



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDA LAMİVUDİN  
TEDAVİSİ SIRASINDA OLUŞAN ANTİVİRAL DİRENÇ  
MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

Dr. Ayşe HOYRAZLI

UZMANLIK TEZİ

BURSA- 2012



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDA LAMİVUDİN  
TEDAVİSİ SIRASINDA OLUŞAN ANTİVİRAL DİRENÇ  
MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Ayşe HOYRAZLI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Danışman: Prof. Dr. Selim GÜREL**

**BURSA- 2012**

## İÇİNDEKİLER

Özet.....	II
İngilizce Özet (Summary).....	III
Giriş.....	1
Genel Bilgiler.....	3
1. Tarihçe.....	3
2. Epidemiyoloji.....	4
3. HBV Enfeksiyonu.....	8
4. Viroloji.....	12
5. HBV Enfeksiyonunun Tanısı.....	23
6. HBV Enfeksiyonunun Tedavisi ve Antiviral Direnç.....	30
Gereç ve Yöntem.....	54
Bulgular.....	57
Tartışma ve Sonuç.....	67
Kaynaklar.....	76
Teşekkür.....	88
Özgeçmiş.....	89

## ÖZET

Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu küresel bir halk sağlığı sorunudur. Tüm dünyada siroz ve hepatosellüler karsinomanın (HCC) önde gelen nedenidir. Dünyada en az 400 milyon kişinin HBV taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir ve yılda 1 milyon kişi hepatit B ile ilişkili hastalıklar nedeniyle ölmektedir. Kronik hepatit B tedavisinde günümüzde; immünmodülatör, antiviral etkili pegile-interferonlar ve nükleozid analogları kullanılmaktadır. Nükleozid analogları arasında etkinliği yüksek, iyi tolere edilen, ciddi yan etkisi olmayan ve diğer ilaçlara göre daha ucuz olan lamivudin sık tercih edilen bir ilaçtır. Lamivudin, HBV replikasyonunu sağlayan “revers transkriptaz (RT)” enzimini bloke ederek virüsün replike olmasını engellemektedir. Uzun dönem lamivudin tedavisiyle ilgili önemli bir sorun HBV polimerazında mutasyonlara bağlı viral direnç gelişimidir. Lamivudine dirençli HBV gelişmesi tedaviye klinik ve virolojik cevabı azaltır. Bu nedenle ilaç direnç gelişiminin hastada mümkün olduğunca erken tespit edilmesi tedavinin gidişatının değerlendirilmesinde önemlidir.

Çalışmaya kronik hepatit B tanısıyla 6 aydan uzun süredir lamivudin tedavisi alan, izleminde virolojik kırılma saptanıp genotipik mutasyon analizi yapılan 33 hasta dahil edildi. Hastaların dosyaları geriye dönük olarak incelendi. 23 hastada genotipik olarak lamivudin direnci saptandı. Tedavi öncesi ALT düzeyi, HBV DNA düzeyi, HBeAg durumu, tedavi süresi ile lamivudin direnci arasındaki ilişki araştırıldı. Literatürden farklı olarak HBeAg negatif hastalarda daha fazla lamivudin direnci gözlemlendi ( $p=0,036$ ). Mutasyon saptanan hastalarda tedavi öncesi HBV DNA düzeyi ve tedavi süresiyle (sınır süre 3 yıl) genotipik direnç arasında ilişki saptanmadı ( $p=0,733$ ,  $p=0,682$ ). Mutasyon kodonları incelendiğinde en fazla tek başına rtM204I (%21,2), daha sonra rtL180M ve rtM204V birlikteliği (%12,1) görüldü.

**Anahtar kelimeler:** Kronik hepatit B, lamivudin, antiviral direnç

## **SUMMARY**

### **Analysis of Antiviral Resistance Mutations During Lamivudine Therapy in Patients with Chronic Hepatitis B**

Hepatitis B virus (HBV) infection is a global public health problem. It is the leading cause of cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC) worldwide. It is estimated there are at least 400 million HBV carriers in the world and that up to one million die annually due to hepatitis B associated liver disease. Pegylated-interferons with immunomodulatory, antiviral effects and nucleoside analogs are used today for treatment of chronic hepatitis B. Among the nucleoside analogs, lamivudine is frequently the drug of choice because of its high efficacy, good tolerability, low rate of adverse effects and low cost compared with other drugs. Lamivudine, blocks HBV replication providing enzyme, reverse transcriptase (RT) and prevents viral replication. A major problem with prolonged lamivudine therapy is the increasing rate of viral resistance due to mutations within the HBV polymerase. Emergence of lamivudine resistant HBV has been associated with a diminished clinical and virologic response to lamivudine. Therefore, detection of antiviral resistance in patients as early as possible is important to manage treatment appropriately.

In this study, 33 chronic hepatitis B patients with virologic breakout who was treated with lamivudin for more than 6 months and underwent genotypic mutation analysis were included. Patients were evaluated retrospectively. Genotypic lamivudine resistance was detected in 23 patients. The relationship between the with lamivudine resistance and pre-treatment ALT level, HBV DNA level, HBeAg status, duration of treatment were examined. We observed more mutations in HBeAg negative lamivudine resistant patients apart from the literature ( $p=0,036$ ). Pre-treatment HBV DNA level and duration of treatment ( cut-off time= 3 years) were unrelated with

genotypic resistance in mutant group ( $p=0,733$ ,  $p=0,682$ ). Most common mutations rtM204I (%21,2) and rtL180M with rtM204V combination (%12,1) were observed in mutation analysis of codons.

**Keywords:** Chronic hepatitis B, lamivudine, antiviral resistance.

## GİRİŞ

Hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonları, akut ve kronik karaciğer hastalığının tüm dünyada görülen en sık sebebidir (1). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre yaklaşık olarak dünya nüfusunun üçte biri virüsle karşılaşmış olup, 350-400 milyon hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) taşıyıcısı mevcuttur. HBV ilişkili son dönem karaciğer hastalığı veya hepatosellüler karsinom (HCC) nedeniyle ölüm yılda 0,5-1 milyon kişinin üzerindedir ve karaciğer nakli vakalarının %5-10 nedenidir. Kronik hepatit B'de morbidite ve mortalite virüs replikasyonuna bağlı olarak karaciğer sirozu ve/veya HCC gelişimiyle ilgilidir. Kronik hepatit B hastaları tedavi edilmediği takdirde 5 yıl içinde siroz gelişme oranı %8 ile %20 arasında değişmektedir. Tedavi edilmemiş kompanse sirozlu hastalarda dekompanse gelişme oranı 5 yıl içinde yaklaşık %20'dir. Yine tedavi edilmeyen dekompanse sirozlu hastalarda 5 yıllık sağkalım yalnızca %14-35'dir. HCC insidansı dünya çapında HBV ve hepatit C virüs (HCV)'ü enfeksiyonları nedeniyle artmıştır, günümüzde HCC tüm kanserlerin %5'ini oluşturmaktadır ve en sık görülen 5. kanserdir. Siroz geliştiğinde HBV ilişkili HCC insidansı yıllık %2-5 arasındadır (2).

Tanımlanmış olan olası HBV bulaş yolları anneden bebeğe doğum esnasında geçiş, seksüel temas, intravenöz ilaç kullanımı, akupunktur yöntemleri uygulaması ve kan transfüzyonları sırasında meydana gelen geçişlerdir. Aile içi temas ile de bulaşabildiği tahmin edilmektedir. HBV enfeksiyonunun edinilme yaşı arttıkça kronikleşme riski azalmaktadır. Yeni doğan ve ilk 1 yaşta geçirilen enfeksiyon %90 kronikleşmekte, bu oran 1-5 yaş arasında %30'a inmekte olup, daha erişkin yaşlar için yaklaşık %2 olarak saptanmıştır (3). Bu nedenle HBV; perinatal bulaşın sık olduğu ve HBsAg taşıyıcılık oranının %5-6 olduğu ülkemizde önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (4).

HBV enfeksiyonu immün temelli bir hastalıktır. Hastalığın kontrolü konağın immünolojik yanıtının kalitesine bağlıdır (5). Akut enfeksiyonu



izleyerek doğal ve uyarılmış immün yanıt yetersiz olursa immünolojik iyileşme başarısız ve kronikleşme gerçekleşir (6). Halen geçerli olan tedaviler HBV enfeksiyonunu tamamen ortadan kaldıramamaktadır. Klinisyenler vakaların çoğunda elde edilen inkomplet virolojik yanıtla yetinmektedirler. Tedavinin kısa ve uzun dönem hedefleri mevcuttur. Kısa dönem hedefler; hepatit B e antijeni (HBeAg) serokonversiyonu, HBV deoksiribonükleik asit (DNA) seviyesinin düşürülmesi ve alanin aminotrasferaz (ALT) düzeyinin normal değerlere çekilmesidir. Antiviral tedavi ile HBV DNA seviyesinin serumda serolojik yöntemlerle devamlı negatif olmasıdır. Çünkü sürekli viremi tedaviye cevapsızlığın yanı sıra viral direnç riskinin artması demektir. Uzun dönemde hedefler ise; yaşam kalitesini iyileştirmek, siroz ve hastalığın komplikasyonlarını önlemektir. HBsAg serokonversiyonu halen mevcut olan tedavilerde nadirdir, ancak başarılırsa virolojik son noktadır ve relaps ile hastalık komplikasyonları daha az görülür (7).

Günümüzde kronik hepatit B tedavisinde kullanılan birçok terapötik ajan vardır. Bunlar standart interferon (sIFN), pegile-interferon (peg-IFN), lamivudin (LAM), telbivudin, adefovir dipivoksil, entekavir ve tenofovir disoproksil fumarattır. Lamivudin (beta- L- 2',3'-dideoksy thiacytidine), kronik hepatit B tedavisinde lisans alan ilk nükleozid analogudur. Hastalar tarafından iyi tolere edilir ve kullanımını kısıtlayacak önemli ve sık görülen yan etkileri de yoktur. Hepatit B virüs DNA'sının replikasyonunu sağlayan "revers transkriptaz" enzimini bloke ederek virüsün replike olmasını önler. Lamivudin ile tedavi edilen kronik hepatit B'li hastaların karaciğer enzim düzeyleri normalleşir, serumda HBV DNA yükü azalır ve hepatitin nekroinflamatuvar aktivitesi geriler. Ancak; tedavi kesildikten ortalama 3-6 ay sonra hastalığın relaps gösterebilmesi ve ilaca karşı direnç gelişimi, lamivudin tedavisinin olumsuz özellikleri olarak karşımıza çıkmaktadır (3). Lamivudin kullanan hastalarda zaman içinde bu ilaca karşı gelişen direnç, kronik hepatit B tedavisinin en temel konularından birisini oluşturmaktadır. Polimeraz geninin revers transkriptaz proteini üzerindeki C ve B bölgele- rindeki mutasyonlar lamivudin direncinden sorumlu temel mutasyonlardır.

