

T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA TENOFOVİR
KULLANIMI İLE T LENFOSİT ALT GRUPLARININ DEĞİŞİMİ**

Dr. Başak DELİKANLI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Yücel ÜSTÜNDAĞ

ZONGULDAK

2011

T.C.
ZONGULDAK KARAEKMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA TENOFOVİR
KULLANIMI İLE T LENFOSİT ALT GRUPLARININ DEĞİŞİMİ**

Dr. Başak DELİKANLI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Yücel ÜSTÜNDAĞ

ZONGULDAK

2011

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Kronik Hepatit B Hastalarında Tenofovir Kullanımı ile T Lenfosit Alt Gruplarının Değişimi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. BAŞAK DELİKANLI

Tez Savunma Tarihi: 11/03/2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yücel ÜSTÜNDAĞ

Prof. Dr. Yücel ÜSTÜNDAĞ
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Hüseyin ENGİN
Üye

Doç. Dr. Taner BAYRAKTAROĞLU
Üye

Doç. Dr. Hasan ÜSTÜN
Üye

Yrd. Doç. Dr. Ayla GÖKMEN AKÖZ
Üye



Prof. Dr. Mustafa AYDIN
Dekan

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve becerisini hiçbir zaman esirgemeyip ufkumu açan değerli tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yücel ÜSTÜNDAĞ'a,

Çalışma hayatımda her zaman değerli desteklerini gördüğüm olumlu yönlendirmeleriyle bugüne gelmemde büyük emek sahibi olan değerli hocalarıma,

Tezimin hazırlanmasındaki desteklerden ötürü Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr.Vildan SÜMBÜLOĞLU'na ve tezime olan katkılarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğr. Gör. Dr. Çağatay BÜYÜKUYSAL'a,

Hayatımın en önemli dönemlerinden birini paylaştığım sevgili asistan arkadaşlarıma,

Tüm tıp eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini her zaman yanında hissettiğim değerli aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Başak DELİKANLI

Zonguldak, 2011

ÖZET

Delikanlı Başak, Kronik Hepatit B Hastalarında Tenofovir Kullanımı ile T Lenfosit Alt Gruplarının Değişimi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2011.

Biz kronik hepatit B viral enfeksiyonlu hastalarda tenofovir ile antiviral tedavinin ilk yılı boyunca serum viral kinetik ve periferik kanda lenfosit dinamiklerini araştırdık. On beş hasta, naif daha önce antiviral tedavi almamış hasta topluluğu çalışmaya dahil edildi. Hastalar 48 hafta süre ile günlük doz 245 mg tenofovir aldı. Klinik, biyokimyasal, immünolojik ve viral parametrelerin bazal değerleri ve 1., 3., 6., 12., ay sonrasındadeğerleri belirlendi. Serum HBV DNA yükü PCR ile ve periferik T hücre subgrupları düzeyleri CD4⁺ (Helper) T hücreler, CD8⁺ (sitotoksik/Suppressor) T hücreler, CD4⁺CD25⁺ T hücreler, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK (doğal öldürücü) hücreler ve CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NKT (doğal öldürücü T) hücreler, CD19⁺ B hücreler, CD4/CD8oranıflow sitometri ile ölçüldü. Tedavi periyodu boyunca HBV DNA seviyesindeki azalma ve periferik kan lenfosit dinamikleri için çok basamaklı analiz yapıldı. Başlangıçta vakalarımızın %14'ünde HBV DNA seviyesi 10⁷ kopyanın üzerindeydi ve 12 hastada (vakaların %80'ini) nde tedavinin 6. ayında DNA seviyeleri tespit edilemez düzeydeydi ve 1 yılın sonunda tüm vakalarda negatif olarak kaldı. Bu hastalarda flow sitometri bulguları başlangıç ve çalışma süresi boyunca CD4⁺ (yardımcı) hücreler, CD8⁺ (sitotoksik/suppressor) T hücreler, CD23⁺CD19⁺ (aktive) B hücreler, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (NK) hücreler ve CD3⁺CD16⁺CD56⁺ (NKT) hücreler ve CD4⁺/CD8⁺ CD4⁺, CD8⁺ ve CD19⁺ lenfosit sayımları ve NK-NKT hücre sayımlarında çalışma boyunca anlamlı fark olmadığını gösterdi. Ancak 12 aylık çalışma süresince T hücre profilinde tek önemli değişiklik T regülatör hücreler için gerekli CD4⁺CD25⁺ hücrelerinde izlendi. CD4⁺CD25⁺ regülatör T hücre yüzdeleri (başlangıç 3.5+2.49, 1.ay 3.2+2.5, 3.ay 2.0+1.84, 6. ay 0.9+1.4, 12.ay 1.07+1.32) çalışma süresi sırasında önemli ölçüde azalmıştır. Tedavi uyum sorunları nedeniyle 3 hastada (%20) HBV DNA seviyeleri 6.ayın sonunda negatif iken sonrasında HBV DNA seviyelerinde (200-180.000 IU/L) artış meydana geldi. Sonuç olarak tenofovirin başarılı antiviral tedavisi sırasında periferik kanda CD4⁺CD25⁺ regülatör T hücreler hariç T lenfosit hücrelerinde, B lenfositlerde,

NK/NKT hücre dinamiklerinde değişiklik saptanmadı. Bizim ilaç uyumsuz HBV enfeksiyonunlu hastalarımızda virolojik relaps da periferik kan lenfosit dinamikleri ile ilişki olduğu izlenmedi. Tenofovir tedavi sırasında azalmış CD4⁺ CD25⁺ regülatör T hücre profili ile ilgili ileri çalışmalarla araştırmalar için bir ön bulgudur.

Anahtar kelimeler; Tenofovir, antiviral aktivasyon, CD4⁺CD25⁺ T hücreler, CD4⁺ T hücreler,

ABSTRACT

Delikanli Basak. Investigations of T cell subpopulation changes during tenofovir treatment in chronic hepatitis B infection. Zonguldak Karaelmas University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine Thesis, Zonguldak, 2011.

We investigated serum viral kinetics and peripheral blood lymphocyte dynamics, in chronic hepatitis B viral infection during the first year of antiviral therapy with tenofovir. Fifteen patients, naive to any kind of previous antiviral therapy were included into this single cohort with intervention study. The patients received tenofovir at a daily dose of 245 mg for 48 weeks. Clinical, biochemical, immunological and virological parameters were assessed at baseline, then first, third, sixth and twelfth months. Serum HBV DNA load was measured by RT-PCR, and the levels of CD4⁺ (Helper) T cells, CD8⁺ (Cytotoxic/Suppressor) T cells, CD4⁺CD28⁺ (Co-stimulator positive Helper) T cells, CD8⁺CD28⁺ (Cytotoxic) T cells, CD8⁺CD28⁻ (Suppressor) T cells, CD4⁺CD25⁺ T cells, CD8⁺CD38⁺ (activated) CD8⁺ T cells, CD4⁺CD38⁺ (activated) CD4⁺ T cells, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK (Natural Killer) cells and CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NKT (Natural Killer T) cells, CD19⁺ B cells, CD23⁺CD19⁺ (activated) B cells, CD4/CD8 ratio by flow cytometry. A multi-level analysis was done for the level of decrement of HBV DNA and the changes in peripheral blood lymphocyte dynamics, during the treatment period. Fourteen percent of cases had serum levels of HBV DNA over 10⁷ copies per ml and 12 (80%) cases had undetectable HBV DNA levels after the sixth month of therapy, which remained negative in all these cases at the end of 1 year of treatment. We determined that there was an increasing of CD28⁺ co-stimulator molecule on both CD4⁺ and CD8⁺ T cells while an decreasing on CD4⁺CD25⁺ Regulatory T cells, CD8⁺CD28⁻ Suppressor T cells, CD8⁺CD38⁺ (activated CD8⁺) T cells, CD4⁺CD38⁺ (activated CD4⁺) T cells by tenofovir treatment. But except for CD4⁺CD25⁺ T cells, there was no statistically significant difference in peripheral blood lymphocyte percentages, at the beginning and throughout the study period of 12 months in this group of patients. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell percentages decreased significantly during the study period (baseline 3.5±2.49, 1 st month 3.2±2.5, 3 rd month 2.0±1.84, 6 th month 0.9±1.4, 12 th month 1.07±1.32). While HBV DNA levels were negative after 6

months of tenofovir treatment, three patients (20%) had developed increased HBV DNA levels (range; 200 IU-180 000 IU) due to compliance problems. As a conclusion, tenofovir does not change peripheral blood B and T lymphocyte dynamics and NK/NKT cell percentages, except for CD4⁺CD25⁺ Regulatory T cells during its successful antiviral action period. Virological relapse of HBV infection in our drug in compliant patients did not also seem to be in relation with the peripheral blood lymphocyte dynamics. The decreased CD4⁺CD25⁺ Regulatory “T cell profile during tenofovir treatment is a preliminary finding which should be investigated by further studies.

Keywords: Tenofovir, antiviral action, peripheral blood lymphocytes dynamics, CD4⁺CD25⁺ (Regulatory) T cells, CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells,

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
TABLO DİZİNİ.....	xi
ŞEKİL DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Hepatit B Virusunun (HBV) Moleküler Virolojisi	4
2.2. Viral Replikasyon.....	7
2.3. HBV Enfeksiyonunda İmmünopatogenez.....	9
2.3.1. Akut hepatit B’de hücresele immün yanıt.....	11
2.3.2. Kronik hepatit B’ de hücresele immün yanıt.....	11
2.3.3. Humoral immün yanıt.....	12
2.3.4. HBV neden kronikleşir?	12
2.3.5. Alevlenmenin immün temeli.....	13
2.3.6. İnaktif taşıyıcılıkta immünite	13
2.4. Hepatit B virusu enfeksiyonlarının epidemiyolojisi	14
2.4.1. Bulaşma yolları	14
2.4.2. Hepatit B enfeksiyonunun prevalansı.....	17
2.5. Hepatit B Enfeksiyonlarının Klinik Seyri	18
2.5.1. Akut HBV enfeksiyonu klinik bulguları.....	19
2.5.2. Kronik HBV enfeksiyonunda klinik bulgular.....	20
2.6. HBV Serolojik ve Klinik Tanı	24
2.6.1. Serolojik tanı	24
2.6.2. HBV –DNA.....	25
2.6.3. Laboratuvar	27
2.7. HBV Enfeksiyonunda Tedavi.....	27
2.7.1. Akut hepatit B tedavisi	27

2.7.2. Kronik hepatit B tedavisi	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Çalışma Dahil Edilen Hastalar.....	40
3.2. HBV DNA'nın Kantitatif Tespiti	40
3.3. Periferik Lenfositler, NK, NKT'nin Flowsitometri ile Analizi.....	40
3.4. Seroloji ve Karaciğer Fonksiyon Testleri	41
3.5. İstatistiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
5. SONUÇLAR.....	48
6. TARTIŞMA.....	49
7. KAYNAKLAR.....	54
8. EKLER.....	67
Ek 1: Bilgilendirilmiş Olur Formu.....	67
Ek 2: Etik Kurul Onayı	68

KISALTMALAR DİZİNİ

AFP	: Alfa-feto protein
ALT	: Alanin Transaminaz
AST	: Aspartat Transaminaz
USG	: Ultrasonografi
Anti-HBe	: Hepatit B virüs e antikoru
Anti-HBs	: Hepatit B virüs yüzey antikoru
CD4⁺	: T helper
CD8⁺	: T supressör / sitotoksik
CTL	: Sitotoksik T lenfosit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
HBsAg	: Hepatit B yüzey antijeni
HBeAg	: Hepatit B e antijeni
HBcAg	: Hepatit B kor antijenine
HBV	: Hepatit B virüsü
HBV DNA	: Hepatit B virüs DNA
HCC	: Hepatosellüler karsinom
HIV	: Human Immunodeficiency Virüs
IFN	: Interferon
IL-1	: Interlökin-1
MHC	: Major Histokompatibilite.
NK	: Doğal katil hücresi
ORF	: Open reading frame
PCR	: Polimerize Zincir Reaksiyonu.
RT	: Revers Transkriptaz
SIV	: Maymun bağışıklık eksikliği virüsü

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: HBV Genotip ve Serotiplerinin Coğrafi Dağılımı.	6
Tablo 2: Hepatotrop Bir Virüsle Karşılaşan Karaciğerde Gelişen Adaptif İmmün Yanıt.	14
Tablo 3: Dünya’da HBV Endemisite Bölgeleri.	18
Tablo 4: HBV’ye Ait Serolojik Parametrelerin Yorumu	26
Tablo 5: Tenofovirin Farmakokinetik Özellikleri	36
Tablo 6: Kronik Hepatit B’nin Önerilen Tedavisi.....	38
Tablo 7: Kronik Hepatit B Tedavisinde Kullanılan İlaçların Özellikleri	39
Tablo 8: Hastaların Karakteristik Özellikleri	42
Tablo 9: Tenofovir Tedavisi Sonrası Tedavi Yanıtı.....	48

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. HBV replikasyonunun şematik gösterimi.....	8
Şekil 2. Kronik Hepatit B’de doğal seyir.	24
Şekil 3. Tenofovir tedavisi alan erkeklerde kronik hepatit B hastalarının başlangıç, 1. ay, 3. ay, 6. ay ve 12.aydaki ortalama HBV DNA değerleri	43
Şekil 4. Tenofovir tedavisi alan kadınlarda kronik hepatit B hastalarının başlangıç, 1. ay, 3. ay, 6. ay ve 12.aydaki ortalama HBV DNA değerleri	43
Şekil 5. Tenofovir Tedavisi ile ALT Düzeyinde Değişiklik	44
Şekil 6. Tenofovir Tedavisi ile NK ve NKT Düzeylerinde Değişiklik.....	44
Şekil 7. Tenofovir Tedavisi ile CD4 ⁺ /CD8 ⁺ Düzeyinde Değişiklik	45
Şekil 8. Tenofovir Tedavisi ile CD3 ⁺ Düzeyinde Değişiklik	46
Şekil 9. Tenofovir Tedavisi ile CD19 ⁺ Düzeyinde Değişiklik	46
Şekil 10. Tenofovir Tedavisi ile CD4 ⁺ CD25 ⁺ Düzeyinde Değişiklik	47

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hepatit B virüsü (HBV) akut hepatit, kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinomun en önemli etkenlerinden birisidir. Tüm dünyada 400 milyonu aşkın sayıda kişinin HBV ile kronik olarak enfekte olduğu ve her sene global olarak izlenen 530.000 hepatosellüler karsinom olgusunun 316.000'inin HBV ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Her yıl dünyada 1.000.000'a yaklaşan sayıda kişi HBV enfeksiyonu ile ilgili komplikasyonlardan kaybedilmektedir (1, 2).

Hepatit B virüs enfeksiyonu akut ve kronik süreçlerde değişen spektrumda hastalıklara yol açmaktadır. Akut süreç, subklinik hepatit, anikterik hepatit, ikterik hepatit ya da fulminan hepatit formlarında olabilir. Kronik süreçte ise, inaktif/asemptomatik taşıyıcılık, kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinom yer alır(3). Hastalığın bu değişen spektrumu enfeksiyonun alındığı yaş, HBV düzeyi ve konağın immün yanıtı gibi pek çok parametre ile ilişkilidir. HBV'nin neden olduğu karaciğer hastalığının patogenezi, önemli ölçüde immün aracılıklı mekanizmalara dayanır. Temel mekanizma, enfekte hepatositlerin, sitotoksik T hücre aracılığı ile lizise uğramasıdır. Bununla beraber neden bir grup hastanın etkin bir şekilde virüsü temizlediği halde diğer bir grup hastanın persistan enfeksiyon geliştirdiği ve kronik HBV enfeksiyonu gelişen hastalarda neden farklı klinik tabloların ortaya çıktığı iyi anlaşılamamıştır. HBV enfeksiyonunun doğal seyirindeki bu farklılıklarda immün yanıtın gücü ve kalitesinin rolü olması gerektiği haklı bir öngörüdür ve bunu doğrulayan kanıtlar elde edilmiştir.

Kronik hepatitli hastaların periferik kanındaHBV' ye özgün helper ve sitotoksik T hücreleri saptanamayacak kadar az oranda gözlenir. Bu hasta grubunda belirgin karaciğer hasarı, yüksek düzeyde HBV replikasyonu mevcuttur, bu da virüs kontrolünün yetersizliğinin gösterir. Bunun sebebi sitokin imbalansı ve ya bir anlamda kısmi tolerans olarak yorumlanır. T hücre cevabının baskılandığı örnekler yüksek viremi olan hastalarda daha fazla gözlenmektedir (4).

Hepatit B e antijeni (HBe) ve Hepatit B kor antijenine (HBcAg) özgün CD4⁺ ve CD8⁺ hücrelerinde çapraz reaktivite gözlenir. Bunun nedeni HBeAg ve HbcAg nin aminoasit düzeyindeki benzerliklerdir. T hücreleri HBeAg yi tanıyabilirken HBcAg yi tanıyamazlar. HBeAg transgenic hayvana transfer edildiklerinde sitolitik

etkilerini endojen salgılanan HBeAg ye karşı gösterirler. HBeAg düzeyi yeterince yükseldiğinde HBeAg' ye özgün T hücreleri oluşur, karaciğer hasarı ve HBeAg salgılayan hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlar. HBeAg kanda ortadan kalktığında T hücreleri başlangıçtaki hallerine dönerler. Kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda kandan farklı olarak karaciğer içinde HBV özgün T hücreleri kolaylıkla saptanabilir, yoğunlukları azdır. Aynı anda birçok özgün olmayan T hücresi ile birlikte buldukları için bu aranjman düşük immün yanıt için açıklayıcı gerekçe olabilir(5).

Kronik HBV enfeksiyonunda tedavinin amacı siroz ve/veya hepatosellüler karsinom gibi geriye dönüşümsüz hasarların oluşmasının engellenebileceği düşünülmektedir. HBV doğrudan sitopatik etki göstermediği halde, yapılan kohort çalışmalarının sonuçları, viral replikasyonun devamı ile karaciğer hasarının derecesinin ilişkili olduğunu göstermektedir. Dolayısı ile anti-viral tedaviden beklenen amaç uzun vadeli viral supresyondur. Böylelikle günümüzde bu amaca yönelik olarak 2 grup ilaç kullanılmaktadır: İmmün modülatörler (alfa interferon) [α interferon (IFN)], Viral polimeraz inhibitörleri [nukleozid ve nukleotid analoglar] (6).

IFN'lar çeşitli hücrelerde bulunan reseptörlerine bağlanarak antiviral ve immünmodülatör etkilerini başlatırlar. Makrofajlar, natural killer (NK) hücreler ve sitotoksik T hücrelerinin aktivitesini artırarak virüsle infekte olmuş hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlarlar. IFN'ların immün sistem etkileri; hücrel immüniteyi ve antikor sentezini düzenleme, antijenlerin ekspresyonu ve tanınmasını artırma, NK hücre aktivitesini artırma olarak sıralanabilir. IFN'ların belki de en önemli immünoregülatör etkisi, hücre yüzeyindeki major histokompatibilite (MHC) antijenlerinin ekspresyonunu arttırmasıdır.

Nukleozid /nukleotid analogları ise, selluler DNA polimerazlara bağlanmak için doğal substratlar ile yarışan, yeni yapılmakta olan DNA'ya bağlandıklarında ise DNA zincir sentezini durdurup, viral replikasyonu susturan bileşiklerdir (DNA polimeraz inhibitörleri). Çoğu nukleozid analogları sitoplazmada bulunan enzimler tarafından nukleozid 5'-trifosfatlara fosforillenir; ardından virüs-özgün polimerazlar ile etkileşir. Her bir nukleozid/nukleotid analogu kendine özgü metabolik ve farmakolojik özellikleri ile etki, etkinlik ve toksisite açısından farklılık gösterir.

Non sitopatik bir virüs olan HBV aslında yetersiz antiviral yanıt ile karşılaştığı için devamlılığını koruyabilmektedir. Erişkinlerde süregelen enfeksiyon

kompleks bir senaryodur ve net anlaşılabilmiş değildir. Kronik hepatitli bireylerde T hücre cevapları akut hepatitli bireylerden daha düşük seviyelerdedir. Düşük T hücre cevabı aktif viral replikasyona neden olarak süregelen enfeksiyona katkıda bulunur. Periferik tolerans veya yüksek viral yük nedeni ile T hücre cevabının etkili olamaması da bunda rol oynuyor olabilir. Lamivudin tedavisi sırasında HBV 'ye özgün CD4⁺ ve CD8⁺ yanıtlarının düzelmesi bu tezi destekler(7) . Bazı yazarların raporlarına göre HBe Ag pozitif olgularda adefovirin indüklediği viral replikasyon, HBV'ye özgün CD4⁺ T hücrelerinde geçici bir artışa yol açarken, HBV'ye özgün CD8⁺ T hücrelerde artışa yol açmamaktadır (8, 9). HBeAg pozitif hastalarda yapılmış bir başka çalışma göstermiştir ki, HBeAg pozitif kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda viral replikasyonun adefovir tarafından inhibisyonu, regülatuar T hücrelerini azaltırken, T hücre immün cevabı arttırmaktadır(9). Yüksek viral yüklü HBe Ag pozitif çok sayıda hastayla yapılmış bir başka çalışmada göstermiştir ki, entekavir ile viral replikasyonun güçlü bir şekilde baskılanması, T hücre cevapsızlığını çalışma süresinin sonuna kadar (4-48 hafta) kısmen düzeltmiştir (10).

Tenofovir insan immün eksiklik virüsü (HIV) dahil HBV ve retrovirüsler gibi virüslerde DNA replikasyonuna karşı etkin antiviral etkinliği mevcut nükleotid analogudur. Hayvan deneylerinde maymun bağışıklık eksikliği virüsü (SIV) ile enfekte Makak maymunlarında güçlü direkt etkin antiviral etkinliğine ek olarak antiviral etkinliği tamamlayıcı CD8⁺ T hücre immün yanıtını indüklediği gösterilmiştir(11). Ayrıca, in vitro ve in vivo sıçan modellerinde yapılan çalışmalar tenofovirin doğal NK ve NKT hücre aktivitesini arttırdığı ve bu hücrelerden çeşitli sitokin ve kemokinlerin salgılanmasını uyardığı gösterilmiştir (10). Bu nedenle, HBV enfeksiyonlu hastalarda tenofovirin doğrudan antiviral, immünmodülatör veya immün koruyucu etkisi olabileceği ileri sürülmüştür (12).

Henüz kronik HBV enfeksiyonu olan olgularda tenofovir tedavisinin immünomodülatör özellikleri sahip olup olmadığı bilinmemektedir. Bizim bu çalışmamızda HBe antijen pozitif ve negatif olgularda 1 yıllık tenofovir tedavisi sırasında periferik kan B ve T lenfosit hücre dinamikleri ile NK ve NKT hücrelerinin kanda sayısal dağılımları araştırılmıştır. Böylece tenofovir tedavisi ile sağlanan virolojik süpresyonda ilacın antiviral etkinliği dışında olası immünomodülatör etkinliğinin varlığı araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hepatit B Virusunun (HBV) Moleküler Virolojisi

HBV ilk defa Blumberg ve arkadaşları tarafından 1965 yılında “Avustralya (Au) Antijeni” olarak tanımlanan bir serum proteini olarak rapor edilmiş, 1970 yılında ise tüm virionun elektron mikroskopik görüntüleri saptanarak “Dane Partikülleri” adını almıştır. HBV enfeksiyöz partikülü olan 42 nm büyüklüğündeki Dane partikülleri dışında 22 nm’lik sferik ve 22 x 100–200 nm büyüklüğündeki filamentöz partiküller de elektron mikroskopunda tarif edilmiş, bunu izleyen yıllarda çeşitli çalışmalarda virüsün genomik yapısı ve proteinleri karakterize edilmiştir (13).

