

32987

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

HEPATİT B VİRÜS İNFEKSİYONLU OLGULARDA  
CİLT TESTLERİ İLE ÖLÇÜLEN  
HÜCRESEL İMMÜNİTENİN  
LENFOSİT SUBPOPÜLASYONU İLE  
KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

İsmail Yaşar AVCI  
Tbp.Yzb.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ANKARA-1994

## ÖNSÖZ

Bu tez, G.A.T.A. Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D. Başkanı Doç. Dr. Aziz HACIBEKTAŞOĞLU tarafından 7 NİSAN 1992 tarih ve İNF.HST:9034-191-92 sayılı emir ile verilmiştir.

Hepatit B virüs enfeksiyonu akut dönemde iş gücü kaybı, taşıyıcılık oranının fazlalığı, kronikleşme oranının yüksek olması, siroz ve hepatosellüler karsinoma gelişme riskleri nedeni ile tüm dünya ülkelerinde önemini korumaktadır. Enfeksiyonun patogeneğinde hücrel immün mekanizmalar önemli bir yer tutmaktadır ve hatta taşıyıcılık durumuna dönüş, kronikleşme ve diğer sekellerde hücrel immün mekanizmaların önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bu nedenle Hepatit B virüs enfeksiyonlu olgularda hücrel immüniteyi cilt testleri ile ölçtük ve aynı olgularda Flow Cytometry ile lenfosit subpopülasyonunu inceleyerek sonuçlarını karşılaştırdık.

Bu tezin hazırlanması ve eğitimim süresince değerli katkıları ile yetişmemde emeği geçen başta Ana Bilim Dalı başkanımız Doç. Dr. Aziz HACIBEKTAŞOĞLU'na, tez danışmanım Doç. Dr. M. Pekcan DEMİRÖZ'e, öğretim üyelerimiz Doç. Dr. Alaaddin PAHSA, Doç. Dr. Ş. Volkan ÖZGÜVEN, Yrd. Doç. Dr. Demir ERTEM, Yrd. Doç. Dr. Fatih Tekin ÖZER, Yrd. Doç. Dr. Saim DAYAN'a, tezimin hazırlanışı, immünolojik testlerin çalışılması ve yazımı sırasındaki değerli katkı ve yardımlarından dolayı Uz. Dr. Ali ŞENGÜL ve Uz. Dr. Can Polat EYİĞÜN'e, yaptığım istatistik hesaplamalarını titizlikle kontrol eden Doç. Dr. Aziz AKGÜL ve Dr. Nurcan KOÇAK'a, eğitimim süresince büyük uyum içinde çalıştığım uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma ve kliniğimizin değerli hemşirelerine, olgularımın testlerinin çalışılması esnasında yoğun emek sarfeden başta Biolog Aysel PEKEL ve Biolog Songül ÇIRAK olmak üzere tüm İmmünoloji B.D. personeline, tezimin dizgi ve basımında yardımlarını esirgemeyen Top. Yb. Haldun ERERDEM ve Top. Kd. Ütgm. Bülent ŞATANA'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

**Dr. İsmail Yaşar AVCI**

# İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER	2
A. HEPATİT B VİRÜS İNFEKSİYONU	2
1. ETKEN	3
2. HBV MARKERLERİ	4
3. EPİDEMİYOLOJİ	6
4. İMMÜNOPATOGENEZ ve PATOLOJİ	7
5. HBV ve LENFOSİT SUBPOPÜLASYONU	10
6. KLİNİK SEYİR ve PROGNOZ	12
7. TEDAVİ	16
8. KORUNMA	16
B. HÜCRESEL İMMÜNİTE ve LENFOSİTLER	16
1. LENFOSİT SUBPOPÜLASYONU	17
2. LENFOSİT YÜZEY MARKERLERİ	20
C. CİLT TESTLERİ	21
1. CİLT YANITININ İMMÜNOLOJİSİ	22
2. CİLT YANITININ HİSTOPATOLOJİSİ	23
3. CİLT TESTLERİNİN KULLANIM ALANLARI	23
4. CİLT TESTLERİNİN UYGULANMA YÖNTEMLERİ	23
III. GEREÇ ve YÖNTEM	25
IV. BULGULAR	30
V. TARTIŞMA ve SONUÇ	42
VI. ÖZET	50
VII. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	51
VIII. KAYNAKLAR	53

## GİRİŞ

Günümüzün önemli sağlık sorunlarından biri olma özelliğini koruyan Hepatit B Virüs (HBV) infeksiyonu, primer olarak karaciğeri tutan sistemik bir infeksiyon hastalığıdır<sup>(87)</sup>. HBV infeksiyonunda poliartrit, glomerülonefrit, polymyalgia rheumatica, Guillain-Barré Sendromu, miyokardit, cilt döküntüleri, artralji, poliarteritis nodosa gibi bir çok ekstrahepatik klinik tablolar ortaya çıkmaktadır<sup>(79)</sup>. Bu tablolar, hastalık primer olarak karaciğeri tutsa da, sistemik bir infeksiyon hastalığı olma özelliğini ortaya koymaktadır. HBV sitopatik bir virüs değildir<sup>(80)</sup>. Birçok kronik taşıyıcının serumlarında yüksek konsantrasyonda viral partiküller bulunmasına karşın, karaciğer hastalığının bulunmaması, infeksiyonun bu özelliğini desteklemektedir<sup>(46)</sup>.

HBV'ye karşı konakçının cevabı sitotoksik T lenfositler (STL) ve Natural Killer (NK) hücrelerin oluşturduğu hepatosit nekrozu ile karakterizedir. HBV infeksiyonunda hepatosit nekrozu muhtemelen hepatosit yüzeyindeki membran antijenlerine ve/veya HBV'nin direkt olarak kendisine yönelmiş T hücre sitotoksitesinin bir sonucudur<sup>(80)</sup>. T hücreler, hücresele immün mekanizmanın önemli bir komponenti olup bireyin hücresele immünitesi çeşitli yöntemler ile değerlendirilebilmektedir<sup>(81)</sup>. Cilt testleri ve lenfosit subpopülasyonunun incelenmesi, hücresele immünitenin değerlendirilmesinde kullanılan major yöntemlerdir<sup>(17,18)</sup>. Bu çalışma HBV infeksiyonlu olguların cilt testleri ile ölçülen hücresele immünitelerinin Flow Cytometry yöntemi ile ölçülen lenfosit subpopülasyonları ile karşılaştırılmasını ve aradaki bağıntıyı belirleyerek HBV infeksiyonunda görülen klinik tabloların hücresele immünite ile ilişkisini göstermeyi amaçlamaktadır.

## GENEL BİLGİLER

Viral hepatitler primer olarak karaciğer parankim hücrelerinde inflamasyon ve nekroz oluşturan sistemik infeksiyon hastalıklarıdır<sup>(1)</sup>. Viral hepatitlerin çoğunluğu primer hepatotropik virüsler (A,B,C,D ve E virüsleri) tarafından oluşturulmakla birlikte bazı diğer sistemik viral infeksiyonların seyri esnasında da (Ebstein-Barr Virüsü, Cytomegalovirus, Herpes Simplex Virus, Varicella Zoster Virus, Rubeola, Rubella, Cocksackie B, Adenovirus gibi) sekonder olarak görülebilmektedir. Ayrıca Marburg, Ebola ve Lassa gibi ekzotik virüslerle de hepatit oluşabilmektedir. Ancak viral hepatitlerin % 44 gibi önemli bir bölümü HBV tarafından oluşturulmaktadır<sup>(37)</sup>.

### A. HEPATİT B VİRÜS İNFEKSİYONU :

Viral hepatitler, Hippocrates zamanından beri epidemik sarılık adı altında bilinmekle birlikte, 751 yılında ilk kez Papa Zucharras tarafından kaleme alınmıştır. Günümüze kadar özellikle savaş zamanlarında olmak üzere bir çok hepatit epidemisine rastlanmıştır<sup>(48)</sup>.

1965 yılında Blumberg tarafından bugün Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) olarak adlandırılan Avusturalya (Au) Antijeninin keşfi HBV infeksiyonunda önemli gelişmelere bir başlangıç olmuştur<sup>(10)</sup>. 1970'li yıllarda HBV infeksiyonunun siroz ve hepatosellüler karsinoma (HSK) ile istatistiksel bağlantısı saptanmış ve bu klinik tabloların HBV infeksiyonunun bir sekeli olabileceği bildirilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda da HBV infeksiyonunun ve sekellerinin patogeneğinde immünitenin rolü ortaya konmuştur<sup>(48)</sup>.

## 1.ETKEN :

HBV, Hepadnaviridae familyasına ait bir DNA virüsüdür. DNA, DNA polimeraz-reverse transkriptaz, protein kinaz, Hepatit B Kor Antijen (HBcAg) içeren 27 nm. çaplı ikozahedral nükleokapsid ve 7 nm. çapında bir zarf içeren 42 nm. çapındaki sferik DANE partikülü ile 22 nm. çaplı sferik ve 200 nm.'ye uzanan boyutlarda 22 nm. çaplı tübüler partiküller içerir<sup>(57)</sup>.

HBV genomu kısmen çift sarmal, DNA içermektedir. Klonlanmış HBV genomunun, sekansiyel analizi yapılmış S,C,X ve P bölgeleri olarak da adlandırılan ve protein kodlayan 4 Open Reading Frame (ORF) içerdiği<sup>(77)</sup>, ancak ORF-5 ve ORF-6 olarak adlandırılan ve görevi tam olarak ortaya konamamış iki ilave ORF'nin de bulunduğu bildirilmiştir<sup>(60)</sup>.

HBV zarfının temel antijenik materyeli, aynı zamanda HBsAg'nin de major proteini olup ORF-S tarafından kodlanır ve 226 amino asit içermektedir. Zarf yapısında HBsAg'nin major proteinine ilave olarak Pre-S2 ve ORF-S tarafından kodlanan middle (orta) protein ile Pre-S1, Pre-S2 ve ORF-S tarafından kodlanan large (büyük) protein de bulunur.

ORF-C, HBcAg ve HBeAg'nin kodlanmasından, ORF-P DNA polimeraz-reverse transkriptaz aktivitelerden, ORF-X ise, HBV X proteininin kodlanmasından sorumludur<sup>(47)</sup>.

Karaciğer, HBV infeksiyonundaki major hedef organ olmakla birlikte, HBV replikasyonunun olduğu tek yer olmayabilir<sup>(87)</sup>. HBV-DNA ve HBV antijenlerinin insan kemik iliği, periferik kan lökositleri, dalak, böbrek, safra kanalı epiteli, pankreas, vasküler yapılarda saptanmış olması ekstrahepatik replikasyonun olabileceğini düşündürmektedir<sup>(19,94)</sup>.

HBV 60°C'de 4 saat, oda ısısında 6 ay kadar, -10,-20°C'de 4,5 yıl canlı kalabilmektedir. 60°C'de 10 saatte inaktive olur. Fenole dirençli fakat klor, formol ve buhar ile sterilizasyona duyarlıdır<sup>(80)</sup>.

## 2.HBV MARKERLERİ :

HBV infeksiyonunun tanısında ve hastalığın takibinde bazı viral antijenler (Ag) ve bu antijenlere karşı gelişmiş spesifik antikordardan (Ab) yararlanılmaktadır.

### HBsAg ve Anti-HBs

HBsAg; virüsün zarf antijeni olup, HBV'nin varlığını gösterir. Virüsün inkübasyon periyodunda, serum transaminaz düzeylerinin yükselmesinden 2-4 hafta önce, ikter ve diğer klinik bulgulardan 3-5 hafta önce serumda saptanabilir düzeye ulaşır<sup>(85)</sup>. Kronikleşen olgularda 6 aydan daha uzun bir süre varlığını sürdürmektedir<sup>(60)</sup>.

Anti-HBs; HBsAg'ye karşı gelişen iyileşmenin, HBsAg klirensinin ve immünizasyonun göstergesi olup, kronik HBV infeksiyonlu olguların 1/3'ünde (% 33) HBsAg ve anti-HBs aynı zamanda saptanabilmektedir. Akut HBV infeksiyonunda % 15 olguda HBsAg'nin kaybolmasına rağmen anti-HBs saptanamayabilir<sup>(77)</sup>.

### HBeAg ve Anti-HBe

HBeAg; HBsAg ile aynı zamanlarda beliren ancak daha önce kaybolan, aktif replikasyonun ve infeksiyözitenin göstergesi olarak yorumlanan bir markerdir. 10 haftadan daha fazla bir süre varlığı, infeksiyonun kronikleşebileceğini düşündürür. HBeAg'ye karşı gelişen anti-HBe, infeksiyözitenin azaldığının göstergesidir<sup>(77)</sup>. Anti-HBe uzun süre pozitif kalabilir<sup>(46)</sup>.

### HBcAg ve Anti-HBc

HBcAg virüsün kor antijeni olup serumda saptanamaz. Ancak immünohistokimyasal yöntemler ile karaciğer biyopsi örneklerinde gösterilebilmektedir<sup>(1)</sup>. İmmünglobulin (Ig) M yapısındaki anti-HBc; HBsAg'nin saptanamadığı % 5-10 erken konvalesan dönemi ve fulminan hepatitli akut HBV infeksiyonu olgularında tanısal değere sahip tek serolojik markerdir<sup>(1,69,86)</sup>. Tam iyileşmenin geliştiği olgularda en geç 6 ayda kaybolur<sup>(78,86)</sup>. Persistansı kronikleşmeyi desteklemektedir<sup>(76,86)</sup>. IgM yapısındaki anti-HBc antikordlar

HBsAg'den daha uzun süre kalırlar<sup>(14)</sup>. IgG yapısındaki anti-HBc daha geç oluşur, genelde ömür boyu kalıcıdır ve virüs ile karşılaştığının göstergesidir<sup>(77)</sup>.

### **HBV-DNA**

Akut HBV infeksiyonunun erken fazında serumda saptanabilir. İyileşmeyle sonuçlanacak olgularda birkaç hafta sonra kaybolur. Uzun süreli varlığı ise viral replikasyonun ve infeksiyözitenin sürdüğünü, infeksiyonun persistansını gösterir. Genel olarak da HBeAg ve HBV-DNA paralellik gösterir. HBV-DNA virüs replikasyonunun tek başına iyi bir göstergesi olarak kabul edilmektedir<sup>(1,38,75,82)</sup>.

### **HBV DNA Polimeraz ve Anti-DNA Polimeraz**

DNA-polimeraz, HBV genomunun 3/4'ünü oluşturan P genince kodlanır. İnfekte kişilerin karaciğerinde DNA polimeraz gösterilebilirken, serumlarında da anti-DNA polimeraz antikoru saptanabilmektedir. Anti-DNA polimeraz antikoru HBV infeksiyonunun erken markeri olduğu ve kronik olgularda devam eden HBV replikasyonu ile direkt ilgili olduğu gözlenmiştir. Viral klirensten sonra negatifleşir<sup>(53,88)</sup>.

### **HBxAg ve Anti-HBx**

Hepatositlerin stoplazmasında ve nükleusunda bulunan, yapısal olmayan bir antijendir. Genel olarak promotor bölgelerin transaktivasyonunda rol oynadığı kabul edilmektedir. Hepatositlerdeki Major Histocompatibility Complex (MHC) class I ekspresyonunu arttırdığı da ileri sürülmüştür. Bu özellikleri ile HBV infeksiyonunun patogeneğinde rol oynamaktadır. Ayrıca HBxAg'nin serumda da saptandığı bildirilmiştir. Anti-HBx ise akut infeksiyonun erken fazında ve kronik infeksiyon sırasında serumda sentetik peptidlerle saptanmakta olup titrasyonu ve prevalansı HBV infeksiyonunun şiddetiyle paralellik göstermektedir. Anti-HBx ile HSK arasında da ilişki olabileceği bildirilmekle birlikte, henüz kesinleşmemiştir<sup>(1,53,88)</sup>.

### **Pre-S1Ag, Anti-Pre-S1 ve Pre-S2, Anti-Pre-S2**

HBV genomunun Pre-S1 ve Pre-S2 bölgeleri, HBsAg'nin proteinlerinin bir kısmını kodlarlar. HBV'nin hepatosite tutulumunda

Pre-S2 ile polimerize insan serum albumini arasında ilişki söz konusudur<sup>(46,47)</sup>. Bu antijenlere karşı oluşmuş antikorlar deneysel çalışmalarda saptanabilmektedir. Anti-Pre-S1 antikorların diagnostik ve prognostik bir anlamı saptanamamışken, anti-Pre-S2 antikorlarının oluşumu tam iyileşmenin görüleceğinin en erken göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, interferon tedavisinde anti-Pre-S2 antikorların yükselmesi tedavinin başarılı olacağıının göstergesi olarak kabul edilmektedir<sup>(12,93,96)</sup>.

### 3.EPIDEMİYOLOJİ :

Bugün dünyada 350 milyondan fazla HBsAg taşıyıcısı bulunmakta ve her yıl 50 milyon yeni HBV olgusu ortaya çıkmaktadır. Yine her yıl yaklaşık 1-2 milyon kişi HBV enfeksiyonu ve sekelleri nedeni ile hayatını kaybetmektedir<sup>(2,77,80)</sup>.

HBV enfeksiyonu coğrafi bölgelere göre oldukça farklı prevalans göstermektedir<sup>(25,46)</sup>. ABD gibi gelişmiş ülkelerde HBV ile karşılaşma oranı % 5 civarında seyrederken, ülkemizde % 40'larda (% 26.2-68.8) seyretmektedir. HBsAg taşıyıcılığı oranı da ABD için % 0.1-0.2 iken ülkemiz için % 8.7 civarındadır<sup>(2,34,80)</sup>.

HBV parenteral yoldan bulaşan bir enfeksiyon hastalığıdır. Cinsel ilişki, perinatal, nadiren de horizontal yol ile bulaşım söz konusudur. Dışkı hariç kan, tükürük, semen, idrar, ter, süt ve vajinal sekresyonlar gibi hemen hemen tüm vücut sıvılarında bulunmaktadır. Kan, semen ve vajinal sekresyonlar daha yoğun olarak HBV içerdiklerinden bulaşmada daha fazla önem kazanmaktadır<sup>(2,23,78,80)</sup>.

