol* 1989;21:151–154.

56. Carman WF, Jacyna MR, Hadziyannis SJ, Karayiannis P, McGarvey MJ, Makri A, Thomas HC. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1989; I:588–590.

57. Lok AS, Heathcote J, Hoofnagle JH. Management of Hepatitis B: 2000 – Summary of a Workshop. *Gastroenterology* 2001;120:1828–1853. 1 The cut-off has to be defined by prospective studies. 2 In presence of HCV and HDV markers coexisting HBV infection and disease can be diagnosed only if HBV-DNA is.104 genome equivalents or copies per ml and/or anti-HBc IgM levels are .4 Paul Ehrlich Institute Unit. F. Bonino, M.R. Brunetto / *Journal of Hepatology* S162 39 (2003) S160–S163

58. Brunetto MR, Aragon Rodriguez U, Bonino F. Hepatitis B virus mutant. *Intervirology* 1999;42:69–80.

59. Hadziyannis SJ. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: from clinical recognition to pathogenesis and treatment. *Viral Hepat Rev* 1995;1:7–36.

60. Li JS, Tong SP, Wen YM, Vitvitski L, Zhang Q, Trepo C. Hepatitis B virus genotype A rarely circulates as a HBe-minus mutant: possible contribution of a single nucleotide in the precore region. *J Virol* 1993; 67:5402–5410.
61. Lai ME, Solinas A, Mazzoleni AP, et al. The role of pre-core hepatitis B virus mutants on the long-term outcome of chronic hepatitis B virus hepatitis: a longitudinal study. *J Hepatol.* 1994;20:773-781.
62. Naoumov NV, Schneider R, Grotzinger T, et al. Precore mutant hepatitis B virus infection and liver disease. *Gastroenterology.* 1992;102:538-543.
63. Di Marco V, Lo Iacono O, Camma C, et al. The long-term course of chronic hepatitis B. *Hepatology.* 1999;30:257-264.
64. Zarski JP, Marcellin P, Cohard M, Lutz JM, Bouche C, Rais A, French Multicentre Group. Comparison of anti-HBe-positive and HBe-antigen-positive chronic hepatitis B in France. *J Hepatol.* 1994;20:636-640.
65. Papatheodoridis GV, Dimou E, Dimakopoulos K, et al. Outcome of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B on long-term nucleos(t)ide analog therapy starting with lamivudine. *Hepatology.* 2005;42:121-129.
66. Papatheodoridis GV, Manesis E, Hadziyannis SJ. The long-term outcome of interferon-alpha treated and untreated patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Hepatol.* 2001;34:306-313.

67. Brunetto MR, Oliveri F, Rocca G, et al. Natural course and response to interferon of chronic hepatitis B accompanied by antibody to hepatitis B e antigen. *Hepatology*. 1989;10:198-202.
68. Ferruccio Bonino, Maurizia Rossana Brunetto. Chronic hepatitis B e antigen (HBeAg) negative, anti-HBe positive hepatitis B: an overview, *Journal of Hepatology* 39 (2003) S160–S163
69. Brian J. Mc Mahon , M.D. Selecting appropriate management strategies for chronic hepatitis B : Who to treat. *Am J Gastroenterol* 2006;101: S7-S12
70. Fattovich G, Brollo L, Alberti A, Pontisso P, Giustina G, Real di G. Long-term follow-up of anti-HBe-positive chronic active hepatitis B. *Hepatology*. 1988;8:1651-1654.
71. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, Chen TJ. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology*. 1988;8: 493-496.
72. Fung SK, Lok AS. Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? [editorial]. *Hepatology*. 2004;40:790-792.
73. Ohnishi K, Iida S, Iwama S, et al. The effect of chronic habitual alcohol intake on the development of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma: relation to hepatitis B surface antigen carriage. *Cancer*. 1982;49:672-677.
74. Liaw YF, Chen YC, Sheen IS, Chien RN, Yeh CT, Chu CM. Impact of acute hepatitis C virus superinfection in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*. 2004;126:1024-1029.