Genotipik direnç, bir yıldır lamivudin alan hastalarda %14-32 arasında görülmekte ve tedavinin 5. yılında %50-60'lara yükselmektedir (8, 9).

## GENEL BİLGİLER

### 1. Tarihçe

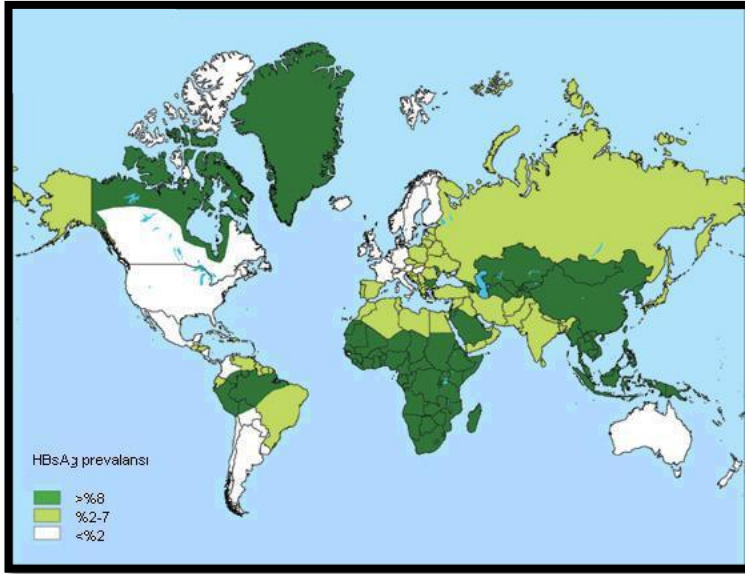
Hepatit, karaciğerin inflamasyonu ve nekrozudur. Sarılıktan ilk söz eden Babil Talmudları ve Hipokrat'ın yazıları olmasına karşın, bulaşıcı sarılığa ait ilk gözlemleri birkaç binyıl önce Çinliler yapmıştır (10). Viral hepatit tanımı ise ilk olarak M.Ö. 5. yüzyıla dayanmaktadır (11). Viral hepatite bağlı salgınlar 19. yüzyılda dikkat çekmiştir. Bu salgınların çoğu büyük olasılıkla hepatit A virüsüne bağlıdır. HBV'nin epidemik bulaşı ise kan ve kan ürünleri kullanımının yaygın olduğu yerlerde gözlenmeye başlamıştır (12). Kan ve kan ürünleri ile bulaşan hepatit formu ilk kez, 1883 yılında Lurman tarafından, Bremen'de çiçek aşısı yapılan 1289 tersane işçisinin 191'inde, aşı uygulamasından sonra sarılık ortaya çıktığında saptanmıştır (10, 11). Viral hepatit 19. yüzyılda kızamık ve kabakulak immün profilaksisi amacıyla plazma verilen kişilerde insan serumu içeren sarıhumma aşısı yapılan askeri personelde, kontamine iğnelerin kullanıldığı cinsel yolla bulaşan hastalıklar kliniklerinde tedavi gören hastalarda yaygın olarak görülmeye başlamış ve II. Dünya Savaşı sırasında kan transfüzyonu yapılan askerlerde ciddi sorunlara neden olmuştur (10, 13). 1943 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde bulaşıcı hepatit "enfeksiyöz hepatit" olarak isimlendirilirken, İngiltere Sağlık Bakanlığı aynı yıl bir karar ile kan, plazma ve serum naklinden sonra gelişen sarılıkları "homolog serum sarılığı" adı altında toplamıştır. 1947 yılında McCallum, enfeksiyöz hepatit için "hepatit A", serum hepatiti için ise "hepatit B" deyimlerini kullanmıştır (14).

1964 yılında Blumberg ilk defa bilinmeyen bir antijeni, bir Avustralya Aborjini'nin kanında tespit etmiş ve daha sonraları yaptıkları çalışmalarda bu antijenin Hepatit B ile ilişkili olduğunu tanımlamış ve Avustralya Antijeni

olarak isimlendirmişlerdir (15). 1970’de ise Dane ve arkadaşları HBV’nin kısmen saflaştırılmış preparasyonlarının elektron mikroskopik incelemelerinde üç değişik partiküle rastlamışlardır. Bunlardan enfektif özelliğe sahip, 42 nm çapında olanlara Dane partikülü adı verilmiş ve sonraki yıllarda, kor antijeni, DNA polimeraz ile viral DNA tanımlanmıştır (10). 1971 yılında Krugman, ısı ile inaktive edilen HBsAg pozitif serumların immünojenik olduğunu ve aşı olarak kullanılabileceğini göstermiş; 1972 yılında hepatit B erken (early) antijeni (HBeAg) Magnius ve Espmark tarafından tanımlanmış; 1979 yılında ise viral DNA klonlanarak tam nükleotid dizisi çıkarılmıştır (16, 17). Özellikle son 40 yıldaki gelişmeler virüsün tanı, tedavi ve korunmasında önemli katkılar sağlamıştır. Bu sayede HBV’den korunmak için 1981 yılında plazma kökenli aşı kullanıma sunulmuştur. 1986 yılından itibaren ise daha güvenli olan rekombinant aşular kullanılmaya başlanmıştır (18).

## **2. Epidemiyoloji**

HBV enfeksiyonu, dünyada yaygın olarak dağılım gösteren enfeksiyon hastalıklarındandır. Altı milyar dünya nüfusunun yaklaşık 1/3’ünün HBV ile enfekte olduğu ve bunların da 400 milyona yakınında kronik enfeksiyon geliştiği bilinmektedir (19). HBV enfeksiyonunun prevalansı, coğrafi açıdan üç kategoriye ayrılarak değerlendirilmekte ve prevalansın %8 ve üzerinde olduğu bölgeler “yüksek endemik”, %2-7 arasında olduğu bölgeler “orta endemik”, %2’nin altında olduğu bölgeler ise “düşük endemik” bölgeler olarak kabul edilmektedir (20) (Şekil-1).

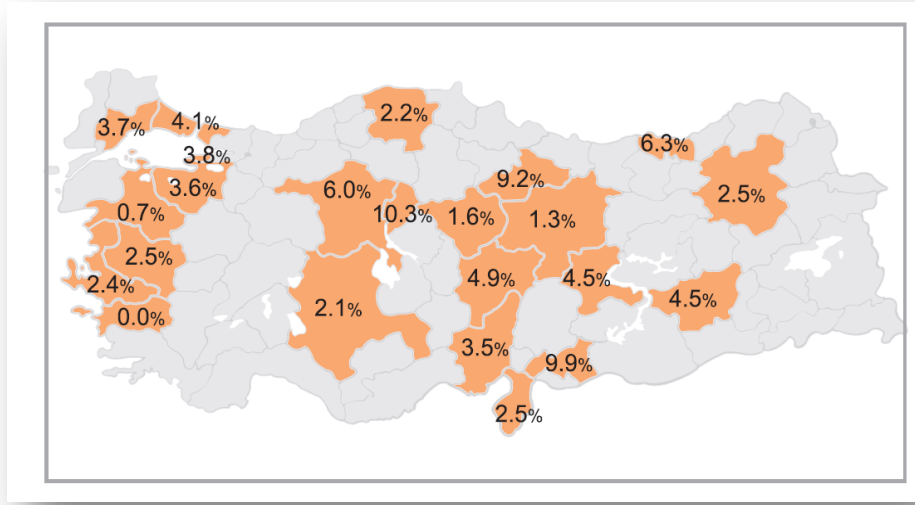


**Şekil-1:** Kronik HBV prevalansı(21)

Dünya nüfusunun % 5'i inaktif taşıyıcıdır. Yılda 500,000- 1,200,000 ölüme neden olan bir virüstür. Dünyadaki dağılımı coğrafi bölgelere göre farklılıklar gösterir. Yüksek endemisite olan Afrika, Asya ve Pasifik kıyılarında HBV'ye bağlı hastalıklar en önemli üç ölüm nedeninden biridir. Orta endemisite bölgeleri olan Japonya, Orta Asya, Orta Doğu, Orta Amerika gibi ülkelerde HBsAg pozitifliği %2-5 oranındadır. Endemisitenin düşük olduğu ABD, Kanada, Batı Avrupa ve Avustralya'da HBsAg pozitif olanların prevalansı % 0,1-2'dir. Hepatit B virüsü ve Human İmmünodeficiency Virus (HIV) ko-enfeksiyonu da önemli bir problemdir. Dünya genelinde 2-4 milyon HIV-HBV ko-enfeksiyonu vardır (13). Amerika Birleşik Devletleri (A.B.D.)'inde yıllık yeni HBV enfeksiyonu 200.000 ila 300.000 civarındadır; yılda 5.000 kişi bu enfeksiyondan dolayı kaybedilmektedir. Çin, Güneydoğu Asya, tropikal Afrika'da HBV taşıyıcılığı %8-20 arasında değişirken, bu bölgede yeni doğan ve çocukluk çağı enfeksiyonları da çok sıktır. Ancak, Kuzey, Batı ve Orta Avrupa, Kuzey Amerika ve Avustralya'da HBV taşıyıcılığı %0,2-0,5 arasında değişirken, bu bölgelerde yeni doğan ve çocukluk çağı enfeksiyonları da oldukça nadir görülür. Türkiye'nin içinde bulunduğu Akdeniz bölgesi orta düzeyde endemisite gösterir. Ülkemizde HBsAg (+) bireylerin oranı %3,9-12,5 arasında değişmektedir (22, 23).

Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği (TKAD)'nin 2009 yılında yaptığı

Türkiye Hepatit Prevalansı Çalışması (TÜRKHEP 2010)'nın sonuçlarına göre; Hepatit B taşıyıcılığı (HBsAg +) %4, Hepatit C virüsü taşıyıcılığı (Anti-HCV +) ise %0,95 olarak bulunmuştur. Hepatit B virüsü ile karşılaşan ve bağışıklık kazanan kişileri belirten anti-HBs pozitif kişilerin oranı ise %32'dir. Hepatit B virüsü varlığında bulunan ve hastalığın hızla kronik karaciğer hastalığına ilerlemesine neden olan bir virüs olan Delta virüsü (HDV) oranı ise hepatit B virüsü taşıyıcılarında sadece %2,7'dir (Şekil-2) (24).



**Şekil-2:** Türkiye'de HBV taşıyıcılık oranlarının bölgesel dağılımı

HBV'nin dört ana bulaş yolu vardır:

1-Enfekte kan ve vücut sıvıları ile mukozal ya da kutanöz teması ile: Hemodiyaliz hastaları, intravenöz (IV) ilaç bağımlıları, transfüzyon yapılan hastalar, özellikle cerrahlar ve patoloğlar olmak üzere sağlık çalışanları risk gruplarıdır.

2-Cinsel temas: En riskli grup homoseksüellerdir. Eşinde hepatit B olan kişilerde risk altındadır.

