

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HEPATİT B ENFEKSİYONLU HASTALARDA OTOANTİKOR
SIKLIĞI VE SERUM SİTOKİN DÜZEYİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ZÜBEYDE LALE**

**TEZ DANIŞMANI
Doç Dr. IŞIL FİDAN**

**ANKARA
TEMMUZ 2013**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HEPATİT B ENFEKSİYONLU HASTALARDA OTOANTİKOR
SIKLIĞI VE SERUM SİTOKİN DÜZEYİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ZÜBEYDE LALE**

**TEZ DANIŞMANI
Doç Dr. IŞIL FİDAN**

**Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri Birimi tarafından 01/2011-
61proje numarası ile desteklenmiştir**

**ANKARA
TEMMUZ 2013**

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Zübeyde Lale
Baba Adı	Sefer
Doğum Yeri/ Tarihi	Siverek -Şanlıurfa/ 20.01.1971
Diploma Tarihi/ Diploma no	30.11.1996/96-446
Mezun Olduğu Fakülte	Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/ Bilim Dalı	Tıbbi Mikrobiyoloji
İhtisas Süresi	Yıl: 4 yıl 2 ay
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Hepatit B enfeksiyonlu hastalarda otoantikor sıklığı ve serum sitokin düzeyi

JÜRİ KARARI:

Oy birliği ile tez çalışması başarılı kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ:

BAŞKAN

Prof. Dr. Ayşe Kalkancı

ÜYE

Doç. Dr. Işıl FİDAN

ÜYE

Doç. Dr. Funda DOĞRUMAN AL

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve uzmanlık eğitimimde emeği geçen, her zaman yanımda yer alan değerli hocalarım, Prof.Dr. Semra Kuştimur, Prof. Dr. Seyyal Rota, Prof. Dr. Nedim Sultan, Prof. Dr.Meltem Yalınay Çırak, Prof. Dr. Kayhan Çağlar, Prof. Dr. Ayşe Kalkancı, Doç.Dr. Gülendaml Bozdayı, Doç. Dr. Işıl Fidan Doç. Dr. Funda Doğruman Al, Yrd. Doç. Dr. Nuray Büyükberber'e, hayatın tüm renklerini paylaştığımız asistan arkadaşlarıma, laboratuvarıda birlikte zevkle çalıştığım tüm çalışma arkadaşlarıma, sosyal hayatımda bana destek veren sevgili dostlarıma, her zaman yanımda olan sevgili aileme, canım eşime, sevgili kızıma ve oğluma sonsuz teşekkürler.

KISALTMALAR

HBV	: Hepatit B virus
HCC	: Hepatosellüler karsinoma
DSÖ	: Dünya sağlık örgütü
M.Ö	: Milattan önce
HAV	: Hepatit A virusu
HbsAg	: Hepatit B yüzey antijeni
DNA	: Deoksiribonükleik asit
HBcAg	: Hepatit B core antijen
HbeAg	: Hepatit B e antijeni
DR 1	: Direct repeats 1
DR 2	: Direct repeats 2
RNA	: Ribonükleik asit
ORF	: Open reading frame (açık okuma bölgesi)
LHBs	: Büyük zarf proteini
MHBs	: Orta zarf proteini
SHBs	: küçük zarf proteini
RT	: Reverse (ters) transkriptaz
RNase H	: Endonükleaz
MHC	: Major histokompabilite kompleksi
cccDNA	: Covalently closed circular DNA
Pol	: Polimeraz
IFN	: İnterferon
TNF-α	: Tümör nekrosis faktör alfa
IL	: İnterlökin
ALT	: Alanin aminotransferaz
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
IgG	: İmmünglobulin G
IgM	: İmmünglobulin M

HBIG	: Hepatit B immunglobulin
NK	: Natural killer
Peg-IFN	: Pegile interferon
HDV	: Hepatit D virusu
IU	: International Unit (İnternasyonel Ünite)
AntiHCV	: Hepatit C virusuna karşı antikor
AST	: Aspartat aminotransferaz
IgA	: İmmünglobulin A
AMA	: Anti Mitokondriyal Antikor
ANA	: Antinükleer Antikor
ANCA	: Anti Nötrofil Sitoplazmik Antikor
Anti- Tg	: Anti Tiroglobulin Antikoru
APC	: Antijen Sunucu Hücreler
ASMA	: Anti Smooth Muscle Antibody
DNA	: Deoksi Ribonükleik Asit
DNP	: Deoksiribonükleoprotein
dsDNA	: Çift İplikli DNA
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ENA	: Ekstrakte Edilebilir Nükleer Antijen
HLA	: İnsan Lökosit Antijenleri
IFA	: İndirekt Floresan Antikor
IL	: İnterlökin
LE	: Lupus Eritematozus
PAN	: Poliarteritis nodosa
MCTD	: Miks Connective Tissue Disease
MHC	: Major Histokompatibilite Kompleksi
mRNA	: Mesanger RNA
PAGE	: Poliakrilamid Jel Elektroforezi
RA	: Romatoid Artrit
RF	: Romatoid Faktör
TPO	: Troid peroksidaz

RNA	: Ribonükleik Asit
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
ssDNA	: Tek �plikli DNA
TCR	: T Hücre Reseptörleri
tRNA	: Taşıyıcı RNA
aCL	: Anti kardiyolipin
�2 GPI	: Anti-�2-glycoprotein I antibodies
Anti-CCP	: Anti- Cyclic Citrullinated Peptide
LKM	: Liver kidney microsomal
MS	: Multipl Skleroz

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No:
TEŞEKKÜR	ii
KISALTMALAR	iii
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. Virusun Yapısı ve Sınıflandırma	3
2.3. HBV'nin Yaşam Döngüsü	6
2.4. Genotip ve Dağılımı.....	10
2.5. Patogenez	11
2.6. Epidemiyoloji ve Bulaşma Yolları	13
2.7. Türkiye'de HBV	14
2.8. HBV Bulaşma Yolları.....	15
2.8.1. Seksüel Geçiş.....	15
2.8.2. Perkütan (parenteral) Bulaş	15
2.8.3. Perinatal Bulaş	16
2.8.4. Horizontal Geçiş	17
2.8.5. Kan Transfüzyonu.....	17
2.8.6. Nozokomiyal Enfeksiyon	18
2.8.7. Organ Transplantasyonu	19
2.9. Hepatit B'nin Doğal Seyri ve Kliniği	19
2.9.1. Akut Hepatit.....	19
2.9.2. Kronik Hepatit	20
2.9.3. Doğal Seyri Bilmenin Klinik Önemi	24
2.10. HBV Enfeksiyonunun Tanısı	25

2.10.1.	Serolojik Tanı Yöntemleri	26
2.10.2.	Nükleik Asit Testleri.....	29
2.10.3.	HBV Genotip	30
2.10.4.	Antiviral direnç testi	30
2.10.5.	Tedavi etkinliğinin izlenmesi.....	30
2.11.	Kronik Hepatit B Tedavisi	31
2.12.	Temas Sonrası Profilaksi	31
2.13.	Otoimmünite	32
2.13.1.	Otoantikörler	34
2.13.2.	Antinükleer antikörler (ANA)	35
2.13.3.	Anti-DNA antikörleri.....	36
2.13.4.	Anti-mitokondriyal antikörler (AMA).....	37
2.13.5.	Düz kas antikörü (SMA-ASMA: Anti smooth muscle antibody)	37
2.13.6.	Karaciğer/Böbrek Mikrozomal Antikörleri (LKM; Liver-Kidney Microsome Antibody)	38
2.13.7.	Endomisyum Antikörleri, Doku Transglutaminazve Gliadin Antikörleri.....	38
2.13.8.	Antifosfolipid Antikörler	39
2.13.9.	Romatoid Faktör	40
2.13.10.	Anti-CCP: (Anti- Cyclic Citrullinated Peptide).....	40
2.14.	Enfeksiyonlar ve Otoimmünite	41
2.14.1.	Moleküler Benzeşme	41
2.14.2.	Protein Değişikliği, Gizli Antijenler	42
2.14.3.	Süperantijenler	43
2.14.4.	Otoreaktif Lenfositlerin Aktivasyonu	43
2.15.	Otoimmünite ve HBV Enfeksiyonu.....	44
2.15.1.	HBV ve Multiple Sklerozis.....	46
2.15.2.	HBV ve Antifosfolipit Sendromu	46
2.15.3.	HBV ve Otoimmün Tiroid Hastalığı	47
2.15.4.	HBV ve Romatoid Artrit.....	47

2.15.5. HBV ve SLE	48
2.15.6. HBV ve Glomerülonefrit	48
2.15.7. HBV ve poliarteritis nodosa (PAN).....	49
2.15.8. HBV ve Otoimmün Hepatit	49
2.15.9. HBV ve Tip1 Diabet	50
2.15.10. HBV ve Üveitis.....	51
2.15.11. HBV ve İnterferon Tedavisi	51
2.15.12. Hepatit B Aşısı ve Otoimmünite.....	51
2.15.13. Otoantikor Tayininde Kullanılan Yöntemler	53
2.16. İmmün Yanıt ve İnflamasyonda Sitokinlerin Rolü.....	54
2.16.1. HBV Enfeksiyonu ve Sitokinler	55
2.16.2. İnterlökin-17 (IL-17).....	56
2.16.3. İnterlökin IL-22.....	56
2.16.4. İnterlökin IL-23.....	57
2.16.5. Sitokin Tayininde Kullanılan Yöntemler.....	57
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	59
3.1. Hasta ve Kontrol Grubu.....	59
3.2. Yöntemler	59
3.2.1. HBsAg, AntiHBs, HBeAg, AntiHBe, AntiHBc IgM, AntiHBc total Bakılması.....	60
3.2.2. HBV-DNA Tespiti.....	60
3.2.3. Serum ALT ve AST Düzeylerinin Belirlenmesi.....	60
3.2.4. IFA Yöntemi ile Otoantikor Tayini	61
3.2.5. ANA Pozitif Örneklerde İmmünoblot Yöntemi İle Otoantikorların Tanımlanması.....	62
3.2.7. ELİSA yöntemiyle Anti-CCP (Anti- Cyclic Citrullinated Peptide) Tespiti.....	65
3.2.8. ELISA Yöntemiyle IL-17, IL-22, IL-23 Tespiti.....	65
3.3. İstatistiksel Analiz.....	66
4. BULGULAR	68
4.1. Çalışma Grupları.....	68

4.2.	Gruplarda Yer Alan Hastaların Genel Özellikleri	68
4.3.	ANA, AMA, ASMA ve LKM Otoantikorlarından En Az Birinin Pozitif Bulunma Oranı	69
4.4.	ANA, AMA, ASMA; LKM pozitifliği	70
4.5.	ANA Pozitifliği.....	71
4.6.	IFA Yönteminde ANA Boyanma Paternleri.....	72
4.7.	ANA Pozitif Örneklerde İmmüno blot Yöntemi İle Otoantikorların Tanımlanması.....	73
4.8.	ANA Pozitifliği ile HBV DNA Viral Yük İlişkisi.....	74
4.9.	ASMA Pozitifliği.....	74
4.10.	AMA ve LKM Pozitifliği	75
4.11.	RF, Anti-CCP, Antifosfolipid G, Antifosfolipid M, Antikardiolipin'den En Az Birinin Pozitif Bulunma Oranı.....	75
4.12.	RF Pozitifliği.....	76
4.13.	Anti-CCP Pozitifliği	77
4.14.	Antifosfolipid G ve Antifosfolipid M Pozitifliği.....	77
4.15.	Antikardiolipin Pozitifliği.....	78
4.16.	Sitokin Üretimi	79
4.16.1.	IL-17 üretimi.....	79
4.16.2.	IL-22 Üretimi.....	80
4.16.3.	IL-23 Üretimi.....	80
4.16.4.	Kronik hepatit B hasta örneklerinde HBV DNA viral yük ile serum IL-17, IL-22 ve IL-23 sitokin düzeyleri arasındaki ilişki	81
5.	TARTIŞMA.....	82
6.	SONUÇLAR	98
7.	KAYNAKLAR.....	100
8.	ÖZET	118
9.	SUMMARY	121
10.	ÖZGEÇMİŞ.....	124

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No:
Tablo 1. Genotip ve dağılımı.....	11
Tablo 2. Serolojik sonuçların yorumlanması	28
Tablo 3. Otoimmün hastalıklar.....	33
Tablo 4. Otoimmün Hastalıklarda Otoantijen- Otoantikor İlişkisi	35
Tablo 5. Enfeksiyonlar ve otoimmün hastalık ilişkisi.....	44
Tablo 6. Kronik hepatit B, inaktif taşıyıcı ve kontrol grubunun özellikleri.....	69
Tablo 7. ANA (+) ve ANA (-) kronik hepatit B grubunda HBV DNA viral yük	74

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No:
Şekil 1. HBV Partikül Yapısı	4
Şekil 2. HBV genomik yapısı	5
Şekil 3. HBV yaşam döngüsü	9
Şekil 4. Kronik HBV enfeksiyonunun coğrafik dağılımı	14
Şekil 5. Hepatit B Virus Enfeksiyonunda Doğal Seyir	25
Şekil 6. HBV enfeksiyonunda otoimmünite oluşma mekanizmaları.....	52
Şekil 7. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikorlardan en az birinin pozitif bulunma oranı.....	70
Şekil 8. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında ANA, AMA, ASMA ve LKM pozitiflik oranlarının dağılımı.....	71
Şekil 9. ANA pozitif örneklerde boyanma paternlerinin dağılımı (1. Granüler; 2.Granüler+Sitoplazmada granüler; 3. Homojen; 4. Nükleolar; 5. Nükleer dots; 6. Antinükleer membran).	72
Şekil 10. ANA pozitif örneklerde otoantikorların dağılımı (%) (1. SS-A; 2.PM-Scl; 3.PCNA; 4.nRNP/Sm; 5. dsDNA; 6.Histon; 7. Sentromer; 8. Scl70; 9. AMA M2; 10. Nükleozom).	73
Şekil 11. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında RF, anti-CCP, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin'den en az birinin pozitif bulunma oranı	76
Şekil 12. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında Romatoid faktör (RF) pozitiflik oranlarının dağılımı	77
Şekil 13. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında anti-CCP, RF, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin pozitifliği.....	78
Şekil 14. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol grubunda serum IL-17 düzeyleri (ort±SD)	79

Şekil 15. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol grubunda serum IL-22 düzeyleri (ort±SD)	80
Şekil 16. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol grubunda serum IL-23 düzeyleri.....	81

1. GİRİŞ

Kronik hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu tüm dünyada yaygın olarak görülen, ölüme yol açan ilk on hastalıktan biridir. HBV, hepatik dekompanseasyon, siroz ve hepatosellüler karsinom (HCC)'un en önemli nedenlerinden birisidir. HBV kan ve tükürük, gözyaşı, meni ve vajinal salgılar dahil olmak üzere diğer vücut sıvıları ile taşınır. Epidemiyolojik patern coğrafik bölgeye göre değişmekle beraber temel bulaşma yolu cinsel ilişki, enfekte anneden doğum sırasında veya parenteral bebeğe bulaş ile olmaktadır. Küresel olarak, nüfusun yaklaşık üçte biri HBV ile enfekte olmuştur ve her yıl 600.000den fazla kişi HBV ilişkili kronik ve akut hastalıklar sonucunda hayatını kaybetmektedir (1).

İmmunizasyona rağmen dünyada halen 400 milyon kişi HBV taşıyıcısı konumundadır. Türkiye hepatit enfeksiyonu yönünden orta endemisiteye sahip ülkeler grubunda yer almakta olup, HBsAg taşıyıcılık oranı %2-7'dir (2).

Yapılan araştırmalar, virus enfeksiyonları sırasında otoimmün olayların ve serum otoantikorlarının eş zamanlı olarak ortaya çıkabildiğini göstermiştir. Bu durum, viral enfeksiyonların otoimmün hastalıkları ortaya çıkardığı veya otoimmün hastalıkların gelişmesine katkıda bulunduğu görüşünün ortaya atılmasına neden olmuştur. Hepatotropik viruslardan hepatit B virusu (HBV) ve özellikle hepatit C virusunun otoimmün olaylara neden olabileceği bir çok çalışma sonrasında belirtilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda, hepatit B virus enfeksiyonlarının otoimmün olaylarla ilişkisini belirlemek ve bu enfeksiyon sırasında immün yanıtta oluşan değişiklikleri tespit edebilmek için 'Hepatit B enfeksiyonlu hastalarında otoantikor sıklığı ve serum sitokin düzeyinin belirlenmesi' amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Viral hepatitler insanlık tarihi kadar eskidir. İlk kez Hipokrat tarafından kaydedilen bu hastalık, büyük salgınlara ve kayıplara yol açmıştır (3). Bu salgınların çoğu muhtemelen Hepatit A Virüsü'ne (HAV) bağlı olduğu halde HBV'nin epidemik bulaşı kan ve kan ürünleri kullanımının yaygın olduğu yerlerde gözlenmeye başlamıştır. Doğrudan kan ve kan ürünleri ile bulaşan hepatit formu ilk kez 1883 yılında Lurman tarafından tanımlanmış, Bremen'de çiçek aşısı yapılan 1.289 tersane işçisinin 191'inde aşı uygulamasından sonra, bir kaç hafta ile 8 ay arasındaki süre içinde sarılık ortaya çıktığı saptanmış, aşılanmamış kişiler ise sağlıklı kalmışlardır. Yirminci yüzyılın ilk yarısında kızamık ve kabakulak immün profleksisi amacıyla plazma verilen kişiler ile insan serumu içeren sarı humma aşısı yapılan askeri personelde ve kontamine iğnelerin kullanıldığı cinsel yolla bulaşan hastalıklar kliniklerinde tedavi gören hastalarda sarılık salgınları görülmeye başlamış; II. Dünya Savaşı sırasında kan transfüzyonu yapılan askerlerde ciddi sorunlara neden olmuştur (4). Krugman ve arkadaşları 1950'li yılların sonu ile 1960'lı yılların ilk yarısında, New York'taki Willowbroke State School'da eğitim gören özürlü çocuklar üzerinde yürüttüğü çalışmalar sonucunda; epidemiyolojik, klinik ve immünolojik olarak birbirinden tamamen farklı iki ayrı hepatit virüsünün varlığını doğrulamışlardır (4).

Blumberg ve arkadaşlarının 1963 yılında Avusturalyalı bir yerlinin serumunda günümüzde "HBsAg" olarak bilinen "Avustralya antijeni-Au

antijeni"ni saptamasıyla virüs hepatitleri tarihinde yeni bir dönem başlamıştır. 1973 yılında Feinstone HAV'ı, 1977 yılında Rizzetto Hepatit D Virüsünü (HDV), 1989 yılında Choo ve arkadaşları HCV'yi, 1991 yılında Tam ve arkadaşları ile 1992 yılında Bradley Hepatit E Virüsü'nü (HEV) bulmuşlardır (5). Simons ve arkadaşları 1995 yılında akut hepatit geçiren bir cerrahta Hepatit G Virüsü'nün (HGV) varlığını saptamışlardır (6). Yeni virüslerin özelliklerinin tanımlanması ve klinik önemleri konusunda çalışmalar olanca hızıyla devam etmektedir.

2.2. Virusun Yapısı ve Sınıflandırma

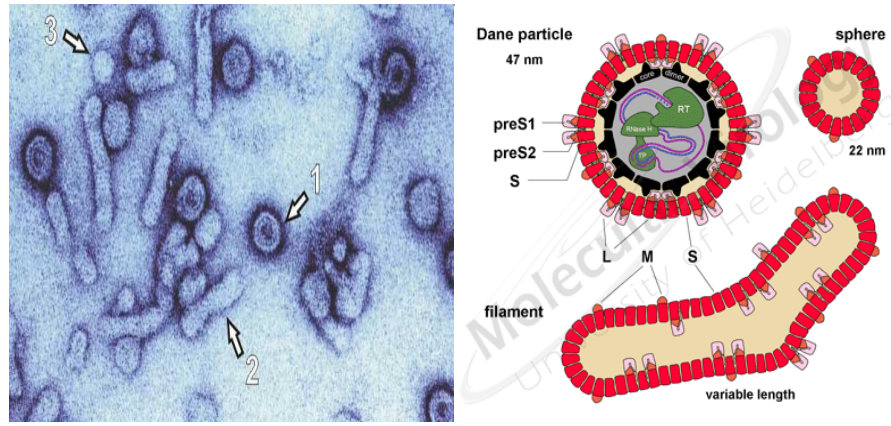
HBV, Hepadnaviridae ailesinin orthohepadnavirus cinsinde yer alan hepatotropik, zarflı ve kısmen çift sarmallı bir DNA virusudur. Sadece 3200 nükleotidden oluşan genomik yapısı nedeniyle, bilinen tüm hayvan DNA virusları içinde en küçük olanıdır. Hepadnaviridae ailesinin üyeleri içinde insanlarda enfeksiyon oluşturan tek tür HBV'dir. Enfekte hücrelerde birden fazla sayıda partikül tipi oluşumuna yol açması nedeniyle diğer hayvan viruslarından farklı bir yere sahip olan HBV'nin, kısmen saflaştırılmış preparasyonları elektron mikroskopunda incelenecek olur ise; büyüklük, yapı ve miktar gibi değişik özellikleri bakımından birbirine benzemeyen üç tip partiküle rastlanır.

1) Yaklaşık 42 nm. (42-47 nm.) çapında, infeksiyel özellikte, tam bir virion yapısında, küresel şekilli, Dane partikülleri,

2) Özellikle replikasyonun söz konusu olduğu kişilerin serumunda bulunan 22 nm. çapında, 50-500 nm uzunluğunda nükleik asit ihtiva etmeyen, noninfeksiyel, tübüler partiküller,

3) Yaklaşık 22 nm. (16-25 nm.) çapında, içinde nükleik asit bulunmayan, non-infektif, küresel partiküller,

Her üç form da infekte konak serumunda yüksek miktarda (200-500mg/ml) saptanabilen ve HBsAg adı verilen ortak yüzey antijenine sahip olup immünojeniktir. HBs antikoru ile reaksiyon verirler (7,8,9,10).



Şekil 1. HBV Partikül Yapısı (11)

HBV kısmen çift sarmallı, sirküler bir DNA molekülü taşır. DNA'nın molekül ağırlığı 2.3×10^6 dalton, G+C oranı yaklaşık %49'dur. HBV-DNA 3200 nükleotid taşıyan uzun negatif zincirinden ve 1800-2700 nükleotid taşıyan kısa pozitif zincirinden oluşur. Bu zincirler ortak baz çiftlerine sahiptir ve sirküler yapı halinde bulunmakla birlikte her birinin 3' ve 5' uçları birleşik olmadığından aslında lineer moleküllerdir. DNA bir dış lipoprotein zarfı ve nükleokapsid proteinlerinden oluşan bir kor yapısı ile çevrelenmiştir (12).

HBV genomunda son derece yoğun ve benzersiz bir şekilde organize olmuş dört açık okuma bölgesi (ORFs) bulunur (13). Genomun üzerinde 6 adet başlangıç kodonu bulunur. 2'si transkripsiyon güçlendirici, 4 tanesi başlangıç kodonudur. 4 büyük ORF şunlardır:

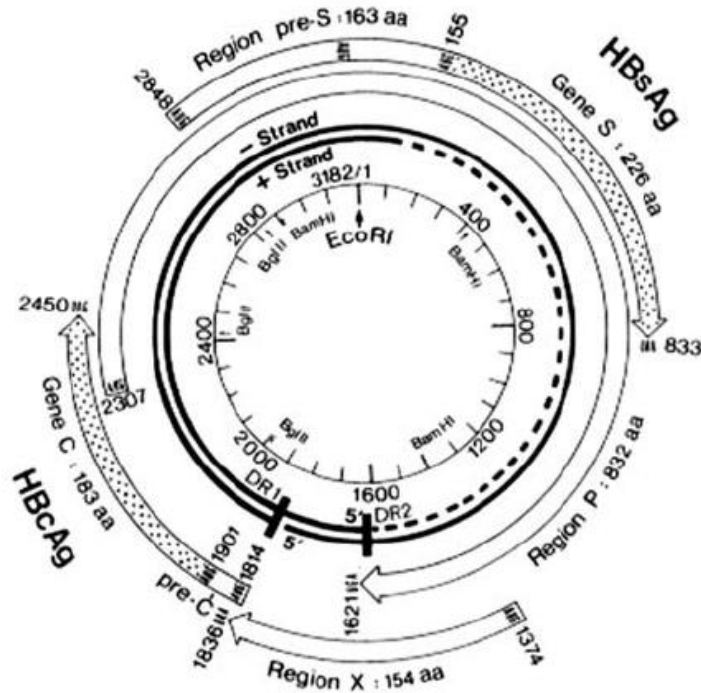
I- PreS/S: üç viral yüzey proteini kodlar.

II- Precore/core: kor proteinlerini, özellikle nükleokapsid proteinini, yapısal olmayan prekor proteinlerini, HBeAg ni kodlar.

III- Pol ORF viral polimeraz; ters transkriptaz aktivitesi, DNA polimeraz ve RNaz H aktivitesi ve terminal proteindir.

IV- X ORF; küçük düzenleyici X proteini; in vivo replikasyon için gereklidir.

HBV yapısal ve yapısal olmayan proteinleri; Üç yüzey proteini (L,M,S) tek okuma bölgesi (ORF) tarafından kodlanır (PreS/S) ki üç başlangıç kodonu oluşturur (küçük, orta ve büyük protein) fakat 2,4 ve 2,1 kb lık 2 tane mRNA nın transkripsiyon promoter (başlatıcı) preS ve S RNAs olarak adlandırılır (14,15). Özellikle preS/S ile polimeraz ORF ile tamamen örtüşmektedir (16).



Şekil 2. HBV genomik yapısı (17)

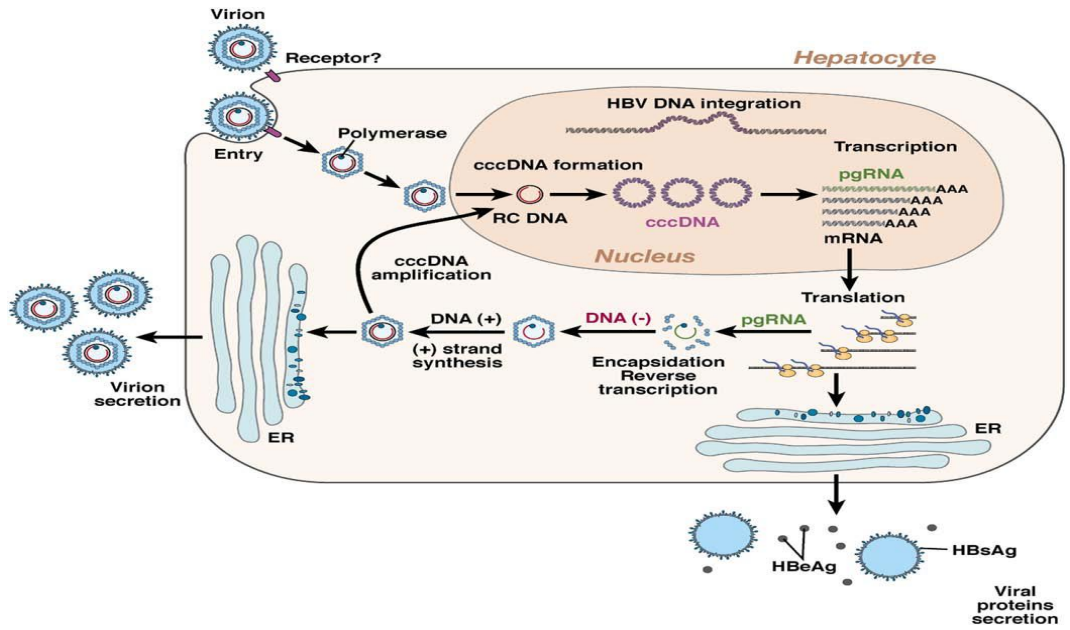
2.3. HBV'nin Yaşam Döngüsü

HBV'nin insan hepatositlerine tutunma ve giriş için kullandığı yüzey molekülleri henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Göreceli olarak az miktarda bulunmasına karşın LHBs Ag'nin amino terminalinde bulunan ve viral alttiplere göre 109 ya da 120 aminoasit büyüklüğünde izlenen pre-S1 bölgesinin en önemli görevi, hedef hücreye tutunmada görev alan epitopları taşımasıdır. LHBs Ag ve diğer HBV zarf proteinlerini bağlayan çeşitli hücresele ligandlar tanımlanmıştır. Hücreye tutunmada en etkin görevi üstlenen pre-S1 bölgesinde tutunma aktivitesinden sorumlu kısım 21-47. aminoasitler olarak tanımlanmış, bu bölgenin virusun Hep G2 tutunması için gerekli ve yeterli olduğu saptanmıştır. Daha sonra yapılan mutagenез çalışmalarında ise bu epitop içerisinde yer alan ve hücreye tutunmada kritik rol oynayan QLDPAF dizisi tanımlanmıştır. QLDPAF dizisinin birçok viral, bakteriyel ve hücresele proteinlerde bulunan bir epitop olması, ayrıca bu ve benzeri dizileri taşıyan proteinlerin hücreye tutunma ve membran füzyonu olaylarında görev alması; birçok mikroorganizma tarafından hedef hücrelere bağlanmak için benzer moleküllerin kullanıldığını işaret etmektedir. HBV'nin organ ve doku özgüllüğünün belirlenmesinde QLDPAF dizisi dışında yer alan pre-S1 kısımlarının etkili olduğu bilinmektedir. Diğer ilginç bir nokta ise oldukça iyi korunmuş bir viral protein olan X proteininin de amino terminalinde benzer QLDPAF dizisi taşımasıdır. Bu bölgenin pre-S1 tutunma bölgesi ile olan benzerliği, X proteininin de hücreye tutunmada rol oynaması olasılığını akla getirmektedir. Viral pre-S1 bölgesi hücreye tutunma için ana epitopları taşısa da, tutunma basamağında pre-S1 dışında ikinci bir epitopun da rolü olduğu

saptanmıştır. Laboratuvarında hazırlanan çeşitli partiküller hepatositlere tutunma etkinliği açısından karşılaştırıldığında, virusun hepatositlere tutunması ve hücreye girişi sürecinde birçok epitopun farklı düzeylerde rol oynadığı ve tüm yüzey antijeni repertuarına sahip parçacıkların en yüksek aktiviteyi gösterdiği saptanmıştır. Tutunma sonrasında virus zarfı ve hücre membranı arasında füzyon meydana gelir ve nükleokapsid sitoplazmaya salınır. Kapsidin parçalanması ile viral genomik DNA ve polimeraz çekirdeğe taşınır (17-21).

