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

KRONİK HEPATiT B'Li HASTALARDA SEROLOJİK MARKERLAR İLE SERUM ALT DÜZEYLERİ, HBV-DNA VE KARACİĞER HİSTOLOJİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Mesut AYDIN

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nihat OKÇU

Uzmanlık Tezi
ERZURUM 2010

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	**II**
SUMMARY	**III**
1. GİRİŞ ve AMAÇ	**1**
2. GENEL BİLGİLER	**3**
2.1. Patogenez	5
2.2. Hepatit B Virüs Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	7
2.3. Türkiye'de HBV Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	8
2.4. Kronik Hepatit B Virüs Enfeksiyonunda Klinik	10
2.5. Kronik HBV'de Tanı	13
2.6. Alanin Amino Transferaz	16
2.7. Moleküler Tanı Yöntemleri	17
2.8. Kronik Hepatit B Enfeksiyonunda Karaciğer Histopatolojisi	18
3. MATERYAL ve METOD	**22**
3.1. Hastaların Seçimi ve Grupların Belirlenmesi	22
3.2. Çalışmaya Alınmama Kriterleri	23
3.3. Kimyasal Maddeler, Kullanılan Sistem ve Cihazlar	23
3.4. HBV-DNA için Nükleik Asit Saflaştırılması (Spin Protokol)	24
3.5. Karaciğer Biyopsisi ve Histopatolojik Değerlendirilmesi	26
3.6. İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	**30**
5. TARTIŞMA	**44**
6. SONUÇLAR	**59**
KAYNAKLAR	**62**

ÖZET

Kronik Hepatit B'li Hastalarda Serolojik Markerlar ile Serum ALT Düzeyleri, HBV-DNA ve Karaciğer Histolojisi'nin Karşılaştırılması

Ülkemizde kronik hepatitin en sık nedeni kronik Hepatit B enfeksiyonudur. Hepatit B virüsü (HBV) kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinoma (HCC) gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açabilen bir etkendir. Tüm dünyada önemli morbidite ve mortalite nedeni olan kronik Hepatit B ülkemizde de önemli bir sağlık sorunudur. HBV enfeksiyonlarının rutin tanısında ilk olarak ve en sık kullanılan yöntemler HBV serolojik belirteçlerinin ve transaminaz düzeylerinin belirlenmesidir. Kronik karaciğer hastalığında tedavi kararının verilmesinde, prognoz ve olası komplikasyonların tayininde karaciğerde fibrozisin varlığının ve derecesinin belirlenmesi önemlidir.

Bu çalışmada, kronik Hepatit B'li hastalarda invaziv bir yöntem olan karaciğer biyopsisinin yerine diğer belirteçlerle hastalığın aktivitesinin, klinik seyrinin ve prognozunun belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla serolojik markerlar, serum alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri, HBV-DNA ölçülerek karaciğer histolojisi ile arasındaki ilişkiler incelendi. Çalışmaya 60 erkek ve 20 kadın olmak üzere toplam 80 kronik hepatit B'li hasta dahil edildi. Hepatit B 'e' antijen (HBeAg) pozitif hastaların HBV-DNA düzeyleri hepatit B 'e' antikoru (anti-HBe) pozitif hastalarınkinden istatistiki olarak anlamlı yüksek bulundu (p=0,030). HBeAg pozitif grup ile anti-HBe pozitif grup histolojik aktivite indeksi (HAİ) ortalamaları yönüyle karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark saptandı (p=0,016). HBeAg negatif anti-HBe pozitif grubun ortalama HAİ değeri HBeAg pozitif gruptan daha yüksekti. Anti-HBe pozitif hastalar, HBeAg pozitif hastalardan daha yüksek oranda ileri fibrozis derecesine sahiptiler (p=0,029).

Her iki grupta ALT düzeylerine göre HBV-DNA, HAİ ve fibrozis skorlarında istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05). HBeAg pozitif hastalarda, HBV-DNA viral yük düzeylerine göre ortalama HAİ ve fibrozis skorlarında istatistiki anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05). Anti-HBe pozitif hastalarda HBV-DNA grupları arasında ortalama HAİ skorları açısından istatistiki anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05). Ancak anti-HBe pozitif hastalarda, HBV-DNA düzeyi arttıkça HAİ skorları artma eğiliminde bulundu. Yine anti-HBe pozitif hastaların HBV-DNA viral yükündeki artışla ortalama fibrozis skorlarında istatistiki olarak anlamlı artış gözlendi (p=0,018).

Anahtar Kelimeler: Kronik Hepatit B, ALT, HBV-DNA, Karaciğer Histolojisi.

SUMMARY

The Comparison of Serological Markers, Serum ALT Levels, HBV-DNA and Liver Histology in Chronic Hepatitis B Patients

The major cause of the chronic hepatitis is chronic hepatitis B virus infections in our country. Hepatitis B virus (HBV) is a factor that causes seriously health problems such as chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). Chronic Hepatitis B, cause of significant morbidity and mortality throughout the world, is an important health problem in our country. In the diagnosis of HBV infections, the methods used firstly and most commonly are to determine HBV serological markers and transaminase levels. In the chronic liver disease the determination of the presence of liver fibrosis and the degree of the fibrosis are important in the decision of treatment, prognosis and estimation of possible complications.

In this study, it was aimed to determine disease activity, clinical progress and prognosis with the other markers, instead of an invasive method liver biopsy in chronic hepatitis B patients. Fort this purpose, with the evaluation of the serological markers, serum alanine aminotransferase (ALT) levels, HBV-DNA, the relationships between the liver histology were analysed. Of all 80 chronic hepatitis B patients included in this study 60 were males and 20 females. The HBV-DNA levels were statistically significantly higher in hepatitis B ‘e’ antigen (HBeAg) positive patients than in the hepatitis B ‘e’ antibody (anti-HBe) positive patients ($p=0.030$). The comparison of the histological activity index (HAI) means, there was a significant difference between the HBeAg positive group and the anti-HBe positive group ($p=0.016$). The mean HAI levels of HBeAg negative and anti-HBe positive patients are higher than those of the HBeAg positive patients. Anti-HBe positive patients had a higher ratio of severe fibrosis when compared to the HBeAg-positive patients ($p=0.029$).

No statistically significant difference was determined in HBV-DNA, HAI and fibrozis scores of both groups when compared with ALT levels ($p>0.05$). In HBeAg positive patients, there was no statistically significant difference in mean HAI and fibrosis scores when compared with HBV-DNA viral load levels ($p>0.05$). In anti-HBe positive patients, no statistical difference was determined in mean HAI scores of HBV-DNA groups ($p>0.05$). However in anti-HBe positive patients, HAI scores tended to increase in line with the increase in HBV-DNA levels. Also in anti-HBe positive patients there was a statistically significant increase in mean fibrosis scores in line with the increase of HBV-DNA viral load ($p=0.018$).

Keywords: Chronic Hepatitis B, ALT, HBV-DNA, Liver Histology.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kronik hepatit, uzun vadede siroz, HCC ve son dönem karaciğer yetmezliği ile sonuçlanabilecek birçok hastalığa yol açmaktadır. Kronik hepatitin kesin tanısı histolojik özelliklere dayanır ancak tanı genellikle son zamanlarda geliştirilen non-invaziv testlere ve kan testlerinin sonuçlarına göre de konulabilmektedir. Kronik hepatitin etiyolojisinde başta virüsler olmak üzere, ilaçlar, metabolik anormallikler ve otoimmün sebepler rol oynamaktadır. Ülkemizde en sık sebep kronik hepatit B enfeksiyonudur.[1]

HBV enfeksiyonu halen tüm dünyada en önde gelen sağlık sorunlarından biridir. Dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri serolojik olarak eski veya yeni enfeksiyon delillerine sahiptir.[2] Hepatit B için yüksek risk grubunda olanlar; dünyanın endemik alanlarından (Afrika, Doğu Avrupa, Güneydoğu Asya) yeni göçenler, eşcinsel erkekler, birden fazla cinsel partneri olanlar, hemofili hastaları, onkoloji ve diyaliz hastaları ile sağlık çalışanlarıdır. Kronik Hepatit B, orta büyüklükte bir deoksiribonükleik asit (DNA) virüsü olan Hepadnaviridea ailesine ait HBV enfeksiyonu ile oluşur. Kronik hepatit B tanısından genellikle bireyin serumunda Hepatit B yüzey antijeni (HbsAg) saptanmasıyla şüphe edilir ve serumda HBV–DNA, transaminazlar ölçülerek tanı doğrulanır. Kronik hepatit B'li hastaların bir kısmında aynı zamanda yüksek oranda viral replikasyonu gösteren HBeAg de bulunur. Kimi hastalarda aktif karaciğer hastalığı ile serumda HbsAg ve yüksek oranda HBV-DNA bulunurken HBeAg saptanamaz. Bu hastalar genellikle HBeAg oluşturmayan ancak etkin bir şekilde replike olan mutant ve patojenik bir HBV barındırmaktadırlar.[1]

Kronik HBV enfeksiyonu seyrinde viral replikasyonun klinik tabloyu, tedaviye cevabı ve prognozu yakından etkilediği bilinmektedir.[3] HBV'ye ait antijenlerin ve antikorların hasta serumunda saptanması enfeksiyonun özgül tanısı için yaygın kullanılan yöntemlerdir. HBV enfeksiyonunun tanısında kullanılan serolojik göstergeler birlikte yorumlanarak hastanın bulunduğu dönem, enfektivite durumu ve bağışıklığı değerlendirilebilir.[4]

Kronik hepatit B'de hastalığın derecesini ve tedaviyi belirlemede karaciğer biyopsisi şarttır. Kronik hepatit histolojisi, hafif hasardan ileri derecede fibrozise kadar değişebilen geniş bir morfolojik tablo göstermektedir. Portal iltihap, lobuler hepatit ve

hasar, güve yeniği nekrozu ve bunların komplikasyonu olarak gelişen fibrozis, primer olarak izlenen bulgulardır.[5]

Bu çalışmada amacımız kronik hepatit B'li hastalarda serolojik markerlar ile serum ALT, HBV-DNA ve karaciğer histolojisi arasındaki ilişkiyi belirleyerek bu ilişkinin hastalığın klinik seyrinin ve prognozunun tayininde önemi olup olmadığını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

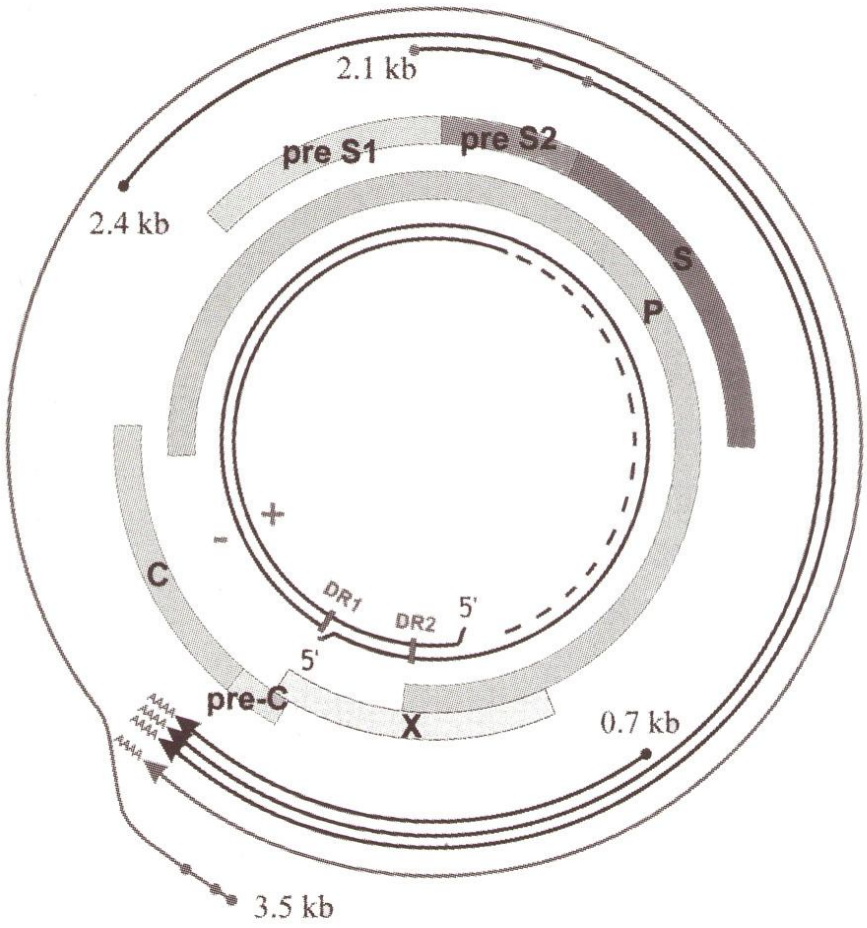
HBV akut/kronik hepatit, siroz ve HCC'nin en önemli etkenlerinden birisidir. Tüm dünyada 400 milyonu aşkın sayıda kişinin HBV ile kronik olarak infekte olduğu ve her sene global olarak izlenen 530.000 HCC olgusunun 316.000'inin HBV ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Her yıl dünyada 1.000.000'a yaklaşan sayıda kişi, HBV enfeksiyonu ile ilgili komplikasyonlardan kaybedilmektedir. Etkili bir aşısı olan HBV enfeksiyonları bütün dünyada ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak önemini sürdürmektedir.[6-8]

HBV ilk defa Blumberg ve arkadaşları tarafından 1965 yılında "Avusturalya (Au) Antijeni "olarak tanımlanan bir serum proteini olarak rapor edilmiş, 1970 yılında ise tüm virionun elektron mikroskobi görüntüleri saptanarak "Dane Partikülleri "adını almıştır. HBV infeksiyöz partikülü olan 42 nm büyüklüğündeki Dane Partikülleri dışında 22 nm'lik sferik ve 22x100-200 nm büyüklüğündeki filamentöz partiküller de elektron mikroskobunda tarif edilmiş, bunu izleyen yıllarda çeşitli çalışmalarda virusun genomik yapısı ve proteinleri karakterize edilmiştir.[8,9] HBV kanatlı ve memelilerde enfeksiyon oluşturan; genom organizasyonu, doku tropizmi ve replikasyon stratejisi açısından birbirine benzerlikler gösteren çeşitli virüslerden oluşan Hepadnaviridea ailesinde sınıflandırılmaktadır ve bu ailenin prototip üyesidir. HBV sadece insan ve şempanzelerin karaciğerlerinde enfeksiyon oluşturur.[8,10,11]

Virion yapısı ve genomik organizasyonu: HBV küçük, zarflı bir DNA virüsüdür ve diğer DNA virüslerinden farklı bazı özellikler taşımaktadır. Viral genom yaklaşık 3200 nükleotidten oluşan oldukça küçük ve kısmen çift (≈ %70), kısmen tek iplikli (≈ %30) çembersel DNA'dan oluşur ve ikozahedral bir kapsid içerisinde bulunur; bunun dışında da üç farklı yüzey antijenini taşıyan lipid yapılı zarf yer alır. HBV bir DNA virusu olmasına karşın Revers Transkriptaz (RT) enzimi kodlar ve ribonükleik asit (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 virusun

kişiden kişiye geçişteki etkinliğine katkıda bulunur ve dezenfektan direncini sağlar.[8,10,12]

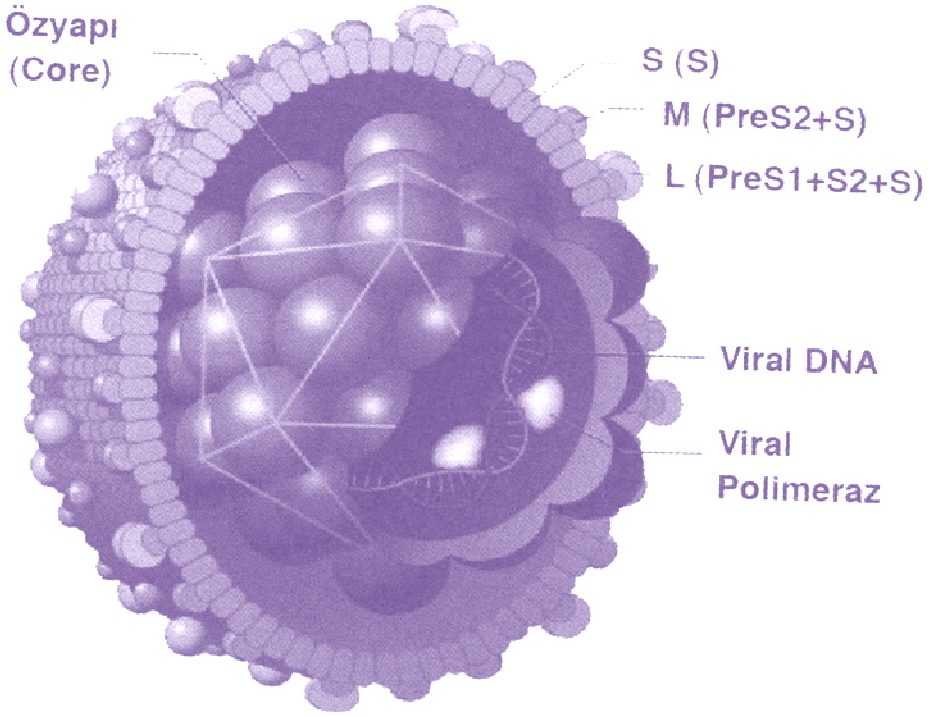
HBV genotipleri; tüm genom dizisinde %8'i; S geninde ise %4'ü aşan farklılık taşıyan varyantlar olarak tanımlanır. Buna göre HBV genomu A'dan H'ye 8 major genotip oluşturmaktadır. Bunun dışında HBs antijeninin yapısal farklılıklarına göre HBV serotipleri de tanımlanmıştır. Ortak "a" determinantı taşıyan HBV serotipleri günümüzde 9 grupta incelenmektedir. 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. Farklı genotiplerle ko-infeksiyon ve genotipler arası rekombinasyon olasılığı da çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.[8] HBV'nin genomik organizasyonu Şekil 1'de verilmektedir.



Şekil 1. HBV Genomik Organizasyonu ve Sentezlenen RNA'lar (Kaynak 8).

Viral özyapı (core) ve polimeraz gen ürünleri, kapsid proteinlerinden (HBcAg) nükleokapsid oluşumu ve viral DNA replikasyonunda görev alır. Core proteinlerinin subviral ikozahedral partikülleri meydana getirmesi için; protein ünitelerinin disülfit bağları ile stabilize edilerek dimerleşmesi ve dimerlerin bir çekirdek yapı oluşturması gereklidir. Viral polimeraz polipeptidi de amino ve karboksi terminallerinde yer alan iki domainin bir bağlantı bölgesi (spacer) ile ayrılması şeklinde sentezlenmektedir. Polimerazın terminal protein adı da verilen amino terminali, pre-genomik RNA'nın paketlenmesi ve DNA sentezi için priming görevini üstlenirken; karboksi terminali ise RT ve RNaz H aktivitesinden sorumludur. Hepadnavirus polimerazları enzimatik aktiviteleri için çeşitli hücresel faktörlere ihtiyaç göstermektedir.[8,10]

HBV virionunun şematik yapısı Şekil 2'de verilmektedir.



Şekil 2. HBV Virionunun Şematik Yapısı (Kaynak 8).

2.1. Patogenez

Kronik HBV enfeksiyonlarında meydana gelen karaciğer hasarı çoğu kez immün sistem ve HBV ile enfekte hepatositlerin etkileşimine bağlıdır. İnterferon - alfa,

- beta, -gama; tümör nekrozis faktör (TNF)–alfa gibi antiviral sitokinler virüsün temizlenmesinde önemli rol oynarken, enfekte hepatositlerin sitotoksik T lenfositlerince ortadan kaldırılması hem virüsün temizlenmesine hem de süregelen karaciğer hasarına katkıda bulunmaktadır.[8,13]

Yüksek düzeyde viral replikasyon gösteren, fakat normal karaciğer enzim düzeyi ve histopatolojisine sahip olan kronik taşıyıcılar; virüsün direkt sitopatik etkisi olmadığını göstermektedir. Ayrıca hepatosit kültürlerinde üretilen virüsün hücre canlılığı üzerine etkisi görülmemiştir. HBV enfeksiyonunu doğumda alan yenidoğanlarda yüksek viral replikasyon ve yüksek kronik enfeksiyon oranına rağmen karaciğerde hafif hasar saptanmaktadır. Bu durumun aksi, HBV'ye bağlı fulminan hepatitlerde görülmektedir. Bu olgularda düşük virüs düzeyi, fakat yaygın hepatosellüler nekroz vardır. Yenidoğanlarda virüse karşı immün yanıt gözlenmemesine karşın, fulminan hepatit tablosunda güçlü immün yanıt vardır. İmmün patogenezin rol oynadığı diğer hastalıklar gibi HBV'de de, viral yayılımı belirleyen değişkenlerle immün sistem değişkenleri arasındaki denge hastalığın sonucunu belirlemektedir.[14]

Kronik HBV enfeksiyonu durumunda periferik sitotoksik T lenfositi yanıtı çoğunlukla düşük düzeyde ya da etkisizdir. Kronik B hepatiti izlenen kişilerde İnterlökin-4, İnterlökin-5, İnterlökin-10 salgılanması ile karakterize tip 2 yardımcı T lenfositi yanıtı önde olmakta, buna bağlı olarak da virüsün sitotoksik T lenfositleri etkisiyle temizlenmesi yerine humoral yanıta yönlenmiş bir bağışıklık söz konusu olmaktadır. İntrahepatik yerleşim gösteren HBV-spesifik sitotoksik T lenfositleri kronik enfeksiyonlarda da saptanmakta ve enfeksiyonun alevlenmelerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Buna karşın kronik B hepatitinde hücresel sitotoksik yanıt virüsü temizlemekte yetersiz kalmaktadır.[8]

HBV enfeksiyonlarının konaktan temizlenmesinde adaptif bağışık yanıt kadar doğal bağışıklık mekanizmaları da önem taşımaktadır. Doğal bağışıklık mekanizmalarının aktivasyonu HBV enfeksiyonunun ilk dönemlerinde gerçekleşir. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalar, İnterferon-gama ve TNF-alfa'nın, perforin ya da Fas-bağımlı apoptotik yolların aktivasyonuna gerek olmadan viral replikasyonun kontrolündeki etkilerini ortaya koymaktadır. Virüs replikasyonundaki bu baskılanma tipik olarak T lenfositlerin en yüksek düzeyde infiltrasyonu ve karaciğer hasarının

başlamasından daha önce gerçekleşmektedir. Bu veriler, doğal bağışıklığın enfekte kişilerdeki viral replikasyonun baskılanmasındaki önemi ve virusa karşı immün yanıttaki rolüne dikkati çekmektedir.[8,13,15]

2.2. Hepatit B Virüs Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

HBV dünya genelinde 350 milyon kişide kronik enfeksiyona, yılda 500.000-1.200.000 ölüme neden olan bir virüstür. Afrika, Asya ve Pasifik kıyılarında HBV'na bağlı hastalıklar en önemli üç ölüm nedeninden biridir. Dünyada HBV ile karşılaşmış insan sayısı ise iki milyardır.[16-18] Bu enfeksiyon açısından kırsal kesimde oturanların daha fazla risk altında olduğu belirtilmektedir.[18,19]

HBV'nin dört ana bulaş yolu vardır:

1. Enfekte kan ve vücut sıvıları ile mukozal ya da kütanöz temas (perkütan): 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. [18,20]

2. Cinsel temas: En çok risk taşıyanlar homoseksüellerdir. Ayrıca eşleri HBV ile kronik enfekte olanlar, başka bir cinsel yolla bulaşan hastalığı olanlar, çok eşliler de risk altındadır.[18,20]

3. Enfekte anneden yeni doğana bulaş (perinatal-vertikal): Bulaş; nadiren gebelik sırasında ya da doğum sırasında ve doğum sonrası olabilir. HBeAg pozitif anneden doğan çocukların %70-90'ı 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 sütten kesmeyi gerektirmez.[18,20,21]

4. Enfekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temas (horizontal): 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 virion bulunur. Tükrük ve semendeki virüs yükü serumdakinden azdır ancak tükrük ve semende sürekli enfeksiyöz virionlar 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 olabilirler.[16,18,20,21]

Bu enfeksiyonun dünyada ki dağılımı coğrafi bölgelere göre farklılıklar gösterir. Dünya; düşük, orta ve yüksek endemisite bölgelerine ayrılmıştır. Sınıflandırmada; bölgedeki HBsAg ve hepatit B s antikoru (anti-HBs) pozitifliği oranları, enfeksiyonun alınma yaşı ve virüsün en sık hangi yolla bulaştığı göz önünde bulundurulmuştur. HBsAg pozitifliği dünya genelinde %0.1-20 arasındadır.[18,20,22] Enfeksiyonun epidemiyolojisine etki eden faktörlerden biri de HBV'nun genotipleridir .[18,23]

Dünya'da yılda beş milyondan fazla akut hepatit B olgusu ortaya çıkmaktadır. Akut enfeksiyondan sonra yetişkin hastaların %5'i kronik olarak enfekte kalmaktadır. Eğer enfeksiyon 1-5 yaş arası alınmışsa kronikleşme %20-50 olmaktadır.[16-18,20] Kroniklik riski hastanın enfeksiyon yaşıyla yakından alakalıdır. Enfeksiyonu doğumda kapmış bebeklerin yaklaşık %90'ında, 5-15 yaşlarındaki çocuklarda %6 oranında enfeksiyon devam eder. Bebeklerdeki yüksek kroniklik için olası açıklama viral proteinlerin transplasental geçişinden sonra fetüsün, uterustaki virüse tolerans geliştirdiğidir.[24]

HBV, HCC'nin %60-80 oranında nedenidir. HCC riski kronik HBV enfeksiyonu olanlarda olmayanlara göre 100 kat fazladır. Enfeksiyonun alınması ile HCC gelişmesi arasında geçen zaman ortalama 30 yıldır. HCC insidansı coğrafi bölgelere ve etnik yapıya göre değişiklik gösterir.[18]

2.3. Türkiye'de HBV Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

HBV enfeksiyonu, Türkiye'de karaciğer hastalıklarının en başta gelen nedenidir. Gerçekten de HBV enfeksiyonu, %6 taşıyıcılık oranı ile yaklaşık 4 milyon insanımızı ilgilendirmekte, muhtemelen yüz binleri bulan kronik hepatit ve karaciğer sirozu vakaları ile maddi ve manevi yönleri olan ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Klinik olarak

tanı konan ve tedavi edilen kronik karaciğer hastalarının ötesinde çok büyük bir grubun tanınmadığı veya tedavi şansı bulamadığı kabul edilmektedir. Ülkemizde HBV ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar, geçen 15-20 yılda diğer gelişmiş ülkelerde olduğu gibi, oldukça iyi şekilde yapılmış güvenilir ve kabul edilebilir sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmalar detaylı incelendiğinde aynı yörede yapılan aynı amaçlı çalışmalarda bile farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Ayrıca ülkemizde son 15-20 yılda HBV enfeksiyonunun daha sık görüldüğü doğu ve güneydoğu bölgelerinden genel olarak batıya ve özellikle büyük şehirlere olan göçler nedeni ile bölgelerin eski profilleri de değişime uğramıştır. Bunlara rağmen araştırmaların geneli ve yüksek vaka grupları ile yapılan çalışmaların sonuçları oldukça benzerdir ve fikir vericidir.[25,29]

Bu HBV sıklığı ile ülkemiz orta derecede endemik bölgeler arasındadır. Anti-HBs pozitifliği %30 civarındadır. Ülkemizde kronik B hepatitleri içinde HBeAg pozitifliği oranı %30-35 civarındadır. Hastalığın daha seyrek görüldüğü Akdeniz ülkelerinden daha fazla oranda HBeAg pozitifliği vardır. Genotip D enfeksiyonu %100'e yakınken HBeAg pozitifliğinin daha fazla olmasının nedeni muhtemelen genç enfekte nüfusun fazlalığı olmalıdır. Taranan çeşitli toplum gruplarında genel toplumdan daha yüksek HBsAg pozitifliği gösterenler işitme engelliler, temizlik işçileri, berber ve kuaförler, kasaplar, kahvehane çalışanları ve mahkumlardır.[26] Kronik HBV enfeksiyonu ya da kronik hepatiti olan hastalarda ülkemizde baskın HBV genotipi genotip D'dir.[18,23,27] Serolojik subtip ise ayw'dir.[26] Toplumun genelinde yapılan taramalarda HBsAg pozitifliği ülkemizde %1.7-21 arasıdır. HBsAg pozitifliği en yüksek oranda sırasıyla Eskişehir, Antalya, Diyarbakır, Adana, Elazığ, Erzurum ve Sivas'ta bulunmuştur.[18,20,28] HBV'nin bulaşım yolları ile ilgili araştırmalarda %40-50 vakada bulaşım yolu tespit edilememektedir.[29-31]

Ülkemizde gebelerde HBsAg pozitifliğine rağmen e-antijen pozitifliğinin düşük olması vertikal bulaşım oranını düşürmektedir. Buna karşılık aile içi, okul içi ve kapalı topluluklar içi yakın temasa bağlı horizontal geçiş temel bulaşım yolu olarak görülmektedir. Gerçekten de HBV'li hastaların ailelerinde %60 aile içi bulaş tespit edilmiştir. Ayrıca ilköğretim çocuklarında HBsAg pozitifliğinin horizontal yolla ilk sınıflarda %2 iken zamanla %5'e ve lise son sınıfta %7'ye yükseldiği gösterilmiştir.[25] Ülkemizde risk grupları içinden HBV seroprevalansının en çok araştırıldığı grup sağlık çalışanlarıdır. Sağlık çalışanları, yaptıkları girişimler özellikle de girişimsel işlemler

nedeniyle risk altındadır.[18,20] Girişimsel işlemler sırasında sağlık personeline HBV geçme olasılığı milyonda 2.400'dür.[18, 32]

HBsAg pozitifliği sağlık çalışanlarında %1.9-15.6, anti-HBs pozitifliği %11. 4-56.0'dır. İzole hepatit B kor antikoru (anti-HBc) total pozitifliği oranı ise %3.1-5.7 arasında belirtilmiştir.[18] Sağlık çalışanlarında anti-HBs pozitifliği diğer gruplara göre yüksektir. Bu yükseklik genellikle pasif bağışıklığa bağlıdır. HBV seroprevalansı ile hizmet süresi arasında ilişki bulunmuştur.[18,28,33]

Hemodiyaliz hastaları, ilaç bağımlıları, organ nakli yapılanlar ve homoseksüellerde anti-HBc pozitifken HBV-DNA %40 oranında pozitiftir. Genel olarak izole anti-HBc pozitifliği %50-60 oranında yalancı pozitifliktir.[18,34] Ülkemizde HBV ile mücadelede bulaş yollarının kesilmesi hayati derecede önemlidir. Genel önlemlerin yanısıra gebelerin kontrolü, yenidoğan ve çocukların aşılanması gereklidir. Ayrıca bugüne kadar ihmal edilen HBV'li hasta yakınlarının kontrolü ve aşılanması mutlaka ele alınmalıdır. Ülkemizde HBV bulaşının önemli kısmı çocukluk ve genç erişkinlik döneminde olmaktadır.[25,29,30] Ayrıca bu vakaların hepatit D virüs (HDV) süperenfeksiyonu ve HCC yönünden de zaman zaman takipleri yararlıdır.[25] Yaşam şartlarında ve HBV enfeksiyonlarının tanısında iyileşme olmasına, toplu aşılama programlarına rağmen HBV enfeksiyonları gerek dünyada gerekse ülkemizde önemli bir halk sağlığı sorunu olarak devam etmektedir.[18]

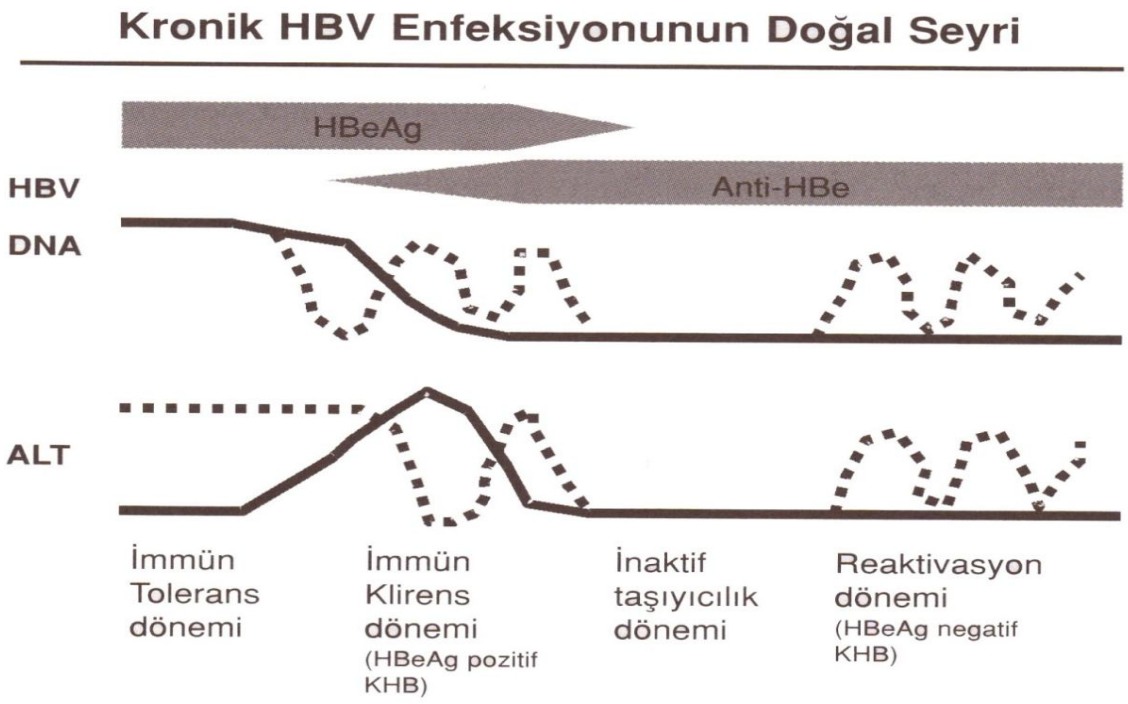
2.4. Kronik Hepatit B Virüs Enfeksiyonunda Klinik

Kronik hepatit B, HBV enfeksiyonunun ciddi sonucudur. HBV bulaşan insanların dörtte bir ile üçte bir oranında ilerleyici karaciğer hastalığına yakalanmaları beklenir (siroz ve primer karaciğer kanseri de dahil). Kronik HBV enfeksiyonlu bütün yaş grupları arasında %15 ile %25'inin, bu koşullardan dolayı genç yaşta öleceği tahmin edilmektedir. Kronik hepatit B'li hastalar için hayatta kalmanın en önemli belirleyicisi, hastaların tıbbi yardım için ilk geldikleri andaki karaciğer hastalığının boyutudur.[35]

Yenidoğan ve infant döneminde enfeksiyon kazanıldığında %95 civarında kronikleşme görülürken, neonatal periyod sonrası ilk 6 yaş içerisinde bu oran %30 civarındadır. İmmün tolerans dönemi olarak ta adlandırılan bu dönemde virüsle infekte hepatositlere karşı yeterli immün cevap oluşmadığından virüs yüksek miktarda

çoğalmakta ancak, hepatositlerde hasar oluşmadığından transaminaz yüksekliği saptanmamaktadır. Bu hastalarda HBeAg pozitif olarak saptanır ve serokonversiyon olasılığı da çok düşüktür. HBeAg pozitif kronik hepatit olarak adlandırılır. HBV enfeksiyonu replikatif ve non replikatif (veya düşük replikatif) faz olmak üzere, virüs-konak ilişkisine dayalı dinamik bir seyire sahiptir. Düşük endemisite gösteren alanlarda enfeksiyon primer olarak adolesan ve erişkin çağda, cinsel ilişki veya intravenöz ilaç bağımlılığı, kan transfüzyonu gibi yollarla kazanılır. Bu şekilde erişkin çağda akut HBV enfeksiyonu geçirildiğinde ise, hastaların sadece %3-5 kadarında ve özellikle erkek hastalarda kronik HBV enfeksiyonu gelişir ve genellikle asemptomatik seyreder. Kronik enfeksiyon gelişme oranındaki bu farklar büyük olasılıkla, etkenle karşılaşıldığında konağın immün cevabının gelişimi ile ilgilidir. Bu olguların bir kısmında virüsün prekor bölgesindeki mutasyon nedeni ile HBeAg yapılamaz. Bu durumda HBV-DNA düzeyleri düşüktür veya saptanamaz, aminotransferazlar normal seviyededir. Bu klinik tablo "inaktif HBsAg taşıyıcılığı" olarak anılır. Eğer HBV-DNA ve aminotransferaz düzeyleri yüksek ise HBeAg negatif kronik hepatit kliniği söz konusudur.[36-38]

Kronik Hepatit B enfeksiyonunun doğal seyri Şekil 3'de özetlenmiştir.



Şekil 3. Kronik Hepatit B Enfeksiyonunun Doğal Seyri (Kaynak 39).

HBeAg negatif kronik hepatit B'li hastalar, HBeAg pozitif kronik hepatit B'li hastalardan daha düşük HBV-DNA seviyelerine sahip olma eğilimindedirler (2.000-20 milyona karşı 200.000-2 milyar IU/ml) ve çoğunlukla daha dalgalı bir seyir gösterirler. Bu hastalar ayrıca daha yaşlıdırlar ve HBeAg negatif kronik hepatit B, kronik HBV enfeksiyonunun daha sonraki aşamasında belireceği için daha ileri seviyede karaciğer hastalıklarına sahiptirler.[40]

Kronik viral hepatitli hastaların büyük çoğunluğu asemptomatiktir ve hastalar genellikle enfekte olduklarının farkında değildirler. Bir kısım hastada halsizlik, yorgunluk, bulantı, üst abdominal ağrı, kas ve eklem ağrıları gibi nonspesifik şikayetlere rastlanılabilir. Ayrıca hastalarda anksiyete başta olmak üzere birtakım psikiyatrik semptomlar, endişe hali, düşüncelerini yoğunlaştırmada güçlük, kas gerginliği, uyku bozuklukları, depresyon görülebilir.[38,41]

Görülebilen diğer semptomlar ise; sarılık, örümcek nevüs, splenomegali, asit gibi son evre karaciğer hastalığına ait bulgulardır, ya da karaciğer dışında etkilenen organların eşlik eden hastalıklarına aittir. Kronik hepatit B enfeksiyonunda poliarteritis nodosa, vaskülitik raş, glomerülonefrit, ateş ve poliartralji gibi ekstrahepatik hastalıklar görülebilir. Dolaşımda HBsAg ve anti-HBs kompleksleri, damar duvarında kriyoproteinler ve HBsAg demonstre edilebilir. Kronik viral hepatit B'li olgular arasında aminotransferaz düzeyleri yüksek ve viral replikasyon göstergeleri pozitif saptananlarda aktif viral replikasyon sürdüğünden hastalıkta genellikle ilerleme görülür. Kronik hepatit B enfeksiyonunun en önemli komplikasyonları siroz, portal hipertansiyon, asit, özefagus varis kanaması, hepatorenal sendrom ve HCC olarak sıralanabilir. Bu olguların %15-20'sinde 5 yıl içerisinde siroza ilerleme, sirozlu hastaların %20'sinde ise HCC saptanır. Kronik HBV enfeksiyonu olan olguların her yıl %1-10 kadarında spontan HBeAg/anti-HBe serokonversiyonu görülür ve genellikle karaciğer hastalığında alevlenme ile birliktedir. HBsAg kaybının görülme olasılığı ise yılda %1-2 civarındadır.[38] Erişkin hastalarda kronikleşme olduğunda belirgin bir immün tolerans dönemi gelişmeden hastalık seyrine devam edebilir. HBeAg pozitif hastalarda ilk tanıda %10-24 siroz görülme ihtimali varken HbeAg negatif hastalarda bu oran ilk tanıda %30-40'tır.[26]

2.5. Kronik HBV'de Tanı

Kronik hepatit B'nin tanısında, biyokimyasal parametre olarak ALT yüksekliği, serolojik parametre olarak HbeAg ile HBV-DNA pozitifliği ve histopatolojik parametre olarakta HAİ esas kriterleri oluşturmaktadır. Ayrıca hastaların takip, tedavi ve prognozlarının belirlenmesinde bu kriterler büyük önem taşır.[3,42] Aslında, anti-HBe pozitif kronik hepatit B'li hastalarda kor promoter ve prekor mutasyonların araştırılması gerekmektedir. Çünkü bu hastaların prekor mutant tip taşıyıp taşımadığını bilmeden HBV viral yükü ile 'e'antijen durumu arasındaki korelasyon hakkında kesin yorum yapabilmek zordur. Ancak yakın zamanda yapılmış bir çalışmada, HBeAg negatif kronik HBV enfeksiyonunda kor promoter veya prekor stop kodon mutasyonlarının aksine serum HBV-DNA düzeyi ile viral genotipin daha şiddetli karaciğer hasarıyla ilişkisi olduğu gösterilmiştir.[3,43]

Serolojik tanı yöntemleri: HBV ile enfeksiyon oluştuğunda organizmada virüse ait çeşitli antijenlere (HBsAg, HbcAg ve HBeAg) karşı antikorlar meydana gelmektedir. HBV enfeksiyonlarının özgül tanısını yapmak amacıyla hasta serumunda bu antijenlerin ve antikorların varlığı araştırılmaktadır. Bunların saptanması için günümüzde duyarlılığı, özgüllüğü ve verimliliği yüksek serolojik yöntemlerden faydalanılmaktadır. Bu amaçla başlangıçta radioimmunoassay (RIA) yöntemleri kullanılırken, bugün bunlar yerlerini Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay (ELİSA) testlerine bırakmışlardır. Bu testlerden; akut ve kronik enfeksiyonun ayrımında, enfektivitenin değerlendirilmesinde, bağışıklık durumunun tayininde, kan ve organ vericilerinin taranmasında yararlanılmaktadır. Bu serolojik göstergelere göre, çoğu zaman HBV enfeksiyonlarının gidişinde beklenen bir seyir izlenmekle birlikte, bazen beklenenin dışında tablolarla karşılaşılabilmektedir. Böyle durumlarda serolojik çalışmaların yanısıra yapılacak moleküler çalışmalar bu sürpriz tabloları çözmemizde bize yardımcı olmaktadır.[44]

Akut HBV enfeksiyonundan sonra HBsAg serumda 6 aydan daha uzun süre pozitif olarak kalıyorsa, bu durum bize hastalığın kronikleştiğini düşündürmektedir. Bu antijenle ilgili diğer bir önemli nokta da şudur; hasta serumunda HBsAg'nin saptanması bize HBV enfeksiyonu olduğunu göstermekte ancak enfeksiyonun akut mu yoksa kronik mi olduğunu ayırt etmemektedir. Bunun yanısıra HBV aşılaması sonrasında kısa

bir süre için serumda HBsAg pozitifliği saptanabilmektedir, ancak olgunun izlenmesi durumunda HBV ile ilgili diğer göstergelerin ortaya çıkmaması ve kısa sürede HBsAg pozitifliğinin ortadan kaybolması ile akut enfeksiyondan ayırt edilebilmektedir.[44-46]

HBsAg ölçümü, hepatit B enfeksiyon riski olan kişilerde, ALT elevasyonlu kişilerde ya da karaciğer hastalığı kanıtlanmışlarda ve herhangibir nedenle immünsupresif tedavi alan ya da kemoterapi uygulananlarda yapılmalıdır.[24] Kronik hepatit B dinamik bir hastalıktır ve hastalar bir fazdan diğer faza gidip gelebilirler, aktif hastalıktan inaktif hastalığa geçebilirler. Aktivasyon periyotları sırasında, HCC veya siroz ve komplikasyonları ile sonuçlanan ilerleyici karaciğer hasarı gelişebilir. Böylece, serumda HBsAg varlığı ılımlı, ciddi veya ilerleyici olabilen akut veya kronik hepatit B'yi gösteren sınırlı yorum yapılabilen bulgudur.[47]

Akut enfeksiyon sırasında genellikle HBsAg'nin ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra HBeAg ortaya çıkmakta ve HBsAg'den önce de ortadan kaybolmaktadır. Serumda HBeAg'nin varlığı bulaşıcılık, enfektivite ve aktif viral replikasyon ile ilişkilidir. HBeAg'nin ortadan kalkmasından (genellikle 12-14 haftada ortadan kaybolur) kısa bir süre sonra anti-HBe antikorları ortaya çıkmaktadır. Bazı olgularda çok kısa bir süre HBeAg ve anti-HBe serumda birlikte pozitif bulunabilmektedir. Anti-HBe antikorlarının ortaya çıkması viral replikasyonun azaldığını ve hastalığın iyileşmeye doğru gittiğini göstermektedir. Ancak bazen beklenen bu durumların dışında tablolara rastlanabilmektedir. Bunlardan biri, HBV-DNA'sının prekor bölgesinde meydana gelen mutasyon sonucu oluşan mutant suşların meydana getirdiği enfeksiyon sırasında hastada anti-HBe pozitifliğine rağmen aktif viral replikasyonun mevcut olduğu bir enfeksiyon tablosunun görülebilmesidir. Bir diğer sürpriz tablo da, hastada HBeAg'nin sentezlenmesine rağmen serumda aktif viral replikasyonun göstergesi olan HBV-DNA'nın saptanmamasıdır. Yani hastalarda bazen serumda anti-HBe'nin varlığı aktif viral replikasyonun bittiğini göstermemekte veya bunun aksine HBeAg varlığına rağmen aktif viral replikasyon olmayabilmektedir. Dolayısıyla sonuçların yorumlanmasında tek bir göstergeye bağlı kalmanın bazen yanıltıcı neticelere yol açabileceğini unutmamak gerekir.[44]

HBeAg'nin serumdaki varlığının 3-4 aydan uzun sürmesi kronik HBV enfeksiyonuna gidişi ifade etmektedir. Kronik HBV enfeksiyonunda HBeAg'nin pozitifliğini sürdürmesi ağır karaciğer hastalığı gelişmesi riskini arttırmaktadır.[44,48]

Bugün serolojik tanıda kor bölgesi ile ilgili kullanabileceğimiz gösterge anti-HBc antikorlarıdır. Anti-HBc, HBsAg saptandıktan kısa bir süre sonra ve anti-HBs ortaya çıkmadan önce görülmektedir. İlk başta anti-HBc'nin hakim immünglobulin sınıfı IgM'dir. Anti-HBc IgM enfeksiyon başladıktan birkaç hafta sonra pik seviyelere ulaşır, bundan sonra titresi azalmaya başlar ve ortaya çıktıktan 4-8 ay (bazen 12 ay) sonra ortadan kaybolur (HBsAg'den oldukça uzun bir süre kanda kalmaktadır). Anti-HBc IgM sınıfı antikorlarının görülmesinden bir süre sonra IgG sınıfı antikorlar da ortaya çıkmakta ve bunlar genellikle hayat boyu saptanabilir düzeylerde kalmaktadırlar. [44]

Anti-HBc IgM ile ilgili önemli özelliklerden bir tanesi, akut HBV enfeksiyonunun pencere dönemi esnasında (HBsAg ve anti-HBs antikorunun saptanamadığı dönem) enfeksiyonun tek göstergesi olduğudur (pencere döneminin uzadığı olgularda anti-HBc IgM ortadan kaybolur ve sadece anti-HBc IgG antikorları pozitif olarak saptanabilir) ve bu dönemde serum enfeksiyöz olarak kabul edilmektedir. Diğer önemli özellik, anti-HBc IgM'nin sadece akut dönemde değil kronik HBV enfeksiyonunun akut alevlenmeleri sırasında da pozitifleşmesidir. Ancak akut dönemdeki IgM titresi oldukça yüksek düzeyde iken, kronik enfeksiyon sırasında düşük seviyelerde olmaktadır. Anti-HBc IgG'nin pozitifliği kişinin HBV ile karşılaştığını göstermektedir ama akut, kronik veya eski enfeksiyonu birbirinden ayırt etmemektedir. Bütün serolojik göstergelerin negatif olmasına karşılık tek başına anti-HBc IgG pozitifliği şu durumlarda saptanabilir;

a) Hepatit B enfeksiyonundan iyileşmiş ve anti-HBs düzeyi saptanamayacak seviyeye inmiş kişiler. Böyle bir kişiye tek doz HBV aşısı yapılırsa 2 hafta sonra anamnestik bir reaksiyon sonucu anti-HBs yanıtı alınır.