HBV karaciğere özgü hayvan DNA virüslerini içeren Hepadnaviridae ailesinde yer alan hepatotropik zarflı bir DNA virüsüdür. HBV’ nin bilinen tek konağı insandır. Ancak laboratuvar ortamında primatlarda da hepatit B enfeksiyonu oluşturulmuştur. Bilinen hayvan virüsleri içinde en küçük genoma sahip olanıdır ve sirküler yapıda bir genetik elemana sahiptir. Bu sirküler DNA olgun virüs içinde tam olarak tamamlanmamış çift sarmal yapıdadır. DNA'nın negatif zinciri tam olarak kapalı sirküler yapıda olmakla birlikte pozitif zincir negatif zinciri tam olarak karşılamamaktadır. Genetik eleman ve DNA polimeraz enzimi core antijeninin polimerleşmesi ile oluşan nükleokapsid tarafından çevrelenmiştir. Kapsidin etrafını da çoğunlukla S ve az miktarda da preS1 ve preS2 moleküllerinden meydana gelen zarf çevrelemektedir. Virüs muhtemelen preS1 bölgesindeki bazı moleküler motifler aracılığı ile hepatositlerin yüzeyindeki reseptör benzeri bölgelere bağlanarak endositoz ile hücre içine alınır. Bu reseptör veya benzeri moleküllerin yapısı da bilinmemektedir. Asialoglikoprotein reseptörleri, IgA reseptörleri, prealbümin reseptörleri ve diğer birçok molekülün HBV için reseptör olabileceği belirtilmiştir (14).

HBV DNA virüsüdür ve diğer DNA virüslerinden farklı bazı özellikler taşımaktadır. Viral genom yaklaşık 3200 nükleotidden oluşan oldukça küçük ve kısmen çift (\approx % 70), kısmen tek iplikli (\approx % 30) çembersel DNA’dan oluşur ve ikozahedral bir kapsid içerisinde bulunur; bunun dışında da üç farklı yüzey antijenini taşıyan lipit yapıları zarf yer alır. HBV bir DNA virüsü olmasına karşın revers transkriptaz (RT) enzimi kodlar ve RNA aracısı üzerinden replike olur. HBV enfekte

hücre çekirdeğinde bir minikromozom şeklinde bulunan ve kovalent bağlı çembersel DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA) adı verilen replikasyon ve transkripsiyon aracısı moleküle dayanan karmaşık bir replikasyon stratejisine sahiptir. Zarflı bir virüs olmasına rağmen eter, düşük pH, ısı, dondurma ve çözmeye oldukça dirençlidir. Bu özellikler virüsün kişiden kişiye geçişteki etkinliğine katkıda bulunur ve dezenfektan direncini sağlar (13).

Viral replikasyon tamamlanmadan DNA molekülleri virion içinde paketlenmektedir. HBV genomunun dört açık okuma çerçevesi (L veya (-) zincir) virüs proteinlerini kodlayan 4 adet uzun açık okuma alanı [open reading frame (ORF)] vardır. Bunlar S, C, X ve P bölgeleridir. Bu dört gen bölgesi arka arkaya ve birbirinden ayrı bölgelerde bulunmazlar. Bunlardan nükleokapsid proteinini kodlayan genetik bölgeye "kor" zarf (yüzey) proteinlerini kodlayan bölgeye "S" ORF, reverse transcriptase'ı kodlayan bölgeye "P" ORF denir. Virüsün diğer bir ORF'i "X" bölgesidir. Bu bölgeden kodlanan X proteininin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte virüse ve konağıya ait bazı genler için düzenleyici ve aktive edici özelliklere sahip olduğuna dair deliller vardır. HBV genomik yapısı çok özel olup bahsedilen bu genetik elemanlar arasında büyük oranda çakışma vardır. Ancak okuma alanları birbirinden farklı olduğu için farklı amino asit dizilerinin sentezini sağlarlar. "Core" geni dolaşımında da bulunan ve "e" antijeni olarak adlandırılan peptidi kodlar. Bu "e" antijeninin kandaki varlığı yüksek düzeyde viral replikasyona işaret eder. Bu viral antijenik yapılara karşı insanın immün sistemi çeşitli antikorlar oluşturarak yanıt verir. Laboratuvar teknikleri ile bunların saptanması yoluyla enfeksiyonun hangi aşamada (geçirilmiş, akut ya da kronik) olduğuna dair bilgi edinilebilir (15,16).

HBV genomu A' dan H' ye 8 majör genotip oluşturmaktadır. Bunun dışında HBs antijeninin yapısal farklılıklarına göre HBV serotipleri de tanımlanmıştır. S geninin dizi analizi hem genotipleri hem serotipleri tanımlayabilmesine karşın, genotipler ve serotipler tam olarak birbiri ile örtüşmemekte, serotip benzerlikleri genetik ilişkiyi doğrulamamaktadır. Virüsün coğrafi dağılımı ile genotiplerin serotipe göre daha uyumlu olduğu ve moleküler epidemiyolojik çalışmalar için genotiplerin kullanımının daha yararlı olduğu belirlenmiştir (1).

Tüm HBsAg determinantları ortak bir antijenik yapıya sahiptir (a determinanı) ve iki grup allel determinantları da (d/y ve w/r) vardır. Allel determinantlarından w heterojen antijeniteye sahip olduğu için HBV' nin 10 serotipi bulunur. Serotipler enfeksiyondan sonra değişmediği için enfeksiyon izi sürmede yardımcı olabilirler. Genotip ve serotipler özellikle epidemiyolojide önemlidir (17-20).

Tablo 1: HBV Genotip ve Serotiplerinin Coğrafi Dağılımı.

Genotip	Serotip	Coğrafi Dağılım
A	<i>adw2</i>	Kuzeybatı Avrupa, A.B.D, Sahara-altı Afrika, Doğu Afrika, Japonya, Filipinler
	<i>ayw1b</i>	Orta Afrika, Kenya
	<i>ayw2</i>	Güney Afrika, Malawi
	<i>adw4b</i>	Venezuela
B	<i>adw2</i>	Endonezya, Çin, Japonya
	<i>ayw1</i>	Güneydoğu Asya, Vietnam, Endonezya, Brezilya, Filipinler
	<i>adrb</i>	Venezuela
C	<i>adrq+</i>	Kore, Çin, Japonya
	<i>adrq-</i>	Polinezya
	<i>ayr</i>	Vietnam
	<i>adw</i>	Tibet
	<i>adw2</i>	Doğu Asya, Japonya, Filipinler
	<i>ayw2</i>	Tibet
	<i>ayw3</i>	Avustralya (Aborijinler)
	<i>aywr</i>	Japonya
D	<i>ayw2</i>	Afrika, Akdeniz Bölgesi, Hindistan, Tunus, Doğu Avrupa
	<i>ayw3</i>	Akdeniz Bölgesi, Doğu Avrupa
	<i>ayw4b</i>	Orta ve Batı Afrika, A.B.D.
	<i>adw3b</i>	Orta Amerika
E	<i>ayw4</i>	Batı ve Orta Afrika, Nijerya
F	<i>adw4</i>	Fransa, Alaska, Brezilya, Kolombiya, Venezuela
	<i>adw4q</i>	Amerika yerlileri, Polinezya
	<i>adw2b</i>	Venezuela
	<i>ayw4b</i>	Venezuela, Orta Amerika
G	<i>adw2</i>	Fransa, A.B.D.
H	<i>adw4</i>	Latin Amerika'nın kuzey kısmı, Orta Amerika ve Meksiko

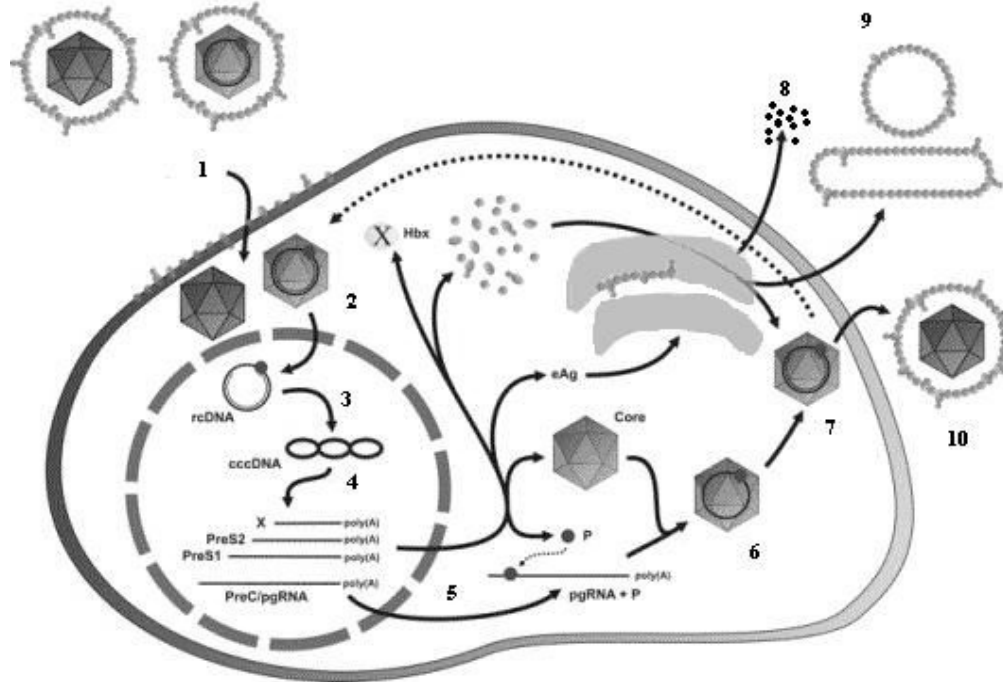
2.2. Viral Replikasyon

Hepatosit içine giren HBV, sitoplazmada zarf ve kapsidini kaybeder, genomik yapısı çekirdek içine girer ve burada replikasyon başlar. HBV bir DNA virüsü olmasına rağmen replikasyon için reverse transkriptaz sürecini kullanır (1).

Hücreye tutunmada en etkin görevi üstlenen pre-S1 bölgesinde tutunma aktivitesinden sorumlu kısım 21-47. aminoasitler olarak tanımlanmış, bu bölgenin virüsün HepG2 tutunması için gerekli ve yeterli olduğu saptanmıştır. Daha sonra yapılan mutagenез çalışmalarında ise bu epitop içerisinde yer alan ve hücreye tutunmada kritik rol oynayan QLDPAF dizisi tanımlanmıştır. QLDPAF dizisinin birçok viral, bakteriyel ve hücrel proteinlerde bulunan bir epitop olması, ayrıca bu ve benzeri dizileri taşıyan proteinlerin hücreye tutunma ve membran füzyonu olaylarında görev alması; birçok mikroorganizma tarafından hedef hücrelere bağlanmak için benzer moleküllerin kullanıldığını işaret etmektedir. HBV' nin organ ve doku özgülüğünün belirlenmesinde QLDPAF dizisi dışında yer alan pre-S1 kısımlarının etkili olduğu bilinmektedir. Diğer ilginç bir nokta ise oldukça iyi korunmuş bir viral protein olan X proteininin de amino terminalinde benzer QLDPAF dizisi taşımasıdır. Bu bölgenin pre-S1 tutunma bölgesi ile olan benzerliği, X proteininin de hücreye tutunmada rol oynaması olasılığını akla getirmektedir. Viral pre-S1 bölgesi hücreye tutunma için ana epitopları taşısa da, tutunma basamağında pre-S1 dışında ikinci bir epitopun da rolü olduğu saptanmıştır. Laboratuvarında hazırlanan çeşitli partiküllerin hepatositlere tutunma etkinliği açısından karşılaştırıldığında, virüsün hepatositlere tutunması ve hücreye girişi sürecinde birçok epitopun farklı düzeylerde rol oynadığı ve tüm yüzey antijeni repertuarına sahip parçacıkların en yüksek aktiviteyi gösterdiği saptanmıştır. Tutunma sonrasında virüs zarfı ve hücre membranı arasında füzyon meydana gelir ve nükleokapsid sitoplazmaya salınır. Kapsidin parçalanması ile viral genomik DNA ve polimeraz çekirdeğe taşınır (21-23).

HBV virionları baskın olarak tüm negatif iplik ve kısmi olarak tamamlanmış pozitif iplikli çembersel DNA genomu (relaxed circular DNA, rcDNA) taşır. Replikasyon döngüsünün başlangıcı ile her iki form da cccDNA'da dönüştürülür. Bu basamak viral genom replikasyonunun ilk ve en önemli aşamasıdır.

cccDNA oluşumunun enfekte hepatositlerde virüs inokülasyonundan sonraki ilk 24 saatte meydana geldiği saptanmıştır. cccDNA yapısının oluşması için negatif DNA ipliğine kovalent olarak bağlanmış olan RT enzimi yerinden ayrılmakta, pozitif iplikçik tamamlanmakta ve her iki DNA molekülü birbirine ligasyon reaksiyonu ile bağlanmaktadır. Bu aşamalarda hücresel DNA tamir enzimleri ile viral RT enziminin birlikte rol aldığına, ayrıca virüs özyapısının çekirdeğe taşınmasında Core ve RT proteinlerinin etkili olduğuna işaret eden veriler bulunmaktadır. cccDNA HBV' nin hepatositlerde persistansında etkili olan moleküldür ve virüsün antiviral tedavi sonrasında izlenen reaktivasyonlarından sorumludur. cccDNA molekülünün meydana gelişi viral DNA'nın nükleer membrandan transportu ile çekirdeğe ulaşması sonrasında virüse ait transkripsiyonlar hücresel RNA polimerazlar tarafından başlatılmaktadır (23, 24).



- | | |
|--|--|
| 1. Tutunma, adsorpsiyon ve penetrasyon | 2. Özyapının (core) çekirdeğe taşınması |
| 3. cccDNA'nın oluşması | 4. Transkripsiyon / viral RNA'ların sentezi |
| 5. Translasyon / viral proteinlerin sentezi | 6. Pre- genomik RNA ve viral polimerazın enkapsidasyonu |
| 7. Revers transkripsiyon ile DNA sentezi | 8. HBe antijeni salınımı |
| 9. Sferik ve filamentöz partiküllerin salınımı | 10. Olgun, infeksiyöz virionun (Dane partikülü) salınımı |

Şekil 1. HBV replikasyonunun şematik gösterimi.

2.3. HBV Enfeksiyonunda İmmünopatogenez

Virüsün replikasyonu predominant olarak karaciğerde olmakla beraber lenfositlerde, dalakta ve pankreasta da olabilir. B tipi kronik viral hepatitlerde bağışıklık sistemi hücrelerinin virüsle enfekte karaciğer hücrelerini ortadan kaldırmaları temel mekanizmadır. HBV sitopatik olmadığı için kronik zedelenmenin konağa ait faktörlerle ilişkisi olması gerekir. Ancak, T ve B lenfositleri ile konağa ait diğer etkenlerin önemi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Hepatit B, diğer hepatit virüslerinin aksine sitopatik bir virüs değildir ve immün mekanizmalarla hasar yaptığı düşünülmektedir. Akut enfeksiyon sürecindeki ilk adım, hepatositlerin HBV ile enfeksiyonudur ve bu enfeksiyon sonucu hücre yüzeylerinde viral antijenler belirir. Bu viral antijenlerin en önemlileri viral nükleokapsid antijenleri; HBcAg ve HBeAg'dir. Bu antijenlerin class I major histokompatibilite (MHC) proteinleri ile kombinasyonu hücreyi sitotoksik T hücrelerinin lizisi için hedef haline getirir. Konağın HBV'ye karşı gösterdiği hücresel immün yanıt karaciğer hasarına neden olmaktadır. CD8⁺ sitotoksik T lenfositleri aracılığı ile direk hücre ölümü meydana gelir. Kişilerin immün yanıtları farklı olduğundan kimileri virüsten başarıyla temizlenirken diğerleri bunu başaramaz(25). Kronik enfeksiyonda CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre yanıtları belirgin olarak azalmıştır (17, 26).

HBcAg, T hücrelerine hem bağımlı, hem de bağımsız olarak virüs-özgün B hücrelerini uyararak anti-HBc antikoru oluşturabilir (27). HBcAg özellikle Th1 tipi immün yanıtı indüklerken, HBeAg'ne karşı anti-viral temizleme mekanizmalarını zayıflatan Th0 veya Th2 tipi immün yanıt gelişir (28). Th1 fonksiyonel fenotipi ile CD4⁺ T hücrelerinin HBV enfeksiyonunda antiviral etkinlik gösterdiği düşünülür (26, 29).

HBV 'nin temizlenmesi ve virüsle enfekte hepatositlerin harabiyetinden sitotoksik hücrelerin sorumlu olduğu kabul edilmektedir, ancak enfekte hücre sayısına göre sayıları oldukça azdır. Virüsün temizlenmesinde sitokinlerin aracılık ettiği ikincil mekanizmaların da rol aldığı düşünülmektedir. TNF-alfa ve IFN-gama HBV' nin temizlenmesinde özellikle etkilidir. Sitokin yanıtları karaciğerde Kupffer hücrelerince güçlendirilmekte ve karaciğer hücrelerine zarar vermeden virüsün temizlenmesi sağlanmaktadır. Sitokinler konak savunmasında viral replikasyonu

baskılar, baskın immün yanıt tipini belirler. İmmün yanıtın etkili olması için tip 1 sitokin salınımı gereklidir. Akut yanıt yetersizse enfeksiyon kronikleşir, optimal düzeyden az olan enflamatuvar yanıt sebebiyle hepatik fibrozis gelişir (17, 30, 31).

Virüse özgün sitotoksik T lenfosit (CTL)' ler karaciğerde HBV gen ekspresyonunu ve replikasyonunu, hücreyi öldürmeden sona erdirebilir. Bu antijenin tanınmasından sonra CTL' den salınan IFN-alfa ve TNF-gama gibi sitokinler aracılığı ile olmaktadır (32). Sitolitik olmayan viral mekanizmalar akut HBV enfeksiyonu süresince sitolitik mekanizmalardan daha önce etkin bir şekilde gerçekleşir (33). HBV-özgün CTL'ler enfeksiyon kontrolü dışında karaciğerdeki doku hasarından da sorumludur. Kronik HBV enfeksiyonunda periferd kanda CTL yanıtı zayıf olmakla beraber karaciğerde aktif devam eder (17). Portal aralıkta ve hepatik lobüllerde CD8⁺ T hücre egemen mononükleer hücre infiltrasyonu beraberinde hepatosit nekrozu görülür. Bu etkin olmayan fakat sürekli CTL yanıtı karaciğer hasarına neden olmaktadır. CTL'ler sitokinler aracılığı ile bölgeye makrofaj ve NK hücrelerinin gelmesini sağlar. HBsAg' yi çok fazla eksprese eden olgularda bunun sonucu fulminan hepatit gelişebilir (34).

HBV'nin immün sistemden kurtulması başlıca iki yolla olur; ya T hücreleri tarafından tanınmaktan kurtulur (zayıf antijen sunumu, antijenik değişim, virüsün immün sistemin güç ulaştığı yerlere saklanması) ya da konak immün yanıtını baskılayarak yaşayabilir (Th 1 sitokin yanıtının azalması, virüs özgün T hücrelerinin tükenmesi) (17, 26). HBV enfeksiyonunda CTL'lerin hastalığın kontrolünde önemli rolü olmasına rağmen kronik enfeksiyonda CD8⁺ T hücre yanıtının hiç olmadığı veya zayıf olduğu gösterilmiştir (26, 35, 36).

Kronik HBV enfeksiyonunda hem hücre hasarını önlemek hem de virüsün yok edilmesini sağlamak için işlevsel bir immün sistem gereklidir. Karaciğer hasarının şiddeti ve ağırlığı immün yanıtın şiddeti ile doğru orantılıdır. Enfeksiyonun seyrini vücudun virüse karşı immün yanıtı belirlemektedir. immün sistem aracılığı ile akut ve kronik nekroinflamatuvar karaciğer hastalığına neden olur (37). HBV enfeksiyonunda bazı ekstrahepatik organlarda patolojiler gelişebilir. Bazı hastalarda HBsAg ihtiva eden dolaşan immünkompleksler olabilir; HBV enfeksiyonları sırasındaki poliartrit, glomerülonefrit, miks tip kriyoglobülinemi ve Guillian-Barre sendromu ile immünkompleksler arasında bir ilişki bulunmuştur.

Sonuç olarak immün yanıtın gücü ve kalitesi HBV enfeksiyonunun doğal seyrinde major belirleyici faktördür. Çeşitli viral proteinlere karşı immün tolerans etkin bir virüs temizliği oluşmasını engellemektedir. Ancak virüs temizliğinde pek etkili olamayan immün yanıt, karaciğer hasarına yol açmaktadır. İmmün yanıtın kalitesi ve şiddetini belirleyen konak faktörleri hastalığın seyrinde önemli görünmektedir (38).

2.3.1. Akut hepatit B’de hücresel immün yanıt

Enfeksiyondan sonra 4–7 hafta kadar süren düşük viremi ve sonrasında yüksek viremi periyotlarını HBV’ ye özgü CD4⁺ ve CD8⁺ yanıtları izler. Bu yanıtlar, daha çok Th1 yönündedir, çok güçlüdür. CD8⁺ hücrelerinin proliferasyonu, IFN- γ üretimi ve litik aktiviteleri enfeksiyonu başarılı olarak kontrol edebilecek düzeydedir (39). CD4⁺ ve CD8⁺ hücrelerinin özgün antikolarla azaltıldığı hayvan çalışmalarında viral klirens ve hastalık patogenezi için kritik olan T hücrenin CD8⁺ T hücreleri olduğu görülmüştür (40). İyileşen HBV enfeksiyonu sürecinde CD4⁺’ün azaltılması ise, HBV-DNA ve ALT düzeylerini değiştirmemiştir. Oysa CD8⁺’in azaltılması ile HBV-DNA’nın yüksek kaldığı süre uzamış, HBV-DNA düşüşü ve ALT yükselmesi gecikmiş, enfeksiyonun iyileşme süreci uzamıştır. Özetle virüsün erken kontrolünde NK ve NKT hücreleri önemli rol oynar; enfeksiyonun tam olarak kontrolü ve bu kontrolün devam etmesi CD8⁺ hücrelerine bağlıdır.

2.3.2. Kronik hepatit B’ de hücresel immün yanıt

Kronik HBV enfeksiyonunda T hücre yanıtları gerek karaciğer dokusunda gerekse periferik kanda ya yoktur ya da oldukça düşüktür ve viral proteinlere dar olarak odaklanmıştır. Bununla beraber bir grup hastada hatırı sayılır T hücre yanıtları dikkati çekmektedir. Kronik hepatit gelişen hastalarda T hücre fonksiyon bozuklukları net olarak tanımlanmıştır. Ancak bunun sebep mi yoksa sonuç mu olduğu net değildir. Kronikleşen HBV enfeksiyonu olgularında CD4⁺ yanıtı saptanamayacak düzeydedir. Özellikle HBV-DNA’nın zirveye çıktığı fazda, perifer kanında T hücre yanıtı çok baskılanmıştır. CD8⁺ yanıtı ise iyileşen hasta

grubunda olduğu gibi çok yönlü ve özgündür. Ancak CD8⁺ repertuarı yetersizdir ve hastalığı kontrol edebilecek dominant epitoplara değil diğer daha önemsiz epitoplara yönelmiştir (41). Ayrıca, özgün T hücreleri karaciğere çekilir. Özgün T hücrelerinin yanında, onlardan çok daha fazla sayıda özgün olmayan T hücreleri, karaciğerde infiltrasyona katılır. Hepatosit hasarının önemli ölçüde bu özgün olmayan hücrelerden kaynaklandığı düşünülmektedir. HBV enfeksiyonu kronikleşince, edinilmiş immünitede gerileme gözlenir. Örneğin, virüse özgü CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri azalır; virüse özgü antikorlar ise kısıtlı olarak üretilir. Oysa iyileşen HBV enfeksiyonu olgularında CD4⁺ ve CD8⁺ bellek T hücreleri aracılığıyla yıllar sonra bile saptanabilecek bir immün yanıt varlığı söz konusudur (41).