75. Thio CL, Seaberg EC, Skolasky R Jr, et al, Multicenter AIDS Cohort Study. HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). *Lancet*. 2002;360:1921-1926.
76. Beasley RP. Hepatitis B virus: the major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 1988;61:1942-1956.
77. McMahon BJ, Holck P, Bulkow L, Snowball M. Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. *Ann Intern Med*. 2001;135:759-768.
78. Tsubota A, Arase Y, Ren F, Tanaka H, Ikeda K, Kumada H. Genotype may correlate with liver carcinogenesis and tumor characteristics in cirrhotic patients infected with hepatitis B virus subtype adw. *J Med Virol*. 2001;65:257-265.
79. Chen CJ, Yang HI, Su J, et al, REVEAL-HBV Study Group. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*. 2006;295:65-73.
80. Benvegnu L, Gios M, Boccato S, Alberti A. Natural history of compensated viral cirrhosis: a prospective study on the incidence and hierarchy of major complications. *Gut*. 2004;53:744-749.
81. Yu MW, Chang HC, Liaw YF, et al. Familial risk of hepatocellular carcinoma among chronic hepatitis B carriers and their relatives. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92:1159-1164.

82. Donato F, Tagger A, Gelatti U, et al. Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. *Am J Epidemiol.* 2002;155:323-331.
83. Yuan JM, Govindarajan S, Arakawa K, Yu MC. Synergism of alcohol, diabetes, and viral hepatitis on the risk of hepatocellular carcinoma in blacks and whites in the US. *Cancer.* 2004;101:1009-1017.
84. Yu MW, Yeh SH, Chen PJ, et al. Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:265-272.
85. Baptista M, Kramvis A, Kew MC. High prevalence of 1762(T) 1764(A) mutations in the basic core promoter of hepatitis B virus isolated from black Africans with hepatocellular carcinoma compared with asymptomatic carriers. *Hepatology.* 1999;29:946-953.
86. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Gastroenterology.* 2003;124:327-334.
87. Bartholomeusz A, Locarnini SA. Antiviral drug resistance: clinical consequences and molecular aspects. *Semin Liver Dis* 2006;26:162-170.
88. Fung SK, Chae HB, Fontana RJ, Conjeevaram H, Marrero J, Oberhelman K, et al. Virologic response and resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2006;44:283-290.

89. Yim HJ, Hussain M, Liu Y, Wong SN, Fung S, Lok A. Evolution of multi-drug resistant hepatitis B virus during sequential therapy: implications on rescue therapy. *HEPATOLOGY* 2006;44:703-712.
90. Schiff ER, Dienstag JL, Karayalcin S, Grimm IS, Perrillo RP, Hsu P, et al. Lamivudine and 24 weeks of lamivudine/interferon combination therapy for hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B in interferon nonresponders. *J Hepatol* 2003;38:818-826.
91. Tassopoulos NC, Volpes R, Pastore G, Heathcote J, Buti M, Goldin RD, et al. Efficacy of lamivudine in patients with hepatitis B e antigen-negative/hepatitis B virus DNA-positive (precore mutant) chronic hepatitis B. Lamivudine Precore Mutant Study Group. *HEPATOLOGY* 1999;29:889-896.
92. Santantonio T, Mazzola M, Iacovazzi T, Miglietta A, Guastadisegni A, Pastore G. Long-term follow-up of patients with anti-HBe/HBV DNA-positive chronic hepatitis B treated for 12 months with lamivudine. *J Hepatol* 2000;32:300-306.
93. Lok AS, Hussain M, Cursano C, Margotti M, Gramenzi A, Grazi GL, et al. Evolution of hepatitis B virus polymerase gene mutations in hepatitis B e antigen-negative patients receiving lamivudine therapy. *HEPATOLOGY* 2000;32:1145-1153.
94. Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV, Dimou E, Laras A, Papaioannou C. Efficacy of long-term lamivudine monotherapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *HEPATOLOGY* 2000;32: 847-851.
95. Lau DT, Khokhar MF, Doo E, Ghany MG, Herion D, Park Y, et al. Long-term therapy of chronic hepatitis B with lamivudine. *HEPATOLOGY* 2000;32:828-834.