HBV için risk grupları arasında çok eşli homoseksüel veya heteroseksüel ilişki kuranlar, damar içi ilaç kullananlar, kan ve kan ürünleri kullanma zorunluluğu taşıyan hastalar, başta cerrahlar ve diş hekimleri olmak üzere sağlık personeli gelmektedir<sup>(2,77,80)</sup>. HBV ile kontamine iğnenin batması durumunda bulaş ihtimali % 5 civarındayken bulaşan kanda HBeAg pozitifliği söz konusu ise bu oran % 20'lere çıkmaktadır<sup>(46)</sup>. Bu nedenle sağlık personelinin genel

popülasyona oranla HBV ile karşılaşma riski % 5-15 kat daha fazladır<sup>(23,33,62,77,80)</sup>.

#### 4. İMMÜNOPATOGENEZ VE PATOLOJİ :

HBV sitopatik bir virüs değildir<sup>(57,80)</sup>. HBV, taşıyıcılığının parankimal karaciğer hasarı olmaksızın yıllarca sürmesi, fulminan karaciğer yetmezliğinde HBV replikasyonunun çok düşük düzeylerde olması, HBV'nin sitopatik olmadığını göstermektedir. Hasarın fazla olduğu karaciğer bölgelerinde de T lenfositlerin yüksek oranda bulunması ve immün sistemin stimülasyonu ile hepatosit nekrozunun artması, patogeneizde immün mekanizmaların rol oynadığını göstermektedir.

HBV taşıyıcılarının karaciğerlerinde bol miktarda HBV çoğalmasına ve HBV genomu ürünlerinin bulunmasına karşın, karaciğer histolojisi ve fonksiyonları normaldir. Bu olay için sitopatik etki dışında başka mekanizmaların devreye girmesi gerekmektedir. HBV infeksiyonundaki hepatosit hasarından hücrel immünite mekanizmalarının sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bunu destekleyen indirekt bulgular şunlardır:

1. HBV infeksiyonlu olguların karaciğerleri incelendiğinde, mononükleer hücreler ile hasarlı karaciğer arasında net bir bağıntı mevcuttur.

2. HBV ile infekte bireylerde immün regülasyonda değişimlerin olması ya da oluşturulması, karaciğerdeki hasarın derecesini etkilemektedir.

3. Agammaglobulinemili olgularda da HBV'nin neden olduğu karaciğer hasarı gözlenmektedir<sup>(31,46)</sup>.

Akut HBV infeksiyonunda rol alan hücrel immünite mekanizması bilinmemekle birlikte antikora bağımlı, hücrel sitotoksosite (Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity=ADCC), NK hücre aktivitesi ve MHC'ye sınırlı STL aktivitesinin olayda rol aldığı kabul edilmektedir. HBV gen ürünlerini sentezleyen ve özellikle yüzeylerinde HBcAg'yi eksprese eden hepatositler, stimüle olmuş

STL'ler tarafından yıkılır. STL'lerin virüs içeren hepatositleri tanıması ve tahrip edebilmesi için HBcAg'nin hepatosit yüzeyindeki MHC class I proteini ile birlikte bulunması gerekmektedir<sup>(32,55,90)</sup>. STL aktivitesinin yalnız HBcAg'ye spesifik olmadığı, infeksiyonun erken döneminde HBsAg'nin de bu sitotoksitede yerinin olabileceği konusunda önemli ipuçları vardır. Ancak HBcAg, HBsAg ve HBeAg'ye oranla daha fazla oranda immünolojik hedef olmaktadır. T lenfosit dışı sitotoksitede ise antikora bağımlı NK hücre aktivitesi rol oynamaktadır<sup>(15,68,90)</sup>.

HBV infeksiyonunun kronikleşmesindeki mekanizma da oldukça karışıktır ve halen tam olarak aydınlığa kavuşturulamamıştır. Epidemiyolojik veriler, kronikleşmenin gelişiminden viral faktörlerden çok konakçının sorumlu olduğunu düşündürmektedir<sup>(20,35,73)</sup>.

Kronik B hepatitlilerde interferon alfa (IFN- $\alpha$ ) oluşumu bloke ve yetersiz olarak saptanmıştır<sup>(54)</sup>. HBV infeksiyonlu olguların IFN düzeylerinde azalma görülmesinin veya artış göstermemesinin genetik nedenli olmadığı ve viral infeksiyona konakçının bozuk immünolojik cevabının sorumlu tutulabileceği bildirilmiştir. IFN eksikliği, virüsle infekte hepatositlerin MHC class I'lerinin ekspresyonlarında artışın gelişmemesine ve HBcAg'nin hepatosit nükleusundan stoplazmaya geçişinin aksamasına neden olmakta, dolayısıyla STL infekte hücreyi tanıyamamaktadır<sup>(32,64,83)</sup>. Yüksek titredeki anti-HBc'nin, STL'lere hedef olan hepatositlerdeki HBcAg'yi bloke ettiği gösterilmiştir. Bu şekilde, HBV'nin eradikasyonu önlenerek kronikleşmenin geliştiği ileri sürülmüştür<sup>(20)</sup>. HBeAg'nin HBcAg'ye spesifik STL reseptörleriyle çapraz-reaksiyon verdiği gösterilmiştir. HBeAg'nin yüksek düzeyde bulunması, STL reseptörlerini bloke ederek infekte hepatositlerle ilişkisini bozduğu düşünülmektedir<sup>(15,32,36)</sup>.

Kronik B hepatitte viral genomda spontan mutasyonların olduğu ve defektif viral partiküllerin bulunduğu saptanmıştır. Bu durum, virüs replikasyonunun bozulmasına ve persistansına neden olabilir<sup>(20)</sup>.

Akut ve kronik B hepatitlerinde Rozet İnhibitör Faktör (RİF) denilen düşük dansiteli bir lipoprotein oluşmaktadır. Bu faktör in vitro

olarak CD<sub>4</sub>+ (Cluster of Differentiation-Designation) T lenfositlerinin mitojenlere cevabını inhibe etmekte ve IgG sentezini baskılamaktadır. RIF, in vitro olarak anti-HBs yapımını da azaltmaktadır. Kronikleşen olgularda serumda persiste ettiği tesbit edilen RIF, kronikleşme ve taşıyıcılık açısından önemli olabilir<sup>(20,90)</sup>.

Kronik B hepatitinin patogeneğinde T ve B lenfositler ile monositlerin sayı ve fonksiyon bozukluklarının da rol aldığı ileri sürülmüştür<sup>(50)</sup>. Bu olgularda virüsün zarf proteinlerine (Pre-S1 ve Pre-S2) karşı oluşan nötralizan antikorların oluşumunda da bir bozukluk bildirilmiştir<sup>(20)</sup>. Kronik HBV enfeksiyonunda HBsAg'nin Pre-S2 bölümü karaciğere yönelen T hücrelerinin hedefi olarak gösterilmektedirler. T hücre fonksiyonunun azaldığı bireylerde karaciğer nekrozu muhtemelen daha düşük oranda olmakta, HBV eliminasyonu yarım kalmakta ve bu kişilerde hafif seyirli kronik HBV enfeksiyonu görülebilmektedir. T hücre fonksiyonu normal olan bireylerde ise akut hastalık daha ciddi seyretmekte fakat enfeksiyon sona ermektedir, Karaciğer HBsAg'den temizlenip anti-HBs gelişmektedir<sup>(80)</sup>.

Hücre sel bağlanma ve inflamasyon için gerekli olan hepatosit yüzey adezyon moleküllerinin [Lymphocyte Function-Associated Antigen 3 (LFA-3), Intercellüler Adhesion Molecule 1(ICAM-1)] yetersizliğinin de HBV enfeksiyonunun kronikleşmesinde rolü olabileceği üzerinde durulmuştur<sup>(32)</sup>.

Kronik taşıyıcı annelerden doğan çocuklarda HBV'nin persistansının IFN eksikliğine değil de immünolojik toleransa ve yenidoğanın immün sisteminin henüz tam gelişmemesine bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Viral persistansın ve kronikleşmenin major determinantı, bulaşın olduğu dönemde bireyin yaşı olduğuna göre immün tolerans da önemli bir rol oynuyor olabilir<sup>(74)</sup>. Plasentadan geçen HBeAg, infekte hepatositlerin yıkımında hedef olan nükleokapsid proteinlerine hücre sel immün cevabın gelişmesini engellemektedir. Ayrıca anneden geçen anti-HBc IgG, hedef olan HBcAg'leri bloke etmekte, STL'lerinin bu infekte hepatositleri tanımasını engellemektedir<sup>(15,20)</sup>.

HBV infeksiyonunda belirgin patoloji, sentrilobüler bölgede nekroz ve inflamasyondur. Lobüler yapı korunurken, lobülde ve genişlemiş portal alanlarda hücre infiltrasyonu belirgindir. Kronik olgularda "limiting plate"de segmental erozyon görülebilir<sup>(91)</sup>.

HBV infeksiyonlu karaciğerde hakim hücrenin mononükleer CD<sub>8</sub>+ hücreler olduğu gözlenmiştir. NK hücreleri de belirgindir. Karaciğerin mononükleer makrofajları olan Kupffer hücreleri hipertrofik ve hiperplaziktir. Bu histolojik görünümü ile Tip-IV Aşırı Duyarlılık Reaksiyonunu (ADR) andırmaktadır<sup>(75)</sup>.

Konakçı-virüs ilişkisi HBsAg pozitif bireylerde HBV-DNA'nın primer HSK hücrelerinin genomuna ve diğer normal konakçı hücrelerinin genomlarına integre olduğunun saptanmasıyla, konakçı ve virüs arasındaki ilişki daha da komplike hale gelmiştir. Bu DNA integrasyonu viral replikasyonla ilişkili değildir, hatta bazı olgularda bu integrasyon replikasyonu durdurur ve malign trasformasyonu yönlendirebilir. B hücre immünitesi yetersizliği olan bireylerde de akut veya kronik hepatit gelişebilmesi, olayın hücrel immünite bağıntısını ortaya koymaktadır<sup>(80)</sup>. Hücrel immünite durumunun karakteri ve derecesi, HBV infeksiyonun çeşitli formlarının oluşumunda belirteç rolü oynamaktadır<sup>(95)</sup>.

Geç inkübasyon periyodunda hepatik inflamasyonun başlamasından kısa bir süre önce veya başladığı dönemlerde bazı kişilerde artralji, cilt döküntüleri, vaskülit gibi ADR benzeri semptomlar görülebilir. Bunlar dolaşan antijen-antikor komplekslerine bağlıdır<sup>(37,77)</sup>.

## **5.HBV ve LENFOSİT SUBPOPÜLASYONU :**

HBV infeksiyonunun immünopatogenezinde rol alan hücrelerde, infeksiyonun klinik seyrine göre bir takım sayı ve fonksiyon değişikliklerinin saptanması doğaldır. Ancak bu değişikliklerin HBV'den mi kaynaklandığı, yoksa bu değişimlerin mi klinik seyri belirlediği bilinmemektedir. HBV infeksiyonunda oluşabilecek lenfosit subpopülasyonu değişiklikleri çeşitli çalışmalar ile araştırılmış ancak

HBV infeksiyonlu olgularda oluşan periferik lenfosit subpopülasyonu değişimleri konusunda henüz fikir birliğine varılamamıştır. Literatürde, akut HBV infeksiyonlu olgularda lenfosit subpopülasyonu değişimleri ile ilgili hiç bir çalışmaya rastlanılmamışken, bu konudaki çalışmalar daha çok taşıyıcı ve kronik HBV infeksiyonlu olgular ile sınırlı kalmıştır<sup>(58)</sup>.

HBsAg taşıyıcılarında CD<sub>8</sub> T lenfosit aktivitesinin artmış olarak<sup>(21)</sup> bulunduğu çalışmalara rastlanıldığı gibi, lenfosit subpopülasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı değişikliklerin bulunmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır<sup>(17)</sup>. HBeAg pozitif taşıyıcılarda lenfosit subpopülasyonlarında değişiklikler görülmesine rağmen anti-HBe pozitif olgularda değişikliğin bulunmadığını belirten çalışmalar bulunmaktadır<sup>(16)</sup>. Asemptomatik taşıyıcılarda CD<sub>4</sub>+ T lenfositler ile CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranının arttığı şeklinde yayınlar da bulunmaktadır<sup>(66)</sup>.

Kronik HBV infeksiyonlu olgularda belirgin bir T supresör hücre azalmasının saptandığı çalışmalar bulunduğu gibi<sup>(24)</sup>, CD<sub>4</sub>+ T lenfositleri azalmış, CD<sub>8</sub>+ T lenfositleri artmış ve buna bağlı olarak CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranının azalmış bulunduğunu belirten çalışmalar da bulunmaktadır<sup>(4,61)</sup>.

Periferik lenfosit subpopülasyonu değişimlerinin HBV'ye yönelik gerçek immünolojik durumu gösteremeyeceğini, gerçek immünolojik durumun intrahepatik hasar bölgesindeki CD<sub>8</sub>+ T hücrelere bağlı süpresyon ile bağlantılı olduğunu belirten çalışmalara rastlanmıştır<sup>(26)</sup>. İntrahepatik lenfosit subpopülasyonu incelemelerinde; anti-HBe pozitif olgularda portal ve periportal alanlar ile lobüler alanlarda CD<sub>3</sub>+, CD<sub>4</sub>+, CD<sub>8</sub>+ hücrelerde belirgin bir azalma saptanarak HBV replikasyonu ile intrahepatik lenfosit sayılarının azaldığını belirten çalışmalar bulunmaktadır<sup>(92)</sup>.

Bu çalışmalar değerlendirildiğinde HBV infeksiyonlu olgularda periferik lenfosit subpopülasyonu değişimleri hakkında kesin bir sonuca gitmek mümkün olmamaktadır.

## 6.KLİNİK SEYİR VE PROGNOZ :

### AKUT HBV İNFEKSİYONU :

HBV infeksiyonu klinik seyir ve prognoz açısından bireyden bireye değişkenlik gösterir. İnfekte hastaların yaklaşık % 25'inde tipik ikterik form gelişirken<sup>(37)</sup>, % 75'inde subklinik-latent bir seyir görülür ve anikterik form adını alır<sup>(60,46)</sup>. Yaklaşık % 10 olguda hastalık kronikleşmektedir<sup>(45,60)</sup>. İnkübasyon periyodu 30-180 gün arasında değişmekte olup, ortalama 70 gündür<sup>(37)</sup>.

Akut HBV infeksiyonunda ortaya çıkan klinik tablolar; ikterik form, anikterik form, kolestatik form, tekrarlayan form ve fulminan form olarak sayılabilir <sup>(14,60)</sup>.

**İKTERİK FORM :** Prodrom dönemi 3-10 gün sürer<sup>(37)</sup>, olguların % 25' inde bir haftadan kısadır<sup>(46)</sup>. Hastalık genellikle sinsi bir başlangıç gösterir; ateş, baş ağrısı, halsizlik, çabuk yorulma, bulantı, kusma, dispepsi ve iştahsızlık gibi nonspesifik belirtiler başlangıçta yer alır. % 5-10 olguda romatoid artrit veya serum hastalığı benzeri, immün kompleks hastalıklarını andıran belirtiler görülebilmektedir. Cilt lezyonları, ürtiker tarzında ve nadiren çocuklarda papüler akrodermatit şeklinde ortaya çıkar. Hasta özellikle ürtiker ile hekime başvurur. Ürtiker sarılıktan yaklaşık bir hafta önce ortaya çıkmaktadır. Artropati, simetrik ve gezici olmayan tiptedir ve küçük eklemleri tutar. Romatoid faktör negatiftir. Bu bulgular dolaşan immün komplekslere bağlıdır<sup>(37,77)</sup>. Daha sonra ikter başlar. İkterin başlaması ile birlikte bu belirti ve bulgular azalır. Erken ikterik dönemde serum transaminaz değerleri genellikle 10-100 kat artar. Serum aminotransferaz seviyelerinin yükselmesinden 1-8 gün sonra serum bilirubin düzeyleri pik yapar. Çoğu ikterik olguda bilirubin düzeyleri 10 mg/dl.'nin altındadır. İkterik dönem genellikle 1-3 hafta sürer<sup>(37)</sup>, nadiren 4 haftayı geçer<sup>(77)</sup>. İkterik dönemde karaciğer büyük ve hassas olabilir, yaklaşık % 20 olguda splenomegali gelişir<sup>(60)</sup>. Postikterik yani konvalesan dönemde bulgu ve belirtiler hızla geriler. Bitkinlik genellikle son kaybolan belirtidir<sup>(37)</sup>. Konvalesan dönem 1-2

hafta sürer. Klinik, biyoşimik ve histolojik tam iyileşme 6 ayda tamamlanır<sup>(60)</sup>.

**ANİKTERİK FORM** : Akut HBV infeksiyonlarının % 75'i anikterik olarak seyredir. Klinik bulgu ve belirtiler siliktir. Karaciğer büyük ve hassas olabilir. Tanı; serum transaminaz değerlerinde yükseklik saptanması ile ve serolojik araştırmalarla konur. Karaciğer iğne biyopsisi tanıyı kesinleştirir. Hastalığın kronikleşme olasılığı bu formda daha sıktır<sup>(46,60,77)</sup>.

**TEKRARLAYAN FORM** : Çok nadir olarak iyileşmiş bir akut HBV infeksiyonu tekrar gelişebilir. Neden olarak reaktivasyon veya reinfeksiyon gösterilirken, immünokompetansın azalması da rol oynayabilmektedir<sup>(14)</sup>.

**KOLESTATİK FORM** : Bu olgularda ikter 8-29 hafta gibi uzun sürmektedir. Bilirubin düzeyi 10-20 mg/dl.'yi aşabilir, belirgin bir kaşıntı bulunmaktadır. Bilirubinün aşırı yükselmesine karşın, hasta kendini genelde iyi hisseder<sup>(14)</sup>. Serum alkalin fosfataz, gama-glutamil transpeptidaz düzeyleri artar, serum aminotransferaz (ALT) düzeylerinde ise hafif artış olur<sup>(60)</sup>. İkter 3 aydan daha fazla sürebilir<sup>(14)</sup>.