b) HBsAg'nin saptanamayacak kadar düşük seviyede olduğu kronik enfeksiyonlu kişiler.

c) Uzamış pencere dönemi. Pencere dönemi uzarsa anti-HBc IgM antikorları, anti-HBc IgG antikorları ile yer değiştirir.

d) Yalancı pozitiflik.

e) Kan transfüzyonunu takiben veya anneden bebeğe antikorların pasif olarak aktarımı. Bunlar 3-6 ay içinde tedricen ortadan kaybolurlar.[44-46,48]

2.6. Alanin Aminotransferaz (ALT, serum glutamik prüvik transaminaz, SGPT)

Alanin aminotransferaz enziminin koenzimi piridoksal fosfattır. Piridoksal fosfat enzim içindeki lizin rezidüsünü bağlar ve aminoasitler ile geçici Schiff temelli reaksiyon oluşturur, amino grubunu alarak oxoaside transfer eder. ALT enziminin katalizlediği reaksiyonda alanin alfa amino grubunu ketoglutarik asidin alfa keto grubuna transfer ederek prüvik asit oluşmaktadır. Bu reaksiyon kısaca; Alanin+alfa-ketoglutarat=prüvat+glutamat şeklinde özetlenebilir. ALT enzimi hepatosit içinde sadece sitoplazmada mevcuttur. ALT enzimi karaciğer dışındaki dokularda düşük konsantrasyonda olduğu için yüksek serum ALT seviyelerinin karaciğer hasarı için spesifik olduğu düşünülmektedir. ALT enzimi genellikle aspartat aminotransferaz (AST) enzimi ile paralel olarak yükselme eğilimindedir. AST'de yükselme olmaksızın ALT'nin hafif veya orta derecede yüksekliği kronik hepatitlerin ve karaciğer yağlanmasının özelliğidir.[49] Kronik hepatitte, hastalığın akut fazının ardından serum ALT seviyeleri düşer ancak normalin üst sınırının 1 ila 10 katı düzeyinde kalmayı sürdürür.[1]

Her iki enzim de hasarlı hücrelerden hücre membranındaki permeabilite artışına veya hücre nekrozuna bağlı olarak salınım gösterir ve bu olaylar seruma ALT veya AST kaçışına neden olarak serumdaki yüksek değerlere yol açmaktadır.[49] Serum ALT düzeyi tedavi adayı hastaların tanımlanması için önemlidir. Yüksek ALT düzeyi antiviral tedaviye yanıt için önemli bir göstergedir.[50,51] Serum ALT düzeyi kendiliğinden veya antiviral tedavi ile oluşan HBeAg kaybı sırasında veya diğer viral enfeksiyonlar nedeniyle yükselebilir.[52] ALT düzeyi normal olan olguların çoğu perinatal yolla enfekte olan çocuk ve genç yetişkinlerdir.[5]

2.7. Moleküler Tanı Yöntemleri

1980'li yıllardan itibaren serolojik tanı yöntemlerinin yanı sıra moleküler tanı yöntemlerinin de kullanımı gündeme gelmiş ve HBV konusunda çeşitli yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. Önceleri insan serum ve dokularında dot blot hibridizasyon veya sıvı ortamda gerçekleştirilen klasik hibridizasyon teknikleri kullanılarak HBV-DNA'sı saptanmıştır. Ancak bu yöntemler ile 10^5 virüs partikülü /ml belirlenebilmekte, örnekte daha az sayıda DNA varlığında yöntem yetersiz kalmaktadır. Bu sıkıntıları aşmak için, polimeraz chain reaction (PCR) gibi ortamdaki nükleik asit miktarını saptanabilir düzeye kadar çoğaltacak yöntemler geliştirilmiştir. Moleküler tanı konusundaki en önemli gelişme HBV-DNA testlerinin sensitivitesini artıran real-time PCR tekniğinin ortaya çıkması ve gelişmesidir. Bu yöntem ile sonuçlar kantitatif olarak daha kısa zamanda verilmekte ve farklı HBV genotiplerini saptamak mümkün olmaktadır. Ancak çeşitli kantitatif test sonuçları arasında standardizasyon sorunu bulunmaktadır. Aynı örneğin farklı testlerle çalışıldığı durumlarda HBV-DNA kantitasyonu farklılık gösterebilmektedir, ancak standardizasyondaki sorunları belirlemek ve çözmek amacıyla uluslararası toplantılar yapılmaktadır.[44,48]

Real-Time PCR: Real-time PCR, ışıma özelliğine sahip moleküller kullanarak, PCR'yi oluşurken izleme ve miktar belirleme (kantitasyon) yöntemidir.[53,54] PCR sırasında DNA amplifikasyonu eksponansiyel bir gidiş göstererek sonunda linear plato evresine ulaşır. Real-time PCR, eksponansiyel amplifikasyon dönemini izleyebilme ve başlangıçtaki nükleik asid miktarını bu aşamada hesaplayabilme olanağı sağlar. Bu dönemde, çoğalmakta olan nükleik asidden elde edilen sinyalin, eşik değeri aşarak saptanabilir hale geldiği döngü sayısı ("threshold cycle", CT) belirlenir. Örnekteki hedef nükleik asid sayısı ne kadar çoksa, sinyal o kadar erken bir döngüde saptanır. Sinyalin saptanabilir aşamaya geldiği döngü sayısı, standart eğri yardımıyla nükleik asid miktarının hesaplanmasında kullanılır. Real-time PCR'ın, klasik PCR yöntemine üstünlükleri şunlardır:

- İyi tasarlanmış bir real-time PCR ile geniş bir dinamik aralıkta (en az 6 log) kantitasyon yapılabilir.
- Hesaplanan viral yük, gerçeğe daha yakındır ve tekrarlanabilirliği yüksektir.

- PCR sonrası ürünün saptanması için ek işlem gerekmez, daha hızlıdır. Amplikonlara bağlı kontaminasyon riski düşüktür.[54]

Günümüzde HBV ile ilgili çalışmalarda moleküler yöntemler kullanılarak HBV-DNA araştırılması gittikçe yaygınlaşmaktadır. Moleküler yöntemlerin kullanım alanlarının; serolojik yöntemlerin tanıda yetersiz kaldığı durumlar, mutant suşların öneminin ve antiviral ilaç direncinin belirlenmesi, antiviral tedaviye karar verme ve tedavinin izlenmesi, genotip tayini ve HCC oluşum mekanizmalarının aydınlatılması olduğunu görmekteyiz.[44]

2.8. Kronik Hepatit B Enfeksiyonunda Karaciğer Histopatolojisi

Birçok hepatit B enfeksiyonunun direkt sitopatik etkili olmadığı görünmektedir. Daha doğrusu karaciğer dokusu hasarı, virüsü eradike etmek amaçlı immünolojik cevabın sonucudur. Örneğin immün sistemi HBV antijenine karşı minimal reaktif veya nonreaktif sağlıklı taşıyıcı bireylerde virüs ya çok az hasar oluşturur veya hiç oluşturmaz.[55] Enfeksiyonu akut fazda temizleyen kişilere karşılık kronik hepatit B'ye ilerleyen kişilerde CD4+ ve CD8+ sellüler cevabının periferik kanda azaldığı görülmüştür.[56,57]

Böyle bir düşük cevap viral sebatın sürmesine katkıda bulunabilir. Enfekte hücrelerdeki viral antijenlerin ekspresyonunu azaltarak immün cevaptan kaçmalarını sağlayabilir ama bu virüsleri elimine etmeye yetmez.[56] Çeşitli enfeksiyöz ajanlar değişik oranlarda klinik ilerleme gösterirken bu ajanlar birçok farklı hasar mekanizması oluştururlar ve karaciğer bu hasara ortak mekanizmayla cevap verir.[58]

Karaciğer biyopsisi hepatit B'li hastaların tedavi algoritmasında önemli bir rol oynar ve hepatik patolojinin değerlendirilmesinde altın bir standarttır. Hepatit B'nin patolojisi çeşitlidir ve enfeksiyonun doğal seyrini yansıtır. Beta-katenin gibi adezyon moleküllerinin immüno ekspresyonu kronik hepatit B'de nekro-enflamatuar skorlarla ilişki göstermektedir. Fibröz evre kuşkusuz, kronik hepatit B'de ki en önemli histolojik prognostik faktördür. Karaciğer histolojisi, HBeAg negatif hastalarda viral yüklerle korele olabildiği halde HBeAg pozitif hastalarda özellikle de immüntoleran aşamada

iseler böyle bir korelasyon söz konusu değildir. Karaciğer viral yükleri serum HBV-DNA'dan daha iyi histolojik korelasyon gösterir.[59]

Kronik viral hepatit, hepatotrofik virüslerin neden olduğu, tüm karaciğerde iltihabi hücre infiltrasyonu, hepatosit ölümü, atrofisi, regenerasyonu ve fibrozis gelişmesi ile karakterize bir hastalıktır. Bulgular karaciğerde nekroenflamasyonun (Grading-HAİ) ve fibrozisin (staging) derecelendirilmesi ile değerlendirilir.[60] İltihabi infiltrasyon ön planda lenfositlerden oluşur. Bunlara plazma hücreleri ve polimorf nüveli lökositler de eşlik edebilirler. Bu hücreler portal bölgelerde, periportal bölgelerde ve lobüllerin içinde yer alırlar.[61]

Portal iltihap: Portal alanlardaki mononükleer enflamasyon herhangibir nedenli kronik hepatitte bulunan lezyondur. Bir kısmı veya bütün portal alan tutulmuş olabilir ve bu portal infiltratlar akut viral hepatitteki görünümünden genellikle çok daha yoğun biçimdedir. Portal alan normal hacimde olabileceği gibi mononükleer hücrelerin içeriye akını ile genişlemiş olabilir.[62] İltihabi hücre infiltrasyonu her portal bölgede değişik yoğunlukta olabilir. Lenfositlerin miktarı arttıkça hastalığın seyri de ağırlaşır. Portal bölgeler genişler. Lenfosit toplulukları bazen lenf follikülü oluşturacak şekilde organize olabilirler. Lenfositler genellikle CD4+ helper T lenfositleridir. Periodik Asit Shiff (PAS) (+) makrofajlar da görülebilirler. Bu makrofajlar demir pigmenti içerebilir. Genişleyen portal bölgelerde zamanla fibrozis gelişir. Buradaki safra kanalları ve vasküler yapılar genellikle zarar görür.[63] Ayrıca enflamasyon, portal kan damarları özellikle portal venlere saldırır ve bu durum yeni veya organize olmuş venöz trombozu akla getirir.[64]

Güve yeniği nekrozu (Piecemeal nekrozis-interface hepatitis): Periportal bölgenin mezenkimal dokusunun bittiği (limiting plate-sınır çizgisi), parankimdeki hepatositlerin başladığı bölgede nekrozun gelişmesidir. Buradaki lenfositler hepatositleri çevreleyerek nekroza-apoptozise götürür. Eski terminolojide ki kronik aktif hepatitin en önemli bulgusu güve yeniği nekrozudur. Buradaki mononükleer hücreler ön planda CD8+ sitotoksik/supresör T lenfositleridir. Plazmositler ve makrofajlar da daha seyrek olarak bulunurlar. Bu lezyonun gelişiminde lenfositler önce hepatositleri çevreler, daha sonra hepatosit sitoplazma membranında invaginasyon oluştururlar (emperipolezis). Bu şekilde hepatositlerin içine girerek apoptozise yol açarlar.[65,66]

Hepatosit nüvesinde hiperkromatik görünüm, sitoplazmada eozinofili ve daha sonra da parçalanma meydana gelir. Şiddetli aktif enflamasyon durumunda bazen hepatositlerde rozet formasyonu gözlenebilir.[61]

Lobüler hepatit: Hepatik lobulüsler içerisinde de mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu görülür. Bu infiltrasyonda küçük, düzensiz yama tarzında nekrozlar (odaksal nekroz) saptanır. Bazen mononükleer iltihabi hücre olmadan, apoptotik hepatositlerin oluşturduğu asidofilik cisimler ve ayrıca PAS (+) makrofajlar da görülebilir. Bu alanlarda kollagen ve retikülin liflerinde düzensizlik ve artış dikkati çeker. Nekroz alanları birleşerek daha geniş alanları kaplarlar. Bunlara birleşen nekrozlar (confluent necrosis) adı verilir. Eğer bu nekrozlar santral venler arasında ya da santral venler ile portal bölgeler arasında olursa köprüleşen nekroz (bridging necrosis) olarak tanımlanırlar. Köprüleşen nekrozların varlığında karaciğerin dolaşım sistemi etkilendiğinden hasar daha ağır olur. Köprüleşen nekrozlar yerinde fibrozis gelişmesi nedeniyle siroz oluşma olasılığı artar. Bazen aktivasyonun şiddetli oluşuna bağlı olarak panlobüler nekroz gelişir ve portal, lobüler yapı iyice bozulur.[62,66]

Fibrozis: Kronik hepatitlerde fibrozis değişik şekillerde görülür. Fibrozis portal bölgelerde, perivenüler ve perisellüler olarak gelişir. Portal bölgelerden septumlara doğru ilerleyerek portal-septal, portal-portal, lobül içerisine ilerleyerek portal-santral olabilir. Ayrıca güve yeniği nekrozu, birleşen nekroz ve köprüleşen nekroz bölgelerinde de görülür. Nekroz bölgesinde önce retikülin çatıda kollaps meydana gelir, daha sonra bu alanlarda fibröz doku gelişir. Fibröz doku kollagen (özellikle tip 1 ve 3), elastin ve retikülin liflerinden meydana gelir. Fibrozisin ilerlemesi siroz ile sonuçlanır. Bu bölgelerde safra kanalı proliferasyonu sık görülür. Hepatositlerde rejenerasyon meydana gelmesi sonucu hepatosit kordonları kalınlaşır. Siroz genellikle makronodüler, daha az sıklıkla da mikst tiptedir. Bazen hepatositlerde büyük ve küçük tipte displaziler ve daha ileri dönemde karaciğer hücreli karsinom meydana gelebilir.[62,66] Hepatositlerin rejenerasyonunun artışı, fibröz septa formasyonu oluşumu ve hastalığın evresinin ilerlemesiyle paralellik gösterir. Bu rejenerasyon kalınlaşmış karaciğer hücrelerinin ikiye, üçe bölünmesiyle oluşur. Hematoksilen-eozin (H&E) ve retiküline has gümüş boyalarla bu değişiklikler gösterilebilir. Fibrotik olan portal alan etrafında tamamlanmamış periportal nodüler transformasyon da bulunabilir.[67]

Hepatit B virüsünün morfolojik olarak gösterilmesi: HBsAg hepatosit sitoplazmasında ve sitoplazma zarında birikir. Bu birikim H&E boyası ile pembe renkte ince granüllü buzlu cam görünümünde izlenir. Bu, hastalığın etiyolojisi ile ilişkili en önemli histolojik bulgudur. H&E boyası ile hepatosit sitoplazmalarında buzlu cam şeklinde görünüm onkositik hepatositlerde, cyanamide toksisitesinde, Lafora hastalığında, fibrinojen depo hastalığında da dikkati çeker. Bu nedenle, bu morfolojik bulguyu histokimyasal, immünhistokimyasal ve elektron mikroskopik yöntemler ile tanımlamak gerekir. HBsAg orsein, aldehid fuksin ve victoria mavisi boyaları ile görüntülenebilir. Enfekte hepatositlere buzlu cam görünümünü veren, bu hücrelerin yoğun HbsAg içeren ve ileri derecede prolifere olarak diğer organelleri ve nükleusu bir tarafa iten endoplazmik retikulumudur. Bu hepatositler genellikle tek tek ya da düzensiz küçük gruplar halinde bulunurlar. Biyopside yaygın buzlu cam görünümünde hepatositler bulunması ve enflamasyon olmaması ya da minimal enflamasyon ile karşılaşılması hastanın taşıyıcı olduğu yönünde bulgulardır. Ayrıca HBsAg dışında HBcAg, HBeAg, hepatit B x antijen (HBxAg) de immünhistokimyasal yöntem ile görüntülenebilir.[62,68]

HBV ile enfekte olan hepatositlerde yoğun HBcAg varlığına bağlı olarak "kumlu"görünümde nükleuslar gözlenebilir. Yoğun HBcAg varlığı aktif viral replikasyonu işaret eder.[69] HBcAg için yapılan immünhistokimyasal boyama lokalizasyonun ağırlıklı olarak nükleusta daha az ihtimalle de sitoplazmada olduğunu veya hücre membranıyla ilişkide olduğunu gösterir.[70,71]

Nükleer boyanmanın mevcudiyeti aktif viral replikasyonla iyi koreledir. Bu da karaciğer ve serumda HBV DNA, DNA Polimeraz ve HBeAg ile gösterilir.[72,73] Diğer yandan core antijen için sitoplazmik boyanma ise hepatosit rejenerasyon aktivitesiyle çok iyi koreledir.[74,75] Örnekte, nükleusun yaygın bir şekilde baştan başa boyanması ise durdurulamayan, dizginlenemeyen viral replikasyonu düşündürür. Bu da organ transplantasyonu ve Human İmmunodeficiency Virus (HIV) enfeksiyonu gibi immünitenin baskılandığı durumlarda görülür.[76,77]

3. MATERYAL ve METOD

Çalışmamız Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Hastaların Seçimi ve Grupların Belirlenmesi

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniklerine Şubat 2007-Temmuz 2009 tarihleri arasında müracaat eden HBV ile enfekte olan, kronik karaciğer hastalığı tanısı alarak, tedavi öncesinde histopatolojik tanı için onay verdikten sonra karaciğer biyopsisi yapılan ve kronik hepatit B teşhisi konan toplam 80 hasta çalışmaya alınmıştır. Hastalar HBeAg/anti-HBe durumuna göre HBeAg pozitif anti-HBe negatif olanlar (HBeAg pozitif), HBeAg negatif anti-HBe pozitif olanlar (anti-HBe pozitif) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Yaşlarına göre ≤ 29 olanlar yaş grubu 1, 30-40 yaş arası olanlar yaş grubu 2 ve > 40 yaş olanlar yaş grubu 3 olarak sınıflandırıldı. Hastalar ALT düzeyine göre değerlendirildiğinde ALT düzeyinin normal değerleri hastanemizde erkekler için < 45 U/L kadınlar için < 34U/L olarak belirlendiğinden normal ALT değerleri için ALT grup 1, normalin 1-2 katı yüksek değerleri için ALT grup 2, normalin 2 katından fazla ALT değerleri için ALT grup 3 olarak sınıflandırıldı. Hastalar HBV-DNA düzeylerine göre değerlendirildiğinde HBV-DNA düzeyi 10^4-10^6 kopya/ml olanlar DNA grup 1, HBV-DNA düzeyi 10^6-10^8 kopya/ml olanlar DNA grup 2, HBV-DNA düzeyi 10^8 kopya/ml'nin üzerinde olanlar DNA grup 3 olarak belirlendi. HAİ'ye göre değerlendirildiğinde HAİ 1-3 olanlar grup 1, HAİ 4-8 olanlar grup 2, HAİ 9-12 olanlar grup 3, HAİ 13-18 olanlar grup 4 olarak sınıflandırıldı. Fibrozis skoru, fibrozisin grubu olarak değerlendirildi. İleri karşılaştırma yaparken F-0 ve F-1 düşük fibrozis grubu, F-3 ve F-4 yüksek fibrozis grubu olarak sınıflandırıldı.

3.2. Çalışmaya Alınmama Kriterleri

Obez hastalar, hepatit C virüs (HCV) (+) hastalar, delta enfeksiyonu olan hastalar, batın ultrasonografi (USG)'de hepatosteatozu olan hastalar, medikal tedavi altındaki hastalar, toksik hepatit, alkolik karaciğer hastalığı, otoimmün hepatit, granülomatöz hepatit, hemokromatozis, wilson hastalığı ve diğer nedenlerle karaciğer hastalığı gelişmiş olanlar çalışmaya alınmadı.

3.3. Kimyasal Maddeler, Kullanılan Sistem ve Cihazlar

Kan numuneleri alındıktan sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi, serumları ayrıldı ve çalışmaya geçildi. Alkalen fosfataz (ALP), gama glutamil transferaz (GGT), total biluribin (T.BİL), direkt biluribin (D.BİL), ALT, AST, Albumin Roche marka hazır ticari kit kullanılarak Cobas 6000 otoanalizöründe çalışıldı. Alfa feto protein (AFP), Modüler Analytıcs E170 cihazında, cihaza uygun kit ile çalışıldı. Protrombin zamanı (PT) ve international normalized ratio (İNR) Diagnostica Stago marka, STA Compact model cihazda Neoplastine Cl Plus kit ile çalışıldı.

Kan örneklerinden mikro ELISA yöntemi (Alirad cihazı) ile Hbs Ag, Anti-HBs, HbeAg, Anti HBe, Anti-HBc IgM ve Anti-HBc IgG, real time PCR yöntemi (Biorad) ile HBV-DNA kantitatif olarak çalışıldı.

Mikrobiyolojik analiz için serum eldesi: Jelli tüplere alınan 10 cc venöz kan örnekleri oda sıcaklığında 30 dk bekletildi. Tamamen pıhtılaştıktan sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Daha sonra serum örnekleri mikro ELISA ve PCR çalışmaları için eppendorf tüplere aktarılarak çalışma gününe kadar - 80^{O}C'de saklandı. Analiz öncesi tüm örnekler - 20 ^{O}C'de daha sonra hemen çalışma öncesi ise + 4 ^{O}C'lik ortamda bekletilerek çözülmeleri sağlandı.

Kullanılan kit bilgileri

ELISA kitleri;

HBs Ag: DIA. PRO One Diagnostic Bioprobes Sri Via Columella Italy.

3. Jenerasyon surface antijeni

HBs Ab: DIA. PRO One Diagnostic Bioprobes Sri Via Columella Italy.

HBc Ab: DIA. PRO One Diagnostic Bioprobes Sri Via Columella Italy.

HBc IgM: DIA. PRO One Diagnostic Bioprobes Sri Via Columella Italy.

HBe Ag & Ab: DIA. PRO One Diagnostic Bioprobes Sri Via Columella Italy.

Nükleik asit izolasyon kiti: QIamp ®DNA Mini and Blood (ICI Amaricas Inc.)

PCR amplifikasyon kiti: Fluorion HBV QNP 2.0 HBV DNA Core kantitasyon kiti (İONTEK)

3.4. HBV-DNA İçin Nükleik Asit Saflaştırılması (Spin protokol)

1. Çalışma kapsamındaki tüm serumlar - 20 ^{O}C'de daha sonra hemen çalışma öncesi ise + 4 ^{O}C'lik ortamda bekletilerek çözülmeleri sağlandı.

2. Hasta kayıtları ve protokolleri kontrol edildikten sonra, eppendorf tüpte çözülen serumlar kapakları kontrol edilerek 2 dk. kadar vortekslendi.

3. Daha sonraki basamaklarda kullanılmak üzere ısı blokları 56 ^{O}C'ye ayarlanarak çalıştırıldı.

4. Daha sonraki basamaklarda kullanılmak üzere yıkama solüsyonları ve DNA izolasyonunda kullanılmak üzere distile sular hazırlandı.

5. Tüm örnekler için örnek miktarları ve standartlar için steril, üzerine numaraları yazılı eppendorf tüpler hazırlandı. Bu test tüplerine proteinase K (önerilen miktarlarda) 20 µl dağıtıldı.