HBV virionları baskın olarak tüm negatif iplik ve kısmi olarak tamamlanmış pozitif iplikli çembersel DNA genomu (relaxed circular DNA, rcDNA) taşır. In situ priming mekanizması ile oluşmuş az miktarda lineer DNA'da HBV virionlarında yer alabilmektedir. Replikasyon döngüsünün başlangıcı ile her iki form da cccDNA'da dönüştürülür. Bu basamak viral genom replikasyonunun ilk ve en önemli aşamasıdır. cccDNA oluşumunun infekte hepatositlerde virus inokülasyonundan sonraki ilk 24 saatte meydana geldiği saptanmıştır. cccDNA yapısının oluşması için negatif DNA ipliğine kovalent olarak bağlanmış olan RT enzimi yerinden ayrılmakta, pozitif iplikçik tamamlanmakta ve her iki DNA molekülü birbirine ligasyon reaksiyonu ile bağlanmaktadır. Bu aşamalarda hücresel DNA tamir enzimleri ile viral RT enziminin birlikte rol aldığına, ayrıca virus özyapısının çekirdeğe taşınmasında Core ve RT proteinlerinin etkili olduğuna işaret eden veriler bulunmaktadır. cccDNA HBV'nin hepatositlerde persistansında etkili olan moleküldür ve virusun antiviral tedavi sonrasında izlenen reaktivasyonlarından sorumludur. cccDNA molekülünün meydana gelişi viral DNA'nın nükleer membrandan transportu ile

çekirdeğe ulaşması sonrasında virusa ait transkripsiyonlar hücresel RNA polimerazlar tarafından başlatılmaktadır. Viral RNA'lerden virusa ait proteinler; nükleokapsid proteini ya da HBcAg (3.5 kb RNA'dan), HBe antijeni (3.5 kb RNA'dan), Viral Polimeraz (3.5 kb RNA'dan), zarf proteinleri (2.4 ve 2.1 kb RNA'dan) ve X proteini (0.7 kb RNA'dan) sentezlenir. Viral transkriptlerin oluşmasında hücreye ait transkripsiyon faktörleri de rol oynamaktadır. Nükleokapsid ve polimeraz proteinlerinin sentezlendiği 3.5 kb RNA, ek olarak viral genomik DNA için kalıp olan pre-genomik RNA olarak da replikasyonda görev alır. Viral genomik DNA'nın sentezi için RT pre-genomik RNA'nın 5'ucuna bağlanır ve bu kompleks nükleokapsid içine paketlenir; böylece nükleokapsid içinde revers transkripsiyon ve viral DNA'nın sentezi başlar. Burada viral RT'nin kendisi primer görevi yaparak DNA sentezini başlatır. Negatif iplikli DNA oluştuğundan sonra RT enzimi RNaz H aktivitesi ile pregenomik RNA'yı parçalar ve pozitif ipliğin sentezine başlar. Kısmi çift iplikli DNA molekülü oluştuğunda nükleokapsid partikülleri, endoplazmik retikulumda tomurcuklanma ile zarf yapılarını kazanmalarına imkan sağlayacak olgunlaşma sürecine girerler. Oluşan nükleokapsidlerin bir kısmı hücre çekirdeğine geri dönerek hücre içindeki cccDNA kopya havuzunu arttırma işlevi de yapabilmektedir. Core proteinlerinin LHBsAg amino terminali kısmına bağlanmaları partiküllerin endoplazmik retikulumdan tomurcuklanmasına neden olur. Her üç zarf proteinlerini içeren virionlar endoplazmik retikulum'dan Golgi kompleksine taşınır. Bu aşamalar sırasında zarf proteinlerinin glikozilasyonu tamamlanır ve olgun virion kan dolaşımına salınır (8,21-23).



Şekil 3. HBV yaşam döngüsü (24)

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

2.4. Genotip ve Dağılımı

HBV 8 major genotipe (A-H) sahiptir. Bu farklı genotipik dağılım grupları arasında tüm nükleotid sekanslarında %8'den daha çok farklılıktan kaynaklanmaktadır. Genotip E ve G ise en azından %4 farklı sekans ile subtiplere sahiptir. Hepatit B virus genotiplerinin farklı coğrafik dağılımları: Genotip A kuzey batı Avrupa ve Amerika'da, genotip B ve C Asya'da, genotip D ise Akdeniz ülkeleri, Orta Doğu ve Hindistan'da, genotip E Batı Afrika'da, genotip G, Güney ve Orta Amerika'da, genotip F Amerika ve Fransa'da ve genotip H Meksika ve Güney Amerika'da görülmektedir. Hepatit B virusunda çoğunlukla pre-core mutantlar genotip D'de ve takiben C ve B'de, daha az sıklıkla genotip A'da ortaya çıkmaktadır. HBe Ag negatif kronik hepatit B genotip D'nin yaygın olduğu yerler de baskındır. Akdeniz ülkelerinde KHB'li hastaların yüzde %80-90'ın da, güneydoğu Asya'da %30-50, Amerika ve Kuzeybatı Avrupa'da %10'dan daha az HBe Ag negatiftir. Bizim ülkemizde baskın olan HBV genotipi Genotip D'dir (>%90) (25).

Tablo 1. Genotip ve dağılımı (26)

<i>Genotip</i>	<i>Dağılım</i>
A	A Brezilya, Orta Afrika, Hindistan, Kuzeybatı Avrupa, Polonya, İspanya, Tunus, Amerika
B	Çin, Hong Kong, Endonezya, Japonya, Filipinler, Tayvan, Tayland, Güneydoğu Asya, Vietnam
C	Avustralya, Brezilya, Çin, Uzakdoğu Asya, Hong Kong, Endonezya, Hindistan, Japonya, Kore, Polinezya, Solomon Adaları, Tayvan,Tayland, Amerika, Vietnam
D	Afganistan, Arnavutluk, Çek, Brezilya, İran, Hindistan, Akdeniz Bölgesi, Ortadoğu, Rusya, İspanya, Solomon Adaları, Tunus, Türkiye, Amerika
E	Tunus, Batı Afrika
F	Arjantin, Alaska, Bolivya, Brezilya, Santral ve Güney Amerika, Venezuela, Polinezya
G	Fransa, Almanya, Amerika
H	Orta ve Güney Amerika, Meksika

2.5. Patogenez

Organizma yabancı bir ajan olan HBV'ye karşı çok komplike bir immün yanıt verir. Karaciğerdeki hepatositler, sinusoid hücreleri, Kupffer hücreleri ve T lenfositleri bu yanıtta rol oynar. Hepatosit yüzeyinde başta klas I ve II olmak üzere immün sisteme antijen tanıtmaya ve sunma yeteneğinde olan reseptörler vardır. Bunlara genel olarak “Aksesuar moleküller” denir. T hücreleri ile bu moleküller arasındaki ilişkiyi TCR reseptörleri sağlar. Hepatositlerdeki bu reseptörler akut hepatitlerde karaciğerde yaygın, kronik hepatitlerde ise daha çok portal mesafelerde sınırlı olarak bulunmuştur. Sağlıklı immün yanıtı olan kişilerde HBV enfeksiyonunu takiben hepatosite giren virusun immün sisteme tanıtımı

ile immün cevap başlar. Virus, hepatosit ile ilk karşılaştığında ilk olarak doğal immün sistem ve natural killer hücreler devreye girer.

Bu dönemde ciddi bir hepatosit yıkımı olmaz hatta HBV DNA seviyelerinde bir miktar düşme olur. İnkübasyonun geç döneminde ise kazanılmış immün yanıt devreye girer. Erken dönemde virusla temastan sonra hepatositlerden salınan IFN-alfa ve gama MHC Klas I ve II'yi uyarır. MHC Klas I, HBV'nin hücre içindeki antijenik işaretlerini hepatosit yüzeyinde CD 8+ T hücrelerine (CTL) tanıtır. Böylece CTL'ler uyarılmış olur. MHC Klas II ise, HBV'nin plasmadaki HBcAg ve HBe Ag gibi antijenik işaretlerini makrofajlar üzerindeki CD 4 +T hücrelerine (T helper) sunar ve onları hassas hale getirir. CD 4+ T lenfositlerinden IL 2, 4, 6, 10, TNF-alfa ve IFN-gama salınır. Bunlar aracılığı ile virus elimine edilir. Bu yolla hem CTL'ler uyarılmış olur, hem de B hücreleri uyarılarak antikor cevabı sağlanır. Bu şekilde oluşan cevaba Th1 cevabı denir. Taşıyıcılar ve kronik hepatitlerde; IFN yetersizliği, antijen sunumunda eksiklik, T lenfosit cevabında azalma gibi bozukluklar sonucu immün cevap yeteri kadar oluşmaz ve virus vücuttan yeteri kadar temizlenemez. Bu cevaba da Th 2 cevabı denir. Aslında hastalığın nasıl bir seyir izleyeceğini temelde CTL cevabı belirler.

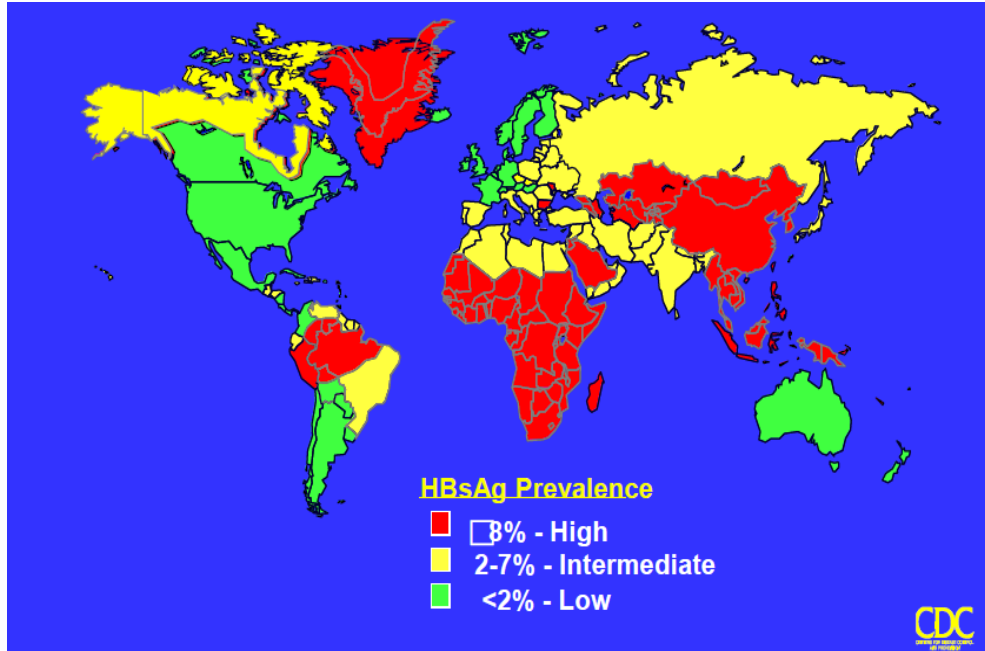
Bu immün sistem hücrelerinin cevabı iyi ve yeterli miktar da oluşursa hastalık iyileşir, yetersiz ise kronikleşir ve şiddetli ve kontrolsüz bir şekilde ise fulminan hepatit gelişir. CTL'lerin ne kadar aktif olduğunun bir belirtisi de serum ALT düzeyidir. Akut hepatit döneminde ALT ne kadar yüksek ise o kadar iyi bir cevap var demektir. Bu olay kronik B hepatiti olan vakalarda tedavi başlanacak bireyler söz konusu olduğunda da önemlidir. Serum ALT seviyesi yüksek bir

hastada CTL cevap oranı iyi olduğu düşünöldüğünden dolayı bu tip hastalar da tedavi başlanması önerilir ve yine tersi şekil de ALT seviyesi normal olanlar da önerilmez. İmmün cevabın HBV bazı kişilerde neden bozulduğu ve yetersiz kaldığı tam olarak bilinmemektedir. Kronik hepatit B li hastalarda tespit edilen önemli immün bozuklukların başında; (I) hepatositlerden ve lenfositlerden IFN yapımında yetersizlik olması ve bunun sonucu olarak MHC Klas I ve II tarafından immün sisteme yeteri kadar sunulamaması, (II) HBV spesifik CTL'lerin periferik kanda ve dokuda çok az miktarda olmaları ve ya hiç olmamaları (bu durum viral enfeksiyonun kontrol edilememesine ve yüksek HBV replikasyonuna yol açar), (III) var olan CTL' ler ve CD4+ T lenfositlerinde yeterince aktif olmamaları rol oynar (27).

2.6. Epidemiyoloji ve Bulaşma Yolları

HBV enfeksiyonu tüm dünya yaygın olarak bulunur. DSÖ dünyada yaklaşık temashlı 2 milyar insan olduğunu bildirmiştir ve yaklaşık 400 milyon hepatit B taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir. Yaklaşık 620 000 insan hepatit B' den ölmektedir. Her yıl 4,5 milyon yeni hepatit B enfeksiyonu eklenmekte ve bunların 4 te 1'i KC hastalığına ilerlemektedir. Orta Asya ülkeleri, Güneydoğu Asya, Sahra altı Afrika ve Amazon Havzası gibi yüksek endemik bölgelerde hepatit B taşıyıcılığı %8' in üzerindedir. Amerika Birleşik devletleri, Kuzey Avrupa, Avustralya ve Güney Amerika gibi endemik olarak düşük riskli bölgelerde bu taşıcılık oranı %2 den azdır. Orta Doğu, bazı Doğu Avrupa ülkeleri ve Akdeniz havzası orta endemik bölgelerinde % 2-8 arasında hepatit B taşıyıcılık oranı bulunmaktadır (28). Bir çok ülkede bağışıklama programlarının

uygulanmasının ardından HBsAg taşıyıcılığı ve hepatosellüler karsinom gelişme riski azalmıştır (29). Hepatit B'nin akut formdan kronik forma ilerleme oranları enfeksiyon yaşı ile ilişkilidir. Bu oranlar perinatal dönemde alınan enfeksiyon için yaklaşık %90, 1-5 yaş arasında alınan enfeksiyonlar için %20-50 ve yetişkinlerde kazanılmış enfeksiyonlar için <%5 dir (26).



Şekil 4. Kronik HBV enfeksiyonunun coğrafik dağılımı (30)

2.7. Türkiye’de HBV

Türkiye’de HBsAg seroprevalansı, bölgeden bölgeye değişmek üzere % 1.7-21 arasındadır. Akut hepatit B sporadik olarak her mevsimde ve her iki cinsten de görülebilir. Genel olarak Hepatit B’nin akut viral hepatitler içindeki oranı çocuklarda % 1.3-35.8 arasında değişmektedir. Ülkemizde çok merkezli yapılan bir çalışmada olası bulaş yolları sırasıyla cerrahi girişim, aile içi temas,

transfüzyon (sırasıyla %40.4,%16.7, %4) olarak tespit edilmiştir. Türkiye’de çocuk yaş grubunda HBsAg seroprevalansının incelendiği çalışmalar oldukça yetersizdir. Araştırmalardan elde edilen verilere göre ülkemiz çocuklarında %2,0-12,1 oranlarında HBsAg pozitifliği saptanmıştır (31).

2.8. HBV Bulaşma Yolları

Seksüel, intravenöz ilaç kullanımı, perinatal geçiş, tranfüzyon, hastane enfeksiyonu (enjektör batması), organ transplantasyonu, HBV bulaşında başlıca faktörlerdir. Bulaşma yolları değişik coğrafik bölgelerde farklı olabilir. Örneğin insidansın düşük olduğu Batı Avrupa bölgelerinde genellikle cinsel yolla ve İV ilaç kullanımı ile olmaktadır. İnsidansın yüksek olduğu sahra altı ülkelerde bulaş, genellikle perinatal bulaş şeklindedir. Orta prevalans bölgelerinde genellikle horizontal geçiş şeklindedir (32).

2.8.1.Seksüel Geçiş

Amerika Birleşik Devletlerinde yeni enfeksiyonların yaklaşık %40’ı heteroseksüel ilişki sonucu bulaşmaktadır. Cinsel tercihi erkek-erkeğe seks olanlarda bulaş %24oranındadır (33). Aşı ve cinsel ilişki sırasında güvenli korunma, HBV bulaşını önler (32).

2.8.2. Perkütan (parenteral) Bulaş

HBV'nin bulaşmasında etkili bir yoldur. İntravenöz ilaç kullanıcıları tarafından iğnelerin paylaşılması, perkütan bulaşın en sık sebebidir. Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri gibi yaygınlığın düşük olduğu yerlerde yeni teşhis

edilen HBV enfeksiyonlarının yaklaşık %15'i İV ilaç kullanımı ile olmaktadır (33).

Hepatit B bulaşma oranları parenteral ilaç kullananların yaptıkları enjeksiyonun sıklığı ve enjeksiyonun hazırlanması sırasındaki araç ve gereçlerin kontaminasyonu ile orantılı olarak artmaktadır. Ev halkı tarafından ortak kullanılan; kontamine diş fırçası, jilet, tıraş makinesi gibi aletler ile direk temasla da hepatit B bulaşabilmektedir. Akupunktur, dövme ve piercing gibi uygulamalarla ve hatta kan kardeşi olma gibi çocuk ve gençler arasında yaygın olan törenler sırasında da sekonder hepatit B bulaşı olabilmektedir (26).

2.8.3. Perinatal Bulaş

Anneden bebeğe geçiş uterus içerisinde transplasental, doğum sırasında bebek doğum kanalından geçerken kan ve sekresyonların yutulmasıyla doğumda veya doğumdan sonra olabilmektedir. Neonatal enfeksiyon oranı yüksektir (>90), Bununla birlikte, neonatal aşılamanın son derece etkili (%95) olduğu bildirilmiştir. Anneden bebeğe bulaşma riski HBV'nin annedeki replikasyonu ile ilgilidir. Annenin DNA düzeyleri ile bulaşma olasılığı arasında doğrudan bir ilişki olduğu görülmektedir. Yüksek kopya sayısı bulunan annelerden bulaş riski %85-90 arasında olup, DNA düzeyleri düştükçe bu oran düşmektedir (34). Yapılan bazı çalışmalarda annenin süregelen replikasyonu yoksa bulaşın hemen hemen hiç olmadığı gösterilmiştir (35). Bu çeşitli şekillerde perinatal bulaş riskini azaltmak mümkündür. Birinci adım risk altındaki kişilerin belirlenmesidir. Prenatal kontrolünde HBsAg için test yapılmalıdır ve gebeliğin uygun bir zamanında da tekrar edilmelidir (36). HBV pozitif annelerden doğan bebekler pasif-aktif

başıklama ile etkili korunabilir (>% 90 koruma oranı) (37). Pasif başıklama için Hepatit B immünglobulin erken (12 saat içinde) verilmelidir. Eğer annenin seropozitifliği daha geç belirlendiyse 7 güne kadar verilebilir. Aktif immünizasyon; 0.gün, 1. ay ve ayda aşı şeklinde yapılabilir. Nükleozid analogları kullanılarak özellikle HBV DNA'sı yüksek anneler tedavi edilebilir. (HBV DNA >10⁶ kopya/ml veya 2x10⁵ IU/ml.) (29). Telbivudine veya tenofovir de tedavi seçeneği olarak kullanılabilir (38).

2.8.4. Horizontal Geçiş

Çocuklar cilt, mukozal membranlar veya başka çocuklarla yakın temas sonrasında minör yaralanmalarla doku bütünlüğünün bozulması durumunda horizontal olarak hepatit B'yi sonradan kazanabilirler. İlave olarak HBV insan vücudu dışında ve dış ortamda uzun süre canlı kalabilir. HBV 'nin horizontal bulaşı ev halkının ortak kullandığı kontamine havlu, dış fırçası, jilet, tıraş makinesi, banyo malzemeleri gibi aletlerle ve hatta oyuncaklarla bile mümkün olabilmektedir. Hepatit B taşıyıcılarının değişik vücut sekresyonlarında HBV DNA belirlenmesine rağmen vücut sıvıları ile bulaş konusunda kesin deliller yoktur (26).

2.8.5. Kan Transfüzyonu

Kan donörleri rutin olarak hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) açısından incelenir. Dolayısıyla transfüzyon ilişkili hepatit B insidansı önemli lde azalmıştır. Prevalansın düşük olduğu bölgelerde kan ve komponentleri ile bulaş 1-4 milyon civarındadır. Prevalansın yüksek olduğu bölgelerde bu oran daha

yüksektir (20 binde 1). Donör taraması için farklı stratejiler vardır. Çoğu ülke donörlerin taramasında HBsAg kullanır. Diğerleri, Amerika Birleşik Devletleri gibi HBsAg ve anti-HBc kullanmaktadır. Anti-HBc rutin taraması tartışmalıdır. Özgüllüğü düşüktür (32).

2.8.6. Nozokomiyal Enfeksiyon

Hastane enfeksiyonu olarak HBV geçişi hastadan hastaya, hastadan sağlık çalışanına ve tersi şekilde de olabilir. Alınan tüm önlemlere rağmen belgelenmiş nozokomiyal enfeksiyon bulunmaktadır (39). Hastaya sağlık hizmeti veren sağlık çalışanları özellikle cerrahlar, patologlar, hemodiyaliz ve onkoloji ünitesinde çalışan hekimler, diş hekimleri, hemşireler, hasta bakıcılar, laboratuvar çalışanları, ilk yardım çalışanları HBV enfeksiyonu için daha yüksek riske sahiptir. Sağlık çalışanlarının rutin hepatit B aşısı uygulaması ve kan yoluyla taşınan patojenlere maruziyetini önlemek için tedbirlerin alımı ile HBV enfeksiyonu bu popülasyonda nadiren oluşur (26).

Hepatit B nozokomiyal geçişini önlemek için stratejiler: Tek kullanımlık iğneler ve ekipman kullanımı, cerrahi aletlerin sterilizasyonu, enfeksiyon kontrol önlemleri, sağlık çalışanlarının aşılansıdır. Sağlık çalışanlarının rutin aşı uygulanması nedeniyle HBV enfeksiyonu insidansı genel popülasyona göre daha düşüktür. HBeAg negatif sağlık çalışanları genellikle enfektif olmadığı kabul edilir. Ancak, bireysel önlemler konusunda dikkatli olunmalıdır (32). Amerika da, 1991’ de CDC tarafından infekte sağlık çalışanları ile ilgili güncel politikalar belirlenmiştir. CDC ‘nin önerilerine göre HBsAg pozitif ve HBeAg pozitif sağlık çalışanları uzman görüşü alınmadan bulaştırmaya eğilimli prosedürleri

uygulamamalıdır. Eğer uzman görüşü bulaştırmaya yönelik durum olmadığı yönündeyse, işlerine devam edebilecekleri belirtilmektedir (26).

2.8.7. Organ Transplantasyonu

HBV enfeksiyonun, HBsAg pozitif donöründen yapılan ekstrahepatik organların transplantasyonu sonrası bulaştığı rapor edilmiştir (böbrek, kornea gibi) Bu nedenle, organ bağışçıları rutin HBs Ag açısından taramaktadır. Kan vericilerinin taramasında olduğu gibi anti-HBc'nin taranması tartışmalıdır (32).

2.9. Hepatit B'nin Doğal Seyri ve Kliniği

2.9.1. Akut Hepatit

HBV'nin temas sonrası, kuluçka dönemi bir ile dört ay arası sürer. Akut hepatit gelişmeden önce prodromal faz görülebilir. Bu dönem süresince serum hastalığı benzeri sendrom gelişebilir. Bu sendrom, deri döküntüsü, artralji, artrit ve ateş ile kendini gösterir. Genellikle hepatit başlangıcı ile sona erer. Hastaların % 30'dan daha azında ikterik hepatit gelişirken, en az % 70'inde subklinik ya da anikterik hepatit gelişir. En belirgin klinik semptomlarsağ üst kadran ağrısı, bulantı, sarılık gibi belirtilerdir. Diğer hepatit virüsleri ile koenfeksiyon veya altta yatan diğer KC hastalıklarında daha ciddi tablolar olabilir. Sarılık dahil diğer semptomlar bir ile üç ay sonra kaybolur. Ancak bazı hastalarda serum aminotransferaz konsantrasyonları normalleşse bile yorgunluk devam edebilir. Alanin ve aspartat aminotransferaz konsantrasyonları (ALT ve AST) akut faz da 1000-2000 IU / L ye kadar yükselebilir. ALT, AST den tipik olarak daha

çok yükselir. Hastaların önemli bir kısmında bilirubin konsantrasyonları normal olabilir. Altı aydan fazla süreyle serum ALT kalıcı yüksekliği kronik hepatite progresyon gösterir. Akuttan kronik hepatit B ye ilerleme hızını enfeksiyonun yaşılbelirler. Yetişkinen alınan enfeksiyonun kronikleşme oranı % 5 veya daha az iken, gençken alınan enfeksiyonun kronikleşme oranı daha yüksektir. Kronikleşme oranının perinatal enfeksiyon için yaklaşık % 90 olduğu tahmin edilmektedir. 1 ile 5 yaş arasında ise %20-50 arasındadır. Yakın zamana kadar vücudun hepatit B yi tam olarak temizlediği düşünülürdü. Ancak son zamanlarda görülmüş ki; HBV DNA, Anti-HBs ve Anti-HBc pozitif olan hastalarda covalently closed circular DNA (cccDNA) şeklinde ömür boyu kalmaktadır. Bu latent enfeksiyonu kontrol altında tutan T-hücresi yanıtıdır. Komple eradikasyonu nadiren oluşur. Organ nakli sonrasında veya kemoterapi alınması gibi imünosüpresyon durumlarında virus yeniden aktive yol açabilir. Fulminan karaciğer yetmezliği nadirdir. Yaklaşık hastaların %0,1-0,5'inde meydana gelir.Fulminan hepatitte masif hepatosit lizisi olduğuna inanılmaktadır. Akut hepatit B hastalarının antiviral tedavisi genellikle tavsiye edilmez. (32)

2.9.2. Kronik Hepatit

Kronik HBV enfeksiyonu dinamik bir süreçtir. Doğal seyri Kronik HBV enfeksiyonu şematik olarak beşe ayrılabilir.

2.9.2.1. İmmün tolerans faz

“İmmün tolerans” fazın karakterizasyonu HBeAg pozitifliğidir. HBV replikasyonunu (Serum HBVDNA düzeyleri) yükseltiraminotransferazlar normal

veya düşük seviyelerdedir. Karaciğer nekroinflamasyonu ya hiç yoktur veya hafiftir. Fibrozise progresyon yavaştır. Bu aşamada, spontan HBeAg kaybı oranı çok düşüktür. Bu ilk aşamaperinatal dönemde ya da yaşamın ilk yıllarında enfekte olan kişilerde daha sık ve daha uzun sürelidir. Viremi ve bulaştırıcılık yüksek düzeydedir (40).

2.9.2.2. İmmün reaktif HBeAg-pozitif faz

Bu fazın karakterizasyonu HBeAg'nin pozitif oluşudur. Replikasyon immüntolerans faz ile karşılaştırıldığında nispeten daha düşük bir seviyededir (HBV DNA düzeyleri düşüktür). Aminotransferazlar seviyeleri artmış, orta, şiddetli ya da dalgalıdır. Karaciğer nekroinflamasyonu daha hızlı fibrozis ilerlemesi önceki evresine göre hızlıdır. Bu faz immün tolerans fazdan birkaç yıl sonra ortaya çıkabilir (40). ALT yükselmelerinin nedeni tam olarak bilinmemekle beraber bu yükselmenin, virusün HBcAg ve HBe Ag'lerine karşı ortaya çıkan T lenfosit cevabı sonucu olan hepatosit lizisi olduğu düşünülmektedir.

Hastalar sıklıkla asemptomatiktir ancak bazı vakalarda akut hepatite benzeyen alevlenmeler olabilir. Bu alevlenmelerinçoğu HBeAg serokonversiyonu ile sonuçlanmazken, her alevlenme karaciğerde hasarın daha fazla ilerlemesine neden olur. Bu nedenle immünlirens dönemi ne kadar uzun sürerse ve ne kadar sık alevlenmeler olursa hastalarda karaciğer sirozu ve HCC, o kadar fazla oranda görülmektedir. Nedeni bilinmeyen bir şekilde bu dönemde olan alevlenmeler erkeklerde daha fazla görülmektedir. Spontan HBe Ag klirensi yıllık %10-20 oranında olmaktadır ve genotip B'li hastaların genotip C'li lere oranla bu dönemi daha kısa süre yaşadığı ve daha erken HBe Ag serokonversiyonuna uğradığı

bilinmektedir. Bu dönemin sonunda HBe Ag serokonversiyonu gerçekleşmiş olur. Erişkin yaşta enfekte olanlarda, geliş anında serum ALT seviyeleri yüksek ise, alevlenme döneminde ALT seviyeleri daha yüksek ise ve Asya ırkından olanlarda daha fazla oranda serokonversiyon görüldüğü bildirilmiştir. Hastaların %67-80'inde immünlirens; HBV DNA düşüklüğü veya kaybolması, ALT normalliği ve nekroinflamatuvar aktivitenin azlığı veya yokluğu ile sonuçlanır. Sonuçta aktivite sona erer, büyük çoğunlukla e serokonversiyonu, yani e antijen kaybı ve e antikor pozitifliği ile beraber olan inaktif hastalık dönemi başlar. Yani hastaların büyük çoğunluğu “İnaktif taşıyıcılık” dönemine geçer. Buna karşılık immün klirens sonucu her zaman HBe Ag negatif olmayabilir ve HBV DNA kaybolmayabilir. Bu hastalarda HBe Ag pozitifliği ile seyreden tekrarlayan ataklar görülebilir. Bu duruma HBe Ag pozitif kronik hepatit B denilir ve bu gruptaki hastalar karaciğer sirozu ve HCC riskinin yüksek olduğu, prognozun en kötü olduğu hastalardır (32).

2.9.2.3. İnaktif HBV taşıyıcılığı

İnaktif HBV taşıyıcılığı'nda, HBeAg ve Anti-HBe antikor ile serokonversiyon takip edebilir. Çok düşük veya belirlenemeyen serum HBV DNA düzeyleri ve serum transaminazlarının normal oluşu bu dönemin karakteristik özelliğidir. Her 3-4 ayda bir HBV DNA düzeyleri ve serum transaminaz düzeyleri takip edilmelidir. Serum HBV DNA düzeyleri <2000 IU/ml ve ALT düzeyleri normal sınırlarda (yaklaşık 40 IU/ml) olmalıdır. Bazen inaktif taşıyıcılarda HBV DNA düzeyleri >2000 IU/ml den büyük olabilir. Genellikle 20,000 IU / ml altındadır. ALT düzeyleri sürekli normal olabilir. HBV DNA <2000 IU / ml olan

hastalar ve yüksek ALT değerleri olan hastalarda karaciğer hasarının değerlendirilmesi için karaciğer biyopsisi tavsiye edilmelidir. Uzun vadeli HBV inaktif taşıyıcılarda siroz veya HCC kanser riski azdır. HBsAg kaybı ve Anti-HBs antikorları serokonversiyonu olguların %1-3'ünde kendiliğinden oluşabilir. Genellikle birkaç yıl sonra HBV DNA sürekli olarak tespit edilemez (40). Hastalar bu dönemde ömür boyu kalabileceği gibi 4. dönem olan HBeAg negatif kronik hepatit dönemine de geçebilmektedirler (27).