**FULMİNAN FORM** : Nisbeten nadir olarak (% 1 ) görülmektedir. Ağır karaciğer yetersizliği ile ensefalopati, hızlı bir seyir ve yüksek mortalite (% 75-80) göstermektedir. Hastalığın erken veya geç herhangi bir döneminde ortaya çıkabilmekte, ilk belirtileri, letarji, somnolans ve kişilik değişiklikleri şeklinde olabilmektedir. Erken dönemlerde HBsAg saptanamaz veya çok düşük düzeydedir, bu nedenle erken dönemde tek tanı aracı Anti-HBc IgM pozitifliğidir<sup>(1,69,86)</sup>. Belirtiler süratle stupor ve komaya dönüşür. Fulminan tabloyu presipite eden faktörler arasında protein malnütrisyonu, diabetes, tirotoksikoz, gebelik ve klimakterium, kabızlık ile süperinfeksiyonlar, sayılabilir<sup>(14,37,60,77)</sup>. Karaciğerin histopatolojisinde yaygın nekroz mevcuttur, rejenerasyon ise yok denecek kadar azdır. Ateş yükselir, karaciğer küçülür, kanama eğilimi artar, protrombin zamanı çok uzamıştır. Fulminan hepatitin major komplikasyonu, beyin ödemidir.

Disritmiler, kardiyovasküler kollaps, hipotansiyon ve apne atakları son dönem bulgularıdır. Ensefalopati gelişen olgularda ölüm oranı % 75'lere varmaktadır<sup>(60)</sup>.

## **KRONİK HBV İNFEKSİYONU:**

Akut viral hepatitteki nekro-inflamatuvar süreç 6 ayı aşkın bir süreyle devam etmektedir<sup>(75)</sup>. Bununla birlikte, akut viral hepatitten farklı bir yapı söz konusudur. Kronik hepatitlerin histopatolojik spektrumu 6 ana patolojik tablo gösterir.

1. İyileşemeyen, geciken, uzamış hepatit; reaktif hepatit;  
HBsAg taşıyıcılığı
2. Submasif nekrozlu hepatit
3. Kronik lobüler hepatit
4. Kronik persistan hepatit (KPH)
5. Kronik aktif-agresif hepatit (KAH)
6. Kronik septal hepatit

**UZAMIŞ HEPATİT HİSTOLOJİSİ:** Akut tablonun üzerinden 6 ay geçmesine karşın klinik tablo akut viral hepatiti düşündürmektedir. Histopatolojide akut viral hepatitin iyileşme dönemini düşündüren minimal hepatosit değişiklikleri, nadir fokal nekroz, retikuloendotelial sistem hiperplazisi, HBsAg varlığı bulguları ve bazı hepatositlerde rejenerasyon eğilimi bulunmaktadır<sup>(91)</sup>.

**SUBMASİF NEKROZLU HEPATİT HİSTOLOJİSİ:** Akut hepatit gibi başlayıp ağır karaciğer yetmezliğine kadar gidebilmektedir. Lobüllerde bir çok zonu tutan köprüleşme nekrozu ile karakterizedir. Erken sirotik gelişim de olabilir. Bol güve yeniği nekrozu, yoğun lenfo-histiyoitik infiltrasyon ve fibroblastik aktiviteli septal yapılar bulunmaktadır. Parankim adacıkları içinde bol nekroz-nekrobiyoz, rejenerasyon eğilimi, kolestaz ve duktal-duktüler proliferasyon bulunmaktadır. Kronik hepatitlerin % 10 kadarını oluşturmaktadır<sup>(91)</sup>.

**KRONİK LOBÜLER HEPATİT HİSTOLOJİSİ:** Nadir bir kronik hepatit formu olup, % 2 oranında rastlanmaktadır. Klinik akut viral

hepatit ile uyumludur. Lobül içinde bol fokal nekroz, lenfohistiyositik nekro-inflamatuvar infiltrasyon görülür. Periportal güve yeniği nekrozuna hiç rastlanmamaktadır. Bu histolojik görünüm, HBeAg anti-HBe serokonversiyonunda da görülmektedir<sup>(91)</sup>.

**KRONİK PERSİSTAN HEPATİT HİSTOLOJİSİ:** Patolojik olay portal alandadır. Lenfositlerin hakim olduğu, histiyosit, plazma hücreleri, bazen polimorfonükleer lökosit (PMNL) bulunan portal alanlar genişlemiş ancak olay periportal mesafeye taşmamıştır. Bazı alanlarda parankime taşma eğilimi olsa bile % 10-15'i geçmez. Yani kural olarak **güve yeniği nekrozu yoktur**. Karaciğerin lobüler yapısı bozulmamıştır. Portal alanda fibrotik değişiklikler yoktur. Kendiliğinden de düzelebilmektedir<sup>(91)</sup>.

**KRONİK AKTİF HEPATİT HİSTOLOJİSİ:** Periportal hepatit denmektedir. Sirozdan sonra en sık görülen kronik karaciğer hastalığıdır. Kronik hepatitlerin % 80'ini oluşturur. KPH'den farklı olarak, portal alandaki iltihabi infiltrasyon lamina limitansları aşarak lobül periferine sarkması ve güve yeniği nekrozu gelişir<sup>(91)</sup>.

6 ayı geçmesi ve lobül bütünlüğünü bozan fibroblastik septaların varlığı akut viral hepatitten ayırmaktadır. Bu infiltrasyonun baskın unsuru lenfositlerdir. Periportal hepatositler ağır dejenerasyona uğramış ve yer yer lenfositlerce sarılmıştır. İmmünohistokimyasal yöntemler ile bu lenfositlerin CD<sub>3</sub><sup>+</sup> ve CD<sub>8</sub><sup>+</sup> hücreler oldukları saptanmıştır. Bu hücrelerin arasında makrofajlar, histiyositler, plazma hücreleri, PMNL'ler de bulunabilir<sup>(81)</sup>.

Erken dönemlerde septal yapının çatısını oluşturan hiperplazik fibroblastik elemanlar da bulunur. Aktif fibroblastik gelişme lobül yapısını bozar. Portal-portal, portal-sentral bağlantılar gelişir. Kupffer hücreleri hiperplazisi, sinozoidal hiperemi, hepatositik ve kanaliküler safra pigmenti ve tıkaçları bulunmaktadır<sup>(91)</sup>.

**KRONİK SEPTAL HEPATİT HİSTOLOJİSİ:** Geçirilmiş karaciğer hastalığının iyileşmiş halidir. Portal alan düzensiz, hyalin genişlemesi ve inaktif ince septalar bulunabilir. Portal hepatitin iyileşmiş hali de aynı görüntüyü vermektedir<sup>(91)</sup>.

## 7.TEDAVİ :

Akut HBV infeksiyonunda spesifik bir tedavi yoktur. Semptomatik ve destekleyici yaklaşımlarda bulunulabilir. Hastalar hiperakut dönemde istirahat ettirilmelidirler<sup>(46,60)</sup>. Fulminan ve kolestatik formlarda veya hepatit, diğer hastalıklarla komplike olduğunda hospitalizasyon gerekir. Hastaların klinik şikayetleri ile laboratuvar bulguları yakından ve belli periyodlarla izlenmelidir. Diyetle herhangi bir kısıtlama sözkonusu değildir. Sadece fulminan formlar ile hepatoensefalopati riski olan olgularda protein kısıtlaması yapılmalıdır. Alkol kullanımı en az 6 ay süreyle yasaklanmalıdır<sup>(60)</sup>.

## 8.KORUNMA :

HBV infeksiyonundan korunmada başlıca kriterler güvenli seks ilkesinin yaygınlaştırılması, perkütan yayılımın önlenmesi, maternal-neonatal geçişin önlenmesi ve immünizasyondur. Bununla birlikte, % 30-40 olguda geçiş bilinemediği için korunma da yetersiz kalabilmektedir. HBV infeksiyonuna karşı spesifik korunma, pasif ve aktif immünizasyon şeklinde ve temas öncesi ve temas sonrası dönemlerde yapılabilir. Pasif immünizasyon amacıyla, Hepatit B Immünglobulin (HBIG), aktif immünizasyonda ise HBV aşılıları kullanılmaktadır<sup>(14)</sup>.

## B.HÜCRESEL İMMÜNİTE ve LENFOSİTLER :

1960 ve 1970'li yıllarda T lenfositlerin tüm immün mekanizmaların gelişimi ve kontrolü üzerindeki önemi anlaşılincaya kadar, immünite ile ilgili çalışmalar hep hümöral koruma faktörleri üzerinde yoğunlaşmıştır. 1980'li yıllarda T lenfositlerin antijen tanıma ve sitokin salgılama fonksiyonlarının saptanması immün mekanizmaların açıklanmasında anahtar rolü oynamıştır<sup>(56)</sup>.

Vücut son derece farklı hücrelerden meydana gelen ve tam bir uyum içinde çalışan bir sistem tarafından korunur. Bu sistem hümöral ve hücrenel olmak üzere birbiri ile yakından ilişkili iki ayrı başlık

altında incelenebilir. Bütün bağışıklık reaksiyonlarının son hedefi, otoimmün hastalıklar hariç, organizmada bulunan yabancı antijenlerdir<sup>(22)</sup>.

## 1.LENFOSİT SUBPOPULASYONU :

İmmün sistem hücreleri "antijen-spesifik hücreler" ve "antijen-nonspesifik hücreler" olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Antijen spesifik hücreler lenfositlerdir. Antijen non-spesifik hücreler ise monositler, makrofajlar ve bir dereceye kadar PMNL'lerdir. Nonspesifik hücrelerin kemik iliğinden kana geçtikten sonra yaşam süreleri saatlerle sınırlıyken, lenfosit grubu hücreler yıllarca yaşamlarını sürdürebilmektedirler<sup>(22,49)</sup>.

Lenfositler; T hücreleri ve B hücreleri olmak üzere ikiye ayrılmakta; B hücreleri humöral, T hücreleri ise hücre sel immünitede rol oynamaktadır. Bazı hücreler de Null cell (non-B,non-T) olarak adlandırılmaktadır<sup>(22,41,49)</sup>.

T lenfositler antikor üretimini yönlendirmekte, tümör hücreleri ve virüsler ile infekte olmuş hücreleri öldürmekte, gecikmiş tipte ADR'yi (Tip-IV ADR) oluşturmakta ya da tüm bu immünolojik olayları baskılayabilmektedir. Bu fonksiyonlar her ne kadar T lenfositler tarafından oluşturuluyorsa da her bir fonksiyon ayrı bir T lenfosit alt grubuna atfedilebilir<sup>(13,58,70,84)</sup>.

İmmün sistem hücreleri kemik iliği ve vitellus kesesinden oluşmaktadır. Pluripotent kök hücrelerden myeloid ve lenfoid kök hücreleri meydana gelir. Monosit ve makrofajlar myeloid kök hücrelerden oluşurken, lenfositler lenfoid kök hücrelerden oluşmaktadır<sup>(30)</sup>.

Bütün lenfosit projenitör hücrelerin kemik iliğinden kaynaklandığı kabul edilmektedir. Kısmen az farklılaşmış olan projenitör hücrelerin bir kısmı timusa giderek T lenfositlere özgü karakterleri kazanırlar. Bu immatür Pre-T (protimositler) gebeliğin 8. haftasında timusa

yerleşirler ve timusun hümöral faktörlerinin etkisi altında farklılaşma ve olgunlaşma gösterirler<sup>(39)</sup>. Bu hücreler timus korteksindeyken terminal deoksinükleotidil transferaz enzimini kazanırlar. CD<sub>3</sub><sup>-</sup>, TCR- (T cell receptor), CD<sub>4</sub><sup>-</sup>, CD<sub>8</sub><sup>-</sup> olan bu hücreler CD<sub>7</sub><sup>+</sup>, CD<sub>5</sub><sup>+</sup>, CD<sub>1</sub><sup>+</sup> ve CD<sub>2</sub><sup>+</sup>'dirler<sup>(65,73)</sup>. Timustan salgılanan Thymopoietin I ve Thymopoietin II'nin projenitör hücrelerin T hücrelerine dönüşümünü, thymosin'in ise T lenfositlerinin olgunlaşmasını sağladığına inanılmaktadır<sup>(27,65)</sup>. Diğer projenitör hücreler ise kemik iliğinde kalarak B lenfositleri oluşturacak hücrelere farklılaşmaktadır<sup>(65)</sup>.

Gelişmekte olan T hücreleri çok sayıda eliminasyona uğrarlar. Bunlardan ilkinde, hücrelerin, kendilerine diğer hücreler tarafından sunulan antijenleri tanıyıp tanıyamadıkları test edilir. Timusta gelişen hücreler, çevrelerini tarayarak vücuda ait herhangi bir MHC molekülünü tanıyıp-tanıyamayacaklarını araştırmakta ve ancak tanıyabilenler hayatta kalabilmektedir<sup>(9)</sup>.

Timustaki gelişim evresinde buraya yerleşen hücrelerin kortekstayken, yüzeylerinde T hücre markerleri (CD<sub>3</sub>, CD<sub>4</sub> ve CD<sub>8</sub>) ya çok azdır, ya da hiç bulunmamaktadır. Yerleşimden bir gün sonra, med llaya geçtikten sonra, bu büyük hücreler kendilerini yenileyerek CD<sub>8</sub> taşıyan fakat CD<sub>4</sub> ve TCR taşımayan diğer büyük hücreleri yaparlar. Bu hücreler de bölünerek CD<sub>4</sub>, CD<sub>8</sub> ve az miktarda TCR bulunduran hücreler meydana getirmektedirler<sup>(64)</sup>. Ara evrelerdeki bu hücreler belirli bir yola koyulduktan sonra, artık kullanmayacakları reseptör tipini (CD<sub>4</sub> ya da CD<sub>8</sub>) yapmamaya başlar ve ek olarak TCR oluştururlar. Bu hücreler ayrıca kan dolaşımını terkederek periferik lenfoid organlara girmelerini sağlayan "hedef belirleyici reseptörler" edinmektedirler<sup>(65,91)</sup>.

Dolaşıma katılarak lenfoid organlara gelen hücreler T hücrelerinin ardışık çeşitlerini yaparlar. Morfolojik olarak birbirlerine çok benziyen T ve B lenfositler yüzey markerleri ile birbirlerinden ayırt edilmektedirler. Uygulamada en çok B hücrelerinin markerleri kullanılmaktadır. En önemlileri yüzeyel Ig'lerdir. Yüzeyel Ig'ler B hücrelerinin reseptör görevini de üstlenirler<sup>(22)</sup>.

İlk tanınan T hücre markeri koyun eritrositlerine yapışma yatkınlığı göstererek onları kümeleştiren ve daha sonra CD<sub>2</sub> olarak adlandırılan markerdir. CD<sub>3</sub> ise T hücrelerinin en önemli markerlerinden biridir. CD<sub>3</sub>, T hücresinin antijen reseptör kompleksinin (TCR-CD<sub>3</sub>) bir parçasıdır ve TCR'nin bağladığı antijenin T hücresini uyarabilmesini sağlayan uyarımın hücre içine iletimini sağlamaktadır. T hücreleri bu iki molekülün aynı anda varlığı ile yabancı antijeni tanımaktadır. CD<sub>3</sub> hemen hemen bütün T hücrelerinin (% 95) yüzeyinde bulunur ve Pan-T markeri olarak adlandırılmaktadır<sup>(41)</sup>.

Sonuçta, dolaşıma iki T hücre alt grubu katılır. Fakat ~% 60'ı CD<sub>4</sub>, ~% 30 kadarı da CD<sub>8</sub> markerlerini edinirler. CD<sub>4</sub>+ T hücrelerine "helper=T<sub>H</sub>", CD<sub>8</sub>+ olanlarına "suppressor= T<sub>S</sub> ve/veya cytotoxic= T<sub>C</sub>" hücreler denilmektedir. % 5-15'lik bir grup ise sadece TCR ve/veya CD<sub>3</sub> markerlerini taşır. NK hücreleri olarak adlandırılan bu hücreler; lenfokin ile aktive hale gelerek (LAK=Lymphokine-Activated Killer) malign transformasyon gösteren hücreleri, virüslerle infekte hedef hücreleri ve bazı bakterileri direkt olarak öldürme kapasitesine sahiptir<sup>(51,56)</sup>. CD<sub>4</sub> veya CD<sub>8</sub> taşımayan NK hücreleri çoğunlukla CD<sub>3</sub>'ü de bulundurmazlar. Ancak CD<sub>16</sub> ve CD<sub>56</sub> bulundururlar<sup>(56,52)</sup>. CD<sub>16</sub> Ig'lerin Fc (Fragment Crystallized) parçasının bir reseptörüdür. Bu da direkt öldürme fonksiyonunu açıklayabilmektedir<sup>(56)</sup>.

CD<sub>4</sub>+ hücreler T hücrelerinin proliferasyonu ve B lenfositlerinin Ig üretimini düzenlemektedir. T<sub>C</sub> hücreleri intrasellüler patojenlerle infekte hücreleri yakalar. CD<sub>8</sub>+ T lenfositler, MHC class-I antijenleri ile sitotoksisitenin major elemanlarıdır<sup>(43,44,59)</sup>.

T ve B lenfositlerin önemli farklarından biri de antijen tanımlarındadır. B lenfositler, Ig yapısındaki reseptörleri ile antijenleri tek başlarına kolayca tanırlarken, T lenfositler antijenleri tanımak için antijen sunan hücrelere (Antigen Presenting Cell=APC) ihtiyaç duyarlar<sup>(56)</sup>. Antijen sunan hücreler; Langerhans hücreleri, makrofajlar, alveolar makrofajlar, dendritik hücreler, glia hücreleri ve Kupffer hücreleri ile B lenfositlerdir. APC'ler antijenleri antijenik peptidlere parçalarlar. Bu peptid parçalarını MHC class-II ile birlikte eksprese ederler ve İnterlökin-1 (IL) salgılamaya başlarlar. Herbir

farklı peptid+MHC class-II kombinasyonunu tanıyacak reseptöre sahip olan T lenfositler, bu karşılaşmadan sonra IL-1 etkisiyle aktifleşirler<sup>(91)</sup>.