2.3.3. Humoral immün yanıt

HBV enfeksiyonunun kontrolünde humoral immün yanıt önemli rol oynar. Serbest partiküllerin nötralizasyonu ve virüsün konak hücrelerine girişinin engellenebilmesi için antikor üretimi gerekir. Konak hücresinin enfekte olmasından önce bu koruma önemlidir. Enfekte olduktan sonra ise ortadan kaldırılması artık hücresel immün yanıtla mümkün olur. Bundan dolayı pek çok hastalığın kontrolünde olduğu gibi HBV' nin kontrolünde de hücresel ve humoral immünitenin dayanışması gerekir. CD4⁺ T hücreleri yoksa CD8⁺ aktivitesi ve antikor yanıtı bozulur; virüse özgü CD8⁺ T hücrelerinin yokluğunda da viremi devam eder ve sadece antikor yanıtı ile kontrol edilemez (41).

2.3.4. HBV neden kronikleşir?

Konağın doğal ve edinilmiş hücresel ve humoral immünite unsurlarının mücadelesine karşın bir grup hastada HBV kronikleşir. Bu sonucu birden fazla parametre etkiler; örneğin enfeksiyonun alındığı yaş HBV' nin süreğen kalıp kalmayacağını belirler. Erken yaşta alınan enfeksiyon, çoğunlukla kronikleşirken, erişkin yaşta alınanın %1-3 'ü kronikleşir. Virüsün genotipi ve viral yük miktarı da önemlidir: Genotip B daha selim bir seyir izler ve düşük viral yük, iyileşme ile

sonuçlanma açısından konağa avantaj sağlar (41). Konağın genetik yapısı da antiviral immün yapıları erken ve etkili harekete geçirmesi açısından önemlidir.

Kronik HBV seyrinde T hücrelerinin yanıtındaki yetersizlik, kronisite ile ilişkilidir. Periferik T hücre yetersizliği sadece bu hücrelerin karaciğere toplanması ile açıklanamaz. Yüksek oranda ve uzun süreli viral antijenlerle karşılaşma bu sonucunu doğurmuş olabilir. HBeAg' nin, Th1 hücrelerin azalması ve immünitinin Th2'ye yönlendirilmesinde rolü vardır. Transgenik farelerde HBeAg'nin T hücrelerini tolerojen hale getirdiği gözlenmiştir (42). Bu kayma, kronikleşme yönünde bir sitokin imbalansı oluşturmaktadır.

2.3.5. Alevlenmenin immün temeli

T hücre yanıtı, viral yükün çok yüksek olduğu hastalarda en zayıftır (40). Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri içinde reaktivasyonlar gözlenir. Bu alevlenmenin hemen öncesinde HBV nükleokapsit antijenlerine karşı oluşan CD4⁺ T hücre yanıtında bir toparlanma vardır. Alevlenme sırasında T hücre yanıtındaki bu toparlanma, IL-12 ve Th1 sitokin artışına yol açar ve HBeAg serokonversiyonu gerçekleşebilir. Bu değişikliklere ALT düzeyinde anlamlı bir artış da eşlik edebilir. Özetle kronik HBV seyrinde görülen T hücrelerinin yanıtındaki yetersizlik geri dönüşsüz değildir. Özellikle viral yükün azalması, T hücre fonksiyonlarındaki düzelmeyi kolaylaştırır.

2.3.6. İnaktif taşıyıcılıkta immünite

İnaktif HBV taşıyıcılarında aktif karaciğer hasarı yoktur. Virüs etkin bir şekilde kontrol altına alınmıştır. Karaciğerde mevcut CD8⁺ hücrelerinin çoğu HBV'ye özgün hücrelerdir (40). Bu hücrelerin proliferasyonları ve anti-viral sitokin salgılama yetenekleri de normaldir. İnaktif taşıyıcılık, HBV replikasyonunu, özgün T hücreleri ile belli ölçüde kontrol altına alındığı durumu yansıtmaktadır. Neden HBV replikasyonunun tamamen durdurulamadığı ve özgün antikorların oluşamadığı ise tam olarak açıklanamamıştır.

Tablo 2: Hepatotrop Bir Virüsle Karşılaşan Karaciğerde Gelişen Adaptif İmmün Yanıt.

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

2.4. Hepatit B virusu enfeksiyonlarının epidemiyolojisi

Hepatit B virüsü (HBV) dünya genelinde 350 milyon kişide kronik enfeksiyona, yılda 500 000–1 200 000 ölüme neden olan bir virüsdür. Afrika, Asya ve Pasifik kıyılarında HBV' na bağlı hastalıklar en önemli üç ölüm nedeninden biridir. Dünyada HBV ile karşılaşmış insan sayısı ise iki milyardır. Bu enfeksiyon açısından kırsal kesimde oturanların daha fazla risk altında olduğu belirtilmektedir (13).

HBV enfeksiyonunun en önemli rezervuarı kronik HBV taşıyıcılarıdır. Tüm dünyada yaklaşık 600 milyon HBV taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir. Taşıyıcılar veya akut hastalık geçiren kişiler hastalığın bulaşmasında etkilidir (17,33-36). HBV bulaşmasından enfekte kan ve vücut sıvıları (semen, vajinal sıvılar, tükürük gibi) sorumludur. Fekal oral yolla bulaşmasa da enfekte bireyin kan veya salgısı hasarlı mukoza ile temas ederse bulaşma söz konusu olabilir (43-47).

2.4.1. Bulaşma yolları

HBV' nin rezervuarı insandır. Kronik hepatit B hastaları yeni enfeksiyonların bulaşı için ana rezervuarı oluşturmaktadır. Enfekte kişinin kanı veya diğer vücut sıvılarına

perkütan veya mukozal maruziyet sonucu HBV bulaşabilir. Deri hasarlanmadığı sürece risk teşkil etmez, mukozalar ise kolay giriş yerleridir (48).

Tüm HbsAg pozitif kişiler bulaştırıcıdır. HbeAg pozitifliği durumunda ise bulaştırıcılık çok daha yüksektir; çünkü HbeAg yüksek titrede HBV varlığının göstergesidir (49).

HBV' nin stabilitesi her zaman infeksiyöz ajanla aynı değildir. Virüs -20°C' ta 20 yıldan fazla bir süre ve birçok kez dondurup çözme ile 37°C' ta 1 saat ve kurutulduktan sonra 25°C' ta en az bir hafta bekletmekle infeksiyözitesini kaybetmez. Eter, asit (pH 2,4)' de en az 6 saat ve ısı (98°C' de 1 dakika, 60°C' de 10 saat) ile immünojenite ve antijenik özellik kaybolmadığı halde infektivite kaybolmaktadır. Eğer virüs yoğunluğu çok fazla ise bu işlemler sonucu inaktivasyon tam olmamaktadır. HBsAg, %2,5 Sodyum hipoklorit varlığında 3 dakikada antijenik özelliğini ve infektivitesini yitirir. Infektivite 2 dakika doğrudan kaynatmakla, 121°C' lik kuru sıcak havada 1 saatte kaybolur. Son zamanlardaki çalışmalar HBV' nin sodyum hipoklorit (500mg serbest Cl/ml) ile 10 dakikada, % 0,1–2 aköz glutaraldehyd, %70 izopropil alkol, %80 etil alkol, pozisidin (pH7.9)'de, 110°C' de 2 dakikada inaktive olduğunu göstermiştir. HBV,30-32°C'de saklandığında en az 6 ay - 20°C' de 15 yıl infektivitesini yitirmemektedir (50, 51).

HBV' nün dört ana bulaşma yolu vardır;

I. Parenteral (perkütan) bulaşma: En önemli bulaşma yollarından biridir. Çoğul transfüzyon yapılan hastalar, hemodiyaliz hastaları, damar içi uyuşturucu bağımlıları, dövme yaptıranlar, özellikle cerrahlar, patologlar, hemodiyaliz çalışanları olmak üzere sağlık çalışanları risk gruplarıdır. Virüs insan vücudu dışında yedi günden uzun süre canlı kalabildiği için enfekte diş fırçası ve jiletler de bulaş kaynağı olabilirler (13). Donörlerin taranması ve kanın viral inaktivasyon prosedürüne işlenmesi neticesinde HBV' nin kan ve kan ürünleri ile geçişi azaltılmıştır (52).

II. Cinsel temasla bulaşma: Tüm endemisite bölgeleri için geçerli olmakla beraber düşük endemisite bölgeleri için daha önemli bir bulaş yoludur. Homoseksüeller arası cinsel temas HBV için en riskli cinsel bulaş seklidir. Çok sayıda heteroseksüel esleri ve başka cinsel yolla bulaşan hastalığı olanlarda risk daha

fazladır. HBV enfeksiyon riski partner sayısının artmasına paralel olarak 1 ila 11 kat artar (53).

III. Perinatal (Vertikal) bulaşma: Perinatal bulaşma, yüksek oranda HBV taşıyıcılığının bulunduğu bölgelerde en önemli bulaş yoludur. Taşıyıcı anneden çocuğa geçiş genellikle doğum sırasında veya doğumdan sonra HBV ile enfekte maternal sıvılarla bebeğin teması sonucu olur. Doğum sırasında bulaş, cilt sıyrıkları, mukoza penetrasyonu, vajinal kanaldan geçiş sırasında anne kanının yutulması, sezaryen sırasında anne kanıyla temas ile plasenta hasarı sonucu fetal, maternal dolaşımın karışması gibi nedenlerle ortaya çıkar. İntrauterin bulaşma nadirdir (%5-10)[48]. HBeAg pozitif anneden doğan çocukların %70-90'ı HBV ile enfekte olur. Bunlarda enfeksiyon %90 kronikleşir. HBeAg negatif anneden doğanların ise %10-40'ı enfekte olur. Bunların da %40-70'inde enfeksiyon kronikleşir. Anne sütünde HBsAg gösterilmiştir ve süt teorik olarak bulaştırıcıdır. Ama bu durum çocuğu süttten kesmeyi gerektirmez (13).

IV. Horizontal bulaşma: Amerika Birleşik Devletleri'ndeki hastalık kontrol merkezi (CDC)'ne 1995'te bildirilen vakaların yaklaşık yarısı HBV bulaşı için riskli olacak bir temaslarının olmadığını belirtmiştir. Ancak gerçekte bunların yarısında riskli bir temas vardır. Çeşitli vücut sıvılarında HBsAg bulunmuştur. Plevra ve periton sıvılarında serumdaki kadar viryon bulunur. Tükürük ve semedeki virüs yükü serumdakinden azdır ancak tükürük ve semende sürekli infeksiyöz viriyonlar bulunur. Endemik bölgelerde virüsün cilt çatlakları ve mukoz membranlardan geçişi çocuklarda enfeksiyona neden olabilir. Anneleri HBsAg pozitif çocuklar doğumda enfeksiyonu almadılarsa %40 olasılıkla ilk beş yıl içinde enfekte olabilmektedirler (13).

Orta yüksek endemisite gösteren bölgelerde çocuklar ve genç yetişkinler arasında en önemli yayılma seklidir. Kardeşler, akrabalar, arkadaşlar arasında ve özellikle de aynı evde yaşayanlar arasında geçiş söz konusudur. Bulaşmanın mekanizması tam anlaşılammış olmakla beraber, yakın temas, ortak bazı malzemelerin kullanılması, (tırış makinesi, jilet, havlu, diş fırçası, banyo malzemeleri vs) ile kan, tükürük ve seröz sıvıların defektli cilt veya mukozaya teması sonucu olduğu düşünülmektedir. Kalabalık yaşam şartları (yatılı okul, kışla, hapishane, yurt), kötü hijyen ve düşük sosyoekonomik durum HBV bulaşma oranını arttırmaktadır (54).

2.4.2. Hepatit B enfeksiyonunun prevalansı

HBV enfeksiyonuna dünyanın her yerinde rastlanılmaktadır. DSÖ' nün verilerine göre dünya nüfusunun üçte birinin (2 milyar insan) hepatit B virüsü ile enfekte olduğu ve yaklaşık 350 milyon insanın da hepatit B'nin siroz ve hepatosellüler kanser gibi ciddi komplikasyonlarından muzdarip oldukları bildirilmektedir. Dünyada her yıl kronik HBV enfeksiyonu olan 500–700 bin insan hepatosellüler kanser veya siroz nedeniyle ölmektedir. HBV enfeksiyonu prevalansı coğrafi bölgeye ve popülasyonların alt gruplarına göre büyük ölçüde değişim göstermektedir. DSÖ'ne göre dünya popülasyonunun yaklaşık %45'i HBV prevalansının yüksek (HBsAg pozitif olan olguların popülasyonun % 8'i ve üzerinde) olduğu bölgelerde, % 43'ü orta endemisitenin (HBsAg pozitifliği %2–7) olduğu bölgelerde ve sadece % 12'sinin düşük endemisiteye (HBsAg pozitifliği %2'nin altında) sahip bölgelerde yaşadığı belirtilmektedir (55).

HBsAg taşıyıcılığı açısından Dünya üç endemik bölgeye ayrılmaktadır:

1. Düşük endemisite bölgeleri: Taşıyıcılık oranının %2'nin altında olduğu bölgelerdir. A.B.D., Batı-Kuzey Avrupa, Avustralya, Kanada, Yeni Zelanda gibi ülkeler olup HBsAg taşıyıcılığı %0.25-%2 arasında değişmektedir. Sıklıkla cinsel temas daha az oranda da parenteral temasla bulaş olmaktadır. Düşük derecede endemik bölgelerde yaşamın herhangi bir döneminde HBV ile karşılaşma riski % 20'den azdır. Enfeksiyonların çoğu iyi belirlenmiş yüksek riskli gruplardaki erişkinleri etkiler; ancak perinatal geçiş veya bir çocuktan diğerine geçiş yoluyla kronik enfeksiyonu olan insan oranı da yüksek olabilmektedir (56). Enfeksiyonun epidemiyolojisine etki eden faktörlerden biri de HBV'nin genotipleridir. Enfeksiyon açısından düşük endemisite bölgeleri olan Kuzeybatı Avrupa ülkelerinde virüsün baskın genotipi genotip A'dır (13).

2. Orta endemisite bölgeleri: Ortadoğu ülkeleri, Rusya, Japonya, Doğu Avrupa ülkeleri, Türkiye, Akdeniz ve Karadeniz'e kıyısı olan ülkelerdir. HBsAg taşıyıcılık oranı % 2-7 arasında olan yerlerdir. Perkütan, cinsel, horizontal ve daha az oranda perinatal bulaşın görüldüğü yerlerdir. Orta derecede endemik bölgelerde bir kişinin yaşam boyu HBV enfeksiyonu riski %20-60'dır ve her yasta olabilir (57, 58). Bu bölgede ise HBV genotipinin %85 oranında genotip D olduğu bildirilmektedir (13).

3. Yüksek endemisite bölgeleri: Taşıyıcılığın %8 ve üzerinde olduğu bölgelerdir. Tayland, Hong Kong, bazı Afrika ülkeleri, Alaska ve Güneydoğu Asya'da diğer bazı ülkeler yüksek endemisiteye sahiptirler. HBsAg taşıyıcılık oranı %7'nin üzerinde olan ülkelerdir. Erişkinler arasında cinsel temas en önemli yeri tutarken taşıyıcılığın en önemli sebebinin HBeAg (+) anneden doğan bebeklere perinatal bulaş olduğu kabul edilmektedir. Afrika, Güneydoğu ve Uzak doğu Asya ile Pasifik adalarında ise %10'dan fazla HBsAg sıklığı görülür. Yüksek endemisite bölgelerinde bir kişinin hayatı boyunca HBV enfeksiyonu riski % 60'ın üzerindedir ve bu enfeksiyonların büyük çoğunluğu doğum sırasında anneden bebeğine veya bir bebekten diğerine geçiş seklindedir. Sonuçta enfeksiyonun bulaşma yası, hastalığın kronikleşme riskinin en yüksek olduğu yaştır (57, 58). Bu bölgelerden Hong Kong'da baskın HBV genotipi genotip B ve C' dir (13).

Tablo 3: Dünya'da HBV Endemisite Bölgeleri.

Özellik	Yüksek endemisite	Orta endemisite	Düşük endemisite
Kronik enfeksiyon oranı (%)	5-20	2-5	0.1-2
Bölgeler	Güneydoğu Asya, Çin, Alaska, Eskimo bölgesi, Sahra altı Afrika	Doğu Avrupa, Akdeniz bölgesi, Orta Asya, Latin ve Güney Amerika, Orta Doğu	ABD, Kanada, Batı Avrupa, Avustralya, Yeni Zelanda
Enfeksiyonun alındığı yaş	Perinatal, erken çocukluk dönemi	Çocukluk dönemi	Yetişkin yaş
Geçiş yolu	Maternal ve perinatal	Perkütan	Seksüel, perkütan

2.5. Hepatit B Enfeksiyonlarının Klinik Seyri

HBV ile karşılaşan kişide ya enfeksiyon tamamen iyileşir ya da kronikleşir. Virüsün alınmasından sonra 1 ila 4 ay süren inkubasyon periyodunu takiben enfeksiyon tablosu ortaya çıkar. Yetişkinlerin %70'inde ve 5 yaş altı çocukların %90'ında subklinik bir tablo söz konusudur. Bulantı, iştahsızlık, yorgunluk, hafif ateş ve sağ üst kadranda ağrısı olabilir. Karaciğer dışı organlara ait yakınmalar nadir değildir ve sıklıkla kas eklem ağrıları ve ürtiker olmaktadır. Akut enfeksiyon semptomları 1-3 ayda geriler sadece yorgunluk hali uzayabilir. Bu akut dönemin tedavisi daha çok

destek tedavisinden oluşur ve hospitalizasyon nadiren gerekir. Hepatik transaminaz düzeylerinin [Alanin transaminaz (ALT), Aspartat transaminaz (AST)] artışı, hepatoselüler hasarı yansıtır ve akut evrede birkaç yüz ile 20000 IU/L arasında değişir. Serum bilirubin düzeyleri genellikle 20 mg/dl' nin altındadır. Hafif düzeyde anemi ve lenfositoz sıktır. Daha ağır hastalık durumunda protrombin zamanında uzama ve serum albümin düzeyinde azalma olabilir (1).

2.5.1. Akut HBV enfeksiyonu klinik bulguları

Akut viral hepatitte enfeksiyonun seyri inkubasyon dönemi, preikterik dönem, ikterik dönem ve konvelesan dönem olmak üzere başlıca dört kategoride incelenebilir.

Akut HBV enfeksiyonunun inkubasyon dönemi 60–180 gün olarak belirlenmiştir. Akut HBV enfeksiyonunun klinik bulguları ve enfeksiyonun seyri pek çok duruma bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bunlar arasında enfeksiyonun alındığı yaş, virüsün genetik yapısı, eşlik eden bir başka hepatotrop virüs enfeksiyonunun varlığı, konakçının immün durumu önemli faktörlerdendir. Akut HBV enfeksiyonuna özgün, diğer akut viral hepatit sebeplerinden ayrımı sağlayan klinik bulgu yoktur. Sarılıkla gelen bir hastada sarılıklı hasta ile temas, intravenöz ilaç bağımlılığı, kan transfüzyonu öyküsü, geçirilmiş cerrahi veya hastanede yatış, kronik karaciğer hastalığına ait aile öyküsü ve viral hepatit etkeni ile olası temas anamnezde araştırıldığında pozitif veri elde edilirse, akut viral hepatit araştırılmalıdır. HBV ile enfekte olan erişkinlerin sadece %5-20 kadarında akut hepatit klinik belirtileri ortaya çıkmaktadır. Sarılığın görülme olasılığı ise beş yaşın altındaki çocuklarda %10 civarında iken daha büyük çocuk ve erişkinlerde olguların %50'sinde sarılık görülür. Bulantı- kusma, grip benzeri şikayetler, yorgunluk ve halsizlik, sağ üst kadranda hafif künt bir ağrı en belirgin semptomlar arasındadır. Serum hastalığı benzeri klinik tablo akut HBV enfeksiyonu olan hastaların %10 kadarında gelişmektedir. İmmün kompleks oluşumuna bağlı olarak gelişen ve ürtikeryal veya makulopapüler raş, artralji ile seyreden bu tabloda, sıklıkla romatoid faktör pozitifliği de mevcuttur. Akut hepatit B seyrinde nadiren de olsa, hastalığın akut fazında pankreatit kliniğine rastlanılabilir. Hastaların %30 kadarında amilaz yüksekliği de saptanabilir. Nadiren de olsa miyokardit, perikardit, plevral efüzyon,

aplastik anemi, ensefalit ve polinörit bildirilen diğer klinik bulgulardandır. Preikterik dönemdeki bu semptomlar genellikle 3–10 gün kadar sürer. Bu dönemde ayrıca iştahsızlığa eşlik eden yemek ve sigara tiksintisi, hepatiti akla getirecek semptomlar arasındadır. İkterik dönemde, preikterik dönemdeki hastaya rahatsızlık verici bu bulgularda genellikle görülen düzelmeye birlikte sarılık, hafif kaşıntı, idrar renginde koyulaşma, dışkı renginde açılma gözlenir. Serum bilirübini %2,5–3 mg üzerinde olduğu durumda skleral ikter klinik olarak aşikar hale gelir. Sarılığın süresi nadiren 4 haftayı geçer, genellikle 1-3 hafta kadar sürer.

Fizik muayenede, minimal nonözgün bulgulara rastlanılabileceği gibi, sarılık ve genellikle hassasiyetin de eşlik ettiği hepatomegali (%10), splenomegali (%5) ve lenfadenopati (%5) saptanabilir (24, 59-63). Vaskülit, immün kompleks nefriti, artrit, poliarteritis nodosa, Gianotti hastalığı, glomerulonefrit, eritema nodosum, Guillain Barre Sendromu gibi genellikle immün kompleks fenomenini yansıtan ekstrahepatik bulgulara da rastlanabilir (61, 63). Akut HBV enfeksiyonu geçiren erişkin hastaların büyük çoğunluğu, tam olarak iyileşme gösterir. Akut HBV enfeksiyonunun gidişatı konağın HBV' ye karşı sergilediği immün cevap ile bağlantılıdır. Akut hepatit B öyküsü tanımlanmamakla birlikte, tarama amacı ile alınan serumlarda saptanan yüksek oranda taşıyıcılık, hastalığın daha büyük oranda asemptomatik geçirildiğinin bir göstergesidir. HBV ile enfekte hepatositlerin nekrozu, viral replikasyonun gerçekleştiği HBV ile infekte hepatositlere karşı konağın immün saldırısı sonucudur. İmmunolojik aktiviteden, hepatosit yüzey membranında yer alan HBcAg' ye karşı yönelen konağın sitotoksik T hücreleri sorumludur. Direk sitopatik etkiye sahip olmadığından, HBV'ye karşı cevapta, hücre hasarı ve viral temizlenmede sağlam immün sistemin rolü çok önemlidir (1).