3-Vertikal geçiş: Enfekte anneden yeni doğana bulaş gebelik sırasında, doğum sırasında ve doğum sonrası olabilir. HBeAg (+) anneden doğan çocukların %70-90'ı enfekte olur. Anne sütünde HBsAg gösterilmiştir ve süt teorik olarak bulaştırıcıdır.

4-Horizontal bulaş: Bulaş yolu bilinmeyen ancak aile içi temas, çeşitli vücut sıvıları ve diş fırçası, jiletlerde bulaş kaynağı olabilir. Çeşitli vücut sıvılarında

HBsAg bulunmuştur. Plevra ve periton sıvılarında serumdaki kadar virion bulunur. Tükürük ve semedeki virüs yükü serumdakinden azdır ancak tükürük ve semende sürekli enfeksiyöz virionlar bulunur. Endemik bölgelerde virüsün cilt çatlakları ve müköz membranlardan geçişi çocuklarda enfeksiyona neden olabilir. Anneleri HBsAg pozitif çocuklar doğumda enfeksiyonu almadıysa %40 olasılıkla ilk beş yıl içinde enfekte olabilirler(25-28) (Tablo-1).

**Tablo-1:** HBV'nin bulaşma yolları ve risk grupları

Bulaşma yolu	Risk grupları
<b>Perkütan (parantral) bulaşma</b>	Çoğul transfüzyon yapılan hastalar, hemodiyaliz hastaları, damar içi uyuşturucu bağımlıları ve dövme(tatuaj) yaptıranlar, sağlık personeli
<b>Cinsel temasla bulaşma</b>	Erkek eşcinseller ve çok partnerli heteroseksüeller,HBV taşıyıcılarının cinsel partnerleri
<b>Vertikal (perinatal) bulaşma</b>	HBV taşıyıcısı annelerin bebekleri
<b>Horizontal bulaşma</b>	Kötü hijyen ve düşük sosyoekonomik durum, mental özürülüler, kalabalık yaşam şartları (yatılı okul, kışla, hapishane, yurt)

Düşük endemisite bölgelerinde sıklıkla cinsel temas daha az oranda da parenteral temasla bulaş olmaktadır. Orta endemisite bölgeleri; perkütan, cinsel, horizontal ve daha az oranda perinatal bulaşın görüldüğü yerlerdir. Yüksek endemisite bölgelerinde erişkinler arasında cinsel temas en önemli yeri tutarken taşıyıcılığın en önemli sebebinin HBeAg (+) anneden doğan bebeklere perinatal bulaş olduğu kabul edilmektedir. Türkiye diğer Akdeniz ve Orta Doğu Ülkeleri gibi HBV endemisitesi yönünden orta sıklık kuşağında yer almaktadır. HBV bulaşı büyük oranda horizontal olduğu için immüntolerans dönem 15-20 yıl sürmekte, immünlirens 30'lu yaşlarda görülmektedir. Bunun sonucu olarak kronik HBV, karaciğer sirozu ve HCC'ye

genç ve orta yaşlarda rastlanmaktadır. Vakaların çoğunda HBeAg negatiftir. Orta ve ileri yaşlarda kötü prognozlu HBeAg negatif kronik HBV'li hastaların çokluğu da korunma, tedavi ve prognoz açısından ciddi sorunlar yaratmaktadır.

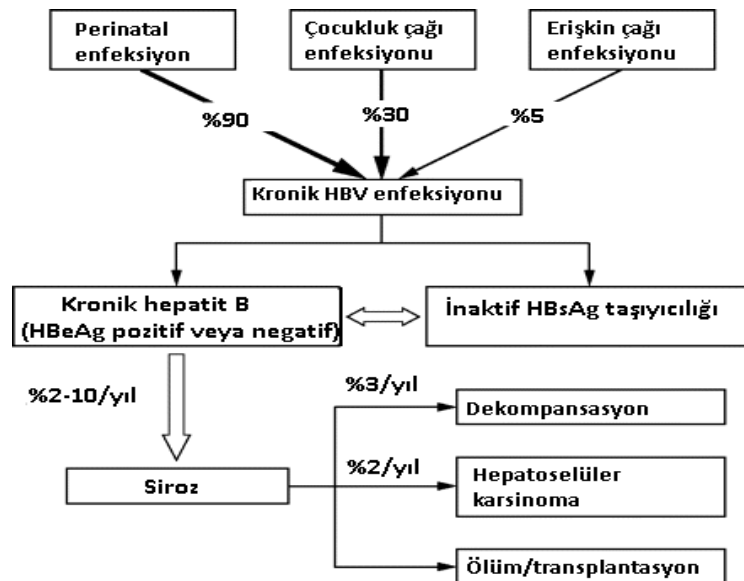
### 3. HBV Enfeksiyonu

#### HBV Enfeksiyonunun Doğal Seyri

Hepatit B enfeksiyonu 2 şekilde karşımıza çıkabilir; akut hepatit B ve kronik hepatit B enfeksiyonu. Akut hepatit B vakalarının %70'i anikterik seyrederek, %30'unda ikter görülür. Fulminan hepatit, akut hepatit B'li hastaların %0,1-0,5'inde görülen nadir bir durumdur.

Kronik hepatit B hastalığının seyri ve prognozu, HBV, hepatosit ve vücudun immün sistemi arasındaki karşılıklı ilişkiye bağlıdır. Bununla birlikte cinsiyet, alkol kullanımı ve diğer hepatit virüsleri ile birlikte enfeksiyon da hastalığın seyrini etkiler (29).

Erişkin bir insanda immün cevap iyi olduğu yani, 'immün kompetan' olduğu için %90'ın üzerinde anti-HBs gelişir ve hasta tam iyileşir. Yeni doğan ve çocuklarda ise immün cevap yetersiz olduğundan yani hasta 'immün tolerans' olduğundan virüsün immün sistem tarafından tanınması ve klirensi gecikir ve yeterli olmaz. Bu nedenle kronikleşme sık görülür (30) (Şekil-3).



**Şekil- 3:**Kronik hepatit B enfeksiyonunun seyri (31).  
Kronik hepatit B 'nin seyrinde 5 faz izlenir:

- İmmün tolerans fazı
- İmmün klirens fazı
- İnaktif taşıyıcılık fazı
- HBeAg negatif kronik hepatit B fazı
- HBsAg negatif faz

#### **İmmün tolerans faz (replikatif faz):**

Hastaların HBV ile karşılaşmalarına rağmen immün sistemin uyarılmadığı, immün cevabın gelişmediği dönemdir. HBV perinatal veya yeni doğan döneminde alınmışsa bu faz uzun sürer (10-40 yıl). Bulaştırıcılığı daha yüksektir, serokonversiyon daha geçtir. HBV çocukluk döneminde alınmışsa bu faz 15-20 yıl sürer. Eğer erişkin dönemde alınmışsa, bu faz ya hiç yoktur, ya da 1-4 ay gibi kısa bir dönemdir.

Bu dönemde klinik ve patolojik değişiklikler az olmasına rağmen HBV replikasyonu yüksektir. HBV DNA yüksek seviyede, HBeAg pozitifdir. ALT seviyeleri normaldir. Karaciğer biyopsilerinde minimal hasar olabilir ya da hasar yoktur.

#### **İmmün klirens fazı (replikatif faz):**

Bu dönemde immün sistem aktive olur ve HBV ile enfekte hepatositlere karşı bir reaksiyon başlar. Genellikle ani hepatosit lizisine bağlı ALT yüksekliği şeklinde bir alevlenme görülür. Bu alevlenme tek bir sefer olabilir veya dalgalanmalar şeklinde seyreden relapslar gösterebilir. ALT yüksekliği normalin 5 katını aşabilir. Aynı şekilde HBV DNA'da da artma ve dalgalanmalar izlenir. Karaciğerde inflamasyon ve hepatosit hasarı meydana gelir. Ağır ataklar görülen küçük bir grup hastada akut karaciğer yetmezliği ortaya çıkabilir. Bu fazın sonunda hastaların %67-80'inde HBeAg serokonversiyonu ile Anti-HBe pozitifleşmesi görülebilir, ALT normal seviyelere geriler, HBV DNA'da azalma ya da negatifleşme görülebilir.

İmmün klirens fazı ne kadar kısa sürmüş, HBeAg serokonversiyonu ne kadar çabuk olmuşsa prognoz o kadar iyidir. Bu nedenle erişkinlerde



immün klirens dönemi kısa sürdüğü için kronikleşme, karaciğer sirozu, HCC gelişme oranı düşüktür.

**İnaktif taşıyıcılık fazı (düşük veya non-replikatif faz):**

Bu fazda HBeAg negatif, Anti-HBe pozitiftir. HBV DNA düşüktür, bazı hastalarda kanda polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile bile göstermek mümkün değildir. ALT normaldir, karaciğerde nekroinflamatuvar aktivitenin azlığı veya yokluğu ile karakterizedir. İnaktif taşıyıcılarda yılda %1-3 oranında, özellikle hasta ileri yaşta ise, spontan HBsAg kaybı ve anti-HBs pozitifliği olabilir, ancak bu vakaların %4-20'sinde ileride yeniden reaktivasyon ve tekrar HBeAg pozitifliği görülebilir. Karaciğer sirozu gelişmeden HBsAg kaybı olan hastalarda prognoz çok iyidir. Aktivitenin şiddetli olduğu küçük bir hasta grubunda bir süre sonra siroz veya HCC gelişebilir. Bu geçişin gözden kaçmaması için 3-6 ayda bir ALT ve yılda bir HBV DNA'nın periyodik takibi yararlıdır.

**HBeAg negatif kronik hepatit B fazı (reaktivasyon fazı):**

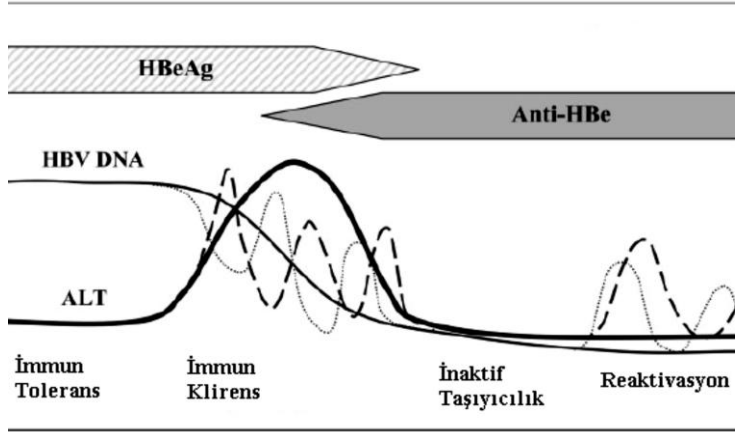
Bazı inaktif taşıyıcılarda bir süre sonra viral replikasyonun yeniden başlamasıyla HBeAg negatif, anti-HBe pozitif olmasına rağmen ALT ve HBV DNA düzeylerinde dalgalanmalar olabilir. Bu reaktivasyon spontan ya da immünsüpresif tedavi sonucu olabilir.