T ve B hücreleri arasında mükemmel bir iş bölümü bulunmaktadır. Antikorlar antijenin yer aldığı molekülün dış yüzeyine karşı süratle tepki gösterirler. T hücreleri ise hücre içlerinde bulunan hastalık etkenlerine karşı tepki gösterirler. Örneğin bir virüs mutasyonla dış zarfını değiştirebilir, böylece B lenfositlerin etkisinden kaçabilir. Ancak protein yapılarını değiştirmeleri mümkün değildir. Hücre içinde çoğalan virüs proteinlerine ait kısa peptid zincirleri ayrılarak eksprese olan antijenik yapılar T lenfositler için tam bir hedef teşkil ederler<sup>(65)</sup>.

B hücreleri; hem antijeni, peptid + MHC class-II kompleksi halinde eksprese ederek APC görevini üstlenirler, hem de deneysel koşullar altında T hücrelerinin süpresyonunu sağlayabilmektedirler. <sup>(65,91)</sup>. Temelde vücuttaki CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı ~2/1'dir<sup>(9)</sup>.

## 2.LENFOSİT YÜZEY MARKERLERİ :

T Cell Receptör (TCR) ve CD<sub>3</sub>:TCR, CD<sub>3</sub> ile birlikte bir kompleks oluşturmaktadır. T hücreleri bu iki molekülün aynı anda varlığı ile antijeni tanımakta ve T<sub>H</sub> ve T<sub>S/C</sub> hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasına neden olmaktadır. TCR Ig'lerin Fab (Fragment antibody binding) bölgesine benzer özellikler gösterirken, CD<sub>3</sub> molekül kompleksi TCR ile bağlanmış haldeki antijenin uyarılarını hücreye iletme görevini üstlenmiştir. Aminoasit dizi analizleri TCR'nin Ig süper-ailesinden olduğunu göstermiştir<sup>(72)</sup>.

T<sub>H</sub>'ler, çoğalmalarını uyardıkları B lenfositlerin yüzeyindeki MHC class-II antijen komplekslerini tanırlar. T<sub>S/C</sub>'ler ise, öldürdükleri infekte olmuş hücrelerin yüzeyindeki MHC class-I ile birlikte bulunan viral peptid komplekslerini tanımaktadır<sup>(3,6,59,63,72)</sup>.

CD<sub>4</sub>:T<sub>H</sub>'ler ve başta makrofajlar,intestinal kanal epitel hücreleri, glia hücreleri olmak üzere bir grup hücrede mevcuttur. Bu molekülün

aynı zamanda Human Immunodeficiency Virus (HIV) reseptörü olarak da işlev gördüğü bilinmektedir. CD<sub>4</sub> kompleksi, MHC class II molekülü ile kompleks oluşturan antijenlerin T<sub>H</sub>'ler tarafından tanınmasını ve bu hücrelerin uyarılmasını sağlamaktadır<sup>(29,44,59)</sup>.

**CD<sub>8</sub>:T<sub>S/C</sub>** lenfosit alt grubunda bulunan yüzey reseptörüdür. MHC class-I ile kompleks oluşturmuş antijenlere bağlanarak T<sub>S/C</sub>'lerin uyarılmasını sağlamaktadır<sup>(42)</sup>.

**CD<sub>16</sub>**:NK hücrelerinin taşıdığı bir yüzey markeridir. Ig'lerin Fc parçasına affinite gösteren ve ADCC'de rol oynayan bir reseptördür. Direkt öldürme olayında antikor ile kaplı antijenlerin tanınmasında rol oynar, ancak antikor yokluğunda bu fonksiyonunun nasıl oluştuğu henüz açıklanamamıştır. Virüsle infekte olan hücrede gelişen transformasyon ile malign transformasyonun bu tanımda yardımcı olduğu sanılmaktadır<sup>(67)</sup>. CD<sub>16</sub>+ hücreler aynı zamanda CD<sub>56</sub> yüzey markerini de taşırlar<sup>(56)</sup>.

**CD<sub>19</sub> ve CD<sub>20</sub>**: CD<sub>20</sub> olgunlaşmamış ve CD<sub>19</sub> olgunlaşmış B lenfositlerin tanınmasında yardımcı olan bir yüzey markeridir<sup>(41)</sup>.

**MHC Class I-II Molekülleri**: MHC class-I molekülü, viral proteinler gibi endojen olarak sentezlenen peptidlerle; MHC class-II molekülü ise, antijenin endositozunu izleyerek ikincil olarak ortaya çıkan peptidlerle kompleks oluştururlar. MHC class-I, CD<sub>8</sub>+ T lenfositlerin, MHC class-II ise CD<sub>4</sub>+ T lenfositlerin antijeni tanınmasını sağlamaktadırlar. MHC class-I ve MHC class-II moleküllerinin kovuğuna yerleşmiş halde bulunan antijenik peptid ve bunu tanıyan spesifik T hücresi, bağışık yanıt gelişiminde vazgeçilmez anahtar görevi üstlenirler<sup>(9)</sup>.

## **C.CİLT TESTLERİ :**

Cilt testleri, Robert Koch'un Mycobacterium tuberculosis'i tanı ve tedavi amacıyla kullanması ile, ilk kez gündeme gelmiştir<sup>(121)</sup>. Daha sonraki yıllarda intrakütan ve kontakt yöntemlerin kullanıma sunulması ile histoplazmoz, kandidiyaz, lepra, kist hidatik gibi bir

çok hastalığın tanısında ve özellikle hücrel immünitinin değerlendirilmesinde yaygın olarak cilt testleri kullanılmaktadır<sup>(71)</sup>.

## 1.CİLT YANITININ İMMÜNOLOJİSİ :

Cilt testlerinin sonuçları, yani Tip-IV ADR yanıtı, hücrel immünitinin major göstergelerinden biridir. Basit bir test gibi görünmekle birlikte testin uygulanması ve sonuçta endurasyonun oluşması arasında geçen zamanda bir dizi anlaşılması zor ve hatta bir kısmı henüz çözümlenememiş reaksiyona neden olmaktadır. Bu nedenle hücrel immünitinin değerlendirilmesinde güvenle kullanılmaktadır<sup>(71,81)</sup>.

Organizmanın yabancı moleküllere yanıtı, o antijenle daha önce karşılaşma ile direkt olarak bağlantılıdır. Antijen ile daha önce karşılaşılmamış ise hiçbir immünolojik yanıt olmayabilir. Ancak daha önce karşılaşmış antijenlere organizmanın yanıtı ise ya hümöral immün sistemin kontrolünde gelişir ve anafilaksi (Tip-I ADR), antikora bağımlı sitotoksiste (Tip-II ADR), immün kompleks aracılı (Tip-III ADR) yanıt şeklinde kendini gösterir; veya hücrel immün mekanizmalarının kontrolünde, gecikmiş-hücrel (Tip-IV ADR) yanıt şeklinde ortaya çıkmaktadır. Organizmanın yanıtı her iki immün sistemin direkt olarak katılımı ile ADCC şeklinde de gelişebilir<sup>(22,49)</sup>.

Antijen intradermal uygulandıktan sonra ciltte bulunan makrofajlar, epiteloid hücreler ve bu hücrelerin füzyonu sonucunda oluşan dev Langerhans hücreleri tarafından fagosite edilir. Bu hücreler lenfoid organlara taşıdıkları antijenler için APC görevi de yaparlar ve antijeni işleyerek karşılığında uygun MHC class-II molekül+antijen kompleksini eksprese ederler. Bu kompleks CD<sub>4</sub>+ T lenfositlerce tanınır. APC'lerden salınan IL-1'in etkisi ile aktive olan T lenfositler, lenfokin salınımı yaparlar ve klonal çoğalmaya uğrarlar. Sonuçta, aktive T lenfositlerin salgıladığı lenfokinlerin etkileri ile lenfositler, monositler ve makrofajlar çoğalır ve bölgeye gelir<sup>(11,18)</sup>.

## 2.CİLT YANITININ HİSTOPATOLOJİSİ :

Cilt testinde, antijenin uygun yol ile uygulanmasını takiben ilk 12. saate kadar uygulama alanında kızarıklık oluşur. Oluşan kızarıklığın sebebi vazoaaktif aminlerin oluşturduğu vazodilatasyondur. Eğer uygulanan antijen ile daha önce karşılaşılmamış ise organizmanın yanıtı ya hiç yoktur yada kızarıklık düzeyinde kalır. Daha önce antijen ile karşılaşmış hafıza hücreleri oluşmuş ise APC'ler tarafından işlenen antijen, CD<sub>4</sub>+ T lenfositlerine sunulur. Bu hücrelerin salgıladığı lenfokinlerin etkisi ile mononükleer hücreler perivasküler alana infiltre olur. Bu infiltrasyon sonucu ilk 24 saatte oluşmaya başlayan endurasyon 72. saatte pik yapar. 48-72 saat sonra 2/1-5/1 oranında CD<sub>4</sub>+ T lenfositler fazla olmak üzere CD<sub>4</sub>+ ve CD<sub>8</sub>+ T lenfositler, dev Langerhans hücreleri ve dendritik hücreler yerleşir. Endurasyon alanında çok az sayıda PMNL bulunmaktadır<sup>(11,18)</sup>.

## 3.CİLT TESTLERİNİN KULLANIM ALANLARI :

Cilt testleri bir çok hastalığın tanısında ve tedavinin takibinde kullanılmaktadır. Tüberkülin ve PPD (Purified Protein Derivatives) cilt testlerinin en çok bilineni ve kullanılanıdır. Koksidiyaz, histoplazmoz, layşmanyoz, kandidiyaz, lepra, kist hidatik gibi bir çok hastalıkta da cilt testleri kullanılmıştır. Antibiyotik aşırı duyarlılıklarının saptanmasında (Tip-I ADR) da cilt testleri kullanılmıştır ve kullanılmaktadır. Cilt testleri hücresel immünitinin değerlendirilmesinde de kullanılmaktadır<sup>(7,79,81)</sup>. Günümüzde, her ne kadar lenfosit subpopülasyonlarının kantitatif ölçümü ve in vitro blastik transformasyon testleri ile hücresel immüniteyi değerlendirmek mümkün olsa da hücresel immüniteyi değerlendirmede cilt testleri güvenle kullanılmaktadır<sup>(7,8,81)</sup>.

## 4.CİLT TESTLERİNİN UYGLULANMA YÖNTEMLERİ

**İntrakütan Uygulama:** 26-27 numaralı ince bir iğne ile 0.1 ml. antijen intradermal injekte edilir. En güvenilir yöntem olarak kabul

edilmektedir. En çok PPD-tüberkülin için kullanılmaktadır. 72 saat sonra endurasyon alanı ölçülür. 10 mm. ve üzeri pozitif yanıt olarak kabul edilir<sup>(8,81)</sup>.

**Transkütan Uygulama:** Temizlenip kurutulan ön kol cildinde bir iğne veya lanset ile epidermise sınırlı 0.3 mm. boyutlarında küçük çizikler yapılır. Her çizik üzerine bir damla antijen damlatılır. Bu teknik daha çok polen ve besin allerjisinin saptanmasında kullanılır.

**Yama (Patch) Testi:** Bu teknik, antijenin diffüzyon yolu ile cilt içine yayılması prensibine dayanır. Antijen emdirilmiş yapışkan bantlı gazlı bez cilt ile 24 saat temas ettirilir. İntrakütan uygulamalardan daha az duyarlıdır<sup>(79,81)</sup>.

**Çoklu Test Aygıtları ile Uygulama:** Bir anda bir çok antijen uygulayabilen çok iğneli bir aygıttır. Hücrel immünitinin değerlendirilmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Uygulayıcı faktörünü minimize etmesi ve standardizasyon açısından kullanışlı ve güvenilir aygıtlardır<sup>(7,8)</sup>.

## **GEREÇ ve YÖNTEM**

Çalışmamız 1993 TEMMUZ ayında başlatılmış ve 1994 AĞUSTOS ayında tamamlanmıştır

### **GEREÇ**

#### **HASTA ve KONTROL GRUBU**

Çalışmamızda lenfosit subpopülasyonunun incelendiği kan örnekleri, Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D. ile Gastroenteroloji B.D. kliniklerinde yatarak veya ayaktan takip edilen hastalardan alınmıştır. Kontrol grubu olarak ise sağlıklı gönüllüler seçilmiştir.

Kanlar BECTON DICKINSON (Meylan Cedex, FRANSA) firmasından temin edilmiş, Asit-Sitrat-Dekstroz (ACD) içeren kapağı sarı renk kodu ile belirlenmiş özel tüplere alınmış ve ivedilikle İmmünoloji laboratuvarına ulaştırılıp en geç 30 dakika içinde çalışmaya başlanmıştır.

Olguların mutlak lenfosit sayılarının saptandığı kan örnekleri ise BECTON DICKINSON (Meylan Cedex, FRANSA) firmasından temin edilmiş, Etilen Diamin Tetra Asetikasit (EDTA) içeren kapağı mor renk kodu ile belirlenmiş özel tüplere alınmış ve en geç 2 saat içerisinde ABBOTT (Mountain View, CA, ABD) firmasının Cell-Dyn 1600 otomatik hemocounter'i ile mutlak lenfosit sayıları belirlenmiştir.

#### **CD3-IOT3b FITC/CD19 IOB4a PE DUAL COLOR FLUORESCENCE KIT**

IMMUNOTECH S.A. (Marceille, FRANSA) firmasından hazır olarak elde edilen (LOT:06) Fluorescein isothiocyanate (FITC) ile işaretli anti-CD<sub>3</sub> ve phycoerythrin (PE) ile işaretli anti-CD<sub>19</sub>

monoklonal antikorları içeren bu kit, CD<sub>3</sub> ve CD<sub>19</sub> taşıyan lenfositlerin ayrımında kullanılmıştır.

### **CD4 FITC/CD8 PE DUAL COLOR FLUORESCENCE KIT**

IMMUNOTECH S.A (Marceille, FRANSA) firmasından hazır olarak elde edilen (LOT:16) FITC ile işaretli anti-CD<sub>4</sub> ve PE ile işaretli anti-CD<sub>8</sub> monoklonal antikorları içeren bu kit, CD<sub>4</sub> ve CD<sub>8</sub> taşıyan lenfositlerin ayrımında kullanılmıştır.

### **γ<sub>1</sub>FITC/γ<sub>2</sub> PE İZOTİPİK ANTİKORLAR**

IMMUNOTECH S.A (Marceille, FRANSA) firmasından hazır olarak elde edilen (LOT:301994) izotipik antikorlar kontrol tüpünde çalışma tüpleri ile aynı şartları oluşturmak amacıyla kullanılmıştır. Bu antikorlar hücre ile bağlanmamaktadır.

### **PHOSPHATE BUFFER SALINE (PBS) SOLÜSYONU**

Dulbecco'nun PBS Solüsyonu (LOT:15G1034) GIBCO (UK-İskoçya) firmasından hazır olarak temin edilmiş ve 100 ml. stok 900 ml distile su ile sulandırılarak kullanılmıştır.

### **FACS LYSING SOLÜSYONU**

100 ml. 10 x buffered lysing solution (tamponlu eritici çözelti) % 50'den daha az oranda diethylene glycol ve % 15'de daha az oranda formaldehid içermektedir. BECTON DICKINSON (San Jose, CA, ABD) firmasından hazır olarak elde edilen (LOT:30173) Lysing Solution 1/10 oranında distile su ile dilüe edilip lökosit dışı kan hücrelerinin parçalanması için kullanılmıştır.

### **FACScan FLOW CYTOMETRY CİHAZI**

GATA İmmünoloji B.D. Laboratuvarında bulunan FACScan flow cytometry cihazı, BECTON DICKINSON (Erembodegem, BELÇİKA)

firmasından temin edilmiş ve floresan boya ile işaretli lenfositlerin subpopülasyonlarının ölçümünde kullanılmıştır.

## CMI (Cell-Mediated Immunity) MULTİ-TEST AYGITI

Her biri standart miktarda antijen içeren 8 çok iğneli intra-dermal bir aygıt olup içerdiği antijenler ve miktarları şöyledir.

1. Tetanoz toksoid antijeni	550.000	U./ml
2. Difteri toksoid antijeni	1.100.000	U./ml.
3. Streptokok antijeni (grup C)	2.000	U./ml.
4. Tuberkülin (eski)	300.000	T.U./ml
5. Kontrol için gliserin	70	% w/v
6. Kandida albicans antijeni	2.000	U./ml.
7. Trikofitan (mentagraphytes) antijeni	150	U./ml.
8. Proteus mirabilis antijeni	150	U./ml.

INSTITUT MERIEUX (Lyon, FRANSA) firmasında hazır olarak temin edilen (LOT:G0597) test aygıtı, cilt testi yolu ile hücrel immüniteyi değerlendirmede kullanılmıştır.

## YÖNTEM

Çalışmaya alınan 69 hasta akut HBV infeksiyonu, HBV taşıyıcılığı, kronik HBV infeksiyonu olarak 3 gruba ayrılmıştır.

ALT değeri 400 ve üzerinde bulunan ve daha öncesinde HBV ile karşılaşma hikayesi bulunmayanlar akut HBV infeksiyonu grubuna alınmıştır. 6 ay ve daha uzun süreden beri HBsAg pozitif olup ALT düzeyleri normal sınırlarda olan veya yüksek olsa bile karaciğer iğne biopsisi sonucunda HBV taşıyıcısı tanısını alan hastalar HBV taşıyıcısı olarak gruplanmıştır. 6 ay ve daha üzeri süreden beri HBsAg pozitif olup ALT düzeyleri yüksek olanlar ile karaciğer iğne biopsisi sonucunda kronik HBV infeksiyonu tanısı konan hastalar ise kronik HBV infeksiyonu grubu olarak seçilmiştir.

GATA personelinin aşılınması için yapılan HBsAg, anti-HBs ve total anti-HBc taramasında her üç markeri de negatif bulunan yani HBV ile karşılaşmamış kişiler kontrol grubu olarak seçilmiştir.

Hastalara ve kontrol grubuna CMI multi-test aygıtı ile intradermal cilt testleri uygulanmış ve uygulama bölgesi kalem ile çizilmiştir. 48 ile 72 saat sonra uygulanan herbir antijen için endurasyon alanı mm. cinsinden pergel ile ölçülmüştür.