6. Tüm test tüplerine dikkatli bir şekilde kontaminasyon olmamasına özen gösterilerek hasta ve kontrol serumlarından 200 µl eklendi.

7. Tüm örneklere 200 µl kit içerisinde bulunan Buffer AL yavaşça etrafa sıçratmadan eklendi. Karışım sıra ile kapakları sıkıca kapatıldıktan sonra 15 sn vortekslendi. Burada örneklerin iyice homojenize olmaları sağlandı. Kapaklarda kalan damlaların kontaminasyonu önlemesi için çok kısa ve küçük bir santrifüjden geçirildi.

8. Lysis için daha sonra, önceden hazırlanmış olan ısı bloklarına aktarıldı. Isı bloklarında 56 ^{O}C'de 10 dk. bekletildi. Isı bloklarından sonrada kısa bir santrifüj tekrarlandı.

9. Tüm örneklere dikkatli bir şekilde 200 µl ethanol (%96-100) eklendi. Karışım tekrar 15 sn vortekslendi. Bu safhada örnekte tüm lysis işlemleri tamamlanmış

oldu. Bundan sonra örneklerde serbest dolaşan DNA'lar, içerisinde silika bulunan spin kolonlara yüklendi.

10. Tüm spin kolonlara örnekler yüklendikten sonra 8000 rpm'de 1 dk. santrifüjlenerek üsteki örneklerin silika membrandan filtre olarak, alttaki toplama atık tüplerine süzülmeleri sağlandı. Böylece DNA'larımızın silika membranlara tutunmaları sağlandı.

11. Daha sonra spin kolon kapakları dikkatli bir şekilde açılarak yıkama basamaklarına geçildi. İlk olarak, hazırlanmış Buffer AW1 her örneğe 500'er µl kapaklarına dikkat edilerek dağıtıldı.

12. Tüm örnekler 14000 rpm'de 3 dk. santrifüjlendi. Alttaki toplama tüplerinin dökülmemesi için özen gösterilerek dolu tüple atılarak, altlarına yeni toplama tüpleri yerleştirildi.

13. Burada ise Buffer AW2 her örneğe 500 µl eklendi.

14. Tüm örnekler 14000 rpm'de 3 dk. santrifüjlendi. Alttaki toplama tüplerinin dökülmemesi için özen gösterilerek dolu tüple atılarak, altlarına yeni toplama tüpleri yerleştirildi.

15. Alkollü yıkama solüsyonlarından dolayı, silikanın kuruması için örneklerin kapakları emniyet kabininde 5 dk. kadar açık bırakıldı. Sonra 50 µl DNA eldesi için örneklere hafif ısıtılmış kit içeriğindeki AVE aynı miktarda eklenerek 8000 rpm'de 3 dk. santrifüjlenerek nükleik asit ekstraksiyonumuz tamamlandı.

DNA'ların real time PCR cihazı ile amplifikasyonu ve görüntülenmesi: Amplifikasyon için BİORAD firmasına ait thermalcycler cihazı kullanıldı. Kit olarak hasta serumunda tüm HBV genotiplerini (A-F) kapsayacak şekilde hızlı ve hassas çalışan iontek firmasına ait kit kullanıldı. Kullanılan testin lineer aralığı $2x10^7$- $1x10^3$ kopya/ml, analitik duyarlılığı $2x10^2$ kopya / ml'dir. Cihazda kullanılan kapalı sistem ile kontaminasyon riski azaltılması ve CCD kamera ile sonuçların anında değerlendirilmesi sonuçlarımızda güvenirliği artırmaktadır.

HBV polimeraz geninin epsilon bölümümde yer alan 205 baz çiftlik bölge çoğaltılmıştır. PCR ürünümüz 5' uçları floresan boyalarla, 3'uçları soğurucu (quencher) moleküllerle işaretlenmiş problar aracılığı ile reaksiyon sırasında görüntülendi.

Testlerimizde internal kontroller kullanıldı. PCR sentez aşamasında *Taq* Polimerazın ekzonükleaz aktivitesi ile probların parçalanması ile anlık iletiler değerlendirildi.

Ana karışımın hazırlanması:

– PCR Mix (HotStar *Taq* DNA polimeraz, Quanti Tect Probe PCR Tamponu, dUTP içeren dNTP karışımı, 8M $MgCl_2$) 12.5 µl

– Detection Mix 1 (Taq Man probu ve primerleri) 1.4 µl

– Detection Mix 2 (Taq Man probu ve primerleri) 1.1 µl

– dH_2O (RNaz'dan arındırılmış, ultrasaf, PCR uyumlu) 5 µl

Yukarıda verilen mix hazırlandıktan sonra her kuyucuğa 20.0 µl dağıtıldı. Dağıtılan mix'lerin üzerine çalışma kapsamındaki hasta DNA'larından 5'er µl dağıtılarak toplam 25 µl ile PCR amplifikasyon için hazırlandı. Daha sonra aşağıdaki protokole uyularak amplifikasyon (50 döngü) ve görüntüleme basamağı standartlar eşliğinde tamamlandı.

95^oC 13: 30
95^oC 00: 30
54^oC 01: 30 } 50 döngü
22^oC 10: 00

3.5. Karaciğer Biyopsisi ve Histopatolojik Değerlendirilmesi

16 G Menghini iğnesi ile 8-11. interkostal aralıktan, USG eşliğinde jedokainli lokal anestezi sonrası girilerek karaciğer biyopsisi yapıldı. En az 1 cm uzunluğunda materyaller işleme konuldu.

Karaciğer biyopsisi alındıktan sonra biyopsi hacminin yaklaşık 9-10 misli kadar olacak miktarda %10'luk nötral formalin içerisine konularak patoloji laboratuvarına gönderildi. Gönderilen biyopsinin tespit olması için 6-7 saat formalin içerisinde bekletildi. Daha sonra doku takip kasetine alınan biyopsi materyali takip edilmek üzere doku takip cihazına yerleştirildi. Bir gece doku takip cihazında takip işlemi süren biyopsi materyali daha sonra parafin bloklara gömülerek lam yüzeyine 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlerin lam yüzeyine daha iyi tutunması ve parafinin erimesi için yaklaşık 70 $^{\circ}C$'deki etüvde 10-15 dakika bekletildi ve sırasıyla

deparafinizasyon işlemi için 15 dakika ksilolde, rehidratasyon işlemi için 15 dakika saf alkolde bekletildi ve ardından musluk suyunda 1-2 dakika yıkandıktan sonra H&E ile boyamaya geçildi. İlk önce Hematoksilen solüsyonunda lamlar 5 dakika tutuldu ve ardından suda yıkandı. Sırasıyla asit alkol solusyonuna daldırılıp çıkarıldı ve suda yıkandı, amonyak solüsyonuna daldırılıp çıkarıldı ve suda yıkandı, eozin solüsyonuna daldırılıp çıkarıldı ve suda yıkandıktan sonra lamlar 3 kez alkol, 3 kez ksilolden geçirildi. Daha sonra Entellan kapatma solüsyonu ile lamellerle kapatıldı. Böylece H&E boyama işlemi tamamlandı. Daha sonra parafin bloklara gömülü karaciğer biyopsi materyalinden yine 4 mikron kalınlığında kesitler lamlara alınarak histopatolojik inceleme için PAS, Masson Tri Crome (MTC) ve Retikülin histokimyasal boyamaları gerçekleştirildi. Sonuç olarak elde edilen preparatlar ışık mikroskobunda Knodell skorlama sistemine göre değerlendirildi (Tablo 1).

Tablo1. Knodell Sınıflaması (Kaynak 78).

Periportal +/- köprüleşme nekrozu (piecemeal nekrozis)	**Skor**
Yok	**0**
Hafif Piecemeal Nekrozis	**1**
Orta Derecede Piecemeal Nekrozis (portal alanların çoğunda %50'den az olacak şekilde)	**3**
Belirgin Piecemeal Nekrozis (portal alanların çoğunda %50'den fazla olacak şekilde)	**4**
Orta Derecede Piecemeal Nekrozis + köprüleşme nekrozu	**5**
Şiddetli Piecemeal nekrozis + köprüleşme nekrozu	**6**
Multilobüler nekrozis	**10**

İntralobüler dejenerasyon ve fokal nekrozis	**Skor**
Yok	**0**
Hafif (asidofilik cisimcikler, balonlaşma dejenerasyonu ve/veya lobül veya nodülün 1/3'den az kısmında fokal nekrozlar)	**1**
Orta derecede (lobül veya nodülün 1/3-2/3 kısmında fokal nekrozlar)	**3**
Şiddetli (lobül veya nodülün 2/3'den fazlasını etkileyen fokal nekrozlar)	**4**

Portal iltihap	**Skor**
Yok	**0**
Hafif (İltihap hücreleri portal alanın 1/3'den az kısmında belirgin)	**1**
Orta (İltihap hücreleri portal alanın 1/3-2/3 kısmında belirgin)	**3**
Şiddetli (İltihap hücreleri portal alanın 2/3'den fazlasında belirgin)	**4**

Fibrozis	**Skor**
Fibrozis izlenmedi	**0**
Fibröz portal genişleme	**1**
Köprüleşen fibrozis	**3**
Siroz	**4**

Tablo 2. Histolojik Aktivite İndeksine Göre Kronik Hepatit Tanımlaması.

Histolojik Aktivite İndeksi	**Yeni Tanımlama**
1-3	Minimal Kronik Hepatit
4-8	Hafif Kronik Hepatit
9-12	Orta Kronik Hepatit
13-18	Ağır Kronik Hepatit

3.6. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 11.5 istatistik programıyla analiz edildi. Sonuçlar sayı, yüzde, ortalama ve standart sapma olarak verildi. Sürekli değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmaları parametrik koşullar sağlandığında T-testi veya tek yönlü varyans analizi (ileri karşılaştırmaları Scheffe testi ile), non-parametrik koşullarda ise Mann-Whitney U veya Kruskal Wallis testi ile analiz edildi. Kategorik değişkenler Ki-kare testi ile (gerektiğinde Fisher's Exact test ile) analiz edildi. Bazı sürekli değişkenler arasında Pearson korelasyon analizi yapıldı. İstatistiksel önemlilik düzeyi $p< 0,05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmamızdaki toplam 80 kronik hepatit hepatit B'li hastanın 60'ını (%75) erkek, 20'sini (%25) kadın hasta grubu oluşturuyordu. Hastalar 18-71 yaşları arasında olup ortalama yaş 35,9 ± 11,3 olarak tespit edildi. 80 hastanın sadece 7'sinde (%8.8) anti-HBcIgM pozitif olarak saptandı. Hastaların 32'sinde (%40) HBeAg pozitif, 48'inde (%60) anti-HBe pozitif olarak saptandı.

Cinsiyete göre yaş ortalaması erkek hastalar için 35,7 ± 10,4 olup kadın hastalar için 36,7 ± 13,9'dir (p > 0,05). İki grup arasında yaş ortalaması açısından istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Cinsiyete Göre Yaş Ortalaması.

Cinsiyet		**Hasta Sayısı (n)**	**Ortalama**	**Std. Sapma (±)**
YAŞ	Erkek	60	35,7	10,4
	Kadın	20	36,7	13,9

Yaş gruplarına göre HBV-DNA ortalamalarına bakıldığında p=0,018 olup, HBV-DNA düzeyleri açısından yapılan ileri karşılaştırmalarda 1. ve 2. yaş grubu arasında p=0,032 bulundu. İstatistiki olarak anlamlı fark vardır. Diğer grup karşılaştırmalarında p > 0,05 bulundu, istatistiki açıdan anlamlı fark tespit edilmedi. Hastaların ALT değerleri 19 U/L ile 697 U/L arasında olup ortalama ALT düzeyi 134,5 ± 125,7 bulundu. Ortalama HAİ düzeyi 7,9 ± 3,4 bulundu.

Yaş gruplarına göre ALT ve HAİ ortalamaları hesaplandığında ALT için p>0,05, HAİ için p>0,05 bulundu, istatistiki olarak gruplar arasında farklılık olmamasına rağmen yaş grubu arttıkça ortalama ALT ve HAİ düzeyleri artma eğilimindeydi (Tablo 4).

Tablo 4. Yaş Gruplarına Göre HBV-DNA, ALT, HAİ Ortalamaları.

	HBV-DNA		ALT		HAI	
YAŞ GRUBU	**Ort. (kopya/ml)**	**Std. Sapma (±)**	**Ort. (U/L)**	**Std. Sapma (±)**	**Ort.**	**Std. Sapma (±)**
1	1087413518,5	2387239455,7	117,6	98,9	7,3	2,6
2	33772400,0	87444605,3	135,5	144,4	7,7	3,7
3	211007928,6	469631113,6	149,9	133,1	8,7	3,7
Total	451408712,5	1472148291,5	134,5	125,7	7,9	3,4

Yaş Grubu 1: Yaşı ≤ 29 olanlar, Yaş Grubu 2: Yaşı 30-40 arası olanlar, Yaş Grubu 3: Yaşı > 40 olanlar

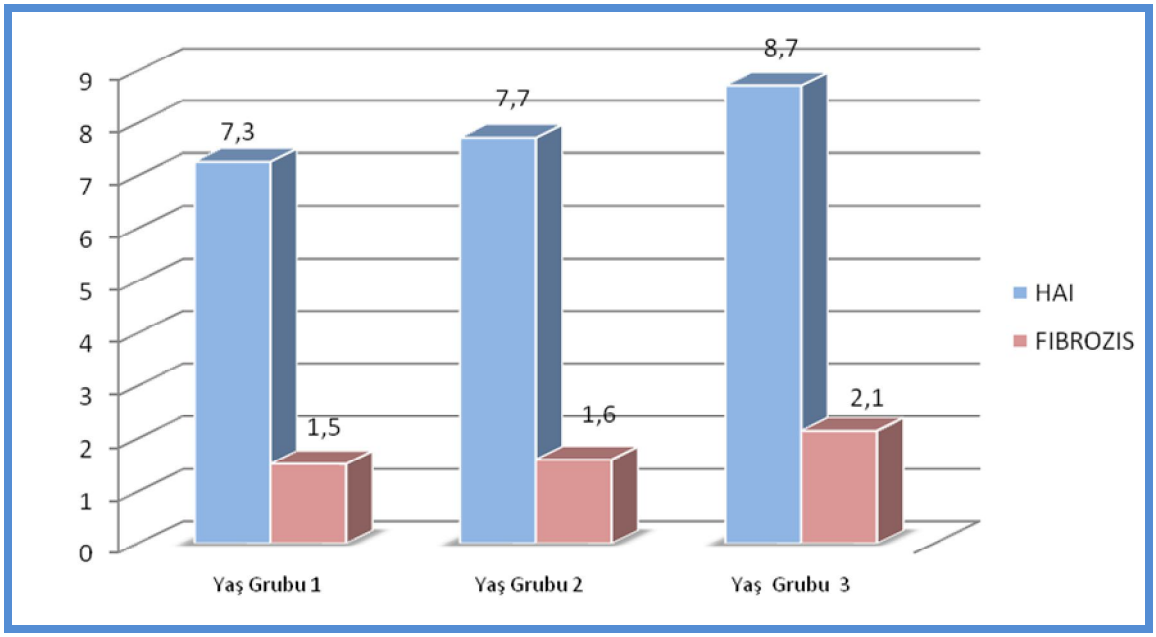
Yaş grubu ≤ 29 olan hastaların 20'si (%74,1) düşük fibrozis grubunda, 7 tanesi (%25,9) yüksek fibrozis grubunda bulundu. Yaş grubu 30-40 yaş arasında olanların 18'i (%72) düşük fibrozis grubunda, 7'si (%28) yüksek fibrozis grubunda saptandı. Yaşı > 40 olan hastaların 13'ü (%46,4) düşük fibrozis grubunda, 15'i (%53,6) yüksek fibrozis grubunda bulundu. Yaş grubuna göre düşük-yüksek fibrozis görülme oranlarının karşılaştırmasında, yaş grubundaki artışa paralel olarak yüksek derecede fibrozis görülme oranlarında istatistiki anlamlı artış saptandı (p=0,033) (Tablo 5).

Tablo 5. Yaş Gruplarının Düşük-Yüksek Fibrozis Oranları.

			FİBROZİS GRUBU		
			Düşük	**Yüksek**	Total
YAŞ GRUBU	**1**	Sayı (n)	20	7	27
		Yüzde (%)	74,1%	25,9%	100%
	2	Sayı (n)	18	7	25
		Yüzde (%)	72,0%	28,0%	100%
	3	Sayı (n)	13	15	28
		Yüzde (%)	46,4%	53,6%	100%
Total		Sayı (n)	51	29	80
		Yüzde (%)	63,8%	36,2%	100%

Yaş Grubu 1: Yaşı ≤ 29 olanlar, Yaş Grubu 2: Yaşı 30-40 arası olanlar, Yaş Grubu 3: Yaşı > 40 olanlar
Fibrozis Grubu Düşük: F-0 ile F-1 olanlar, Fibrozis Grubu Yüksek: F-3 ile F-4 olanlar
X^2trend=4,533 p=0,033) lineer seyir gösteriyor, yaş arttıkça fibrozis yüksekliği artıyor.

Yaşı ≤ 29 olan hastaların ortalama HAİ değeri 7,3 ± 2,6, yaşı 30-40 arası olan hastaların ortalama HAİ değeri 7,7 ± 3,7, yaşı > 40 olan hastaların ortalama HAİ değerleri 8,7 ± 3,7 bulundu. Gruplar arasında p>0,05, istatistiki anlamlı fark yoktu ancak yaş düzeyi arttıkça ortalama HAİ skoru yükselme eğilimindeydi. Yaşı ≤ 29 olan hastaların ortalama fibrozis değerleri 1,5 ± 0,9, yaşı 30-40 arası olan hastaların ortalama fibrozis değerleri 1,6 ± 1,1, yaşı > 40 olan hastaların ortalama fibrozis değerleri 2,1 ± 1,1 bulundu. Gruplar arasında p=0,062 olup istatistiki olarak sınırda anlamlı fark mevcuttu, yaş düzeyi arttıkça fibrozis düzeyinde artma saptandı (Grafik 1).



Grafik 1. Yaş Gruplarına Göre Ortalama HAİ ve Fibrozis Düzeyleri.

Yaş Grubu 1: Yaşı ≤ 29 olanlar Yaş Grubu 2: Yaşı 30-40 arası olanlar, Yaş Grubu 3: Yaşı > 40 olanlar

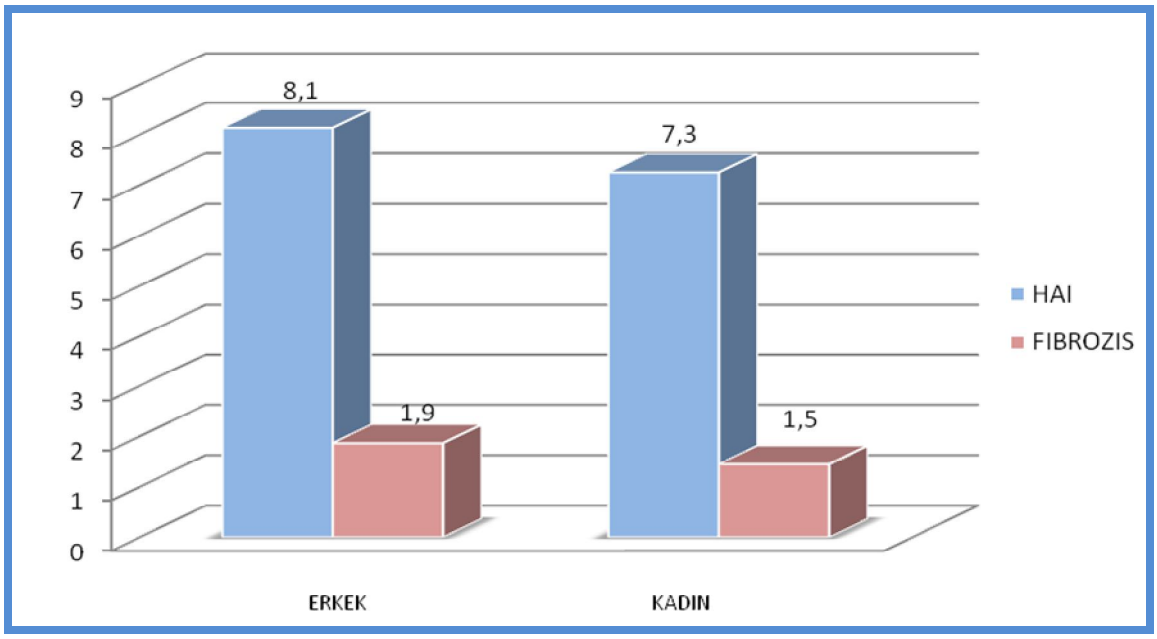
Cinsiyete göre ALT ortalaması erkek hastalar için 140,9 ± 130,7 U/L bulundu, kadın hastalar için 115,3 ± 109,9 U/L bulundu. P>0,05 olup iki grup arasında istatistiki olarak fark yoktu (Tablo 6).

Tablo 6. Cinsiyete Göre ALT Ortalaması.

CİNSİYET		**Hasta Sayısı (n)**	**Ortalama U/L**	**Std. Sapma (±)**
ALT	**Erkek**	60	140,9	130,7
	Kadın	20	115,3	109,9

Cinsiyete göre HAİ ve fibrozis düzeylerinin karşılaştırmasında, erkek hastalarda ortalama HAİ düzeyi 8,1 ± 3,5, kadın hastalarda ortalama HAİ düzeyi 7,3 ± 2,8 bulundu. İki grup arasında istatistiki anlamlı fark yoktu (p>0,05). Erkek hastalarda daha yüksek olma eğilimindeydi. Erkek hastalarda ortalama fibrozis düzeyi 1,9 ± 1,1, kadın hastalarda ortalama fibrozis düzeyi 1,5 ± 0,95 bulundu. Erkeklerde fibrozis düzeyinin

daha yüksek olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05) (Grafik 2).



Grafik 2. Erkek ve Kadınlarda HAİ, Fibrozis Ortalaması.

HBeAg pozitif olanlarda yaş ortalaması 29,3 ± 8,2 bulundu. Anti-HBe pozitif hastalarda ortalama yaş 40,4 ± 10,9 bulundu. İki grup arasında yaş ortalaması açısından p<0,001 olup istatistiki olarak belirgin fark vardı. HBeAg pozitif hastalar anti-HBe pozitif hastalardan belirgin olarak daha gençtiler. HBeAg pozitif hastaların ortalama ALT değerleri 135,8 ± 144,4, anti-HBe pozitif hastaların ortalama ALT değerleri 133,6 ± 113,1 bulundu. İki grup arasında istatistiki anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05).

HBeAg pozitif hastalardaki ortalama HBV-DNA değeri 886377031,3 ± 2224749871,0 bulundu. Anti-HBe pozitif hastalarda ortalama HBV-DNA değeri 161429833,3 ± 404365146,9 bulundu. İki grup arasında p=0,030 olup HBeAg pozitif hastaların HBV-DNA düzeyi anti-HBe pozitif hastalarınkinden istatistiki olarak anlamlı yüksek bulundu. HBeAg pozitif grup ile anti-HBe pozitif grup HAİ ortalamaları yönüyle karşılaştırıldığında HBeAg pozitif grupta ortalama HAİ değerleri 6,8 ± 3,1 olup anti-HBe pozitif grupta ortalama HAİ değeri 8,7 ± 3,4 bulundu. İki grup arasında anlamlı fark vardı (p=0,016). Anti-HBe pozitif grubun ortalama HAİ değeri HBeAg pozitif gruptan daha yüksekti (Tablo 7).