HBeAg negatif kronik hepatit B erkeklerde ve ileri yaşlarda (>40) daha sık görülür. Daha şiddetli karaciğer hastalığı, daha düşük oranda spontan remisyon ve daha düşük oranda antiviral tedaviye cevap ile karakterizedir. Yaygınlığı, HBV ile enfekte popülasyonun yaşlanması sonucu olarak son 10 yılda artmıştır. Başta Güney Avrupa olmak üzere Avrupa'da birçok bölgede bu tip çoğunluğu oluşturmaktadır (>%60). Bu vakaların prognozu kötüdür. Fibrozis artışı, karaciğer sirozu veya HCC riski yüksektir, remisyon oranı düşüktür. Ayrıca küçük bir kısım hastada (<%2) tekrar HBeAg pozitifliği ile seyreden kronik hepatit B gelişebilir. Bu grupta da prognoz kötü, hastalığın seyri hızlıdır.

**HBsAg negatif faz (rezolüsyon fazı):**

Nadiren bir kısım hastada HBsAg negatifleşmesinden sonraki dönemde serumda düşük düzeylerde HBV DNA, karaciğer dokusunda HBV

DNA tespit edilebilir. Bu hastalarda HBsAg kaybına rağmen bazı durumlarda 'Occült HBV' enfeksiyonu görülebilir. Bu durumun klinik önemi tam bilinmemekle beraber özellikle immünsupresif tedavi alanlarda önem kazanmaktadır (29) (Şekil-4).



**Şekil-4:** Kronik hepatit B enfeksiyonu seyrindeki fazlar (32).

Kronik HBV enfeksiyonu seyri sırasında kötü prognozu gösteren belirtiler;

- Erken yaşta HBV bulaşı,
- İmmüntolerans fazın uzun olması (>30-40 yıl ),
- HBeAg serokonversiyonunun ataklar halinde olması, uzun sürmesi ve sonuçta HBeAg pozitifliği ve yüksek HBV DNA'nın kalması (en kötü prognozlu grup),
- Karaciğer histolojisinin kötü olması,
- Hastalığın seyri sırasında ALT ve HBV DNA'nın dalgalanma göstermesidir.

İyi prognoz belirtileri ise;

- HBV bulaşının ileri yaşta olması,
- İmmün klirens döneminin kısa sürmesi (hiç yok ya da birkaç ay),
- İmmün klirensin spontan (habersiz) olması veya hafif geçmesi (en iyi prognozlu grup),
- HBeAg kaybının kısa sürede olması ve HBV DNA'nın düşük veya tespit edilemeyecek düzeyde olması,

- Karaciğer histolojisinin iyi olmasıdır (29).

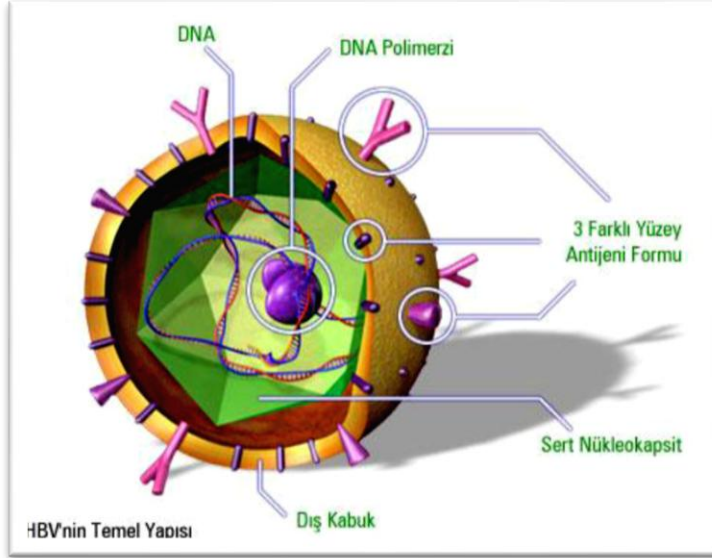
Kronik hepatit B'li hastalarının büyük çoğunluğu asemptomatiktir. Bir kısım hastada halsizlik, bulantı, üst abdominal ağrı, kas ve eklem ağrısı, çabuk yorulma, iştah değişiklikleri gibi özgül olmayan şikayetler vardır. Hastalara daha çok ilerleyen aşamada tanı konur. Kronik hepatit B'li hastaların bir kısmı siroza ilerlediği için hastalarda karaciğer sirozuna ait belirtiler de olabilir. Sirozu olan hastalarda sarılık, splenomegali, asit, spider anjioma, periferik ödem ve ensefalopati görülebilir (33). Kronik hepatit B hastalarının %10-20'sinde dolaşan immün komplekslere bağlı olduğu düşünülen karaciğer dışı bulgular olabilir. En önemli karaciğer dışı iki komplikasyon poliarteritis nodosa ve glomerülonefrittir (34-36).

#### 4. Viroloji

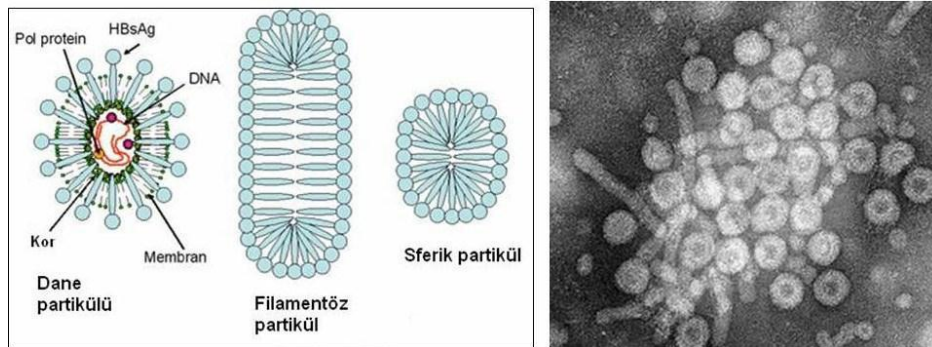
HBV, Hepadnaviridae ailesinin orthohepadnavirus cinsinde yer alan replikasyon siklusunu primer olarak karaciğerde gösteren (hepatotrop), zarflı ve kısmen çift sarmallı bir DNA virüsüdür (37) (Şekil 5). 3200 nükleotidden oluşan genomik yapısı ile bilinen hayvan DNA virüsleri içinde en küçük olanıdır. Hepadnaviridae ailesinin üyeleri içinde insanlarda enfeksiyon oluşturan tek türdür (11). HBV bir DNA virüsü olmasına karşın ters transkriptaz (revers transkriptaz; RT) enzimini kodlar ve RNA aracılığı ile replike olur. Konak hücre yüzeyinden kazanılmış olan lipid zarf üzerinde üç formda viral yüzey antijeni bulunur: Büyük (L) pre-S1'i, orta (M) pre-S2'yi ve küçük (S) HBsAg'yi meydana getirir. Virusun kapsidi 27 nm çapındadır; çekirdek antijeni (HBcAg), enfektivite antijeni (HBeAg) ve viral genom ile polimeraz enzimini içerir.

HBV ile enfekte hastaların kanında elektron mikroskobu ile üç ayrı viral partikül gösterilmiştir. 42-47 nm çapında olan partiküller (Dane partikülü) tam HBV virionu olup enfeksiyözüdür. 17-25 nm çapındaki sferik yapılar ile 17-25 nm eninde ve birkaç yüz nm (50-500 nm) boyundaki filamentöz partiküller enfeksiyöz değildirler (38, 12). Dane partikülünde: bir adet sirküler, kısmi çift sarmallı DNA, DNA polimeraz ve RNase H aktiviteli enzim, ikozahedral

yapıda, tek bir fosfoprotein (HBcAg) kopyalarından oluşan kapsid, virüsün kodladığı üç adet protein (HBsAg) ve hücreden kazanılan lipidlerden oluşan zarf bulunur (Şekil 6).



**Şekil-5:** HBV'nin temel yapısı (37).



**Şekil-6:** HBV partiküllerinin şematik yapısı (solda) ve elektron mikroskopik görüntüleri (sağda) (39).

HBV zarflı bir virüs olmasına rağmen diğer zarflı virüslere göre çevre koşullarına daha dirençlidir. Eter, asit (pH 2,4) de en az 6 saat ve ısı (98°C'de 1 dakika, 60°C'de 10 saat)'da immunojenite ve antijenik özellik kaybolmadığı halde enfektivite kaybolmaktadır. Eğer virüs yoğunluğu çok fazla ise bu işlemler sonucu inaktivasyon tam olmamaktadır. HBsAg, %2,5 sodyum hipoklorit varlığında 3 dakikada antijenik özelliğini ve enfektivitesini kaybetmektedir. Serumda enfektivite doğrudan kaynatmakla 2 dakikada,

121°C'de 0,5 atm basınç altında 20 dakikada, 160°C'de 10 saatte kaybolmaktadır. Son çalışmalar HBV'nin sodyum hipoklorit ile 10 dakikada, %0,1–2 aköz glutraldehit, %70 izopropil alkol, %80 etil alkolde 2 dakikada inaktive olduğunu göstermiştir. HBV, 30-32°C'de saklandığında en az altı ay, -20°C'de 15 yıl enfektif özelliğini korur. HBsAg içeren kan ve kan ürünlerinin ultraviyole ışınlarına tabi tutulması enfektiviteyi etkilemez (40-42).

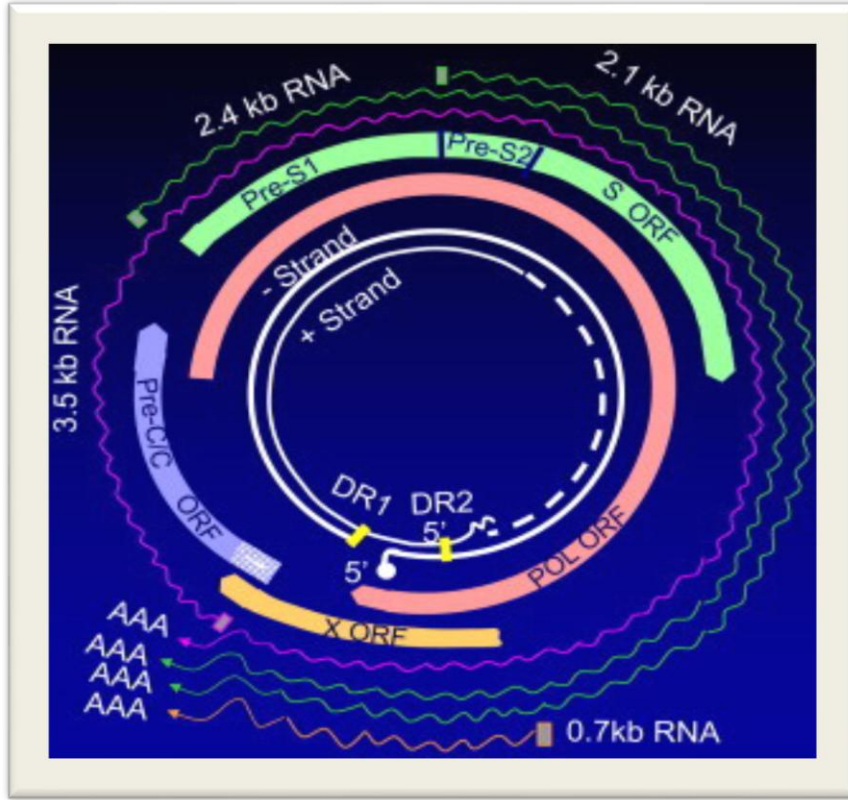
HBV genomu 4 açık okuma bölgesi (open reading frame, ORF) içermektedir.