Çalışmada; lenfosit subpopülasyonunun belirlenmesi için hücre ayırmadan, direkt olarak monoklonal antikolar kullanarak işaretlenen lenfositlerin, Flow Cytometry cihazında ölçümü yöntemi kullanılmıştır.

### **HÜCRE AYIRMADAN, DİREKT OLARAK MONOKLONAL ANTİKORLAR KULLANARAK İŞARETLENEN LENFOSİTLERİN SUBPOPÜLASYONUNUN ÖLÇÜLMESİ;**

1. Her kan örneği için 3 polistiren tüp hazırlanarak üzerleri kontrol,  $CD_3/CD_{19}$  ve  $CD_4/CD_8$  olarak işaretlendi ve her tüpe 100  $\mu$ l. ACD'li kan konuldu. Kontrol tüpüne 20  $\mu$ l.  $\gamma_1$ FITC/ $\gamma_2$ PE izotipik antikor,  $CD_3/CD_{19}$  tüpüne 20  $\mu$ l.  $CD_3$ FITC/ $CD_{19}$ PE işaretli monoklonal antikolar,  $CD_4/CD_8$  tüpüne 20  $\mu$ l.  $CD_4$ FITC/ $CD_8$ PE işaretli monoklonal antikolar eklendi.

2. Hazırlanan karışımlar 3 saniye tüp mikseri ile karıştırıldı ve 15 dakika oda ısısında inkübe edildi.

3. İnkübasyon sonrası her tüpe 1 ml. hazırlanan Lysing solüsyonu eklendi. İnkübasyonun son dakikalarında hazırlanan Lysing solüsyonu tüp sayısına göre her gün taze olarak hazırlandı ve en geç 24 saat içinde kullanıldı. Her bir tüp için :

**(100  $\mu$ l. Lysing Solüsyonu) + (900  $\mu$ l. distile su)**

olarak hazırlandı.

4. Lökosit dışı hücreler yıkılana kadar, en fazla 5 dakika beklendi. Tüpteki kanların şeffaflaşması lizis olduğunun göstergesidir.

5. Şeffaflaşma olduktan sonra bütün tüpler 1800 rpm'de 10 dakika santrifüje edildi. Süpernatant atıldı ve tüplere 300  $\mu$ l. PBS eklendi.

6. FACScan Flow Cytometry cihazında Lysis-II programı kullanılarak lenfosit oranları saptandı. Bu amaçla her bir tüpten 10.000 hücre saydırıldı. FSC/SSC kadranlarında lenfositler incelemeye alınarak kontrol tüpünde saptanan kadranlardaki işaretli hücrelerin yüzde olarak miktarları saptandı.

Cilt testlerinin değerlendirilmesinde ve lenfosit subpopülasyonu incelemelerinde elde edilen rakamsal değerler Minitab ve Microsta istatistik paket programları kullanılarak karşılaştırılmıştır. İstatistiklerde grupları ve parametreleri karşılaştırmak için ortalama, standart sapma, korelasyon analizi ve Fisher'in kesin  $\chi^2$  testleri ile Student's *t* testi kullanılmıştır.



## BULGULAR

105 kişiden oluşan çalışma grubunun yaş ortalaması 15.66 (20-46) olup, 85'i erkek (yaş ortalaması=24.59; 20-46) ve 20'si kadındır (yaş ortalaması=30.20; 25-46). Bu olguların 69'u hasta grubunu ve 36'sı ise kontrol grubunu oluşturmaktadır.

Çalışmaya dahil edilen 69 kişilik hasta grubunun toplu sonuçları Tablo-I'de verilmiştir.

**Tablo-I: Hastaların Toplu Sonuçları\***

PARAMETRE	ORTALAMA	STD. SAPMA	EN AZ	EN ÇOK
ALT	960.89	1191.17	24.00	4424.00
Tüberkülin 48.S	4.01	2.14	0.00	10.00
Tüberkülin 72.S	5.52	2.45	0.00	12.00
Lenfosit Sayısı	2226.08	824.02	500.00	3500.00
CD3 Yüzdesi	70.69	8.76	48.04	83.34
CD3 Sayısı	1518.07	592.93	231.70	2516.80
CD4 Yüzdesi	41.78	7.64	26.37	60.56
CD4 Sayısı	902.63	331.82	257.10	1553.30
CD8 Yüzdesi	28.84	5.78	15.00	40.37
CD8 Sayısı	675.21	349.49	107.50	1902.00
CD19 Yüzdesi	12.42	5.71	4.30	31.50
CD19 Sayısı	279.50	170.94	47.80	693.00
CD4/CD8 Oranı	1.51	0.46	0.90	2.88

(\*) Ölçü birimi; ALT için IU, tüberkülin için mm., lenfosit ve alt gruplarının sayıları için /mm<sup>3</sup>'dür.

Uygulanan cilt testi antijenlerinden sadece tüberkülinde pozitif ( $\geq 10$  mm) cevaplar elde edildiğinden ve tüberkülin ile diğer antijenler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğundan karşılaştırmalarda sadece tüberkülin değerleri incelemeye alınmıştır (Tüm antijenler için  $p < 0.01$ ).

Çalışmaya dahil edilen 69 kişinin 27'si akut HBV enfeksiyonu, 19'u HBV taşıyıcısı, 23'ü ise kronik HBV enfeksiyonu tanılarını

almıştır. Hasta gruplarının toplu sonuçları ayrı ayrı Tablo-II,III ve IV'de verilmiştir.

**Tablo-II: Akut HBV İnfeksiyonu Grubu Olgularının Toplu Sonuçları\***

PARAMETRE	ORTALAMA	STD. SAPMA	EN AZ	EN ÇOK
ALT	2093.14	1198.46	358.00	4424.00
Tüberkülin 48.S	3.29	2.12	1.00	10.00
Tüberkülin 72.S	4.55	2.35	2.00	12.00
Lenfosit Sayısı	2051.85	644.72	1300.00	3500.00
CD3 Yüzdesi	70.66	4.34	63.49	76.13
CD3 Sayısı	1438.99	433.78	944.45	2425.50
CD4 Yüzdesi	40.03	4.50	33.78	47.66
CD4 Sayısı	815.55	257.04	477.75	1553.30
CD8 Yüzdesi	29.56	3.45	23.93	36.60
CD8 Sayısı	610.77	237.39	374.50	1281.00
CD19 Yüzdesi	9.89	4.32	4.30	16.46
CD19 Sayısı	206.07	118.97	77.40	465.50
CD4/CD8 Oranı	1.36	0.17	1.10	1.68

(\*) Ölçü birimi; ALT için IU, tüberkülin için mm.,lenfosit ve alt gruplarının sayıları için /mm<sup>3</sup>'dür.

**Tablo-III: HBV Taşıyıcısı Grubu Olgularının Toplu Sonuçları\***

PARAMETRE	ORTALAMA	STD. SAPMA	EN AZ	EN ÇOK
ALT	46.36	24.71	24.00	95.00
Tüberkülin 48.S	4.00	2.16	0.00	8.00
Tüberkülin 72.S	5.68	2.94	0.00	10.00
Lenfosit Sayısı	2457.89	571.85	1800.00	3300.00
CD3 Yüzdesi	63.89	11.76	48.04	79.39
CD3 Sayısı	1449.60	515.69	231.70	2381.70
CD4 Yüzdesi	36.19	6.56	26.37	47.39
CD4 Sayısı	879.12	214.61	632.88	1137.60
CD8 Yüzdesi	28.27	8.93	15.00	40.37
CD8 Sayısı	714.06	340.83	360.00	1211.00
CD19 Yüzdesi	13.31	5.99	5.96	21.00
CD19 Sayısı	333.34	191.37	149.00	693.00
CD4/CD8 Oranı	1.39	0.42	0.90	2.01

(\*) Ölçü birimi; ALT için IU, tüberkülin için mm.,lenfosit ve alt gruplarının sayıları için /mm<sup>3</sup>'dür.

**Tablo-IV: Kronik HBV Enfeksiyonu Grubu Olgularının Toplu Sonuçları\***

PARAMETRE	ORTALAMA	STD.SAPMA	EN AZ	EN ÇOK
ALT	387.21	219.06	117.00	710.00
Tüberkülin.48.S	4.86	1.91	2.00	8.00
Tüberkülin 72.S	6.54	1.63	4.00	10.00
Lenfosit Sayısı	2239.13	1120.77	500.00	3500.00
CD3 Yüzdesi	76.34	5.36	64.50	83.34
CD3 Sayısı	1667.47	782.07	395.80	2516.80
CD4 Yüzdesi	48.45	6.65	40.97	60.56
CD4 Sayısı	1024.29	446.43	257.10	1515.52
CD8 Yüzdesi	28.46	4.77	21.00	33.61
CD8 Sayısı	718.77	455.53	107.50	1902.00
CD19 Yüzdesi	14.65	5.97	9.56	31.50
CD19 Sayısı	321.21	180.80	47.80	644.00
CD4/CD8 Oranı	1.79	0.59	1.31	2.88

(\*) Ölçü birimi; ALT için IU, tüberkülin için mm., lenfosit ve alt gruplarının sayıları için /mm<sup>3</sup>'dür.

Kontrol grubu olarak alınan 36 olgunun sonuçları toplu halde Tablo V'de verilmiştir.

**Tablo-V: Kontrol Grubunun Toplu Sonuçları\***

PARAMETRE	ORTALAMA	STD. SAPMA	EN AZ	EN ÇOK
ALT	29.22	5	4218.00	38.00
Tüberkülin 48.S	6.22	1.97	3.00	9.00
Tüberkülin 72.S	8.27	2.19	4.00	11.00
Lenfosit Sayısı	2652.77	674.21	1300.00	3700.00
CD3 Yüzdesi	74.35	5.43	64.73	86.35
CD3 Sayısı	1909.01	550.60	216.54	2691.38
CD4 Yüzdesi	41.14	8.49	26.11	54.86
CD4 Sayısı	1097.23	367.97	422.50	1793.50
CD8 Yüzdesi	30.35	4.22	24.49	40.93
CD8 Sayısı	796.73	207.82	395.40	1350.00
CD19 Yüzdesi	10.89	3.69	7.65	20.59
CD19 Sayısı	291.55	127.68	122.30	535.30
CD4/CD8 Oranı	1.38	0.38	0.94	2.14

(\*) Ölçü birimi; ALT için IU, tüberkülin için mm., lenfosit ve alt gruplarının sayıları için /mm<sup>3</sup>'dür.

Hasta gruplarının tüberkülin testinden 72 saat sonraki sonuçları, lenfosit subpopülasyonu yüzdeleri, lenfosit subpopülasyonu mutlak sayıları ve CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranları ortalamalarının *Student's t testi*'ne göre kontrol grubu ile karşılaştırmaları Tablo-VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV ve XV'te verilmiştir.

**Tablo-VI:** Tüberkülin Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

	Tüberkülin	t	p	SD*
<b>Akut</b>	4.55±2.35mm.	-6.44	p<0.001	61
<b>Taşıyıcı</b>	5.68±2.94mm.	-3.69	p<0.001	58
<b>Kronik</b>	6.54±1.63mm.	-3.25	p<0.001	57
<b>Kontrol</b>	8.27±2.19mm.			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

Tüberkülin yanıtı açısından hasta grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar mevcuttur.

**Tablo-VII:** CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> Oranı Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

	CD <sub>4</sub> /CD <sub>8</sub>	t	p	SD*
<b>Akut</b>	1.26±0.17	-0.33	p>0.05	61
<b>Taşıyıcı</b>	1.39±0.42	0.06	p>0.05	58
<b>Kronik</b>	1.79±0.54	3.21	p<0.05	57
<b>Kontrol</b>	1.38±0.38			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

Akut HBV infeksiyonu grubu ve taşıyıcı grubu ile kontrol grubu arasında  $CD_4/CD_8$  oranları yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken; kronik HBV infeksiyonu grubunda ise  $CD_4/CD_8$  oranı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış olarak bulunmuştur.

**Tablo-VIII :  $CD_3$  Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması**

	$CD_3$	<i>t</i>	<i>p</i>	SD*
<b>Akut</b>	70.66± 4.34	-2.90	<b>p&lt;0.01</b>	61
<b>Taşıyıcı</b>	63.89±11.76	-4.52	<b>p&lt;0.001</b>	58
<b>Kronik</b>	76.34± 5.36	1.37	<b>p&gt;0.05</b>	57
<b>Kontrol</b>	74.35± 5.43			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

Akut HBV infeksiyonu ve taşıyıcı grubunun  $CD_3$  ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuşken; kronik HBV infeksiyonu grubunun  $CD_3$  ortalamaları ile kontrol grubunun ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

**Tablo-IX:  $CD_3$  Mutlak Sayıları Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması**

	$CD_3$ Sayısı	<i>t</i>	<i>p</i>	SD*
<b>Akut</b>	1438±433	-3.66	<b>p&lt;0.001</b>	61
<b>Taşıyıcı</b>	1449±515	-3.00	<b>p&lt;0.01</b>	58
<b>Kronik</b>	1667±782	-1.39	<b>p&gt;0.05</b>	57
<b>Kontrol</b>	1909±550			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

Akut HBV infeksiyonu ve taşıyıcı grubunun CD<sub>3</sub> mutlak sayılarının ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuşken; kronik HBV infeksiyonu grubunun CD<sub>3</sub> mutlak sayılarının ortalamaları ile kontrol grubunun ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

**Tablo-X:** CD<sub>19</sub> Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

	CD <sub>19</sub>	t	p	SD*
<b>Akut</b>	<b>9.89±4.32</b>	-0.98	<b>p&gt;0.05</b>	61
<b>Taşıyıcı</b>	<b>13.31±5.99</b>	1.84	<b>p&lt;0.05</b>	58
<b>Kronik</b>	<b>14.65±5.99</b>	2.98	<b>p&lt;0.01</b>	57
<b>Kontrol</b>	<b>10.89±3.69</b>			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

CD<sub>19</sub> ortalamaları incelendiğinde; akut HBV infeksiyonu grubunun sonuçları ile kontrol grubunun sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken, taşıyıcı ve kronik HBV infeksiyonu grubunun CD<sub>19</sub> ortalaması kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olarak bulunmuştur.

**Tablo-XI:** CD<sub>19</sub> Mutlak Sayıları Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

	CD <sub>19</sub> Sayısı	t	p	SD*
<b>Akut</b>	<b>206±118</b>	-2.71	<b>p&lt;0.01</b>	61
<b>Taşıyıcı</b>	<b>333±191</b>	0.97	<b>p&gt;0.05</b>	58
<b>Kronik</b>	<b>321±180</b>	0.74	<b>p&gt;0.05</b>	57
<b>Kontrol</b>	<b>291±127</b>			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

CD<sub>19</sub> mutlak sayılarının ortalamaları incelendiğinde; akut HBV enfeksiyonu grubunun sonuçları ile kontrol grubunun sonuçları arasında kontrol grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuşken; taşıyıcı ve kronik HBV enfeksiyonu grubunun CD<sub>19</sub> mutlak sayılarının ortalaması ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

**Tablo-XII:** CD<sub>4</sub> Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

	CD <sub>4</sub>	t	p	SD*
<b>Akut</b>	40.03±4.50	-0.62	p>0.05	61
<b>Taşıyıcı</b>	26.19±6.65	-2.21	p<0.05	58
<b>Kronik</b>	48.44±6.65	3.49	p<0.01	57
<b>Kontrol</b>	41.14±8.49			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

CD<sub>4</sub> ortalamaları incelendiğinde; akut HBV grubunun sonuçları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken; taşıyıcı ve kronik HBV enfeksiyonu grubunun CD<sub>4</sub> ortalaması kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

**Tablo-XIII:** CD<sub>4</sub> Mutlak Sayıları Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması

	CD <sub>4</sub> Sayısı	t	p	SD*
<b>Akut</b>	815±257	-3.40	p<0.001	61
<b>Taşıyıcı</b>	893±218	-2.37	p<0.05	58
<b>Kronik</b>	1024±446	-6.82	p>0.05	57
<b>Kontrol</b>	1097±367			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

CD<sub>4</sub> mutlak sayılarının ortalamaları incelendiğinde; akut HBV enfeksiyonu ve taşıyıcı grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma bulunmuşken, kronik HBV enfeksiyonu grubununun mutlak sayıları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

**Tablo-XIV: CD<sub>8</sub> Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması**

	CD <sub>8</sub>	t	p	SD*
<b>Akut</b>	<b>29.56±3.45</b>	-0.78	<b>p&gt;0.05</b>	61
<b>Taşıyıcı</b>	<b>28.27±8.93</b>	-1.17	<b>p&gt;0.05</b>	58
<b>Kronik</b>	<b>28.46±4.77</b>	-1.59	<b>p&gt;0.05</b>	57
<b>Kontrol</b>	<b>30.58±4.22</b>			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

Hasta gruplarının CD<sub>8</sub> ortalamalarının kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlenmiştir.