2.9.2.4. HBeAg-negatif kronik hepatit B

HBeAg-negatif kronik hepatit B dönemini, negatif HBeAg 'nin anti-HBe serokonversiyonu takip edebilir. Yıllar veya on yıllar sonra taşıyıcılık durumu veya inaktif faz gelişebilir. Kronik HBV enfeksiyonu doğal seyrinde bir sonraki dönem immün reaktif fazdır. Aktif hepatit, dalgalı HBV DNA ve transaminaz düzeyleri ile karakterizedir. HBeAg negatif kronik hepatit B'de uzamış spontan hastalık remisyon oranları düşüktür. Spontan remisyon meydana gelen kişilerde, HBeAg negatif aktif kronik hepatit B ve gerçek inaktif hepatit B durumunu ayırmak zordur (40).

2.9.2.5. HBsAg-negatif faz

"HBsAg-negatif aşamasından" sonra KC 'de düşük düzeyde devam eden HBV replikasyonu belirlenebilir. Genel olarak, HBV DNA düzeyleri saptanabilir değildir ve Anti-HBs olmaksızın serumda anti-HBc antikorlar saptanabilir. Siroz başlangıcında HBsAg düzeylerinin düşmesi; siroz, dekompanseasyon ve HCC riski

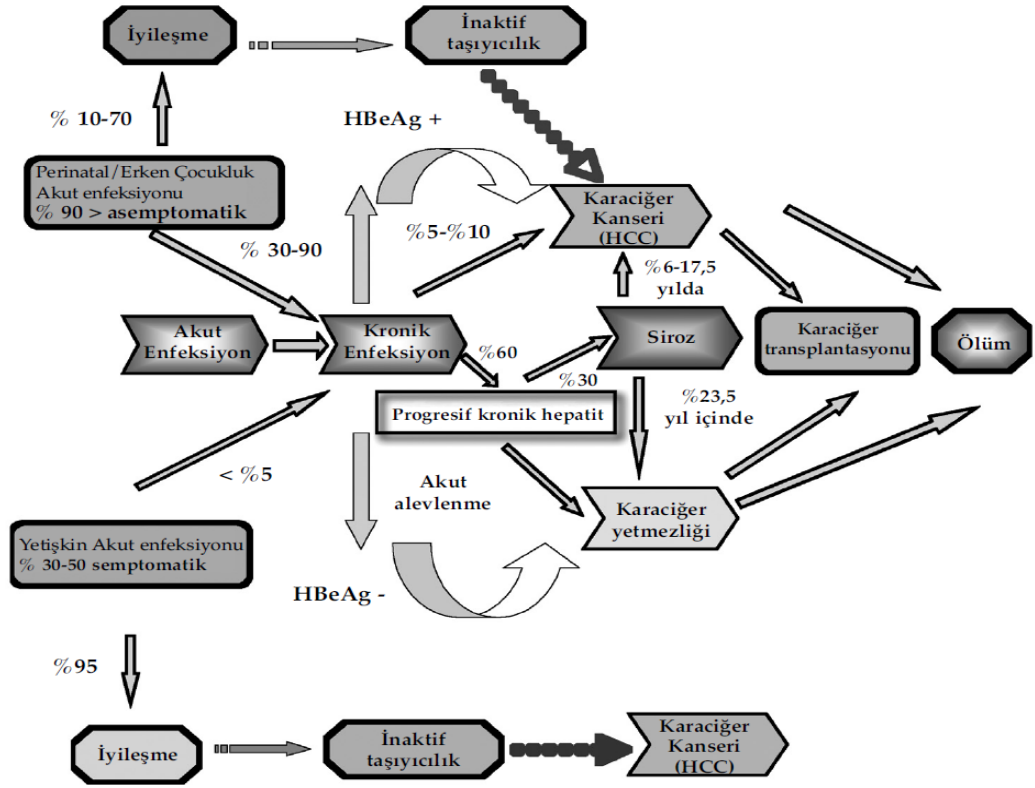
azalması ile ilişkilidir. Spontan ya da tedaviye bağlı HBsAg kaybı gelişmeden önce siroz gelişirse, HCC riski vardır (40).

2.9.2.6. Hepatosellüler Karsinoma (HCC)

Dünyada her yıl 500.000 kişi HCC nedeniyle ölmektedir. HBV enfeksiyonu HCC gelişmesinde en önemli risk faktörü olarak kabul edilmektedir. HBV ile enfekte kişilerde hayat boyu HCC gelişme riski %10-25 olup, enfeksiyonun başlamasından yaklaşık 30- 50 yıl sonra gelişmektedir. Hastada siroz gelişmişse HCC riski daha da artmaktadır (38).

2.9.3. Doğal Seyri Bilmenin Klinik Önemi

Hastalığın doğal seyrini iyi bilmek hem hastalığın gelecek yıllar içinde nasıl seyredeceğini, hangi komplikasyonların ne zaman olacağını bilmek açısından, hem de hangi hastaların tedavi edileceğine, hangilerinin tedavisiz ve nasıl takip edileceğine karar verme açısından önemlidir. HBeAg pozitif hastalarda enzim yükselmelerinin hastalığın aktivasyonundan çok, hastanın immün klirens evresinine geçişinin ve bir serokonversiyonun habercisi olabilir. Bu nedenle hastalara tedavi başlanmadan önce, bir süre daha karaciğer enzimlerinin ve HBV DNA'nın takip edilmesi düşünülmelidir. İnaktif taşıyıcı olan hastalarda seyrin genelde iyi olduğu bilinmeli ve bu hastaların tedavisine, aktif hastalığın olması halinde başlanması düşünülmelidir. Yine doğal seyri etkileyen önemli noktalardan bazılarının hastanın total enfeksiyon süresi olduğu, hastanın serum HBV DNA seviyesinin ve HBe Ag serokonversiyon süresinin, başka viruslerle koenfeksiyonun, doğal seyri etkilediği unutulmamalıdır (27).



Şekil 5. Hepatit B Virus Enfeksiyonunda Doğal Seyir (41)

2.10. HBV İnfeksiyonunun Tanısı

Önceleri belirli ölçüde yapılan serolojik testler ile tanı konulmakta iken, 1980'lerden sonra yaşanan teknolojik gelişmeler sayesinde hem serolojik yöntemlerin duyarlılıkları artmış hem de moleküler tanı tekniklerinde büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bugün serolojik ve moleküler tanı yöntemleri; akut enfeksiyonun erken tanısı, akut ve kronik enfeksiyonun birbirinden ayırt edilmesi ve vireminin kalıcılığının belirlenmesinde kullanılmaktadır (42). Moleküler yöntemlerinden, ayrıca serolojik yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda tanıya gidilmesinde, değişik hepatit B serolojilerinin varlığında antiviral tedaviye karar verme ve tedavinin izlenmesinde, çeşitli mutasyonlar sonucu ortaya çıkan mutant

suşların araştırılmasında ve hepatosellüler karsinoma oluşum mekanizmalarının aydınlatılmasında yararlanılmaktadır (43).

2.10.1. Serolojik Tanı Yöntemleri

2.10.1.1. HBsAg ve Anti-HBs

HBsAg, yüzey antijenidir. Gen üzerinde, başlangıç kodonları farklı, üç adet yüzey proteini kodlayan bölge (“open reading frame”) bulunur. Bunların translasyon ve transkripsiyonu ile küçük (S), orta (preS2 + S) ve büyük (preS1 + PreS2 + S) HBsAg proteinleri sentezlenir. Antijenin bir kısmı, yeni virus partikülünün yapısına katılır. Kalan miktar ise kanda, HBV DNA içermeyen, dolayısıyla infeksiyöz olmayan filamantöz ve sferik partiküller olarak bulunur. HBsAg testleri, her üç formda bulunan antijeni de saptar ancak oranları hakkında bilgi vermez. HBsAg’ nin saptanması, kişinin HBV ile enfekte olduğunu gösterir. Virus ile temastan 7-9 hafta sonra (ALT yükselmesinden 1-3 hafta ve semptomlardan 3-5 hafta önce) serum da saptanır. Konsantrasyonu, hastalığın akut döneminde tepe yaptıktan sonra giderek azalır ve 4-6 ayda saptanamaz düzeylere geriler. Altı aydan uzun süre pozitif kalması, kronik B hepatitinin kanıtı olarak kabul edilir. Kronik B hepatitinde spontan HBsAg serokonversiyonu nadirdir (%1-2/yıl) (44). HBsAg reaktivitesinin doğrulanması, özgül nötralizasyon testi ile yapılmalıdır (45).

2.10.1.2. HBeAg ve Anti-HBe

HBeAg kor geninin kodladığı iki proteinden biridir. Virionun yapısında bulunmaz, virus replikasyonu için gerekli değildir. Enfekte hepatositte saptanabilir ve bu hücreden sekrete edilerek kana geçer. Kronik enfeksiyonun gelişmesinde rol oynar, HBe Ag (-) varyant virusla oluşan primer enfeksiyonun kronikleştigiine ilişkin kanıt bulunmamaktadır (46). Kronik enfeksiyonun evresine bağlı olarak tolerojen veya immünojen olarak rol oynadığı düşünülmektedir (47). Serum da HBe Ag (+) olması, aktif virus replikasyonunun indirekt kanıtıdır ve aktif hepatit ile ilişkili bir göstergedir. HBe Ag, ilk kez, akut HBV enfeksiyonun da serumda saptanır. Enfeksiyonun doğal seyri içinde, genellikle HBsAg' den önce negatifleşir; bu durum, virus replikasyonunun azalması/saptanamaz olması ve iyileşme dönemine geçişi gösterir, bu durumda HBsAg serokonversiyonu olasılığı yüksektir. Kronik B hepatitte ise, immün tolerans dönemde, HBe Ag miktarı yüksektir, yaşa bağlı olarak immün yanıtın gelişmesi ile birlikte düzeyi azalır ve kaybolur (immün temizlenme dönemi). HBe Ag sentezi, prekor ve kor promotor mutasyonlarına bağlı olarak da azalabilir veya tamamen durabilir. Bu durumda, hastada, HBe Ag (-) olmasına karşın, yüksek virus replikasyonu (HBV DNA) saptanabilir. Hastada mutasyon taşıyan ve taşımayan virus suşları birlikte bulunabilir (44).

2.10.1.3. HBcAg ve Anti-HBc

HBcAg, kor geninin kodladığı, virus kapsidini oluşturan, kuvvetli immünojen bir proteindir. Anti-HBc yanıtını, T hücre yardımı olmadan uyarabilir. HBcAg, anti-HBc antikorundan ayrılması sağlandığında kanda saptanabilir ancak

rutin tanı testlerinden biri değildir. Anti-HBc, HBV ile karşılaşmayı gösterir. Enfeksiyonun tüm dönemlerinde pozitifdir. Geçirilmiş HBV enfeksiyonunda, anti-HBs ve anti-HBe negatifleşse bile uzun süre saptanabilir. Bazen immünsuprese hastalarda HBV enfeksiyonu varlığına karşın anti-HBc negatifliği görülebilir. Nadir olarak sağlıklı kişilerde de benzer bir serolojik profil saptanabilir. Anti-HBc IgM, akut enfeksiyon göstergesidir ve ilk oluşan antikordur. ALT değişiklikleri ile aynı zamanda saptanmaya başlar, miktarı giderek artar, sonrasında ise düşer ve yerini hemen tamamen anti-HBcIgG antikorlarına bırakır. Anti-HBc IgM, kronik enfeksiyonda da düşük düzeyde saptanabilir (44).

Tablo 2. Serolojik sonuçların yorumlanması (43)

Test	Sonuç	Yorum
HBsAg Anti-HBc Anti-HBs	Negatif Negatif Negatif	Duyarlı
HBsAg Anti-HBc Anti-HBs	Negatif Negatif Pozitif	Aşılamaya bağlı bağışık
HBsAg Anti-HBc Anti-HBs	Negatif Pozitif Pozitif	Doğal enfeksiyona bağlı bağışık
HBsAg Anti-HBc Anti-HBc IgM Anti-HBs	Pozitif Pozitif Pozitif Negatif	Akut enfeksiyon
HBsAg Anti-HBc AntiHBc IgM Anti-HBs	Pozitif Pozitif Negatif Negatif	Kronik enfeksiyon
HBsAg Anti-HBc Anti-HBs	Negatif Pozitif Negatif	(!)

(!)-1-Akut HBV enfeksiyonunun düzelmesini gösterebilir

2-İmmünite tam gelişmemiştir ve test çok düşük miktardaki serum Anti-HBs seviyesini saptayabilecek kadar duyarlı değildir

3-Yalancı pozitif anti-HBc'yi gösteriyor olabilir

4-Kronik olarak enfekte olabilir ve serumdaki HBsAg düzeyi saptanabilir seviyenin altındadır.

2.10.2. Nükleik Asit Testleri

Viral DNA'nın serumda saptanması, viral replikasyonun belirlenmesinde önemlidir. HBV DNA, serum transaminaz düzeyleri ile paralel olarak HBsAg'den 3-5 hafta önce saptanabilmektedir (43). HBV enfeksiyonu tanısında ve izleminde kullanılabilecek nükleik asit testleri şunlardır: HBV DNA'nın saptanması ve kantitasyonu, HBVDNA'daki çeşitli mutasyonların saptanması, Antiviral direnç mutasyonlarının saptanması, HBeAg negatif olgularda prekor/kor promoter mutasyonlarının saptanması, HBV genotipinin belirlenmesi, cccDNA'nın saptanması ve kantitasyonudur. Bunlardan en yaygın kullanılan ve klinik açıdan gereksinim duyulanları, kantitatif HBV DNA testi ve antiviral direnç mutasyonlarının analizidir. Diğer testler, şimdilik daha çok araştırmalarda kullanılmaktadır. Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri arasında en yaygın kullanılanı polimeraz zincir tepkimesidir ("polymerase chain reaction", PCR). Farklı PCR yöntemleri arasında son yıllarda "real-time PCR" yöntemi tercih edilmektedir. Real-time PCR yönteminin avantajları, hem duyarlı olması hem de geniş bir aralıkta (7-8 log₁₀) kantitasyon yapabilmesidir. Amplifikasyon sonrası reaksiyon tüplerinin açılmasına gerek duyulmaması nedeniyle kontaminasyon riski daha azdır. Günümüzde real-time HBV DNA PCR testleri ile 50 IU/ml'nin altında bir duyarlılık ve 10⁷⁻⁸ IU/ml varan kantitasyon aralığı sağlanabilmektedir. Bu testlerde de tüm PCR testlerinde olduğu gibi yalancı negatiflik ve yalancı pozitiflik riski vardır (44).

2.10.3. HBV Genotip

HBV sekiz genotip ve dört ana serotipe ayrılabilir. Nükleoz (t)id analogları ile interferon α tedavi yanıtlarının, farklı genotiplerde farklı olduğuna dair raporlar bildirilmiştir. Ayrıca, B ve C gibi bazı genotipler, hepatoselüler karsinom gelişimi için daha büyük bir risk olabilir. Bununla birlikte, hepatit C' nin aksine, HBV genotip klinik tanının rutin bir parçası değildir (48).

2.10.4. Antiviral direnç testi

Direncin saptanmasında fenotipik veya genotipik yöntemler kullanılabilir. Her yöntemin olumlu ve olumsuz yönleri vardır.

Fenotipik yöntemler; Genetik mühendislik ve hücre kültürü sistemlerinde ekspresyon analizi gerektirir. Yeni, etkisi bilinmeyen mutasyonların incelenmesinde veya birden çok mutasyonun birlikte olması durumunda virus üzerindeki etkinin anlaşılmasında en yararlı yöntemdir. Ancak rutin hasta hizmetin de kullanılması bugün için mümkün değildir.

Genotipik yöntemler; HBV DNA' da ilaç direnci ile ilişkili olduğu bilinen mutasyonların saptanması esasına dayanır. Sonuç olarak, hedef bölgedeki mutasyonlar belirlenir ancak bunların fenotipik yorumunu yapmak kolay olmayabilir (44).

2.10.5. Tedavi etkinliğinin izlenmesi

HBV-DNA miktarının kantitatif olarak ölçülmesi, kullanılan tedavi şemasının etkili olup olmadığını anlamamıza, tedavi süresini ve dozunu

belirlememize ve gerektiği durumlarda tedavi protokolünü değiştirmemize yardımcı olmaktadır.

2.11. Kronik Hepatit B Tedavisi

KHB tedavisinde standart interferon alfa, pegile interferon alfa 2a ve 2b ile nükleoz (t)id analoglarından lamivudin, adefovir, entekavir, tenofovir ve telbivudin ülkemizde mevcut olup, kullanım onayı almış ilaçlardır (49). Hem HBeAg pozitif hem de HBeAg negatif KHB hastalarında, pegile interferon alfa veya nükleoz (t)id analogları ile süresi belirli tedavi başlanabileceği gibi, nükleoz (t)id analogları ile uzun süreli tedavi de başlanabilmektedir (50). Kür sağlamanın neredeyse imkansız olduğu KHB hastalığında yaşam boyu yakın takip ve tedavi gerekmektedir. Tedaviyle ulaşılması istenen esas hedef, HBsAg serokonversiyonudur. Ancak bu hedefe ulaşma olasılığı oldukça düşüktür. Bu nedenle kısa ve uzun dönemli daha ulaşılabilir hedefler seçilmektedir (51). Tedavinin kısa dönem hedefleri içinde; karaciğer enzimlerinin normalizasyonu (biyokimyasal cevap), HBV-DNA seviyesinin ölçülemeyecek düzeye düşürülmesi (virolojik cevap) ve HBeAg pozitif hastalarda HBeAg serokonversiyonudur (52). Uzun dönemde ise, HCC ve sirozun önlenmesi böylece yaşam kalitesi ve sağ kalımın artırılması hedeflenmektedir (50).

2.12. Temas Sonrası Profilaksi

HBV maruz kalma durumunda; temas sonrası kişilere profilaksi için yapılmayan tüm dozlar tavsiye edilir. Bir pasif-aktif bağışıklama önerilmektedir. Aktif bağışıklama ilk dozu mümkün olan en erken zamanda verilmelidir.

Maruziyettten 12 saat sonrası genellikle profilaksi için en uygun zaman sayılır. Eğer kaynağın HBsAg-pozitif olduğu biliniyorsa bir doz Hepatit B immunoglobulinin (HBIG) aynı anda verilmesi gerekir. Aşının iki doz olması gerekir. Aşı ile bağışıklığı daha önce yapılmış ve belgelenmiş ise temas sonrası profilaksiye gerek yoktur. Aşıları yapılmış kişilerin uygun olan zamanda anti-HBs testlerinin yapılması gerekir. Bu mümkün değilse veya titreler yeterli değilse (<100 IU/l) 2. Seri aşılama gerekir. Yanıtsızlığı belgelenen bireylere HBIG iki doz bir ay arayla verilir (32).

2.13. Otoimmünite

İmmün sistem, normal koşullarda self ve nonself molekülleri rahatlıkla birbirinden ayırt edebilmektedir. Ve kendi antijenik yapılarına karşı immün yanıt gelişmesini engelleyebilecek yapıdadır (53). Fizyolojik ve koruyucu bir sürecin sapması sonucu, vücudun kendi antijenlerine karşı otoantikörler oluşmaktadır.

Otoreaktivitenin oluşması bir çok teoriye bağlanmıştır. Örneğin; fizyolojik açıdan erişilmemesi gereken bir doku birden B ve T hücreleri için hedef hale gelebilir. İmmün sistem kendini tanımayabilir ve antikör üretecek hale gelebilir. Bu şekilde oluşan hastalıklara da otoimmün hastalıklar denir (54).

Pernisiyöz anemi, Hashimoto tiroiditi ve sistemik lupus eritematoz (SLE) antikör aracılı otoimmün hastalıklardan bazılarıdır. Bir çok otoimmün hastalık, direkt olarak T lenfositler tarafından oluşturulan doku hasarı ile karakterizedir. Bunun en iyi örnekleri, bağ dokusu hastalıkları ve vaskulitlerdir. Toplumun yaklaşık %5-7'sini etkileyen otoimmün hastalıklar, organa özgü ve sistemik otoimmün hastalıklar şeklinde iki grupta incelenmektedir (Tablo 2.3). Organa

özgü otoimmün hastalıklarda, immün yanıt direkt olarak sadece bir organ veya dokuda bulunan antijenleri hedef almaktadır. Bu nedenle, ortaya çıkan klinik bulgular büyük oranda o hedef organla ilişkilidir. Hedef organın hücreleri, direkt olarak hümmoral veya hücrenel mekanizmalarla hasara uğrayabilirler. Alternatif olarak, olaya antikorlar da neden olabilir ve hedef organın normal fonksiyonunu aşırı stimule veya bloke edebilirler. Hem hücrenel immün yanıtlar hem de otoantikorların neden olduğu direkt hücrenel hasar veya immün komplekslerin birikmesi nedeniyle doku hasarı oluşmaktadır (55-58).

Tablo 3. Otoimmün hastalıklar (59,60)

Organ Spesifik Otoimmün Hastalıklar	Sistemik Otoimmün Hastalıklar
Hashimoto Troiditi	Bağ doku hastalıkları
Otoimmün Hemolitik Anemi	Romatoid Artrit
Pernisiyöz Anemi	Sistemik Lupus Eritematozus
Addison Hastalığı	Sjögrens Sendromu
Otoimmün Ensefalomiyelit	Skleroderma
Goodpasture Sendromu	Polimiyozit-Dermatomiyoze
Otoimmün Trombositopeni	Reiter Sendromu
Myastenia Graves	Karışık Bağ Dokusu hastalıkları
Toksik Guatr	Vaskülitler
İnsüline Bağlı	Takayasu
Diabetes Mellitus	Temporal arterit
Aktif Kronik Hepatit	Wegener granuloatozu
Ülseratif Kolit	Klasik PAN
Primer Biliyer Siroz	Mikroskopik PAN
Vitiligo	Lökositoklastik vaskülitler
Pemfigus	(PAN:Poliarteritis nodosa)

2.13.1. Otoantikörler

Antikör oluşumu hastalıklara karşı immün sistemin tepkisini, doğasını, ve immün cevabın şiddetini gösterebilir. Otoantikörler immün cevap oluştuğunda hastalığın patogenezi belirlemede ve tanı koymada yardımcı ve prognozda da belirleyici bir markır olarak kullanılabilir. Otoantikörler klinik belirtiler olmadan uzun prodromal dönemli hastalıkların tespit edilmesinde de kullanılabilir. Otoantikörler ile klinik belirti olmaksızın hastalığın varlığı ve progresyonu hakkında bilgi sahibi olunabilir (61).

Otoantikörler, organizmada bulunan otoantijen olarak tanımlanabilen proteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar, lipid ve multimoleküler komplekslere karşı oluşan antikörlerdir. Otoantijenler organa özgü veya tüm sistemde bulunmaktadır. Sıklıkla incelenen otoantikörler; romatoid faktör (RF), antinükleer antikörler (ANA), DNA'ya yönelik antikörler, nükleik asitlere bağlanan proteinlere karşı antikörler (ENA), fosfolipidlere yönelik antikörler ve antinötrofil sitoplazmik antikörleridir (ANCA). Ayrıca organa veya dokulara özgü otoantikörler da (örneğin; karaciğer, böbrek, mide, barsak, tiroid, pankreas, kas, over, testis, deri ve nöral dokulara karşı) vardır (62).

Tablo 4. Otoimmün Hastalıklarda Otoantijen- Otoantikor İlişkisi (60)

Hastalık	Otoantijen	Otoantikor
Hashimoto tiroiditi	Tyroglobulin	Anti Tg
Kronik Aktif hepatit	Düz kas	ASMA
Good PasteurSendromu	Glomerül bazal membranı	Anti GBM
Primer Biliyer Siroz	Mitokondri	AMA
Romatoid Artrit	IgG, DNA, kollajen	RF, ANA
SLE	RANA, Nükleoprotein	AntiDNA, Anti nRNP/Sm
	DNA, RNA	Anti histon
Sjögren Sendromu	Jo, La	Anti-SS-A, Anti-SS-B
MCTD	ENA	Anti ENA

2.13.2. Antinükleer antikorlar (ANA)

Antinükleer antikorlar (ANA); Nükleusta bulunan bir çok farklı antijene karşı oluşan otoantikorlardır. Seçilen yöntem, kullanılan hücre kaynağı, serum sulandırım oranı, boyanma paterni ve floresan şiddeti iyi bir ANA incelenmesinin önemli kriterleridir. Hücre olarak insan laringeal karsinomundan köken alan malign hücreler (Human Epitelioma tip 2-Hep-2, CCL-23 Amerikan hücre kültür koleksiyonundan) kullanılmaktadır. Hep-2 hücreleri tek tabaka olarak büyürler. Belirgin sitoplazma çekirdek ayırımı vardır. İnsan kökenli olması nedeniyle hayvan dokularından çok daha spesifiktir. Nükleuslar kompleks nükleer ayrıntıları gösteren çok büyük hücrelerdir. Antijen dağılımı tek tipdir, bu yüzden hücre bölünme aşamalarının ayrıntılı olmasından dolayı yalnızca hücre bölünmelerinde üretilen antijenlerin kolayca lokalize olmasını sağlarlar. Antikorların çoğu IFA yöntemi ile tanımlanır ve ANA için rutin test olarak kullanılır. ANA, İFA

sonuçları pozitif ve ya negatif olarak değerlendirilir. Eğer sonuç pozitif ise; spesifik floresans özelliğine göre baskın otoantikor tipine göre; homojen (histon, DNA-histon kompleksi ve DNA boyanması), periferik (dsDNA boyanması), benekli-speckled (nükleik asit bağlayan proteinler; Sm, RNP, SS-A (Ro), SS-B (La), Scl-70 ve Jo-1), nükleolar (RNA polimeraz, topoizomeraz boyanması) ve sentromer (metafaz plağının boyanması) floresans özellikleri gözlenir. Ayrıca sitoplazmada bulunan ribozomlara, mitokondri, endoplazmik retikulum, lizozom, peroksisom, golgi aygıtı, aktin (düz kas), sitokeratin, tropomiyozin, vimentin, vinculin, desmin gibi organellere karşı da otoantikorlar oluşmaktadır. Fakat bunların bazılarının klinik anlamları henüz aydınlatılamamıştır (62).

2.13.3. Anti-DNA antikorları

Anti-ds DNA (çift sarmallı, doğal, nDNA) antikorları, DNA molekülünün şeker-fosfat iskeletine karşı gelişmekte olup, SLE'de yüksek oranda tanı koydurucudur. Anti-ss DNA (tek sarmallı) antikorları ise, DNA molekülünün nükleotid bazlarına karşı gelişmekte ve SLE, RA, diğer inflamatuvar hastalıklar, kronik enfeksiyonlar ve malignensilerde pozitif olarak bulunmaktadır. SLE'de %60 sıklıkta bulunmakla birlikte nonspesifiktir (63). Bu antikorlar radyoaktif immunoassay, Enzim linked immunosorbent assay (ELISA) ve İFA yöntemleri ile tanımlanır. İFA yönteminde, bir monoflagellat olan *Crithidia luciliae*'dan hazırlanmış preparatlar kullanılır (62).

2.13.4. Anti-mitokondriyal antikorlar (AMA)

Primer bilier siroz organ spesifik otoimmün hastalığın bir modelidir ve AMA; bu hastalık için yüksek spesifiteye sahip bir testtir. Serumda AMA otoantikorunun tayini, özgünlüğü en yüksek olan serolojik belirteçlerden birisidir. AMA 'nın antijenik hedefi 2-oksoasit dehidrojenaz bileşenleridir (64). AMA, ilk kez Walker ve ark. tarafından 1965 yılında kullanılmıştır (65) Mitokondriye karşı antikorların tanımlanması için standart yöntem, fare veya sıçan karaciğer, böbrek ve mitokondriyal kesitlerinden hazırlanan İFA yöntemidir. Mitokondrinin granüler floresansı, gastrik hücrelerin hücre sitoplazması, Kupffer hücreleri, hepatositler ve renal tubuler hücrelerde de gözlenmektedir (62).

2.13.5. Düz kas antikorları (SMA-ASMA: Anti smooth muscle antibody)

İlk kez Johnson ve arkadaşları tarafından 1965 yılında mide kesitlerinde tanımlanmış, SMA olarak tarif edilmiş ve Whittingham ve arkadaşları otoimmün hepatit ile ilişkilendirilmiştir (66,67). Ancak otoimmün hepatit için spesifik olarak kabul edilmez. Daha düşük titrelerde, diğer karaciğer hastalıkları, karaciğer dışı otoimmün hastalıklar, akut ya da kronik enfeksiyonlarda da bulunabilir. Otoimmün hepatit tanı puanlama sisteminde kullanılmaktadır (64).

Otoimmün hepatit oluşumunda ve tiplendirilmesinde, endoplazmik retikulum membran proteinlerine, nükleer antijenlere ve sitosolik antijenlere dahil olmak üzere farklı hücresel hedeflere yönelik otoantikorların oluşması önemlidir. Bu yaklaşıma göre, otoimmün hepatit tip 1 antinükleer antikorlar (ANA) ve / veya düz kas aktini karşı anti-düz kas antikorları (SMA) ile karakterize edilir. Otoimmün hepatit tip 2; sitokrom P450 CYP2D6 karşı karaciğer-böbrek mikrozomal

otoantikör (LKM-1) oluşması ile karakterizedir (32). Otoimmün hepatit tip 3; UGA supresör serin tRNA-protein kompleksi olarak tanımlanan bir çözünür karaciğer antijen (SLA/LP) karşı oluşan otoantikörler ile karakterizedir (32).

SMA antijen özellikleri hala tam tanımlanmamıştır ancak, aktin ve nonaktin bileşenleri (tübülün dahil olmak üzere, vimentin ve ara filamentler)de içeren bir çok sitoskeletal proteinlere karşı oluştuğu düşünülmektedir (64).

2.13.6. Karaciğer/Böbrek Mikrozomal Antikörleri (LKM; Liver-Kidney Microsome Antibody)

Nadir olarak bulunan üç LKM otoantikörü tarif edilmiştir. Bunlardan en önemlisi LKM-1 olup konsantrasyonu hastalık aktivasyonu ile değişmemesine rağmen tip 2 otoimmün hepatit ile ilişkilidir. Bu antikörler, kemiricilerin hepatosit ve böbrek proksimal tübül hücrelerin de homojen boyanma özelliği gösterir. LKM-1 antijeni; karaciğer ve böbreğin mikrozom fraksiyonuna yerleşmiştir. Hedef antijen sitokrom P450IID6'dır (62).