**1. S geni:** Pre-S1, pre-S2 ve S bölgelerinden oluşur, virüs yüzey veya zarf antijenini (hepatitis B surface antigen-HBsAg) kodlayan genidir. Hepatositlerden salınır ve hepatik hasarda önemli rol oynar. HBsAg viral nükleokapsidi saran zarfı oluşturur. Dane partikülü HBV'nin tamamını oluşturur ve HBsAg nükleusta değil konak sitoplazmasında üretilir. HBsAg'deki aminoasit farklılıklarına göre a, d, y, w ve r antijenik yapı farklılıkları oluşur. Ancak "a" bütün HBsAg pozitif hastalarda olup, buna karşı oluşan anti-HBs antikoruna bağımlılığı sağlar. Buradaki antijenik farklılıktan dolayı adw, ayw, adr, ayr diye 4 alt tipi vardır.

**2. C geni:** Kor veya nükleokapsid genidir. Kor partikülü içinde toplanan hepatit B core antigen (HBcAg)'ini kodlar. HBcAg sadece karaciğer hücrelerinde tespit edilebilir. Bu antijenin karboksi terminalinin bir bölümünden HBeAg'i kodlanarak ekstrasellüler bölgeye salınır. Ekstrasellüler alanda HBeAg solubl formdadır. HBeAg, replikasyonun ve enfeksiyözitenin göstergesidir. HBeAg negatif prekor mutantlarda bu antijen salınmamakta, fakat replikasyon devam etmektedir.

**3. P geni:** P proteini (polimeraz geni), viral genomun büyük bir kısmını (dörtte üçünü) kaplar. DNA bağımlı DNA polimeraz ve Ribonükleik Asit (RNA) bağımlı revers transkriptaz aktivitesindeki temel bir polipeptidi kodlar.

**4. X geni:** X geni HBV genomundaki en küçük gen bölgesidir. Viral replikasyon için önemli olan iki transkripsiyon aktivatörünü kodladığı düşünülen küçük bir genidir. HBxAg'yi kodlar. Bu antijen hepatosit gen aktivatörü olarak bilinir. Onkojeniteyi potansiyalize eden, hepatoma veya kronikleşme ile ilişkili antijendir (43, 44) (Şekil 7).



**Şekil-7:** HBV'nin genomik organizasyonu ve sentezlenen RNA'lar (45).

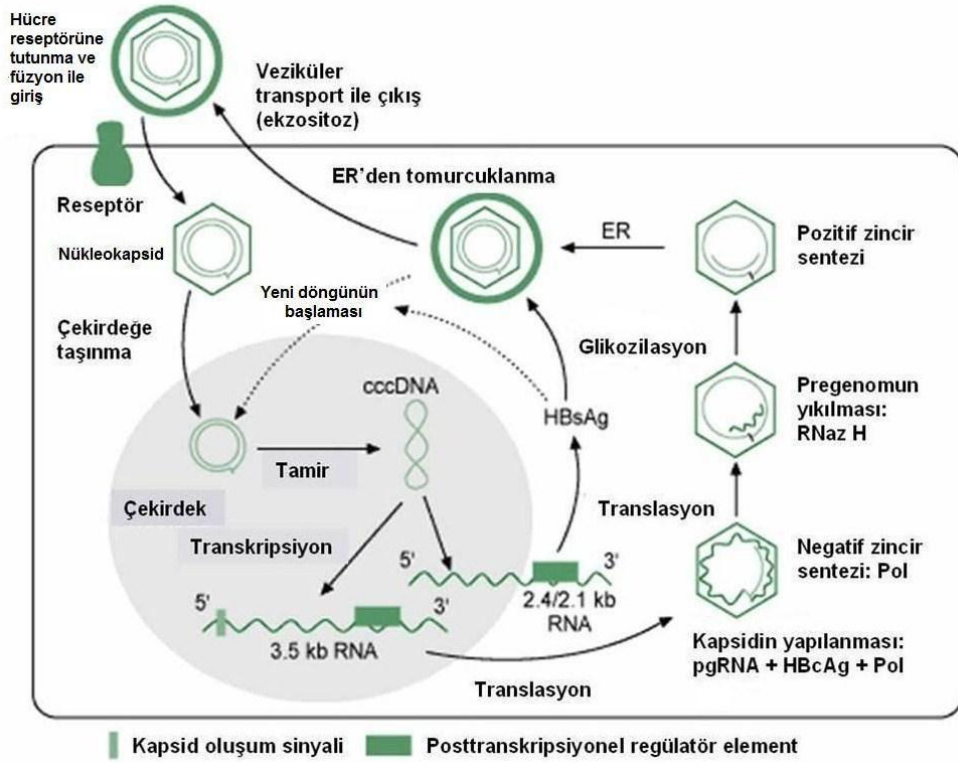
### **Viral Replikasyon:**

HBV'nin plazma yarı ömrü 24 saat olup günlük virion üretimi  $10^{11}$  kadardır. Prodüktif enfeksiyon çok kısıtlı hücrede gerçekleşir, HBV'nin tek kanıtlanmış enfeksiyon bölgesi hepatositlerdir. Safra kanalı epitelyum hücreleri, böbrek ve lenfoid dokular da replikasyon bölgesi olabilir fakat hepatosit dışındaki replikasyon bölgelerinin viral patogenezdeki rolü henüz tartışmalıdır. Lenfositlerdeki replikasyon, viral persistans için ikincil bir rezervuar olabilir (46).

HBV replikasyonu virüsün hücre yüzeyine tutunması ve hücre içine girmesi ile başlamaktadır. HBV'nin hepatositlere tutunması, zarf yapısında en fazla yoğunlukta bulunan büyük zarf proteinlerinin (LHBs) uç kısmındaki viral alt tiplere göre 109 ya da 120 aminoasit büyüklüğünde olan preS1 bölgesinde tutunma aktivitesinden sorumlu kısım 21-47. aminoasitler olarak tanımlanmıştır (47-49). Tutunma gerçekleştikten sonra virüs zarfı ve hücre membranı arasında füzyon meydana gelir ve nükleokapsid sitoplazmaya salınır. Sitoplazmaya geçen nükleokapsidler, hücrenin transport sistemi ile

çekirdek membranına taşınır ve burada kapsidin enzimatik olarak parçalanması ile viral DNA çekirdek porlarından içeri bırakılır (50). Çekirdekte açığa çıkan viral genomun eksik olan pozitif iplikçığı tamamlandıktan sonra kovalent bağlı, kapalı çembersel yapı oluşturulur. Bu yapı viral DNA'nın RNA sentezinde kalıp görevi yapabilmesi için gereklidir ve kovalent bağlarla kapanmış dairesel DNA (covalently closed circular DNA=cccDNA) olarak adlandırılır. Replikasyonun normal seyri sırasında, HBV DNA'nın konak genomuna integrasyonu görülmez. Viral mRNA'ların transkripsiyonunda kalıp görevini yapan cccDNA, viral mini kromozomlar oluşturacak şekilde nükleozomların içinde organize olur (51).

Kalıp olarak kullanılan cccDNA'dan konak hücre RNA polimeraz II enzimi kullanılarak 4 tip messenger RNA (mRNA) sentezlenir. "Kor promoter" bölgesi viral replikasyonun merkezidir ve negatif iplikçikten pregenomik RNA (pgRNA) olarak adlandırılan 3,5 kb'lık en büyük RNA'yı sentezletir. Sentezlenen mRNA'lar sitoplazmaya taşınarak translasyona uğrar ve viral proteinler sentezlenir. Genomdan daha uzun olan 3,5 kb'lık kalıp, viral replikasyondan, pre C/C ve polimeraz proteinlerinin ekspresyonundan sorumludur. 2,4 kb'lık transkriptten ise pre-S1, pre-S2 ve HBsAg kodlanırken, 2,1 kb'lık transkriptten de pre-S2 ve HBsAg kodlanır. 0,7 kb'lık en küçük transkriptten ise X proteini sentezlenir. Translasyon sırasında oluşan pregenomik RNA (pgRNA), kor partikülü içine yerleşir. Konak hücre sitoplazmasında devam eden replikasyon boyunca 3,5 kb'lık RNA'dan negatif DNA iplikçığı sentezlenir (52). Bu sentezlenme sırasında eş zamanlı olarak enzimin RNase-H aktivitesi ile pgRNA yıkılır. Polimeraz aktivitesi ile negatif iplikçikten pozitif iplikçik sentezlenir. RNA içeren kapsid, DNA içeren kapsid haline olgunlaşırken sitoplazmada çift yönlü olarak hareket etmektedir. Birinci yol, endoplazmik retikulum (ER) membranından zarf proteinlerinin alınması ve golgi kompleksine taşınarak buradan tomurcuklanma ile virionların hücre dışına salgılanması (ekzositoz) ile sonlanır; ikinci yol nükleokapsidin çekirdeğe geri taşınmasıyla cccDNA havuzunun çoğaltılması ve yeni döngünün başlamasını sağlar (53) (Şekil 8).



**Şekil-8:** Hepatit B replikasyon döngüsü(54).

### HBV Genotipleri

S geninde % 4, diğer tüm genom dizisinde de % 8 oranında görülen varyantlar HBV'nin genotipleri olarak tanımlanır. İlk dört genotip, A-D ilk defa 1988 yılında izole edilmiş ve tanımlanmıştır (55). Genotip A sıklıkla kuzeybatı Avrupa, Afrika Sahara Çölü'nün güney kısımlarında, Hindistan'da ve Amerika'da görülmektedir. Genotip B ve C genellikle Güneydoğu Asya ve Okyanusya'da bulunurken, Genotip D Akdeniz bölgesinde, Orta Asya'da ve Güney Amerika'da pandemiktir. 1994 yılında E ve F olarak adlandırılan 2 farklı genotipi daha tanımlanmıştır. Genotip E batı Afrika ile sınırlıyken, genotip F'nin en sık görüldüğü bölgeler orta ve güney Amerika'dır (56). İlk olarak 2002 yılında tanımlanan genotip G genellikle Fransa ve Amerika'da görülürken yine 2002 yılında tanımlanan genotip H orta Amerika'ya özgüdür (57). Genotiplerin tahmin edilen prevalansı genotip A için %35; genotip B için %22; genotip C için %31; genotip D için %10 ve geriye kalanlar için %2 civarındadır (3, 58, 59). Bazı genotipler örneğin Ae, Bj, Aa, Ba, C ve D daha ciddi seyirli kronik HBV enfeksiyonuna yol açmaktadır ve HCC gelişme riski daha yüksektir (60) (Şekil 9).