2.5.2. Kronik HBV enfeksiyonunda klinik bulgular

Akut HBV enfeksiyonundan sonra hastaların %5-10'unda kronikleşme söz konusudur. Serumda altı aydan fazla HBsAg saptandığında kronik enfeksiyondan şüphelenilmelidir. Bu hastaların bir kısmında sadece HBsAg taşıyıcılığı devam ederken geri kalanlarda hem HBsAg pozitifdir hem de virüs replikasyonu ile beraber karaciğerde hasar da devam eder (64, 65). Taşıyıcılık ile kronik hepatit arasındaki

ayırım karaciğerdeki nekroenflamatuvar hastalığın histolojik olarak ortaya konmasıyla mümkündür. HBsAg pozitif, transaminaz yüksekliği olan kronik bir hastada immünohistokimyasal yöntemlerle HBsAg ve HBcAg gösterildiğinde kesin tanı konulur (66).

Kronik hepatit çoğunlukla sessiz seyreden bir hastalıktır ve genellikle tesadüfen HBsAg pozitif bulunduğu orta derecede transaminaz yüksekliği de varsa tanısı konabilir. Karaciğer hasarından bağımsız semptomlar vardır (67, 68).

Kronik HBV enfeksiyonunda yorgunluk en önemli semptomdur. Bulantı, üst abdominal ağrı, kas ve eklem ağrıları da görülebilir. Klinik bulgu olarakta sarılık, spider nevüs, splenomegali ile küçülmüş veya büyümüş karaciğer görülebilir (64, 68).

Kronik HBV enfeksiyonu olan hastaların siroz, hepatosellüler karsinom ve karaciğer yetmezliği olma riskleri artmıştır. Kronik HBV enfeksiyonu bulunan 22 000 erkek hastayı kapsayan büyük prospektif bir çalışmada enfekte hastalarda primer karaciğer kanseri gelişme riski normal kontrollere kıyasla 223 kat daha fazla bulunmuştur (69).

Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri birbirini izleyen üç farklı döneme ayrılabilir:

1. İmmün tolerans dönemi
2. İmmün yanıt dönemi
3. Latent dönem
4. Bağışıklık Evresi

1. İmmün tolerans dönemi: Hastalar genellikle semptomsuzdur. Bu dönemde HBeAg, HBsAg ve HBV DNA yüksek titrelerde ($> 10^5$ kopya/mL) pozitif bulunur, buna karşılık serum transaminaz düzeyleri normal veya hafif yüksektir. İnkübasyon dönemi ile virüse immün yanıtın oluşturulduğu immün yanıt evrelerinin arasındaki zaman dilimini kapsar. Yeni doğanlarda immün yanıtın zayıflığı nedeniyle bu süreç on yılları kapsayabilir. Anti-HBe pozitif annenin gebeliği sırasında plasenta yoluyla bu anti-HBe antikorlarının fetüse geçişi nedeniyle HBV' ye karşı immün tolerans geliştiği ve doğumdan sonra da fetüste bu immüntolerans devam ettiği için, kronik taşıyıcı oldukları desteklenmektedir. Bu dönemin özelliği, virüse karşı gösterilen tolerans nedeniyle hepatosellüler hasar olmaksızın gerçekleşen yüksek bir

viral replikasyon hızının varlığıdır. Hastalarda HBeAg de pozitifdir. Karaciğer biyopsisi normal veya minimal enflamatuvar aktivite gösterir. İmmünohistokimyasal incelemede hepatositlerde nükleus içinde HBcAg bulunur. Bu evre birkaç hafta gibi kısa bir süre olabileceği gibi uzun yıllar boyunca da devam edebilir. Bu durum enfeksiyonun alınma yaşına bağlıdır. Yetişkinlerde bu evre olmayabilir ve doğrudan immün yanıt dönemine girebilir. Yeni doğan ve erken çocukluk çağında alındığında ise immün tolerans uzun sürer (70).

Bu dönemde spontan veya tedavi ile ilişkili HBeAg serokonversiyonu son derece düşüktür (<%5/yıl). Bu nedenle tedavi önerilmez. İmmün tolerans dönemdeki hastalarda prognoz iyidir (71-73).

2. İmmün yanıt dönemi: Bu dönem; aktif faz, kronik hepatit B, serokonversiyon fazı gibi isimlerle de tanımlanır. HBV ile enfekte hücrelerin yıkımı sonucu inflamatuvar süreç başlar, transaminaz düzeyleri yükselir. Bu durum enfekte hepatositlerin hasarını yansıtır. Bu evrede karaciğer biyopsilerinde belirgin inflamatuvar aktivite ve hastalığın süresi ile ilişkili olmak üzere değişik derecelerde fibrozis gözlenebilir. HBV DNA ve HBsAg titresi bir önceki döneme göre daha düşüktür. Hastaların çoğunda HBeAg pozitifliği devam etmektedir, ancak yılda % 3-25 oranında spontan HBeAg/Anti-HBe serokonversiyonu gözlenir (74, 75).

Bu fazın önemli bir özelliği transaminazlarda görülen alevlenmelerdir. Enfekte hepatositler immün aracılıklı (sitotoksik T lenfositlerinin HBcAg ve HBeAg' e karşı oluşturduğu immün yanıt) lizise uğramaktadır. İmmünlirens fazın süresi, alevlenmelerin sıklığı / ciddiyeti siroz ve karaciğer kanseri riskini arttırmaktadır. Alevlenmeler erkeklerde daha fazla görülmektedir; bu durum erkeklerde kadınlara göre HBV ile ilişkili siroz ve HSK' nın neden daha fazla görüldüğünü açıklayabilmektedir.

İmmün klirens dönemin önemli bir sonucu HBeAg serokonversiyonudur. Spontan HBeAg serokonversiyonunun yüksek oranlara ulaşmasını sağlayan faktörler; ileri yaş, başvuruda yüksek ALT, akut alevlenme, HBV genotipi (B>C) ve etnisite (Asya' lılar dışı) dir. Yüksek transaminaz düzeylerinin, konak immün yanıtının ciddi ve dolaylı bir göstergesi olduğuna inanılmaktadır (71-73).

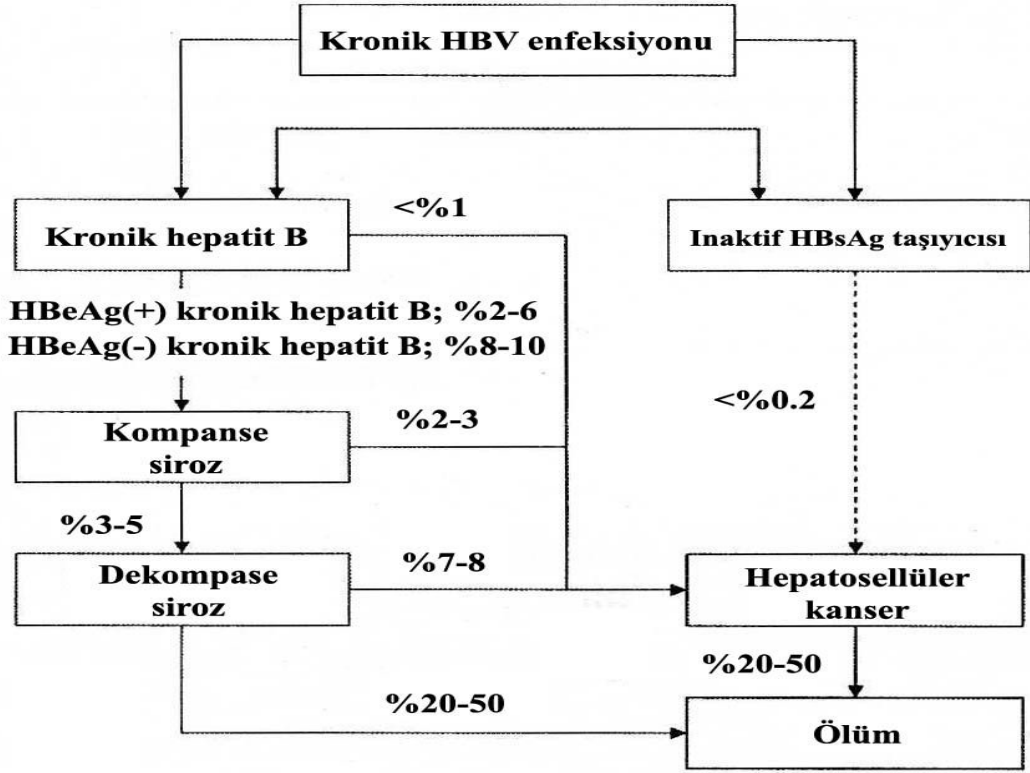
HBcAg hepatosit nükleuslarının yanı sıra sitoplazmada da bulunur. Bu dönem uzun yıllar devam edebilir. Bazı hastalar latent döneme geçmeden bu evrede

kaybedilirler. Hastalığın prognozunu belirleyen en önemli faktör, immün yanıt döneminin süresi ve şiddetidir. Çünkü karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinoma ilerleme riski bu evrede yüksektir. Bu süre içerisinde viral mutasyonlar gerçekleşebilir ve replikasyon hızla sürer. Bu durumda enfeksiyonun daha ağır seyredeceği öngörülebilir. İmmün yanıt fazının sonlanması ile enfeksiyon latent faza girer. HBsAg pozitifliği devam etmektedir, ancak aktif viral replikasyonun göstergesi olan HBV DNA negatif (-) veya çok düşük (10^4 kopya/mL) bulunur. Akut HBV enfeksiyonu olan yetişkinlerin büyük bölümü hızla bu evreye girer. Kronik enfeksiyonu olan yeni doğanlar ile çocuk ve yetişkinlerin bazılarında HBeAg/anti HBe serokonversiyonu tamamlanmıştır ve hastalarda HBeAg (-), anti-HBe (+) bulunur (76).

3. Latent dönem / (İnaktif HbsAg taşıyıcılığı dönemi): İmmünohistokimyasal yöntemlerle hepatosit sitoplazmasında HBsAg bulunmasına karşın HBcAg bulunmaz. Transaminazlar önceki dönemden daha düşük hatta normal sınırlarda olabilir. Karaciğer biyopsilerinde nekroinflamatuvar aktivitenin azalmış olduğu görülür, ancak önceki dönemin uzunluğu ve şiddeti ile orantılı olmakla beraber genelde hafif fibrozis ile karşılaşılabilmektedir (77, 78).

4. Bağışıklık evresi: Bu evrede HbsAg tespit edilemez. HBV-DNA genellikle belirlenemez ve reaktivasyon beklenmez. HBV ile enfekte kronik hastaların yaklaşık %1'i her yıl bu evreye geçer (78, 79).

Şekil 2. Kronik Hepatit B’de doğal seyir.



2.6. HBV Serolojik ve Klinik Tanı

2.6.1. Serolojik tanı

Bu hastalığın tanısında geleneksel olarak HBV antijen ve antikorlarının serolojik yöntemlerle belirlenmesi kullanılmaktadır (37). Son yıllarda HBV DNA'nın moleküler yöntemlerle saptanması giderek yaygınlaşmaktadır. Bu yöntem viral replikasyonun en iyi şekilde gösterilmesi, serolojik göstergelerin doğrulanması, tanı ve tedavinin takibi ve mutant virüs enfeksiyonlarının neden olduğu karışıklıkların aydınlatılması açısından önemlidir (80).

HBV antijen ve antikorlarını saptamak üzere farklı duyarlılık ve özgüllükte serolojik testler geliştirilmiştir. Yaygın olarak kullanılan ve duyarlılık / özgüllüğü en yüksek olanlar RIA ve EIA'dır. Bu yöntemlerle kanda 0.25–0,5 ng/mL HBsAg ve 1 mIU/mL anti-HBs saptanabilir. Bu deneylerin çalışma prensibi sandviç veya kompetitif bağlanma temeline dayalıdır. Ayrıca gelişmiş laboratuvarlarda çoğu kez

araştırma ve/veya sağaltımın izlenmesi amacıyla yönelik olarak, insan serum ve dokularında HBV-DNA dot blot hibridizasyon, insan serumunda kantitatif HBV DNA sıvı faz hibridizasyon yöntemleri ile saptanabilmektedir. Yine insan serumunda HBV-DNA dallanmış-branched-DNA sinyal amplifikasyon yöntemi ile kantitatif olarak saptanabilmektedir. Son zamanlarda serumda HBV-DNA'yı kalitatif ve kantitatif olarak saptamaya yönelik çok duyarlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler sayesinde serumda 10 kopya HBV-DNA/ml saptanabilmekte ve de duyarlılık dot blot hibridizasyondan 100-1000 kez fazla olmaktadır (81, 82).

Hepatit B Enfeksiyonunun Klinik Görünümlerinde Seroloji:

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

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

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

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

5. Kronik Hepatit B'nin nonreplikatif fazı: Viral genom hepatosit DNA'sına integre olmuştur. Viral proteinlerin sentezi bu şekilde gerçekleşir, ancak serbest viral DNA bulunmaz (83,84).

2.6.2. HBV –DNA

Hepatit B'nin kronikleşme süreci hakkında daha açık bir fikre sahip olmak ve hepatit B tanısı ile ilgili çeşitli durumlarda HBV-DNA araştırılmaktadır. Bulguların ısrarlı olarak hepatit B'yi düşündürdüğü, ancak HBsAg negatif bulunan örneklerde HBV-

DNA bakılabilir. HBsAg negatif, anti-HBe pozitif olan, ancak ALT düzeyi yüksek seyreden olgularda HBV-DNA bakılabilir. İnterferon uygulanan hastalarda, tedaviye yanıtın izlenmesi ve doz ayarlaması amacıyla, HBV-DNA düzeyi bakılması gerekebilir.

HBV-DNA'nın pozitif bulunması, esas olarak aktif virüs ve replikasyon varlığı anlamına gelmektedir. Son dönemde, PCR gibi teknikler ile, replikatif fazdaki aktif ve kompleks DNA yerine yer yer çeşitli inaktif DNA parçacıklarının da ölçüme tabi tutulduğu ve bu nedenle, her HBV-DNA pozitifliğinin replikasyon anlamına gelmediği görüşü ileri sürülmektedir (85).

Son yıllarda HBV ile karşılaşan bazı hastalarda HBsAg' nin negatifleşmesine ve hatta anti-HBs ve anti-HBc oluşumuna rağmen hassas PCR teknikleri kullanılarak serum ve/veya karaciğerde HBV-DNA pozitifliğinin bulunduğu gösterilmiş ve bu durum gizli HBV enfeksiyonu olarak isimlendirilmiştir (86).

Gizli HBV enfeksiyonunun en sık beraber bulunduğu serolojik göstergenin tek başına anti-HBc pozitifliği olduğu bildirilmiştir. Gizli HBV enfeksiyonu tanısında PCR tekniğinin duyarlılığının düşük olması nedeniyle bazı çalışmalar gizli HBV enfeksiyonunun göstergesi olarak HBsAg negatifliği ile birlikte olan anti-HBc pozitifliğini almışlardır (87).

Tablo 4: HBV'ye Ait Serolojik Parametrelerin Yorumu

Serolojik Parametreler			Açıklamalar
HBsAg	anti-HBs	anti-HBc	
+	-	-	Akut HBV enfeksiyonunun erken dönemi. Nonözgün reaksiyon ekarte edilmeli.
+	+/-	-	Akut veya kronik HBV enfeksiyonu.
-	+	+	Geçirilmiş enfeksiyon.
-	-	+	Çok önce geçirilmiş enfeksiyon Düşük düzeyde HBV taşıyıcılığı Pencere dönemi Yalancı pozitiflik Nonözgün reaksiyon
-	+	-	Başka etiyoloji aranır
-	+	-	Aşı ile kazanılmış immünite

2.6.3. Laboratuvar

Kronik hepatit B’de alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve gamaglobulin orta derecede yükselmektedir. Serum bilirubin ve albümini ciddi hastalık dışında normaldir. Serum transaminazları karaciğerdeki hastalığın ciddiyetini tam olarak yansıtmaz. Ancak yaklaşık bir fikir vermesi açısından hafif şiddette < 100 IU, orta şiddette 100-400 IU, ağır şiddette > 400 IU olarak kullanılmaktadır (18, 86).

2.7. HBV Enfeksiyonunda Tedavi

2.7.1. Akut hepatit B tedavisi

Akut HBV enfeksiyonunda tedavi klinik seyir üzerine etki etmez ancak tüm ataklar mortalite riskini artırabileceği için genç ve sağlıklı kişiler dışında istirahat konusunda ısrar edilmelidir. Destek tedavisi uygulanır. Hepatik komaya gidiş dışında diyetle dikkat gereksizdir (64, 88).

2.7.2. Kronik hepatit B tedavisi

Kronik hepatit B enfeksiyonunun doğal seyrinin bireysel farklılık göstermesi bu hastalar için standardizasyonu engellemektedir. Siroz ve karaciğer kanseri gibi ciddi komplikasyonlarının erken tanınıp tedavi edilmesinin sağlanması için ömür boyu takip edilmeleri önerilir.

Kronik hepatit B tedavisinde antiviral ajanların kullanım amacı, HBV-DNA düzeyini düşürmek, siroz, karaciğer yetmezliği ve hepatoselüler kanser gelişimini önlemektir. ALT düzeyleri normal olan immün tolerans fazındaki veya inaktif taşıyıcı durumundaki hastaların tedavi almaları gereksizdir (89). HBV DNA’nın kaybolması, anti-HBe serokonversiyonu, karaciğer enzimlerinde normalleşme ve karaciğer biyopsisinde enflamasyonda azalma viral replikasyonun durması ile birlikte gerçekleşir (17, 88, 90).

Pratikte karşılaşılan önemli bir sorun antiviral tedavi için gerekli koşulları taşımayan kronik B hepatitli hastaların yanlış bilgilendirmeler neticesinde çeşitli tedavi arayışlarına yöneltilmeleridir. Gerek interferon tedavisi gerekse antiviral ajanlarla tedavi için hastanın taşıması gereken belli koşullar vardır:

1. HBsAg (+) olmalıdır,
2. ALT düzeyi normalin üst sınırını en az 1,5 kat artmalıdır,
3. HBV DNA (+) olmalıdır,
4. Karaciğer biyopsisinde kronik hepatit bulguları mevcut olmalıdır.

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

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

Kronik B hepatitinin tedavisinde amaç hepatit B virüsü (HBV) replikasyonunu baskılayarak karaciğerdeki nekroinflamasyonu azaltmak, dolayısı ile fibrogenesisini durdurup siroz ve kanser gibi komplikasyonların ortaya çıkmasını önlemektir. Bu amaca ulaşmanın bir yolu sınırlı bir süre kullanılan bir ilaç ile tam ve devamlı bir viral temizlenme sağlanıp hastalığın ilerlemesinin durdurulmasıdır. Bu hedef için en uygun ilaç olan IFN ile kalıcı virolojik cevap oranları ne yazık ki düşüktür. İkinci yol ise uzun süre ilaç kullanarak tam bir viral temizlenme sağlanamasa bile virüs replikasyonunu baskı altında tutmak ve böylece komplikasyonların gelişmesini önlemeye çalışmaktır. İlaçların kesilmesi ile reaktivasyonların sık görüldüğü nukleosid ve nukleotid analogları bu yol için daha uygundur. Fakat ilaçların çok uzun yıllar kullanılması zorunluluğu ve bu süre içinde direnç ve yan etki gelişme olasılığının artışı bu ikinci yolun önündeki engellerdir.

IFN'lar çeşitli hücrelerde bulunan reseptörlerine bağlanarak antiviral ve immünmodulator etkilerini başlatırlar. Makrofajlar, natural killer hücreler ve sitotoksik T hücrelerinin aktivitesini artırarak virüsle infekte olmuş hücrelerin eliminasyonunu sağlarlar. IFN'ların başlıca, anti-viral, immünomodulator ve antiproliferatif (anti-tumoral) etkileri vardır.

IFN'ların immün sisteme çeşitli etkileri vardır; hücrel immünite ve antikor sentezini düzenleme, antijenlerin ekspresyonu ve tanınmasını artırma, natural killer hücre aktivitesini artırma. IFN'ların belki de en önemli immünoregulator etkisi, hücre yüzeyindeki major histokompatibilite (MHC) antijenlerinin ekspresyonunu artırmasıdır.

IFN, hepatosit yüzeyinde MHC klas I moleküllerini artırarak infekte hepatositin yüzeyindeki virüs antijenlerinin sitotoksik T hücreleri tarafından tanınmasını ve infekte hepatositin yok edilmesini sağlar. IFN yokluğunda infekte hepatosit tanınmamakta ve dolayısıyla yok edilemediğinden enfeksiyon eradike edilememektedir. Yani bir nevi immüntolerans olmaktadır. HBV enfeksiyonunun kronikleşmesinden sorumlu mekanizmalar tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen, genetik ya da edinsel IFN üretiminde bir defekt olması en önemli nedenlerden biri olarak kabul edilmektedir. Gerçekten de HBsAg taşıyıcılarında, kronik HDV ve HCV hepatitlerinde endojen IFN üretim defekti tespit edilmiştir (6, 7).

Anti-HBV tedavilere farklı tip yanıtlar tanımlanmıştır. Virolojik yanıt diyebilmek için HBV DNA $<10^{3-4}$ olmalı; tedavinin en geç 12.haftasında, viral yükte bazale göre en az 1 log₁₀ kopya/ml azalma sağlanmalıdır. ALT normalleşmesi biyoşimik yanıt; inflamatuvar aktivite ve/veya fibrozis göstergelerinin gerilemesi histolojik yanıt olarak isimlendirilmektedir.

HBeAg pozitif hastalıkta, anti-HBe serokonversiyonu için, öncesinde viral yükün azalmış olması şarttır. Bağışıklık sisteminin kontrolünü gerektiren bu hadise, viral yanıtın kalıcılığı olasılığını artırır; karaciğer hastalığının progresyon riskini azaltır. Anti-HBe pozitif hastalıkta ise bağışıklık sisteminin kontrolünü yansıtan böyle bir gösterge hali hazırda bilinmemektedir.

Nukleozid analogları, sellüler DNA polimerazlara bağlanmak için doğal substratlar ile yarışan, yeni yapılmakta olan DNA'ya bağlandıklarında ise DNA zincir sentezini durdurup viral replikasyonu susturan bileşiklerdir (DNA polimeraz inhibitörleri). Çoğu nukleozid analogları sitoplazmada bulunan enzimler tarafından nukleozid 5'-trifosfatlara fosforillenir; ardından virüs-özgün polimerazlar ile etkileşir. Her bir nukleozid analogu kendine özgü metabolik ve farmakolojik özellikleri ile etki, etkinlik ve toksisite açısından farklılık gösterir (91-105).

HBeAg pozitif olan PEG-IFN-2b + Lamivudin tedavisi alan hastalarda intrahepatik CD8⁺ T lenfosit araştırılmış ve ince iğne aspirasyon biyopsi örneklerinde periferik kan örneklerine göre CD8⁺ T lenfositler ve CD56⁺ doğal öldürücü hücreler yüksek, CD4⁺ T lenfositler ise düşük bulunmuştur. Sonuçlar antiviral etkide hem sitolitik hem de sitolitik olmayan mekanizmaların rol oynadığını ortaya koymuştur. Adefovir dipivoksil tedavisi ile yapılan kontrollü, çok merkezli bir diğer araştırmada da Adefovirin HBV-DNA baskılanma derecesiyle ilişkili olarak T hücre aktivitesini artırdığı gözlenmiştir (8, 9).