2.13.7. Endomisyum Antikörleri, Doku Transglutaminazve Gliadin Antikörleri

Glutene duyarlı enteropati hastalığı ince barsak (İB) mukozasında intraepitelyal lenfosit artışı, kript hiperplazisi ve villus atrofi bulguları ile tanıılır. Ancak ince barsak biyopsisi yapılmadan önce tanıda ilk basamak olan antigliadin antikör, anti-doku transglutaminaz antikörü ve/veya anti-endomisyum antikör saptanması önemlidir. Tanı sonrasında sıkı glutensiz diyet ile bu antikör düzeylerinin düşmesi veya tamamen kaybolması beklenir ki bu, takip açısından

önemlidir (68). Endomisyum, özofagusun orta üçte birinde bulunan düz ve çeşitli kas fibril lerinin kombinasyonunu kuşatan yapıyı destekler. Endomisyal antijen mide, jejenum, karaciğer ve göbek kordonu gibi bir çok dokuda ve insan, maymun, sıçan gibi türlerin özofagusların da bulunur. Doku transglutaminazı (tTG) enzimi, endomisyum antikorları için ana otoantijendir (69). Anti-doku transglutaminaz (anti-tTG), antiendomisyal antikorlar ve anti-retikülin antikorlar birbirinin aynısıdır. Gliadin antikorları, çölyak hastalığında inflamasyon antijeni olan glutenin etanolde çözülen fraksiyonudur (62).

2.13.8. Antifosfolipid Antikorlar

Antifosfolipid antikorlar negatif yüklü fosfolipidlere, fosfolipid bağlayan proteinlere ya da her ikisine karşı oluşan otoantikorlardır. Klinik semptomlara neden olan antikorların az bir kısmı gerçekten anyonik fosfolipidlere karşı gelişen ‘antifosfolipid antikorlar’ olmasına karşın, klinikte önemli sorun oluşturan trombotik antikorların çoğunluğu fosfolipidlerin kompleks yaparak bağlandıkları β 2-glikoprotein I, protrombin (koagülasyon faktör II), anneksin V, faktör XII gibi plazma proteinlerine karşı gelişmiş ‘antifosfolipid antikorlar’ olarak tanımlanmaktadır. Antifosfolipid antikorlar genel popülasyonun %14’ünde, SLE’li hastaların ise %30-50’sinde görülürler. Antifosfolipit sendromu, kazanılmış ‘antikor-bağımlı tromboza eğilim (trombofili)’ sonucunda gelişen multisistemik bir otoimmün hastalık olup üç temel antikor grubu (Antikardiyolipin Antikoru (ACA), Lupus Antikoagülanı (LA), Beta-2-Glikoprotein I Antikoru) ile ilişkilidir (70).

2.13.9. Romatoid Faktör

Yaklaşık 50 yıldır kullanılmakta olan romatoid faktor (RF), IgG'nin Fc parçasındaki antijenik determinantlara karşı oluşan otoantikordır. RF, immünoglobülinlerin IgM, IgA, IgG ve IgE sınıflarından olabilir. Romatoid artrit dışında; difüz konnektif doku hastalıkları (özellikle Sjögren sendromu) ve viral enfeksiyonlar (özellikle B ve C tipi kronik hepatit), kronik inflamatuvar hastalıklar, yaşlılık, kemoterapi ya da radyoterapi sonrası ortaya çıkan neoplastik durumlarda da pozitif bulunabilir. Sağlıklı insanlarda da düşük titrelerde tespit edilebilir. SLE'de görülme oranı %40 olarak bildirilmiştir. SLE'li hastalarda anti-Ro/SS-A antikoru ile RF arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. RF, romatoid artritli hastaların yaklaşık olarak %80'inde pozitif olup hastalık tanısı için gereklidir. Akut romatizmal ateş kriterlerinden birisidir (63).

2.13.10. Anti-CCP: (Anti- Cyclic Citrullinated Peptide)

RF, Amerikan Romatizma Birliği tarafından belirlenen Romatoid artrit tanı kriterlerinden biri olarak kabul edilmesine rağmen, diğer romatizmal hastalıklarda (sistemik lupus eritematoz, skleroderma, miks bağ dokusu hastalığı, polimiyozit vb.), sarkoidozda, enfeksiyonların seyrinde, kronik karaciğer ve akciğer hastalığında, tüberkülozda, subakut bakteriyel endokarditte, kronik viral ve paraziter hastalıklarda, neoplazmalarda ve miks esansiyel kriyoglobülinemide de pozitif bulunabilmektedir. Son zamanlarda Anti- sitrilün peptit antikoru (anti-CCP) üzerinde çalışmalar yapılmış ve romatoid artritli hastalarda ELİSA ile bakılan anti-CCP antikorunun romatoid faktörden daha spesifik olduğu belirlenmiştir. Hastalığın ilk tanı aşaması için ve prognozunun takibinde önemli

kabul edilmiştir. RA için erken tanı, tedavi stratejisinin belirlenmesi ve tedavide kullanılan agresif farmakolojik ilaçlardan uzak durulması açısından çok önemlidir. Anti-CCP antikolları pozitif olan hastalarda, negatif olanlara göre eklem hasarı (radyolojik olarak tespit edilebilen) daha sıklıkla ortaya çıkmaktadır (71).

2.14. Enfeksiyonlar ve Otoimmünite

İmmün sistem son derece kompleks bir yapıdır ve geniş bir yelpazedeki patojenlere karşı mücadele eder. Enfeksiyonlara karşı konak immün yanıtı, otoimmüniteyi de kapsayan çok sayıda immünolojik mekanizmaları içerir. Otoimmün hastalıklar, genellikle genetik yatkınlık ve nadiren çevresel faktörlerin de etkili olduğu kombine olaylardır. Enfeksiyon etkenleri otoimmüniteyi başlatmak veya sürdürmek için çeşitli mekanizmalar kullanırlar. Bunlardan bazıları; Moleküler benzeşme, gizli veya yeni antijenler, değişmiş antijenler ve süper antijenler olmak üzere antijen spesifiktir. Diğerleri nonspesifiktir. Bunlar arasında otoreaktif lenfositlerin aktivasyonu, Apoptozis/nekroz, sitokin salınımı, immün sistem aktivasyonu, self (öz) antijenlerin sunumu ve işlenmesi bulunmaktadır (72).

2.14.1. Moleküler Benzeşme

Bazı mikroorganizmalar vücudun kendi antijenlerine çok benzeyen veya çapraz reaksiyon veren peptidler içerir veya üretirler. Bu peptidlere yönelik bağışıklık yanıtı ve saldırısı, konağın kendi antijenlerine yönelebilir. Mikroorganizma peptidleriyle konağın antijenleri arasındaki bu çapraz reaksiyon olayı moleküler benzeşme olarak tanımlanmaktadır. Moleküler benzeşmeye neden

olan peptitler ile indüklenabilen otoimmüitenin ortaya çıkabilmesi için; mikroorganizma ve konak epitoplarının çapraz reaksiyon verecek kadar benzer, immunolojik toleransın kırılmasına yetecek kadar farklı ve öz epitoplardaki homolojinin önemli bir biyolojik aktiviteye sahip olması gereklidir. Romatizmal ateş, SLE (73), ve sistemik skleroz (74), gibi hastalıklar da dahil olmak üzere çeşitli otoimmun hastalıkların oluşmasında moleküler benzeşme rol oynayabilir (72).

2.14.2. Protein Değişikliği, Gizli Antijenler

Çeşitli enfeksiyonlar sonrası doku hasarını takiben, hücre ölümü, oksidatif stres, serbest radikal üretimi ve çeşitli onarıcı değişiklikler olur ve kendinden olana karşı olmayana benzer şekilde yanıt oluşturur (72,75). Postranslasyon modifikasyonlar, denatürasyon, hatalı katlanmalar veya mutasyonlar sonucu bir protein değişiklikleri ortaya çıkar (76). Bir dokunun enfeksiyonu o bölgede, doğal immüitenin etkin hale geçmesini sağlar. Bunun sonucu olarak etkin duruma geçen antijen sunucu hücreler o dokuda öze tepkili lenfositlerin yaşamını sürdürmesine ve etkin hale geçmesine yol açabilir (77). Enfeksiyonlar ayrıca, doku zedelenmesi ve hücre ölümüne yol açarak normalde bağışıklık sisteminde gösterilmeyen antijenlerin ortama salınmasına yol açabilir. Örneğin; gözde ve testiste bulunan bazı saklanmış antijenler normal bağışıklık sisteminde yok sayılırlar. Bu antijenlerin enfeksiyon veya travma sonrası ortaya çıkması, dokuya yönelik otoimmün reaksiyonu başlatabilir (72).

2.14.3. Süperantijenler

Super antijenler bakteriyel ve viral orjinli proteinlerdir. Çok sayıda T hücrelerinde aktivasyon patlaması yapabilme yetenekleri ile bilinen en güçlü immunomodulator ajanlardır. Konvansiyonel antijenlerden farklı olarak, hücre-içi işleminden geçmeksizin, doğrudan MHC sınıf II moleküllerinin antijen bağlama yerinin dışına, yüksek afinite ile bağlanırlar. Super antijenlerinin T hücre reseptörü (TCR) tarafından tanınması için, TCR değişken V segmentinin β ($V\beta$) zinciri ile ilişki kurması yeterli olur. Superantijenler tarafından yardımcı T (T_H) hücreleri aktive olur. Bu aktivasyon sonucu sitokin salınımı oluşur. Bu aktivasyon normal antijen sunumunu karıştırır öze reaktif T hücrelere gizli ya da öz antijenlerin sunumuyla sonuçlanır (78).

2.14.4. Otoreaktif Lenfositlerin Aktivasyonu

Spesifik TCR stimülasyondan bağımsız nonspesifik bir mekanizma ile T hücrelerinin aktivasyonudur. Bu şekilde self antijenlerin sunumuna yol açılabilir. (79).

Tablo 5. Enfeksiyonlar ve otoimmün hastalık ilişkisi (77)

Hastalık	Enfeksiyon etkeni
Tip 1 diabet	Coxsackie virus, Reovirus, Rubella, Mumps virüs
İmmün hemolitik anemi	Epstein-Barr virus, Mycoplasma pneumoniae
Grave's hastalığı	Yersinia. enterocolitica
Romatizmal ateş	A grubu beta hemolitik streptokok
Poliarteritis nodosa	Hepatit B ve C virus, HIV
Romatoid artrit	Mycobakterium tuberkulozis
Spondiloartropati	Enterobacteriaceae, Klebsiella sp.
Reaktif artrit	Enterobacteriaceae, Chlamydia trachomatis
Sistemik lupus eritematozis	Retrovirus
Crohn's hastalığı	Mycobakterium paratuberkulozis
Çöliyak hastalığı	Adenovirus
Psöriasis	Retrovirus, Streptokok
Henoch shoenlein purpura	Beta hemolitik streptokok
Kawasaki	Yersinia pseudotuberculosis, S. aureus, Streptokok

2.15. Otoimmünite ve HBV Enfeksiyonu

Virusların etkisi ile oluşan otoimmün olayları önlemek zordur. Zira viruslar ile otoantikor oluşması arasında sebep sonuç ilişkisine dayalı bir gizem vardır (80). CD4 hücreleri, T helper hücreleri olarak anılırlar ve kuvvetli sitokin üreticisidir ve CD8 hücrelerini etkileyerek B hücrelerini etkileyerek antikor üretirler. CD8 hücreleri sitolitik ve sitolitik olmayan mekanizmalar aracılığıyla HBV ile enfekte hepatositleri temizlemek için çalışır, dolaşımdaki virus düzeyini azaltır ve B hücre antikor üretimi virus parçacıklarını nötralize eder. Hepatit B'

nin kronik ve akut evrelerindeki KC hasarından T hücre cevabı sorumludur. Özellikle CD8 hücreleri iki ucu keskin bıçak gibi olup HBV enfeksiyonunun oluşturduğu hasardan sorumlu olduğuna inanılmaktadır. T hücreleri virusun kontrolünde ve temizlenmesinde rol oynar. Diğer yandan antiviral immunité virusu temizlemek için yeterli olmayabilir. Bunlar Fas ligand/Fas-ilişkili apoptozis ve perforin aracılı sitotoksisiteyi de içeren farklı yollarla KC hasarına neden olabilirler (81,82). Oтореaktivite de özellikle kronik aktif hepatitin histolojik bulgularına benzer (portal ve periportal lenfoplazmasitik infiltrasyonlar ve periportal hepatositlerin nekrozu) bulgular vardır. Bu histolojik tabloyu bir virüs enfeksiyonu sonrası aktive olan sitotoksik T hücrelerinin tek başına yapmış olması mümkün değildir. Benzer özellikler otoimmün hepatitte de görülmüştür (83).

Hepatit B virüsü karaciğer ile ilişkili hastalık yapar, ancak aynı zamanda ekstrahepatik bulgular; serum hastalığı, membranöz glomerulonefrit, membranoproliferatif glomerulonefrit, kutanöz vaskülit, infantil popüler akrodermatitis, kriyoglobulinemi ve poliarteritis nodosa (PAN), immün kompleks hastalıkları ile birlikte seyredebilir. Romatoid artrit, polimiyaljiya romatika, polimiyozit gibi inflamatuvar sendromlar ile HBV enfeksiyonu arasında bir ilişki olduğu ileri sürülmektedir (84,85,86). Bu ekstrahepatik bulguların görülmesi otoimmüniteye yol açan mekanizmaların varlığı ve bu mekanizmaların HBV ile kuvvetle ilişkili olduğunu destekleyen teorilerin ileri sürülmesine yol açmıştır. Bu nedenle, HBV enfeksiyonu ve otoimmünite arasındaki ilişkiyi gözden geçirmek gerekmektedir.

2.15.1. HBV ve Multiple Sklerozis

Multipl skleroz genç yetişkinlerde görülen santral sinir sisteminin demiyelinizan hastalığıdır. HBV ile enfekte insanlarda, vücut genellikle HBV antijenlerine karşı antikorlar üretir. Aynı zamanda HBV diğer bileşenlerine, DNA polimeraz gibi komponentlerine karşı immünite geliştirmesi mümkündür. Moleküler benzeşme ile myelin doku bu immüniteden etkilenir. Ayrıca, hepatit B aşılması için kullanılan HBsAg kaynaklı aşılarından sonra, monofazik transvers miyelit, demiyelinizan hastalık, optik nevrit gibi santral sinir sisteminde demiyelinizasyon yapan tablolar bildirilmiştir (87).

2.15.2. HBV ve Antifosfolipit Sendromu

Antiphospholipid Sendromu (APS), tekrarlayan arteriyel veya venöz tromboz, gebelik kaybı ve trombositopeni ile karakterize, otoimmün kökenli bir multisistem hastalığıdır. Klinik bulguların oluşmasında negatif yüklü fosfolipidleri karşı oluşan otoantikorların rol oynadığı düşünülmektedir. Antifosfolipid antikorları antikardiyolipin (aCL) ve lupus antikoagülan antikorları içerir. Antifosfolipit antikorları olarak adlandırılmasına rağmen, direkt olarak antifosfolipitlere bağlanmaz. Ancak optimal fosfolipidler bağlanma aktivitesi için bazı plazma proteinlerinin (β 2GPI, prothrombin, annexin V gibi) varlığı gerektirir. aCL antikorları sadece otoimmün hastalıklarda bulunmaz, aynı zamanda viral enfeksiyon gibi diğer koşullarda da bulunabilir. Ayrıca, enfeksiyon ile indüklenmiş aCL antikorları, geçici olma eğilimindedir. Düşük titrede ve daha sık IgM izotipi şeklindedir. Hepatit B enfeksiyonunda HBV ile β 2GPI arasında moleküler benzeşme nedeniyle; β 2GPI molekülüne karşı Anti- β 2GPI antikorları

oluşur. HBV'nin lipid bileşenlerine karşı oluşan cevap, anneksin V ve β 2GPI ye karşı olası bir aCL yanıt için bir tetikleme mekanizması olabilir (87).

2.15.3. HBV ve Otoimmün Tiroid Hastalığı

Otoimmün tiroid hastalıkları bir dizi hücresel ve humoral immün yanıt sonucu oluşur. Otoimmün tiroid hastalıklarından olan Graves hastalığı (GD) ve Hashimoto tiroiditi hastalığında, T ve B hücrelerinin reaktivasyonu sonucu tiroid antijenlerine karşı antitiroid antikorları oluşur (88). Hipertiroidi ve hipotiroidi oluşur. Otoimmün hipotiroidizmde ana hedef otoantijen hücre yüzey proteini tiroid peroksidaz (TPO)'dır. HBsAg pozitif hastalarda da özellikle Down sendromu birlikteliğinde, hipertroidi sıklığı artmıştır (87). Kronik hepatit B hastalarında PEG-IFN α -2a tedavisi alan hastaların %19'unda tedavi kesilmesini gerektirecek derecede tiroid disfonksiyonu tespit edilmiştir. Tiroidit gelişiminin kronik hepatit hastalarının tedaviye yanıtınlığında rolü olduğu belirtilmiştir (89).

2.15.4. HBV ve Romatoid Artrit

Romatoid artrit sistemik bir otoimmün hastalık olup, eklem dejenerasyonu ve simetrik inflamasyon ile karakterize kronik inflamatuvar bir tablodur. Viruslar, RA oluşmasında önemli bir etken olarak kabul edilmiştir. Virusların etkisi ile ortama salınan İL-6 ve TNF α 'nın Romatoid artrit indüklenmesinde ve hastalığın devamında önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür. B hücre poliklonal aktivasyonu ile otoantikör oluşur. Otoantikör oluşması Moleküler benzeşme ile olmaktadır (87).

Kronik Hepatit B virusu ile enfekte hastalarda Romatoid artrit (RA) benzeri artralji veya artrit olabilir. RA olgularında genellikle romatoid faktör (RF) ve anti sitruline peptid (anti-CCP) her ikisi de pozitifdir. Kronik HBV olgularının %20-75 RF (özellikle IgA izotip) pozitifdir ancak nadiren anti-CCP pozitifliği içermektedirler (90).

2.15.5. HBV ve SLE

SLE geniş bir klinik spektruma sahip konnektif dokuyuda tutan, multisistem, otoimmün bir hastalıktır (91). SLE'nin çevresel, genetik ve immunolojik değişiklikler gibi birçok faktör nedeniyle geliştiği düşünülmektedir. Hastalığı indükleyen mekanizmalardan birisi mikrobiyal patojenlerle oluşan moleküler benzeşme sonucu otoantikor gelişimidir (92). Virüslerin SLE'de bir rolü olabileceği yeni bir kavram değildir. HBV enfeksiyonu sırasında görülen glomerulonefrit, artrit, vaskülit ve kriyoglobulinemi gibi ekstrahepatik bulgular, SLE hastalarında da sıklıkla görülür. Duyarlı kişilerde HBV'nin lupus sendromu indüklenebildiği düşünülmektedir (87).

2.15.6. HBV ve Glomerulonefrit

Glomerulonefrit enflamasyon ve hücrel çoğalma ile birlikte hematüriyle karakterize bir hastalık tablosudur. Çeşitli araştırmalar gösteriyor ki hepatit B virusü glomerulonefritin bazı formlarının patogeneğinde rol oynayabilir. Bazen glomerulonefriti olan hastaların, glomerülü içinde immünoglobulin ve kompleman birikimi ile tespit edilmiştir. Ayrıca, HBsAg immün komplekslerin esansiyel

mikst kriyoglobulinemi ilişkili glomerülo nefritte patojenik rol oynadığını düşündürmektedir (87).

HBeAg serokonversiyonu gelişen çocuklarda hastalığın kendiliğinden gerilemesi immün kompleks aracılı hasarın kanıtı olarak değerlendirilebilir. Hepatit B virusunun endemik olduğu bölgelerde membranöz nefropati ve mesangio kapiller glomerülo nefrit ile ilişkili rol oynayabilir (93,94).

2.15.7. HBV ve poliarteritis nodosa (PAN)

PAN genellikle böbrek, kas, iskelet sistemi, deri, sinir ve sindirim sistemi tutulumu ile karakterize, sıklıkla orta boy arterlerin tutulumunun olduğu nekrotizan bir vaskülitir. Hastalığın patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamasa da immün kompleks aracılı hasara bağlı, damar inflamasyonu ilk planda düşünülmektedir. HBsAg varlığının PAN gelişimi ile ilişkisi bir çok olgu raporu ve epidemiyolojik çalışma ile ortaya konulmuştur. HBV-ilişkili PAN klasik PAN'ın tipik bir şeklidir. Genellikle viral enfeksiyondan en az 12 ay sonra ortaya çıkar (87). HBV ilişkili PAN'ın böbrek tutulumunun glomerülo nefritle seyretmediği, ANCA pozitifliğinin hiç saptanmadığı, özellikle HBe Ag serokonversiyonu geliştiren ve viral replikasyonu baskılanan hastalarda relapsın gelişmediğine dikkat çekilmiştir (95).

2.15.8. HBV ve Otoimmün Hepatit

Otoimmün hepatit, dalgalı serum alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri, hipergammaglobulinemi, dolaşımdaki organa özgü veya organ dışı otoantikörlerle karakterizedir. Kadınlarda daha sık olmasına rağmen genetik

yatkınlık fazladır. Prevalansı yaklaşık % 0.01-0.02 arasında değişir. Karaciğer içinde tekrarlayan nekro-inflamatuar ataklar sonucunda siroz ve muhtemelen karaciğer yetmezliğine yol açar (87).

Otoimmün hepatitinin oluşmasında viruslar rol oynayan olasılıklar arasındadır. Murakami ve arkadaşları 43 yaşında bir bayan hastada HBV enfeksiyonu sonrası 10 yıl sonra otoimmün hepatit olduğunu tespit etmişlerdir. Otoimmün hepatit başlangıcında, KC fonksiyonları normal ve asemptomatik olan hastanın 10 yıl sonra KC enzimleri özellikle ALT düzeyi yükselmiştir. Ayrıca insan lökosit antijeni (HLA) DR4, otoimmün hepatit ile ilişkili bulunmuş ve biyokimyasal, serolojik, histolojik, immünohistokimyasal tüm sonuçları göstermiş ki; bu hastada karaciğer hasarı HBV ile indüklenmiştir (96,97).

2.15.9. HBV ve Tip1 Diabet

Tip 1 diabet pankreas β hücrelerinin hasarı sonucu oluşan, genetik, çevresel faktörler gibi bir çok faktöründe rol oynadığı bir hastalıktır. Virusların tip1 diabet oluşturması, β hücrelerini direkt olarak enfekte ederek veya otoimmüniteyi tetikleyerek olmaktadır (87). Khuri ve arkadaşları Hepatit B virüsü ile diabetes mellitus arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla 395 sağlıklı kontrol ve 100 diyabetik hastada HBV serolojisini değerlendirmişler ve kontrol popölasyonu ile karşılaştırıldığında, diyabetik hastalarda HBV belirteçlerinin, anlamlı olarak daha yüksek yaygınlık gösterdiğini belirtmişlerdir (98).

2.15.10. HBV ve Üveitis

Üveitis, retina ve üveal yolu etkileyen, göz ve görmeyi bozan, intraoküler inflamatuvar bir hastalıktır. Deneysel olarak, otoimmün üveitisi tetikleyen sorumlu antijen, retinal soluble protein (S –Ag) olarak belirlenmiştir. HBV enfeksiyonu sırasında moleküler benzeşme mekanizması nedeniyle mononükleer hücreler duyarlı hale gelerek kendi proteinleri ile çapraz reaksiyona girer ve retinal soluble protein (S –Ag)ine karşı otoantikor oluşur (87).

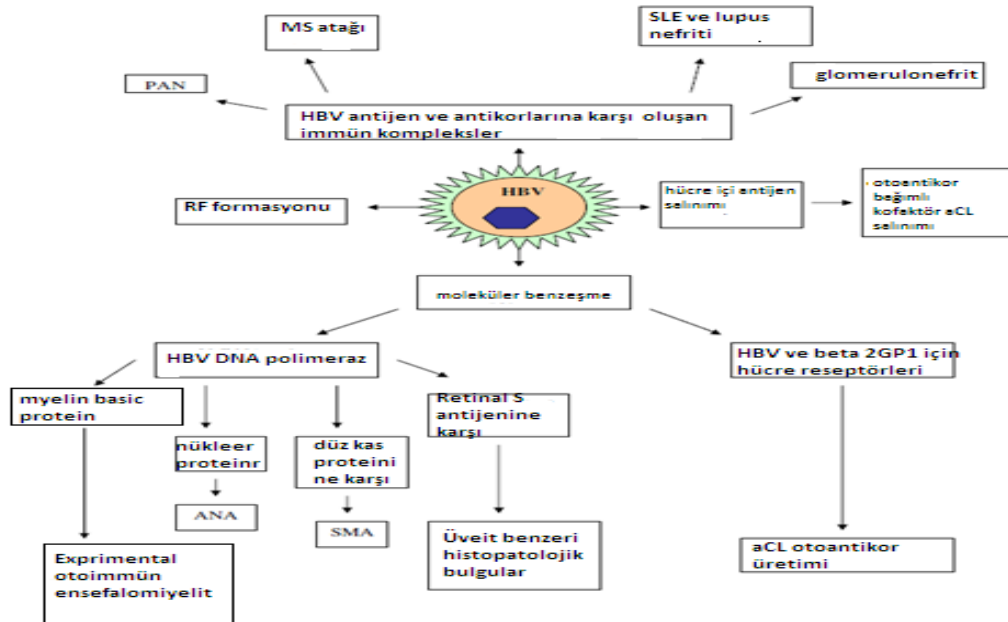
2.15.11. HBV ve İnterferon Tedavisi

Kronik HBV enfeksiyonunun tedavisinde IFN- α etkili bir tedavi olmakla birlikte otoimmünitenin ortaya çıkmasından da sorumlu tutulmaktadır. Bu nedenle, HBV enfeksiyonu ile temas sonrası oluşan antikorların IFN- α tedavisi etkisi ile meydana geldiği düşünülmektedir (87). Kansu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; Kronik HBV enfeksiyonu olan 61 çocuğun interferon tedavisi öncesi ve sonrası tiroid peroksidaz (TPO), tiroglobulin, anti-nükleer antikor (ANA), anti-dsDNA, anti-mitokondrial (AMA), düz kas (SMA) ve karaciğer-böbrek mikrozomal-1 (LKM-1) değerlendirilmiştir.. Anti-ds DNA tedavi öncesi ve sonrası tespit edilmemiş, LKM-1, TPO ve tiroglobuline karşı antikorlar sadece IFN kullanımı sonrası olduğunu belirlemişlerdir (99).

2.15.12. Hepatit B Aşısı ve Otoimmünite

Hepatit B aşıları 1980'lerde ABD'de geliştirilmiştir. Günümüzde kullanılan Hepatit B aşıları, hepatit B virusunun rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmiş major yüzey antijenini içerir. Rekombinant teknoloji ile elde edilen aşılar iki grup

olup maya kökenli aşılar maya hücrelerinden, memeli hücresinden yararlanılarak üretilen aşılar ise fare over hücresinden yararlanılarak elde edilmektedir (95).Büyük ölçekli aşılama programları uygulanan ülkelerde HBV komplikasyonlarında dramatik olarak bir azalma görülmüştür. Ancak aşı sonrası otoimmün olaylar bazı bilimsel literatürlerde bildirilmiştir. Bu otoimmün olaylar şunlardır: SLE, Guillain-Barre sendromu, Romatizmal hastalıklar, üveit, liken planus, nefrotik sendrom, MSS demiyelinizan ve MS. Hepatit B aşısı ile otoimmün olaylar arasındaki ilişkinin aşıda kullanılan (HBsAg, alüminyum adjuvanı, cıva koruyucu ve rezidüel maya proteinleri) maddeler nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Aşı ile oluşan otoimmünite için bazı geçerli mekanizmalar suçlanmaktadır. Bunlardan birisi, Rekombinant HBsAg ile öz proteinler arasındaki moleküler benzeşmedir (87).



Şekil 6. HBV enfeksiyonunda otoimmünite oluşma mekanizmaları (87)

2.15.13. Otoantikor Tayininde Kullanılan Yöntemler

Otoantikor tayininde kullanılan yöntemler; İmmünodifüzyon, counter İmmünoelektroforez, immünoblot, radyoimmünoprespitasyon, radyimmünoassay, ELISA olarak sayılabilir. Kullanılan testler işaretli katı faz yöntemlerindendir. İşaretli katı faz yöntemleri antijen ve antikor saptamada kullanılan hızlı yöntemlerdir. Reaktiflerden biri (antijen veya antikor) katı bir faza bağlanarak hareketsizleştirilir. Sonra örnek koyulur ve özgül birleşme işaretli bir reaktif kullanılarak gösterilir. Katı faz yöntemlerinde kullanılan işaretli konjugat molekülleri; genellikle insan immünglobulinlerine karşı hayvanda (örn. keçi ve tavşan) hazırlanmış ve işaretlenmiş anti-insan IgG, IgM ve IgA molekülleri ya da araştırılacak olan antijene özgül işaretli antikor molekülleridir. Bu yöntemlerde monoklonal antikorların kullanılması özgüllük ve duyarlılığı artırır.

İmmünofloresans yöntemi (İFA); Bu yöntemde katı faz lam (slide)'lardır. Konjugatın işaretlendiği madde bir florokrom boyasıdır ve değerlendirme floresans mikroskobu ile yapılır. En sık kullanılan boya''fluorescein isothiocyanate (FITC)''tır. FITC, mikroskobun civa lambasından çıkan ışığı 490 nm dalga boyunda absorbe ve eksite ederek 517 nm emisyon spektrumunda görünebilir yeşil ışık halinde objektife yansıtmaktadır.

İndirekt immünofloresans antikor (IIFA); Bu yöntemde hasta serumunda antikor tespiti yapılır. Burada kullanılan lamlar üzerine istenen antijenlerin fikse edilmesi ile hazırlanır. Hasta serumu örnekleri bu lamlar üzerindeki alanlara damlatılır ve inkübe edilir. Fosfatlı tampon ile yıkama işleminden sonra''fluorescein isothiocyanate (FITC)''ile işaretli anti-insan antikor (konjugat)

eklenir. Tekrar inkübasyon ve tekrar yıkamadan sonra kurutulur ve gliserol damlatılarak lamelle kapatılır ve incelenir (100).

İmmüno blot tekniği; Antikor spesifitesini tanımlamak için zorunlu bir test haline gelmiştir. Temel olarak, antijen preperasyonları poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) ile ayrılmakta ve nitroselüloz membrana elektrotransferi gerçekleşmektedir. Sonraki aşamada dilüe edilmiş hasta serumu ile inkübasyon gerçekleşmekte ve antikor reaktivitesi radyoaktif işaretli veya enzim işaretli ikinci bir reagent ile belirlenmektedir. Çözünmüş proteinlerin poliakrilamid jelden nitroselüloz membrana elektrotransferi proteinlerin kantitatif tayinini mümkün hale getirdiği gibi transfer süreci içinde ayrılmış proteinlerin tamamen çözülmesini sağlamaktadır. Bir sonraki adımda katı yüzeye tutunmuş antijenler antikor veya diğer reagentlerle kolaylıkla birleşebilmektedir (101).