**Şekil-9:** HBV genotiplerinin coğrafik dağılımı (61).

S proteinin oluşturan aminoasit dizilerinin belli bölgelerdeki farklılıklarına göre *ayw1*, *ayw2*, *ayw3*, *ayw4*, *ayr*, *adw2*, *adw4*, *adrq-*, ve *adrq+* olarak dokuz ayrı subtip tanımlanmıştır. Bütün subtiplerde ortak “a” determinanti, virüsün dış yüzeyindeki S proteininde 124 - 147. aminoasitler arasında yer alır. S proteinindeki diğer determinantlar ise 122. (*d* veya *y*) ve 160. (*w* veya *r*) pozisyonlarda bulunan aminoasitler ile belirlenir. “*d*” ve “*w*” subtip determinantlarının her iki pozisyonunda lizin, *y* ve *r* ‘de ise arjinin vardır (10, 62) (Tablo 2).

**Tablo-2:**HBV genotip ve subtiplerinin coğrafi dağılımı (63)

GENOTİP	SUBTİP	COĞRAFİ DAĞILIM
A	<i>adw2</i> <i>ayw1</i>	Kuzeybatı Avrupa, Kuzey Amerika, Afrika
B	<i>adw2</i> <i>ayw1</i>	Endonezya, Çin, Vietnam
C	<i>adw2</i> <i>adr</i> <i>ayr</i>	Doğu Asya, Kore, Çin, Japonya
D	<i>ayw2</i> <i>ayw3</i>	Akdeniz Bölgesi, Hindistan
E	<i>ayw4</i>	Batı Afrika
F	<i>adw4</i> <i>adw</i>	Orta ve Güney Amerika, Polinezya
G	<i>adw2</i>	ABD, Avrupa
H	<i>adw3</i>	Orta Amerika

Türkiye’de tüm yaş gruplarında yaygın olarak görülen hepatit B virüsünün genotipi D, subtipi ise *ayw*’dir (64). Genotip A kronik karaciğer hastalığına daha çok yol açmasına karşın genotip D’ye göre interferon

tedavisine daha iyi yanıt vermektedir. İnterferon yanıtı genotip B'de genotip C'den daha iyidir. Kalıcı biyokimyasal yanıt, HBV DNA klirensi ve HBsAg kaybı genotip D ile karşılaştırıldığında genotip A'da daha yüksek orandadır. Daha fazla karaciğer hasarı, siroza progresyon HBeAg'nin uzun süre serumda bulunması, anti-HBe serokonversiyonun gecikmesi ve hepatosellüler karsinoma sıklığı genotip C 'de genotip B'ye göre daha fazladır (65).

### **HBV Mutasyonları**

Hepatit B virüs enfeksiyonu, HIV ve HCV enfeksiyonlarında olduğu gibi yüksek düzeyde virion üretimi ve yıkımı ile karakterizedir. Replikasyonun immün sistem ya da ilaçlar tarafından baskılanmadığı dönemlerde, günde yaklaşık  $10^{11}$  virionun meydana geldiği tahmin edilmektedir. HBV'nin plazma yarı ömrü 1-3 gün olmasına karşın virüsle enfekte hepatositlerin yarı ömrü 10-100 gün arasında değişmektedir. HBV, bir DNA virüsü olmasına rağmen, yaşam siklusu sırasında pgRNA'dan revers transkripsiyonla DNA sentezler. Revers transkriptaz enziminin hata düzeltme (proof-reading) aktivitesinin olmaması, yoğun virion üretimi ile birlikte yüksek düzeyde mutant oluşumuna yol açmaktadır. HBV polimerazının hata oranının yılda nükleotid başına  $1.4 \times 10^{-5}$ -  $5 \times 10^{-5}$  olduğu hesaplanmıştır. Bu hata düzeyi, retroviruslara yaklaşık bir oran olmakla birlikte DNA virüslerinden  $10^4$  kat yüksektir. Oluşan viral mutantlar, endojen (fonksiyonel kısıtlamalar, immün sistemin etkileri, vb) ve ekzojen (aşılama, ilaç tedavisi, vb) faktörlerle sınırlandırılmakla birlikte, bu faktörlerin seçici baskısı yeni mutantların ortaya çıkmasına da neden olabilmektedir. Diğer bir deyişle, konaktaki virüse herhangi bir avantaj sağlayan mutasyonu taşıyan suşlar seçilerek baskın popülasyon haline gelecektir. Dolayısıyla enfekte bir kişideki virüs popülasyonu, genetik olarak yakın, ancak farklı özelliklere sahip varyantların (quasispecies; türümsü) bir kombinasyonu olarak karşımıza çıkacaktır (58, 66).

HBV'de oluşabilecek mutasyonlar klinik açıdan önemlidir. Bunlar;

- virüsün replikasyonunu arttırabilir,
- virüsün antijenik yapısını değiştirerek bağışık yanıtı kaçabilmesine yol açabilir,

- virüsün hücreye girişini ve integrasyonunu kolaylaştırabilir,
- antiviral ilaçlara direnç gelişmesine yol açabilir.

Genom üzerindeki herhangi bir yerde (S, pre C/C, X, P, promotor ve enhancer) ortaya çıkabilen bu mutasyonlar;

- tek bir taban bazınının değişimi (nokta mutasyonu),
- bir veya daha fazla sayıda nükleotidin silinmesi,
- aynı sekansın düz veya ters biçimde tekrar edilmesi,

nükleotid sekanslarının yeniden düzenlenmesi gibi farklı genetik mekanizmalarla oluşabilir (67, 68).

### **Basal Core Promoter/Precore ve Core bölgelerinde izlenen mutasyonlar:**

Basal core promoter/precare ve core bölgelerinde izlenen mutasyonlar sonucu HBeAg ekspresyonu ortadan kalkar. Bu sonuca neden olan iki grup mutasyon tespit edilmiştir. Birincisi precare bölgesinde stop kodonu oluşturarak translasyonu durduran mutasyondur. Precare bölgesinde 1896. nükleotitte izlenen mutasyonla TGG kodonunda sondaki guaninin adenine değişimi ile TGA stop kodon haline gelmekte ve HBeAg'nin prekürsör proteini oluşmamakta, HBeAg ekspresyonu durmaktadır. Diğer mutasyon ise basal core promoter bölgesini etkilemekte ve precare ve core RNA'ların transkripsiyonunda azalma şeklinde kendini göstermektedir. Bu mutasyonlar sıklıkla 1762. ve 1764. pozisyonunda gerçekleşir (69).

### **Zarf bölgesi mutasyonları:**

PreS bölgesi HBV genomunun en yüksek heterojenlik izlenen bölgesidir. Hepatit B virüsü taşıyıcılarında bu bölgede noktamutasyonları ve delesyonlar görülür. PreS2 proteinlerini sentez edemeyen virüsler asemptomatik taşıyıcılarda baskın olarak karşımıza çıkmaktadır.

HBsAg'nin 'a' antijenik yapısındaki 145. aminoasidinde glisinine yerine arjinin aminoasidinin gelmesi, ya da 144. aminoasitte aspartat yerine alanin gelmesi sonucu anti-HBs'nin etki edemeyeceği, koruyuculuğunun olmadığı mutantlar gelişir. Bu tür mutantların, hepatit B aşısı virüsü ile veya uzun süreli uygulanan (örneğin transplant hastaları) hepatit B hiperimmünglobulini ile karşılaşma sonrası gelişebileceği bildirilmektedir (70).

### **X bölgesi mutasyonları:**

X proteininin sentezi ve özellikleri, bazal kor promoter bölge mutasyonlarından etkilenmektedir. Bu bölge mutasyonları x geninde de değişikliklere neden olmakta, sonuçta HBx antijeni transaktivasyon aktivitesi kazanamamaktadır (71).

### **Polimeraz bölgesi mutasyonları:**

Polimeraz geni HBV'nin en büyük geni olup diğer üç gen ile de overlap'lar yapmaktadır. Bu nedenle gen üzerindeki değişiklik genellikle diğer genlerde de değişikliğe neden olmaktadır. Bunun için doğal olarak polimeraz mutasyonlarına çok az rastlanır. Bugün için polimeraz geni mutasyonları dendiğinde akla nükleozid analoglarına karşı direnç sağlayan mutasyonlar gelmektedir (72).

HBV polimerazının primer katalitik bölgesi "revers transkriptaz" enzimidir. Bu enzim A, B, C ve D bölgeleri içerir. Revers transkriptazların aktif bölgesinde (C bölgesi) polimerizasyon aktivitesi için gerekli olan yüksek derecede korunmuş tirozin-metionin-aspartat-aspartat (YMDD) motifi bulunur. HBV enfeksiyonunun doğal seyri sırasında polimeraz gen mutasyonları nadiren ortaya çıkmakta ve interferon tedavisi boyunca polimeraz mutasyonları indüklenmemektedir (73).

Günümüzde kronik B hepatiti tedavisinde lamivudin ve adefovir gibi antiviral ilaçlar, HBV replikasyonunu baskılamak amacıyla kullanılmaktadır. Bu ajanlar HBV replikasyonunu baskılamakta etkili olmakla birlikte, uzun süreli kullanımlarından sonra ilaca dirençli HBV suşları ortaya çıkmaktadır. HBV pol geninin katalitik (C bölgesi) bölgesinde yer alan YMDD motifini etkileyen mutasyonlar lamivudin direncinden sorumludur (74-76). LAM tedavisi sırasında görülen en önemli polimeraz mutasyonları, metiyoninin valin veya isolösine dönüşmesi (rtM204I/V) şeklinde görülür. rtM204I mutasyonu tek başına ilaç direnci sağlayabilirken, rtM204V mutasyonu sıklıkla pol geninin B bölgesinde yer alan 180. kodondaki lösün metiyonin (rtL180M) mutasyonu ile birlikte görülmektedir. Bu birliktelik her bir mutasyonun tek başına yol açtığı ilaç direncinden daha kuvvetli bir dirence neden olur. 204. kodondaki her iki mutasyon da virus replikasyonunu

azaltmaktadır. Ancak, C ve B bölgesinde birlikte mutasyon olan suşlarda replikasyon, sadece C bölgesinde mutasyon olan suşlardan daha fazladır (73).