Mevcut tedavi stratejileriyle tam HBV-DNA baskılanması her zaman sağlanamamaktadır. Nükleotid/ nükleozid monoterapilerinde ise, uzun süren tedavilerde ilaca direnç gelişimi sorun olarak devam etmektedir. Günümüzde nükleozid analogları olarak Lamivudin, telbivudin ve Entekavir, nükleotid analogu olarak da Adefovir dipivoksil (ADV) HBV enfeksiyonu tedavisinde son 10 yıl içinde kullanım onayı almıştır. Birçok yeni ilaç ise (emtrisitabin, klevudin, valtorsitabin, amdoksovir, ANA380, prAdefovir, alamifovir) araştırma aşamasında bulunmaktadır (106).

HBV tedavisinde daha önceden kabul edilmiş üç oral antiviral ilaç (ADV ve nükleozid olan Lamivudin ve Entekavir) serum HBV-DNA düzeyinde önemli azalmalara neden olurken, HBsAg serokonversiyonu son derece nadir olarak gerçekleşmekte ve hastalığı kontrol altına alabilmek için uzun süre kullanımları gerekmektedir. Uzun süreli tedavinin getirdiği iki önemli sorun ise ilacın kullanım güvenliğinin yüksek olma zorunluluğu ve dirençli HBV suşlarının ortaya çıkmasıdır. Lamivudin bu açıdan bakıldığında yan etki profili açısından son derece iyi tolere edilen bir ilaç olmasına karşın, monoterapide bir yıllık kullanım sonunda yaklaşık %20 olan direnç gelişimi sorun teşkil etmektedir. Buna karşın ADV ve Entekavir ile olan klinik çalışmalarda ise direnç gelişme olasılığının düşük oranda olması avantaj olarak görülmektedir. ADV bunlara ek olarak, Lamivudine dirençli mutantlara da klinik etkinlik göstermektedir. Ancak Adefovir kullanımında rtN236T mutasyonu ve daha az olarak da, rtA181V mutasyonu yoluyla direnç gelişebilmektedir. Entekavir ise Lamivudine dirençli HBV mutantlarında daha düşük etkinlik göstermektedir. Klinik uygulamada, Entekavire karşı gelişen direnç mutasyonları (rtI169T, rtT184S/G, rtS202I ve rtM250V) şeklindedir (107).

Mevcut antivirallere karşı ortaya çıkan direnç sorunları nedeniyle hepatit B tedavisinde yeni tedavi seçenekleri ve yeni tedavi modellerine gereksinim bulunmaktadır. Bu çalışmada hepatit B tedavisinde yeni bir seçenek olan tenofovir tartışılacaktır.

Hepatit B tedavisinde ilk denenen DNA polimeraz inhibitörleri adenin arabinosid (Ara-A) ve aköz monofosfat türevi (Ara-AMP) dir. Her ikisi de sınırlı etkileri ve nöromuskuler toksisiteleri sebebi ile tedavide kendilerine uzun süreli yer bulamamışlardır.

Gerek asiklovir, gerekse de daha iyi emilen prodrogu 6-deoksiasiklovir, HBV'e etkili değildir. Gansiklovir ve PO verilebilen famsiklovir ise minimal etkilidir.

Dideoksinukleozidler (DDI vs.) ördek hepatit B virüsüne etkili oldukları halde insanda etkili değildir.

Ribavirin, HBV replikasyonunun zayıf bir inhibitörüdür.

Timidin analogu, florillenmiş urasil-fialuridin- (FIAU), HBV'e etkili olduğu halde, 1 aydan daha uzun süreli tedavide lethal toksik etkiye sahiptir (91-105).

Lamivudin: Sitozin analogudur. Monofosfat formu HBV DNA'ya eklendiğinde zincir sentezi sonlanır. HBV DNA titresini 4,4 log₁₀ azaltır. İnterferondan farklı olarak, Lamivudin tedavisi sırasında HBV DNA ve ALT azalmaları nispeten eş zamanlıdır; sirotik hastalarda rahatlıkla kullanılabilir. HBV tedavisinde önerilen doz PO 100 mg/gün'dur. Pediatrik hastalarda (2-17 yaş) 3mg/kg/gün(maksimum 100mg/gün) tek doz halinde verilir. Aç veya tok karnına alınabilir. Böbrek yetersizliği durumunda doz modifiye edilmelidir:

Clcr 30-49 mL/dakika: İlk doz 100 mg/gün; daha sonra 50 mg/gün.

Clcr 15-29 mL/dakika: İlk doz 100 mg/gün; daha sonra 25 mg/gün.

Clcr 5-14 mL/dakika: İlk doz 35 mg/gün; daha sonra 15 mg/gün.

Clcr <5 mL/dakika: İlk doz 35 mg/gün; daha sonra 10 mg/gün.

4-saat süreli periton diyalizi veya hemodiyaliz diyaliz sırasında uzaklaştırılan miktarlar ihmal edilebilir miktarlarda olduğundan, diyaliz hastalarında ilave doz gerekmez.

HBeAg pozitif hastalarda Anti-HBe serokonversiyonu; 3.ayda %10-15; 12.ayda %15-20; 18.ayda %20; 36.ayda %40'dır. Serokonversiyon, hastaların 2/3'ünde kalıcıdır; bu hastaların bir kısmında zaman içerisinde HBsAg'de

negatifleşebilir. HBeAg negatif kronik HBV hepatitinde HBV DNA ve ALT yanıtı, HBeAg pozitif hastalıkla aynıdır. Ancak tedavi kesildiğinde hastaların büyük çoğunluğunda nüks söz konusudur. Tedaviye devam edilmesi ise Lamivudine direnç gelişmesi riski taşır. Lamivudin direncine yol açan mutasyonlar, genellikle revers transkriptazın C bölgesinde yer alan YMDD motifindedir. M204V veya M204I mutasyonları, C bölgesinde kompensatuvar mutasyonlar (V173L,L180M) ile bir arada olabilir. YMDD varyantların oranı 1.yılda %15-25, 2.yılda %35-40, iken, 4.yılda %70'e erişir. YMDD varyantlar HBV DNA ve ALT artışı, histolojik düzelmenin bozulması ile bir aradadır. Dolayısı ile tedavinin 1.yılında ALT normalliği %96 iken, direnç gelişimine paralel olarak 2.yılda %60'a kadar geriler.

Lamivudin şu ana kadar, en emniyetli nukleozid analogu olmasına karşılık, yanıt kaybı ve histolojik progresyonla neticelenen direnç gelişimi en önemli sorundur. Lamivudin dirençli mutantlar Adefovir ve tenofovire duyarlıdır. Entekavire ise duyarlılık azalmakla birlikte devam eder. Lamivudin direnci Entekavire direnç gelişimini de kolaylaştırır.

Dikkat edilmesi gereken hususlar; Hastalar, özellikle tedavinin 9–12.ayından sonra, direnç gelişmesi riski sebebi ile, 3-6 aylık aralar ile, kantitatif HBV DNA ve karaciğer testleri ile takip edilmelidir. HCC tarama testleri (USG, AFP) tedavi altında iken de sürdürülmelidir. Böbrek yetersizliğinin derecesine paralel olarak doz azaltılmalıdır. Pankreatit öyküsü veya riski olan çocuklarda dikkatli kullanılmalıdır. HIV pozitif hastalarda tek başına kullanıldığında hızla HIV direnci gelişebilir. HIV hastalarında HIV enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan dozlarda verilmelidir. Fatal olabilen steatoza bağlı hepatomegali ve laktik asidoz bildirilmiştir. Gebelik, obesite, ve/veya uzun süreli tedavi riski arttırabilir

Gebelik risk faktörü C' dir. Lamivudin plasentayı geçer.

Aşırı dozda alındığında ciddi bir semptom veya bulgu ile karşılaşılmamıştır. Antidodu yoktur. 4 saatlik hemodiyaliz ile uzaklaştırılan miktar minimaldir. Devamlı 24 saat süreli diyalizin etkinliği ise bilinmemektedir (91-105).

Adefovir dipivoksil: Antiretroviral, revers transkriptaz inhibitörü (nukleosid)'dur. Adenosin monofosfatın fosfanat nukleotid analogu olan Adefovirin, PO etkili prodrugudur. Bağırsaklarda hızla aktif metabolit olan Adefovire çevrilir.

Yarılanma süresi 7,5 saat olup böbrek yetersizliğinde uzar. Atılım idrar yolu iledir (%45'i 24 saat içerisinde aktif metabolit olarak).

HBV DNA titresini 3-4 log₁₀ azaltır. HIV tedavisi için gerekli dozlarda nefrotoksiktir. HBV tedavisinde ise daha düşük dozlarda kullanıldığı için, böyle bir etki minimaldir. Lamivudin ve Entekavire dirençli suşlara da etkilidir. Etkinliğinin daha az olmasına karşılık, direnç gelişme hızı Lamivudinden yavaştır (%2). Direnç gelişiminden sorumlu N236T ve A181V olmak üzere 2 mutasyon tanımlanmıştır.

Erişkin dozu 10 mg:/gün'dur. Alınış şekli aç-tok fark etmez. Pediatrik emniyetli doz bilinmemektedir. Karaciğer yetmezliğinde doz ayarlaması gerekmez. Kreatinin klirensi<50ml/dk ise doz ayarlaması gerekir. Böbrek yetersizliğinde doz modifiye edilmelidir. Karaciğer yetmezliğinde doz ayarlaması gerekmez. Kreatinin klirensi <50ml/dak ise doz ayarlaması gerekir. Böbrek yetersizliğinde doz:

Clcr 20-49 mL/dakika: 10 mg/ 48 saatte bir

Clcr 10-19 mL/minute: 10 mg/ 72 saatte bir

Hemodiyaliz: 10 mg/ 7 günde bir (diyalizin ardından)

Dikkatli olunması gereken hususlar; Lamivudin direnci sebebi ile Lamivudinden Adefovire geçerken, akut alevlenmeyi engellemek için, 3 ay süre ile her iki ilacın bir arada kullanılması ve ardından Lamivudinin kesilmesi önerilmektedir. Kronik kullanımda nefrotoksisite ortaya çıkabilir. Nukleosid analogları ile tedavi sırasında ciddi steatoz ve hepatomegali (kimi kez fatal) bildirilmiştir. Kadın cinsiyeti, obesite ve uzamış tedavi hepatotoksisite riskini arttırabilir. Laktik asidoz ve/veya hepatotoksisite gelişen hastalarda tedavi sonlandırılmalıdır. Tedavi kesildiğinde %25'e varan oranlarda, genellikle ilk 12 hafta içerisinde akut hepatik atak görülebilir. HIV enfeksiyonu ve immünsupresyon tedaviye direnç gelişimini kolaylaştırabilir. Adefovirin HBV bulaş riskini azalttığına dair bir veri yoktur.

Gebelik risk faktörü C' dir.

Tedaviye başlamadan önce HIV durumu; serum kreatinini bakılmalıdır. Direnç gelişme hızı daha yavaş olduğundan, özellikle tedavinin ilk 2-3 yılında HBV DNA kantitatif tayin ve karaciğer testleri ile takip araları daha seyrek tutulabilir.

Akut aşırı doz alımı ile ilgili veriler kısıtlıdır. Kronik aşırı doz kullanımı renal toksisite ve gastrointestinal yan etkilere yol açabilir. Adefovir hemodiyaliz ile uzaklaştırılabilir (10 mg dozun %35'i 4 saat içerisinde uzaklaştırılır) (91-105).

Entekavir: Antiretroviral, revers transkriptaz inhibitörü (nukleosid), siklopentil guanosin analogudur. Lamivudin ve Adefovirden farklı olarak selektif HBV inhibitörüdür; HIV ve diğer DNA virüslerine etkili değildir. HBV DNA titresini 4,6 log₁₀ azaltır. Lamivudinden 30 kat daha etkilidir. Biyoyararlanımı çok iyidir. Ancak bu grupta doz daha yüksek tutulmalıdır ve direnç gelişme olasılığı daha yüksektir. Adefovir dirençli suşlar (N236T polimeraz mutant) ile enfeksiyonda ise normal dozunda kullanılır. 0,5 mg ve 1 mg tablet formları vardır. Gıdalar emilimini geciktirir ve AUC %20 oranında azalır. Dolayısı ile yemeklerden 2 saat önce veya 2 saat sonra, aç karnına alınmalıdır. Oral solüsyon su veya diğer içecekler ile karıştırılmamalıdır. Erişkin dozu, daha önceden nukleosid analogu tedavisi almamış olgularda 0.5 mg/gün; Lamivudin-dirençli viremide 1 mg/ gündür. Adolesan 16 yaş olgularda doz, erişkin dozudur. Atılımı idrar yolu ile olduğundan (%60-70'i değiştirilmeden atılır) Clcr<50 ml/dak ise (hemodiyaliz:/CAPD dahil) doz ayarlanmalıdır.

Clcr 30-49 mL/dak: Normal dozun %50'i

Clcr 10-29 mL/dak: Normal dozun %30'u

Clcr <10 mL/dak (diyaliz dahil):Normal dozun %10'u hemodiyalizden sonra verilir.

Dikkat edilmesi gereken hususlar; Fatal olabilen, yağlanmaya bağlı hepatomegali ve laktik asidoz olguları bildirilmiştir. Tedavi kesildiğinde ciddi alevlenme görülebilir. Bu açıdan karaciğer testleri birkaç ay süre ile takip edilmeli, gereğinde tedavi yeniden başlanmalıdır. De novo veya iyatrojenik renal disfonksiyonu olana hastalarda renal fonksiyonlar takip edilmeli, gereğinde doz ayarlamaları yapılmalıdır. Lamivudin direnci gelişmiş hastalarda çapraz direnç söz konusu olabilir. HIV tip 1'e etkisizidir. Pediatrik hastalar ve karaciğer transplantasyonu hastaları için henüz yeterli veri yoktur.

Gebelik risk faktörü C'dir

Tek kez de 40 mg'a kadar veya birkaç kez de 20 mg/ gün –14 gün süre ile kullanım bildiren olgu bildirimlerinde ciddi bir yan etki görülmemiştir. Tedavi semptomlara yönelik destek tedavisidir. Hemodiyaliz (4 saat süreli) verilen dozun yaklaşık %13'ünü uzaklaştırır (91-105).

Tenofovir isoproksil fumarat: Tenofovir bir asiklik fosfonat nükleotid analogu olup, yapısal olarak Adefovire benzemektedir. Geniş spektrumlu bir antiviral ilaçtır. Tenofovir retrovirüsler ve hepadnavirüslere seçici etkinlik göstermektedir. HBV ile monoinfekte ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV)/HBV koinfekte hastalarda etkilidir.

Bir ön ilaç olan tenofovir disoproksil fumarat (TDF) HIV tedavisinde 2001 yılında kullanım onayı almıştır. Yaklaşık olarak 1.3 milyon HIV'lı hastada güvenli kullanımı söz konusudur. Hepatit B tedavisinde ise 2008 yılında kullanım onayı almış olup, asiklik yapısı nedeniyle hem vahşi tip HBV polimeraza hem de mutant polimerazlara etkilidir. Tenofovirin direnç gelişimine karşı yüksek genetik bariyer içeriyor olmasının yanı sıra antiviral etkinliğinin güçlü olması hepatit B tedavisinde umut veren tedavi seçeneği olarak görülmesine neden olmaktadır (107).

HIV enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan bir nükleotid (adenosin 5' monofosfat) analogudur. Hücre içerisinde tenofovire hidrolize olduktan sonra aktif tenofovir difosfata fosforillenir. HIV enfeksiyonunun tedavisinde en az 2 ilave antiretroviral ile kombine edilerek kullanılmalıdır. HIV enfeksiyonlu kronik B hepatitli hastalarda, Lamivudin dirençli hastalar dahil HBV DNA düzeyini anlamlı olarak azalttığına görülmesi üzerine çalışmalar başlatılmıştır. HBV DNA titresini 6,6 log₁₀ azaltır. HIV enfeksiyonunun tedavisinde PO dozu 300 mg/gün'dür. 245 mg Tenofovir disoproksil'e eşdeğer, 300 mg disoproksil fumarat tabletleri halinde bulunur. Aç veya tok karnına alınabilir. Karaciğer yetmezliğinde doz ayarlaması gerekmez. %70-80'i, değişmeden filtrasyon ve aktif sekresyon ile böbrekler aracılığı ile atılır; dolayısı ile Cl_{cr} <50 ml/dak ise (hemodiyaliz/CAPD dahil) doz ayarlanmalıdır.

Cl_{cr} 30-49 mL/dakika: 300 mg –48 saatte bir

Cl_{cr} 10-29 mL/dakika: 300 mg –haftada 2 kez

Cl_{cr} <10 mL/dakika- hemodiyalize girmeyen hastalar: Yeterli veri bulunmamaktadır.

Hemodiyaliz: 300 mg- 7 günde bir veya total 12 saat diyaliz sonrası (haftada 3 kez, 4 saat süreli diyaliz varlığında haftada bir) tek doz.

Kronik hepatit B enfeksiyonlarında ulaşılacak istenen ideal iyileşme noktası HBsAg serokonversiyonudur. Spontan HBsAg serokonversiyonu KHB olgularında %1/yıl oranında gerçekleşmektedir. Bu nedenle hepatit B tedavisinde kullanılan

ilaçların HBsAg serokonversiyonunda artış sağlayabilmesi ilaçla ilgili önemli bir başka avantaj olarak görülmektedir. Heathcote ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TDF kullanılan hastaların 15 (%6)'inde HBsAg kaybı, 11'inde anti-HBs gelişimi tedavinin 96. haftasında gözlenen sonuçlardır (108).

Tablo 5: Tenofovirin Farmakokinetik Özellikleri

• Biyoyararlanım	%25
• Proteinlere bağlanma	< %1
• Metabolizma	?
• Yarılanma ömrü	17 saat
• Atılım	İdrar
• Gebelik kategorisi	B
• Uygulama yolu	Oral

Dikkatli olunması gereken hususlar; Nukleosid analogları ile fatal hepatosteatoz ve laktik asidoz bildirilmiştir. Tabloya transaminazlarda artış eşlik etmeyebilir. Gebelik, obesite ve/veya uzun süreli tedavi riski arttırabilir. HIV enfekte hastalarda sessiz giden oportunistik enfeksiyonlara karşı inflamatuvar yanıt ile neticelenen immün rekonstitusyon sendromu gelişebilir. Böbrek yetersizliğinde doz ayarlaması yapılmalıdır. Akut böbrek yetmezliğine veya Fanconi sendromuna yol açabilir. Özellikle aktif tubuler sekresyon için yarışanlar başta olmak üzere, diğer nefrotoksik ilaçlar ile kullanılırken; zayıflarda; kan tenofovir düzeyini arttıran ilaçlar ile bir arada kullanımda; karaciğer yetmezliğinde dikkatli olunmalıdır. Osteomalasiye yol açabilir; serum PTH, 1,25 D vitamini düzeyleri artabilir. Kemik yoğunluğunda %5-7 oranında azalma saptanabilir. Osteopeni riski taşıyan hastalarda periyodik kemik yoğunluğu ölçümleri yapılmalı; kalsiyum ve D vitamini ilave edilmelidir. Hastalara devam eden bulantı, kusma; karın ağrısı; ellerde, ayaklarda uyuşukluk, keçelenme, ağrı; deri döküntüsü, kaslarda güçsüzlük, tremor varlığında derhal hekime başvurmaları öğretilmelidir.

Zayıf CYP1A2 inhibitörüdür. Antiviral ilaçlar (örn. Asiklovir, gansiklovir): Renal tubuler sekresyon için yarışarak serum tenofovir düzeyini arttırabilir.

Atazanavir: Tenofovir atazanavirin serum düzeyini azaltarak yanıt kaybına veya direnç gelişimine yol açabilir.

Didanosin: Tenofovir ile bir arada kullanımda didanosine ve aktif metabolitine maruz kalma, dolayısı ile de pankreatit, hiperglisemi, periferik nöropati,

laktik asidoz riski artar. HIV enfeksiyonunda virolojik yanıtta ve CD4⁺ sayısında azalma görülebilir.

Nefrotoksik ajanlar: Tenofovirin atılımını yavaşlatabilir.

Proteaz inhibitörleri: Tenofovir proteaz inhibitörlerinin serum düzeyini azaltabilir; proteaz inhibitörleri ise (özellikle ritonavir) tenofovirin serum düzeylerini arttırabilir.

Gebelik risk faktörü—B: Gebelerde kontrollü çalışma yoktur. Hayvan çalışmalarında fetusda gelişme geriliği, kemik yoğunluğunda azalma görülmüştür. Çocuklarda kronik kullanımda kemik demineralizasyonuna yol açmaktadır. Nukleosid analogları kullanan gebelerde laktik asidoz/ hepatik steatoz sendromu bildirilmiştir. Özellikle 3.trimesterde karaciğer enzimleri ve elektrolitler yakından takip edilmelidir.

Emzirme- Süte geçişi ile ilgili yeterince çalışma yoktur. Kontrendikedir.

Aşırı doz alımı/ toksikoloji: Akut aşırı doz alımı ile ilgili veriler kısıtlıdır. Hemodiyaliz ile uzaklaştırılabilir (300 mg dozun %10'u 4 saat içerisinde uzaklaştırılır) (91-105).

Emtrisitabin (FTC): Sitozin analogudur. Yapısı Lamivudine (3TC) benzer. HIV ve HBV üzerine etkilidir. HBV DNA titresini 3 log₁₀ azaltır. Optimum doz 200 mg'dır. HBV DNA kaybı, HBeAg serokonversiyon oranları, histolojik düzelme ve YMDD mutasyon gelişme hızı açısından Lamivudinden farklı bulunmamıştır. Dolayısı ile kronik HBV hepatit tedavisinde monoterapi olarak rolü sınırlıdır. Kombinasyon tedavisi olarak ise araştırmalar devam etmektedir.

Klevudin (L-FMAU, 2'-fluoro-5-metil-beta-L-arabinofuranosil urasil): Selektif HBV inhibitörü pirimidin analogudur. Tedavi sonlandırılmasına rağmen HBV supresif etki 6 aya kadar devam edebilir. 30 mg dozda çalışmalar devam etmektedir.

Val-d-sitozin (LdC), L-deoksitimidin (telbivudin-LdT) ve valtorsitabin: Selektif HBV inhibitörü L-nukleozid analoglarıdır. b-L nukleozidler içerisinde yer alırlar. "Woodchuck" modelinde bu grupta yer alan ilaçların (LdC, LdT...) kombinasyonları additif, hatta sinerjistik etkilidir. Lamivudine dirençli suşlara etkinlikleri yoktur. Ancak telbivudin 600mg/gün dozda Lamivudinden daha etkili olabilir. Valtorsitabin, LdC'nin PO iyi emilen prodrugudur. Optimum dozu 900 mg/gündür. Çalışmalar devam etmektedir.

Alamifovir: Alamifovir, en az 3 metaboliti anti-HBV etkili nukleotid prodrogudur. İlk araştırmalar emniyetli ve etkili olduğunu gstermiştir. alışmalar devam etmektedir.

PrAdefovir, remofovir: PrAdefovir, hepatosit içerisinde P4503A4 tarafından parçalanan, PMEA (Adefovir dipivoksilin aktif metaboliti) prodrogudur. Amaç, aktif maddeyi karaciğerde konsantre ederek, Adefovirin etkinliğini arttırmak, yan etkilerini azaltmaktadır. İlk alışmalar bu amaca erişilebileceğini desteklemektedir (91-105).