**Tablo-XV: CD<sub>8</sub> Mutlak Sayıları Ortalamalarının Kontrol Grubu İle Karşılaştırılması**

	CD <sub>8</sub> Sayısı	t	p	SD*
<b>Akut</b>	<b>610±237</b>	-3.31	<b>p&lt;0.001</b>	61
<b>Taşıyıcı</b>	<b>714±340</b>	-1.12	<b>p&gt;0.05</b>	58
<b>Kronik</b>	<b>718±455</b>	-0.89	<b>p&gt;0.05</b>	57
<b>Kontrol</b>	<b>796±207</b>			

(\*) SD : Serbestlik derecesi

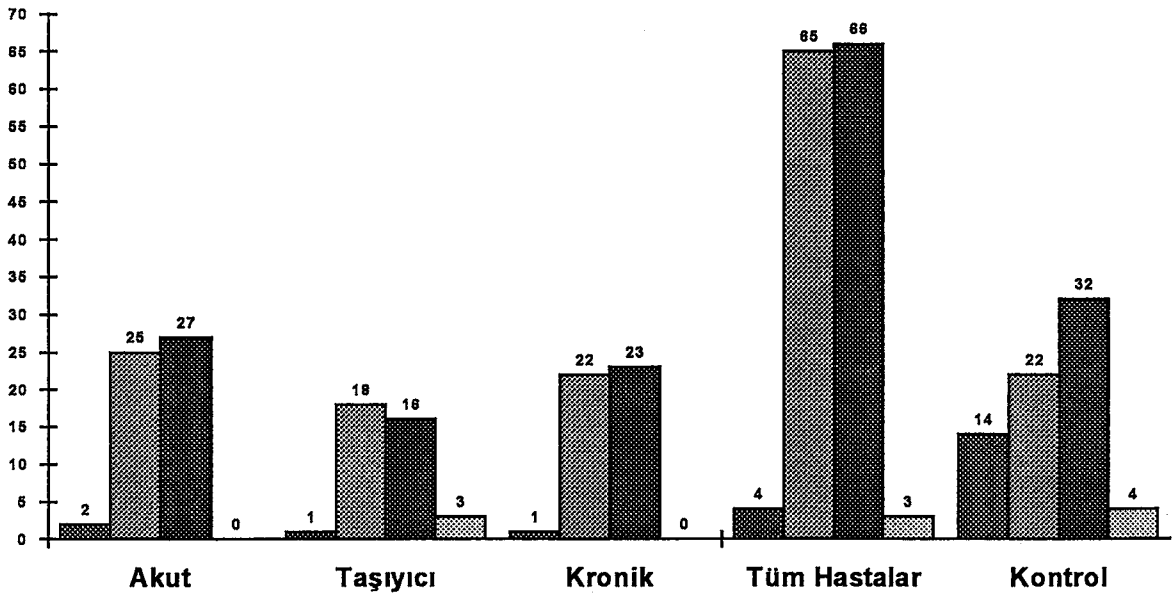
CD<sub>8</sub> mutlak sayıları ortalamaları karşılaştırıldığında ise sadece akut HBV enfeksiyonu grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır.

İncelenen olgularda cilt testi ile 72 saatte elde edilen endurasyon yanıtı 10 mm. ve daha yukarı olanların hücrel immünitesinin yeterli olduğu kabul edilmiştir<sup>(7,81)</sup>. Lenfosit subpopülasyonunun incelenmesi ile elde edilen CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı 1.00 ve daha üzerinde (kontrol grubumuzun CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı 1.038±0.38) olanlarda ise hücrel immünitenin yeterli olduğu kabul edilmiştir<sup>(81)</sup>. Bu kriterlere göre olguların hücrel immünite durumları Tablo-XVI'da ve Grafik-1'de verilmiştir.

**Tablo-XVI: Tüm Grupların Hücrel İmmünite Durumları**

Gruplar	Tüberkülin ile		Lenfosit subpopülasyonu ile	
	Yeterli	Yetersiz	Yeterli	Yetersiz
Akut	2	25	27	0
Taşıyıcı	1	18	16	3
Kronik	1	22	23	0
Tüm Hastalar	4	65	66	3
Kontrol	14	22	32	4

■ Tüberkülin İle Yeterli    ■ Tüberkülin İle Yetersiz    ■ CD4/CD8 İle Yeterli    ■ CD4/CD8 İle Yetersiz



**Grafik-1: Tüm Grupların Hücrel İmmünite Durumları**

Hücrel immünite ölçümü için, tüberkülin ile 72. saatteki endurasyon çapı esas alındığında; hasta grubunun hücrel immünite durumu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, fark kontrol grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $\chi^2=15.983$ ,  $p<0.001$ ). Ancak  $CD_4/CD_8$  oranı esas alındığında iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $\chi^2=0.822$ ,  $p>0.05$ ).

Aynı karşılaştırma hasta grupları ile kontrol grubu arasında ayrı ayrı yapıldığında; tüberkülin 72. saat değeri esas alınırsa fark kontrol grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı iken (akut HBV enfeksiyonu grubu için  $\chi^2=6.131$ ,  $p<0.05$ ; HBV taşıyıcısı grubu için  $\chi^2=5.900$ ,  $p<0.05$ ; kronik HBV enfeksiyonu grubu için  $\chi^2=7.103$ ,  $p<0.01$ );  $CD_4/CD_8$  oranı esas alındığında ise farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (akut HBV enfeksiyonu grubu için  $\chi^2=1.522$ ,  $p>0.05$ ; HBV taşıyıcısı grubu için  $\chi^2=0.178$ ,  $p>0.05$ ; kronik HBV enfeksiyonu grubu için  $\chi^2=1.265$ ,  $p>0.05$ ).

Akut HBV enfeksiyonu grubu ile kronik HBV enfeksiyonu ve taşıyıcı grupları karşılaştırıldığında; fark tüberkülin 72. saat değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (akut HBV enfeksiyonu ve kronik HBV enfeksiyonu grubu için  $\chi^2=0.012$ ,  $p>0.05$ ; akut HBV enfeksiyonu ve taşıyıcı grubu için  $\chi^2=0.056$ ,  $p>0.05$ ). Aynı şekilde bu grupların  $CD_4/CD_8$  oranları yönünden karşılaştırılmasında fark yine istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (akut HBV enfeksiyonu ve kronik HBV enfeksiyonu grubu için  $\chi^2$  hesaplanmamıştır; akut HBV enfeksiyonu ve taşıyıcı grubu için  $\chi^2=1.758$ ,  $p>0.05$ ). Kronik HBV enfeksiyonu grubu ile taşıyıcı grubu arasında her iki yöntem açısından da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (tüberkülin için  $\chi^2=0.390$ ,  $p>0.05$  ve  $CD_4/CD_8$  oranı için  $\chi^2=1.758$ ,  $p>0.05$ ).

Akut HBV enfeksiyonu grubundaki olguların parametrelerinin karşılaştırılmasında; ALT ile  $CD_4/CD_8$  oranı arasında belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı, pozitif bir korelasyon dikkati çekmektedir.  $CD_{19}$  yüzdesi ile  $CD_4/CD_8$  oranı arasında ise negatif bir korelasyon bulunmaktadır. Akut HBV enfeksiyonu grubu parametrelerinin korelasyon katsayıları Tablo-XVII'de verilmiştir.

**Tablo-XVII: Akut HBV İnfeksiyonu Grubunun Parametreler Arası Korelasyon Katsayıları**

	ALT	Tüberkülin	L. Sayısı	CD3-%	CD4-%	CD8-%	CD19-%
ALT	1.00000						
Tüberkülin	-.43927	1.00000					
L. Sayısı	-.26779	.73145	1.00000				
CD3-%	-.52504	.03635	-.40591	1.00000			
CD4-%	.50351	.09113	-.27251	.25401	1.00000		
CD8-%	-.48607	.55619	.19490	.73316	.38579	1.00000	
CD19-%	-.79171	.24524	.11183	.47590	-.54022	.40682	1.00000
CD4/CD8	.90423	-.41453	-.35553	-.51384	.48548	-.61431	-.86322

Kronik HBV enfeksiyonlu olguların parametreleri karşılaştırıldığında; lenfosit sayısı ile CD<sub>8</sub> yüzdesi arasında pozitif bir korelasyon, CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı ile negatif bir korelasyon dikkati çekmektedir. Yine CD<sub>8</sub> yüzdesi ile CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı arasında negatif bir korelasyon söz konusudur. Kronik HBV enfeksiyonu grubunun parametrelerinin korelasyon katsayıları Tablo-XVIII'de verilmiştir.

**Tablo-XVIII: Kronik HBV İnfeksiyonu Grubunun Parametreler Arası Korelasyon Katsayıları**

	ALT	Tüberkülin	L. Sayısı	CD3-%	CD4-%	CD8-%	CD19-%
ALT	1.00000						
Tüberkülin	-.51383	1.00000					
L. Sayısı	.26031	-.09801	1.00000				
CD3-%	-.06854	.17329	-.74296	1.00000			
CD4-%	-.26396	.33714	-.38913	.16532	1.00000		
CD8-%	.00122	-.07342	.90654	-.60964	-.36711	1.00000	
CD19-%	.68596	-.25079	-.10699	.08662	-.16140	-.36658	1.00000
CD4/CD8	-.00886	.11267	-.90435	.72809	.27677	-.96293	.41617

Kronik HBV enfeksiyonu grubunda gözlenen CD<sub>8</sub> yüzdesi ile CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı arasında bulunan negatif korelasyon taşıyıcı grubunda

da dikkati çekmektedir HBV taşıyıcısı grubuna ait parametrelerin korelasyon katsayıları XIX'da verilmiştir.

**Tablo-XIX: HBV Taşıyıcısı Grubunun Parametreler Arası Korelasyon Katsayıları**

	ALT	Tüberkülin	L. Sayısı	CD3-%	CD4-%	CD8-%	CD19-%
ALT	1.00000						
Tüberkülin	-.68231	1.00000					
L.Sayısı	.30151	-.65492	1.00000				
CD3-%	-.48689	.13631	-.12205	1.00000			
CD4-%	-.18387	-.09403	-.30389	.63148	1.00000		
CD8-%	.13637	-.39756	.39564	.72771	.32378	1.00000	
CD19-%	.40154	-.18230	.18836	-.95734	-.46385	-.74939	1.00000
CD4/CD8	-.35727	.40882	-.52906	-.37424	.17406	-.86475	.50003

Kontrol grubunun parametreleri incelendiğinde, sadece CD<sub>4</sub> yüzdesi ile CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı arasında korelasyon bulunmaktadır. Kontrol grubu parametrelerinin korelasyon katsayıları Tablo-XX'de verilmiştir.

**Tablo-XX: Kontrol Grubunun Parametreler Arası Korelasyon Katsayıları**

	ALT	Tüberkülin	L. Sayısı	CD3-%	CD4-%	CD8-%	CD19-%
ALT	1.00000						
Tüberkülin	.09296	1.00000					
L.Sayısı	-.13231	-.44188	1.00000				
CD3-%	-.02181	-.09832	-.30898	1.00000			
CD4-%	-.25681	-.52171	.10169	.28446	1.00000		
CD8-%	-.04545	.63099	-.41092	-.19032	-.22417	1.00000	
CD19-%	-.03425	-.12010	.10345	-.28924	-.08875	-.11234	1.00000
CD4/CD8	-.21904	-.69508	.24013	.30100	.90633	-.60063	.00317

## TARTIŞMA ve SONUÇ

HBV'nin sitopatik olmadığı bir çok çalışma ile gösterilmiştir<sup>(57,80)</sup>. Bu nedenle, HBV infeksiyonunun patogeneğinde karaciğer hasarının nedeni olarak başka mekanizmaların söz konusu olabileceği öne sürülmüştür. HBV infeksiyonlu olguların karaciğer biyopsi örnekleri incelendiğinde, hasarın fazla olduğu karaciğer bölgelerinde T lenfositlerin yüksek oranda bulunması ve immün sistemin stimülasyonu ile hepatosit nekrozunun artması, patogeneşte immün mekanizmaların rol oynadığını düşündürmüştür<sup>(46)</sup>.

HBV taşıyıcılarının karaciğerlerinde bol miktarda HBV çoğalmasına ve HBV genomu ürünlerinin bulunmasına karşın; karaciğer histolojisi ve fonksiyonlarının normal olması, ayrıca mononükleer hücreler ile hasarlı karaciğer arasında net bağıntının varlığı, immün regülasyondaki değişimlerin karaciğerdeki hasarın derecesini etkilemesi ve agammaglobulinemililerin de HBV'nin indüklediği hasardan korunamaması, hasardan hücrel immünite mekanizmalarının sorumlu olduğu düşüncesini desteklemektedir<sup>(20,35,46)</sup>.

Her ne kadar HBV infeksiyonunun patogeneğinde rol alan hücrel immünite mekanizması tam olarak ortaya konamamışsa da; ADCC, NK hücre aktivitesi ve MHC'ye sınırlı STL aktivitesinin olaya dahil olduğu kabul edilmektedir. STL'lerin aktivitesinde virüs içeren hepatositlerin tanınması ve yıkılması için hepatosit yüzeyinde HBcAg ve MHC class-I antijenlerinin birlikte eksprese edilmesi gerekmektedir<sup>(51,57,59,60)</sup>. Her ne kadar STL'lerin immünolojik hedefi sadece HBcAg değilse de HBcAg, HBsAg ve HBeAg'den 100 kat daha fazla oranda immünolojik hedef oluşturmaktadır<sup>(15,68,90)</sup>.

HBV klirensinin yetersizliği, taşıyıcılık ve kronik duruma dönüşüm, viral faktörlerden çok konağa bağlı mekanizmalar ile

açıklanabilir. Hastanın hücrel immünite durumu, gelişebilecek HBV sekellerini belirlemede önemli rol oynamaktadır. Virüsün alınma yaşı da, belki de immün tolerans nedeni ile, viral persistansa yol açıyor olabilir. Bütün bu veriler HBV enfeksiyonunun patogeneğinde hücrel immünitenin rolünü desteklemektedir<sup>(20,35,73,74,80,95)</sup>.

HBV enfeksiyonlu olguların karaciğerlerinde bulunan mononükleer hücrelerden baskın olan hücre grubu CD<sub>8</sub>+ T lenfositlerdir. Bu baskınlık, enfekte hepatositler ile bağlantılıdır. Karaciğerin mononükleer makrofajları olan Kupffer hücreleri de hipertrofik ve hiperplaziktir. Bu histolojik görünümü ile Tip-IV ADR yanıtını andırmaktadır<sup>(75)</sup>.

HBV'nin, major olarak karaciğeri tutmakla birlikte kemik iliği ve lökositlerde de replike olabildiği söylenmektedir<sup>(19,94)</sup>. Kronik HBV enfeksiyonlu olgularda periferik lenfositler ile monositlerin sayı ve fonksiyon bozukluklarının saptanması, HBV'nin mi immunitayı baskıladığı, yoksa immünolojik bozuklukların mı HBV enfeksiyonu sekellerine yol açtığı tartışmasını doğurmuştur. Hepatositlerin de HBV enfeksiyonunun patogeneğinde immünomodülatör bir hücre gibi davranabileceği iddiaları bu konudaki şüpheleri arttırmıştır<sup>(89)</sup>.

STL'lerin fonksiyonlarının baskılanması ve viral klirensin yetersizliği sadece HBV'nin kemik iliğindeki olası replikasyonu ile açıklanamaz. HBV enfeksiyonlu olgularda IFN oluşumundaki yetersizlik, MHC class-I ekspresyonu artışını baskılamaktadır. Böylece yeterli HBcAg ekspresyonu oluşmamaktadır. Yüksek titredeki anti-HBc, HBcAg blokajı yapmakta; HBeAg HBcAg ile STL'leri için yarışmakta ve böylece viral klirens yetersiz kalmaktadır<sup>(15,32,83)</sup>.

HBV enfeksiyonunun patogenezi ile hücrel immünite arasındaki bağıntıyı araştırmak ilgi çekici olmakla birlikte, literatürde HBV enfeksiyonlu olgularda hücrel immünite durumunun cilt testleri ile araştırıldığı çok az, lenfosit subpopülasyonları ile araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan literatür araştırmalarında ise HBV enfeksiyonlu olguların cilt testi sonuçları ile lenfosit

subpopülasyonu arasındaki bağıntıyı inceleyen hiçbir çalışmaya rastlanılmamıştır (58). Bu nedenle, bulgularımızı her iki yöntem için ayrı ayrı literatür ile karşılaştırdık ve iki test arasındaki bağıntıyı ise kendi sonuçlarımızı karşılaştırarak tartıştık.

Juszczyk ve arkadaşlarının 109'u HBV infeksiyonlu 120 kronik karaciğer hastası üzerinde yaptıkları bir çalışmada, immün yanıt yetersizliği ile hastalığın şiddeti bağıntılı bulunmuş ve KPH'de % 13 oranında bulunan hücrel immün yetersizlik siroz gelişen olgularda % 61 (kompanse sirozda) ve % 77 (kompanse olmayan sirozda) düzeylerine ulaşmıştır. CMI multi-test aygıtının prognoz ve klinik seyrin takibinde kullanılabileceği belirtilmiştir(40).

Fuchs ise Dinitrochlorobenzene ve tüberkülin ile yaptığı çalışmasında, KAH'li olgularda büyük oranda negatif sonuçlar bulmuştur. Bu çalışmada HBsAg titresi ile cilt testi sonucu negatifliği arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır. HBsAg titresi arttıkça negatiflik oranı artmıştır(28).

Çalışmamızda tüberkülinin 72. saatte elde edilen endurasyon çapları önce diğer antijenlerin değerleri ile karşılaştırılmış ve sonuçlar arasında belirgin, istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunduğu saptanmıştır. Bu nedenle cilt testi sonucu olarak sadece tüberkülin sonuçları değerlendirmeye alınmıştır (tüm antijenler için  $p < 0.01$ ).

Çalışmamızın hasta grupları hücrel immünitesi yönünden kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında; tüberkülin 72.saat değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunurken (akut HBV infeksiyonu ve kontrol grubu için  $\chi^2=6.131$ ,  $p < 0.05$ ; taşıyıcı ve kontrol grubu için  $\chi^2=5.900$ ,  $p < 0.05$ ; kronik HBV infeksiyonu ve kontrol grubu için  $\chi^2=7.103$ ,  $p < 0.01$ ); hasta grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunamamıştır (tüm gruplar için  $p > 0.05$ ). Bu sonuçlarla; çalışmamız, her ne kadar Juszczyk ve arkadaşları(40) ile Fuchs(28) 'un çalışmaları ile gereç ve yöntem yönünden tam benzerlik göstermese de, hasta gruplarının cilt testi yanıtının yetersizliği dikkate alındığında uygunluk göstermektedir. Çalışmamızın bu çalışmalardan farkı;

çalışmamızda siroz gelişmiş olgular yer almaması ve hastaların HBsAg titrelerinin ölçülmemiş olmasıdır.