2.16. İmmün Yanıt ve İnflamasyonda Sitokinlerin Rolü

Sitokinler; doğal ve spesifik immün yanıt oluşumunda, immün sistem hücrelerinin karşılıklı ilişkilerini düzenleyen maddelerdir. Hücreler arası sinyal proteini olan sitokinler, immün ve inflamatuvar yanıt oluşumu, hematopoez ve yara iyileşmesi gibi farklı birçok olayda rol alırlar. Bir çok uyarıya cevap olarak salınan sitokinler, hedef hücrelerde büyüme, farklılaşma, aktivasyon ve doku onarımında önemli rol oynarlar (102,103). Söz konusu hücre sitokini salgılayan hücrenin kendisi olabilir (Otokrin etki) veya komşu hücre olabilir (parakrin etki) veya diğer gerçek hormonlarda olduğu gibi dolaşıma salınan sitokinler tarafından uyarılan uzaktaki bir hücre olabilir (Endokrin etki) (104). Bir sitokin değişik tip hücreler tarafından yapılabilir ve değişik tip hücreler üzerine etki gösterebilir,

başka sitokinlerin sentezlenmesini uyabilir ya da engelleyebilir. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Birden fazla sitokin aynı etkiyi gösterebilir (105). Lenfositler tarafından salgılandıkları zaman lenfokinler, monosit ve makrofajlar tarafından salgılandığında ise monokinler, lökositler tarafından salgılandıkları zaman ise interlökin (IL) olarak adlandırılmaktadır. Kemokin deyimi ise kemotaktik ve sitokin parçalarının birleştirilmesiyle üretilmiş olup bunlar, makrofaj ve monositleri enfeksiyon noktasına çekebilen bir grup sitokindir (104,106).

2.16.1. HBV Enfeksiyonu ve Sitokinler

HBV enfeksiyonlarında karaciğer hasarından, virüsün direkt sitopatik etkisinden ziyade enfekte konak hücrelerinin oluşturduğu hücresel tip immün yanıtın sorumlu olduğu düşünülmektedir. Hepatit viruslerinin, hepatositleri ve diğer bir çok hücreyi infekte etmelerinden sonra viral proteinlere yönelik immün yanıtlar gelişebilmektedir. B lenfositler tarafından birçok viral antijene karşı geliştirilen antikor yanıtı, viral enfeksiyonun önlenmesi ve virusların opsonizasyonunda rol oynamaktadır (107). Ts (CD8+) ve Th (CD4+) hücreleri hepatit virüslerinin taşınmasını sağlar. Muhtemelen B lenfositler MHC sınıf II molekülleri ile viral peptidleri CD4+ T lenfositlere sunarak sitokin salınmasını ve bu sitokinlerin B ve CD8+ T hücre aktivitesini düzenlemesini sağlarlar (108,109). Virüsle karşılaşınca CD4+ T hücreler ve immün efektör hücrelerden Th1 sitokinler (IL-2, TNF- α , INF- γ) üretildiğinde virüsün çoğalmasının önleneceği, Th2 sitokinler (IL-4, IL-5, IL-10) üretildiğinde ise virüsün çoğalmasının kolaylaşarak hastalığın kronikleşebileceği bildirilmiştir. Yani HBV

enfeksiyonlarında kişinin hastalığının gidişatını (iyileşme veya kronikleşme) belirleyen önemli faktör Th grubudur (107).

2.16.2. İnterlökin-17 (IL-17)

İnterlökin (IL) -17 pro-inflamatuvar bir sitokin olup, inflamasyonla ilgili pek çok medyatörün ifadenmesini indükler (110,111).IL-17'nin immün sistemin düzenlenmesindeki önemine dair birçok veri vardır ve inflamatuvar hastalıklar, otoimmün hastalıklar ve kanserde de aktif rol oynayabileceği bildirilmiştir (112). İnflamatuvar reaksiyon ve immünite ile ilişkili lökosit aktivasyonu ve migrasyonunu kontrol eden intrasellüler haberci olarak görev yapar (113). IFN-gama hücre içi patojenlere karşı immün cevapta önemli bir rol oynar.IL-17 hücre dışı patojenlere karşı T hücre aracılı immün cevapta üretilir. IL-17 TH lenfositleri tarafından üretilir. IL-17 inflamatuvar barsak hastalığı ve multipl skleroz hastalarında gösterilmiş, astım hastalarında da IL-17 ailesi üyelerinin de salgılandığı belirtilmiştir (114).

2.16.3. İnterlökin IL-22

IL-22 T lenfositler, mast hücreleri ve daha düşük aktif düzeyde NK hücreleri tarafından salınır. T-lenfositler yanı sıra IL-22, Th17 hücreleri tarafından da salınır. IL-22 enflamatuvar hastalıklarla ilişkili olmasına rağmen, aynı zamanda anti-inflamatuvar etkilere sahiptir. Özellikle psöriasis, crohn hastalığı, interstisyel akciğer hastalıkları ve romatoid artrit ile IL-22 arasında yüksek düzeyde hastalık şiddeti ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar vardır. Etkin biyolojik aktiviteye sahip IL-22; serum amiloid A proteini de dahil olmak üzere, hepatositlerden akut faz

proteinlerinin salınımında ve büyük olasılıkla karaciğer hasarında koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir (114).

2.16.4. İnterlökin IL-23

IL-23, IL-12 sitokin ailesinin bir üyesi ve bir heterodimerdir. Ağırlıklı olarak aktif dendritik hücreler ve fagositik hücreler tarafından salınır (115). IL-23 kronik inflamasyon, kanser ve otoimmünitede önemli rol oynadığına dair önemli kanıtlar bulunmaktadır. IL-23 birçok inflamatuvar olayda nötrofil ve inflamatuvar sitokin birikiminde oldukça önemlidir. Diğer IL-12 aile üyeleri ile benzer şekilde bir P19 ve bir p40 alt birim ünitesinden oluşur (116).

2.16.5. Sitokin Tayininde Kullanılan Yöntemler

Moleküler yöntemler ve ELISA en çok kullanılan yöntemler arasındadır.

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay):Konjugatı işaretlemek için enzimlerin kullanıldığı testlerdir. Katı faz, enzimve substratlar, yıkama, durdurma ve okuma aşamaları vardır.

Katı faz: manuel ELISA yöntemlerinde kullanılan katı faz, genellikle çukurlarına analitlerin bağlanmış olduğu 96 çukurlu mikropleytlerdir. Otomatize sistemlerde ise submikron boyutlarında manyetik bilyalar veya lateks partikülleri kullanılır.

Enzim ve substratlar: Konjugatın işaretlenmesinde en sık kullanılan enzimler alkalen fosfataz ve horseradish peroksidaz enzimleridir. Son yıllarda biotin-avidin sistemleri, moleküller arasında bağlanma bölgelerinin daha fazla olması, bağlanmaların daha kuvvetli ve özgül olmasını sağlar.

Yıkama: ELISA yönteminde her bir safha arasında fosfatlı tampon solüsyonuile yıkama işlemi önemli yer tutmaktadır. Yıkama işlemi iyi yapılmadığında yalancı pozitiflikler saptanabilir.

Durdurma: ELISA'nın son safhası olan 'reaksiyonu durdurulması' basamığında asidik veya çözeltiler kullanılır. Bölgece enzim-substrat reaksiyonu istenilen sürede sona erdirilir.

Okuma: Reaksiyon sonunda oluşan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülür. Okumada en sık kullanılan dalga boyları 405,540 ve 630nm'dir (100).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Çalışmamızda örnekler 3 gruba ayrılmıştır. Gruplardaki tüm hastalar 18 yaş üstü, erişkin gruptan seçilmiştir.

1. GRUP; HBsAg'si ve HBV DNA'sı pozitif olan 50 adet kronik Hepatit B hastası
2. GRUP; HBsAg (+) 25 adet inaktif HBsAg taşıyıcı hasta grubu
3. GRUP; HBsAg (-) ve HBV DNA (-)'sı negative olan 25 adet sağlıklı kontrol grubu

3.2. Yöntemler

Hasta ve kontrol grubu örneklerinde otoantikor ve sitokin düzeyleri serumda tayin edilmiştir. Hasta ve kontrol grubuna ait serum örnekleri santrifüj edildikten sonra, çalışma yapılncaya kadar -80°C'ye kaldırılmıştır.

ANA, ASMA, AMA; LKM otoantikorları indirek floresan Ab yöntemi (IFA) ile incelenmiştir. IFA yöntemi ile ANA pozitif olarak bulunan örneklerde daha sonra immüno blot yöntemi ile otoantikorların tanımlanması yapılmıştır. RF, Anti-CCP, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin otoantikorlarına ise ELISA yöntemi ile bakılmıştır.

Serum sitokin düzeyleri ELISA yöntemi ile İncelenmiştir (Biosource).

3.2.1. HBsAg, AntiHBs, HBeAg, AntiHBe, AntiHBc IgM, AntiHBc total Bakılması

HBsAg, Anti-HBs Anti-HBc total IgM, HbeAg, anti-HBe düzeyleri; Gazi Üniversitesi Tıp fakültesi immunoloji labotatuvarında ADVIA Centaur kitiyle Mikroeliza SIEMENS Almanya) ile analiz edildi.

3.2.2. HBV-DNA Tespiti

Viral DNA izolasyonu: HBV-DNA ekstraksiyon işlemi otomatik ekstraksiyon kitleri kullanılarak QiaSymphony otomatik izolasyon sistemi ile üretici firma önerilerine uygun olarak yapılmıştır (Qiagen, Hamburg, Almanya).

Real-time kantitatif PCR: Viral yük kantitatif real-time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile Qiagen Artus RG PCR kit (Qiagen, Hamburg, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon döngüleri, Rotor-Gene 6000 cihazında belirlenmiştir (Corbett Research, Avustralya). Analizler, firmanın önerileri doğrultusunda Rotor Gene software ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Serum ALT ve AST Düzeylerinin Belirlenmesi

Alanin Aminotransferaz (ALT) ve Aspartat Aminotransferaz (AST) testi ile insan serumu veya plazmasındaki alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz aktivitesi kantitatif olarak ölçülür. Ölçüm için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında Abbott cihazında Architect C System (Abbott, Germany) kiti üretici firma önerileri doğrultusunda kullanılmıştır. Yöntem, “Uluslararası Klinik Kimya Derneği”nin (IFCC) tavsiyelerine

dayanmaktadır. AST ve ALT için belirlenmiş normal değer aralıkları 0-40 U/L (ünite/litre) olarak alınmıştır.

3.2.4. IFA Yöntemi ile Otoantikör Tayini

ANA, ASMA, AMA ve LKM otoantikör tayini indirek immünofloresan yöntemle incelenmiştir (Euroimmun, Almanya). Bütün örnekler 1:100 serum dilüsyonlarında firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Preparatlar daha sonra floresan mikroskopunda değerlendirilmiştir (EUROSTAR marka Carl Zeiss).

Çalışma Prosedürü: Serum dilüsyonu (1/100), yıkama için PBS-Tween 20 karışımı 1 Litre distile su içinde çözünmeye bırakılmıştır.

1) Slaytlarla uyumlu zemin üzerindeki her bir bölüme pozitif kontrol, negatif kontrol ve serum dilüsyonlarından 25µm pipetlendikten sonra üzerine IFA slaytları yerleştirilmiş ve 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

2) Slaytlar zemin üzerinden çıkarılarak PBS-Tween 20 içerisinde 5 dakika yıkanmış ve bu işlem 2 kez tekrarlanmıştır.

3) Zemin üzerindeki her bir bölmeye 20 µm konjugat pipetlenmiş, PBS-Tween 20 ile yıkanmış slaytlar arka yüzleri kurularak konjugat pipetlenmiş zemine kapatılmış ve 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

4) Slaytlar zemin üzerinden çıkarılarak PBS-Tween 20 içerisinde 5 dakika yıkanmış ve bu işlem 2 kez tekrarlanmıştır.

5) Slaytlarla uyumlu lamel üzerine 10µm gliserol damlatılıp slaytlar yerleştirildikten sonra IFA mikroskopunda, 40'lık objektifte sonuçlar değerlendirilmiştir.

Değerlendirme aşamasında floresans mikroskobu olarak EUROSTAR marka Carl Zeiss objektif kullanılmıştır. Bu aşamada pozitifliğin yanında hücre nükleusu ve sitoplazmik komponentlere karşı gelişen homojen, nükleer membran, nükleoplazmik dots, nükleoplazmik granüler, nükleolar, mitotik hücreler, sitoplazmik granüler ve sitoplazmik filamentöz olarak 8 ana patern dikkate alınmıştır. Her serum için uygulanacak titreler sırasıyla: 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600 ve 1/3200 olarak belirlenmiştir. 1/100'lük dilüsyondan başlanarak çalışılan serumlar pozitiflik yakalandıkça her defasında bir üst titreye alınmıştır. Negatifliğin olduğu titrenin bir altındaki değer pozitif olarak kabul edilmiştir. Son olarak 1/3200'de hala pozitif veren serumlar için ‘’ 1/3200 ve üzeri pozitif’’ sonuç verilmiştir.

3.2.5. ANA Pozitif Örneklerde İmmüno blot Yöntemi İle Otoantikorların Tanımlanması

Ticari kit olarak Euroimmun kullanılmış ve çalışmalar prosedüre uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışma prosedürü:

1) Çalışmaya başlamadan önce inkübasyon kanallarına yerleştirilen membran striptleri, 1.5 ml kullanıma hazır samplebuffer ile 5 dakika inkübe edilmiştir.

2) Samplebuffer ile 1/101 oranında dilüe edilmiş serumlardan inkübasyon kanallarına 1.5 ml pipetlenerek 30 dakika shakerda inkübasyona bırakılmıştır.

3) Distile su ile 1/10 oranında dilüe edilen 1.5 ml washbuffer ile her kanal 5 dakika yıkanmış ve bu işlem üç kez tekrarlanarak toplam 15 dakika uygulanmıştır.

4) Samplebuffer ile 1/10 oranında dilüe edilen konjugattan her bir inkübasyon kanalına 1.5 ml ilave edilerek 30 dakika shakerda inkübasyona bırakılmıştır.

5) 2. aşamadaki yıkama işlemi aynen uygulanmıştır.

6) Kullanıma hazır olan substrat her bir inkübasyon kanalına 1.5 ml pipetlenmiş ve 10 dakika shakerda inkübasyona bırakılmıştır.

7) Her bir inkübasyon kanalına 1.5 ml distile su ilave edilerek reaksiyon durdurulmuş ve striplerde pozitif kontrole uygun bir renklenmenin olup olmadığına bakılmıştır. Sonuçlar negatif (-) ve pozitif (1 pozitif ile 3 pozitif arasında değerlendirilmiştir) olarak değerlendirilmiştir.

Membran striplerinde, ANA alt grubu olarak kabul edilen anti-ENA antikorlarının her birine ait özel bir çizgi bulunmaktadır. Striptin en alt kısmında ise çalışma sonunda tüm striptlerde renklenmesi beklenen pozitif kontrol bulunmaktadır.

Sonuçlar pozitif kontrol çizgisine göre değerlendirilmiştir. Strip üzerinde 1 pozitif kontrol ve 14 alt grup bulunmaktadır. Bu alt gruplar sırasıyla: SS-A, SS-B, Sm, Scl-70, Ro-52, RNP/Sm, PCNA, PM-Scl, Nükleozom, Jo-1, Histon, CENP-B, dsDNA ve AMA-M2 alt gruplarıdır.

3.2.6. ELISA yöntemiyle Kardiyolipin IgM, Gliadin IgA, Romatoid faktör IgG,A,M Fosfolipit IgG, fosfolipit IgM Tespiti

Derin dondurucudaki (-80 °C) üst sıvı örnekleri çıkarılarak Kardiyolipin IgM, Gliadin IgA, Romatoid faktör IgGAM parametrelerini içeren antikor düzeyleri ELISA yöntemi ile firmanın önerileri doğrultusunda kit içerisindeki talimatlara uygun şekilde belirlenmiştir (ADA, Almanya)

- Örnekler derin dondurucudan çıkarılıp oda ısısına gelmesi beklenmiştir.
- Üretici firmanın önerileri doğrultusunda örnekler 1/100 oranında dilüe edilerek hazırlanmıştır.
- İlgili kuyucuklara kontroller, standartlar ve hasta örnekleri ilave edilmiştir.
- İnkübasyon süresinin ardından kuyucuklar yıkanarak konjugat ilave edilmiştir.
- İnkübasyon süresinin bitiminde kuyucuklar yıkanarak kromojen solüsyonu eklenmiştir.
- Karanlıkta inkübe edilerek son aşamada durdurma solüsyonu ilave edilmiştir.
- 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucuda değerlendirilerek sonuçları belirlenmiştir.

3.2.7. ELİSA yöntemiyle Anti-CCP (Anti- Cyclic Citrullinated Peptide)

Tespiti

Derin dondurucudaki (-80 °C) üst sıvı örnekleri çıkarılarak Anti-CCP parametrelerini içeren antikor düzeyleri ELISA yöntemi ile firmanın önerileri doğrultusunda kit içerisindeki talimatlara uygun şekilde belirlenmiştir (İmmoscan CCPlus, Sweden)

- Örnekler derin dondurucudan çıkarılıp oda ısısına gelmesi beklenmiştir.
- İlgili kuyucuklara negatif ve pozitif kontroller, kalibratör ve hasta örnekleri ilave edilmiştir.
- 1 saat İnkübasyon süresinin ardından kuyucuklar yıkanarak konjugat ilave edilmiştir.
- 30 dak inkübasyonun ardından yıkanarak substrat eklenmiştir. Karanlıkta inkübe edilerek son aşamada durdurma solüsyonu ilave edilmiştir.
- 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucuda değerlendirilerek sonuçları belirlenmiştir.

3.2.8. ELISA Yöntemiyle IL-17, IL-22, IL-23 Tespiti

Derin dondurucudaki (-80 °C) üst sıvı örnekleri çıkarılarak IL-17, IL-22, IL-23, IL-2, IFN parametrelerini içeren sitokinlerinin düzeyleri ELISA yöntemi ile firmanın önerileri doğrultusunda kit içerisindeki talimatlara uygun şekilde belirlenmiştir (Biosource ve, Belçika eBioscience Avusturya).

- Üst sıvı örnekleri ve çalışılacak parametrelere ait standartlar 96 kuyucuklu mikrotiplerde uygun kuyucuklara yerleştirildikten sonra inkübasyon tamponu ile inkübe edilmiştir.
- Daha sonra kuyucuklara Biotin konjugat konulup, plaklar oda ısısında tekrar inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon sonrası kuyucuklar yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır ve Streptavidin- Peroksidaz (HRP) solüsyonu eklenmiştir.
- Oda ısısında inkübasyonu takiben, plaklar tekrar yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır.
- Son aşamada kuyucuklara kromojen solüsyonu konulup, plaklar oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.
- Kuyucuklarda oluşan reaksiyon Stop solüsyonu ile durdurulmuştur.
- Kuyucuklarda oluşan absorbans değerleri, ELISA okuyucusunda 450 nm’de okutularak değerlendirilmiştir.
- Standart eğri, her plak için uygun olan ilgili parametrenin standartları ile oluşturulmuştur.
- Örnekler ait bakılan parametrelerin düzeyleri, standart eğri üzerinde işaretlenerek, sitokin düzeyleri pg/ml cinsinden belirlenmiştir.

3.3. İstatistiksel Analiz

Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol grupları arasında otoantikor pozitifliğinin karşılaştırılmasında ki-kare testi, gruplar arasında sitokin düzeylerinin karşılaştırılmasında ANOVA testi (one-way analysis of variance)

kullanılmıştır. Post Hoc analiz için Bonferroni testi uygulanmıştır. $p<0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grupları

Çalışmamızda 3 grup oluşturulmuştur:

1. Grup; 18 yaş üstü erişkin, HBsAg'si 6 aydan daha uzun süredir pozitif ve ayrıca HBV DNA'sı pozitif olan 50 adet kronik Hepatit B hasta grubu
2. Grup; 18 yaş üstü erişkin, HBsAg'si 6 aydan daha uzun süredir pozitif ve HBV DNA'sı negatif olan 25 adet inaktif HBsAg taşıyıcı hasta grubu
3. Grup; 18 yaş üstü erişkin, HBsAg'si ve HBV DNA'sı negatif olan 25 adet sağlıklı kontrol grubu

4.2. Gruplarda Yer Alan Hastaların Genel Özellikleri

Çalışmamızda 50 adet kronik hepatit B hasta grubu, 25 adet inaktif HBsAg taşıyıcı hasta grubu ve 25 adet kontrol grubuna ait serum örnekleri çalışma kapsamına alınmıştır. Kronik hepatit B hasta grubu, inaktif taşıyıcı hasta grubu ve sağlıklı kontrol grubunun genel özellikleri Tablo 6'de verilmiştir.

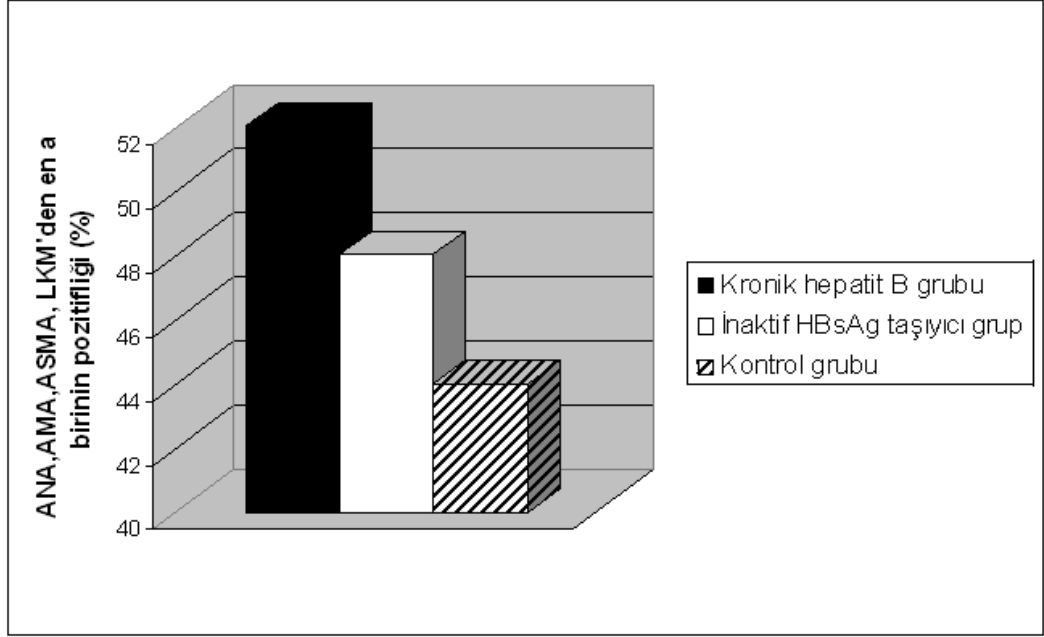
Tablo 6. Kronik hepatit B, inaktif taşıyıcı ve kontrol grubunun özellikleri

Özellikler	Kronik hepatit B	İnaktif HBsAg taşıyıcı	Kontrol grubu
Yaş (ort±SD)	42.14±11.97	45.3±7.6	50±12.84
Erkek n (%)	26 (52)	10 (40)	9 (36)
Kadın n (%)	24 (48)	15 (60)	16 (64)
HBeAg (+) n (%)	19 (38)	0 (0)	0 (0)
AntiHBc (+)n (%)	49 (98)	25 (100)	3 (12)
ALT (U/L) (ort±SD)	56.36±45.14	28.9±23.06	30.4±13.92
AST (U/L) (ort±SD)	54.90±48.43	33.9±46.57	26.5±9.21
HBVDNA (kopya/ml) (ort±SD)	1.4x10 ⁷ ±4.9x10 ⁷	0±0	0±0

4.3. ANA, AMA, ASMA ve LKM Otoantikorlarından En Az Birinin Pozitif Bulunma Oranı

Çalışmamızda; ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikorları 1:100 serum dilüsyonlarında incelenmiştir. Kronik hepatit B hasta örneklerinde incelenen ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikorlardan en az birinin pozitif bulunma oranı %52 olarak belirlenmiştir. Aynı oran inaktif HBsAg taşıyıcı grubunda %48, kontrol grubunda %44 olarak tespit edilmiştir (Şekil 7). Kronik hepatit B grubu örneklerde ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikorlardan en az birinin pozitif olarak bulunma oranı, diğer iki gruptan yüksek olarak belirlenmiştir. Kronik hepatit B'li hasta örneklerinde ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikorlardan en az birinin pozitifliği, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde farklı bulunmuştur (p=0.07, p=0.018, sırasıyla). Ancak, inaktif taşıyıcı ve kontrol grupları arasında ANA, AMA, ASMA ve LKM

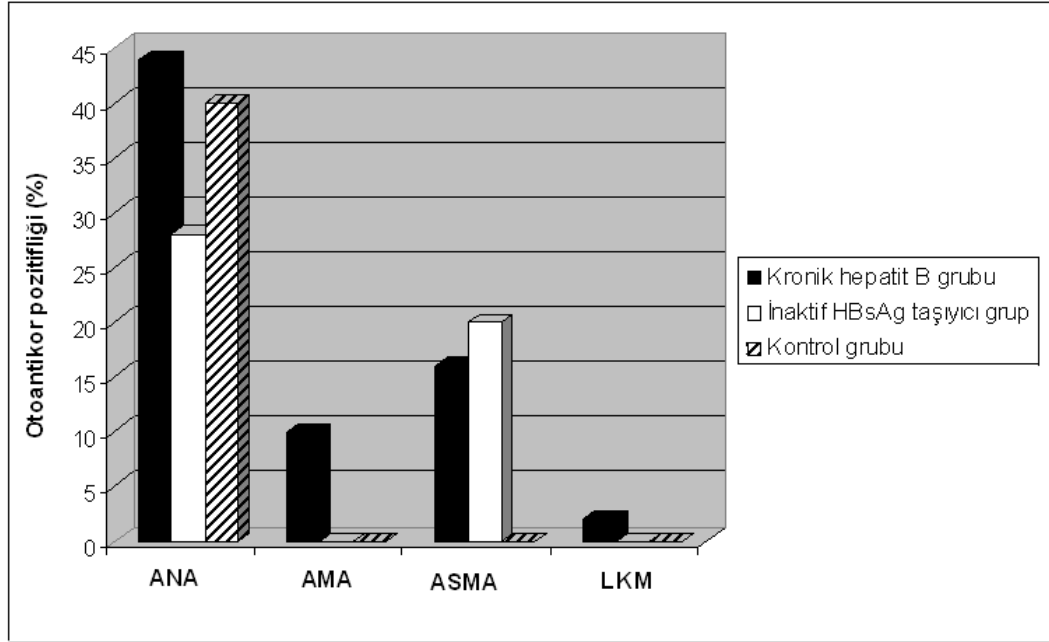
otoantikordlardan en az birinin pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 7. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikordlardan en az birinin pozitif bulunma oranı (%)

4.4. ANA, AMA, ASMA; LKM pozitifliği

Çalışma kapsamına alınan kronik hepatit B'li hasta serum örneklerinde %44 ANA, %10 AMA, %16 ASMA, %2 LKM oranlarında pozitiflik tespit edilmiştir. İnaktif HBsAg taşıyıcısı serum örneklerinde %28 ANA, %20 ASMA pozitifliği saptanırken, AMA ve LKM antikor pozitifliği tespit edilmemiştir. Kontrol grubu örneklerde ise %40 ANA pozitifliği belirlenirken; ASMA, AMA ve LKM antikor pozitifliği belirlenmemiştir (Şekil 8).



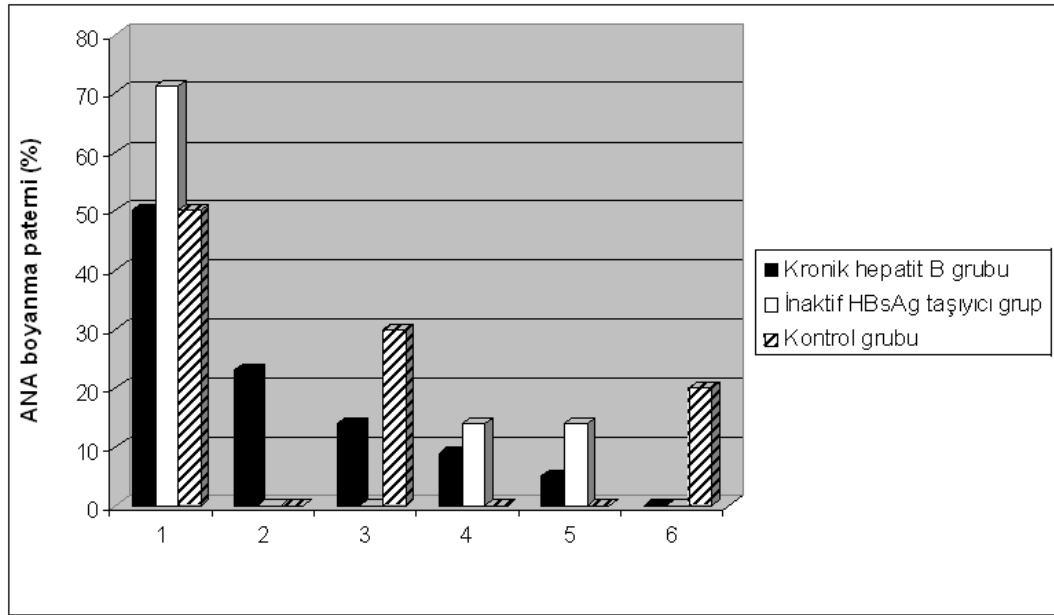
Şekil 8. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında ANA, AMA, ASMA ve LKM pozitiflik oranlarının dağılımı (%)

4.5. ANA Pozitifliği

Kronik hepatit B’li hasta örneklerinde ANA pozitiflik oranları inaktif HBsAg taşıyıcı hasta örneklerine göre daha yüksek oranda belirlenmiş ancak, fark istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde tespit edilmemiştir ($p=0.180$). Benzer şekilde kronik hepatit B’li örneklerle kontrol grubu örneklerine göre ANA pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0.05$). İnaktif HBsAg taşıyıcı örnekler ile kontrol grubu örnekleri arasında da ANA pozitifliği açısından anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p=0.370$).