Tablo 6: Kronik Hepatit B'nin nerilen Tedavisi (108)

HB Ag	HBV-DNA	ALT	nerilen tedavi yaklaşımı
+	>20.000IU/mL	≤2xNÜS (normalin st sınırı)	Güncel tedavi etkisi düşüktür. İzle, ALT düzeye yükseldiğinde tedavi için değerlendir. Karaciğer hastalığının aile öyküsü var veya kişi 40 yaşın üstünde ve kalıcı 1-2 kat yüksek ALT düzeyleri var ise karaciğer biyopsisi için değerlendir. Biyopsi belirgin fibroz veya orta/şiddetli inflamasyon gsteriyor ise tedavi için değerlendir.
+	>20.000IU/mL	>2xNÜS	3-6 ay izle, spontan HBeAg kaybı yok ise tedavi başla. Kompanse ise tedaviden önce karaciğer biyopsisi için değerlendir. Klinik dekompanse veya sarılık var ise acil tedavi başla. Başlangi tedavisi için IFN/pegIFN Lamivudin, Adefovir, Entekavir veya telbivudin kullanılabilir (ilaç rezistans oranının yüksekliliği nedeniyle Lamivudin ve telbivudin tercih edilmez). Tedavinin son noktası HBeAg serokonversiyonudur. Tedavi süresi IFN için 16 hafta, peg IFN için 48 hafta, Lamivudin, Adefovir ,Entekavir ve telbivudin icin en az 1 yıl önerilmektedir (HBeAg serokonversiyonundan sonra 6 ay devam edilmelidir). IFN'ya cevapsız veya kontrendike ise Adefovir veya Entekavir ile IFN değiştirilebilir.
-	>20.000IU/mL	>2xNÜS	Başlangi tedavisi için IFN/peg IFN, Lamivudin,Adefovir, Entekavir veya telbivudin kullanılabilir (ilaç rezistans oranının yüksekliliği nedeniyle Lamivudin ve telbivudin tercih edilmez). Tedavi son noktası belirsizdir. Tedavi süresi IFN/peg IFN için 1 yıl, Lamivudin, Adefovir, Entekavir ve telbivudin için 1 yıldan fazla önerilmektedir. IFN'ya cevapsız veya kontrendike ise Adefovir veya Entekavir ile IFN değiştirilebilir.
-	>2.000 IU/mL	>2xNÜS	Karaciğer biyopsisi için değerlendir, biyopsi belirgin fibroz veya orta/şiddetli inflamasyon gsteriyor ise tedavi için değerlendir.
-	≤2.000 IU/mL	≤ NÜS	İzle, HBV-DNA veya ALT yükselirse tedavi et.
+/-	Saptanabilir	siroz	Kompense: HBV-DNA > 2.000 IU/mL ise Lamivudin, Adefovir, Entekavir veya telbivudin ile tedaviye başlanabilir (ilaç rezistans oranının yüksekliliği nedeniyle Lamivudin ve telbivudin tercih edilmez). HBV-DNA < 2.000 IU/mL ise ALT yükselince tedavi için değerlendir. Dekompense: Lamivudin + Adefovir veya Entekavir nerilir. Karaciğer transplantasyonu için değerlendirilmelidir.
+/-	Saptanamaz	siroz	Kompense ise izle. Dekompense ise karaciğer transplantasyonu için sevk et.

Tablo 7: Kronik Hepatit B Tedavisinde Kullanılan İlaçların Özellikleri (109).

Kullanım şekli İlk seçenek	PEG-IFN HBeAg+ HBeAg-		Lamivudin HBeAg+ HBeAg-		Adefovir HBeAg+ HBeAg-		Entekavir HBeAg+ HBeAg-		Tenofovir HBeAg+ HBeAg-	
	Subkütan +		Oral -		Oral -		Oral +		Oral +	
HBV DNA düzeyinde azalma(bir yıl sonunda)Log düşüşü	2,4	2,3	5,4	4,2	3,6	3,9	6,9	5	6,2	4,6
HBV DNA negatifleşmesi(%)	25	63	39	72	21	51	67	90	80	95
HBeAg serokonversiyonu (%)	30	-	22	-	12	-	21	-	21	-
HBsAg serokonversiyonu (%)	3-4	3	1	0	0	0	2	0	3	0
ALT normalleşmesi (%)	39	38	66	74	48	72	68	78	69	77
Histolojik düzelme (%)	38	48	49	63	53	64	72	70	74	72

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Dahil Edilen Hastalar

Çalışmaya Kasım 2008 ile Ekim 2010 arasında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ve/veya Gastroenteroloji polikliniğine başvuran, klinik ve laboratuvar değerlendirilmesi sonucu kronik hepatit B tanısı konulup tedavi endikasyonu olan naif gönüllü olan 15 hasta (6 erkek, 9 kadın, 28-68 yaş arası) çalışmaya katıldı. Hastalar 48 hafta süre ile günlük doz 245 mg olarak tenofovir aldı. 1., 3., 6., 12., ay sonrasında klinik, biyokimyasal, immünolojik ve viral parametrelerin bazal değerleri belirlendi. Bütün hastalarda en az son 12 en azından 2 farklı zamanda yapılan testlerde $10^{3*}10^2$ kopyadan fazla viral yük bulunuyordu, tedavi öncesi 12 ay boyunca en azından 3 ay farklı olarak aminotransferaz seviyelerinin normal sınırından 2 kat fazla ve kronik hepatit kayıt edilmeden önce karaciğer biyopsisi alınmıştı. Serum HBV DNA yükü PCR ile ve periferik T hücre subgrupları CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK hücreler ve CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NKT hücrelerin düzeyleri flow sitometri ile ölçüldü. Tedavi öncesi 1 yıl içinde immünsüpresif veya antiviral tedavi alan hastalar, aynı zamanda HCV, HDV, HIV enfeksiyonları, karaciğer sirozu, HBV dışında diğer karaciğer hastalıkları olan, hamilelik, malignite, kronik renal yetmezlik veya bunlarla karışabilen diğer ciddi medikal hastalıklar çalışma dışı bırakıldı.

3.2. HBV DNA'nın Kantitatif Tespiti

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

3.3. Periferik Lenfositler, NK, NKT'nin Flowsitometri ile Analizi

Periferik kan lenfosit fenotipleri Beckman Coulter tarafından önerilen immünoflurans prosedürünü izleyerek analiz edildi. Kısaca, PE ve PC5 oda sıcaklığında 15 dakika karanlıkta fare anti-insan monoklonal antikorlar etiketli periferik kan örnekleri 10

mikrolitre FITC ile inkübe edildi. Eritrositler üreticinin talimatlarına göre Coulter TQ muhafaza İmmünoPrep (Beckman Coulter, Miami, FL, USA) solüsyonlarında eritildi. Her analiz için 30000 hücre toplandı ve 488 nm Argon iyon lazer ile donatılmış Beckman Coulter Cytomics FC500 beş renkli flow sitometri kullanıldı. CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD16 56⁺, izotopik kontrollerin belirli için fare anti-insan monoklonal antikorlar, Beckman Coulter (İmmünotech, Marsilya Fransa). Kaluza (sürüm 1,0) sitometresi analizi yazılımı (Beckman Coulter, Miami, FL, ABD) lenfositlerin fenotipik analizi değerlendirmek için kullanıldı.

3.4. Seroloji ve Karaciğer Fonksiyon Testleri

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

3.5. İstatistiksel Analiz

Tanımlayıcı istatistikler, yaş, cinsiyet, HBV viral yükün serum seviyesi, T lenfosit alt grupları, ALT, AST incelemek için kullanıldı.

Tüm hastalardan elde edilen veriler istatistiksel değerlendirme için önceden hazırlanmış olan bilgi formlarına aktarıldı. Bu bilgilerin analizinde SPSS for Windows 18,0 paket programı kullanıldı. Çalışmadaki ölçüm değişkenleri ortalama, medyan, standart sapma, minimum ve maksimum değerleriyle birlikte verildi. Çalışmada ilgilenilen değişkenlerin zaman içindeki değişimleri incelemek için Wilcoxon testi kullanıldı. Çalışmada p değeri 0.05 in altında bulunan karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

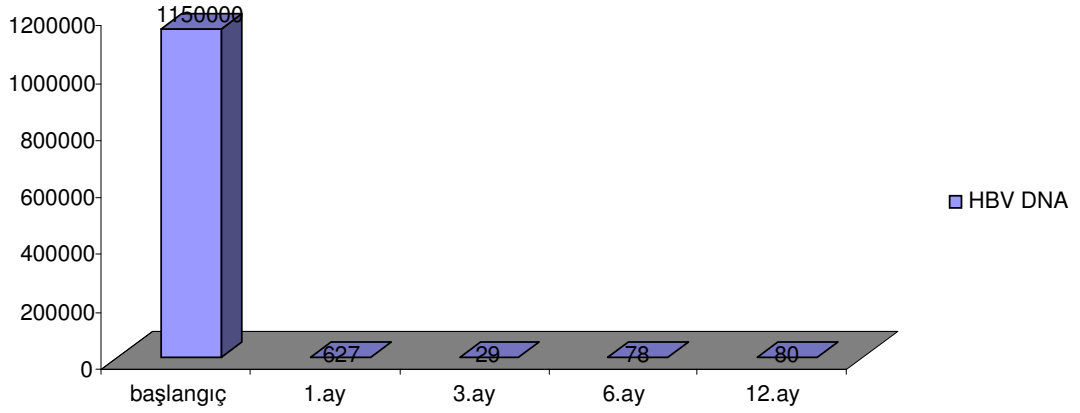
15 naif hasta, bu çalışmada kaydedildi. Hastaların karakteristikleri Tablo 8 de özetlendi. Kronik HBV enfeksiyonu olan erişkinlerden kadınlar çoğunluktaydı. Kadın hastaların ortalama yaşları $48,8 \pm 14$ ve erkeklerin yaş ortalaması $50,3 \pm 9,2$ olarak belirlendi. Hastaların % 40'ı 10^7 kopya/ml üzerinde HBV DNA serum seviyelerine sahipti. Hastaların %53'ü (8/15) Evre 2 fibrozisli, %20'si (3/15) Evre 3 fibrozisli ve %26'sı (4/15) Evre 4-5 fibrozisliydi. Hastaların %20'si (3/15) HBe Ag pozitifliği mevcuttu. Hiçbir hasta çalışmayı terk etmedi ve hepsi 48 haftalık tedaviyi tamamladı

Tablo 8:Hastaların Karakteristik Özellikleri

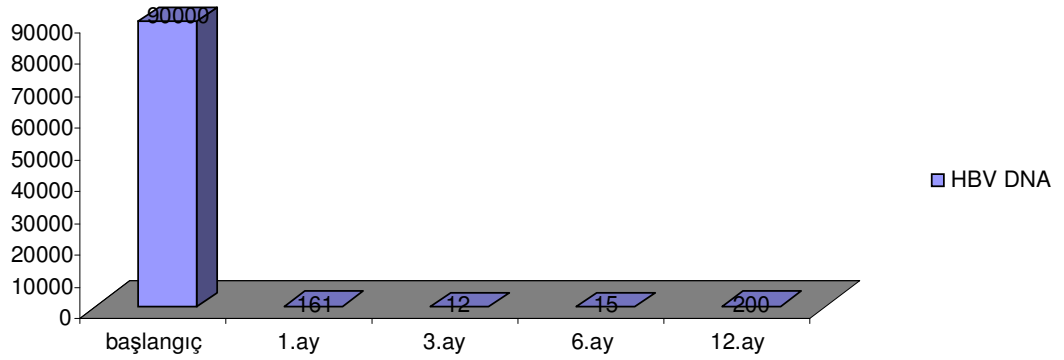
Karakteristik Özellikler	Hastalar (n=15)
Cinsiyet (erkek/kadın)	6/9
Yaş Ortalamaları	
Erkek	$50,3 \pm 9,2$
Kadın	$48,8 \pm 14$
Serum ALT düzeyi	93.2 ± 56
Serum AST düzeyi	$67.5 \pm 36,7$
Serum HBV DNA	
10^7 kopya/ml üstünde	%40 (6/15)
10^7 kopya/ml altında	%60 (9/15)
Histopatolojik Evre	
Evre 2 Fibrozis	%53 (8/15)
Evre 3 Fibrozis	%20 (3/15)
Evre 4-5 Fibrozis	%26(4/15)
Hbe Ag pozitifliği	%20 (3/15)

Hastalarından 12'si (%80) terapinin altıncı ayı sonrasında ölçülemeyen HBV DNA seviyelerine sahipti ki tüm bu hastalarda bir yıl tedavi sonunda negatif kaldı. 6 aylık tenofovir tedavisi sonrasında HBV DNA seviyesi negatif iken, 3 hastada (%20) kompians problemleri yüzünden HBV DNA seviyelerinde artış gelişti. Erkek ve kadın hastaların 12 aylık tedavi süresince HBV DNA değişimleri sırası ile Şekil 3 ve 4 de verilmiştir.

Şekil 3. Tenofovir tedavisi alan erkeklerde kronik hepatit B hastalarının başlangıç, 1. ay, 3. ay, 6. ay ve 12.aydaki ortalama HBV DNA değerleri

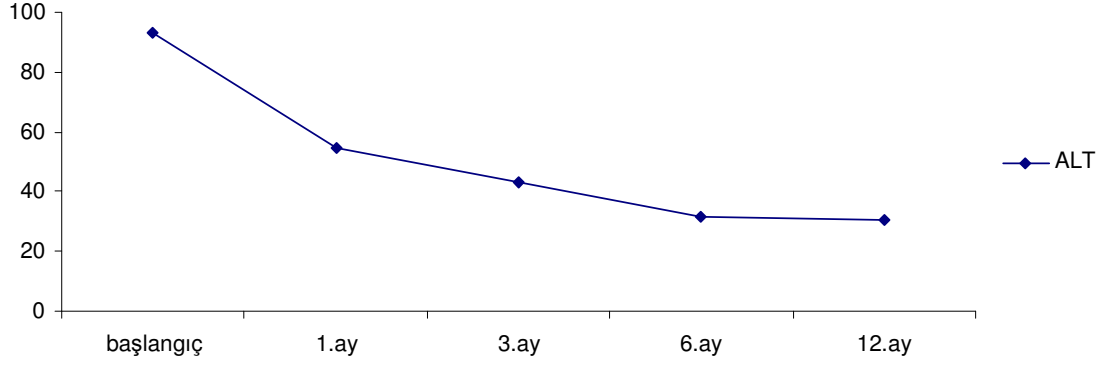


Şekil 4. Tenofovir tedavisi alan kadınlarda kronik hepatit B hastalarının başlangıç, 1. ay, 3. ay, 6. ay ve 12.aydaki ortalama HBV DNA değerleri



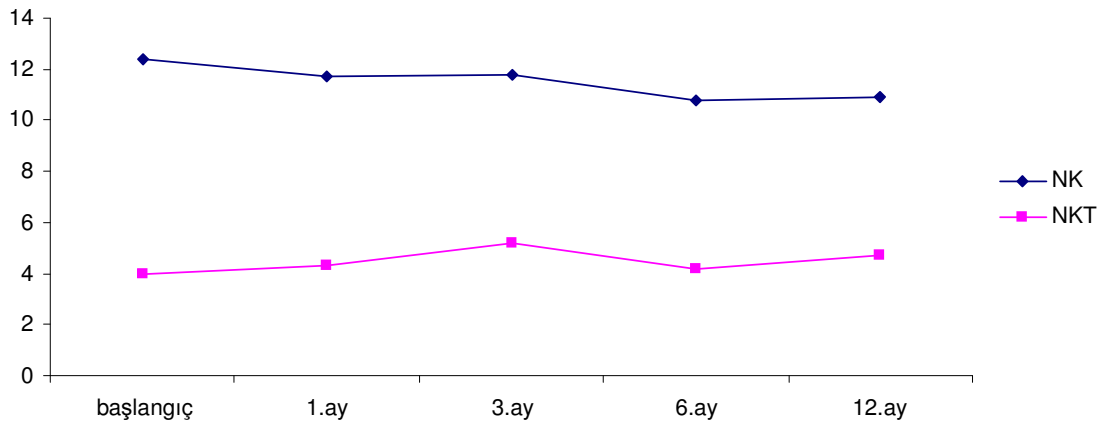
Serum aminotransferaz (ALT, AST) düzeyleri tedavinin 1. ayında istatistiksel olarak anlamlı (ALT $p < 0.017$, AST $p < 0.023$) olarak bulundu. 12 aylık tedavi süreci sonunda ALT seviyeleri hastaların %80'inde, AST seviyeleri ise hastaların %86,6 sinde normale döndü. ALT seviyelerinin tedavi ile değişimi sırası ile Şekil 5'de verilmiştir.

Şekil 5. Tenofovir Tedavisi ile ALT Düzeyinde Değişiklik



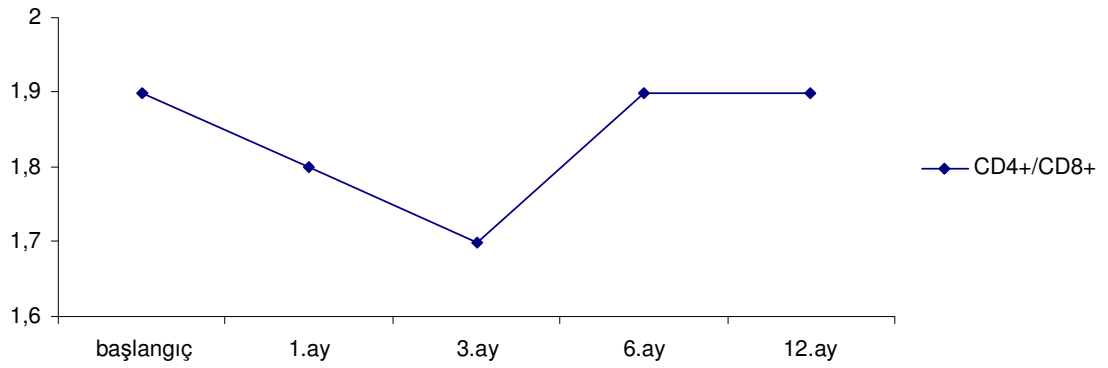
Tedavi periyodu boyunca HBV DNA da azalma seviyesi ve periferal T lenfosit profilindeki ve NK/NKT hücre sayısındaki değişiklikler için çok basamaklı analiz yapıldı. Bu hasta grubunda 12 aylık çalışma periyodunun başından sonuna kadar ve başlangıcında NK, NKT hücre sayılarında, CD3⁺ seviyelerinde ve CD4⁺/CD8⁺ oranında değişiklik yoktu. 12 aylık tenofovir tedavisi sonunda NK ve NKT seviyelerinde istatistiksel olarak değişiklik saptanmadı (NK p<0.116, NKT p<0.917). Tedavi süresince NK ve NKT sayılarının değişimi sırası ile Şekil 6'da verilmiştir.

Şekil 6. Tenofovir Tedavisi ile NK ve NKT Düzeylerinde Değişiklik



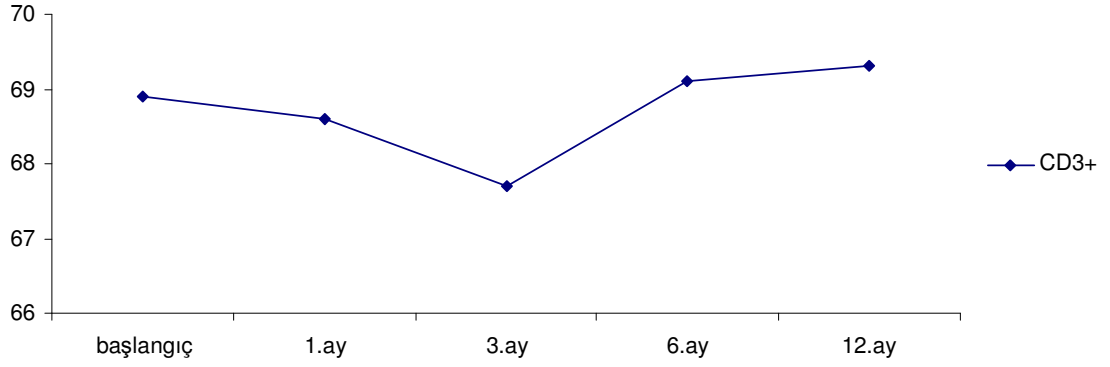
Tenofovir tedavisinin 3. ayında $CD4^+/CD8^+$ oranında düşüş gözlemlenmiş olup bu düşme istatistiksel olarak anlam saptanamadı ($CD4^+/CD8^+$ $p<0.463$). 12 aylık tenofovir tedavisi sonunda $CD4^+/CD8^+$ seviyelerinde istatistiksel olarak değişiklik saptanamadı ($CD4^+/CD8^+$ $p<0.207$). Tedavi süresince $CD4^+/CD8^+$ değişimi Şekil 7’de gözlenmektedir.

Şekil 7. Tenofovir Tedavisi ile $CD4^+/CD8^+$ Düzeyinde Değişiklik



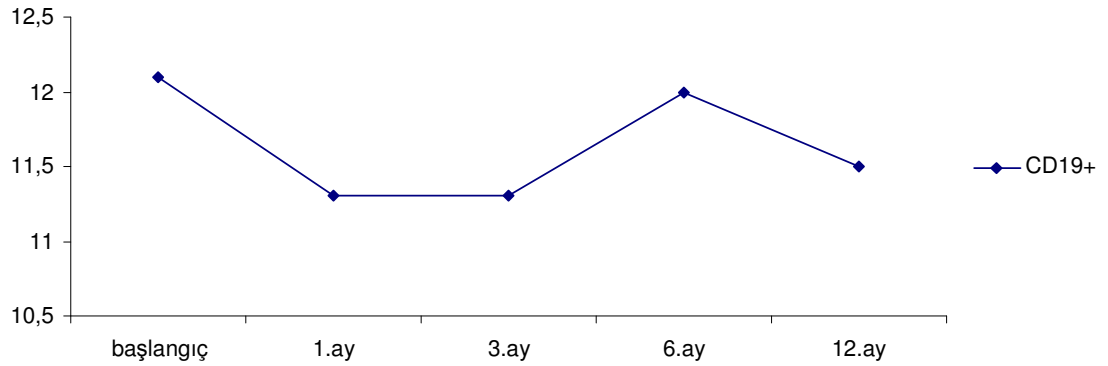
Tedavi süresince tedavinin 3. ayında $CD4^+/CD8^+$ seviyesindeki düşüşe benzer düşme $CD3^+$ ’de de gözlemlendi. Fakat bu düşme istatistik olarak anlamlı bulunmadı ($CD3^+$ $p<0.917$). 12 aylık tenofovir tedavisi sonunda $CD3^+$ seviyelerinde istatistiksel olarak değişiklik saptanamadı ($CD3^+$ $p<0.893$). $CD3^+$ ’ün 12 ay boyunca değişimi Şekil 8’de verilmiştir.

Şekil 8. Tenofovir Tedavisi ile CD3⁺ Düzeyinde Değişiklik



12 aylık tenofovir tedavisi sonunda CD19⁺ seviyelerinde istatistiksel olarak değişiklik saptanmadı (CD19⁺ p<0.463).Tedavi boyunca CD19⁺ seviyelerindeki düşme ve yükselmeler istatistiksel olarak anlamlı değildi. Şekil 9'da CD19⁺un 12 aylık değişimi verilmiştir.