Çalışmalarda LAM direnci ile ilişkili rtM204V (YVDD) ve rtM204I (YIDD) mutasyonları saptanmışken 2001 yılında yapılan bir çalışmada YMDD motifinde yeni bir mutasyon bildirilmiştir. Daha nadir görülen bu mutasyonda 204. kodonda metiyonin yerine serin aminoasiti [rtM204S (YSDD)] gelmektedir (74). Primer LAM direnç mutasyonlarının, rtM204I/V/S olduğu bilinmektedir. rtL80I/V, rtV173L, rtL180M mutasyonlarının tek başına dirence neden olmayan ancak YMDD motif mutasyonları ile birlikte bulunduğu hem replikasyonu arttıran hem de dirence neden olan destekleyici mutasyonlar olduğu bildirilmiştir. A181T ilk olarak uzun süreli LAM tedavisi alan hastalarda YMDD mutasyonu olmadan saptanmıştır, fakat yakın zamanda adefovir tedavisi sırasında da gözlenmiştir (77, 78).

YMDD mutasyonları S genini de etkilemekte ve 529. pozisyondaki alanin yerine treonin aminoasitinin geçmesi S geninde stop kodon oluşturmakta ve HBsAg sekresyonunun durmasına neden olmaktadır. Yine (rtV173L) mutasyonu da S geni 164. kodonunda değişikliğe neden olarak HBsAg'ye karşı immün yanıtı etkilemektedir (38).

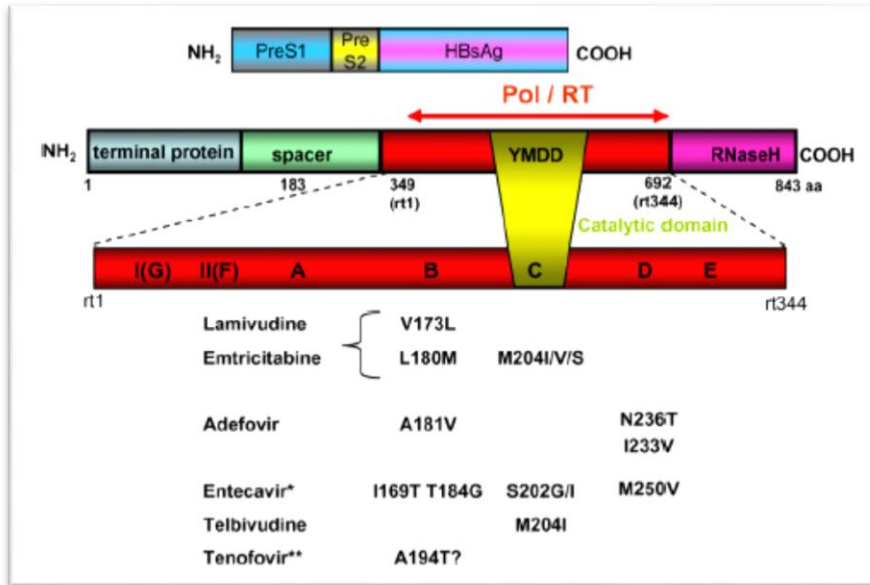
**Tablo-3:** Lamivudin direncine neden olan mutasyonların gruplandırılması (79).

GRUP	rtL80V/I	rtV173L	rtL180M	rtA181T	rtM204V	rtM204I	rtM204S
I	-	-	+	-	+	-	-
II	-	-	-	-	-	+	-
III	+	-	-	-	-	+	-
IV	-	-	+	-	-	+	-
V	-	+	+	-	+	-	-
VI	-	-	-	+	-	-	-
VII	-	-	+	-	-	-	+

Adefovir kullanan hastalarda dirence neden olan mutasyonlar pol geninin B bölgesindeki rtA181V/T ve D bölgesindeki rtN236T aminoasit değişiklikleridir. rtA181V/T mutasyonunda adefovir duyarlılığı 2-4 kat

azalırken, rtN236T mutasyonu, duyarlılığı 7-13 kat azaltmaktadır. Yakın zamanda rtV214A, rtQ215S, rtI233V mutasyonlarının da adefovire dirençten sorumlu olabileceği gösterilmiştir (80). Lamivudine dirençli olgular genellikle adefovire duyarlı olmasına karşın adefovir ile ilgili deneyimlerin artmasıyla her iki ilaca da farklı düzeylerde direnç gösteren rtA181T/V, rtV214A / rtQ215S ve A bölgesi (80, 84, 85. kodon) mutasyonlarını taşıyan suşların varlığı gösterilmiştir (81). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada LAM tedavisi başarısız olan hastalarda adefovir (ADV) direnci gelişiminin daha hızlı olduğu bildirilmiştir (77).

Entekavir, lamivudine dirençli suşları hızla baskılayabilir. Ancak; polimerazın revers transkriptaz bölgesinde meydana gelen bazı mutasyonlar, bu ilaca da dirence neden olabilmektedir. Entekavir direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar B bölgesindeki rtT184G ve rtI169T, C bölgesindeki rtS202I ve D bölgesindeki rtM250V mutasyonlarıdır (58) (Şekil-10).



**Şekil-10:** HBV polimeraz direnç mutasyonları(82).

## 5. HBV Enfeksiyonunun Tanısı

HBV enfeksiyonunun tanısı temel olarak serolojik ve moleküler yöntemlere dayanmaktadır. Bu yöntemler akut enfeksiyonun erken tanısında,

akut ve kronik enfeksiyonun birbirinden ayırt edilmesinde, vireminin kalıcılığının tespit edilmesinde, bağışıklık durumunun tayininde, kan ve organ donörlerinin taranmasında kullanılmaktadır. Moleküler yöntemlerden serolojik yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda tanı konulmasında, değişik HBV serolojileri varlığında antiviral tedaviye karar verme ve tedavinin takibinde, mutant virüs enfeksiyonlarının neden olduğu karışıklıkların aydınlatılmasında ve hepatosellüler karsinom oluşum mekanizmasının araştırılmasında yararlanılmaktadır (83, 13).

Bu özgül testlerin yanı sıra biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerde hastalığın takip ve tedavisinin belirlenmesi, prognozu açısından yol göstericidir. Bu testlerden karaciğer parankim hasarını saptamada aminotransferazlar özellikle de karaciğere daha spesifik olan ALT oldukça yararlıdır. Histopatolojik olarak da Histopatolojik Aktivite İndeksi (HAI) ve fibrozis skorları önemlidir.

### **Serolojik Tanı Yöntemleri**

HBV'nin serolojik tanısı, virus tarafından kodlanan antijen ve bu antijenlere karşı konak savunma mekanizması tarafından oluşturulmuş antikörlerin saptanmasına dayanır. HBsAg'ye karşı anti-HBs, HBeAg'ye karşı anti-HBe ve serumda serbestçe dolaşmayan sadece hepatositlerde bulunan HBcAg'ye karşı anti-HBc saptayabildiğimiz belirteçlerdir. Tanıda ilk önce akut- kronik enfeksiyon ayırımı yapılır (84) (Tablo-4).

**Tablo-4:** HBV enfeksiyonunun farklı dönemlerinde serolojik ve moleküler göstergeler (84)

HBV enfeksiyonunun evresi		Serolojik HBV göstergeleri					HBV-DNA
		HBsAg	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBc	
Akut enfeksiyon	Erken dönem	+	-	+	-	IgM	+
	Pencere dönemi	-	-	-	-	IgM	+/-
	Düzelme dönemi	-	+	-	+	IgG	+/-
Kronik enfeksiyon	Replikatif dönem	+	-	+	-	IgG, IgM	>100.000 kopya/mL
	Nonreplikatif/inaktif taşıyıcılık dönemi	+	-	-	+	IgG	<100.000 kopya/mL
	Reaktivasyon	+	-	+/-	-	IgM	>100.000 kopya/mL
	HBeAg (-) kronik enfeksiyon (precore veya core mutant)	+	-	-	+	IgG	>100.000 kopya/mL

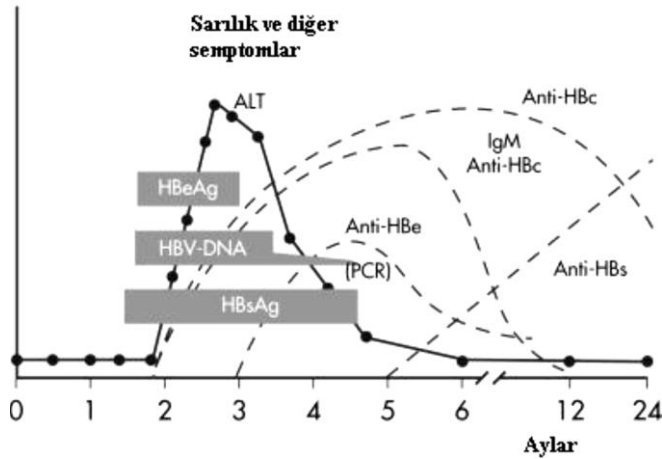
### Akut Enfeksiyon

Akut HBV enfeksiyonu sırasında saptanan ilk gösterge HBsAg'dir. Hastalık belirtileri başlamadan 3-5 hafta önce serumda saptanabilir düzeye ulaşmakta ve akut enfeksiyon sırasında en yüksek düzeye çıkmaktadır. İyileşme ile sonlanan olgularda 2-6 ay içinde azalarak ortadan kaybolmaktadır. HBsAg kaybolduktan kısa bir süre sonra HBsAg'ye karşı oluşan ve genellikle hayat boyu kalıcı olan anti-HBs antikoru ortaya çıkmaktadır.

Anti-HBs antikoru nötralizan özelliğe sahip koruyucu antikordur. Aslında anti-HBs, akut hastalık sırasında daha erken dönemde oluşmakta, ancak çok fazla miktarda HBsAg varlığı nedeniyle antijen tarafından bloke edilmekte ve bu şekilde oluşan immün komplekslerin anti-HBs'nin saptanmasını maskeleyiği düşünülmektedir. HBsAg'nin kaybolduğu ve henüz



anti-HBs antikorlarının saptanamadığı bu döneme “pencere dönemi” adı verilir. Bu dönemde hem HBsAg hem de anti-HBs negatif olarak bulunduğundan, akut enfeksiyonun tek göstergesi anti-HBc IgM ve/veya total pozitifliğidir. Akut enfeksiyondan sonra anti-HBs antikorlarının oluşması, iyileşmeyi ve kazanılan bağışıklığı ifade eder. Anti-HBs pozitifliği, geçirilmiş akut enfeksiyon dışında hepatit B aşısı ile bağışıklama, hepatit B immünooglobulin uygulaması, kan transfüzyonu ve anneden bebeğe pasif geçiş durumlarında da saptanabilmektedir. Pasif olarak alınan bu antikorlar birkaç ay içinde ortadan kaybolmaktadırlar. Serumda anti-HBs düzeyinin >10 mIU/mL olması bağışıklık seviyesinin üzerinde bir antikor titresinin var olduğunu ve kişinin bağışık olduğunu gösterir. HBsAg ‘nin serumda 6 aydan uzun süre saptanması enfeksiyonun kronikleştiğini gösterir (84) (Şekil-11).