4.6. IFA Yönteminde ANA Boyanma Paternleri

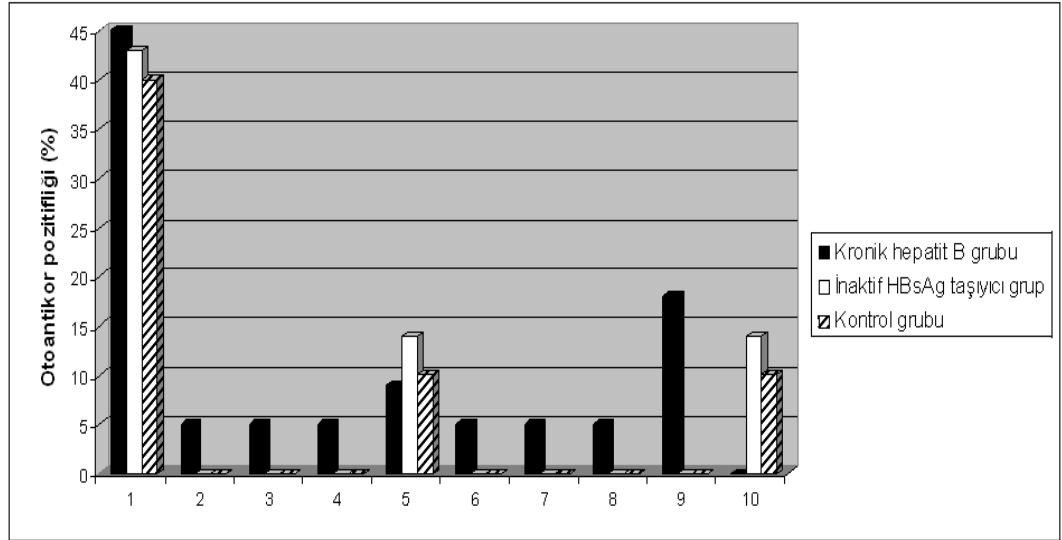
ANA pozitif olarak tespit edilen kronik hepatit B'li hasta örneklerindeki boyanma paterninde; %50 oranında granüler, %23 granüler+sitoplazmada granüler, %14 homojen, %9 nükleolar ve %1 oranında nükleer dots tespit edilmiştir. ANA pozitif olarak belirlenen inaktif HBsAg taşıyıcı örneklerde %71 granüler, %14 nükleolar ve %14 nükleer dots boyanma paterni izlenmiştir. Kontrol grubunda ise %50 granüler, %30 homojen ve %20 antinükleer membran tarzında boyanma paternleri tespit edilmiştir (Şekil 9). Gruplar arasında ANA patern dağılımı açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).



Şekil 9. ANA pozitif örneklerde boyanma paternlerinin dağılımı (%) (1. Granüler; 2. Granüler+Sitoplazmada granüler; 3. Homojen; 4. Nükleolar; 5. Nükleer dots; 6. Antinükleer membran).

4.7. ANA Pozitif Örneklerde İmmünoblot Yöntemi İle Otoantikorların Tanımlanması

Çalışmamızda, ANA pozitif olarak tespit edilen hasta örneklerinde immünoblot yöntemi ile otoantikorların tanımlanması yapılmıştır. Buna göre kronik hepatit B'li örneklerde; %45 SS-A, %5 PM-Scl, %5 PCNA, %5 nRNP/Sm, %9 dsDNA, %5 histon, %5 sentromer, %5 Scl70, %18 AMA M2 otoantikorları tespit edilmiştir. ANA pozitif inaktif HBs Ag taşıyıcılarında immünoblot yöntemi ile %43 SS-A, %14 dsDNA, %14 nükleozoma karşı otoantikor belirlenmiştir. Kontrol grubu örneklerde ise, %40 SS-A, %10 dsDNA, %10 nükleozoma karşı otoantikor tespit edilmiştir (Şekil 10). İmmünoblot yöntemi ile gruplar arasında belirlenen otoantikor türleri arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).



Şekil 10. ANA pozitif örneklerde otoantikorların dağılımı (%) (1. SS-A; 2.PM-Scl; 3.PCNA; 4.nRNP/Sm; 5. dsDNA; 6.Histon; 7. Sentromer; 8. Scl70; 9. AMA M2; 10. Nükleozom).

4.8. ANA Pozitifliği ile HBV DNA Viral Yük İlişkisi

ANA pozitif ve ANA negatif olarak belirlenen kronik hepatit B grubu örneklerinde HBV DNA viral yük dağılımı Tablo 7’de belirtilmiştir. HBV DNA viral yük açısından ANA pozitif ve ANA negatif kronik hepatit B grubu örnekleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0.383).

Tablo 7. ANA (+) ve ANA (-) kronik hepatit B grubunda HBV DNA viral yük

	ANA (+) kronik hepatit B grubu	ANA (-) kronik hepatit B grubu
HBVDNA (kopya/ml) (ort±SD)	$3 \times 10^7 \pm 7.1 \times 10^7$	$1.6 \times 10^6 \pm 5.9 \times 10^6$

4.9. ASMA Pozitifliği

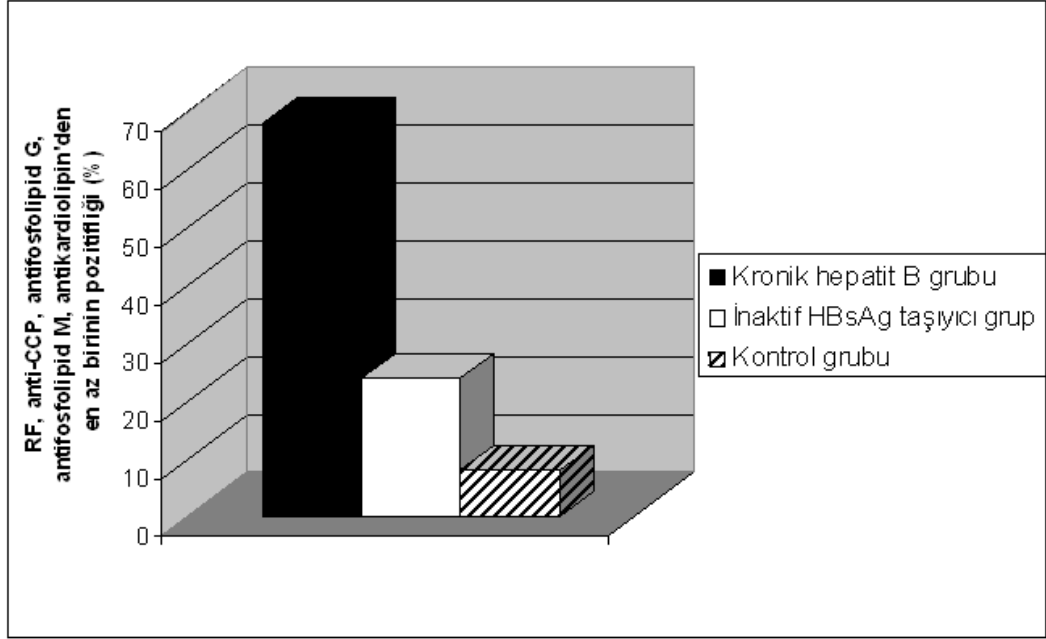
Çalışmamızda ASMA pozitifliği kronik hepatit B grubu örneklerde %16, inaktif HBsAg taşıyıcısı serum örneklerinde %20 olarak belirlenirken, kontrol grubu örneklerde ASMA pozitifliği tespit edilmemiştir (Şekil 8). ASMA pozitifliği açısından kronik hepatit B grubu ile inaktif HBsAg taşıyıcı grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0.666). Kontrol grubu örneklerde ASMA pozitifliği tespit edilmemesi nedeniyle, kontrol grubu ile kronik hepatit B ve inaktif HBsAg taşıyıcı grup arasında ASMA pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmiştir (p=0.034, p=0.018, sırasıyla).

4.10. AMA ve LKM Pozitifliği

Çalışmamızda, kronik hepatit B grubunda %10 AMA, %2 LKM pozitifliği belirlenirken, inaktif HBsAg taşıyıcı grup ve kontrol grubunda AMA ve LKM pozitifliği tespit edilmemiştir (Şekil 8). Ancak, kronik hepatit B grubunda AMA ve LKM pozitifliği veren örnek sayısının az olması nedeniyle, AMA ve LKM pozitifliği açısından, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol grubu ile kronik hepatit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p>0.05$).

4.11. RF, Anti-CCP, Antifosfolipid G, Antifosfolipid M, Antikardiolipin'den En Az Birinin Pozitif Bulunma Oranı

Çalışmamızda; kronik hepatit B hasta örneklerinde incelenen RF, anti-CCP, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin'den en az birinin pozitif bulunma oranı %68 olarak belirlenmiştir. Aynı oran inaktif HBsAg taşıyıcı grubunda %24, kontrol grubunda %8 olarak tespit edilmiştir (Şekil 11). Kronik hepatit B grubu örneklerde anti-CCP, RF, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin'den en az birinin pozitif olarak bulunma oranı, diğer iki gruptan yüksek olarak belirlenmiştir. Kronik hepatit B'li hasta örneklerinde RF, anti-CCP, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin'den en az birinin pozitifliği, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde farklı bulunmuştur ($p<0.001$). Ancak, inaktif taşıyıcı ve kontrol grupları arasında RF, anti-CCP, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin'den en az birinin pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

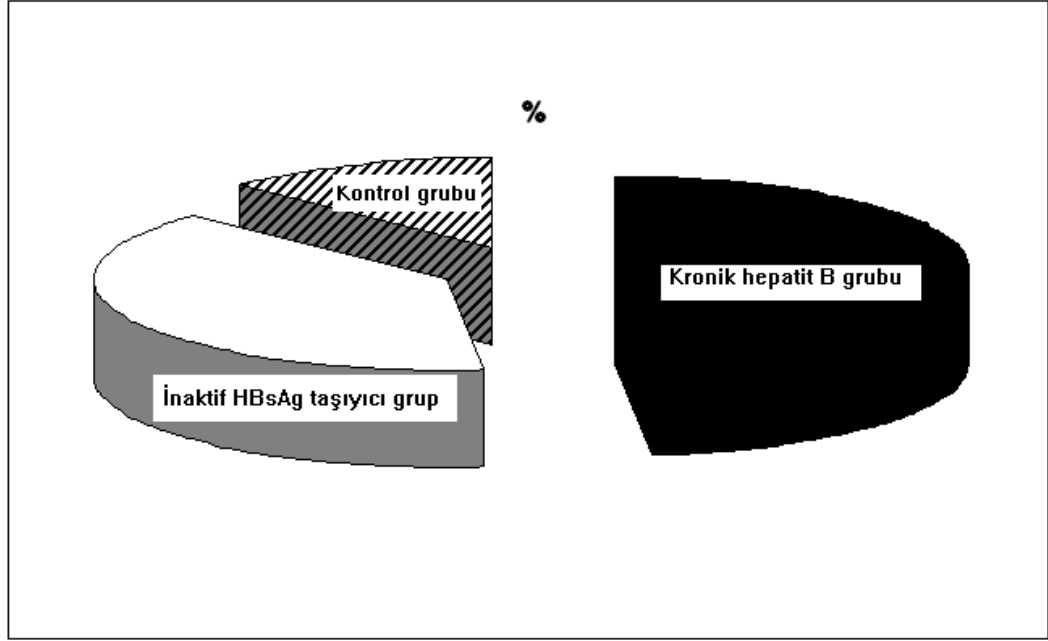


Şekil 11. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında RF, anti-CCP, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin'den en az birinin pozitif bulunma oranı (%)

4.12. RF Pozitifliği

Çalışmamızda, gruplar arasında Romatoid faktör pozitifliği de araştırılmıştır. Buna göre kronik hepatit B grubunda %30, inaktif HBsAg taşıyıcı grupta %24 ve kontrol grubunda %8 oranında RF pozitifliği tespit edilmiştir (Şekil 12). Anti-CCP pozitif olarak belirlenen kronik hepatit örneğinde RF de pozitif olarak saptanmıştır. RF pozitifliği açısından kronik hepatit B grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir ($p=0.032$). Kronik hepatit B grubu ile inaktif HBsAg taşıyıcı grup arasında ve inaktif HBsAg taşıyıcı grup ile kontrol grubu arasında RF pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p=0.585$, $p=0.123$, sırasıyla). RF pozitif olarak

bulunan kronik hepatit B grubu örneklerde RF pozitifliği ile HBV DNA viral yük arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 12. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında Romatoid faktör (RF) pozitiflik oranlarının dağılımı (%)

4.13. Anti-CCP Pozitifliği

Çalışmamızda incelenen otoantikordan anti-CCP sadece kronik hepatit B grubu örneklerden 2'sinde (%4) pozitif olarak belirlenmiş, diğer kronik hepatit B grubu örneklerde, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol grubu örneklerinde ise, anti-CCP pozitifliği tespit edilmemiştir.

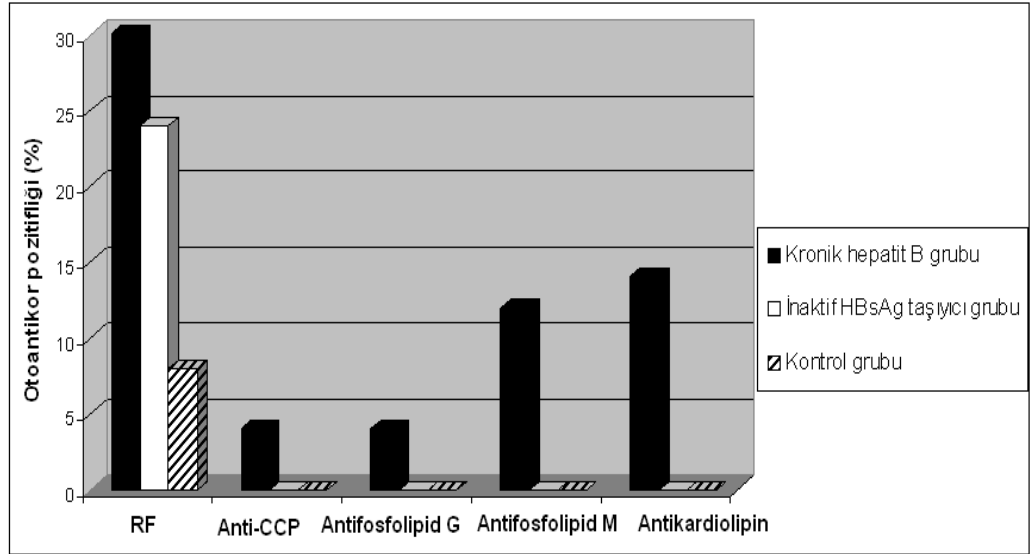
4.14. Antifosfolipid G ve Antifosfolipid M Pozitifliği

Çalışmamızda kronik hepatit B grubunda %4 oranında antifosfolipid G pozitifliği, %12 oranında antifosfolipid M pozitifliği tespit edilmiştir (Şekil 13).

İnaktif HBsAg taşıyıcı grupta ve kontrol grubunda antifosfolipid antikor pozitifliği tespit edilmemiştir. Gruplar arasında antifosfolipid G ve M pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

4.15. Antikardiolipin Pozitifliği

Antikardiolipin antikorları kronik hepatit B grubu örneklerde %14 olarak saptanmıştır (Şekil 13). İnaktif HBsAg taşıyıcı grupta ve kontrol grubunda antikardiolipin antikor pozitifliği tespit edilmemiştir. Kronik hepatit grubunda antikardiolipin antikor pozitifliği diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı oranlarda yüksek bulunmuştur ($p=0.049$).



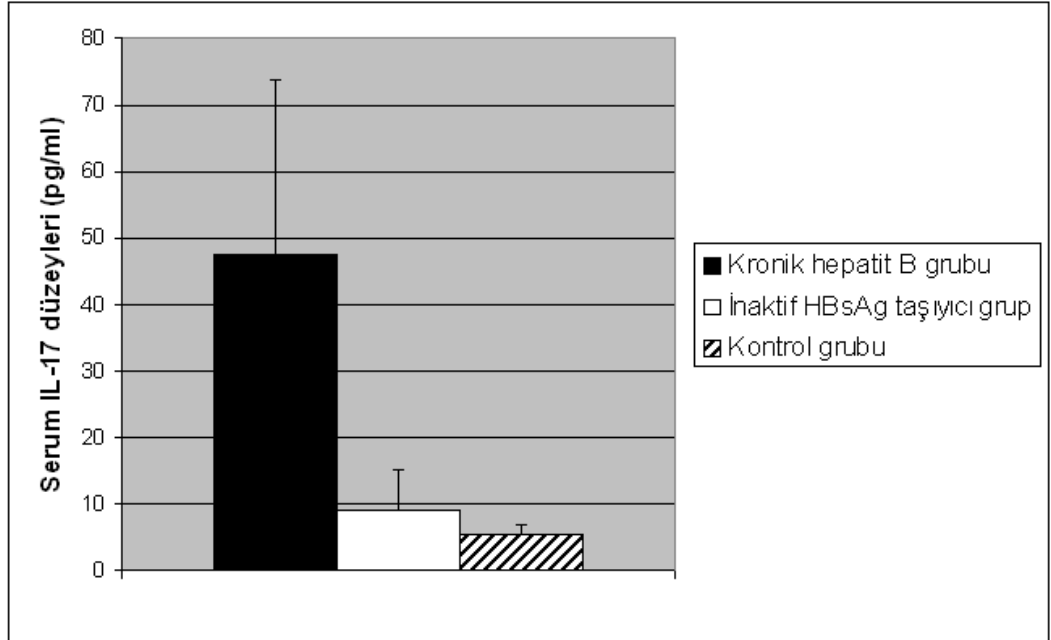
Şekil 13. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında anti-CCP, RF, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin pozitifliği (%)

4.16. Sitokin Üretimi

Çalışmamızda kronik hepatit B grubu, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında serum IL-17, IL-22 ve IL-23 sitokin düzeyleri de araştırılmıştır.

4.16.1. IL-17 üretimi

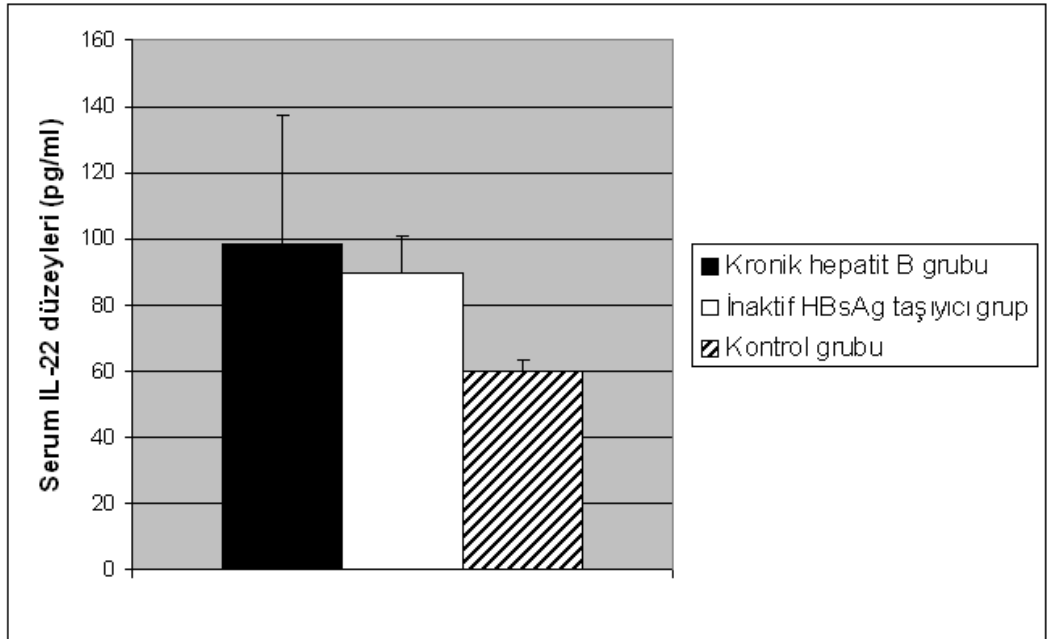
Kronik hepatit B grubu örneklerde, inaktif HBsAg taşıyıcı grup ve kontrol grubu örneklerine göre IL-17 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde artış meydana gelmiştir ($p=0.002$, $p=0.001$, sırasıyla). İnaktif HBsAg taşıyıcı grup ve kontrol grup arasında IL-17 düzeyleri benzerlik göstermiş ve bu iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenememiştir ($p>0.05$).



Şekil 14. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol grubunda serum IL-17 düzeyleri (ort±SD)

4.16.2. IL-22 Üretimi

Serum IL-22 düzeyleri HBsAg pozitif örneklerde kontrol grubu örneklerle göre yüksek olarak belirlenmiştir. Ancak sadece kronik hepatit B grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde tespit edilmiştir ($p=0.039$). İnaktif HBsAg taşıyıcılarında serum IL-22 düzeyleri kontrol grubu örneklerinden daha yüksek olarak bulunsa da, fark anlamlı olarak saptanmamıştır ($p>0.05$).

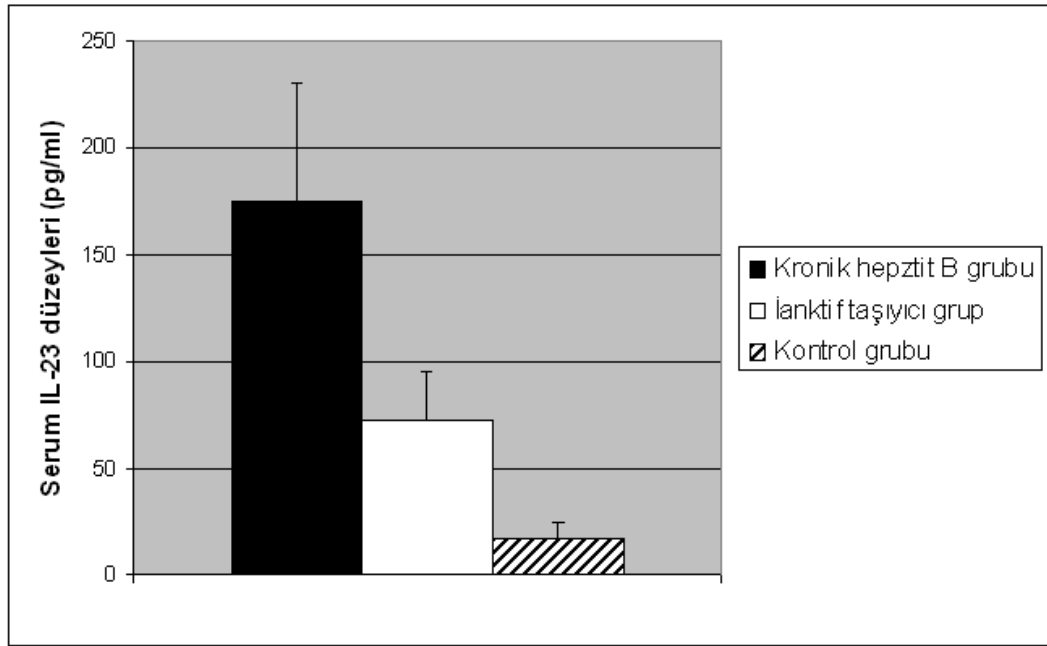


Şekil 15. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol grubunda serum IL-22 düzeyleri (ort±SD)

4.16.3. IL-23 Üretimi

HBsAg pozitif örneklerde, serum IL-23 düzeyleri kontrol grubu örneklerle göre daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Özellikle kronik hepatit B grubu örneklerinde IL-23 düzeyleri kontrol grubu örneklerine göre istatistiksel olarak

anlamalı düzeylerde artış göstermiştir ($p<0.001$). Serum IL-23 düzeyleri, inaktif HBsAg taşıyıcılarında kontrol grubu örneklerinden daha yüksek olarak tespit edilse de, aradaki fark istatistiksel olarak anlamalı olarak bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 16. Kronik hepatit B, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol grubunda serum IL-23 düzeyleri

4.16.4. Kronik hepatit B hasta örneklerinde HBV DNA viral yük ile serum IL-17, IL-22 ve IL-23 sitokin düzeyleri arasındaki ilişki

Kronik hepatit B’li hastalarda HBV DNA viral yük ile serum IL-17, IL-22 ve IL-23 sitokin düzeyleri arasında anlamalı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Virus, bakteri ve parazitler gibi patojenler ile oluşan enfeksiyonlar, çeşitli organlarda güçlü enflamatuvar cevapları indüklediklerinden, duyarlı kişilerde otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabilirler. Bir enfeksiyon ajanı farklı otoimmün hastalıkları tetikleyebildiği gibi, farklı ajanlar tek bir otoimmün hastalığın patogeneğinde yer alabilir. Kronik HBV ve kronik HCV enfeksiyonlarının KC’ de konak immün cevabı sırasında bu cevap ile ilişkili olarak, inflamatuvar hücre hasar meydana gelir. Bu viruslar kriyoglobulinemi, tiroidit, SLE, antifosfolipit sendromu, romatizmal artrit, sjögren, glomerülonefrit, liken planus, poliarterit nodoza ve diyabet gibi otoimmün hastalıkların oluştuğu çeşitli immunopatolojik olayları provake edebilir (117).

Hastalıklara karşı immün sistemin tepkisini ve immün cevabın şiddetini antikor oluşumu belirlemektedir. Bu nedenlerden dolayı enfeksiyonlar sırasında özellikle hepatit B enfeksiyonu gibi süregen enfeksiyonlarda otoantikorların belirlenmesi hastalıkların ve tedavilerinin takip edilmesinde kullanılabilir. Bu nedenle çalışmamızda HBV enfeksiyonun otoimmün sistem üzerindeki etkisini otoantikor ve serum sitokin tayini yaparak belirlemeyi amaçladık.

Çalışmamızda, kronik hepatit B hasta örneklerinde incelenen ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikorlardan en az birinin pozitif bulunma oranı %52 bulunmuş ve bu oran inaktif HBsAg taşıyıcısı olan gruptan ve kontrol grubundan yüksek olarak tespit edilmiş ve bu iki gruptan istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde farklı bulunmuştur ($p=0.07$, $p=0.018$, sırasıyla). Ancak, inaktif taşıyıcı

ve kontrol grupları arasında ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikorlardan en az birinin pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Şekil 7).

Kansu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kronik HBV enfeksiyonu olan çocuklarda, interferon (IFN) tedavisi öncesi ve tedavi bitiminden 12 ay sonra otoantikor düzeylerine bakılmışlar ve otoantikor pozitifliği tedavi öncesi %16.3 iken tedavi bitiminde %54 bulunmuşlar, tedavinin kesiminden 12 ay sonra ise tüm otoantikorların negatifleştiğini belirlemişlerdir. Kronik hepatit B enfeksiyonunun gidişi sırasında ya da IFN tedavisi ile otoantikor gelişiminin olabileceğini, ancak bu durumun ciddi otoimmün hastalıklara yol açmadığını gösterdiğini vurgulamışlardır (99).

Çalışmamızda Kronik hepatit B’li hasta serum örneklerinde %44 ANA, %10 AMA, %16 ASMA, %2 LKM oranlarında pozitiflik tespit edilmiştir. İnaktif HBsAg taşıyıcısı serum örneklerinde %28 ANA, %20 ASMA pozitifliği saptanırken, AMA ve LKM antikor pozitifliği tespit edilmemiştir. Kontrol grubu örneklerde ise %40 ANA pozitifliği belirlenirken; ASMA, AMA ve LKM antikor pozitifliği belirlenmemiştir (Şekil 8).

ANA; otoimmün hepatit, SLE gibi pek çok otoimmün hastalıkların taranmasında en sık kullanılan belirteçtir (118). Çalışmamızda, kronik hepatit B’li hasta grubunda, inaktif HBsAg taşıyıcı hasta örneklerinde ve kontrol grubunda ANA sırasıyla %44, %28, %40 bulunmuştur (Şekil 8). Kronik hepatit B ve C’de otoantikorların sıklığını araştıran bir çok çalışmada HBV ve HCV enfeksiyonu

süresince otoimmüitenin aktifleşebildiği ve otoantikor oluşumunun indüklenbildiği görülmüştür.

Seçkin ve arkadaşlarının yaptıkları retrospektif bir çalışmada, HBV DNA ve HCV RNA'sı pozitif olan ve tedavi almamış olan kronik hepatit C ve B hastalarında (sırasıyla n:30 ve n:33) otoantikor prevalansı araştırmışlar ve hepatit C hastalarında ANA pozitifliğini % 10, Kronik hepatit B hastalarında ise % 1 oranında saptanmışlardır. Bu çalışma sonucunda yeni tanı alan kronik hepatit B ve C hastalarında; tedavi öncesi otoantikor bakılmasının ortaya çıkabilecek otoimmün olaylar ve ekstrahepatik bulgular açısından yararlı olabileceğini belirtmişlerdir (119).

Afşar ve arkadaşları bir çalışmalarında kronik HCV enfeksiyonlu ve kronik HBV enfeksiyonlu 200 hastada otoantikor pozitifliğini sırasıyla %28.5 ve %29.4 olarak belirlemişlerdir. Her iki grupta da en fazla saptanan otoantikoru çalışmamızda da olduğu gibi ANA olarak belirlemişlerdir (HBV hastalarında %66.6, HCV hastalarında %65.3) (120).

Pop ve arkadaşlarının kronik viral hepatit enfeksiyonu bulunan 97 çocukta yaptıkları çalışmada hastalık başlangıcında % 26.80 olarak tespit edilen otoantikorların oranını, hastalık takip süresi içerisinde %38.14 olarak yükseldiğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada ANA oranını %23.71 bulmuşlardır. ANA dağılımı Hepatit B 'li hastalarda % 21.52, delta pozitif hepatit hastalarda %55.56 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları çalışmamızla uyumludur ancak delta pozitifliğinde ANA düzeyinin artmış olduğu görülmektedir. Bu çalışma sonucunda, çocuklarda kronik hepatit hastalığı süresince meydana gelen

otoimmün reaksiyonların, hastalığın şiddetini ve sürecini etkileyebileceğini belirtmişlerdir (121).

Daschakraborty ve arkadaşları 175 kronik KC hastasında yaptıkları çalışmada, 69 (% 39) kronik KC hastasında otoantikor pozitifliği tespit etmişler ve bunların %35 'nin ANA pozitifliği olduğunu belirlemişlerdir. HCV enfeksiyonu olan hastalarda % 20, HBV enfeksiyonu olan hastalarda % 18 ANA pozitifliği bildirmişlerdir (122).

Bayram ve arkadaşları romatolojik şikayetlerle başvuran 84 hastada, % 54.7 oranında ANA pozitifliği bulmuşlardır. ANA pozitif hastaların %17.4'ü (8/46), ANA negatif hastaların %23.7'si (9/38) olmak üzere çalışma grubunun toplam %20.2'sinde HBsAg ve anti-HBc IgG pozitif olarak saptamışlardır. Çalışmamızla uyumlu şekilde, hepatit B virusu ile karşılaşmış ve karşılaşmamış hastaların serum örneklerinde, ANA pozitifliği açısından fark olmadığını belirlemişlerdir. Fakat toplamda normal popülasyona göre yüksek olarak tespit etmişler ve seçilen gruptaki hastaların kemoterapi ve/veya tanı amaçlı olarak sık invazif girişimlere maruz kalmaları ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir (123).

Fidan ve arkadaşları çalışmalarında anti-HCV pozitif hasta örneklerinde incelenen otoantikorlardan en az birinin pozitif bulunma oranını % 35.5, anti-HCV negatif hasta grubunda % 41.1 olarak tespit edilmişlerdir. ANA pozitifliği anti-HCV negatif serum örneklerinde % 36.7 olarak tespit edilirken, anti-HCV pozitif örneklerde bu oranı % 22.3 olarak belirlemişlerdir. HCV enfeksiyonu bulunmayan hastalara ait serum örneklerinde ANA pozitiflik oranını, anti-HCV

pozitif örneklere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır (124).