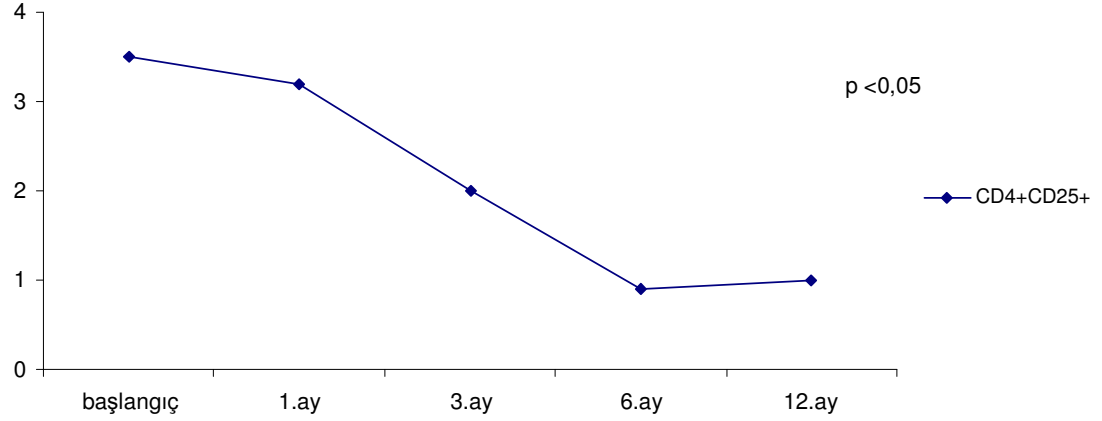
Şekil 9. Tenofovir Tedavisi ile CD19⁺ Düzeyinde Değişiklik



İstatistik sonuçları gösterdi ki; çalışma periyodunun başından sonuna kadar bu hastalarda CD4⁺/CD8⁺ oranında, NK, NKT hücre sayılarında, CD3⁺ ve CD19⁺ seviyelerinde anlamlı değişiklik yoktu. Sonuçta tenofovirin başarılı antiviral etki

periyodu boyunca tenofovir periferik T hücre profilini değiştirmedii ve kan NK/NKT hücre sayısı üzerine etkisi yoktu. Bizim ilaç uyumsuz hastalarımızda HBV enfeksiyonunda virolojik relaps T hücre profili ve NK/NKT hücre sayısı ile ilişki olmadığı izlendi.

şekil 10. Tenofovir Tedavisi ile CD4⁺CD25⁺Düzeyinde Değişiklik



Tedavi süresince tedavinin 3.ayından itibaren CD4⁺CD25⁺ seviyesindeki istatistiksel olarak anlalı düşme saptandı.(CD4⁺CD25⁺ $p < 0.017$). CD4⁺CD25⁺ 12 ay boyunca değişimi şekil 10'da verilmiştir.

5. SONUÇLAR

Başlangıçta vakalarımızın %14'ünde HBV DNA seviyesi 10^7 kopyanın üzerindeydi ve 12 hastada (vakaların %80'ini) nde tedavinin 6. ayında DNA seviyeleri tespit edilemez düzeyde kaldı. Bu hastalarda flow sitometri bulguları başlangıç ve çalışma süresi boyunca $CD4^+$ (yardımcı) hücreler, $CD8^+$ (sitotoksik/suppressor) T hücreler, $CD23^+CD19^+$ (aktive) B hücreler, $CD3^+CD16^+CD56^+$ (NK) hücreler ve $CD3^+CD16^+CD56^+$ (NKT) hücreler ve $CD4^+/CD8^+$ $CD4^+$, $CD8^+$ ve $CD19^+$, $CD4^+CD28^+$, $CD8^+CD38^+$ lenfosit sayımları ve NK-NKT hücre sayımlarında çalışma boyunca anlamlı fark olmadığını gösterdi. Fakat tenofovir tedavisi ile T hücre profilinde tek önemli değişiklik T regülatör hücreler için gerekli $CD4^+CD25^+$ hücrelerinde izlendi. Tedavi uyum sorunları nedeniyle 3 hastada (%20) HBV DNA seviyeleri 6.ayın sonunda negatif iken sonrasında HBV DNA seviyelerinde (200-180.000 IU/L) artış meydana geldi. Çalışma süresince 6 aylık tedavi sonrası artan HBV DNA düzeyleri olan hastalarda herhangi bir ilaç direnci tespit edilmedi. Tenofovirin tedavi süresince virolojik, biyokimyasal ve T lenfosit alt gruplarındaki değişiklik Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9:Tenofovir Tedavisi Sonrası Tedavi Yanıtı

Parametreler	Başlangıç	1.ay	3.ay	6.ay	12.ay	p değeri
HBV DNA negatifliği	0	3 (%20)	11 (%73)	12 (%80)	12 (%80)	P<0,05
ALT normalliği	0	4 (%26,6)	8 (%60)	13 (%86,6)	14 (%93,3)	P<0,05
T lenfosit alt grupları						
• $CD3^+T$ lenf.(%)	68,9±8,3	68,8±8,8	67,7±6,8	69,1±7,7	69,3±8,3	p>0,05
• $CD4^+/CD8^+$ (%)	1,9±1,1	1,8±0,9	1,7±0,7	1,9±0,8	1,9±0,9	p>0,05
• $CD4^+CD25^+$ (%)	3,5±2,4	3,2±2,5	2±1,8	0,9±1,4	1±1,3	P<0,05
• $CD19^+CD23^+$ (%)	38,2±15,9	38,1±16,5	37,3±17	37,1±17,1	38,1±17,4	p>0,05
• $CD19^+$ (%)	12,1±3,4	11,3±3,4	11,3±3,7	12±3,7	11,5±4	p>0,05
• NK(%)	12,4±6,4	11,7±7,1	11,8±6,9	10,8±6,6	10,9±6,7	p>0,05
• NKT (%)	4±2,9	4,3±2,9	5,2±2,9	4,2±2,4	4,7±2,5	p>0,05
Biyokimyasal değerler						
• Serum ALT düzeyi (IU/L)	93,2±56	54,6±27,8	43,2±23	31,7±11,7	30,2±13,2	P<0,05
• Serum AST düzeyi (IU/L)	67,6±36,7	47,8±21,2	43,1±22,3	36,7±18,8	36,2±20,7	P<0,05

6. TARTIŞMA

Bu araştırma, tenofovir molekülünün Hepatit B enfeksiyonu üzerinde direkt veya indirekt immün modülatör veya immün koruyucu etkisinin olup olmadığını inceleyen ilk çalışmadır. Gerçektende tenofovir, HBV gibi DNA virüsleri ve HIV gibi retrovirüslerin replikasyonunu azaltan veya durdurabilen, yüksek etkinlikli bir antiviral ajandır. Daha önce lamivudin tedavisi almış veya lamivudine direnç geliştirmiş veya herhangi bir antiviral tedavi almamış naif, HBV monoenfeksiyonlu hastalarda tenofovire karşı bildirilmiş bir direnç henüz bulunmamaktadır. Bu çalışmada hem e antijeni negatif hem 'e' antijeni pozitif hastalarda tenofovir tedavisi ile yüksek virolojik ve biyokimyasal remisyon elde edildiğini gösterdik. Aynı zamanda, kronik HBV enfeksiyonlu 15 hastada 1 yıllık tenofovir tedavisi sırasında, HBV DNA düzeyindeki düşme ve periferik lenfosit profilindeki değişimi araştırdık. Başlangıçta olgularımızın %14'ünde kanda HBV DNA seviyesi 10^7 kopya/ ml nin üzerindeydi ve 12 hastada (olguların %80'ini) tedavinin 6. ayında HBV DNA seviyeleri tespit edilemez düzeydeydi ve 1 yılın sonunda tüm olgularda HBV DNA negatif bulundu. Tedavi uyum sorunları nedeniyle 3 hastada, HBV DNA seviyeleri 6.ayın sonunda negatif iken sonrasında HBV DNA seviyelerinde (200-180.000 IU/L) artış meydana geldi. Bu hastalarda flow sitometri ile başlangıç ve tüm çalışma süresi boyunca $CD4^+$ (yardımcı) hücreler, $CD8^+$ (sitotoksik/suppressor) T hücreler, $CD23^+CD19^+$ (aktive) B hücreler, $CD3^+CD16^+CD56^+$ (NK) hücreler ve $CD3^+CD16^+CD56^+$ (NKT) hücreler ve $CD4^+/CD8^+$ $CD4^+$, $CD8^+$ ve $CD19^+$ $CD4^+CD28^+$, $CD8^+CD38^+$ lenfosit sayımları ve NK-NKT hücre sayımlarında anlamlı farklılık olmadığını gösterdik. $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücrelerinin her ikisinde $CD28^+$ co-stimulatör olması, $CD38^+$ ise her iki T hücrelerinde aktivasyonu bastırmasına rağmen, bunların hiçbiri istatistiksel olarak anlamlı bulunmad. Şimdiye kadar, uzun bir dönem $CD8^+$ T hücreleri üzerinde $CD38^+$ pozitifliği HIV pozitifli hastalarda tedavi bir göstergesi olarak kullanılmaktaydı. Aslında, $CD8^+CD38^+$ T hücreleri, HIV enfeksiyonlu hastalarda antiretroviral tedavi (ART) etkinliğini değerlendirmek, viral yük takibi için kullanılmaktadır. Farklı yayınlarda, HIV enfeksiyonlu hastalarda $CD8^+CD38^+$ lenfosit yüzdeleri ve MFI (ortalama floresans Intensity) değerleri ve viral yük ile ilişkili olabilecek iyi bir virolojik yanıt olarak kullanılmıştır (110-112).

Bizde tenofovir alan kronik hepatit B' li hastalarda aynı yanıtı bekliyorduk. Ama bizim CD8⁺CD38⁺ lenfosit sonuçları istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bunun CD38⁺ aktivasyonu molekül değerlendirmek için daha geniş bir hasta grubunda gerektiğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda, tenofovir tedavisi ile T hücre profilinde tek önemli değişiklik T regülatör hücrelerde (CD4⁺CD25⁺) izlendi (113). Bu hücreler bağışıklık sisteminin farklı bölgelerinde rol oynamaktadırlar; dendritik hücreler, mast hücreleri, bazofil, eozinofil ve CD8⁺ farklı efektör hücre, Th1, Th2 ve Th17 fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi (114,115). CD4⁺CD25⁺ pozitif T regülatör hücreler salgıladıkları interlökin 10 ve TGF beta ile antijen özgün CD4⁺ ve CD8⁺ hücrelerin sitokin üretimi (IFN- γ , IL-2) ve diğer aktiviteleri üzerine hem destekleyici hem de inhibitör etkileri olduğu rapor edilmiştir (116, 117). Bu hücreler yabancı antijenlere özellikle virüslere karşı hem kendini reaktif etmek hem de bağışıklık sistemini gerektiğinde baskılamakla sorumludurlar. Çalışmalar kalıcı T regülatörlerin hepatit C virüsü, retrovirüsler, herpes virüs gibi kronik lezyonlara neden olan birçok virüs enfeksiyonunda bağışıklığın derecesini etkileyebileceğini göstermiştir (118). Regülatör T hücreleri de akut ve kronik faz antiviral T hücre yanıtlarının bastırılmasında önemli bir rol oynayabileceği ve bu nedenle viral süregenliği oluşturmak için yardımcı olabilecekleri ileri sürülmektedir (117). Yapılan bir çalışmada, HSV'ye özgü peptid ile üç-dört kat CD8⁺T hücre aracılı immün yanıt geliştirilmiş akut HSV enfeksiyonunda, önce CD4⁺CD25⁺ T regülatör hücrelerin tükendiği gözlenmiştir (115). Bir başka çalışmada, dolaşımdaki CD4⁺ CD25⁺ regülatör T hücrelerinin kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda, sağlıklı kontrollere ve HBV enfeksiyonu çözülmüş olan kişilere oranla daha yüksek oranda saptanmıştır. Regülatör T hücreleri kronik hepatit B virüs enfeksiyonu olan hastalarda bozulmuş immün yanıtta katkıda bulunurlar (119). Çalışmamızda, kronik hepatit B virüs enfeksiyonu olan hastalarda viral yük tedavi ile azalırken benzer şekilde, CD4⁺CD25⁺regülatör T hücre yüzdelerinde tenofovir 1 yıllık tedavinin seyri sırasında anlamlı olarak azalma olduğu gözlendi (başlangıç 3.5+2.49, 1.ay 3.2+2.5, 3.ay 2.0+1.84, 6. ay 0.9+1.4, 12.ay 1.07+1.32). Bu bulgumuz, başka diğer bazı çalışmalarda da başka antiviral ajanlarla yapılan tedavi sırasında elde olunan sonuçlar ile uyumludur (8).

Zaten yüksek viral yükün CD8⁺ T hücre fonksiyonlarını işlevselliğini etkileyebileceği bilinmektedir (120, 121). Ayrıca, lamivudin tedavisi HBV'ye özgün T hücre efektör fonksiyonları arttırmaktadır (122). Muhtemelen aktif viremide terapötik virüs baskılanması, T regülatör hücrelerin indüksiyonu üzerinde ters etkiye neden olmaktadır. Bu geliştirilmiş antiviral efektör T hücre yanıtına yol açabilir. Böylece, tenofovir tedavi ile viral klirens sonrası, HBV ye özgün T hücrelerinin normal işlevine geri dönebilecekleri ihtimalini belirtmeden geçemeyeceğiz. Nitekim literatürde hücrel ve doğal bağışıklık sistemi üzerinde tenofovirin fonksiyonel etkilerinin önemini destekleyen bir rapor mevcuttur. Bu raporda, Makak maymunlarında bağışıklık eksikliği virüsü (SIV) ile yapılan deneysel enfeksiyonda, tenofovirin CD8⁺ hücre aracılı bağışıklık yanıtı potansiyelize ettiği, NK ve NKT hücre aktivitesi, sitokin ve kemokinlerin salgılanımı arttırdığı ve potansiyel bir immünmodülatör gibi davrandığı bildirilmiştir (12).

Kronik HBV enfeksiyonu seyrinde, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin temsilcileri olan doğal öldürücü (NK) ve doğal öldürücü T hücrelerinin (NKT) de HBV enfeksiyonun özellikle erken dönemlerinde başarısız olan hücreler olduğunu biliyoruz (113, 123). Akut kendini sınırlayan HBV enfeksiyonu sırasında gözlenen güçlü ve çok yönlü T hücre yanıtlarının aksine, kronik hepatit B'li hastalarda bağışıklık yanıtlarının ve zayıf/dar olması viral replikasyon süregenliğinde ve viral enfeksiyon kalıcılığında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (120). Paralize olmuş, zayıflamış veya tespit edilemeyecek düzeyde olan virüse özgün T hücre cevabının nedeni henüz bilinmemektedir. Bu T hücre anerjisinin veya fonksiyon bozukluğunun sebebinin virüsün kendisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (120, 124-127). Antiviral tedavilerin virüsün tetiklemiş olduğu geçici veya kalıcı zayıflamış hücrel immün sistemi düzeltebileceği düşünülebilir. Bugüne kadar HBV enfeksiyonuna karşı sadece interferon moleküllerinin anti-proliferatif etkinliği yanında immünmodülatör etkisi olduğu düşünülmekteydi. Bununla birlikte dirence karşı yüksek genetik bariyeri olan entekavir ve tenofovir gibi ilaçlarla uzun dönem tedaviler ile interferon tedavileri karşılaştırıldığında, interferon tedavisi ile virolojik remisyon oranları oldukça düşük olduğu bilinmektedir.

Gerçekten lamivudin, adefovir ve entekavir gibi antiviralleri içeren birçok çalışma ile antiviral ilaçların immünmodülatör etkilerinin de olduğu yönünde kanıtlar

bulunmuştur (8-10, 128). Örneğin, lamivudin ile yapılan çalışmalar göstermiştir ki HBeAg pozitif hastalarda viral replikasyonun baskılanması T hücre cevabındaki azalmayı geçici olarak düzeltmektedir (122, 128, 129). Lamivudinin antiviral etkisinde rolü olduğu düşünülen sitotoksik T lenfositlerini tetiklediği veya etkilerini güçlendirdiği (130). Bununla birlikte bu ilaçla uzun süren tedavilerde periferal CD4⁺ T hücreleri tedavi öncesi seviyelere gerilemektedir. Bu immün yenilenmenin geçici doğası, uzun süren tedavi periyodu boyunca genellikle gelişen lamivudin direnci ile ilişkilendirilmiştir. Bazı yazarların raporlarına göre HBe Ag pozitif olgularda adefovirin indüklediği viral replikasyon, HBV'ye özgün CD4⁺ T hücrelerinde geçici bir artışa yol açarken, HBV'ye özgün CD8⁺ T hücrelerde artışa yol açmamaktadır (8, 9). HBeAg pozitif hastalarda yapılmış bir başka çalışma göstermiştir ki, HBeAg pozitif kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda viral replikasyonun adefovir tarafından inhibisyonu, regülatuar T hücrelerini azaltırken, T hücre immün cevabı arttırmaktadır (9). Yüksek viral yüklü HBe Ag pozitif çok sayıda hastayla yapılmış bir başka çalışmada göstermiştir ki, entekavir ile viral replikasyonun güçlü bir şekilde baskılanması, T hücre cevapsızlığını çalışma süresinin sonuna kadar (4-48 hafta) kısmen düzeltmiştir (10). Entekavir, adefovir veya lamivudinin T hücre popülasyonu üzerinde henüz bilinen direkt bir etkisi olmaması nedeniyle, T hücre yetmezliği ile viral replikasyon düzeyi arasında kesin bir ilişkili olduğu büyük bir olasılıkla doğru olarak gözükmektedir.

Bu konu üzerinde şu ana kadar bildiğimiz tüm çalışmalar HBe Ag pozitif olgularda yapılmıştır. Aneden bebeğe HBV geçişini takiben 'e'antijenine karşı var olan neonatal tolerans antiviral yanıtın yetersizliğine neden olmaktadır (131, 132). Bu nedenle çözünebilir HBe antijeni HLA class II ilişkili T hücre cevabında azalmaya neden olarak T hücre yanıtınlığına neden olabilmektedir (133). Ayrıca, farelerin HBeAg ile immunizasyonu, Th1 üretimini süprese eden ve Fas-FasL aracılıklı mekanizmalarla Th1 hücrelerinin silinmesine neden olan Th2 sitokinlerinin üretiminin artmasına yardımcı olmaktadır (134). Th1 hücreleri viral replikasyonun non- sitolitik kontrolünde rol oynar ve dominant Th2 sitokin profili viral persistansta etkilidir. Bizim çalışmamızda çoğu hasta 'e' antijen negatifti ve sadece 3 hastada e antijen pozitif. 'e' antijen negatif ve pozitif olgularda aynı sonucu almamıza rağmen, 'e' antijen negatifiği ve tedavi öncesi düşük HBV DNA düzeyleri bizim araştırma

sonuçlarımız için (NKT, NK, CD4⁺ ve CD8⁺ hücre yüzdelerinde ve oranında değişiklik olmaması) olası bir açıklama olabilir. Literatürde,'e' antijen pozitif olgularda HBV DNA düzeylerindeki dramatik düşüş, aynı zamanda 'e' antijen düzeylerinde eş zamanlı bir azalmayı göstermektedir ki, HBV ile kronik enfekte hastalardaki tedavi esnasındaki T hücre tolerans ve kaybının olası sebebinin bu olabileceği akla gelmektedir.

Sonuç olarak, bizim çalışmamızda tenofovir tedavisi ile HBV DNA düzeylerinde yeterli baskılanma hatta viral klirens sağlanmasına rağmen periferik kanda B lenfositler, CD4⁺, CD8⁺T lenfosit sayımları ve CD4⁺/CD8⁺oranı ile NK ve NKT hücre yüzdelerindeçalışma boyunca anlamlı fark saptanmadı. Ancak, tenofovir tedavi ile HBV DNA temizleme sırasında T regülatuvar hücrelerin yüzdeleri anlamlı azalma saptandı. Bu bulgu bize, tenofovir ile efektör T hücre fonksiyonlarını güçlendirici bir etki ile HBV ve bağışıklık sistemi arasındaki dinamik dengede rolü (immünmodülatör etki), olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, tenofovirle bağlı HBV DNA baskılanması ile bağışıklık yanıtı ve özellikle T hücrelerinde meydana gelebilecek fonksiyonel değişiklikleri araştıran daha ileri çalışmalara olduğuna inanmaktayız. Ayrıca, 'e' antijen kaybının veya 'e' antijeni olmamasının T hücre profili ve T hücre fonksiyonları üzerinde farklı immünolojik etkileri olması nedeniyle, bu konu üzerinde daha kesin yargıya varabilmek için tenofovir tedavisi alan daha çok sayıda 'e' pozitif ve negatif hasta ile yapılmış çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Lee WM. Hepatitis B virus infection, *N Engl J Med* 337: 1733-1745, 1997.
2. Pawlotsky JM. The concept of hepatitis B virus mutant escape. *J Clin Virol* 34(1): 125-129, 2005.
3. Ahmad A, Alvarez F. Role of NK and NKT cells in the immunopathogenesis of HCV-induced hepatitis. *J Leuk* 76: 743-59, 2004.
4. Ferrari C, Urbani S, Boni C, Missale G. Hepatitis B: Why some recover and others don't Acute and chronic liver diseases: Immunologic mechanisms and therapy. *AASLD Postgraduate Course* 45-51, 2005.
5. Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nat Rev Immunol* 5: 215-29, 2005.
6. Eddleston ALWF and Dixon B. Interferons in the treatment of chronic viral infection of the liver, 1. edit, UK, Pennine Press 1990.
7. Dianzani F, Antonelli G, Capobianchi MR. The biological basis for the clinical use of interferon. *J Hepatol* 5-10, 1990.
8. Stoop JN, van der Molen RG, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HL. Inhibition of viral replication reduces regulatory T cells and enhances the antiviral immune response in chronic hepatitis B. *Virology* 361:141-8, 2007.
9. Lau GK, Cooksley H, Ribeiro RM, Powers KA, Shudo E, Bowden S, Hui CK, Anderson J, Sorbel J, Mondou E, Rousseau F, Lewin S, Perelson AS, Locornini S, Naoumov NV. Impact of early viral kinetics on T-cell reactivity during antiviral therapy in chronic hepatitis B. *Antivir Ther* 12: 705-18, 2007.
10. You J, Sriplung H, Geater A, Chongsuvivatwong V, Zhuang L, Li YL, Lei H, Liu J, Chen HY, Tang BZ, Huang JH. Impact of viral replication inhibition by entecavir on peripheral T lymphocyte subpopulations in chronic hepatitis B patients. *BMC Infect Dis* 22; 8: 123, 2008.
11. Beşışık F. ,Kronik B hepatit tedavisinde nukleozid analogları , *Viral Hepatit 2007*, Viral hepatitle savaşım derneği, s. 196.

22. Kann M, Bischof A, Gerlich WH. In vitro model for the nuclear transport of the hepadnavirus genome. *J Virol* 71: 1310–1316, 1997.
23. Locarnini S. Molecular virology of Hepatitis B Virus. *Semin Liver Dis* 24 (1): 3-10, 2004.
24. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection. Natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 350: 1118–1129, 2004.
25. Wu J-C, Chen T-Z, Huang Y-S, et al: Natural history of Hepatitis D Viral Superinfection: Significance of Viremia Detected by Polymerase Chain Reaction. *Gastroenterology* 108: 796-802, 1995.
26. Kılıçturgay K. Viral Hepatitite İmmünopatogenez. In: Tekeli E, Balık (Eds.). *Viral Hepatit 2003*. 1. Baskı, İstanbul: Viral Hepatitite Savaşım Derneği; 316-328, 1995.
27. Milich DR, McLachlan A. The nucleokapsid of hepatitis B virus both a T cell-independent and T cell-dependent antigen. *Science*, 234: 1398-1401, 1995.
28. Guidotti LG, Matzke B, Shaller H, et. al. High level hepatitis B virus replication in transgenic mice. *J Virol*, 69: 6158-6169, 1995.
29. Franco A, Guidotti LG, Hobbs MV, Chisari FV. Pathogenetic effector function of CD4⁺ positive T helper cells in hepatitis B virus transgenic mice. *J Immunol*, 159: 2001-2008, 1997.
30. Koziel MJ. Immunology of viral hepatitis. *Am J Med*, 100: 98-109, 1996.
31. Van Hecke E, Paradijs J, Molitor C, et. al. Hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocyte responses in patients with acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 20: 514-523, 1994.
32. Guidotti LG, Chisari FV. To kill or to cure: options in host defense against viral infection. *Current Opin Immunol*, 8: 478-483, 1996.
33. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, et. al. Viral clearance without destruction of infected cell during acute HBV infection. *Science*, 284: 825-829, 1999.
34. Hatashi N, Mita E. Involvement of Fas system-mediated apoptosis in pathogenesis of viral hepatitis. *J Viral Hepat*, 6: 357-365, 1999.