HBeAg pozitif grup ile anti-HBe pozitif gruptaki hastalar fibrozis düzeyleri açısından karşılaştırıldığında; HBeAg pozitif hastaların ortalama fibrozis değerleri 1,4± 0,8, anti-HBe pozitif hastaların ortalama fibrozis düzeyleri 1,98 ± 1,16 bulundu. İki grup arasında p=0,026 olup istatistiki anlamlı farklılık saptandı. HBeAg pozitif gruptan 25 hasta (%78,1) düşük fibrozis grubunda olup, 7 hasta (%21,9) yüksek fibrozis grubunda bulundu. Anti-HBe pozitif hastalardan 26'sı (%54,2) düşük fibrozis grubunda iken 22 hastanın (%45,8) yüksek fibrozis grubunda olduğu saptandı. Anti-HBe pozitif hastalar, HBeAg pozitif hastalardan daha yüksek oranda ileri fibrozis derecesine sahiptiler (p=0,029).

Tablo 7. HBeAg (+) ve Anti-HBe (+) Hastalardaki Cinsiyet, Yaş, ALT Düzeyi, HBV-DNA, HAİ, Fibrozis Karşılaştırması.

		HBeAg (+)		**Anti-HBe (+)**		**Toplam**	
		Sayı (n) veya ortalama	**%veya std. sapma.**	**Sayı (n) veya ortalama**	**%veya std. sapma**	**Sayı (n) veya ortalama**	**%veya std. sapma.**
Cinsiyet	**Erkek**	25	%78,1	35	%72,9	60	%75
	Kadın	7	%21,9	13	%27,1	20	%25
YAŞ		29,3	± 8,2	40,4	± 10,9	35,9	± 11,3
ALT (U/L)		135,8	± 144,4	133,6	± 113,1	134,5	± 125,7
HBV-DNA (Kopya/ml)		886377031,3	± 2224749871,0	161429833,3	± 404365146,9	451408712,5	±1472148291,4
HAI		6,8	±3,1	8,7	± 3,4	7,9	± 3,4
Fibrozis	**Düşük**	25	%78,1	26	%54,2	51	%63,8
	Yüksek	7	%21,9	22	%45,8	29	%36,2

Fibrozis Grubu Düşük: F-0 ile F-1 olanlar, Fibrozis Grubu Yüksek: F-3 ile F-4 olanlar

HBeAg pozitif hastalarda HAİ grup 1'de olan hastalardan yüksek fibrozisi olan hasta yoktu. HAİ grup 2'de ki hastaların %16,7'si yüksek dereceli fibrozise sahipti. HAİ grup 3'teki hastaların %37,5'i yüksek fibrozisli idi, HAİ grup 4'teki hastaların %100'ü yüksek derecede fibrozisli bulundu. Anti-HBe pozitif hastalarda HAİ grup 1'de olan

hastaların hiçbiri yüksek fibrozis göstermiyordu. HAİ grup 2'deki hastaların %5,3'ü, HAİ grup 3'teki hastaların %77,3'ü, HAİ grup 4'teki hastaların %100'ü ileri derecede fibrozise sahipti. Her iki gruptada HAİ arttıkça ileri derecede fibrozis oranı artıyordu (Tablo 8).

Tablo 8. HBeAg (+) ve Anti-HBe (+) Hastalarda HAİ Gruplarına Göre Düşük-Yüksek Fibrozis Oranları.

			FİBROZİS GRUBU		
HAİ GRUBU			**Düşük**	**Yüksek**	**Total**
HBeAg (+)	**1**	Sayı (n)	5	0	5
		Yüzde (%)	%100	%0	%100
	2	Sayı (n)	15	3	18
		Yüzde (%)	%83,3	%16,7	%100
	3	Sayı (n)	5	3	8
		Yüzde (%)	%62,5	%37,5	%100
	4	Sayı (n)	0	1	1
		Yüzde (%)	%0	%100	%100
	Total	Sayı (n)	25	7	32
		Yüzde (%)	%78,1	%21,9	%100
Anti-HBe (+)	**1**	Sayı (n)	3	0	3
		Yüzde (%)	%100	%0	%100
	2	Sayı (n)	18	1	19
		Yüzde (%)	%94,7	%5,3	%100
	3	Sayı (n)	5	17	22
		Yüzde (%)	%22,7	%77,3	%100
	4	Sayı (n)	0	4	4
		Yüzde (%)	%0	%100	%100
	Total	Sayı (n)	26	22	48
		Yüzde (%)	%54,2	%45,8	%100

HAİ Grup 1: HAİ düzeyi 1-3 olanlar, HAİ Grup 2: HAİ düzeyi 4-8 olanlar, HAİ Grup 3: HAİ düzeyi 9-12 olanlar, HAİ Grup 4: HAİ düzeyi 13-18 olanlar

Fibrozis Grubu Düşük: F-0 ile F-1 olanlar Fibrozis Grubu Yüksek: F-3 ile F-4 olanlar

HBeAg/anti-HBe durumuna bakmaksızın ALT gruplarına göre ortalama HBV-DNA düzeylerinin karşılaştırmasında, gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark

saptanmadı (p>0,05). Ancak ALT düzeyinde artma oldukça ortalama HBV-DNA düzeyinde azalma eğilimi saptandı (Tablo 9).

Tablo 9. ALT Gruplarına Göre HBV-DNA Ortalamaları

ALT GRUBU	Hasta Sayısı (n)	HBV-DNA Ortalama (Kopya/ml)	Std. Sapma ±
1	10	1015869000,0	2822357653,9
2	27	495658518,5	1684264145,2
3	43	292354116,3	714423888,6
Total	80	451408712,5	1472148291,5

ALT Grup 1: ALT düzeyi normal olanlar, ALT Grup 2: ALT düzeyi normalin 1-2 katı olanlar, ALT Grup 3: ALT düzeyi normalin 2 katından fazla olanlar

HBeAg pozitif ve anti-HBe pozitif hastalarda ALT düzeylerine göre ortalama HBV-DNA, HAİ, Fibrozis skorlarında istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05) (Tablo 10, Tablo11).

Tablo 10. HBeAg (+) Hastalarda ALT Gruplarına Göre HBV-DNA, HAİ, Fibrozis Ortalamaları.

HBeAg (+)						
ALT Grup 1		**ALT Grup 2**		**ALT Grup 3**		
Ortalama	Std. Sapma ±	Ortalama	Std. Sapma ±	Ortalama	Std.Sapma ±	P
1822260000,0*	4012695713,4*	1198249090,9*	2541227863,8*	379501562,5*	996310494,6*	0,829
6,4**	3,1**	5,7**	2,6**	7,7**	3,3**	0,257
1,4***	0,9***	1,0***	0,0***	1,8***	1,0***	0,074

ALT Grup 1: ALT düzeyi normal olanlar, ALT Grup 2: ALT düzeyi normalin 1-2 katı olanlar, ALT Grup 3: ALT düzeyi normalin 2 katından fazla olanlar

* HBV-DNA ** HAI *** FİBROZİS

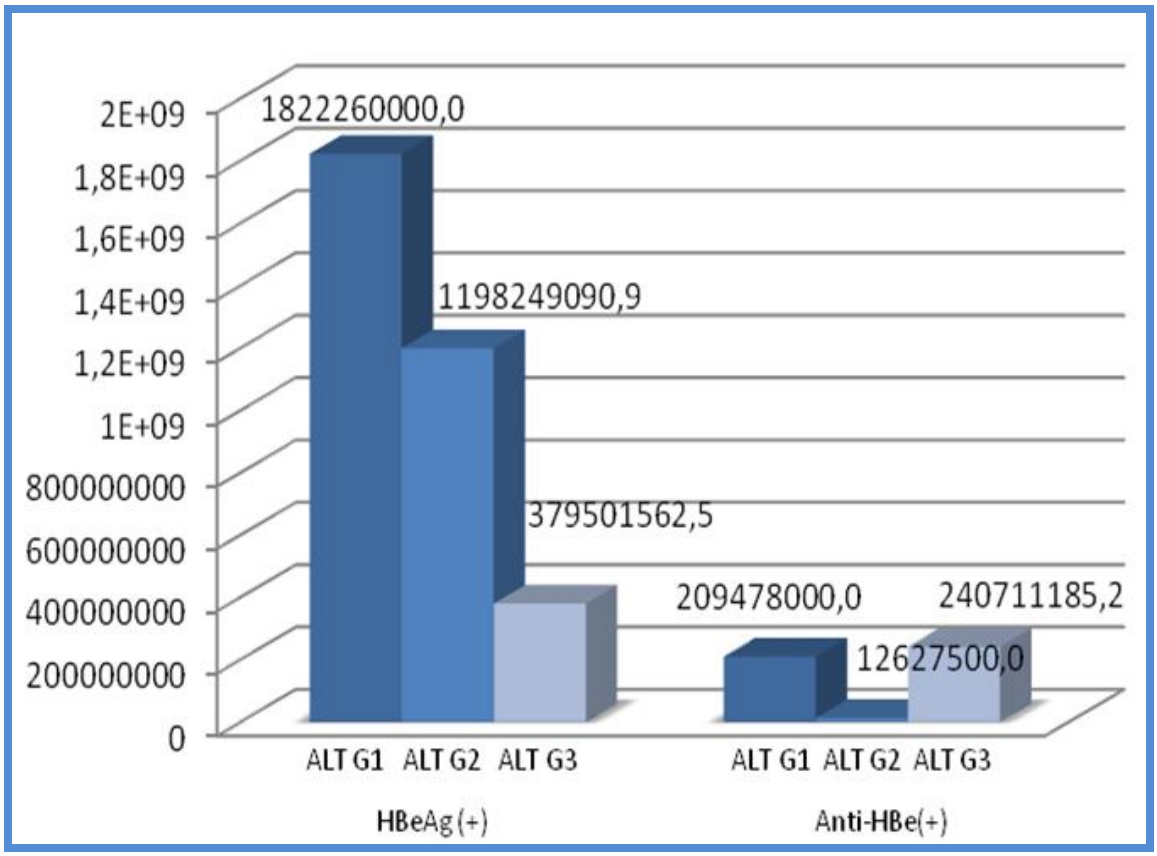
Tablo 11. Anti-HBe (+) Hastalarda ALT Gruplarına Göre HBV-DNA, HAİ, Fibrozis Ortalamaları.

Anti-HBe (+)						
ALT Grup 1		**ALT Grup 2**		**ALT Grup 3**		
Ortalama	Std. Sapma ±	Ortalama	Std.Sapma ±	Ortalama	Std. Sapma ±	P
209478000,0*	442083853,9*	12627500,0*	30469492,4*	240711185,2*	494345722,7*	0,409
8,2**	3,0**	7,4**	3,7**	9,5**	3,1**	0,117
2,6***	0,9***	1,8***	1,2***	2,0***	1,2***	0,350

ALT Grup 1: ALT düzeyi normal olanlar, ALT Grup 2: ALT düzeyi normalin 1-2 katı olanlar, ALT Grup 3: ALT düzeyi normalin 2 katından fazla olanlar

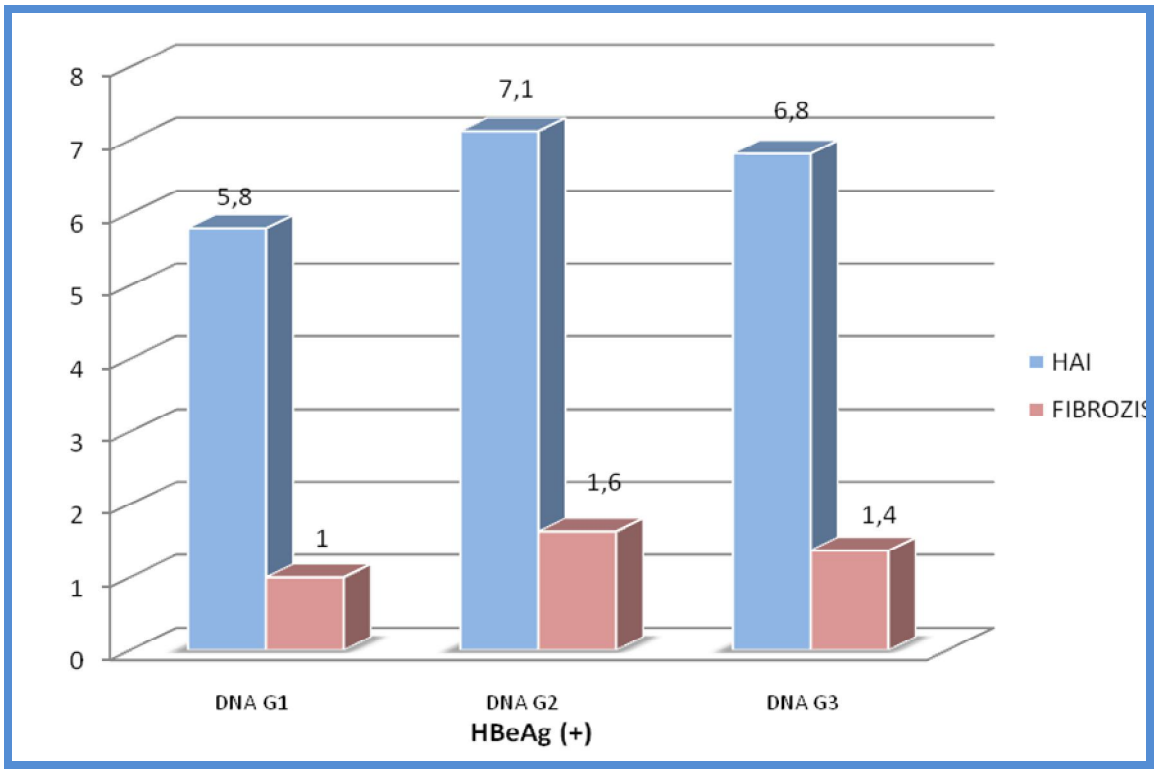
*HBV-DNA ** HAI *** FİBROZİS

HBeAg (+) ve anti-HBe (+) hastalarda ALT düzeyine göre ortalama HBV-DNA değerlerinin karşılaştırmasında, HBeAg (+) ALT düzeyi normal olan hastalarda ortalama HBV-DNA değeri 1822260000,0 ± 4012695713,4, ALT düzeyi normalin 1-2 katı olan hastalarda ortalama HBV-DNA değeri 1198249090,9 ± 2541227863,8 ALT düzeyi normalin 2 katından fazla olanlarda ortalama HBV-DNA değeri 379501562,5 ± 996310494,6 bulundu. Gruplar arasında istatistiki fark olmasa da ($p>0,05$) HBeAg (+) hastalarda ALT düzeyinde artış oldukça ortalama HBV-DNA değerlerinde düşme eğilimi saptandı. Anti-HBe (+) ALT düzeyi normal olan hastalarda ortalama HBV-DNA değeri 209478000,0 ± 442083853,9, ALT düzeyi normalin 1-2 katı olan hastalarda ortalama HBV-DNA değeri 12627500,0 ± 30469492,4, ALT düzeyi normalin 2 katından fazla olan hastalarda ortalama HBV-DNA değeri 240711185,2 ± 494345722,7 bulundu. Gruplar arasında istatistiki fark bulunmadı ($p>0,05$) (Grafik 3).



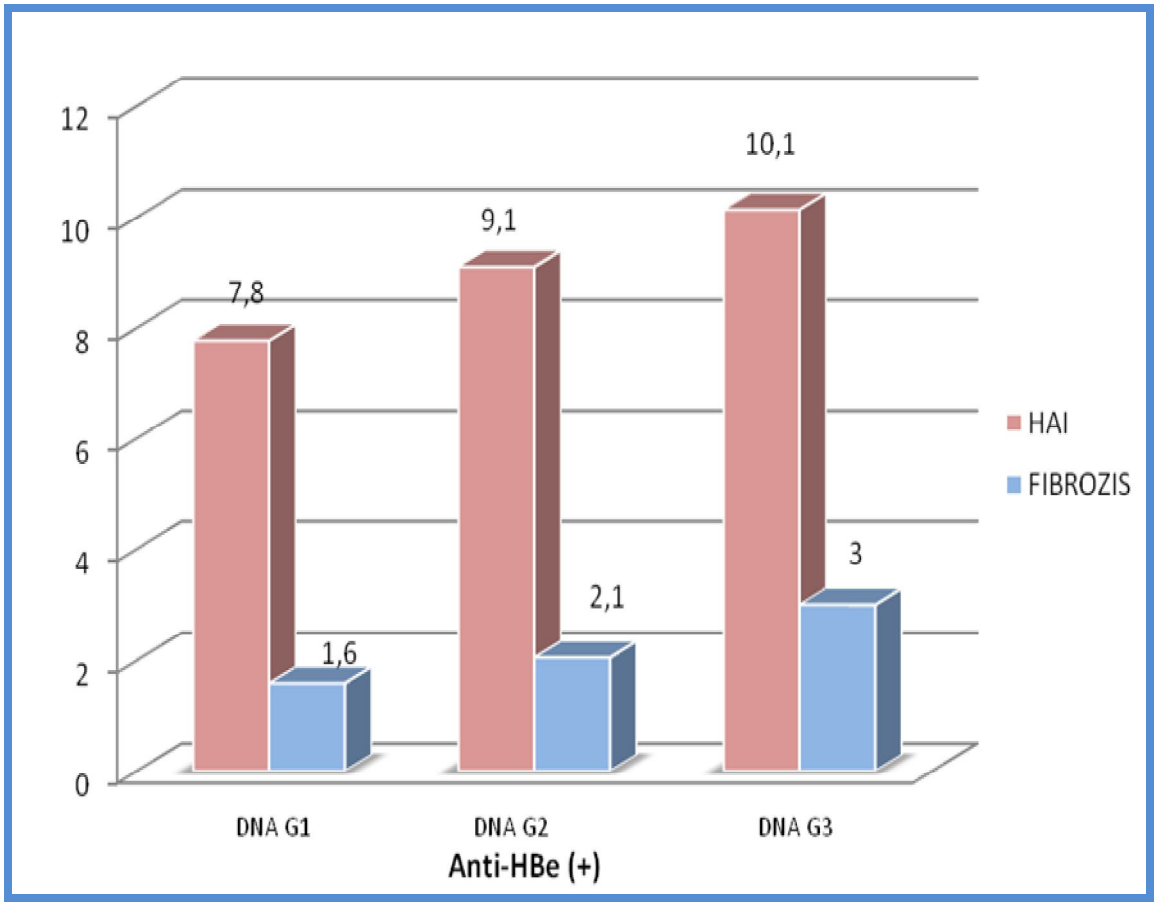
Grafik 3. HBeAg (+) ve Anti-HBe (+) Hastalarda ALT Gruplarına Göre HBV-DNA Ortalamaları.
ALT Grup 1: ALT düzeyi normal olanlar, ALT Grup 2: ALT düzeyi normalin 1-2 katı olanlar, ALT Grup 3: ALT düzeyi normalin 2 katından fazla olanlar

HBeAg (+) HBV-DNA düzeyi 10^4-10^6 kopya/ml olan hastalarda ortalama HAİ düzeyi 5,8 ± 2,3, HBV-DNA düzeyi 10^6-10^8 kopya/ml olan hastalarda ortalama HAİ düzeyi 7,1 ± 2,9, HBV-DNA düzeyi 10^8 kopya/ml üzerinde olan hastalarda ortalama HAİ düzeyi 6,8 ± 3,7 bulundu. Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). HBV-DNA düzeyi 10^4-10^6 kopya/ml olan hastalarda ortalama fibrozis düzeyi 1,0 ± 0,0, HBV-DNA düzeyi 10^6-10^8 kopya/ml olan hastalarda ortalama fibrozis düzeyi 1,6 ± 0,9, HBV-DNA düzeyi 10^8kopya/ml üzerinde olan hastalarda ortalama fibrozis düzeyi 1,4 ± 0,8 bulundu. Gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$) (Grafik 4).



Grafik 4. HBeAg (+) Hastalarda HBV-DNA Gruplarına Göre Ortalama HAİ ve Fibrozis Düzeyleri.
DNA Grup 1: HBV-DNA düzeyi 10^4-10^6 arası olanlar, DNA Grup 2: HBV-DNA düzeyi 10^6- 10^8 arası olanlar, DNA Grup 3: HBV-DNA düzeyi 10^8 ↑ olanlar

Anti-HBe (+) hastalarda HBV-DNA düzeylerine göre ortalama HAİ ve fibrozis skorlarının karşılaştırmasında, HBV-DNA düzeyi 10^4-10^6 kopya/ml olan hastalarda ortalama HAİ düzeyi 7,8 ± 3,3, HBV-DNA düzeyi 10^6-10^8 kopya/ml olan hastalarda ortalama HAİ düzeyi 9,1 ± 3,6, HBV-DNA düzeyi 10^8 kopya/ml üzerinde olan hastalarda ortalama HAİ düzeyi 10,1 ± 2,2 bulundu. Gruplar arasında anlamlı fark olmamasına rağmen ($p>0,05$) anti-HBe (+) hastalarda DNA düzeyinde artma oldukça ortalama HAİ değerlerinde de artma eğilimi mevcuttu. HBV-DNA düzeyi 10^4-10^6 kopya/ml olan hastalarda ortalama fibrozis düzeyi 1,6 ± 1,01, HBV-DNA düzeyi 10^6-10^8 kopya/ml olan hastalarda ortalama fibrozis düzeyi 2,1 ± 1,2, HBV-DNA düzeyi 10^8 kopya/ml üzerinde olan hastalarda ortalama fibrozis düzeyi 3,0 ± 1,0 bulundu. Gruplar arasında istatistiki anlamlı fark mevcuttu ($p=0,018$). Anti-HBe (+) hastalarda DNA düzeyinde artma oldukça ortalama fibrozis skorunda da artış saptandı (Grafik 5).



Grafik 5. Anti-HBe (+) Hastalarda DNA Gruplarına Göre Ortalama HAİ ve Fibrozis Düzeyleri.
DNA Grup 1: HBV-DNA düzeyi 10^4-10^6 arası olanlar, DNA Grup 2: HBV-DNA düzeyi 10^6-10^8 arası olanlar, DNA Grup 3: HBV-DNA düzeyi 10^8 ↑ olanlar

Biyokimyasal parametrelerin HAİ ile karşılaştırılmasında; HAİ'nin PT (r=0,345 p=**0,002**), AST (r=0,239 p=**0,033)**, İNR (r=0,345 p=**0,002)** ile pozitif korelasyon gösterdiği, Trombosit (r=-0,449 p=**0,001)** düzeyi ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edildi (Tablo 12).

Tablo 12. Biyokimyasal Parametreler İle HAİ Karşılaştırması.

Biyoimyasal Parametreler	**HAI**	
	r	**p**
ALBUMİN	-0,108	0,341
PT	0,345	**0,002**
AFP	0,150	0,185
TROMBOSİT	-0,449	**0,001**
T. BİL	0,006	0,956
D. BİL	0,059	0,601
ALP	0,083	0,464
GGT	0,020	0,857
AST	0,239	**0,033**
İNR	0,345	**0,002**

Biyokimyasal parametrelerin düşük-yüksek fibrozis gruplarına göre karşılaştırılmasında albümin düzeyinin yüksek fibrozis grubunda daha düşük olduğu (p=0,035) bulundu. Trombosit düzeyinin yüksek fibrozisli grupta daha düşük olduğu (p=0,005) bulundu. Protrombin zamanının yüksek fibrozisli grupta daha uzun olduğu (p=0,002) bulundu. İNR'nin yüksek fibrozisli grupta daha uzun olduğu (p=0,001) tespit edildi (Tablo 13).

Tablo 13. Biyokimyasal Parametrelerin Düşük-Yüksek Fibrozis Gruplarına Göre Karşılaştırılması.

	FİBROZİS GRUPLARI				
	DÜŞÜK		YÜKSEK		
	Ortalama	Std. Sapma (±)	Ortalama	Std. Sapma (±)	p
ALP	85,2	36,2	86,9	25,3	0,824
GGT	50,9	48,1	43,6	29,8	0,464
AST	74,2	71,1	77,2	53,6	0,847
T. BİL	0,8	0,6	0,7	0,4	0,384
D. BİL	0,2	0,2	0,2	0,1	0,323
ALBUMİN	4,4	0,3	4,2	0,4	**0,035**
TROMBOSİT	225667	64064	184759	52799	**0,005**
AFP	1,5	0,7	2,3	2,9	0,125
PT	14,2	1,1	14,9	0,8	**0,002**
İNR	1,1	0,1	1,2	0,1	**0,001**

Fibrozis Grubu Düşük: F-0 ile F-1 olanlar, Fibrozis Grubu Yüksek: F-3 ile F-4 olanlar

5. TARTIŞMA

Tüm dünyada önemli morbidite ve mortalite nedeni olan kronik hepatit B ülkemizde de önemli bir sağlık sorunudur. Günümüzdeki bilgiler ışığında virüsün eradike olması mümkün değildir.