Çalışmamızda ANA pozitif olarak tespit edilen kronik hepatit B'li hasta örneklerindeki boyanma paterninde, %50 oranında granüler, %23 granüler+sitoplazmada granüler, %14 homojen, %9 nükleolar ve %1 oranında nükleer dots tespit edilmiştir. Diğer gruplar ile arasında anlamlı bir fark belirlenmemiştir (Şekil 9).

Daschakraborty ve arkadaşları ANA paternini (29/35 hasta) benekli, (5/35) nükleolar ve (1/35) homojen olduğunu saptamışlardır (122).

Chrétien ve arkadaşları 186 kronik hepatit C hastasında yaptıkları çalışmada 75 hastada (%40) otoantikor belirlemişler ve hastaların % 32'sinde ANA (benekli patern) tespit etmişlerdir (125).

Cassani ve arkadaşları 290 HCV enfeksiyonlu hastalarda % 30 unda otoantikor pozitifliği belirlemişlerdir. %9 hastada ANA pozitif belirlemişler ve %3 homojen patern, %6 non homojen patern olarak saptamışlardır. Çalışmaları sonucunda viral hepatitlerin otoimmüniteyi tetikleyebileceğini belirtmişlerdir (126).

Çalışmamızda HBV DNA ve otoantikor oluşumu açısından incelendiğinde; HBV DNA viral yük açısından ANA pozitif ve ANA negatif kronik hepatit B grubu örnekleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0.383$) (Tablo 7).

Fidan ve arkadaşları çalışmalarında incelenen otoantikorlardan en az birinin pozitif olarak saptandığı HCV RNA pozitif örneklerde viral yükün,

otoantikör tespit edilmeyen HCV RNA pozitif örneklerden daha düşük olduğunu belirlemişlerdir (124).

Lenzi ve arkadaşları 226 anti-HCV pozitif, kontrol, 87 HBs Ag pozitif hastada otoantikör sıklığını sırasıyla %25, %7 ve %6 olarak belirlemişlerdir. viral yük ile otoantikör oluşumu arasında ilişki bulamadıklarını bildirmişlerdir (127)

Chrétien ve arkadaşları 186 kronik hepatit C hastasında yaptıkları çalışmada 75 hastada, %40 oranında otoantikör belirlemişler ve otoantikör sıklığı ve viral yük arasında bir ilişki olmadığını belirlemişlerdir (125).

Yapılan çalışmalar ile uyumlu şekilde çalışmamızda da viral yük ile otoantikör oluşumu arasında ilişki olmadığının belirlenmiş olmasının otoantikör oluşumunda viral yükten daha çok, virus ile immün cevap arasındaki mekanizmaların etkili olduğunu düşündürmüştür.

Çalışmamızda ASMA pozitifliği kronik hepatit B grubu örneklerde %16, inaktif HBsAg taşıyıcısı serum örneklerinde %20 olarak belirlenirken, kontrol grubu örneklerde ASMA pozitifliği tespit edilmemiştir (Şekil 8).

Chrétien ve arkadaşları 186 kronik hepatit C hastasında yaptıkları çalışmada, 75 hastada tespit ettikleri otoantikörlerin %15' nin ASMA pozitifliği olduğunu belirlemişlerdir. Bu oran çalışmamızdaki ASMA pozitifliği ile uyumlu bulunmuştur. (125).

Seçkin ve arkadaşları çalışmalarında, kronik hepatit C ve hepatit B hasta grubunda ASMA pozitifliği belirleyememişlerdir (119).

Cassani ve arkadaşları 290 HCV enfeksiyonlu hastada % 30 otoantikör pozitifliği belirlemişlerdir. Bu otoantikörlerin %20 ASMA ve % 6 anti-LKM

pozitifliği şeklinde saptamışlardır. Bu çalışmada ASMA pozitifliği çalışmamızla uyumlu bulunmuştur (126).

Koşar ve arkadaşları 70 viral hepatitli hasta ile yaptıkları çalışmada (42 HCV ve 28 HBV) %4.3 ünde ANA ve %20 ASMA pozitifliği tespit etmişlerdir. HCV'li hastada %4.7 ANA ve %28.6 ASMA pozitifliği ve HBV'li hastalarda %3.6 ANA ve %7.1 ASMA pozitifliği belirlemişlerdir. ANA antikor pozitifliğini gruplar arasında farklı belirlememişlerdir, ancak ASMA pozitifliğini iki grup arasında istatistiksel olarak farklı bulmuşlardır (128). Çalışmamızda hem ANA hemde ASMA pozitifliği bu çalışmadaki oranlardan daha yüksek olması nedeniyle uyumlu değildir. Bunun nedeninin kullanılan yöntemin farklılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Afşar ve arkadaşları ise kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda % 7, HBV enfeksiyonlu hastalarda ise % 12.6 ASMA pozitifliği saptamışlardır (120) ve kronik HBV ve HCV enfeksiyonlu hastalarda otoantikorların sık olduğunu, kronik karaciğer enfeksiyonlarında otoantikor sıklığının araştırılması gerekliliğini vurgulamışlardır.

Ersöz ve arkadaşları Kronik hepatit C li vakalarında %9 ASMA pozitif saptarken, 42 kronik hepatit B hastasının yalnızca 1'inde ASMA pozitif saptamışlardır (129)

Fidan ve arkadaşları çalışma kapsamına alınan 121 anti-HCV pozitif serum örneğinde % 3.3 ASMA, Anti-HCV negatif 68 adet örnekte % 1.4 ASMA pozitifliği saptamışlardır. HCV RNA pozitif serum örneklerinde % 5.8 ASMA

tespit etmişlerdir. HCV RNA negatif örneklerde ise % 1.4 ASMA pozitifliği tespit edilmiştir (124).

Chen ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 460 kronik hepatit C hastalarında ANA pozitifliğini % 7.4 ve ASMA pozitifliğini % 19,3 belirlemişlerdir (129).

Daschakraborty ve arkadaşlarının kronik karaciğer hastalarının % 25 'inde ASMA pozitif olarak saptamışlardır (122).

Kronik karaciğer hastalarında ASMA yüksek titreleri ile karşılaşılabilen ve Ekstrahepatik otoimmün belirtilerle birlikte olabilmektedir. Özellikle tip-1 otoimmün hepatit ANA ile birlikte pozitif olabilmektedir. HBV enfeksiyonunda bu otoantikörlerin oluşması özellikle moleküler benzeşme mekanizması ile tetiklenebilmektedir (87). Bu nedenle bu otoantikörlerin varlığının belirlenmesi özellikle HBV enfeksiyonu bulunan hastalarının KC hasarını belirlemek ve takip etmek açısından klinikte yardımcı olabilir.

Çalışmamızda, kronik hepatit B grubunda %10 AMA, %2 LKM pozitifliği belirlenirken, inaktif HBsAg taşıyıcı grup ve kontrol grubunda AMA ve LKM pozitifliği tespit edilmemiştir (Şekil 8).

Seçkin ve arkadaşları kronik hepatit C hastalarında AMA pozitifliğini %6.7 saptamışlar ancak LKM pozitifliği bulamamışlardır (119).

Afşar ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, HBV hastalarında %3 AMA, %1 LKM saptamışlardır (120).

Ersöz ve arkadaşları kronik hepatit C hastalarında % 9 AMA pozitif iken, 42 kronik hepatit B i hastanın yalnızca l'inde AMA pozitif bulmuşlardır (129).

Fidan ve arkadaşları çalışma kapsamına alınan 121 anti-HCV pozitif serum örneğinde % 8.2 AMA, % 1.6 LKM pozitifliği tespit etmişlerdir. Anti-HCV negatif 68 adet örnekte % 2.9 AMA pozitifliği belirlemişler ancak LKM pozitifliği tespit etmemişlerdir. AMA, ve LKM pozitiflik oranları anti-HCV pozitif örneklerde daha yüksek oranda bulunmasına rağmen, anti-HCV negatif örneklerle aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir (124)

Ghonaim ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kronik KC hastaları değerlendirilmiş ve AMA pozitifliği tespit edememişlerdir (131).

Clifford ve arkadaşları tarafından 117 kronik hepatit C hastası ile yapılan çalışmada ANA sıklığı %14, AMA sıklığı %2 saptamışlardır (132).

AMA primer bilier siroz hastalığı için yüksek spesifiteye sahip bir testtir. Otoimmün hepatit tip 1, (ANA) ve /veya (SMA) ile karakterizedir.. Otoimmün hepatit tip 2, (LKM-1) oluşması ile karakterizedir. Dolayısıyla yapılan çalışmalar bize göstermektedirler ki; HBV enfeksiyonu ile birlikte oluşabilecek otoimmün hepatit ve primer bilier sirozun takibi ve tespiti açısından bu otoantikörlerin belirlenmesi ve takip edilmesi önemlidir.

Çalışmamızda kronik hepatit B hasta örneklerinde incelenen RF, anti- CCP, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipinden en az birinin pozitif bulunma oranı %68 olarak belirlenmiştir. Aynı oran inaktif HBsAg taşıyıcı grubunda %24, kontrol grubunda %8 olarak tespit edilmiştir (Şekil 11). Kronik hepatit B grubunda %30, inaktif HBsAg taşıyıcı grupta %24 ve kontrol grubunda %8 oranında RF pozitifliği tespit edilmiştir (Şekil 12). Çalışmamızda incelenen otoantikordan

anti-CCP sadece kronik hepatit B grubu örneklerden 2'sinde (%4) pozitif olarak belirlenmiştir.

Seçkin ve arkadaşları 63 hepatit B ve C enfeksiyonlu hastalarla yaptıkları bir çalışmada, kronik hepatit B grubunda %24.2, hastada, Hepatit C grubunda % 30 hastada RF pozitif olarak tespit etmişlerdir. Bu sonuç çalışmamızla uyumlu bulunmuştur (119).

Lim ve arkadaşları HBV enfeksiyonlu 240 hastayı incelemişler ve 11 (%0.04) anti-CCP, 28'inde (%11) RF pozitif olarak saptamışlardır ve Romatoid artrit için anti-CCP antikorunun spesifitesi %99.1 ve RF'nin ise %91.7 olarak belirlemişlerdir. Anti-CCP antikorları ve romatoid faktör titreleri ile karaciğer hastalığı alt grupları arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Anti-CCP antikorlarının ölçümünün kronik HBV enfeksiyonuna eşlik eden artropati ile gelen hastalarda Romatoid artrit ile ayırıcı tanısında RF ' den daha iyi olduğunu belirtmişlerdir (133).

Lee ve arkadaşları Hepatit B hastalarında, 176 hastanın sadece 1'inde Anti-CCP pozitif olarak saptamışlar ve Anti-CCP düzeyleri ile RF serum düzeylerinin korelasyonu lineer regresyon analizi ile incelemişlerdir. İstatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamışlardır (134).

Lienesch ve arkadaşları 50 HCV enfeksiyonu bulunan hastada yaptıkları çalışmada hasta serumlarında %54 oranında RF pozitifliği (IgG-RF %52, IgM-RF%26 ve IgA-RF %14 ve %26 oranında birden fazla izotip pozitifliği) tespit etmişlerdir. Anti-CCP sadece bir hastada pozitif bulmuşlardır. Anti-CCP ölçümünün HCV enfeksiyonlu hastalarında artrit ayırıcı tanısında kullanılabileceği sonucuna varmışlardır (135).

Romatoid faktör (RF), romatoid artrit tanısı için kullanılan ancak diğer otoimmün ve enflamatuvar hastalıklarda da pozitif olabilen, spesifik olmayan serolojik bir göstergedir (136). Kronik hepatit B virüsü (HBV) veya kronik Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonları sırasında da romatoid artrit benzeri eklem ağrıları olabilir. Ayrıca, HBV ve RA arasında patojenik bir bağlantı olduğunu düşündüren çeşitli deliller vardır. Bu nedenle, Hepatit ile ilişkili poliartriti ve romatoid artriti ayırmak gerekir (134). Bu amaçla anti-CCP pozitifliğinin romatoid faktör pozitifliğinden daha değerli olduğu bir çok çalışma sonrası belirtilmiştir.

Çalışmamızda kronik hepatit B grubunda %4 oranında antifosfolipid G pozitifliği, %12 oranında antifosfolipid M pozitifliği tespit edilmiştir (Şekil 13). Antikardiyolipin antikoru kronik hepatit B grubu örneklerde %14 olarak saptanmıştır (Şekil 13).

Meşe ve arkadaşları HBV ve HDV enfeksiyonlu hastalarda yaptıkları çalışmalarda, 60 kronik HDV enfeksiyonlu hastanın 4'ünde sadece Antikardiyolipin IgM, 4'ünde ise sadece Antikardiyolipin IgG olmak üzere toplam 8 (%13.3) hastada pozitiflik saptamışlardır. Bu sonuç çalışmamızla uyumlu bulunmuştur. Meşe ve arkadaşları bu çalışma sonucunda, HDV enfeksiyonu olan hastalarda Antkardiyolipin antikoru pozitiflik oranının, olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve yükselmiş Antkardiyolipin antikoru düzeylerinin HDV enfeksiyonlu hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri üzerinde önemli etkisi olmadığını göstermekle birlikte, konuyla ilgili daha kapsamlı çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu kanaatine varmışlardır (137).

Zachou ve arkadaşları ise hepatit B hastalarında % 14'ünde, HCV hastalarının % 21.3'ünde antikardiyolipin IgG pozitif bulmuşlardır. Yalnızca %2 hepatit B hastasında β 2 glikoprotein I antikoruna pozitif olarak saptamışlardır (88).

Elefsiniotisa ve arkadaşları kontrol grubundaki 32 hastanın 1'inde (%3 ünde), Kronik HBV ile enfekte 28 hastanın 6'sında (hastaların% 21.5), 14 kronik HDV ile enfekte hastanın 6 'sında (% 42.8) ve 65 HBV ile ilişkili HCC'lı hastanın 11'inde (% 16.9) yüksek antikardiyolipin antikor titreleri (IgM ve/veya IgG) tespit etmişlerdir. Kronik HBV ve kronik HDV enfeksiyonlarında antikardiyolipin antikorlarının üretimi tetiklenebilir ve HBV-ilişkili HCC'de büyük bir oranda trombotik mekanizmaların tetiklenmesi ile portal ven trombozuna sebep olabileceği sonucuna varmışlardır (138).

Huh ve arkadaşları yaptıkları çalışmada tedavisi ne olursa olsun HBV enfeksiyonu olan 143 hastada, antikardiyolipin antikorları (aCL Ab) varlığını, anti- β 2-glikoprotein I antikorları (β 2GPI Ab) ve lupus antikoagülanını (LA) değerlendirmişlerdir. HBV ile enfekte olan hastaların APL toplam prevalansı (aCL Ab, β 2GPI Ab, ya da LA) % 12.6 belirlenmiş (18 of 143), bu hastaların 15'i kronik hepatit B ve 3 tanesi inaktif taşıyıcı olarak belirlenmiş (139).Çalışmamızla uyumlu şekilde kronik Hepatit B hastalarında daha yüksek pozitiflik tespit etmişlerdir

Antifosfolipit antikor Antifosfolipid sendromu (APS), sistemik lupus eritematozus (SLE), ve çeşitli romatizmal hastalıklar da ortaya çıkmaktadır.Anti fosfolipit antikorunun yüksek düzey pozitifliği tromboz için risk faktörü olarak kabul edilmektedir (140).

HCC gelişimi için en büyük risk faktörleri arasında hepatit B ve Hepatit C enfeksiyonu bulunmaktadır. HCC öncesi siroz gelişimi sıktır. Portal ven trombozu (PVT) karaciğer sirozunun önemli bir komplikasyonudur. Portal basıncı artışının daha fazla indüklenmesi, karaciğer nakli için ek bir tehlike oluşturmaktadır (138).Tüm bunlar ışığında;Hepatit B enfeksiyonu hastalarında tromboz oluşum riskini arttırabilecek olan antifosfolipit ve antikardiyolipin antikorlarının varlığını belirlemenin ve takibinin yapılmasının önemli olduğu söylenebilir.

Daha önce yapılmış enfeksiyon, otoimmünite ve immün sistem ilişkisini araştıran bir çok çalışmada çeşitli sitokin düzeyleri araştırılmış ve hepatit B ile sitokin düzeyleri arasında anlamlı ilişkiler bulunmuştur.

Falasca ve arkadaşları HCV ve HBV hepatit Th1/Th2 sitokin profilini değerlendirmek amacıyla bir çalışma yapmışlar ve HBV ile enfekte olmuş hastaların plazma IFN- γ düzeylerini HCV ile enfekte hastalarda, kontrol grubundan daha yüksek göstermişlerdir.Plazma TNF- α ve IL-2 düzeylerini HBV enfeksiyonlu hastalarda, HCV enfeksiyonlu hastalardan veya kontrol grubunda daha yüksek bulmuşlardır.Plazma IL -6 ve IL-18 düzeyleri, her iki hasta grubunda da kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır (141).

Akpolat ve arkadaşları kronik hepatit B tanısı almış hastalardaki çalışmalarında TNF- α , IL-4, TGF- β 1 ve IFN- γ düzeylerini hastalarda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Fibrozis ve TGF- β 1 arasında önemli ölçüde korelasyon bulmuşlar, ancak, diğer sitokinler ve fibrozis arasında anlamlı bir korelasyon bulamamışlardır (142).

Çalışmamızda kronik hepatit B grubu, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarında serum IL-17, IL-22 ve IL-23 sitokin düzeyleri de araştırılmıştır.

Çalışmamızda kronik hepatit B grubu örneklerde, inaktif HBsAg taşıyıcı grup ve kontrol grubu örneklerine göre IL-17 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde artış meydana gelmiştir ($p=0.002$, $p=0.001$, sırasıyla) (şekil 14). Serum IL-22 düzeyleri HBsAg pozitif örneklerde kontrol grubu örneklerine göre yüksek olarak belirlenmiş, ancak sadece kronik hepatit B grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde tespit edilmiştir ($p=0.039$) (şekil 15). IL-23 düzeyleri kronik hepatit B grubu örneklerinde kontrol grubu örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde artış göstermiştir ($p<0.001$) (Şekil 16).

Wen-Jun Du ve arkadaşları IL-17 düzeylerini, Kronik hepatit B, karaciğer sirozu, primer hepatosellüler karsinom, kronik karaciğer yetmezliği olan hastalarda araştırmışlar ve kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. IL-17 düzeyi, dört grup arasında en yüksek karaciğer sirozu olan grupta tespit etmişlerdir. IL-17 salınımının özellikle portal alanda belirlemişler ve inflamasyon derecesi ve fibrozis evresi ile pozitif korelasyon gösterdiğini belirlemişlerdir (143).

Mohammad Kazemi Arababadi ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, kontrol gruplarına göre occult (gizli) HBV enfeksiyonu olan hastaların IL-17A düzeylerini anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır (144). Sonuçlar çalışmamızla uyumlu bulunmuştur.

Xiang ve arkadaşları intra hepatik IL-22 salınımı, bununla ilgili sitokinler ve kronik hepatit B hastalarda karaciğer iltihabı/fibrozis şiddeti arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Viral olmayan hepatit ($n = 23$), kronik hepatit B ($n = 65$) akut hepatit

B (n=4), kronik hepatit C (n=14) hastalarında IL-22, IL-17 düzeylerine bakmışlardır. Hepatit B hastalarında diğer hasta gruplarına göre daha yüksek bulmuşlardır (145).

Çalışmamızda kronik hepatit B'li hastalarda HBV DNA viral yük ile serum IL-17, IL-22 ve IL-23 sitokin düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kronik hepatit B hastalarında ve HBV ile ilişkili akut karaciğer yetmezliği olan hastalarda, hem serum IL-23 ve hem de IL-17 seviyelerinde anlamlı artış gözlemişlerdir. HBV DNA kopyası ve IL-23/IL-17 seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki gözlemişlerdir. IL-23 ve IL-17 seviyelerinin hepatit B enfeksiyonlu hastalarda yüksek bulunmuş olması çalışmamızla uyumlu olmakla birlikte, çalışmamızda farklı olarak HBV DNA kopya sayısı ile uyumlu bulunmamıştır.

Hepatit B virüsü (HBV) ile enfekte olan hastalarda yapılan çalışmalarda Th17 hücre frekansının önemli ölçüde arttığı, bu proinflamatuvar sitokinlerin HBV hastalık sürecine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda da Th17 hücrelerinin HBV enfeksiyonunun immün cevap kaynaklı patolojik sürecinde rol oynadığı gösterilmiştir. IL-23, Th17 hücre yanıtını güçlendirir ve karaciğerde inflamasyonu artırır. IL-22'nin KC biyopsi örneklerinde yüksek oranda bulunduğu belirtilmiştir (112,113) ve büyük olasılıkla karaciğer hasarında koruyucu rol aldığı düşünülmektedir (114)

Yapılan çalışmaların büyük bir bölümü HCV enfeksiyonu ile otoantikor düzeyleri arasındaki ilişkiye yönelik çalışmalardır. Çalışmamızın kronik HBV enfeksiyonu, inaktif taşıyıcı ve sağlıklı kontrol grupları arasında otoantikor

pozitifliğini karşılaştıran az sayıda çalışmadan biri olması açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, kronik HBV enfeksiyonu sırasında inaktif taşıyıcı ve sağlıklı kontrol gruplarına göre otoantikor yanıtında ve serum IL-17, IL-22 ve IL-23 düzeylerinde genel bir artış olduğu gözlenmektedir. Bu durum kronik HBV enfeksiyonu sırasında bir otoimmün yanıt oluşabileceğini ve immün sistem mediatörlerinde çeşitli değişiklikler meydana geldiğini düşündürmüştür.

Çalışmamızın sonucuna göre, HBV enfeksiyonunun tek başına otoantikor yanıtını uyarmaktan çok, sitokin salınımı gibi immün sistemin çeşitli mekanizmaları üzerinde değişiklikler oluşturarak mevcut otoimmün olayları tetiklediği veya arttırdığı düşünülmektedir. HBV enfeksiyonu sırasında gözlenen otoantikorlar, viral peptidler ile konağın kendi yapıları arasındaki moleküler benzerliğe bağlı olarak oluşuyor olabilir. Dolayısıyla immün sistem, karaciğer hasarı ve oluşan otoantikordan esas olarak sorumlu faktör olarak düşünülmektedir (125).HBV ile infekte hastalarda otoantikor ve sitokin yanıtının incelenmesinin, HBV enfeksiyonu sırasında immün sistem mekanizmalarında oluşan değişikliklerin belirlenmesi açısından önemli olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca, HBV enfeksiyonu sırasında otoantikor varlığının tespiti, HBV ile birlikte bulunan otoimmün hastalıkların, HBV enfeksiyonuna bağlı olarak gelişen otoantikor yanıtından ayrımını sağlamada önemli olacaktır. Bu durum özellikle kronik HBV enfeksiyonları ve HBV enfeksiyonları sırasında gözlenen otoimmün hastalıkların tedavisinde yeni yöntemlerin bulunmasına yol gösterecektir. Bununla birlikte, HBV enfeksiyonu ve konak immün yanıtı ve HBV'nin oluşturduğu otoimmünite mekanizmalarının daha iyi anlaşılması için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda 3 grup oluşturulmuştur:

1. Grup; 18 yaş üstü erişkin, HBsAg'si 6 aydan daha uzun süredir pozitif ve ayrıca HBV DNA'sı pozitif olan 50 adet kronik Hepatit B hasta grubu

2. Grup; 18 yaş üstü erişkin, HBsAg'si 6 aydan daha uzun süredir pozitif ve HBV DNA'sı negatif olan 25 adet inaktif HBsAg taşıyıcı hasta grubu

3. Grup; 18 yaş üstü erişkin, HBsAg'si ve HBV DNA'sı negatif olan 25 adet sağlıklı kontrol grubu

1. Kronik hepatit B hasta örneklerinde incelenen ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikorlardan en az birinin pozitif bulunma oranı %52 olarak belirlenmiştir. Aynı oran inaktif HBsAg taşıyıcı grubunda %48, kontrol grubunda %44 olarak tespit edilmiştir.
2. Kronik hepatit B'li hasta serum örneklerinde %44 ANA, %10 AMA, %16 ASMA, %2 LKM oranlarında pozitiflik tespit edilmiştir. İnaktif HBsAg taşıyıcısı serum örneklerinde %28 ANA, %20 ASMA pozitifliği saptanırken, AMA ve LKM antikor pozitifliği tespit edilmemiştir. Kontrol grubu örneklerde ise %40 ANA pozitifliği belirlenirken; ASMA, AMA ve LKM antikor pozitifliği belirlenmemiştir.
3. HBV DNA viral yük açısından ANA pozitif ve ANA negatif kronik hepatit B grubu örnekleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.
4. Gruplar arasında ANA patern dağılımı açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir

5. İmmünoelot yöntemi ile gruplarda belirlenen otoantikor türleri arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir
6. Üç grupta RF pozitifliği sırasıyla %30, %24 ve %8 oranında RF pozitifliği tespit edilmiştir. RF pozitifliği açısından kronik hepatit B grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir.
7. Anti-CCP sadece kronik hepatit B grubu örneklerden 2'sinde (%4) pozitif olarak belirlenmiştir.
8. Çalışmamızda kronik hepatit B grubunda %4 oranında antifosfolipid G pozitifliği, %12 oranında antifosfolipid M pozitifliği tespit edilmiştir 9. Antikardiyolipin antikorları kronik hepatit B grubu örneklerde %14 olarak saptanmıştır.
10. Kronik hepatit B grubu örneklerde, inaktif HBsAg taşıyıcı grup ve kontrol grubu örneklere göre serum IL-17, IL-22, IL-23 düzeyleri düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde artış meydana gelmiştir.
11. Kronik hepatit B'li hastalarda HBV DNA viral yük ile serum IL-17, IL-22 ve IL-23 sitokin düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Franco E, Bagnato B, Marino M, Meleleo C, Serino L, Zaratti L. Hepatitis B: Epidemiology and prevention in developing countries. *World J Hepatol* 2012; 4 (3): 74-80.
2. Özbilge H, Zeyrek F.Y, Mızraklı A.U, Tümkeya B. Hepatit B virüs DNA pozitifliği ve serolojik testler. *Erciyes Tıp Derg* 2005; 27 (1):17-21.
3. Dünder Hİ. Viral Hepatit. In: Dünder Hİ, İnal AS (Edt). 1. Baskı. İstanbul: 2005.
4. Kıyan M. Hepatit B Virüsü. In: Tekeli E, Balık İ (Edt). Viral hepatit 2003. 1. Baskı. İstanbul: Karakter Color A.Ş, 2003.
5. Tabak F. Virüs Hepatitlerinin Epidemiyolojisi. In: Yücel A, Tabak F (Edt). Günümüzde virüs hepatitleri'nde. 2. Baskı. İstanbul: İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği, 1998.
6. Pasha A. Yeni hepatit virüsleri. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Edt). Viral Hepatit 2005'te. 1. Baskı. İstanbul: Orhan Matbaası, 2005.
7. Robinson WS: Hepadnaviridae. In: Mandeli GL, Douglas RG, Bennett JE (Eds). Hepatitis B virus and hepatitis delta virus. Principles and Practice of Infec Diseas. 3 rd ed. New York:1990.
8. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000;64:51-68.
9. Yenen OS. Viral hepatitler In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Edt). Enfeksiyon hastalıkları. İstanbul: Nobel Kitapevi, 1996.

10. Akan E. Viral hepatitler. Genel ve Özel Viroloji. 3. Baskı, İzmir: Saray Kitapevleri, 1994.
11. <http://www.klinikum.uniheidelberg.de/1-Morphology-GenomeOrganization.104932.0.html>
12. Akarca S.U. Kronik Hepatit B Tedavisi. Gastroenterohepatologi special 16 Topics Turkiye Klinik. J 2010;3 (1):16-23.
13. Block TM, Guo H, Guo JT. Molecular virology of hepatitis B virus for clinicians. Clin Liver Dis 2007;11:685-706.
14. Lucifora J, Arzberger S, Durantel D. Hepatitis B virus X protein is essential to initiate and maintain virus replication after infection. J Hepatol 2011;55:996-1003.
15. Glebe D, Urban S. Viral and cellular determinants involved in hepadnaviral entry. World J Gastroenterol 2007;13:22-38.
16. Jia-Yee Lee, PhD, Stephen Locarnini, MD, PhD. Hepatitis B virus: pathogenesis, viral intermediates, and viral replication. Australia Clinics in Liver Diseases 2004; 8:301-320.
17. Ergül A. Hepatit virüslerinin moleküler biyolojisi. Ankara Güncel Gastroenterol 2003; 7: 93-95
18. Cooper A, Paran N, Shaul Y. The earliest steps in hepatitis B virus infection. Biochem Biophy Acta 2003;1614:89-96.
19. Hartmann-Stuhler C, Prange R. Hepatitis B virus large envelope protein interacts with gamma 2-adaptin, a clathrin adaptor-related protein. J Virol 2001;75:5343-5351.

20. Kann M, Bischof A, Gerlich WH. In vitro model for the nuclear transport of the hepadnavirus genome. *J Virol* 1997;71:1310–1316.
21. Ganem D, Schneider R. Hepadnaviridae. İn: Ganem D, Schneider R, Knipe DM, Howley P (edt). *The viruses and their replication*. Philadelphia: Lippincott-Raven;2001.
22. Locarnini S. Molecular virology of Hepatitis B Virus. *Semin Liver Dis* 2004;24 (1):3-10.
23. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection. Natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004;350:1118–1129.
24. Zoulim F, Locarnini S. Hepatitis B virus resistance to nucleos (t)ide analogues *gastroenterology* 2009;137:1593–1608.
25. Sünbül M, Leblebicioğlu H. Distribution of hepatitis B virus genotypes in patients with chronic hepatitis B in Turkey. *World J Gastroenterol*. 2005; 7;11 (13):1976-1980.
26. Yılmaz H, Leblebicioğlu H. Hepatit B Epidemiyolojisi ve Korunma Türkiye Klinikleri *J Gastroenterol* 2010;3 (1).
27. Değertekin B. Hepatit B Patogenezi, Doğal Seyri ve Kliniği, Türkiye Klinikleri *J Gastroenterohepatol-Special Topics* 2010;3 (1):45-52.
28. WHO. Department of Communicable Diseases Surveillance and Response. Hepatitis B. Available from:URL:
http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisB_whocdscsrlyo2002_2.pdf.