35. Şentürk H. Kronik Hepatit B Tedavisi. Aktüel Tıp Dergisi (Viral Hepatitler Sayısı), 2 (3): 139- 142, 1997.
36. Van Damme P, Cramm M, Van Der Auwera JC, et al. Horizontal transmission of hepatitis B virus. Lancet, 345: 27-29, 1995.
37. Dienstag JL, Isselbacher KJ. Acute viral hepatitis. In Braunwald E, Hauser SL, Fauci AS, Longo DL, Kasper DL, Jameson JL (eds.). Harrison's Principles of Internal Medicine, 15th ed, Vol, Macgraw Hill, Newyork; 1721-1737, 2001.
38. Uzunalimoğlu Ö. Viral hepatitlerde ekstrahepatik manifestasyonlar. Edt: Kılıçturgay K, Badur S. Viral hepatit 2001. Viral Hepatitle Savaşım Derneği yayını; 298-302, 2001.
39. Dündar H, Saltoglu N. Hepatit Viruslarında Mutasyon ve Getirdiği Sorunlar. In: Tekeli E, Balık (Eds.). Viral Hepatit 2003. 1.Baskı, İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 430-458, 2003.
40. Thimme R, Bukh J, Spangenberg HC, Wieland S, Pemberton J, Steiger C, Govindarajan S, Purcell RH, Chisari FV. Viral and immunological determinants of hepatitis C virus clearance, persistence, and disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 99:15661-8., 2002
41. Ferrari C, Urbani S, Boni C, Missale G. Hepatitis B: Why some recover and others don't. Acute and chronic liver diseases: Immunologic mechanisms and therapy. AASLD Postgraduate Course 45-51, 2002.
42. Chen MT, Billaud JN, Sallberg M, Guidotti LG, Chisari FV, Jones J, Hughes J, Milich DR. A function of the hepatitis B virus precore protein is to regulate the immune response to the core antigen. Proc Natl Acad Sci U S A 101:14913-8, 2004.
43. Felek S. Karaciğer Ve Safra Yolları Enfeksiyonları. In: Felek S (Ed.). Sistemik Enfeksiyon Hastalıkları. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 195-212, 2004.
44. Kanra G, Cengiz AB. Hepatit B Virüs Enfeksiyonu. Katkı Pediatri Dergisi, 19 (6): 610-619, 1998.

45. Yalçın K, Değertekin H. Akut Viral Hepatitler. In: Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan (Eds.). Gastroenteroloji. Ankara: Türk Gastroenteroloji Vakfı; 467- 477, 2002.
46. Taşyaran MA. HBV Enfeksiyonu Epidemiyolojisi. In: Tekeli E, Balık (Eds.). Viral Hepatit 2003. 1.Baskı, İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 121-128, 2003.
47. Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, Poynard T. Viral Hepatitis B. Lancet 362: 2089-2094, 2003.
48. Hepatitis B. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases The Pink Book 8th ed. 8th ed. CDC; 191-212, 2004.
49. Alter HJ, Seeff LB, Kaplan PM, et al. Type B hepatitis: the infectivity of blood positive for e antigen and DNA polymerase after accidental needlestick exposure. N Engl J Med 295: 909-13, 1976.
50. Favero MS, Bond WW, Petersen NJ, Berquist KR, Maynard JE. Detection methods for study of the stability of hepatitis B antigen on surfaces. J Infect Dis 129: 210-2, 1974.
51. Kawai H, Feinstone SM. Acute viral hepatitis. In Mandell GL, Bennate JE, Dolin R (eds.). Principles and Practice of Infectious Diseases, Fifth Ed, Vol I, Churchill Livingstone, Newyork, 1279-1297, 2000.
52. Hoofnagle JH, Lindsay KL. Acute viral hepatitis. In Goldman L, Benett JC (eds.). Cecil Textbook of Medicine, 21st Ed, 783-790, 2000.
53. Robinson WS. Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone, 1672-1685, 2000.
54. Steinberg SC, Alter HJ, Leventhal BG. The risk of hepatitis transmission to family contacts of leukemia patients. J Pediatr 87: 753-6, 1975.

55. Mast EE, Margolis HS, Fiore AE, et al; Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children, and adolescents. *MMWR Recomm Rep.* 23;54 (RR-16): 1-31, 2005.
56. Margolis HS, Coleman PJ, Brown RE, Mast EE, Sheingold SH, Arevalo JA. Prevention of hepatitis B virus transmission by immunization: an economic analysis of current recommendations. *J.Am.Med.Assoc.* 274 (15): 1201-8, 1995.
57. De Franchis R, Hadengue A, Lau G, et al. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B: September 13-14, 2002, Geneva, Switzerland: consensus statement (long version). *L Hepatol.* 39 (suppl 1): 3-25, 2003.
58. Global progress toward universal childhood hepatitis B vaccination. *MMWR.* 52: 868-870, 2003.
59. Gitlin N. Hepatitis B: Diagnosis, Prevention, and Treatment. *Clin Chem* 43: 1500- 6, 2003.
60. Leblebicioğlu H. Hepatit B virüsü mikrobiyolojisi, patogenez, epidemiyoloji, klinik, tedavi ve korunma. Usluer G (ed). A'dan Z'ye Akut Viral Hepatitler, Ankara, Güneş Kitabevi Yayınları, 16-23, 2002.
61. Ribeiro RM, Lo A, Perelson AS. Dynamics of hepatitis B virus infection. *Microbes Infect* 4: 829-35, 2002.
62. Ryder S. Viral Hepatitis. Cohen J, Powderly WG (eds). *Infectious Diseases*, 2nd Ed. Mosby, 529-45, 2004.
63. Amarapurkar DN, Amarapurkar AD. Extrahepatic manifestations of viral hepatitis. *Ann Hepatol* 1: 192-5, 2002.
64. Şenol E. Hepatit B. *Galenos Aylık Tıp Dergisi*, 1(12): 12-17, 1998.
65. Kılıçturgay K. Akut Viral Hepatitler. *Aktüel Tıp Dergisi (Gastroenteroloji ve Hepatoloji Özel Sayısı)*, 8(5): 25- 31, 2003.

66. Krawitt EL. Chronic Hepatitis. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds.). Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th Ed. New York: Churchill-Livingstone; 1153-1159, 2003.
67. AkarcaUS. Kronik Viral Hepatitler. In: ÖzdenA, Sahin B, Yılmaz U, Soykan (Eds.). Gastroenteroloji. Ankara: Türk Gastroenteroloji Vakfı;479-483, 2002.
68. Kurt H. Hepatit B Virüs Enfeksiyonu. In: Tekeli E, Balık (Eds.). Viral Hepatit 2003. 1.Baskı, İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 129-134, 2003.
69. Beasley RP, Hwang LY, Lin CC et al: Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus: a prospective study of 22,070 men in Taiwan. Lancet, 2: 1129–1133, 1981.
70. Milich DR, Jones JE, Hughes JL, Price J, Raney AK, McLachlan A. Is the function of the secreted hepatitis Be antigen to induce immunologic tolerance in utero? Proc Natl Acad Sci USA 81: 6563–99, 1990.
71. Keeffe EB, Dieterich DT, Han SHB, Jacobson IM, Martin P, Schiff ER, Tobias H, Wright TL. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States. Clin Gastroenterol Hepatol 2: 87-106, 1990.
72. Fung SK, Lok AS. Treatment of chronic hepatitis B: who to treat, what to use, and for how long?. Clin Gastroenterol Hepatol 2: 839-48, 2004.
73. Yim HJ, Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. Hepatology 43: 173-81, 2006.
74. Chu CJ, Hussain M, Lok ASF. Quantitative serum HBV-DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection. Hepatology 36: 1408–15, 2002.
75. Yuen MF, Lai CL. Natural history of chronic hepatitis B virus infection. J Gastroenterol Hepatol 15 (suppl): 20-24, 2000.
76. Yuen MF, Sablon E, Hui CK, et al. Prognostic factors in severe exacerbation of chronic hepatitis B. Clin Infect Dis 36: 979–84, 2003.
77. Dusheiko G: Hepatitis B, Clinical Hepatology 2nd ed, Bircher J, Benhamou JP, Mc Intyre N, Rizetto M, Rodes J, Oxford University Pres; 876–96, 1999.
78. Befeler AS, Di Bisceglie AM. Hepatitis B. Infect Dis Clin North Am 14: 617–32, 2000.

79. Perillo RP. Acute flares in chronic hepatitis B: the natural and unnatural history of an immunologically mediated liver disease. *Gastroenterology* 120: 1009–22, 2001.
80. Özdemir D, Cesur S, Çiftçi A, Balık. Kronik hepatit B’li hastalarda HBV DNA’nın önemi. *Viral Hepatit Derg* 1: 279–80, 2001.
81. Feistone SM, Unoura M, Kobashi K, Hattori N and Purcell RH. Detection of serum Hepatitis B DNA in patients with chronic hepatitis using the polymerase chain reaction assay. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86: 312-316, 1989.
82. Urdea MS, Synthesis and characterization of branched DNA (b DNA) for the direct and quantitative detection of CMV, HBV, HCV and HIV, *Clin Chem* 39: 725-726, 1989.
83. Hollinger FB: Hepatitis B Virus, *Fields Virology* 3rd ed. (Ed: Fields BW, Krieger DM, Howley PM) , 2: 2738–2761, 1995.
84. Badur S. Hepatit B virusu (HBV) moleküler biyoloji ve serolojik tanı, *Viral Hepatit* 94 2. Baskı (Ed: Kılıçturgay K)’de, İstanbul, Nobel tıp Kitapevleri; 65-90, 1994.
85. Heper Y, Mıstık R, Özakın C, Töre O. Hepatit B virüs markerleri ile HBV DNA ilişkisi: Bursa bölgesi sonuçları. *Viral Hepatit Derg*; 2: 137-139, 1999.
86. Torberson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2 (8): 479-86, 2002.
87. Hu K-Q. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *Journal of Viral Hepatitis* 9: 243-257, 2002.
88. Malik AH, Lee WM. Chronic hepatitis B virus infection: treatment strategies for the next millenium. *Ann Int Med*, 46: 723-731, 2000.
89. Harrison TJ, Dusheiko GM, Zuckerman AJ. Hepatitis viruses. In Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JE (eds). *Principles and practice of Clinical Virology*, Fourth ed, John Wiley and Sons Ltd. west Sussex, England, 187-233, 2000.
90. O’Brien C, Moonka D. Antiviral chemotherapy for viral hepatitis. In: Specter S. *Viral Hepatitis- Diagnosis, Therapy, and Prevention*. New Jersey: Humana Pres; 251, 1999.

91. Davis GL. Prophylaxis and treatment of viral hepatitis. Wolfe MM, Davis GL, Farraye FA, Giannella RA, Malagelada JR, Steer ML (eds). Therapy of digestive disorders, 2.baskı, Çin: Saunders Elsevier, 503-23, 1999.
92. A.S. Lok and B.J. McMahon, Chronic hepatitis B: update of recommendations. *Hepatology* 393, pp. 857–861, 2004.
93. S.J. Hadziyannis, N.C. Tassopoulos, E.J. Heathcote, T.T. Chang, G. Kitis, M. Rizzetto, P. Marcellin, S.G. Lim, Z. Goodman, J. Ma, S. Arterburn, S. Xiong, G. Currie and C.L. Brosgart, Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B, *N. Engl. J. Med.* 352 (26), pp. 2673–2681, 2005.
94. P. Angus, R. Vaughan, S. Xiong, H. Yang, W. Delaney, C. Gibbs, C. Brosgart, D. Colledge, R. Edwards, A. Ayres, A. Bartholomeusz and S. Locarnini, Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase, *Gastroenterology* 125 , 2: 292–297, 2003.
95. B. Werle-Lapostolle, S. Bowden, S. Locarnini, K. Wursthorn, J. Petersen, G. Lau, C. Trepo, P. Marcellin, Z. Goodman, W. E. T. Delaney, S. Xiong, C.L. Brosgart, S.S. Chen, C.S. Gibbs and F. Zoulim, Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy, *Gastroenterology* 126, 7: 1750–1758, 2004.
96. M.N. Brunelle, A.C. Jacquard, C. Pichoud, D. Durantel, S. Carrouee-Durantel, J.P. Villeneuve, C. Trepo and F. Zoulim, Susceptibility to antivirals of a human HBV strain with mutations conferring resistance to both lamivudine and adefovir, *Hepatology* 41, 6: 1391–1398, 2005.
97. L.M. Wolters, B.E. Hansen, H.G. Niesters, D. DeHertogh and R.A. de Man, Viral dynamics during and after entecavir therapy in patients with chronic hepatitis B, *J. Hepatol.* 37, 1: 137–144, 2002.
98. C.L. Lai, M. Rosmawati, J. Lao, H. Van Vlierberghe, F.H. Anderson, N. Thomas and D. Dehertogh, Entecavir is superior to lamivudine in reducing hepatitis B virus DNA in patients with chronic hepatitis B infection, *Gastroenterology* 123, 6: 1831–1838, 2002.

99. K. Lacombe, J. Gozlan, P.Y. Boelle, L. Serfaty, F. Zoulim, A.J. Valleron and P.M. Girard, Long-term hepatitis B virus dynamics in HIV-hepatitis B virus-co-infected patients treated with tenofovir disoproxil fumarate, *AIDS* 19, 9: 907–915, 2005.
100. F. Bani-Sadr, P. Palmer, C. Scieux and J.M. Molina, Ninety-six-week efficacy of combination therapy with lamivudine and tenofovir in patients coinfecting with HIV-1 and wild-type hepatitis B virus, *Clin. Infect. Dis.* 39: 7: 1062–1064, 2004.
101. Y. Benhamou, R. Tubiana and V. Thibault, Tenofovir disoproxil fumarate in patients with HIV and lamivudine-resistant hepatitis B virus, *N. Engl. J. Med.* 348, 2: 177–178, 2003.
102. Lai, CL, Han, KH, Yoon, SK, et al. Interim report for a phase II, multi-centre, dose-escalating study of LB80380/ANA380 in hepatitis B patients with lamivudine-resistant YMDD mutant HBV (abstract). *J Hepatol* 42, 2: 31, 2005.
103. P. Marcellin, G.K. Lau, F. Bonino, P. Farci, S. Hadziyannis, R. Jin, Z.M. Lu, T. Piratvisuth, G. Germanidis, C. Yurdaydin, M. Diago, S. Gurel, M.Y. Lai, P. Butten and N. Pluck, Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B, *N. Engl. J. Med.* 351, 12: 1206–1217, 2004.
104. S. Villet, C. Pichoud, A. Ollivet, J.P. Villeneuve, C. Trepo and F. Zoulim, Sequential antiviral therapy leads to the emergence of multiple drug resistant hepatitis B virus, *Hepatology* 42, 581-981, 2005.
105. T. Ide, R. Kumashiro, Y. Koga, et al. A Real time quantitative PCR method for hepatitis B virus in patients treated with lamivudine for chronic hepatitis B. *Am J Gastroenterol* 98, 2048-51, 2003.
106. Mene S, Paul I, Cote J, Kobra BE, Butler SD, George AL, et al; and Tennant BC. Antiviral effect of oral administration of tenofovir disoproxil fumarate in woodchucks with chronic woodchuck hepatitis virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2720-8, 2005.
107. Bömmel F, Berg T. Role of tenofovir in the treatment of chronic HBV infection. *Future Virol* 3: 207-20, 2008.
108. Heathcote J, et al. AASLD 2008.

109. Doğan M. Kronik hepatit B' de lamivudin direnci ve lamivudin direnci gelişimi üzerine etkili faktörler. Uzmanlık Tezi. S.B.İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2007.
110. I. Levacher M, Hulstaert F, Tallet S, Ullery S, Pocidalò JJ, Bach BA. The significance of activation markers on CD8 lymphocytes in human immunodeficiency syndrome: staging and prognostic value. *Clin Exp Immunol.* 90: 376–82, 1992.
111. Mocroft A, Bofill M, Lipman M, et al. CD8+,CD38+ lymphocyte percent: a useful immunological marker for monitoring HIV-1–infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 14:158–62, 1997.
112. Sherman GG, Scott LE, Galpin JS, et al. CD38 expression on CD8 (+) T cells as a prognostic marker in vertically HIV-infected pediatric patients. *Pediatr Res* 51:740–5, 2002.
113. Bertoletti A, Gehring AJ. The immune response during hepatitis B infection. *Journal of General Virology* 87: 1439-1449, 2006.
114. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms and treatment of allergic disease in big picture regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunology.* 123:735-746, 2009.
115. Suvas S, Kumaraguru U, Pack CD, Lee S, Rouse BT. CD4+CD25+ T Cells Regulate Virus-specific Primary and Memory CD8⁺ T Cell Responses. *J Exp Med.* 198;889-901, 2003.
116. Ohkura N, Sakaguchi S. Regulatory T cells: roles of T cell receptor for their development and function. *Semin Immunopathol.* 32; 95–106, 2010.
117. Billerbeck E, Bottler T, Thimme R. Regulatory T cells in viral hepatitis. *World J Gastroenterol.* 28;13 (36):4858-64, 2007.
118. Rouse BT, Sarangi PP, Suvas S. Regulatory T cells in virus infections. *Immunological Reviews* 212:272–286, 2006.
119. Stoop JN, van der Molen RG, Baan CC, van der Laan LJW, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HLA. Regulatory T Cells Contribute to the Impaired Immune Response in Patients With Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Hepatology* 41: 771–778, 2005.

120. Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis *Ann Rev Immunol* 13: 29-60, 1995.
121. Rehermann B. Intrahepatic T Cells in Hepatitis B Viral Control versus Liver Cell Injury. *JEM*.191:1263-1268, 2000.
122. Boni C, Penna A, Ogg GS, Bertolotti A, Pilli M, Cavallo C, Cavalli A, Urbani S, Boehme R, Panebianco R, Fiaccadori F, Ferrari C. Lamivudine treatment can overcome cytotoxic T-cell hypo responsiveness in chronic hepatitis B: new perspectives for immune therapy. *Hepatology* 33: 963-71, 2001.
123. Moretta L, Bottino C, pende D, Vitale M, Mingari MC, Moretta A. *Immunol Let.*100:7-13, 2005.
124. Whery E, Blattman JN, Murali-Krishna K, van der Most R, Ahmed R. Viral persistence alters CD8 T cell immunodominance and tissue distribution and results in distinct stages of functional impairment. *J.Virol.* 77: 4911-4927, 2003.
125. Zhou S, Ou R, Huang L, Price GE, Moskophidis D. Differential tissue specific regulation of antiviral CD8⁺ T cell immune responses during chronic viral infection.78: 3578-3600, 2003.
126. Baumert TF, Thimme R, von Weizsäcker F. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol.*13 (1):82-90, 2007.
127. Chisari FV. Cytotoxic T cells and viral hepatitis. *J Clin Invest.* 99;1472-1477, 2007.
128. Boni C, Bertolotti A, Penna A, Cavalli A, Pilli M, Urbani S, Scognamiglio P, Boehme R, Panebianco R, Fiaccadori F, Ferrari C. Lamivudine treatment can restore T cellresponsiveness in chronic hepatitis B. *J Clin Invest* 102:968-75, 1998.
129. Boni C, Penna A, Bertolotti A, Lamonaca V, Rapti I, Missale G, Pilli M, Urbani S, Cavalli A, Cerioni S, Panebianco R, Jenkins J, Ferrari C. Transient restoration of anti-viralT cell responses induced by lamivudine therapy in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 39: 595-605, 2001.
130. Kondo Y, Asabe S, Kobayashi K, Shiina M, Niitsuma H, Ueno Y, Kobayashi T, Shimosegawa T. Recovery of functional cytotoxic T lymphocytes during lamivudine therapy by acquiring multi-specificity. *J Med Virol* 74: 425-33, 2004.

131. Milich DR, Schödel F, Peterson DL, Jones JE, Hughes JL. Characterization of self-reactive T cells that evade tolerance in hepatitis B e antigen transgenic mice. *Eur J Immunol* 25: 1663-72, 2004.
132. Milich DR, Jones JE, Hughes JL, Price J, Raney AK, McLachlan A. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6599-603, 1990.
133. Milich DR, Schödel F, Hughes JL, Jones JE, Peterson DL. The hepatitis B virus core and e antigens elicit different the cell subsets: antigen structure can affect the cell phenotype. *J Virol* 71: 2192-201, 1997.
134. Milich DR, Chen MK, Hughes JL, Jones JE. The secreted hepatitis B precore antigen can modulate the immune response to the nucleocapsid: a mechanism for persistence. *J Immunol.* 160: 2013-21, 1998.

8. EKLER

Ek 1: Bilgilendirilmiş Olur Formu

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı Kronik Hepatit B hastalarında Tenofovir kullanımı T lenfosit alt gruplarının değişimi 'dir.

Bu araştırmanın amacı Tenofovir tedavisi ile HBV enfeksiyonuna karşı oluşan immün cevap ve T hücre yetersizliğine neden olan mekanizmaların anlaşılması 'dır. Bu çalışmada size Tenofovir tedavisi uygulanacaktır Bu çalışmada yer almanız öngörülen süre 12 ay olup, çalışmada yer alacak gönüllülerin sayısı 20 dir.

Bu araştırma ile ilgili olarak ilaçların düzenli kullanılması sizin sorumluluklarınızdır.

Bu çalışmada sizin için baş dönmesi ,bulantı –kusma gibi riskler ve rahatsızlıklar söz konusu olabilir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0 372 2612888 no.lu telefondan Dr.Başak Delikanlı 'ya başvurabilirsiniz.

Bu çalışmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır ; ayrıca, bu çalışma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

Bu çalışmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada çalışmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi çalışmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlanırsa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve çalışmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında,bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu çalışmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Ek 2: Etik Kurul Onayı



T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ YÖNETİM KURULU KARARLARI



TOPLANTI TARİHİ : 27.02.2009
TOPLANTI NO : 2009/09

KARARLAR :

- 2- Fakültemiz Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nın 27.02.2009 tarih ve 461-1007 sayılı yazısı ve ekleri okundu.

Fakültemiz Dahili Tıp Bilimleri Bölümü İç Hastalıkları Anabilim Dalı Arş. Gör. Dr. Başak DELİKANLI'nın tez konusunun "Kronik Hepatit B Hastalarında Tenofovir Kullanımı İle T Lenfosit Alt Gruplarının Değişimi" ve tez danışmanının Prof. Dr. Yücel ÜSTÜNDAĞ olarak belirlenmesine ve ilgiliye tebliğine,

Oybirliğiyle karar verildi.

ASLI GİBİDİR


Meral DEMIRSAN
Fakülte Sekreteri