Kronik hepatit B tedavisinde amaç ALT değerlerinin normal değerlere gelmesi, viral replikasyonun baskılanması, HBeAg kaybı ve karaciğer histopatolojisinde düzelmedir.[5] HBV; HCC, siroz ve komplikasyonları gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açabilen bir etkendir. HBV enfeksiyonlarının rutin tanısında ilk olarak ve en sık kullanılan yöntemler HBV serolojik belirteçlerinin ve transaminaz düzeylerinin belirlenmesidir. Buna karşın viral replikasyonu göstermede serolojik testlerin zaman zaman yetersiz kaldığı bildirilmekte, testlerin duyarlılık ve özgüllüğüne bağlı olarak olağan dışı tablolar ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle günümüzde bu hastalarda olanaklar elverdiği ölçüde moleküler yöntemler ile HBV-DNA araştırılmaktadır.[79]

Karaciğerde fibrozis kronik hasar sonucunda gerçekleşmektedir. Bunun yanında hepatosellüler disfonksiyon ve portal hipertansiyonun patogenezinde de fibrozis doğrudan rol oynamaktadır. Kronik karaciğer hastalığında tedavi kararının verilmesinde, prognoz ve olası komplikasyonların tayininde karaciğerde fibrozisin varlığının ve derecesinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Nekroenflamatuvar aktivite ve fibrozisin gösterilmesinde ise karaciğer biyopsisi halen altın standart olarak görülmektedir. Ancak, karaciğer biyopsisinin invaziv bir işlem olması, en tecrübeli ellerde bile nadir ama ciddi komplikasyonların (kanama, pnömotoraks, kolon ya da safra kesesi perforasyonu gibi) gelişebilmesi sorun teşkil etmektedir. Bu hastalarda tedaviye yanıtın belirlenmesinde biyopsi uygulanımı ise pratik olmayan bir yaklaşım olarak görülmektedir. Tüm bunlara ek olarak perkütan karaciğer biyopsilerinin değerlendirilmesinde incelemeyi yapan patoloğa göre %15 ile %33 arasında değerlendirme farklılıkları da olabilmektedir.[80,81]

Son yıllarda kronik karaciğer hastalarında fibrozisin varlığının ve ciddiyetinin gösterilmesinde serum işaretleri ya da testlerinin kullanılıp kullanılamayacağı önemli konulardan birisidir. Bu testlerin karaciğer biyopsisinin yerini almada rolleri halen tartışmalıdır. İdeal bir noninvaziv testin karaciğerde fibrozis olduğunu ya da olmadığını doğru olarak göstermesi gerekmektedir. Genel olarak fibrozisin gösterilmesinde tek bir

serum işareti ya da test yeterli olmamakla beraber kombine kullanım tanımlamada önemli yararlar sağlayabilmektedir. Günümüzde karaciğer hasarının ve fibrogenezisin gösterilmesinde çeşitli noninvaziv testler kullanılmakta ve geliştirilmektedir. Amaç karaciğerde fibrozisi gösteren ve karaciğer biyopsisi ihtiyacını kaldıran doğru bir testin tanımlamada yer alabilmesidir. Mevcut testlerin yararları yanı sıra, kullanımlarıyla ilgili kısıtlamalar halen devam etmektedir. Bugün için yapılabilecekler noninvaziv testlerin birkaçının birlikte kullanılmasıyla olası yanlış sonuçların en aza indirilmesine çalışılmasıdır.[81]

Kronik hepatit B'li hastalarda viral replikasyonun ideal testlerle, doğru bir şekilde tespiti ve takibi, serolojik göstergelerin belirlenmesi, serum ALT düzeylerinin takibi; tanı ve tedavinin izleminde, klinik seyir ve prognozun değerlendirilmesinde, mutant virüs enfeksiyonlarının neden olduğu karışıklıkların giderilmesinde ve karaciğer hasarının tahmininde büyük bir öneme sahiptir**.** Çalışmamızın amacı tedavi almamış kronik hepatit B'li hastaların serolojik belirteçleri, serum ALT düzeyleri, HBV-DNA ve karaciğer histolojisi arasında ilişki olup olmadığını araştırmaktır. Bu amaçla kronik hepatit B'li 80 hastada yaptığımız çalışmada; cinsiyete göre yaş ortalamasına bakıldığında $p>0,05$ olup iki grup arasında yaş ortalaması açısından istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır. Çalışmamızda HBeAg pozitif hastalarla anti-HBe pozitif hastalarda yaş ortalaması açısından $p<0,001$ olup istatistiki olarak belirgin fark bulunmuştur. HBeAg pozitif hastalar anti-HBe pozitif hastalardan belirgin olarak daha gençtiler.

Yalçın ve arkadaşlarının 53 kronik hepatit B'li hasta ile yaptığı bir çalışmada; yaş bakımından kadınlar ve erkekler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). HBeAg pozitif olanlarla anti-HBe pozitif olanlarda yaş farkı anlamsız kabul edilmiştir ($p=0,06$).[3] Yalçın ve arkadaşları her ne kadar HBeAg (+) olan hasta grubu ile anti-HBe (+) olan hasta grubunun yaş ortalaması açısından istatistiki fark bulamamış olsada anti-HBe (+) hastalar daha ileri yaş ortalamasına eğilimli görünmektedir. Anti-HBe (+)'liği kronik hepatit B enfeksiyonunun daha ileri safhalarında gelişeceği için çalışmamızdan elde ettiğimiz bu değerler beklenen sonuçlar ile uyumludur.

Yuen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; 94 kronik hepatit B hastasının 43'ü (%46) HBeAg pozitif 51'i (%54) anti-HBe pozitif hastalardır. Her iki grupta da

erkek hakimiyeti tespit edilmiştir. Ortalama yaş tüm hastalarda 43,3 iken bu HBeAg pozitif olanlarda 37,2, anti-HBe pozitif olanlarda 45,2 olarak tespit edilmiştir.[82]

Çalışmamızdaki HBeAg (+) hastaların 25'i erkek, 7'si kadındır. Anti-HBe (+) hastaların 35'i erkek, 13'ü kadındır. Bizde çalışmamızda Yuen ve arkadaşları gibi her iki grupta da erkek hakimiyeti tespit ettik. Ayrıca hastalarımızın 32'sinde (%40) HBeAg (+), 48'inde (%60) anti-HBe (+) olarak saptadık. Ülkemizde kronik B hepatitleri içinde HBeAg pozitifliği oranı %30-35 civarındadır.[26] Çalışmamızdan çıkan sonuçlar ülkemiz genelindeki oranlarla uyumlu olup HBeAg pozitifliğinin düşük olması vertikal bulaşım oranını düşürmekte aile içi, okul içi ve kapalı topluluklar içi yakın temasa bağlı horizontal geçişin bölgemizdeki temel bulaşım yolu olduğunu göstermektedir.

Yalçın ve arkadaşları ALT düzeylerini HBeAg pozitif hastalarda 126 IU/L (33-356), anti-HBe pozitif hastalarda ise 161,5 IU/L (30-395) bulmuştur. ALT düzeyleri HBeAg-pozitif hastalarla anti-HBe pozitif hastalarda farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$).[3] Yine aynı araştırmacının 354 hasta ile yaptığı diğer bir çalışmada; HBeAg pozitif ve negatif hastaların ALT seviyelerinde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.[83]

Turgut H ve arkadaşları kronik HBV enfeksiyonlu 120 olguyu değerlendirmişler ve 41'inde HBeAg pozitif, 79'unda negatif bulmuşlardır. HBeAg pozitif olgularla karşılaştırıldığında, HBeAg negatif olgularda normal ALT düzeyleri oranı daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$).[84]

Çalışmamızda, cinsiyete göre ALT ortalaması erkek hastalar için 140,9 ± 130,7 bulundu, kadın hastalar için 115,3 ± 109,9 bulundu. $P>0,05$ olup iki grup arasında istatistiki olarak fark yoktu. Ayrıca HBeAg pozitif ve anti-HBe pozitif hastaların ortalama ALT değerleri sırasıyla 135,8 ± 144,4 ve 133,6 ± 113,1 bulunmuş olup iki grup arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$). Fark tespit edememiş olmamız HBeAg pozitif ve HBeAg negatif dönemlerin her ikisinde de, immün yanıta da bağlı olarak ALT düzeyinin dalgalı seyir göstermesinden kaynaklanmış olabilir. Ayrıca biyopsi esnasında yaptığımız tek bir ALT ölçümündense, seri ölçümlerin her iki dönemin karakteristiklerini daha net ortaya koyması mümkün olabilir. Yine bilindiği gibi serum ALT düzeyi kendiliğinden veya diğer viral enfeksiyonlar nedeniyle yükselebilir.[52] Bu nedenle seri ölçümlerin yapılması daha anlamlı olabilir.

Bizim çalışmamızda, hastaların ortalama HBV-DNA düzeylerini 451408712,5 ± 1472148291,5 bulduk. Cinsiyete göre ortalama HBV-DNA düzeyleri hesaplandığında erkek hastalarda 288914666,7 ± 784330921,5 bulundu, kadın hastalarda 938890850,0 ± 2601397058,9 bulundu, p>0,05 olup iki grup arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı. Ayrıca HBeAg pozitif hastalardaki ortalama HBV-DNA değeri 886377031,3 ± 2224749871,0, anti-HBe pozitif hastalarda ortalama HBV-DNA değeri 161429833,3 ± 404365146,9 bulundu. İki grup arasında p=0,030 olup HBeAg pozitif hastaların HBV-DNA düzeyi anti-HBe pozitif hastalarınkinden istatistiki olarak anlamlı yüksek bulundu. Ancak her hastanın sonucu bu farkı karşılamıyordu. Bu durum kronik hepatit B enfeksiyonunun dalgalı seyir göstermesinden kaynaklanmış olabilir.

Yalçın ve arkadaşları HBV- DNA'yı, HBeAg pozitif 33 hastada 2852 pg/ml (22-6674) =~807116000 kopya/ml, anti-HBe pozitif 20 hastada ise 647 pg/ml (24-4157) =~183101000 bulmuştur. HBV-DNA düzeyi HBeAg pozitif grupta, HBeAg negatif gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).[3]

Çalışmamızdaki mevcut HBV-DNA sonuçları Yalçın ve arkadaşlarının sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Her iki grup bütün olarak dikkate alındığında bu bulgular, kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri boyunca beklenen sonuçları desteklemektedir. Ayrıca çalışmamızda anti-HBe pozitif grupta önemli oranda viral yük tespit ettik. Bilindiği gibi normalde HBeAg'nin anti-HBe'ye serokonversiyonu viral replikasyonun sonlandığını düşündürmektedir. Ancak HBV'nin prekor bölgesindeki bazı mutasyonlar sonucu, bu tip mutant suşlarla meydana gelen enfeksiyon sırasında HBeAg üretimi kesintiye uğramakta, anti-HBe varlığına rağmen viremi devam etmekte ve HBV-DNA pozitif olarak bulunmaktadır. Bu durum anti-HBe antikorlarının varlığının tüm olgularda replikasyonun sonlanması anlamına gelmediğini göstermektedir.[44] Bugüne kadar yapılan çalışmalarda prekor mutasyonları ile HBV genotipleri arasındaki ilişki ortaya net bir şekilde konulmuş ve prekor mutasyonlarının genotip B, C ve D'de daha sık olduğu ve genotip A'da ise nadir olduğu bildirilmiştir.[85] Ülkemizde HBV'li hastaların büyük çoğunluğu genotip D ile enfekte kabul edildiklerinden; çalışmamızdaki anti-HBe pozitif olgularda önemli düzeyde HBV-DNA tespit etmiş olmamız hastalarımızın önemli bir kısmının, prekor bölgesinde stop kodon oluşturan nokta mutasyonu bulunan suşlarla enfekte olmasından kaynaklanmış olabilir.

Yapılan bazı çalışmalarda; HBeAg negatif olgularda vireminin hepatosellüler hasarı artırdığı, bu çeşit viremisi olan hastalarda daha sık fulminan hepatit ve hızlı progresyon gösteren kronik hepatit oluşabileceği belirtilmiştir.[86,87] Hasta kronik hepatit B enfeksiyonu yönüyle değerlendirilirken dikkatli olunmalıdır. Serumda bulunan inaktif degrade DNA parçacıklarının da amplifiye edilerek PCR ile HBV-DNA testlerinin pozitif sonuç verebileceği bildirilmiştir.[88,89] Bu nedenle saptanan HBV-DNA molekülü de mutlaka aktif replikasyon göstergesi olmak zorunda değildir.[88-91]

Huang ve arkadaşlarının (scheuer ile) kronik hepatit B'li hastalarda yaptığı çalışmada; 228 hastanın toplam %49,2'sinde önemli ölçüde enflamasyon (grade ≥ 2) ve %36,4'ünde önemli ölçüde fibroz (stage ≥ 2) bulunmuştur. HBeAg pozitif grupta hastaların %43,3'ü grade 2-3 enflamasyona ve %26,9'u stage 2-4 fibrozise sahip bulunmuştur. HBeAg negatif grupta ise hastaların %54,0'ı grade 2-3 enflamasyona ve %44,4'ü stage 2-4 fibrozise sahip bulunmuştur. Enflamasyon derecesi açısından iki grup arasında önemli bir fark bulunamamış, ancak fibrozis seviyesi açısından önemli fark tespit edilmiştir.[92]

Fan ve arkadaşlarının kronik hepatit B'li 1057 hasta ile yaptığı çalışmada; enflamasyon ve fibrozisin derecesi HBeAg pozitif hastalardan, HBeAg negatif hastalarda daha yüksek bulunmuştur.[93]

Bizim çalışmamızda da HBeAg pozitif grup ile anti-HBe pozitif grup HAİ ortalamaları yönüyle karşılaştırıldığında HBeAg pozitif grupta ortalama HAİ değerleri 6,8 ± 3,1 olup anti-HBe pozitif grupta ortalama HAİ değeri 8,7 ± 3,4 bulundu. İki grup arasında anlamlı fark vardı (p=0,016). Düşük seviyede HBV-DNA'ya rağmen anti-HBe pozitif grubun ortalama HAİ değeri HBeAg pozitif gruptan daha yüksekti. HBeAg pozitif grup ile anti-HBe pozitif gruptaki hastalar fibrozis düzeyleri açısından karşılaştırıldığında; HBeAg pozitif gruptan 25 hasta (%78,1) düşük fibrozis grubunda olup, 7 hasta (%21,9) yüksek fibrozis grubunda bulundu. Anti-HBe pozitif hastalardan 26'sı (%54,2) düşük fibrozis grubunda iken 22 hastanın (%45,8) yüksek fibrozis grubunda olduğu saptandı. Anti-HBe pozitif hastalar, HBeAg pozitif hastalardan daha yüksek oranda artmış fibrozis derecesine sahiptiler (p=0,029). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmalarla uyumludur.[92,93] Çalışmamızda, her iki gruptada HAİ

arttıkça ileri derecede fibrozis oranı artıyordu. Bu sonuç HAİ'nin fibrozisi göstermede bağımsız bir belirteç olabileceği fikrini desteklemektedir.

Diğer bir çalışmada HAİ düzeyini, HBeAg pozitif hastalarda 7 (4-15), anti-HBe pozitif hastalarda ise 9,5 (5-14) olarak tespit etmişlerdir. Yine iki grubun ortalama aktivite skorları birbirinden farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$).[3] Bu çalışmada, anti-HBe pozitif olanlarda tespit edilen aktivite skorları istatistiki olarak farklı bulunmasa da HBeAg pozitif hastalardan daha ileri aktiviteye meyil görünmektedir.

Ayrıca bizim çalışmamızdaki anti-HBe pozitif hasta grubunun HAİ ve fibrozis skorlarının HBeAg pozitif hasta grubundan istatistiki olarak farklı çıkması anti-HBe pozitif hasta grubumuzun yaş ortalamasının, diğer çalışmadaki [3] aynı grup hastaların yaş ortalamasından daha ileri olmasına bağlı olabilir.

Shao J ve arkadaşlarının kronik hepatit B'li 213 hasta ile yaptığı çalışmada; HBeAg pozitif hastalarda HBV-DNA seviyeleriyle ALT arasında korelasyon tespit edilmemiştir. HBeAg negatif hastalarda serum HBV-DNA seviyeleri ALT ile ilişkili bulunmuştur.[94] Bu çalışmadaki, HBeAg pozitif hastalarda HBV-DNA seviyeleriyle ALT arasında korelasyon tespit edilememiş olması, çalışmadaki tüm hastaların ALT değerlerinin yüksek olduğuda dikkate alındığında; HBV-DNA ve ALT değerlerinin tek ölçüme dayalı olup seri ölçümlerinin alınmış olmamasından kaynaklanmış olabilir.

Peng ve arkadaşlarının 743 kronik hepatit B'li hasta ile yaptıkları çalışmada, yükselen HBV-DNA seviyeleri HBeAg negatif hastalarda daha yüksek ALT seviyeleri ile birliktelik içerisinde bulunmuştur. Bunun tersine düşen HBV-DNA seviyeleri HBeAg pozitif hastalarda daha yüksek ALT seviyeleri ile birliktelik içerisinde bulunmuştur.[95]

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar kronik HBV enfeksiyonu boyunca HBeAg pozitif ve HBeAg negatif dönemlerde görülebilecek farklı paternlerden sadece ikisini açıklamaktadır. Mevcut bulguların kronik hepatit B enfeksiyonunun tüm özelliklerini yansıtması olası görünmemektedir.

Bilindiği gibi, kronik HBV enfeksiyonu doğal seyrinde immün toleran fazda HBV alabildiğine replike olmakta fakat immün yanıt olmadığı için transaminaz değerleri normal olmaktadır. İmmün klirens döneminde immün aracılıklı hepatosellüler

hasar oluşmaya başlayıp bunun sonucunda transaminaz değerleri yükselir (bazen dalgalı aşırı yükselmeler görülebilir), enfekte hepatosit kitlesi azaldığı için HBV-DNA düzeyi düşer. HBeAg negatif hastaların doğal seyri tamamen anlaşılabilmiş olmamasına rağmen bugün kabul gören başlıca iki patern göstermektedir. Birinci patern, hastaların %30-40'ını oluşturmakta ve yukarıda bahsedilen orta yüksek HBV-DNA seviyeleri ile birlikte sürekli yüksek ALT seviyelerine sahiptir. İkinci paterndekiler ise dalgalı seyreden ALT yükseklikleri ile birlikte düşük veya negatif HBV-DNA seviyelerine sahip hastalardır (hastaların %45-60'ı). HBeAg negatif hastaların doğal seyri ve kendi içindeki bu paternlerin seyirleri muhtemelen ileri çalışmalarla daha netleşecektir.[2]

Külah C ve arkadaşlarının çalışmasında, serum ALT düzeyleri ile serum HBV-DNA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Yüksek düzeyde HBV-DNA saptanan örneklerin çoğunda beklenildiği şekilde ALT düzeylerinin normalin üzerinde seyrettiği gözlenmiş olmakla birlikte kopya sayısı ve enzim düzeyleri arasında birebir ilişki kurulamamıştır.[79]

Feld ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; 74 HBeAg negatif ve 32 tane HBeAg pozitif olan hasta değerlendirilmiş, HBeAg negatif hastalar için HBV-DNA gelecekteki ALT'nin ön belirleyicisi olarak kabul edilmiş olup HBeAg pozitif hastalarda HBV-DNA seviyeleriyle ALT seviyeleri arasında bir ilişki bulunamamıştır. Yapılan bu çalışmada HBeAg negatif kronik hepatit B'nin dalgalı bir gidişata sahip olduğu, 10.000 kopya/ml'den daha az HBV-DNA değerlerinin en az bir yıl için sürekli normal ALT'yi önceden tahmin edebileceği kararına varılmıştır. 10.000 ile 100.000 kopya/ml arasındaki HBV-DNA değerine sahip hastaların 6 aylık aralıklarla takip edilebileceği, ancak HBV-DNA'sı 100.000 kopya/ml'den daha yüksek olan hastaların gelecekteki ALT yükselmesinin yüksek derecede belirleyicisi olduğu ve düzenli aralıklarla takip edilmesi gerektiği belirtilmiştir.[96]

Bu çalışmada seri ölçümlerin yapılmış olması oldukça önemlidir. Ancak kronik HBV enfeksiyonu seyrinde HBeAg negatif döneminin dinamik, dalgalı bir gidişata sahip olduğunu bilmekteyiz. Dalgalı seyir sadece ALT düzeylerinde olmamaktadır. HBeAg negatif hastalar hem HBV-DNA düzeylerinde hem de ALT seviyelerinde geniş dalgalanmalar gösterebilirler (hastaların yaklaşık %70'i) ve bazı dönemlerde normal ALT seviyeleri ile tamamen inaktif hastalık görüntüsü verebilirler ki inaktif taşıyıcıdan

HBeAg negatif hastayı ayırabilmek için seri ALT ölçümleri gereklidir. Üstelik bu hastalarda HBV-DNA düzeyi sadece ALT yükselmesi öncesi geçici yükseklik gösterebilir ve böylece hastalar klinikte kolayca gözden kaçabilir. Ayrıca bir tek kontrol ile HBeAg negatif/anti-HBe pozitif, tespit edilemeyen veya çok düşük serum HBV-DNA seviyelerine sahip (< 2000 IU/ml) ve normal serum ALT'si olan hastalar uygun bir takip olmadıkça inaktif HBs taşıyıcısı sınıfına konulmamalıdır. Çünkü HBeAg negatif hastaların başvuruda yaklaşık %20-30'unda normal ALT seviyelerine rağmen histolojik olarak dökümante edilmiş kronik hepatit vardır.[2]

Ancak HBeAg negatif HBV-DNA düzeyi düşük, ALT'si normal olan her hastaya invaziv bir girişim olan biyopsinin yerine basit ve ucuz bir yöntem olan ALT'nin sıkı takibi daha uygun olabilir.

Chan ve arkadaşlarının 350 kişi üzerinde yaptığı çalışmada; HBeAg pozitif, ALT normal olan grubun ortalama HBV-DNA düzeyi en yüksek bulunmuştur. Yine HBeAg negatif, ALT düzeyi normal olan grubun ortalama HBV-DNA düzeyi en düşük tespit edilmiştir.[97] Bu çalışmada ki, HBeAg pozitif hastalar kronik hepatit B enfeksiyonunun immün tolerans dönemini karşılamaktadır.

Rabbi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; anti-HBe pozitif hastaların yüksek ALT değerine sahip olanlarda, normal ALT değerleri olanlar ile kıyaslandığında daha yüksek oranda HBV-DNA seviyesi tespit edilmiştir.[98]

Kim ve arkadaşlarının 82 HBeAg negatif kronik hepatit B'li hasta ile yaptığı çalışmada; hastalar serum ALT değerlerine göre iki gruba ayrılmıştır. Daha düşük ALT değerlerine sahip olan hastalar (n=52, normalin üst sınırı < ALT < 2 x normalin üst sınırı) ve daha yüksek değerliler (n=30, ALT ≥ 2 x normalin üst sınırı). HBeAg negatif kronik hepatit B hastalarında ortanca HBV-DNA serum seviyesi $2.7x10^5$ kopya/ml olarak tespit edilmiştir. ALT seviyesi yüksek hastalarda ortanca HBV-DNA serum seviyesi 10^6 kopya/ml, ALT seviyesi daha düşük olan hastaların değerinden ($5.6x10^4$) daha yüksek bulunmuştur. Yani serum ALT seviyesi HBeAg negatif kronik hepatit B hastalarındaki HBV-DNA serum seviyesi ile ilişkili bulunmuştur.[99]

Bizim çalışmamızda, HbeAg/Anti-HBe ayırımı yapmadan tüm hastaların ALT gruplarına göre ortalama HBV-DNA düzeylerinin karşılaştırmasında, gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0,05). Ancak ALT düzeyinde artma

oldukça ortalama HBV-DNA düzeyinde azalma eğilimi saptandı. HBeAg pozitif ve anti-HBe pozitif hastalarda ALT düzeyine göre ortalama DNA değerlerinin karşılaştırmasında, HBeAg pozitif hastalarda gruplar arasında istatistiki fark olmasa da ($p>0,05$) ALT düzeyinde artış oldukça ortalama HBV-DNA değerlerinde düşme saptandı.