29. Zanetti AR, Van Damme P, Shouval D. The global impact of vaccination against hepatitis B: a historical overview. *Vaccine* 2008; 26: 6266-6273.
30. Brian J McMahon MD, Liver Disease and Hepatitis Program Alaska Native Medical Center and Arctic Investigations Program, CDC Management of Chronic Hepatitis B: 2012.
31. Özdemir D, Kurt H. Hepatit B Virusu Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. İn: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Edt). Viral Hepatit 2007, Viral Hepatitle Savaşım Derneği, Ankara:2007.
32. Mauss, Berg, Rockstroh, Sarrazin, Wedemeyer. *Hepatology* 2012.Third Edition-2012.
33. Wasley A, Grytdal S, Gallagher K. Surveillance for acute viral hepatitis United States, 2006. *MMWR Surveill Summ* 2008;57:1-24.
34. Burk RD, Hwang LY, Ho GY, Shafritz DA, Beasley RP. Outcome of perinatal hepatitis B virus exposure is dependent on maternal virus load. *J Infect Dis* 1994;170:1418-1423.
35. Li XM, Shi MF, Yang YB. Effect of hepatitis B immunoglobulin on interruption of HBV intrauterine infection. *World J Gastroenterol* 2004;10:3215-3217.
36. CDC: Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Assessing completeness of perinatal hepatitis B virus infection reporting through comparison of immunization program and surveillance data-United States. *MMWR* 2011;60:410-413.

37. Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. N Engl J Med 2008;359:1486-1500.
38. Cornberg M, Protzer U, Petersen J, et al. Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis B virus (HBV) infection: the German guidelines for the management of HBV infection. Z Gastroenterol 2011;49:871-930.
39. Williams IT, Perz JF, Bell BP. Viral hepatitis transmission in ambulatory health care settings. Clin Infect Dis 2004;38:1592-1598.
40. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection Journal of Hepatology 2012; 57: 167–185
41. Kantarçeken B. Kronik Hepatit B doğal seyiri.
http://www.vhsd.org/files/file/2009_sunumlar/1.pdf (ulaşım tarihi:18.06.2013)
42. Robinson WS. Hepatitis B Virus and Hepatitis D virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (Edt). Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th Ed, New York: 2000.
43. Özsan M. HBV Enfeksiyonunda Mikrobiyolojik Tanı. In: Tabak F, Tekeli E, Balık İ. (Edt). Viral hepatit 2007. 1.baskı, İstanbul: Deniz Ofset, 2007.
44. Sayiner A.A. Hepatit B Tanı Araçları:Seroloji ve Moleküler Yöntemler. Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol-Special Topics 2010;3 (1):39-44
45. Berkem Rtransfüzyonla bulaşan enfeksiyonlar,Türkiye ve dünyada zorunlu testlerde algoritmalar.
http://www.kmtd.org.tr/pdf/4_1_12_turkiye_ve_dunyada_zorunlu_testlerde_algritmalar.pdf (Ulaşım tarihi 10.07.2013)

46. Nguyen T, Desmond P, Locarnini S. The role of quantitative hepatitis B serology in the natural history and management of chronic hepatitis B. *Hepatol Int* 2009;3:5-15.
47. Milich D, Liang TJ. Exploring the biological basis of hepatitis Be antigen in hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2003;38:1075-86.
48. Thursz M, Yee L, Khakoo S. Understanding the host genetics of chronic hepatitis B and C. *Semin Liver Dis* 2011;31:115-127.
49. III. Viral Hepatit Tanı ve Tedavi Rehber Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 2011; http://www.vhsd.org/files/file/rehberler/3_Viral_Hepatit_Tani_ve_Tedavi_Rehberi_2.pdf (ulaşım tarihi: 28.12.2012)
50. Van Bommel F, Berg T. HBV Treatment–Standart of Care. In: Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H. (Edt) *Hepatology a clinical textbook* 2009. Duesseldorf: Flying Publisher; 2009.
51. Öztoprak N. Kronik Hepatit B Tedavi Algoritması. In: Tabak F, Balık İ. (Edt) *Viral Hepatit* 2009. 1. Baskı İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2009.
52. Zoulim F, Perrillo R. Hepatitis B. Reflections on the current approach to antiviral therapy. *J Hepatol* 2008; 48:2-19.
53. Bogdanos DP, Mieli-Vergani G, Vergani D. Virus, liver and autoimmunity. *Dig Liver Dis* 2000; 32:440–446.
54. Ori Barzilaia, Maya Rama, and Yehuda Shoenfelda. Viral infection can induce the production of autoantibodies. *Current Opinion in Rheumatology* 2007, 19:636–643.

55. Davidson A, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001;345 (5):340-350.
56. Mackay IR. Travels and travails of autoimmunity: a historical journey from discovery to rediscovery. *Autoimmun Rev* 2010;9 (5):251-258.
57. Chinen J, Shearer WT. Advances in basic and clinical immunology in 2010. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127 (2):336-341.
58. Lucia G. Delogu, Silvia Deidda, Giuseppe Delitala, Roberto Manetti. Infectious diseases and autoimmunity *J Infect Dev Ctries* 2011; 5 (10):679-687.
59. Koca S.S, Özgen M, Işık A. Otoimmun Hastalıklarda Tedavi Türkiye Klinikleri *J Immunol Rheumatol-Special Topics* 2011;4 (2).
60. <http://www.tmc-online.org/userfiles/sunumlar/10Kas/TercanUS.pdf>
61. Leslie D, Lipsky P, Notkins AL. Autoantibodies as predictors of disease. *The J of Clin Invest* 2001;108:1417–1422.
62. Gürel Polat N. Otoantikörler Türkiye Klinikleri *J Immunol Rheumatol-Special Topics* 2011;4 (2):30-34.
63. Şener S, Şenol M. Dermatoloji’de Otoantikörler. *Tıp Araşt Derg* 2008; 6 (2):105 -115.
64. Achenza M, Meda F, Brunetta E, Selmi C. Serum autoantibodies for the diagnosis and management of autoimmune liver diseases. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 6 (6), 2012;717–729.
65. Walker JG, Doniach D, Roitt IM, Sherlock S. Serological tests in diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1 (7390),1965;827–831.

66. Whittingham S, Irwin J, Mackay IR, Smalley M. Smooth muscle autoantibody in 'autoimmune' hepatitis. *Gastroenterology* 51 (4), 1966; 499–505.
67. Johnson GD, Holborow EJ, Glynn LE. Antibody to smooth muscle in patients with liver disease. *Lancet* 2 (7418), 1965;878–879.
68. Demirçeken F.G. Gluten enteropatisi (Çölyak Hastalığı): Klasik Bir öykü ve güncel gelişmeler. *güncel gastroenteroloji* 2011;15 (1):58-72
69. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997;3:797–801.
70. [http://www.centro.com.tr/download/ANTIFOSFOLIPID. pdf](http://www.centro.com.tr/download/ANTIFOSFOLIPID.pdf)
71. Lima I, Santiago M. Antibodies against cyclic citrullinated peptides in infectious diseases a systematic review. *Clin Rheumatol* 2010; 29:1345–1351.
72. Sfriso P, Ghirardello A, Botsios C, Tonon M, Zen M, Bassi N, Bassetto F and Doria A. Infections and autoimmunity: the multifaceted relationship. *Journal of Leukocyte Biology* 2010; 87: 385–395.
73. Doria A, Canova M, Tonon M, Zen M, Rampudda E, Bassi N, Atzeni F, Zampieri S, Ghirardello A. Infections as triggers and complications of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2008; 8, 24–28.
74. Randone SB, Guiducci S, Cerinic MM. Systemic sclerosis and infections. *Autoimmun. Rev.* 2008;8, 36–40.
75. Ercolini AM, Miller SD. The role of infections in autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 155: 1-15.

76. Zampieri S, Degen W, Ghirardello A, Doria A, Venrooij V. Dephosphorylation of autoantigenic ribosomal P proteins during FASL induced apoptosis; a possible trigger for the development of the autoimmune response in SLE patients. *Ann Rheum Dis* 2001; 60, 72–76.
77. Samarkos, M., Vaiopoulos, G. The role of infections in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005;4, 99–103.
78. Budak F, Otoimmunitede enfeksiyon etkenlerinin rolü. *Türkiye Klinikleri J Immunol R heumatol-Special* 46 Topics. 2011;4 (2).
79. Gershwin M.E. The mosaic of autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2008;7:161–163.
80. Hsu TC, Tsay GJ, Chen TY. Anti-PCNA autoantibodies preferentially recognize C-terminal of PCNA in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Clin Exp Immunol* 2006; 144:110–116.
81. Ichiki Y, He XS, Shimoda S. T cell immunity in hepatitis B and hepatitis C virus infection: implications for autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2005; 4:82–95.
82. McFarlane BM, Bridger CB, Smith HM. Autoimmune mechanisms in chronic hepatitis B and delta virus infections. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7:615–621.
83. Ori Barzilaia, Maya Rama, Yehuda Shoenfelda. Viral infection can induce the production of autoantibodies. *Curr Opin Rheumatol* 2007;19:636–643.

84. Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev* 2006;28:112–125.
85. Nagao Y, Hanada S, Shishido S, Ide T, Kumashiro R, Ueno T. Incidence of Sjogren's syndrome in Japanese patients with hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18 (3):258–266.
86. Permin H, Aldershvile J, Nielsen JO. Hepatitis B virus infection in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 1982;41 (5):479–482.
87. Maya R, Gershwin M, Shoenfeld Y. Hepatitis B virus and autoimmune disease. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2008; 34:85–102.
88. Zachou K, Liaskos C, Christodoulou DK, Kardasi M, Papadamou G, Gatselis N. Anti-cardiolipin antibodies in patients with chronic viral hepatitis are independent of beta 2-glycoprotein I cofactor or features of antiphospholipid syndrome. *Eur J Clin Invest* 2003;33 (2):161–168.
89. Kartal ED, Alpat SN, Ozgunes I, Usluer G. Adverse effects of high-dose interferon-alpha-2a treatment for chronic hepatitis B. *Adv Ther* 2007;24: 963-971.
90. Lee SI, Yoo WH, Yun HJ, Kim DS, Lee HS, Choi SI. Absence of antibody to cyclic citrullinated peptide in sera of non-arthritis patients with chronic hepatitis B virus infection. *Clin Rheumatol* 2006; 9:A1–A5.
91. D'Cruz DP, Khamashta MA, Hughes GR. Systemic lupus erythematosus. *Lancet* 2007;587–596.
92. Goddard G, Shoenfeld Y. SLE and Infections. In: Y Shoenfeld, Rose NR (Edt). *Infection and autoimmunity*. 2004; 491–503.

93. Lai AS, Lai KN. Viral nephropathy. *Nephrology* 2006; 2 (5):254-262.
94. Sun I, Hong Y, Park H, Choi S, Chung B, Park C, Yang C, Kim Y, Choi B. Experience of a antiviral therapy in hepatitis B associated membranous nephropathy, including Lamivudine-resistant strains. *Korean J Intern Med* 2012; 27 (4): 411–416.
95. Arslan F. Kronik viral hepatitlerin karaciğer dışı belirti ve bulguları. İn: Tabak F, Tosun S. Viral hepatit 2013.1.baskı, İstanbul:Tıp kitapevi 2013:471-472.
96. Volkmann M, Luithle D, Zentgraf H. SLA/LP/tRNP ((Ser)Sec) antigen in autoimmune hepatitis: identification of the native protein in human hepatic cell extract. *J Autoimmun* 2010;34 (1):59-65.
97. Murakami C, Hino K, Okazaki M, Fujii K, Okuda M, Hanada H. Hepatitis B virus carrier status linked to autoimmune hepatitis. *Intern Med* 1996;35 (6):468–471.
98. Khuri KG, Shamma'a MH, Abourizk N. Hepatitis B virus markers in diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1985;8 (3):250–253.
99. Kansu A, Kuloglu Z, Demirceken F, Girgin N. Autoantibodies in children with chronic hepatitis B infection and the influence of interferon alpha. *Turk J Gastroenterol* 2004; 15 (4):213– 218.
100. Us D. Serolojik Tanı Yöntemleri, Uygulama ve Değerlendirme. Hacettepe Üniversitesi Yayınları 2006; 31-37

101. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets; procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1979;76, 4350-4354.
102. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology. International Edition: Mosby and WB Saunders*, 2001;119-129.
103. Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology. Saunders Company* 2000;235-269.
104. Güner İ, Özmen D, Bayındır O. Sitokinler. *T Klin J Med Sci* 1997; 17:65-74
105. Onat T, Emerk K, Sözmen E. *İnsan Biyokimyası*. 2002;12:557-569.
106. Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology. USA: Saunders Company* 2000;235-269.
107. Bay Karabulut A, Sönmez E, Öztürk Ç, Bayındır Y, Yoloğlu S, Gözükar E. Hepatit C virus enfeksiyonu bulunan hastaların plazmasında bazı sitokinlerin aktiviteleri. *İnfek Derg* 2002;16 (2):147-150.
108. Milich DR, McLachlan A. The nucleokapsid of hepatitis B virus both a T cell-independent and T cell-dependent antigen. *Science* 1986;234:1398-1401.
109. Eckels DD, Flomenberg P, Gill JC. Hepatitis C virus: models of immunopathogenesis and prophylaxis. *Transfusion* 1996;36:836-844.
110. Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH. Interleukin- 17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14:155–174.

111. Witowski J, Ksiazek K, Jorres A. Interleukin-17: a mediator of inflammatory responses. *Cell Mol Life Sci* 2004;61: 567–579.
112. Gaffen SL, Kramer JM, Yu JJ, Shen F. The IL-17 cytokine family. *Vitam Horm* 2006;74:255-282.
113. Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): An overview. *J Interferon Cytokine Res* 2009;29: 313-326.
114. Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, Klunker S, Meyer N, O'Mahony L, Palomares O, Rhyner C, Quaked N, Schaffartzik A, Van De Veen W, Zeller S, Zimmermann M, and Akdis C.A. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:701-21.
115. Scott P. Commins, MD, PhD, Larry Borish, MD, and John W. Steinke, PhD. Immunologic messenger molecules: Cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:S53-72.
116. Foster RG, Golden-Mason L, Rutebemberwa A, Rosen HR. Interleukin (IL)-17/IL-22-Producing T cells Enriched Within the Liver of Patients with Chronic Hepatitis C Viral (HCV) Infection. *Dig Dis Sci* 2011; 57: 381–389.
117. Bogdanos D.P, Vergani G.M, Vergani D. Non–organ-specific autoantibodies in hepatitis C virus infection: do they matter?. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 40:508–510.

118. Narciso-Schiavon JL, Freire FC, Suarez MM. Antinuclear antibody positivity in patients with chronic hepatitis C: clinically relevant or an epiphenomenon?. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21 (4):350-356.
119. Seçkin Y, Karıncaoğlu M, Cömert M, Ateş F, Yiğit İ.P, Yıldırım O, Toktaş H. Kronik hepatit B ve C hastalarında otoantikör görülme sıklığı. *Cumhuriyet Med J* 2009; 31: 388-392.
120. Afşar İ, Sener A.G, Kurultay N, Türker M. Kronik HBV ve HCV hastalarında otoantikör prevalansı. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007, 27:649-653.
121. Pop TL, Miu N, Burac L, Cristea A. Influence of autoantibodies in chronic viral hepatitis in children. *J of PedGastroenterolog* 2006;42: 5- 65
122. Daschakraborty S, Aggarwal A, Aggarwal R. Non-organ-specific autoantibodies in Indian patients with chronic liver disease. *Indian J of Gastroenterolog* 2012; 31:237-242.
123. Bayram A, Sözen E, Ekşi F, Karslıgil T, Balcı İ. Romatolojik şikayetleri olan hastalarda antinükleer antikör varlığının HBV enfeksiyonu ile ilişkisi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2008;38 (1): 33-36.
124. Fidan I, İmir T, Rota S, Karakuş S, Duran H, Ertuş M, Lale Z. Kronik hepatit C hastalarında otoantikör sıklığı ve HCV RNA pozitifliği ile ilişkisi. *ANKEM Derg* 2012;26 (1):35-41.
125. Chrétien P, Chousterman M, Abd Alsamad I, Ozenne V, Rosa I, Barrault C, Lons T, Hagège H. Non-organ-specific autoantibodies in chronic hepatitis

- C patients: association with histological activity and fibrosis. *J Autoimmun* 2009;32: 201-205.
126. Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Muratori P, Giostra F, Francesconi R, Muratori L, Lenzi M, Bianchi G, Zauli D, Bianchi F.B. Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile. *Hepatology* 1997;26:561-566.
 127. Lenzi M, Bellentani S, Saccoccio G, Muratori P, Masutti F, Muratori L. Prevalence of non-organ-specific autoantibodies and chronic liver disease in the general population: A nested case-control study of the Dionysos cohort. *Gut* 1999;45:435-41.
 128. Koşar Y, Tezel E, Oğuz P, Şaşmaz N, Oğuz D, Şahin T. Kronik viral hepatitler ile otoimmün hepatitlerde otoantikorların prevalansı. *Türk J Gastroenterol* 1997; 8:381-384.
 129. Ersöz G, Akarca U.S, Topalak Ö, Batur Y, Yılmaz F, Başdemir G, Erensoy S. Kronik viral hepatitlerde otoantikorlar T Klin Gastroenterohepatolog 1997;8:31-35.
 130. Chen CH, Lee CM, Chen CH, Hu TH, Wang CH, Hung CH, Chung CH, Lu SN. Prevalence and clinical relevance of serum autoantibodies in patients with chronic hepatitis C. *Chang Gung Med J* 2010; 33:258-264.
 131. Ghonaim M, Al-Ghamdi A, El-Bana H, Bakr A, Ghoneim E, El-Edel R, Hassona M, Shoeib S, Allam H. Autoantibodies in chronic liver disease. *Egypt J Immunol* 2005;12 (2):101-111.

132. Clifford BD, Donahue D, Smith L, Cable E, Luttig B, Manns M, Bonkovsky HL. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995;21:613-619.
133. Lim MK, Sheen DH, Lee YJ, Mun YR, Park M, Shim SC. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies distinguish hepatitis B virus (HBV)-associated arthropathy from concomitant rheumatoid arthritis in patients with chronic HBV infection. *J Rheumatol* 2009;36 (4):712-716.
134. Lee S, Yoo VH, Yun HJ, Kim DS, Lee HS, Choi SI, Hur JA, Cho YG. Absence of antibody to cyclic citrullinated peptide in sera of non-arthritic patients with chronic hepatitis B virus infection *Clin Rheumatol* 2007; 26:1079–1082.
135. Lienesch D, Morris R, Metzger A, Debuys P, and Sherman K. Absence of cyclic citrullinated peptide antibody in nonarthritic patients with chronic hepatitis C Infection. *J Rheumatol* 2005;32:489–493.
136. Al-Thahab A. E.L. Rheumatoid factor antibody in association with chronic hepatitis patients type B (HBV) and C (HCV). *I.J.A.B.R* 2013;3 (2): 168-171.
137. Meşe S, Öztekin T, Atmaca S, Arıkan E, Akın D. Kronik hepatit B enfeksiyonu ile birlikte total Anti-delta pozitifliğinde antikardiyolipin antikorlarının araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42: 483-487.
138. Elefsiniotisa I.S, Diamantisb I.D, Dourakis S.P, Kafiric G, Pantazisa K, Mavrogiannisa C. Anticardiolipin antibodies in chronic hepatitis B and chronic hepatitis D infection, and hepatitis B-related hepatocellular

- carcinoma. Relationship with portal vein thrombosis. *European J of Gastroenterolog Hepatolog* 2003;15:721–726.
139. Huh J.Y, Yi D.Y, Hwang S.G, Cho J.J, Kang M.S. Characterization of antiphospholipid antibodies in chronic hepatitis B infection. *Korean J Hematol* 2011;46:36-40.
 140. Tarr T, Lakos G, Bhattoa H. Clinical thrombotic manifestations in SLE patients with and without antiphospholipid antibodies: a 5-year follow-up. *Clin Rev Allergy Immunol* 2007;32:131-7.
 141. Falasca K, Ucciferri C, Dalessandro M, Zingariello P, Mancino P, Petrarca C, Pizzigallo E, Conti P, Vecchiet J. Cytokine Patterns correlate with liver damage in patients with chronic hepatitis B and C. *Annals of Clinic Lab Scien* 2006;36:144-150.
 142. Akpolat N, Yahsi S, Godekmerdan A, Demirbag K, Yalnız M. Relationship between serum cytokine levels and histopathological changes of liver in patients with hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2005;11 (21):3260-3263.
 143. Wen-J.D, Zhen J.H, Zeng Z.Q, Zheng Z.M, Xu Y, QinL.Y, Chen S. Expression of Interleukin-17 associated with disease progression and liver fibrosis with hepatitis B virus infection: IL-17 in HBV infection. *Diagnostic Pathology* 2013;8 (40):2-7.
 144. Arababadi M.K, Pourfathollah A.A, Jafarzadeh A, Hassanshahi G. Serum levels of IL-10 and IL-17A in occult HBV-infected South-East Iranian Patients. *Hepatitis Monthly* 2010;10 (1):31-35.

145. Xiang X, Gui H, King NJ, Cole L, Wang H, Xie Q, Bao S. IL-22 and non-ELR-CXC chemokine expression in chronic hepatitis B virus-infected liver. *Immunol Cell Biol* 2012;90 (6):611-619.
146. Wang Q, Zheng Y, Huang Z, Tian Y, Zhou J, Mao Q, Wu Y, Ni B. Activated IL-23/IL-17 pathway closely correlates with increased Foxp3 expression in livers of chronic hepatitis B patients. *BMC Immunolog* 2011;12:25

<http://www.biomedcentral.com/1471-2172/12/25>.

8. ÖZET

Giriş ve Amaç: HBV, Hepadnaviridae ailesinin orthohepadnavirus cinsinde yer alan hepatotropik, zarflı ve kısmen çift sarmallı bir DNA virusudur. Enfeksiyon etkenleri otoimmüniteyi başlatmak veya sürdürmek için çeşitli mekanizmalar kullanırlar. Bu mekanizmalar arasında, moleküler benzeşme, konak doku ve hücreleri hasar gördüğünde korunmuş gizli antijenlerin salınımı, konak hücre proteinlerinin değişimi ve otoreaktif T lenfosit aktivasyonu gibi çeşitli mekanizmalar yer alabilir. HBV enfeksiyonunda da diğer birçok enfeksiyon gibi otoimmüniteyi tetikleyebileceği gibi immün sistem mediatörlerinde de çeşitli değişiklikler meydana getirebilir. Bu nedenle çalışmamızda kronik hepatit B hastalarında otoantikor oluşumunu ve serum sitokin düzeylerindeki değişiklikleri belirlemeyi hedefledik.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda örnekler 18 yaş üstü, erişkin gruptan HBsAg'si ve HBV DNA'sı pozitif olan 50 adet kronik Hepatit B hastası, HBsAg (+) 25 adet inaktif HBsAg taşıyıcı hasta grubu ve HBsAg (-) ve HBV DNA (-)'sı negatif olan 25 adet sağlıklı kontrol grubundan seçilmiştir. HBV DNA, kantitatif real-time polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenmiştir. ANA, ASMA, AMA, LKM otoantikorları indirek floresan Ab yöntemi (IFA) ile incelenmiştir. IFA yöntemi ile ANA pozitif olarak bulunan örneklerde daha sonra immüno blot yöntemi ile otoantikorların tanımlanması yapılmıştır. RF, Anti-CCP, antifosfolipid G, antifosfolipid M, antikardiolipin otoantikorlarına ise ELISA yöntemi ile bakılmıştır. Serum sitokin düzeyleri ELISA yöntemi ile incelenmiştir. **Bulgular:**

Kronik hepatit B’li hasta örneklerinde ANA, AMA, ASMA ve LKM otoantikorlardan en az birinin pozitifliği, inaktif HBsAg taşıyıcı ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde farklı bulunmuştur. Kronik hepatit B’li hasta serum örneklerinde %44 ANA, %10 AMA, %16 ASMA, %2 LKM oranlarında pozitiflik tespit edilmiştir. İnaktif HBsAg taşıyıcısı serum örneklerinde %28 ANA, %20 ASMA pozitifliği saptanırken, AMA ve LKM antikor pozitifliği tespit edilmemiştir. Kontrol grubu örneklerde ise %40 ANA pozitifliği belirlenirken; ASMA, AMA ve LKM antikor pozitifliği belirlenmemiştir. HBV DNA viral yük açısından ANA pozitif ve ANA negatif kronik hepatit B grubu örnekleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bu üç grupta RF pozitifliği sırasıyla %30, %24 ve %8 oranında RF pozitifliği tespit edilmiştir. RF pozitifliği açısından kronik hepatit B grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir. Anti-CCP sadece kronik hepatit B grubu örneklerden 2’sinde (%4) pozitif olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda kronik hepatit B grubunda %4 oranında antifosfolipid G pozitifliği, %12 oranında antifosfolipid M pozitifliği tespit edilmiştir. Antikardiyolipin antikorları kronik hepatit B grubu örneklerde %14 olarak saptanmıştır. Kronik hepatit B grubu örneklerde, inaktif HBsAg taşıyıcı grup ve kontrol grubu örneklere göre serum IL-17,IL-22, IL-23 düzeyleri düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde artış meydana gelmiştir.

Sonuç: HBV ile infekte hastalarda otoantikor ve sitokin yanıtının incelenmesinin, HBV ile birlikte bulunan otoimmün hastalıkların, HBV enfeksiyonuna bağlı olarak gelişen otoantikor yanıtından ayırımını sağlamada ve

hastalıkların tedavisinde yeni yöntemlerin bulunmasına yardımcı olabilir. Bununla birlikte, HBV enfeksiyonu ve konak immün yanıtı ve HBV'nin oluşturduğu otoimmünite mekanizmalarının daha iyi anlaşılması için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

9. SUMMARY

HBV is a DNA virus, genus of orthohepadnavirus at Hepadnaviridae family, hepatotropic, enveloped and partially double-stranded. Infectious agent use a variety of mechanisms to initiate or sustain autoimmunity. Of these mechanisms, several mechanisms may be seen such as molecular affinity, and releasing of antigen-kept secret when host tissue and cells are damaged, changing of host cell proteins, and activation of autoreactive T lymphocyte. Several infectious agents like viruses, bacteria and parasites can trigger so many different mechanisms by Autoimmunity. Molecular mimicry, cryptogenic antigens as a result of the expression of host tissue destruction, transformation of host cell proteins and an activation are some of autoreactive mechanisms. HBV infection may trigger autoimmunity as several infections, and also may cause many changes mediators in the immune system. Therefore, in our study, we aimed to detect the formation of autoantibodies and changes in serum cytokine levels in patients with chronic hepatitis B.

Materials and Methods: In this study, 50 adult patients with HbsAg, and HBV DNA-positive and chronic hepatitis B, HBsAg (+), over the age of 18, were selected and 25 patients with HBV DNA (-), inactive HBsAg carrier, and HBsAg (-) were selected from healthy control group as samples. HBV DNA was determined by quantitative real-time polymerase chain reaction. ANA, ASMA, AMA, LKM autoantibodies were examined by using indirect fluorescent Ab method. The definition of autoantibodies were made by using immunoblotting

method from samples found ANA positive by using IFA method. RF and anti-CCP, antiphospholipid G, antiphospholipid M, anticardiolipin autoantibodies were examined by the ELISA method. Also, Serum cytokin elevels were examined by ELISA.

Results: The fact that at least one positive of ANA, AMA, ASMA and LKM autoantibodies were found to be statistically significant between inactive HBsAg carrier and control groups in the samples of patients with chronic hepatitis B. ANA 44%, AMA 10%, ASMA 16%, LKM 2% positivities were found in samples of patients with chronic hepatitis B. While ANA 28 %, ASMA 20 % positivities were detected in serum samples of inactive HBsAg carriers, ASMA, AMA and LKM antibody positivity could not be detected. There was no statistically difference between ANA positive and ANA negative groups in terms of HBV DNA viral load. In all three groups, RF positivity was found 30 %, 24 %, 8 %, respectively. Anti-CCP was found (4%) in examples of chronic hepatitis B group. In our study, 4% antiphospholipid G positivity and 12% antiphospholipid M positivity were found in chronic hepatitis B group. Anticardiolipin antibodies were found in 14% of cases of chronic hepatitis B group.

Serum IL-17, IL-22, IL-23 levels were found to be significantly increased when compared the examples of chronic hepatitis B to inactive HBsAg carrier group and the control group

Conclusion: To examine autoantibodies and cytokine response may help to discriminate autoantibody response induced by HBV infection, and contribute to find new treatment methods. However, comprehensive studies are needed to get

a better understanding of autoimmune mechanisms caused by HBV, HBV infection, and host immune reaction.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Zübeyde

Soyadı: Lale

Doğum yeri – tarihi: Siverek-20.01.1971

Eğitimi: 16.01.2009 tarihinde Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak göreve başladım. 1996 yılında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi’ den mezun oldum.1988 yılında Sapanca Lisesi’ nden mezun oldum.

Yabancı Dili: İngilizce

Üye olduğu bilimsel kuruluş: Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlar Derneği

Bilimsel etkinlikleri:

Yayınlar:

1-Fidan I, İmir T, Rota S, Karakuş S, Duran H, Ertaş M, **LALE Z.** Kronik hepatit C hastalarında otoantikör sıklığı ve HCV RNA pozitifliği ile ilişkisi.ANKEM Derg 2012;26 (1):35-41

2- Rota S, Fidan İ, yeşilyut E, Müderris T, **Lale Z.** Cytokine levels in patients with Epstein–Barr virus associated laryngeal carcinoma.The Journal of Laryngology & Otology 2010; 124:990–994.

Bildiriler:

1.Rota S, Fidan İ, yeşilyut E, Müderris T, **Lale Z**. Cytokin levels in Ebstein-Barr virus associated laryngeal carsinoma.12th Annual ESCV Meeting Istanbul, Turkey,2009.

2.Rota S, Fidan İ, Lale Z, Çekiç İ.'Pirosekanslama'teknolojisi ile hepatitis C virusunun genotiplerinin belirlenmesi. Altıncı Ulusal tanısal moleküler mikrobiyoloji kongresi.s186,Ankara 2010

3. **Lale Z**, Doğruman Al F, Fidan İ, Yeşilyut E, Adıyaman G, Özkan S, Çağlar K. İsaahalli hastaların dışkı örneklerinde Clostridium Difficile toksin A ve B sıklığının ELISA yöntemi ile araştırılması. XXXIV. Türk mikrobiyoloji kongresi.S319.2010

4.Rota S, yeşilyut E, Fidan İ, Kalkancı A, **Lale Z**, Dede A,Özyeğen Aslan S, Kirişçi Ö.Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalarda serum sitokin düzeyleri. Uluslararası katılımlı 4. Ulusal viroloji kongresi. İstanbul,2011

5. Rota S, Fidan İ, saçak G, **Lale Z**. Kemikiliği transp virus varlığının kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile gösterilmesi. Yedinci Ulusal tanısal moleküler mikrobiyoloji kongresi.s326,Ankara 2012

6.Fidan İ, Rota S, **Lale Z**. Çocuklarda EBV enfeksiyonunun kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması. Yedinci Ulusal tanısal moleküler mikrobiyoloji kongresi.s326,Ankara 2012

7- Fidan İ, Rota S, Yeşilyurt E, **Lale Z**, Şahin N.Urinary cytokine response in human BK virus infection. 15th Annual meeting of the European society for clinical virology and joint meeting with the European society for veterinary virology.s278,Madrid 2012