Ding-Feng ve arkadaşları HBsAg taşıyıcılarında CD<sub>8</sub>+ T lenfosit aktivitesini artmış olarak bulmuşlardır<sup>(21)</sup>. Çalışmamızda ise, hasta ve kontrol gruplarının CD<sub>8</sub>+ T lenfosit oranları ortalamaları karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (akut HBV infeksiyonu ve kontrol grubu için  $t=-0.7841$ ,  $p>0.05$ ; taşıyıcı ve kontrol grubu için  $t=-1.1731$ ,  $p>0.05$  ve kronik HBV infeksiyonu ve kontrol grubu için  $t=-1.5914$ ,  $p>0.05$ ). CD<sub>8</sub>+ T lenfositlerin mutlak değerleri incelendiğinde ise akut HBV infeksiyonu grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir azalma ( $t=-3.31$ ,  $p<0.05$ ) saptanmışken, diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (taşıyıcı ve kontrol grubu için  $t=-1.1182$ ,  $p>0.05$  ve kronik HBV infeksiyonu ve kontrol grubu için  $t=-0.8944$ ,  $p>0.05$ ). Belki de akut HBV infeksiyonunda saptanan CD<sub>8</sub>+ T lenfosit mutlak sayısındaki azalmayı; CD<sub>8</sub>+ T lenfositlerin inflamasyon bölgesindeki birikimi açıklayabilir.

Barnaba ve arkadaşları<sup>(4,5)</sup> ile Onul ve arkadaşları<sup>(61)</sup> kronik karaciğer hastalıklarında CD<sub>4</sub>+ lenfositlerin azaldığını, CD<sub>8</sub>+ T lenfositlerin arttığını ve buna bağlı olarak CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranının düştüğünü saptamışlardır. Çalışmamızda ise, CD<sub>4</sub>+ T lenfositlerin akut HBV infeksiyonu grubunda değişmediği ( $t=-6.4453$ ,  $p>0.05$ ), taşıyıcı grubunda azaldığı ( $t=-2.2153$ ,  $p<0.05$ ) ve kronik HBV infeksiyonu grubunda ise arttığı ( $t=3.4912$ ) bulunmuştur. CD<sub>8</sub>+ T lenfositlerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişme saptanmamıştır (tüm gruplar için  $p>0.05$ ). CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranında ise kronik HBV infeksiyonu grubundaki artış dışında ( $t=3.21$ ,  $p<0.05$ ), diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Fakat mutlak lenfosit sayıları incelendiğinde ise akut HBV infeksiyonu grubunda CD<sub>3</sub>, CD<sub>4</sub> ve CD<sub>8</sub> sayılarının azaldığı (CD<sub>3</sub> için  $t=-3.66$ ,  $p<0.001$ ; CD<sub>4</sub> için  $t=-3.40$ ,  $p<0.001$ ; ve CD<sub>8</sub> için  $t=-3.31$ ,  $p<0.001$ ); HBV taşıyıcısı grubunda CD<sub>3</sub> ve CD<sub>4</sub> sayılarının azaldığı (CD<sub>3</sub> için  $t=-3.00$ ,  $p<0.05$  ve CD<sub>4</sub> için  $t=-2.37$ ,  $p<0.05$ ) ancak CD<sub>8</sub> sayısının değişmediği ( $t=-1.11$ ,  $p>0.05$ ) saptanmıştır. Kronik HBV infeksiyonu grubunda ise ne CD<sub>3</sub>, ne CD<sub>4</sub> ne de CD<sub>8</sub> mutlak sayılarında kontrol grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Bu durum ise olguların mutlak lenfosit sayılarındaki değişimlere bağlanabilir. Ancak, olguların mutlak lenfosit sayısı yönünden standardizasyonu yapılmamıştır.

Chu ve arkadaşları HBeAg pozitif taşıyıcı olgularda lenfosit subpopülasyonlarını  $CD_3=59.7$ ,  $CD_4=31.0$ ,  $CD_8=28.8$  ve  $CD_4/CD_8=1.09$  olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada anti-HBe pozitif taşıyıcı olgularda  $CD_3=65.5$ ,  $CD_4=42.6$ ,  $CD_8=24.1$  ve  $CD_4/CD_8=1.74$  ve kontrol grubunda ise  $CD_3=66.5$ ,  $CD_4=44.1$ ,  $CD_8=24.7$  ve  $CD_4/CD_8=1.75$  bulunmuştur. HBeAg pozitif olgulardaki  $CD_4$  azalması ve  $CD_8$  artışı dışında diğer sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmadığı gözlenmiştir<sup>(16)</sup>.

Coşkun ve arkadaşlarının çalışmasında<sup>(17)</sup> HBeAg pozitif asemptomatik taşıyıcı olgularda  $CD_3=87.15$ ,  $CD_4=50.38$ ,  $CD_8=33.6$ ; AntiHBe pozitif olgularda  $CD_3=82.07$ ,  $CD_4=53.06$ ,  $CD_8=29.30$  olarak saptanmıştır. Kontrol grubunda ise  $CD_3=85.38$ ,  $CD_4=53.38$ ,  $CD_8=30.69$  değerleri belirlenmiştir. Bu sonuçlarla gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Çalışma gruplarımız, bu çalışma grupları ile tam bir paralellik göstermemektedir; çünkü çalışmamızda hastalar HBeAg ve anti-HBe yönünden gruplandırılmamıştır.

Paptopoulu ve arkadaşları; asemptomatik taşıyıcılarda lenfosit subpopülasyonlarını  $CD_3=64$ ,  $CD_4=47$ ,  $CD_8=28$  ve  $CD_4/CD_8=1.76$ ; kontrol grubunda ise  $CD_3=65$ ,  $CD_4=44$ ,  $CD_8=28$  ve  $CD_4/CD_8=1.58$  olarak bulmuşlardır<sup>(66)</sup>. Çalışmamızın taşıyıcı grubunun sonuçları  $CD_3=70.66$ ,  $CD_4=26.19$ ,  $CD_8=28.27$  ve  $CD_4/CD_8=1.39$  olarak bulunmuş; kontrol grubunda ise  $CD_3=74.35$ ,  $CD_4=41.14$ ,  $CD_8=30.35$  ve  $CD_4/CD_8=1.38$  olarak saptanmıştır. Paptopoulu ve arkadaşlarının çalışması ile çalışmamız arasında  $CD_4$  açısından bir uyumsuzluk söz konusudur. Çalışmamızda taşıyıcı grubunun  $CD_4$  + T lenfositlerinde, Paptopoulu ve arkadaşlarının çalışma grubunu oluşturan olgularda belirlenenlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir azalma söz konusudur. Paptopoulu'nun ve çalışmamızın taşıyıcı grubu karşılaştırıldığında grubumuzun  $CD_4/CD_8$  oranı da azalmıştır.

Ferrari ve arkadaşları periferik lenfosit subpopülasyonlarının HBV'ye yönelik gerçek immünolojik durumu gösteremeyeceğini, gerçek immünolojik durumun intrahepatik hasar bölgesindeki CD<sub>8</sub>+ T lenfositlere bağlı süpresyon ile bağlantılı olduğunu belirtmişlerdir<sup>(26)</sup>.

Fedorchenko ve arkadaşları kronik HBV enfeksiyonlu olgularda belirgin bir CD<sub>8</sub>+ T lenfosit azalmasının geliştiğini göstermişlerdir<sup>(24)</sup>. Çalışmamızın hasta gruplarının CD<sub>8</sub> T lenfosit değerleri ortalaması, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (tüm gruplar için  $p>0.05$ ). Aynı şekilde, CD<sub>8</sub>+ T lenfositlerin mutlak sayılarının ortalamaları incelendiğinde de kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (tüm gruplar için  $p>0.05$ ).

Yamada ve arkadaşları yapmış oldukları intrahepatik lenfosit subpopülasyonu incelemesinde; anti-HBe pozitif olgularda portal ve periportal alanlar ile lobüler alanlarda CD<sub>3</sub>, CD<sub>4</sub>, CD<sub>8</sub> hücrelerde belirgin bir azalma saptamışlar ve HBV replikasyonu ile intrahepatik lenfosit sayılarının azaldığını belirtmişlerdir<sup>(92)</sup>.

Çalışmamızda; CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı esas alınarak yapılan yeterlilik değerlendirilmesinde hasta grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. (akut HBV enfeksiyonu ve kontrol grubu için  $\chi^2=1.522$ ,  $p>0.05$ ; taşıyıcı ve kontrol grubu için  $\chi^2 =0.178$ ,  $p>0.05$ ; kronik HBV enfeksiyonu ve kontrol grubu için  $\chi^2 =1.265$ ,  $p>0.05$ ). Bununla birlikte, kronik HBV enfeksiyonu grubunun CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranı ortalamasının kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla olduğu görülmüştür ( $t=3.21$ ,  $p<0.05$ ). Bu farklılık, hücresel immunitenin yeterliliği incelendiğinde görülmemektedir ( $\chi^2 =1.265$ ,  $p>0.05$ ). Sonuçlarımız, Coşkun ve arkadaşlarının<sup>(17)</sup> çalışmalarında elde edilenler ile karşılaştırıldığında, CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> oranları ile hücresel immüniteyi değerlendirme yönünden fark bulunamamıştır.

Sonuçlarımızın literatür sonuçları ile gösterdiği uyumsuzluklar, büyük olasılıkla olguların mutlak lenfosit sayıları yönünden

standardize edilmemelerine bağlıdır. Farklılık, çalışmamızda lenfosit subpopülasyonlarının saptanmasında kullandığımız insan faktörünü en aza indirgeyen Flow Cytometry yöntemine de bağlı olabilir.

Çalışma gruplarının incelenen parametreleri birbiri ile karşılaştırıldığında, akut HBV enfeksiyonu grubunda ALT düzeyleri ile  $CD_4/CD_8$  oranları arasındaki saptanan pozitif korelasyonun ( $kk=0.90423$ ) çok anlamlı olduğu değerlendirilmektedir. Akut HBV enfeksiyonlu olgularda  $CD_4/CD_8$  oranı arttıkça ALT düzeyleri artmaktadır. Bu sonuç, akut dönemdeki  $CD_4$  T+ lenfositlerin uyarımına bağlı olabilir.

Kronik HBV enfeksiyonu grubu ve taşıyıcı grubunda saptanan  $CD_8$  yüzdesi ile  $CD_4/CD_8$  oranı arasındaki negatif korelasyonun (kronik HBV grubunda  $kk=-0.92693$  ve taşıyıcı grubunda  $kk=-0.86475$ ) diğer gruplarda gözlenmemesi, bu gruplardaki  $CD_4/CD_8$  oranında saptanan değişimlerden büyük ölçüde  $CD_8$  yüzdesinin etkili olduğunu göstermektedir. Kontrol grubundaki  $CD_4$  yüzdesi ile  $CD_4/CD_8$  oranı arasında saptanan pozitif korelasyonun ( $kk=0.90633$ ) diğer gruplarda saptanamaması ise bu grubun  $CD_4/CD_8$  oranının değişimlerinden büyük oranda  $CD_4$  yüzdesi değişikliklerinin sorumlu olduğunu düşündürmektedir.

Hasta gruplarında cilt testleri ile yetersiz olduğu saptanan hücrel immünitinin  $CD_4/CD_8$  oranı dikkate alındığında, yeterli düzeyde olduğunun görülmesi, oran olarak hücrel immüniteyi yeterli gösteren hücrelerin fonksiyonel bakımdan yetersiz olup olmayacağı sorusunu akla getirmektedir<sup>(89)</sup>. Diğer bir görüş ise, Ferrari ve arkadaşlarının belirttiği gibi, bu hücrelerdeki sayısal değişimin intrahepatik bölgede olma olasılığıdır<sup>(26)</sup>. Bu nedenle, periferik lenfosit subpopülasyonlarının sayıları değişmemiş olabilir. Bu sorular daha kapsamlı, hücrel ve hücre içi immünohistokimyasal araştırmalar ile açıklama beklemektedir.

Gruplarda elde edilen parametreler arası anlamlı korelasyonlar, kullandığımız iki yöntem arasındaki farklılıklar ve gruplarda saptadığımız lenfosit subpopülasyon farklılıkları; HBV

infeksiyonundaki hücresel immüitenin rolünün, lenfosit subpopülasyon markerlerinin farklı hastalık evrelerinde gösterdiği değişimlerinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunabilmektedir. Ayrıca, HBV infeksiyonlu olgularda lenfosit subpopülasyonlarının incelenmesi hücresel immüiteyi değerlendirmede cilt testlerine göre daha anlamlı sonuçlar vermektedir.



## ÖZET

Sitopatik olmayan Hepatit B Virüsü'ne (HBV) bağlı infeksiyonun patogenezinde, başka mekanizmalar aranmış ve patogeneizde immün mekanizmaların rol aldığı yolunda önemli veriler elde edilmiştir.

Çalışmaya alınan 69 hastanın 27'si akut HBV infeksiyonu, 19'u HBsAg taşıyıcısı ve 23'ü kronik HBV infeksiyonu olarak seçilmiş ve 36 sağlıklı gönüllü de çalışma için kontrol grubu olarak seçilmiştir.

Çalışmamız CMI (Cell-Mediated Immunity) multi-test Aygıtı ile değerlendirilen hücresel immünite durumunun flow sitotometrik analizle saptanan lenfosit subpopülasyonu arasındaki bağıntıyı araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Hasta gruplarının kontrol grubu ile tüberkülin uygulamasından 72 saat sonra oluşan endurasyon çapına göre karşılaştırılmasında; her hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir (tüm gruplar için  $p < 0.001$ ). Aynı şekilde hasta grupları ile kontrol grubu, hücresel immünite durumları CMI (Cell-Mediated Immunity) multi-test aygıtı ile endurasyon çapına göre değerlendirilerek yapılan karşılaştırmada; her hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. (akut HBV infeksiyonu grubu için  $\chi^2 = 6.131$ ,  $p < 0.05$ ; HBsAg taşıyıcısı grubu için  $\chi^2 = 5.900$ ,  $p < 0.05$  ve kronik HBV infeksiyonu grubu için  $\chi^2 = 7.103$ ,  $p < 0.05$ ).

Olguların hücresel immüniteleri  $CD_4/CD_8$  oranı ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark kaydedilmemişken, hasta gruplarının  $CD_4/CD_8$  oranlarının ortalamaları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; akut HBV infeksiyonu ile kontrol grubu arasında ve HBsAg taşıyıcısı ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmezken (her iki grup için de  $p > 0.05$ ), kronik HBV grubunun  $CD_4/CD_8$  oranı ortalaması kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $t = 3.21$ ,  $p < 0.05$ ).

Bu bulguları değerlendirdiğimizde HBV infeksiyonlu olgularda hücresel immünitenin değerlendirilmesinde; lenfosit subpopülasyonun incelenmesinin, cilt testlerine göre daha anlamlı sonuçlar ortaya koyduğu sonucuna vardık.

## SUMMARY

In the pathogenesis of infection due to Hepatitis B Virus (HBV) which is not a cytopathic virus, other mechanisms have been investigated as a cause of hepatocellular injury, and marked findings have been achieved on the subject that immune mechanisms enrolled in its pathogenesis.

In 69 patients, chosen as study group, 27 were acute HBV infection, 19 carrier of HBsAg, 23 chronic HBV infection, and 36 healthy volunteers have been chosen as control group for study group.

The study was carried out to investigate the relation between cellular immune status defined by CMI (Cell-Mediated Immunity) multi-test device and lymphocyte sub population detected by flow cytometric analysis.

In the comparison of the patient groups with control group regarding to the diameters of the endurance within 72 hours after tuberculin application; in each patient group, statistically significant differences has been observed (for all patient groups,  $p < 0.001$ ).

Also statistically significant differences have been observed in each patient group in the comparisons of the patient groups with control group according to the cellular immune status defined CMI multi-test device on the basis of the diameter of the endurance (for acute HBV infection group  $\chi^2 = 6.131$ ,  $p < 0.05$ ; for carrier of HBsAg group  $\chi^2 = 5.900$ ,  $p < 0.05$  and for chronic HBV infection group  $\chi^2 = 7.103$ ,  $p < 0.05$ ).

When cellular immune status of the cases defined by  $CD_4/CD_8$  ratios, no statistical differences has been recorded between the patient groups and control group (for all patient groups  $p > 0.05$ ), in the comparisons of  $CD_4/CD_8$  ratio means of each patient group with control group; when no statistically significant differences was observed in comparison of acute HBV infection group with control group and in comparison of group of carrier of HBsAg with control group (for both group  $p > 0.05$ ),  $CD_4/CD_8$  ratio mean of the chronic

HBV infection group was statistically higher than control group ( $t=3.21, p<0.05$ ).

Analyzing these findings, we concluded that; in the cases with HBV infection, the investigation of lymphocyte sub population reveals more valuable results than skin tests in cellular immunity analysis.