96. Papatheodoridis GV, Dimou E, Dimakopoulos K, Manolakopoulos S, Rapti I, Kitis G, et al. Outcome of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B on long-term nucleos(t)ide analog therapy starting with lamivudine. *HEPATOLOGY* 2005;42:121-129.
97. Fung SK, Wong F, Hussain M, Lok AS. Sustained response after a 2-year course of lamivudine treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2004;11:432-438.
98. Rizzetto M, Volpes R, Smedile A. Response of pre-core mutant chronic hepatitis B infection to lamivudine. *J Med Virol* 2000;61:398-402.
99. Papatheodoridis GV, Dimou E, Laras A, Papadimitropoulos V, Hadziyannis SJ. Course of virologic breakthroughs under long-term lamivudine in HBeAg-negative precore mutant HBV liver disease. *HEPATOLOGY* 2002;36:219-226.
100. Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW, Tipples GA, Walters KA, Tyrrell DL, Brown N, et al. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. Lamivudine Clinical Investigation Group. *HEPATOLOGY* 1998;27:1670-1677.
101. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, Richman DD, Carman WF, Dienstag JL, Schinazi RF. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *HEPATOLOGY* 2001;33:751-757.
102. Chang TT, Lai CL, Chien RN, Guan R, Lim SG, Lee CM, et al. Four years of lamivudine treatment in Chinese patients with chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:1276-1282.

103. Yuen MF, Sablon E, Hui CK, Yuan HJ, Decraemer H, Lai CL. Factors associated with hepatitis B virus DNA breakthrough in patients receiving prolonged lamivudine therapy. HEPATOLOGY 2001;34:785-791.
104. Melegari M, Scaglioni PP, Wands JR. Hepatitis B virus mutants associated with 3TC and famciclovir administration are replication defective. HEPATOLOGY 1998;27:628-633.
105. Ono-Nita SK, Kato N, Shiratori Y, Masaki T, Lan KH, Carrilho FJ, et al. YMDD motif in hepatitis B virus DNA polymerase influences on replication and lamivudine resistance: A study by in vitro full-length viral DNA transfection. HEPATOLOGY 1999;29:939-945.
106. Liaw YF, Chien RN, Yeh CT, Tsai SL, Chu CM. Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of YMDD motif mutation during lamivudine therapy. [see comments]. HEPATOLOGY 1999;30:567-572.
107. Bartholomew MM, Jansen RW, Jeffers LJ, Reddy KR, Johnson LC, Bunzendahl H, et al. Hepatitis-B-virus resistance to lamivudine given for recurrent infection after orthotopic liver transplantation. [see comments]. Lancet 1997;349:20-22.
108. 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 1996;24:714-717.
109. Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. N Engl J Med 2004;351:1521-1531.

110. Lok AS, Zoulim F, Locarnini S, Bartholomeusz A, Ghany MG, Pawlotsky JM, Liaw YF, Mizokami M, Kuiken C; Hepatitis B Virus Drug Resistance Working Group. Antiviral drug-resistant HBV: standardization of nomenclature and assays and recommendations for management. *Hepatology*. 2007 Jul;46(1):254-65.
111. Di Marco V, Marzano A, Lampertico P, Andreone P, Santantonio T, Almasio PL, Rizzetto M, Craxì A; Italian Association for the Study of the Liver (AISF) Lamivudine Study Group, Italy. Clinical outcome of HBeAg-negative chronic hepatitis B in relation to virological response to lamivudine. *Hepatology*. 2004 Oct;40(4):883-91.
112. In Du Jeong, Neung Hwa Park, Byung Chul Kim, Jee Hyun Park, Kwang Won Seo, Dae Hyun Kim, Kwang Ro Joo, Do Ha Kim. Efficacy of lamivudine in Patients with Hepatitis B e Antigen-Negative Chronic Liver Disease. *Korean J Hepatology* 2003; 9:69-78
113. Norio Akutaa, Fumitaka Suzukia, Mariko Kobayashib, Marie Matsudab, Junko Satob, Yoshiyuki Suzukia, Hitomi Sezakia, Tetsuya Hosakaa, Takashi Someyaa, Masahiro Kobayashia, Satoshi Saitoha, Yasuji Arasea, Kenji Ikedaa, Hiromitsu Kumadaa. Virological and Biochemical Relapse after Discontinuation of Lamivudine Monotherapy for Chronic Hepatitis B in Japan: Comparison with Breakthrough Hepatitis during Long-Term Treatment. *Intervirology* 2005;48:174–182.
114. Ji Hoon Kim, Sun Jae Lee, Moon Kyung Joo, Chung Ho Kim, Jong Hwan Choi, Young Kul Jung, Hyung Joon Yim, Jong Eun Yeon, Jong Jae Park, Jae Seon Kim, Young Tae Bak, Kwan Soo Byun. Durability of Antiviral Response in HBeAg Positive Chronic Hepatitis B Patient Who Maintained Virological Response for One Year After Lamivudine Discontinuation. *Virology* 2009 54(7): 1572-7