Bizim çalışmamızda, anti-HBe pozitif hastaların ALT düzeyleri ile HBV-DNA değerleri arasında anlamlı bir ilişki yoktu ($p>0,05$). İlişki yokluğu ölçümlerimizin tek ölçüme dayalı olmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca bilindiği gibi HBeAg negatif hastaların önemli bir kısmı dalgalı seyreden ALT yükseklikleri ile birlikte düşük veya negatif HBV-DNA seviyelerine sahip hastalardır (hastaların %45-60'ı).[2] Genelde viral replikasyon ALT yükselmesinden bir-iki ay önce olup, immünolojik reaksiyon ve inflamasyon ile düşmektedir. O nedenle ALT'nin pik yaptığı dönemde HBV-DNA saptanamayabilir.[84] Anti-HBe pozitif hastalarda doğal seyir nedeniyle daha sıkı monitörizasyon ve çoklu ölçümlerle ileri yorumlar yapmamız mümkün olabilir.

Bizim çalışmamızda, HBeAg pozitif ve anti-HBe pozitif hastalarda ALT düzeylerine göre HAİ, fibrozis [(sırasıyla HBeAg (+) hastalar için $p>0,05$, $p>0,05$ Anti-HBe (+) hastalar için $p>0,05$, $p>0,05$)] skorlarında istatistiki olarak anlamlı farklılık yoktu. Bilindiği gibi serum ALT düzeyi tedavi adayı hastaların tanımlanması için önemlidir. Yüksek ALT düzeyi antiviral tedaviye yanıt için önemli bir göstergedir. Ancak ALT yüksekliği ile karaciğer nekrozu arasında korelasyon yoktur. ALT yüksekliği tek başına nekroenflamatuvar aktivite veya fibrozisi göstermez. Vücut kitle indeksi, cinsiyet, lipit anormallikleri, yağlı karaciğer ve üremi gibi faktörler ALT düzeyini etkileyebilmektedir. Kendiliğinden veya diğer viral enfeksiyonlar nedeniyle ALT düzeyi yükselebilir. Devam eden normal ALT seviyelerine rağmen hastaların 1/3'ünden fazlasında özellikle hastanın yaşı > 35-40 ise karaciğer biyopsisinde fibrozis veya enflamasyon saptanmaktadır.[100]

Yuen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; sürekli ya da aralıklı olarak yüksek ALT düzeyine sahip hastalarla karşılaştırıldığında, sürekli olarak normal ALT düzeyleri olan hastalar önemli derecede düşük median HAI-NI skoruna sahip bulunmuşlardır. ALT düzeyi ile karaciğer histolojisi arasındaki ilişki, karaciğer biyopsisi sırasında ölçülen tek bir ALT düzeyindense belirli aralıklarla tekrarlanan ALT düzeyi ile daha iyi

kurulabilir. Bu çalışmada devamlı yüksek ALT seviyesine sahip hastalarla inişli çıkışlı ALT seviyesine sahip hastalar ve 1-2 x normalin üst sınırı gibi yüksek ALT seviyesi olan hastalarla 2-5 x normalin üst sınırı ALT seviyesine sahip hastalar arasında histolojik skorlar açısından fark bulunamamıştır. Devamlı iniş çıkışlı ALT düzeyine sahip olan anormal ALT düzeyli hastalarla karşılaştırıldıklarında, devamlı olarak normal ALT düzeyine sahip olan hastaların daha düşük derecede nekroenflamasyon ve fibrozise sahip oldukları görülmüştür. Devamlı olan normal ALT düzeyinin iyi karaciğer histolojisinin tek güvenilir göstergesi olduğu belirtilmiştir.[82]

Çalışmamızdaki ALT düzeyi normal olan hastaların (n=10) yarısı düşük fibrozis grubunda (F0-F1) yarısı yüksek fibrozis grubunda(F3-F4) saptanmıştır. ALT düzeyi normal olan hastalarımızın azlığı nedeniyle veya biyopsi esnasındaki tek ölçüm nedeniyle ilişki saptamamış olabiliriz. ALT düzeyi normal olup yüksek fibrozise sahip 5 hastadan sadece bir tanesi HBeAg pozitif olup, diğer 4 hasta anti-HBe pozitif bulunmuştur. Yine, HBeAg pozitif saptanan hasta 19 yaşında olup bu hasta abortif immün klirens döneminde olabilir.

Peng ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; ALT seviyeleri ile HAİ rakamları arasındaki ilişki karşılaştırıldığında; daha düşük olan ALT seviyesi (1-2.5 x normalin üst sınırı) daha belirgin olmamasına rağmen genellikle HBeAg negatif hastalarda görülmüştür. Ancak HBeAg pozitif grubu ile karşılaştırıldığında HBeAg negatif hastaların daha ciddi karaciğer rahatsızlıklarına sahip oldukları görülmüştür. Hem HBeAg negatif hastalarda hem de HBeAg pozitif hastalarda ALT seviyeleri ile enflamasyon değerleri arasında iyi bir korelasyon olduğu ifade edilmiş aynı zamanda HBeAg pozitif hastalarda ALT seviyeleri ile fibrozis değerleri arasında da iyi bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Fakat HBeAg negatif hastalarda bu durumun söz konusu olmadığı belirtilmiştir.[95]

Lai ve arkadaşlarının 192 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada; Yüksek ALT daha çok fibrozis ve enflamasyonlarla ilişkili bulunmuştur. Normal ALT grubundaki hastaların %37'sinde ciddi enflamasyon ve fibrozis bulunmuştur. Yüksek normal ALT grubundaki fibrozis düşük normal gruptan 5 kat daha fazla bulunmuştur. Yüksek normal grupta önemli enflamasyonun varlığı düşük normal grubun iki katı bulunmuştur. Sonuç olarak düşük normal gruptaki hastaların %20'si hem ciddi enflamasyon hemde fibrozise

sahipken bu oran yüksek normal grupta %46 bulunmuştur. Artan enflamasyon yüksek ALT ile ilişkili bulunmuştur. 25 genç immüntoleranlı hastanın sadece üçünde ciddi fibrozis görülmüştür.[101]

Bizim çalışmamızda, hastaların %12,5'i normal ALT grubunda, %33,8'inin ALT düzeyi normalin 1-2katı, %53,7 sinin ALT düzeyi normalin 2 katının üstünde idi. ALT düzeyi normalin 1-2 katı ve ALT düzeyi normalin 2 katından fazla olan hastalar karşılaştırıldığında; ALT düzeyi normalin 1-2 katı olan hastaların %77,8'i düşük fibrozis skoruna sahipken ALT düzeyi normalin 2 katından yüksek olan hastaların %58,1'i düşük fibrozis skoruna sahipti. Ayrıca ALT düzeyi normalin 1-2 katı olan hastaların %22,2'si yüksek fibrozis skoruna sahipken ALT düzeyi normalin 2 katından yüksek olan hastaların %41,9'u yüksek fibrozis skoruna sahipti. ALT düzeyi normal olan hasta grubumuzun sayı olarak azlığı nedeniyle anlamlı sonuç elde edememekle beraber, diğer iki grup karşılaştırmasında ALT düzeyinde artış oldukça ileri derecede fibrozis görülme oranında da artış saptandı.

Bayram ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; HBeAg pozitif ve HBeAg negatif hastalarda serum HBV-DNA düzeyi ile karaciğer nekroenflamasyonu ve fibrozis derecesi arasında pozitif ilişki saptanmıştır.[102]

Heo JH ve arkadaşlarının 66 kronik hepatit B'li hasta ile yaptığı çalışmada; HBeAg pozitif hastalarda serum HBV-DNA düzeyi portal-periportal aktivite (yani hepatik aktivite) ve fibrozis ile önemli negatif ilişki göstermiştir. Yani HBeAg pozitif hastalarda serum HBV DNA düzeyi histolojik aktivite ile ters ilişki göstermiştir.[103]

Fan ve arkadaşlarının kronik hepatit B'li 1057 hasta ile yaptığı çalışmada; enflamasyon ve fibrozisin derecesi HBeAg negatif hastalarda HBeAg pozitif hastalardan, daha yüksek bulunmuştur. Enflamasyon ve fibrozisin derecesi, yüksek HBV-DNA'lı HBeAg negatif hastalarda daha yüksek olmasına rağmen, düşük HBV-DNA seviyeli HBeAg pozitif hastalarda daha yüksek bulunmuştur.[93]

Bizim çalışmamızda da, enflamasyon ve fibrozisin derecesi HBeAg pozitif hastalardan, HBeAg negatif hastalarda daha yüksek bulunmuştur. HBeAg pozitif hastalarda DNA gruplarına göre ortalama HAİ, fibrozis skorlarında istatistiki anlamlı farklılık saptanmadı. Anti-HBe pozitif hastalarda DNA gruplarına göre ortalama HAİ skorlarında istatistiki anlamlı farklılık saptanmadı. Ancak anti-HBe pozitif hastalarda

DNA düzeyi arttıkça HAİ skorları artma eğiliminde bulundu. Yine anti-HBe pozitif hastalarda DNA grubunda artma oldukça ortalama fibrozis skorlarında istatistiki olarak anlamlı artış tespit edildi (p=0,018). Bizim sonuçlarımız HBeAg negatif hastalar açısından, Bayram ve arkadaşlarının yaptığı çalışma[102] ve Fan ile arkadaşlarının yaptığı çalışma[93] sonuçlarına benzerdir.

Başka bir çalışmada; HBeAg negatif hastalarda HBV-DNA'nın tespitinin karaciğer hastalığının varlığı ile güçlü ilişkili olduğu vurgulanmıştır. HBeAg pozitif grupta karaciğer rahatsızlığı veya ALT seviyeleri serum HBV-DNA seviyeleri yoluyla önceden tahmin edilememiştir.[97]

Ayrıca, Cho ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; 119 HBeAg pozitif kronik hepatit B'li genç erkek hasta değerlendirilmiş; HBV-DNA ile histolojik aktivite arasında birbirine zıt önemli ilişki tespit edilmiştir. Fakat HBV-DNA ciddi fibrozisle ilişkili bulunmamıştır. Düşük HBV-DNA daha ciddi histolojik aktiviteyi tahmin için önemli bir test olarak değerlendirilmiştir.[104] Bu çalışmadan çıkan sonuçlar kronik hepatit B'nin immün klirens dönemindeki doğal gidişatı göstermektedir.

Bilindiği gibi, HBV-DNA seviyesinin düşük olması ilerleyici karaciğer hastalığının olmadığı anlamına gelmez. HCC gelişen hastaların %15'inde HBV-DNA düzeyi 10^4 kopya/ml olarak saptanmıştır. Özellikle HBeAg negatif olan kronik hepatit B'li veya sirozlu hastalarda HBV-DNA'nın düşük düzeyi ilerleyici karaciğer hastalığı ile ilgili olabilir ve tedavi gerekebilir. Serum HBV-DNA düzeyi sürekli < 20.000 IU/ml olsa bile hastada ilerlemiş karaciğer hastalığı olabilir.[100]

Wong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; HBeAg pozitif ve anti-HBe pozitif hepatit B hastaları arasında nekroenflamasyon ve fibrozis değerleri açısından önemli bir fark tespit edilmemiştir. Minimal veya hafif nekroenflamasyonlu hasta grubu ile orta ve belirgin nekroenflamasyonlu hasta grubu arasında median HBV-DNA serum düzeylerinde önemli bir fark bulunmamıştır. Fibrozis düzeyi orta veya siroz olarak belirlenen hasta grubunun hafif veya fibrozis olmayan hasta grubundan daha yüksek median serum HBV-DNA düzeyi tespit edilmiştir. Ayrıca prekor mutasyonlu ve mutasyonsuz anti-HBe hastaları arasında nekroenflamasyon ve fibrozis değerleri önemli bir farklılık göstermemiştir.[105] Ancak hepatit B virüsünde genetik değişimlerin HBV enfeksiyonunun doğal seyrinde önemli rol oynadığı ve ilerlemesine katkıda

bulunduğuna inanılmaktadır. Mutant suşlar kronikleşmede, hepato-karsinogenezde, fulminan hepatit gelişmesinde veya asemptomatik seyirde önemli rol oynayabilir.[106]

Bizim çalışmamızda, HBV-DNA grupları ile fibrozis düzeyleri karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Ancak DNA grubunda artma oldukça yüksek derecede fibrozis görülme oranının da artma eğiliminde olduğu saptandı.

Yang ve arkadaşlarının yaptığı 1686 kişilik kronik hepatit B çalışmasında; serum HBeAg durumlarına bakmaksızın, serum HBV-DNA'ları 10^5 kopya/ml'den düşük olan hastaların daha düşük histolojik nekroenflamatuvar aktiviteye sahip olduğu yani aktif HBV replikasyonu olanların daha yüksek histolojik nekroenflamatuvar aktivite gösterdiği vurgulanmıştır.[107]

Çalışmamızda, HBeAg (+) hastaların; ortalama HBV-DNA düzeylerini anti-HBe pozitif hastalardan daha yüksek tespit etmiş olmamıza rağmen HAİ düzeyinin anti-HBe pozitif hastalarda daha yüksek çıkmış olması nekroenflamatuvar aktivitenin tahmini açısından HBeAg/anti-HBe ayırımı yapmadan HBV-DNA'nın tek başına yeterli bir gösterge olamayacağını düşündürmektedir.

Başka bir çalışmada; serum HBV-DNA seviyesi ile enflamasyon ve fibrozis derecesi arasında önemli ölçüde ilişki bulunmamıştır. Ayrıca düşük HBV-DNA seviyesine sahip hastaların %51,4'ünde ve yüksek HBV-DNA seviyesine sahip hastaların %47,1'inde önemli ölçüde enflamasyon (grade $\geq$ 2) bulunmuştur. Düşük HBV-DNA'lı hastaların %42,2'sinde ve yüksek HBV-DNA'lı hastaların %31,1'inde önemli ölçüde fibroz (stage $\geq$ 2) bulunmuştur. Enflamasyon ve fibrozis sıklığı bu iki grupta benzer bulunmuştur. Bu çalışmada HBV-DNA seviyeleri ve histolojik değişimler arasında bir korelasyon ortaya çıkmamıştır. Ayrıca çalışmada yüksek ve düşük HBV-DNA seviyesine sahip kronik hepatit B hastalarında önemli ölçüde enflamasyon ve fibrozis tespit edilmiş olup, kronik hepatit B'nin şiddetini değerlendirmek için HBV-DNA'nın kusurlu bir gösterge olduğu belirtilmiştir.[92]

Kronik Hepatit B enfeksiyonunda HBeAg pozitif hastaların anti-HBe pozitif hastalardan daha yüksek oranda HBV-DNA seviyesine sahip olduğu ancak anti-HBe pozitif hasta grubunun daha ileri hepatik aktivite indeksi ve daha ileri fibrozis düzeyi gösterdiği dikkate alındığında Huang ve arkadaşlarının yaptığı çalışma [92] sonuçları

genel olarak kronik hepatit B'nin doğal seyri ile uyumlu görünmektedir. Ancak HBV-DNA düzeylerininde belirli aralıklarla tekrarlanan ölçümleriyle ve bu konuda daha fazla çalışma yapılarak HBV-DNA'nın karaciğer hasarındaki rolü daha iyi anlaşılabilir.

Diğer bir çalışmada; düşük seviyede HBV-DNA'ya rağmen HBeAg pozitif hastalarla kıyaslandığında anti-HBe pozitif kronik hepatit B hastalarında oldukça yüksek enflamatuar skor bulunmuştur. Tespit edilebilir HBV-DNA, HBeAg negatif hastalarda daha ciddi karaciğer hasarıyla ilişkili bulunmuş ve artan HBV-DNA seviyesi bu hastalarda oldukça yüksek enflamatuar skorlar ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca karaciğerdeki nekroenflamatuar aktivitenin her zaman kronik hepatit B'deki viral replikasyona paralel olmadığı belirtilmiştir. Anti-HBe pozitif kronik hepatit B'li hastalarda şiddetli enflamasyon ve hepatik doku nekrozu gözlemlenmiştir. Kronik hepatit B'de karaciğer hastalık şiddetinin virüs replikasyon seviyeleri ile doğrudan ilişkili olmadığı belirtilmiştir.[83]

Bizim çalışmamızda da anti-HBe pozitif hastalarda daha düşük ortalama HBV-DNA düzeyi tespit etmiş olmamıza rağmen bu hastalarda HBeAg pozitif hastalara göre daha yüksek HAİ skoru tespit ettik. Elde ettiğimiz sonuçlar ile önceki çalışmanın sonuçları benzerdir. Mevcut bulgular kronik HBV enfeksiyonunun doğal gidişatında yüksek oranda beklenen sonuçlardır.

Peng ve arkadaşlarının 743 kronik hepatit B'li hasta ile yaptıkları çalışmada, HBeAg negatif grup hastalarında yükselen HBV-DNA seviyeleri daha yüksek dereceli enflamasyon ve fibrozis değerleri ile birliktelik göstermiştir. Tersine HBV-DNA düzeyindeki azalma HBeAg pozitif hastalarda daha yüksek enflamasyon ve fibrozis değerleriyle ilişkili bulunmuştur. Enflamasyon ve fibrozis skorları hem HBeAg negatif hastalarda hem de HBeAg pozitif hastalarda oldukça tutarlı bulunmuştur. Böylece hepatositlerin nekroinflamasyonunun HBeAg durumuna bakmaksızın fibrozis gelişiminde önemli rol oynadığı belirtilmiştir.[95]

Bizim çalışmamızda, HBeAg pozitif hastalarda HAİ grup 1'de olan hastalardan yüksek fibrozisi olan hasta yoktu. HAİ grup 2'de ki hastaların %16,7'si yüksek dereceli fibrozise sahipti. HAİ grup 3'teki hastaların %37,5'i yüksek fibrozisli idi, HAİ grup 4'teki hastaların %100'ü yüksek derecede fibrozisli bulundu. Anti-HBe pozitif hastalarda HAİ grup 1'de olan hastaların hiçbiri yüksek fibrozis göstermiyordu. HAİ

grup 2'deki hastaların %5,3'ü, HAİ grup 3'teki hastaların %77,3'ü, HAİ grup 4'teki hastaların %100'ü ileri derecede fibrozise sahipti. Her iki grupta da HAİ arttıkça ileri derecede fibrozis oranı artıyordu.

Bizim çalışmamızın sonuçlarının önemli bir kısmı, Peng ve arkadaşlarının sonuçlarıyla uyumlu olup hepatosit nekroenflamasyonu, fibrozis gelişiminde önemli bir gösterge gibi görünmektedir.

Unutulmamalıdır ki, kronik hepatit B dinamik, karmaşık seyir gösteren bir hastalıktır. Virüsün değişken karakteristik yapısı ve hastaya ait faktörler kronik hepatit B seyrinde farklı paternlerin görülmesine neden olmaktadır. Bundan dolayı kronik hepatit B hastalarını değerlendirirken serolojik göstergelerin, transaminaz düzeylerinin, viral yükün yakın takibi ve birlikte yorumlanması, karaciğer biyopsisinin halen altın standart yöntem olduğunun bilinmesi tedavinin geciktirilmemesi ve kronik hepatit B'ye bağlı komplikasyonları en aza indirmek açısından çok önemlidir.

6. SONUÇLAR

1. HBeAg pozitif olanlarla anti-HBe pozitif hastalarda ortalama yaş açısından istatistiki olarak belirgin fark vardı. HBeAg pozitif hastalar anti-HBe pozitif hastalardan belirgin olarak daha gençtiler.

2. HBeAg pozitifliğinin düşük olması horizontal geçişin bölgemizdeki temel bulaşım yolu olduğu görüşünü desteklemektedir.

3. Hastalarımızda anti-HBe pozitifliği oranı yüksek tespit edilmiş olup bu durum hasta grubunun ortalama yaşı nedeniyle olabilir.

4. Yaş düzeyinde artma oldukça ortalama HAİ ve fibrozis değerlerinde de artma eğilimi saptandı.

5. Cinsiyete göre HAİ ve fibrozis düzeylerinin karşılaştırmasında, HAİ erkek hastalarda daha yüksek olma eğilimindeydi. Fibrozis düzeyi yine erkek hastalarda daha yüksek olma eğilimindeydi.

6. Kronik hepatit B'nin doğal seyrine uygun olarak HBeAg pozitif hastaların HBV-DNA düzeyi anti-HBe pozitif hastalarınkinden istatistiki olarak anlamlı yüksek bulundu.

7. HBeAg pozitif grup ile anti-HBe pozitif grup HAİ ortalamaları yönüyle karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark vardı. Anti-HBe pozitif grubun ortalama HAİ değeri HBeAg pozitif gruptan daha yüksekti.

8. HBeAg pozitif grup ile anti-HBe pozitif gruptaki hastalar fibrozis düzeyleri açısından karşılaştırıldığında; anti-HBe pozitif hastalar, HBeAg pozitif hastalardan daha yüksek oranda ileri fibrozis derecesine sahiptiler.

9. HBeAg pozitif hastalarla anti-HBe pozitif hastalar karşılaştırıldığında her iki grupta da HAİ arttıkça ileri derecede fibrozis oranı artıyordu. Buna göre hepatosit nekroenflamasyonu, fibrozis gelişiminde önemli bir gösterge gibi görünmektedir.

10. ALT gruplarına göre ortalama HBV-DNA düzeylerinin karşılaştırmasında, gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak ALT düzeyinde artma oldukça ortalama HBV-DNA düzeyinde azalma eğilimi saptandı.

11. HBeAg (+) hastalarda ALT düzeyinde artış oldukça ortalama HBV-DNA değerlerinde düşme eğilimi saptandı.

12. HBV-DNA gruplarına göre fibrozis düzeyleri karşılaştırıldığında; gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak DNA grubunda artma oldukça yüksek derecede fibrozis görülme oranının da artma eğiliminde olduğu saptandı.

13. Anti-HBe pozitif hastalarda HBV-DNA düzeyi arttıkça HAİ skorları artma eğiliminde bulundu. Yine anti-HBe pozitif hastalarda HBV-DNA düzeyinde artma oldukça ortalama fibrozis skorlarında istatistiki olarak anlamlı artış tespit edildi.

14. Biyokimyasal parametrelerin HAİ ile karşılaştırılmasında; HAİ'nin PT, AST, İNR ile pozitif korelasyon gösterdiği, Trombosit düzeyi ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edildi.

15. Biyokimyasal parametrelerin düşük-yüksek fibrozis gruplarına göre karşılaştırılmasında albümin düzeyinin yüksek fibrozis grubunda daha düşük olduğu saptandı. Trombosit düzeyinin yüksek fibrozisli grupta daha düşük olduğu saptandı. Protrombin zamanının yüksek fibrozisli grupta daha uzun olduğu saptandı. İNR'nin yüksek fibrozisli grupta daha uzun olduğu tespit edildi.

16. Hastaların büyük çoğunluğunun genç ve orta yaşlı olması HBV enfeksiyonunun ülkemiz açısından ciddi bir sağlık sorunu olduğunu göstermektedir.

17. Anti-HBe pozitif hastalarımızın bazılarında önemli miktarda yüksek viral yük tespit ettik.Bu bize, anti-HBe pozitif hastaların her zaman non-replikatif seyir göstermeyeceğini, devam eden replikasyonun da olabileceğini göstermektedir.