## KAYNAKLAR

1. **Badur, S.:** Hepatit B Virusu (HBV) Viroloji ve Serolojik tanı., Viral Hepatit'92 (Derleyen) Kılıçturgay, K. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, Bursa, Nobel Tıp Kitabevi, 1992, 45-61
2. **Balık, İ.:** Dünyada ve Türkiye'de Hepatit B Epidemiyolojisi. , Viral Hepatit'92 (Derleyen) Kılıçturgay, K., Viral Hepatitle Savaşım Derneği, Bursa, Nobel Tıp Kitabevi, 1992, 62-72
3. **Baniyash, M., Garcia-Morales, P., Bonifacino, J.S., Samelson, L.E., Klausner, R.D.:** Disulfide linkage of the z and h chains of the T cell receptor: Possible identification of two structural classes of receptors. J. Biol. Chem., 263:9874, 1988.
4. **Barnaba, V., Musca, A., Cordova, C.:**Relation between T cell subsets and suppressor cell activity in chronic HBV infection., Clin.Exp.Immunol., 53:281-8, 1983
5. **Barnaba,V., Zaccari, C., Levrero, M.:** Immunoregulatory T cells in HBV-induced chronic liver disease as defined by monoclonal antibodies., Clin. Immunol. and Immunopathol., 26:83-90, 1983
6. **Behlke, M.A., Spinella, D.G., Chou, H.S., Hartl, D.L., Loh, D.Y.:** T cell receptor beta chain expression: Dependence on relatively few variabl region genes. Science, 229:556, 1985.
7. **Berkowitz, R.B., Tinkelman, D.G., Lutz, C. et al.:** Evaluation of the Multi-Test Device for immediate hipersensitivity skin testing., J.Clin.Immunology, 90(6 Pt1), 979-85, 1992
8. **Berkowitz, R.B., Tinkelman, D.G., Lutz, C. et al.:** Evaluation of the Multi-Test Device for immediate hipersensitivity skin testing., J.Clin.Immunology, 90(6 Pt1), 979-85, 1992
9. **Bjorkman, P.J.:** Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA 2. Nature, 329:506-12, 1987.
10. **Blumberg, B.S., Alter, H.J., Visnich, S.:** A new antigen in leukemia sera. JAMA, 191:541, 1965
11. **Bosnan, C., Feldman, J.D.:** Composition, morphology, and source of cells in delayed skin reactions., Am.J.Pathol., 58:201, 1970
12. **Budkowska, A., Dubrenik, P., Poynard, T. et al.:** AntiPreS responses and viral clearance in chronic hepatitis B virus infections., Hepatology, 15(1):26-31, 1992

13. **Cantor, H., Boyse, E.A.:**Functional subclasses of T lymphocytes bearing different Ly antigens. The generation of functionally distinct T-cell classes is a differentiative process independent of antigen. *J.Experimental Medicine.*,141:1376, 1975
14. **Chernesky, M., Mahony, J., Castriciano, S., et al.:** Diagnostic significance of anti-HBc IgM prevalence related to symptoms in Canadian patients acutely or chronically infected with hepatitis B virus., *J.Med.Virol.* 20:269, 1986
15. **Chisari, F.V.:** Analysis of Hepadnavirus Gene Expression, Biology, and Pathogenesis in the Transgenic Mouse. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 168: 85-101, 1991.
16. **Chu, C.M., Liaw, Y.F.:** Peripheral T cell subsets in asymptomatic HBsAg carriers., *Cellular immunity*, 98:533-7, 1986
17. **Coşkun, D, Tekeli, E.:** Aseptomatik HBsAg taşıyıcılarında monoklonal antikörler ile T4/T8 lenfosit oranının araştırılması, *Türk J. Gastroenterohepatol.*, 3: 229-233, 1992
18. **Deepe, G.S.:** Skin testing., *Infectious Disases.* (Eds) Gorbach, S.L., Barlett, J.G., Blacklow, N.R., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders Company,1992, 139-145
19. **Dejean, A., Lugassy, C., Zafrani, S.,et al.:**Detection of hepatitis B virus DNA in pancreas, kidney, and skin of two human carriers of the virus. *J.Gen.Virol.* 65:651, 1984
20. **Destmet, V.J.:** Immunopathology of Chronic Viral Hepatitis. *Hepatogastroenterology*, 38: 14-21, 1991.
21. **Ding, F., Bang-youn, L., et al.:**In vitro immunoregulation of antiHBs synthesis by peripheral lymphocytes in HBV infections., *Chinese Med.Journal*, 100:338-40, 1987
22. **Dölen, J.G.:** İmmunoloji. Ankara. A.Ü. Basımevi- 1992, 15-25.
23. **Favero, M.S.:** Preventing Transmission of HBV Infection in Health Care Facilities. *A.J.Infect.Cont.*, 17(3):168-171,1989.
24. **Fedorchenko, S.V., Likhtorkovich, S.A.:** Cellular Immunity in viral hepatitis B and its transition into chronic forms., *Vrach.Delo.* 1:84-87, 1991
25. **Feret, E., Larouze, B., Diop, B., et al.:** Epidemiology of hepatitis B virus infection in the rural community of Tip Senegal., *Am.J.Epidemiol.*, 125:140, 1987
26. **Ferrari, C., Penna, A., Sansoni, P., et al.:** Selective sensitization of peripheral T lymphocytes to hepatitis B core antigen in patients with chronic active hepatitis type B., *J.Clin.Exp.Immunol.* 67:497-506, 1985
27. **Fox, S.I.:** Human Physiology. Third edition. Dubuque, Wm.C.Brown Publishers. 1990, 598-631.
28. **Fuchs, H.:** Immunologic reactivity of the skin in chronic hepatitis., *Ann.Acad.Med.Stetin.* 36:61-75, 1990

29. **Gatenby, B.A., Callard, R.E., Basten, A.:** T cells, T cell subsets and immunoregulation. *Aust. NZ J. Med.*, 14: 89-96, 1984.
30. **Golde, D.W.:** T stem cell. *Scientific American*, 265:86-93, 1991.
31. **Gregory, P.B., Knauer, C.M., Miller, R., et al.:** Steroid therapy in severe hepatitis. *New England J. of Medicine.*, 294:681, 1976
32. **Gülmezoğlu, E., Ergüven, S.:** İnfeksiyonlara Karşı Bağışıklık. *İmmünoloji, Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara*, 1994, 161-186.
33. **Hacıbektaşoğlu, A., Kutlu, M., Güngör, S., Özgüven, V., İnal, A.:** Askeri Hastane Personelinde HBV Risk Faktörleri. *Gaziantep Üni. Tıp Fak. Dergisi*, 2:49-56, 1991.
34. **Hacıbektaşoğlu, A., Pahsa, A., Dayan, S., Irmak, H.:** Sağlıklı Kan Donörlerinde HBsAg Prevalansı. *Türk Hij.Den.Biyol. Derg.*, 87(1):109-117, 1990.
35. **Hess, G.:** Virological and Serological Aspects of Hepatitis B and Delta Agent. *Gut Supplement*: 1-5, 1993. 56. Lau, J.Y.N., Wright, T.L.: *Molecular Virology and Pathogenesis of Hepatitis B. Lancet*, 342: 1335-1339, 1993.
36. **Hoofnagle, J., Seff, L.B.:** Natural history of chronic type B hepatitis., *Progressive Liver Diseases.*, (Eds.) Popper, H., Schaffner, F., 1982, VII:469-480
37. **Hoofnagle, J.H.:** Acute Viral Hepatitis. (Eds.) Mandell, G.L., Douglas, R.G., Bennett, J.E., New York, Edinburg, London, Melbourne, Chuchill Livigstone Inc., 1990, 1001-1017
38. **Hoofnagle, J.H., Schafer, D.F.:** Serological markers of hepatitis B virus infection., *Semin.Liver Dis.*, 6:1, 1986
39. **Jean, D., Locart, M.D.:** Current Problems in Pediatrics. *Chicago. Year book Medical Publishers*, 1989, 235-42.
40. **Juszczuk, J., Baralkiewicz, I., Adamek, J.:** Use of "Multi-Test CMI" in the evaluation cutaneous delayed hypersensitivity reaction to antigens in patients with chronic diseases of the liver., *Przegl.Epidemiol.* 44(4):285-92, 1990
41. **Kamani, N.R., Douglas, S.D.:** Cells of the immune system Basic and clinical immunology, (Eds.) Stites, D.P., Terr, A.I., Appleton and Lange Company, Los Altos, CA. 7 th Ed. 1992, 61-72
42. **Kaufmann, S.:** CD<sub>8</sub>+ T lymphocytes in intracellular microbial infections. *Immunology Today*, 9:168-174; 1988
43. **Kawakami, K., Parker, D.:** Differences between T helper cell type 1 (Th1) and Th 2 cell lines in signalling pathways for induction of contact - dependent T cell help. *Eur. J. Immunol*, 22:85-93; 1992.
44. **Kelso, A., Trutt, B.:** Heterogeneity in lymphokine profiles of CD<sub>4</sub> and CD<sub>8</sub> T cells clones activated in vivo and in vitro. *Immunological Reviews*, 123:85-124, 1991.

45. **Koff,R.S.:** Chronic Viral Hepatitis. Infectious Disases. (Eds) Gorbach,S.L., Barlett,J.G., Blacklow,N.R., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders Company,1992,721-726
46. **Koff,R.S.:** Hepatits B and D. Infectious Diseases. (Eds) Gorbach,S.L., Barlett,J.G., Blacklow,N.R. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B.Saunders Company, 1992,709-721
47. **Koff,R.S.:** Hepatits B and D. Infectious Diseases. (Eds) Gorbach,S.L., Barlett,J.G., Blacklow,N.R. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B.Saunders Company, 1992,1735-1740
48. **Krugman, S.:** Hepatitis B: Historical Aspects. A.J.Infect.Cont., 17(3):165-167,1989.
49. **Kılıçturgay, K.:** İmmünolojiye Giriş., Nobel & Güneş Tıp Kitabev, Bursa, 3. Baskı, 1994, 119-126
50. **Lafrado, L.J., Javadian, M.A., Wright, K.A, Kelliher, J.C., Dezzutti, C.S., Cummins, L., Olsen, R.G.:** Lymphocyte and neutrophil dysfunction associated with hepatitis B virus and Non-A,Non-B virus infection in chimpanzee
51. **Lanier, L.L., Philips, J.H., Hacket, J.H., et al.:** Natural killer cells: Definition of a cell type rather than a function. J.Immunology 137:2735, 1986
52. **Lanier, L.L., Ruitenberg, J.J.,Philips, J.H. :** Human CD3+ T lymphocytes that express neither CD4 nor CD8 antigens. J.Experimental Medicine., 164:339, 1986
53. **Lau, J.Y.N., Lai, C.L., Lin, H.J.:** Fatal Reactivation of Chronic Hepatitis B Virus Infection Following Chemotherapy Withdrawal in Lymphoma Patients. Q. J. Med., 73: 911-917, 1989.
54. **Levin, S., Hahn, T.:** Interferon system in acute viral hepatitis., Lancet.,1:592, 1982
55. **Madrey, C.W.:** Chronic Hepatitis. Disease-a-Month, 39(2): 53- 126, 1993.
56. **Markham, R.B.:** Cell-Mediated Immunity.,Infectious Disases. (Eds) Gorbach,S.L., Barlett,J.G., Blacklow,N.R., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders Company,1992, 63-76
57. **Mawetz, E., Melnick, J., et al:(Eds)** Medical Microbiology, Eighteenth Edition, London, Sydney Toronto, Mexico, New Delhi, Tokyo, Singapore, Rio de Janeiro, New Jersey, Appleton & Lange, 1989, Ch.37, 419-434
58. **Medline Express,** National Library of Medicine, USA 1982-EYLÜL 1994
59. **Michael, P., Mary, M.M. et al.:** T cell receptor variabl  $\beta$  genes show differential expression in CD<sub>4</sub> and CD<sub>8</sub> T cells. Human Immunology, 32:194-202, 1991.

60. Miller, R.H., Kaneko, S., Chung, C.T., et al.: Compact organization of the hepatitis B virus genome. *Hepatology* 9:322, 1989
60. Ökten, A.: B Tipi Viral Hepatit (Klinik Gidiş ve Tedavi). *Viral Hepatit'92 (Derleyen) Kılıçturgay, K. Bursa, Nobel Tıp Kitabevi, Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 1992, 73-86,*
61. Onul, M., Giray, Gül. ve ark.: Hepatit B enfeksiyonlarında lenfosit subpopulasyon değişiklikleri., *Ankara Hastanesi Dergisi, 24:87-90, 1989*
62. Özgüven, Ş.V., Hacıbektaşoğlu, A., Barut, A., Haznedaroğlu, T.: Değişik Yaş ve Risk Gruplarında Hepatitis B Virus İnfeksiyonu Sıklığı. *Nefroloji ve Hipertansiyon Dergisi, 1(1-2):37-44, 1991.*
63. Pankewycz, O., Strom, T.B., Kelly, V.E.: Therapeutic strategies using monoclonal antibodies in autoimmune disease. *Curr. Op. Immunol., 1:757, 1989.*
64. Pignatelli, M., Waters, J., Brown, D., et al.: HLA class I antigens on hepatocyte membrane during recovery from acute hepatitis B virus infection and during interferon therapy in chronic hepatitis B virus infection., *Hepatology, 6:349, 1986*
65. Rajewsky, K., Boehmer, V.H.: Lymphocyte development. *Curr. Op. Immunol., 5:175-6, 1993.*
66. Raptopoulou, G.M., Orphanou, K.H. et al.: Possible mechanism underlying peripheral lymphocyte activation in chronic liver diseases and asymptomatic HBsAg carriers. *17:145-148, 1989*
67. Ritz, J., Schmidt, R.E., Michon, J., et al.: Characterization of functional surface structures on human natural killer cells. *Adv. Immunol., 42:181, 1988*
69. Robinson, W.S.: Hepatitis B virus and hepatitis delta virus. (Eds.) Mandell, G.L., Douglas, R.G., Bennett, J.E., New York, Edinburg, London, Melburne, Chuchill Livigstone Inc., 1990, 1204-1231
68. Robinson, W.S: Hepatitis B and hepatitis D (delta hepatitis) *Infectious Diseases (Eds.) Hoeprich, P.D., Jordon, M.C., J.B. Lippincott Company, Phidelfia, 4 th ed., 1989, 766-787*
70. Romagnani, S.: Human Th1 and Th2 subsets: doubt no more. *Immunology Today, 12:256-7, 1991.*
71. Rose, N.R.: Immunodiagnosis., *Infectious Disases. (Eds) Gorbach, S.L., Barlett, J.G., Blacklow, N.R., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders Company, 1992, 126-139*
72. Samelson, L.E., Harford, J.B., Klausner, R.D.: Identification of the components of the murine T cell antigen receptor complex. *Cell, 43:223, 1985.*
73. Schmilovitz-Weiss, H., Levy, M., Thompson, N., Dusheiko, G.: Viral Markers in the Treathment of Hepatitis B and C. *Gut Supplement: 26-35, 1993.*

74. **Seef, L.B., Koff, R.S.:** Evolving concepts of clinical and serologic consequence of hepatitis B virus infection., *Semin.Liver.Dis.*, 6:11, 1986
75. **Sherlock, S., Dooley, j.:** Chronic Hepatitis. *Diseases of the Liver and Biliary System*, 9 th. Edition, Oxford, London, Blackwell Scientific Publications, 1993, 293-321.
76. **Sherlock, S., Dooley, J.:** Haematology of Liver Disease. *Diseases of the Liver and Biliary System*. 9 th. Edition, Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna, Blackwell Scientific Publications. 1993, 45-46.
77. **Sherlock, S., Dooley, J.:** Virus Hepatitis. *Diseases of the Liver and Biliary System*. 9 th. Edition, Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna, Blackwell Scientific Publications. 1993, 260-292.
78. **Shusterman, N., Singer, I.:** Infectious hepatitis in dialysis Patients. *A.J.Kid.Dis.*, 9(6):447-55,1987.
79. **Skin Tests, Physician's Handbook, (Eds.) Krupp, M. A., Tierney, L.M., Jawetz, E., Roe, R.L., Camargo.C.A.** Lange Medical Publications, Los Altos, California 1985, 399-406
80. **Stevens, C.E., Szmunes, W., Goodman, A.I., Weseley, S.A., Fotino, M.:** Hepatitis B Vaccine: Immune Responses in Haemodialysis Patients. *Lancet*, Dec.6:1211-1213,1980.
81. **Stites, D.P.:** Clinical laboratory methods for detection of cellular immunity., *Basic and clinical immunology*, (Eds.) Stites, D.P., Terr, A.I., Appleton and Lange Company, Los Altos, CA. 7 th Ed. 1992, 263-283
82. **Streumel, W., Schwarzendrube, J., Niederau, C., Strohmeyer, G.:** Epidemiology, Clinical Course and Treatment of Chronic Viral Hepatitis. *Hepatogastroenterol.*, 38: 22-28, 1991.
83. **Streumel, W., Schwarzendrube, J., Niederau, C., Strohmeyer, G.:** Epidemiology, Clinical Course and Treatment of Chronic Viral Hepatitis. *Hepatogastroenterolç*, 38: 22-28, 1991.
84. **Swain, S.:** Helper T-cell subsets: Phenotype, function and role of lymphokines in regulating their development. *Immunological Reviews*, 123:115-144, 1991.
85. **Swenson, P.D.:** Hepatitis Viruses. *Manual of Clinical Microbiology*. (Eds) Balows, A., Hausler, W.J., Herrmann, K.L., Isenberg, H.D., Shadomy, H.J., 5 th. Edition, Washington DC American Society for Microbiology. 1991,970-978.
86. **Swenson, P.D.:** Hepatitis Viruses, *Manual of Clinical Microbiology* (Eds.) Ballows, A., Hausler. W.S., Herman, K.L., Isenberg, H.D. Shadomy, H.J., 5 th. Edition, Washington DC American Society for Microbiology. 1991, 959-983.

87. Tagawa, M., Omata, M., Yokosuko, O., et al.: Early events in duck hepatitis B virus infection. Sequential appearance of viral deoxyribonucleic acid in the liver, pancreas, kidney, and spleen., Gastroenterology, 89:1224, 1985
88. Trepo, C., Zoulim, F., Alonso, C., Petit, M.A., Pichoud, C., Vitvitski, L.: Diagnostic Markers of Viral Hepatitis B and C. Gut Supplement: 20-25, 1993.
89. Volpes, R., van-den Oord, J.J., Desmet, V.C.: Can hepatocytes serve as a "activated" immunomodulating cells in the immune response., J.Hepatol.16(1-2):228-40, 1992
90. Wright, T.L., Lau, J.Y.N.: Clinical Aspects of Hepatitis B Virus Infection. Lancet, 342: 1340-1344, 1993.
91. Yalçın ,S.: Viral Hepatitlerin Histolojisi., Viral Hepatit'92 (Derleyen) Kılçturgay, K., Viral Hepatitle Savaşım Derneği, Bursa, Nobel Tıp Kitabevi, 1992, 159-181
92. Yamada, G., Hyodo, T., Nishihara, H.: Intrahepatic lymphocyte subpopulatidn defined by monoclonal antibodies in antiHBe positive type B chronic active hepatitis., Jpn.Gastroentrol. 20(5):441-446, 1985
93. Yuhi, N., Hagashi, N, Kataya, K. et al.: Quantitative analysis of PreS1 and PreS2 in relation to HBsAg expression., Hepatology, 11(1):38-43, 1990
94. Zeldish, J.B., Mugishima, H., Steinberg, H.N., et al.: In vitro hepatitis B virus infection of human bone marrow cells., J.Clin.Invest., 78:411, 1986
95. Zmyzgova, A.V.: The clinical significance of immunodefficiency states in patients with hepatitis B., B.Ter.Arkh.,64(2):18-20, 1992
96. Zoulin, F., Petit, M.A., Berthillon, P. et al.: PreS1 antigen/antibody patterns following interferon therapy in acute and chronic hepatitis B., Br.J.Hepatology.,11:1234-1239, 1993

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