18. Anti-HBe pozitif hastalarımızda önemli miktarda viral yük tespit etmiş olmamızdan dolayı, genotip D'nin hakim olduğu ülkemizde HBeAg negatif mutant suşlar olabileceğinin bundan dolayı da viral replikasyonu gösterebilmek için HBV-DNA'nın hassas bir yöntem olan PCR yöntemi ile saptanmasının önemli ve gerekli olduğu düşüncesindeyiz.

19. Kronik Hepatit B enfeksiyonunun dinamik seyri nedeniyle kronik hepatit B'li hastalarda serum ALT düzeyi, HBV-DNA, karaciğer histolojisi ile klinik seyir arasındaki ilişkinin incelenmesinde ve HBV replikasyonunun tespitinde, prognozun tahmininde serum ALT seviyesinin ve HBV-DNA düzeyinin biyopsi esnasındaki tek bir ölçümdense, düzenli aralıklarla takibi daha uygun olabilir.

KAYNAKLAR

1. Lindsay KL, Hoofnagle JH. Kronik Hepatitler. In Goldman L, Ausiello D (eds). Cecil Textbook of Medicine, 22nd Edition. Çeviri:Kocakaya O, Avşar E. 22. Baskı Cilt 1 Öncü Basımevi, Güneş Kitabevi. 2006; 917-924.

2. Kantarçeken B. Kronik Hepatit B-Doğal Seyir. İçinde, Tabak F, Balık İ (Yazarlar) Viral Hepatit 2009, İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti. , İstanbul. 2009; 3-22.

3. Yalçın K, Değertekin H, Alp M. N. , Tekeş S, Yıldız F, Kılınç N, Budak T. Tedavi Edilmemiş Kronik Hepatit B'li Hastalarda Serum HBV DNA Düzeylerinin HBeAg/Anti-HBeDurumu, Karaciğer Histolojisi, ALT Düzeyleri ve Yaşla Korelasyonu. T Klin J Gastroenterohepatoloji 2003; 14:155-160.

4. Özacar T. Hepatit B Virusu. İçinde, Topçu A. W. , Söyletir G, Doğanay M (Yazarlar). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 3. baskı, Cilt 2. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2008; 1882-1904.

5. Balık İ, Tuncer Ertem G. Kronik Hepatitler. İçinde, Topçu A. W. Söyletir G, Doğanay M (Yazarlar). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi 3. baskı, Cilt 1. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2008; 1189-1205.

6. Lee WM. Hepatitis B virus infection, N Engl J Med 1997; 337:1733-1745.

7. Pawlotsky JM. The concept of hepatitis B virus mutant escape. J Clin Virol 2005; 34:S125-S129.

8. Ustaçelebi Ş, Ergünay K. Hepatit B Virusunun (HBV) Moleküler Virolojisi. İçinde, Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Yazarlar). Viral Hepatit 2007, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını, İstanbul. 2007; 96-107.

9. Ganem D, Schneider R. Hepadnaviridae:the viruses and their replication. In Knipe DM, Howley PM, eds. Fields Virology. Philadelphia:Lippincott –Raven; 2001:2923-2970.

10. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. Microbiol Mol Bio Rev 2000; 64:51-68.

11. Cooper A, Paran N, Shaul Y. The earliest steps in hepatitis B virus infection. Biochem Biophy Acta 2003; 1614:89-96.

12. Bruss V. Envelopment of the hepatitis B virus nucleocapsid. Virus Res 2004; 106:199-209.

13. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, et al. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. Science 1999; 284:825-829.

14. Huang C-F, Lin S-S, Ho Y-C, Chen F-L, Yang C-C. The immune response induced by hepatitis B virus principal antigens. Cellular&Molecular Immunology 2006; 3:97-106.

15. Guidotti LG, Chisari FV. Cytokine-mediated control of viral infections. Virology 2000; 273:221-227.

16. Curry MP, Chopra S. Acute Viral Hepatitis. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone 2005; 1426-1441.

17. Lavanchy D. Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention. J Clin Virol 2005; 34 (supp1):1-3.

18. Özdemir D, Kurt H. Hepatit B Virusu Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. İçinde, Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Yazarlar). Viral Hepatit 2007, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını, İstanbul. 2007; 108-117.

19. Awaidy S, Abu-Elyazeed R, Al Hosani H et al. Sero-epidemiology of hepatitis B infection in pregnant women in Oman, Qatar and the United Arab Emirates. J Infect 2006; 52:202-206.

20. Taşyaran MA. HBV Enfeksiyonu Epidemiyolojisi. Tekeli E, Balık İ (Yazarlar). Viral Hepatit 2003; 121-128.

21. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. J Hepatol 2003; 39:64-69.

22. Kaygusuz S, Kılıç D, Ayaşlıoğlu E, Özlük Ö, Cerit L, Yıldırım A. Kırıkkale'de Yaşa ve Cinsiyete Göre HAV, HBV ve HCV Seropozitiflik Sonuçları. Viral Hepatit Derg 2003; 8:160-165.

23. Özdemir D, Balık İ. Ülkemizde Hepatit B Virusu (HBV) Genotip Dağılımı. Viral Hepatit Derg 2002; 1:451-454.

24. Liaw Y-F, Chu C-M. Hepatitis B virus infection, Lancet 2009; 373:582-592.

25. Değertekin H. Türkiye'de HBV Epidemiyoloji ve Bulaşım Yolları. İçinde, Çakaloğlu Y, Ökten A (Yazarlar). Hepatit B Ulusal Uzlaşma Toplantı Metinleri, İstanbul:İstanbul Medikal Yayıncılık, 2003; 99-109.

26. Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği. Kronik B Hepatiti Tanı, Yaklaşım, Tedavi, Takip Kılavuzu 2007; S1-33.

27. Sünbül M, Leblebicioğlu H. Distribution of hepatitis B virus genotypes in patients with chronic hepatitis B in Turkey. World J Gastroenterol 2005; 11:1976-1980.

28. Erden S, Büyüköztürk S, Çalangu S, Yılmaz G, Palandüz S, Badur S. A Study of serological markers of hepatitis B and C viruses in Istanbul, Turkey. Med Princ Pract 2003; 12:184-188.

29. Mıstık R, Balık İ. Türkiye'de viral hepatitlerin epidemiyolojik analizi. Viral Hepatit 2003, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını, İstanbul, 10-55.

30. Dolar E. Klinik Karaciğer Hastalıkları. Nobel, Güneş Kitabevleri, İstanbul, 2002; 192-196.

31. Kılıçturgay K. Türkiye'de viral hepatitler. Genel Durum. Viral Hepatit 92. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını, İstanbul, 1-15.

32. Bonanni P, Pesavento G, Boccalini S, Bechini A. Perspectives of public health:present and foreseen impact of vaccination on the epidemiology of hepatitis B. J Hepatol 2003; 39:224-229.

33. Şencan İ, Şahin İ, Kaya D, Bahtiyar Z. Yeni Kurulan Bir Tıp Fakültesi Hastanesinde Sağlık Çalışanlarının Hepatit B ve Hepatit C Seroprevalansı. Viral Hepatit Derg 2003; 8:47-50.

34. Altunay H, Kenar S, Koçak N, Çavuşlu Ş. İzole Anti-HBc Pozitifliğinde Hepatit B Virus İnfeksiyözitesinin Araştırılması. Viral Hepatit Derg 2003; 8:10-15.

35. Nair S, Perrillo RP. Hepatitis B and D. In Zakım D, Boyer TD (eds). A Textbook of Liver Disease. USA:Elsevier Science, 2003; 2:S 959-1016.

36. EASL international consensus conference on hepatitis B. J Hepatol 2003; 39:3-25.

37. Chwla Y. Hepatitis B virus:inactive carriers. Virol J 2005; 28:82.

38. Taşyaran M. A. Hepatit B Virüs Enfeksiyonunda Klinik. İçinde, Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Yazarlar). Viral Hepatit 2007, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını İstanbul, 2007; 118-122.

39. Mert A. İnaktif HBsAg Taşıyıcılığı. İçinde, Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Yazarlar). Viral Hepatit 2007, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını İstanbul, 2007; 148-159.

40. Lok ASF, McMahon BJ. American Association Study Liver Disease Practice Guidelines. Chronic Hepatitis B. February 2007; S507-S539.

41. Balcıoğlu İ, Özdemir S. Kronik hepatitli hastalarda nöropsikiyatrik bulgular. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Yazarlar) Viral Hepatit 2005, Ankara, Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2005; 76-82.

42. Lok AS, Heathcote J, Hoofnagle J. Management of Hepatitis B:2000-Summary of a workshop. Gastroenterology 2001; 120:1828-53.

43. Chan HL, Tsang SW, Liew CT, Tse CH, Wong ML, Ching JY, et al. Viral genotype and hepatitis B virus DNA levels are correlated with histological liver damage in HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection. Am J Gastroenterol 2002; 97:406-12.

44. Özsan M. HBV Enfeksiyonunda Mikrobiyolojik Tanı. İçinde, Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Yazarlar). Viral Hepatit 2007, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını İstanbul:2007; 124-134.

45. Robinson WS. Hepatitits B virus and hepatitis D virus, Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th Ed, New York:Churchill Livingstone, 2000; 1652-85.

46. Bilgiç A, Özaçar T. Hepatit B virus, Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Yazarlar). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2, İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri, 2002; 1350-70.

47. Rotman Y, Brown TA, Hoofnagle JH. Evaluation of the Patient with hepatitis B, Hepatology 2009; 49:S22-S27.

48. Hadzakis A, Magiorkinis E, Haida C. HBV virological assesment, J Hepatol. 2006; 44:71-6.

49. Günşar F. Karaciğer Enzim Profilindeki Değişikliklerde Yaklaşımlar. Güncel Gastroenteroloji, 2003; 192-203.

50. Bonino F, Marcellin P, Lau GK, et al. Predicting response to peginterferon alpha-2a, lamivudine and the two combined for HBeAg –negative chronic hepatitis B. Gut 2007; 56:699-705.

51. Perrillo RP, Lai CL, Liaw YF, et al. Predictors of HBeAg loss after lamivudine treatment for chronic hepatitis B. Hepatology 2002; 36:186-194.

52. Nair S, Perrillo RP. Serum alanine aminotransferase flares during interferon treatment of chronic hepatitis B:is sustained clearance of HBV DNA dependent on levels of pretreatment viremia? Hepatology 2001; 34:1021-6.

53. Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time PCR in virology. Nucleic Acids Res 2002; 30:1292-1305.

54. Sayıner A. A. Tanı ve Tedavide Kullanılan Testler ve Standardizasyon (HBV DNA). İçinde, Çakaloğlu Y, Ökten A (Yazarlar). Hepatit B Ulusal Uzlaşma Toplantı Metinleri, İstanbul:İstanbul Medikal Yayıncılık, 2003; 43-55.

55. Hoofnagle JH, Shafritz DA, Popper H. Chronic type B hepatitis and 'healthy' HBsAg asymptomatic carrier state. Hepatology, 1987; 7:758-763.

56. Chisari FV. Cytotoxic T cells and viral hepatitis. J Clin Invest, 1997; 99:1472-1477.

57. Nayersina RP, Fowler P, Guilhot S et al. HLA-A2 restricted cytotoxic T lymphocyte resonses to multiple hepatitis B surface antigen epitopes during hepatitis B virus infection. J Immunol, 1993; 150:4659-4671.

58. DiBisceglie AM, Hoofnagle JH. Chronic viral hepatitis. In:Zakim D, Boyer TD (eds). Hepatology:a textbook of liver disease. W. B. Saunders Co, pp 1299-1329.

59. Mani H, Kleiner DE. Liver Biopsy Findings in Chronic Hepatitis B, Hepatology 2009; 49:S61-71.

60. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. Hepatology 1981; 1:431-5.

61. Çevikbaş U, Güllüoğlu M. G. Kronik B Hepatitinin Morfolojik Özellikleri. İçinde, Çakaloğlu Y, Ökten A (Yazarlar). Hepatit B Ulusal UzlaşmaToplantı Metinleri, İstanbul:İstanbul Medikal Yayıncılık, 2003; 91-97.

62. Ferrell LD, Theise ND, Scheuer PJ. Acute and chronic viral hepatitis In MacSween RNM, Burt AD, Portmann BC, Ishak KG, Scheuer PJ, Anthony PP eds. Pathology of the Liver, Elsevier Science Limited, 2002; S313-S362.

63. Desmet. VJ. Liver tissue examination. J Hepatology 2003; 39:S43-S49.

64. Wanless IR, Wong F, Blendis LM, Greig P, Heathcote EJ, Levy G. Hepatic and portal vein thrombosis in cirrhosis:possible role in development of parenchymal extinction and portal hypertension. Hepatology, 1995; 21:1238-1247.

65. Lau JY, Xie X, Lai MM, Wu PC. Apoptozis and viral hepatitis. Semin Liver Dis 1998; 18:169-76.

66. Bianchi L, Gudat F. Chronic Hepatitis. In:Mac Sween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Portmann B, Burt AD (eds). Pathology of the Liver; 3rd ed:Edinburgh:Churchill Livingstone, 1994; 349-395.

67. Le Bail B, Faouzi S, Boussarie L, Balabaud C, Bioulac-Sage P, Rosenbaum J. Extracellular matrix composition and integrin expression in early hepatocarcinogenesis in human cirrhotic liver. J Pathol, 1997; 181:330-337.

68. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis:diagnosis, grading and staging. Hepatology 1994; 19:1513-1520.

69. Crawford J. M. Karaciğer ve Safra Kanalları. In Kumar V, Cotran R. S. , Robbıns S. L. (eds). Basic Pathology. Çeviri:Çevikbaş U. Temel Patoloji. 6. baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. , 2000; 517-555.

70. Chu CM, Liaw YF. Immunuhistological study of intrahepatic expression of hepatitis B core and e antigens in chronic type B hepatitis. J Clin Pathol, 1992; 45:791-795.

71. Trevisan A, Gudat F, Busachi C, Stocklin E, Bianchi L. An improved method for HBcAg demonstration in paraffin-embedded liver tissue. Liver, 1982; ii:331-339.

72. Chu CM, Yeh CT, Chien RN, Sheen IS, Liaw YF. The degrees of hepatocyte nuclear but not cytoplazmic expression of hepatitis B core antigen reflect the level of viral replication in chronic hepatitis B virus infection. J Clin Microbiol, 1997; 35:102-105.

73. Ballare M, Lavarini C, Brunetto MR et al. Relationship between the intrahepatic expression of e and c epitopes of the nucleocapsid protein of hepatitis B virus and viremia. Clin Exp Immunol, 1989; 75:64-69.

74. Chu CM, Yeh CT, Sheen IS, Liaw YF. Subcellular localization of hepatitis B core antigen in relation to hepatocyte regeneration in chronic hepatitis B. Gastroenterology, 1995; 109:1926-1932.

75. Park YN, Han KH, Kim KS, Chung JP, Kim S, Park C. Cytoplazmic expression of hepatitis B core antigen in chronic hepatitis B virus infection:role of precore stop mutants. Liver, 1999; 19:199-205.

76. Gudat F, Bianchi L, Sonnabend W, Thiel G, Aenishanslin W, Stalder G. Pattern of core and surface expression in liver tissue reflects state of specific immune response in hepatitis B. Lab Invest, 1975; 32:1-9.

77. McDonald JA, Harris S, Waters JA, Thomas HC. Effect of human immunudeficiency virus (HIV) infection on chronic hepatitis B hepatic viral antigen display. J Hepatol, 1987; 4:337-342.

78. Soyuer I. Kronik Viral Hepatitlerin Patolojisi. İçinde, Tabak F, Balık İ (Yazarlar). Viral Hepatit 2009, İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti. ,İstanbul:2009; 281-291.

79. Külah C, Cömert F, Özlü N, Eroğlu Ö, Tekin İÖ. Hepatit B Virus (HBV) İnfeksiyonunda Serolojik Belirteçler, Transaminaz Düzeyleri ve HBV DNA'nın Birlikte Değerlendirilmesi. Viral Hepatit Dergisi 2007; 12:111-115.

80. Rockey DC, Bissell DM. Noninvasive Measures of Liver Fibrosis. Hepatology 2006; 43:S113-S120.

81. Usluer G. Karaciğer Biyopsisine Alternatif Non İnvaziv Fibroz Belirleyici Yöntemler. İçinde, Tabak F, Balık İ (Yazarlar). Viral Hepatit 2009, İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul:2009; 295-297.

82. Yuen MF, Ng IOL, Fan ST, Yuan HJ, Wong DKH, Yuen JCH, Sum SSM, Chan AOO, Lai CL. Significance of HBV DNA Levels in Liver Histology of HBeAg and Anti-HBe Positive Patients with Chronic Hepatitis B. Am J Gastroenterol 2004; 99:2032-2037.

83. Yalçın K, Değertekin H, Alp MN, Tekeş S, Satıcı Ö, Budak T. Determination of serum hepatitis B virus DNA in chronic HBsAg carriers:Clinical significance and correlation with serological markers. Turk J Gastroenterol 2003; 157-163.

84. Turgut H, Saçar S, Toprak S, Yalçın A. N, Kaleli İ. HBeAg Negatif Kronik Hepatit B Olgularında Seroloji ve Klinik Önemi. Viral Hepatit Dergisi 2004; 9:24-27.

85. Bozdayı A. M. Hepatit B Virüsü:Virolojik Özellikler-Genotipler Klinik Önemi. İçinde, Çakaloğlu Y, Ökten A (Yazarlar). Hepatit B Ulusal Uzlaşma Toplantı Metinleri, İstanbul:İstanbul Medikal Yayıncılık, 2003; 11-27.

86. Özdemir D, Cesur S, Çiftçi A, Balık İ. Kronik Hepatit B'li Hastalarda HBV DNA'nın Önemi, 5. Ulusal Viral Hepatit Sempozyumu, 2000.

87. Kıyan M. HBV İnfeksiyonu, Viroloji, Viral Hepatit 98 (yazar:Kılıçturgay K), Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 1998; 66-93.

88. Badur S. Hepatit B virusu (HBV) viroloji ve serolojik tanı. K Kılıçturgay (yazar). Viral Hepatit 94. 1. Baskı. İstanbul:Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 1994:76-7.

89. Kılıçturgay K. Hepatit B virusunda (HBV) mutasyon ve getirdiği sorunlar. Viral Hepatit Dergisi 1995; 1:1-7.

90. Pekbay A, Günaydın M, Eroğlu C, Bedir A, Esen Ş, Leblebicioğlu H. Hepatit B virusu (HBV) serolojik göstergeleri ile HBV DNA arasındaki korelasyon. Viral Hepatit Dergisi 2001; 302-304.

91. Kuştimur S, Çırak MY, Külah C, Aydın A, Rota S, Türet S. HBsAg pozitif serum örneklerinde hepatit B virus DNA'sının saptanmasında polimeraz zincir reaksiyonu ve hibridizasyon yöntemlerinin değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni 2001; 35:581-7.

92. Chen EQ, Huang FJ, He LL, Bai L, Wang LC, Zhou TY, Lei XZ, Liu C, Tang H. Histological Changes in Chinese Chronic Hepatitis B Patients with ALT Lower Than Two Times Upper Limits of Normal. Springer Science, 2009 Feb; 1-6.

93. Fan HM, Zhang CL, Ying RS, Chen ZM, Feng QC. Relationship between liver pathological characteristics and serum HBeAg and HBV DNA in 1057 patients with chronic hepatitis B. Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi. 2008 Apr; 22:130-2.

94. Shao J, Wei L, Wang H, Sun Y, Zhang LF, Li J, Dong JQ. Relationship between hepatitis B virus DNA levels and liver histology in patients with chronic hepatitis B. World J Gastroenterol 2007 April 14; 13:2104-2107.

95. Peng J, Luo K, Zhu Y, Guo Y, Zhang L, Hou J. Clinical and histological characteristics of chronic hepatitis B with negative hepatitis B e – antigen. Chinese Medical Journal 2003; 116:1312-1317.

96. Feld JJ, Ayers M, El-Ashry D, Mazzulli T, Tellier R, Heathcote EJ. Hepatitis B Virus DNA Prediction Rules for Hepatitis B e Antigen-Negative Chronic Hepatitis B. Hepatology 2007; 46:1057-1070.

97. Chan HLY, Leung NWY, Hussaın M, Wong ML, Lok ASF. Hepatitis B e Antigen-Negative Chronic Hepatitis B in Hong Kong. Hepatology 2000; 31:763-768.

98. Rabbi FJ, Rezwan MK, Shirin T. HBeAg/anti-HBe, alanine aminotransferase and HBV DNA levels in HBsAg positive chronic carriers. Bangladesh Med Res Counc Bull. 2008; 34:39-43.

99. Kim KH, Na IH, Cha JM, Cho YK, Park SY, Kim HP, Song CS, Heo J, Cho M. Serum ALT and HBV DNA levels in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. Taehan Kan Hakhoe Chi. 2003 Dec; 9:284-92.

100. Öztoprak N. Kronik Hepatit B Tedavi Algoritması. İçinde, Tabak F, Balık İ (Yazarlar). Viral Hepatit 2009, İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul:2009; 87-102.

101. Lai M, Hyatt BJ, Nasser I, Curry M, Afdhal NH. The clinical significance of persistently normal ALT in chronic hepatitis B infection. Journal of Hepatology. 2007;47:760-767.

102. Bayram A, Erkiliç S, Ozkur A, Bayram M, Sari I. Quantification of intrahepatic total hepatitis B virus DNA in chronic hepatitis B patients and its relationship with liver histology. J Clin Pathol. 2008 Mar; 61:338-42.

103. Heo JH, Heo J, Kwon DS, Moon JH, Kim GH, Kang DH, Song GA, Cho M, Yang US. Relationship between serum HBV DNA levels and liver histology in chronic hepatitis B. Korean J Gastroenterol. 2003 Sep; 42:220-5.

104. Cho SC, Lee SH, Shinn JJ, Han SH, Roh BJ, Sohn JH, Lee DH, Kee CS. HBV DNA levels, aminotransferase and histological activity in young male patients with HBeAg positive chronic hepatitis B. Taehan Kan Hakhoe Chi. 2002 Mar; 8:44-51.

105. Wong DKH, Yuen MF, Tse E, Yuan HJ, Sum SSM, Hui CK, Lai CL. Detection of Intrahepatic Hepatitis B Virus DNA and Correlation with Hepatic Necroinflammation and Fibrosis. Journal of Clinical Microbiology 2004; 42:3920-3924.

106. Arslan U, Tuncer İ, Fındık D, Ural O. HBeAg Negatif, Anti-HBe Pozitif Kronik Hepatit B Olgularında Prekor/Kor Bölge Mutasyonlarının ve Genotip Dağılımlarının Değerlendirilmesi. İnfeksiyon Dergisi, 2008; 22:123-129.

107. Yang CG, Yu YC, Chen JJ, Sun J, Guo YB, Luo KX, Zhu YF, Hou JL. A comparison of clinical and virological characteristics of 1686 cases of HBeAg-negative and HBeAg-positive chronic hepatitis B. Zhonghua Nei Ke Za Zhi, 2005 Sep; 44:648-51.

ONAY

" Kronik Hepatit B'li Hastalarda Serolojik Markerlar ile serum ALT Düzeyleri, HBV-DNA ve Karaciğer Histolojisinin Karşılaştırılması " adlı çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'nın 13.02.2009 tarih ve 1 sayılı oturum 22 nolu kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı'nın 24.03.2009 tarih ve 2 sayılı oturum,10 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir. 14.01.2010

Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Kronik Hepatit B'li Hastalarda Serolojik Markerlar ile serum ALT Düzeyleri, HBV-DNA ve Karaciğer Histolojisinin Karşılaştırılması

Dr. Mesut AYDIN

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi	: 07.11.2005
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi	: 14.01.2010
Uzmanlık Sınavı Tarihi	: 14.01.2010
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Nihat OKÇU
Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. İlyas ÇAPOĞLU
Jüri Üyesi	: Prof. Dr. Hülya AKSOY
Jüri Üyesi	: Doç. Dr. Metin AKGÜN

Prof. Dr. Mehmet GÜNDOĞDU
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

OCAK-2010
ERZURUM