**Şekil-11:** Akut HBV enfeksiyonunda tanısal göstergeler (85).

Akut enfeksiyon sırasında HBsAg'nin ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra serumda HBeAg belirlemekte ve HBsAg negatifleşmeden önce kaybolmaktadır. Serumda HBeAg'nin varlığı bulaşıcılık, enfektivite ve aktif viral replikasyon ile ilişkilidir. HBeAg'nin kaybolmasından kısa bir süre sonra anti-HBe antikorları ortaya çıkmaktadır. Anti-HBe antikorlarının serumda tespit edilmesi viral replikasyonun azaldığını ve hastalığın iyileşmeye doğru gittiğini göstermektedir. Ancak prekor bölgesinde mutasyon sonucu oluşan mutant suşların meydana getirdiği enfeksiyon sırasında HBeAg ekspresyonu olmamasına, hasta serumunda anti-HBe pozitif olmasına rağmen aktif viral

replikasyon ve enfeksiyon tablosu devam etmektedir, siroz ve HCC gelişimi için risk oluşmaktadır. Bir diğer farklı durum ise serumda HBeAg pozitif olmasına rağmen viral replikasyonun göstergesi olan HBV DNA'nın saptanamamasıdır. HBeAg'nin serumdaki varlığının 3-4 aydan uzun sürmesi kronik enfeksiyona gidişi göstermektedir. Kronik enfeksiyonda HBeAg'nin pozitifliğinin sürmesi ise ağır karaciğer hastalığı gelişme riskini artırmaktadır (84).

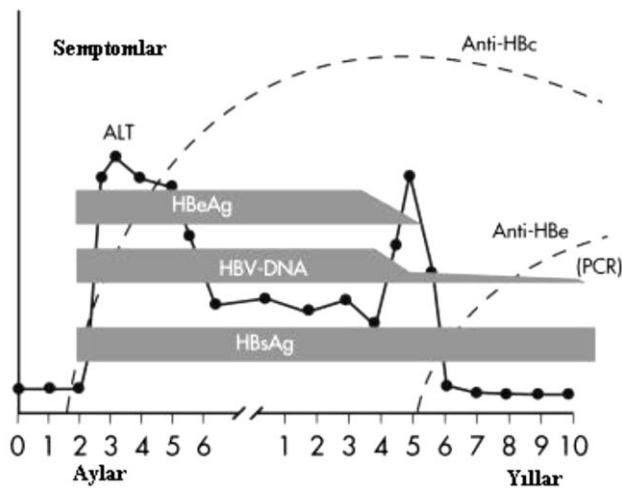
Core proteinine karşı oluşan IgM tipi antikolar, HBsAg'nin pozitifleşmesinden kısa bir süre sonra oluşan ilk HBV antikolarıdır. Anti-HBc IgM enfeksiyon başladıktan birkaç hafta sonra en üst düzeylere ulaşır, daha sonra titresini azalmaya başlar ve ortalama 6-8 ay sonra tespit edilemez hale gelir. Buna göre HBsAg pozitif olan bir kişide, anti-HBc IgM negatif bulunuyor ise o kişide akut enfeksiyon olasılığı söz konusu değildir. Anti-HBc IgM sınıfı antikoların görülmesinden kısa bir süre sonra IgG sınıfı antikolar da ortaya çıkar ve bunlar genellikle hayat boyu tespit edilebilir düzeyde kalır. Anti-HBc IgM antikorumun en önemli özelliği, enfeksiyonun pencere döneminde tek ölçülebilir gösterge olmasıdır. Diğer önemli özelliği ise kronik enfeksiyonun akut alevlenmeleri sırasında, çok düşük bir titrede de olsa pozitifleşebilmesidir (84).

Anti-HBc IgG'nin pozitifliği kişinin HBV ile karşılaştığını göstermektedir ama akut veya kronik enfeksiyonu birbirinden ayırt etmemektedir. Bütün serolojik göstergeler negatif olmasına karşılık, tek başına anti-HBc IgG pozitifliği şu durumlarda saptanabilir;

- a) HBV enfeksiyonu iyileşmiş ancak serum anti-HBs düzeyi saptanamayacak kadar azalmış olan kişiler,
- b) HBsAg'nin düzeyinin saptanamayacak kadar düşük olduğu kronik enfeksiyonlu kişiler,
- c) uzamış pencere dönemi,
- d) yalancı pozitiflik,
- e) pasif olarak anti-HBc IgG kazanılması (kan transfüzyonu ile hepatit B immünglobulin ile ya da anneden bebeğe antikoların pasif olarak geçişi ile).

## Kronik Enfeksiyon

Kronik HBV enfeksiyonlarında ise, HBsAg genellikle ömür boyu kalıcı olmakta ve genellikle anti-HBs antikoru saptanamamaktadır. Bu hastalarda HBeAg pozitifliği değişkenlik göstermektedir. HBeAg pozitif olan kronik hasta serumları, anti-HBe pozitif serumlara göre belirgin olarak daha fazla konsantrasyonlarda virüs içermektedirler. Yani, HBeAg pozitif hastaların cinsel ilişki yoluyla, aile içi temas yoluyla ve perinatal olarak HBV'nü bulaştırma ihtimalleri çok daha fazladır (84) (Şekil-12).



Şekil-12: Kronik HBV enfeksiyonunda tanısal göstergeler (85).

## Moleküler Tanı Yöntemleri

HBV enfeksiyonunun tanısında moleküler tanı yöntemleri, HBV DNA düzeyi, HBV genotiplendirmesi, tedavi etkinliğinin izlenmesi, HBV mutasyonlarının saptanması ve serolojik yöntemlerle tanı koymakta zorlandığımız bazı durumların aydınlatılmasında yardımcı olan yöntemlerdir (84).

Kantitatif HBV DNA testlerinin, kronik hepatit B'nin ilk değerlendirmesi sırasında ve prognozun takibinde olduğu kadar, tedavinin başlanmasında ve antiviral ajanlara karşı yanıtın takibinde de büyük önemi vardır (86). Plazma ya da serumda HBV DNA'sının tespiti, kronik HBV enfeksiyonunun tanı kriterlerinden biri olduğundan, serolojik testlerle birlikte HBV DNA düzeyinin de çalışılması bir gerekliliktir (61).

HBV genotipleri ile kronik enfeksiyon gelişim riski ve tedaviye yanıt arasında yakın ilişki olduğu bildirilmektedir. Örneğin genotip B ile enfekte olan hastalar, genotip C ile enfekte olanlara göre daha iyi progresyon göstermektedir. Benzer olarak farklı genotiplerin antiviral tedaviye olan yanıtları da farklı olabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı moleküler yöntemler ile HBV genotiplendirmesinin yapılması önerilmektedir. Genotiplendirme için DNA dizi analizi ve Line Prob Assay gibi yöntemler kullanılabilir (61, 87).

Serolojik tanının yetersiz kaldığı ve moleküler yöntemlerle HBV DNA'sının araştırıldığı durumlar:

- HBsAg negatif HBV enfeksiyonunun tanısı
- HBeAg negatif/anti-HBe pozitif HBV enfeksiyonunun tanısı (precore mutantlarda görülen durum)
- Anti-HBs pozitif HBV enfeksiyonunun tanısı.

HBV DNA düzeyinin moleküler yöntemle kantitatif olarak ölçülmesi, antiviral tedavinin etkili olup olmadığını, verilen tedavinin süresini ve dozunu belirlememize, gerektiğinde tedavi protokolünü değiştirmemize yardımcı olur.

HBV DNA'nın sekans analizi ile ilgili gen bölgelerindeki mutasyonlar saptanabilmektedir.

HBV ilaç direnç testleri; tek veya çoklu mutasyonları saptayan genotipik testler veya ilaç varlığında HBV'nin hücre içerisinde replikasyonunu direk ölçen fenotipik testler ile yapılabilmektedir. Duyarlı testler kullanılarak yapılan HBV direnç tayininin, HBV DNA miktarının ve transaminaz düzeylerinin yükselmesinden daha önce belirlenebileceği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. İlaç direnci gelişmesiyle hastalığın aktivitesinde artış olacağından, aktivite gelişmeden ilaç direncinin saptanması klinik açıdan önemlidir (84, 88).

### **Patolojik Tanı Yöntemleri**

Kronik hepatit tanısı için karaciğer biyopsisi çok önemlidir. Çünkü karaciğer incelemesi kronik hepatit varlığı, aktivitesi, karaciğer hasarının yaygınlığı, virüs özelliklerinin, tedavi kriterlerinin tespiti ve tedavi sonuçlarının değerlendirilmesi ile komplikasyonlarının saptanması için gereklidir. Karaciğer dokusunda nekroz ve hasar ile buna karşı gelişen reaktif bir

inflamasyon vardır. Hastalık tablosu ve hasar şiddetini virüs tipi kadar, konak cevabı da oluşturur (89).

### **Laboratuvar**

Akut viral hepatitin esas göstergesi serum transaminaz aktivitesindeki hızlı yükseliştir. Transaminazların yükselmesi semptomlardan önce başlar ve genellikle semptomların birinci haftasında pik yapar. Serum pik düzeyi genellikle 1000U/L'nin üzerindedir ve alanin aminotransferaz (ALT), genelde aspartat aminotransferaz (AST)'dan daha yüksektir. Serum alkalin fosfotaz (ALP) komplike kolestaz dışında genellikle normal sınırın iki katından daha düşük seviyelerdedir. Serum albumin ve globulin konsantrasyonu genelde normaldir. Akut viral hepatitlerde protrombin zamanı normaldir. Ancak fulminan hepatitlerde değişir. Protrombin zamanınının 17 saniyenin üzerine yükselmesi prognozun ciddiyetini gösterir ve fulminan karaciğer yetmezliği gelişmesi yönünden değerlendirilmesini gerektirir.

Kronik HBV enfeksiyonunda ise çoğu vakada sadece orta seviyede aminotransferaz yüksekliği (genellikle 100 U/L) dışında özellik saptanmaz. Pek çok hastada karaciğer fonksiyon testleri, özellikle immün tolerans ve inaktif taşıyıcı aşamalarında normaldir. Serum transaminazları karaciğerdeki hastalığın ciddiyetini tam olarak yansıtmaz. Ancak yaklaşık bir fikir vermesi açısından hafif şiddette <100U/L, orta şiddette 100-400 U/L, ağır şiddette >400 U/L olarak kullanılmaktadır (91).

## **6. HBV Enfeksiyonunun Tedavisi ve Antiviral Direnç**

### **Akut Hepatit**

Akut HBV enfeksiyonu olan erişkinlerin %95-99'unda anti-HBs serokonversiyonu gelişerek kendiliğinden iyileşir. Fulminan veya şiddetli hepatit gelişen hastalar karaciğer nakli için değerlendirilmelidir. Bu hastalar nükleozid analogları (NA) ile tedaviden fayda görebilirler. Bu konuda bildirilen az sayıdaki çalışmaların çoğu lamivudin ile yapılmıştır. Kronik hepatit B' de olduğu gibi entekavir veya tenofovir de kullanılabilir. Tedavi süresi oluşturulmamıştır. Ancak anti-HBs serokonversiyonu sonrası en az 3 ay

veya HBsAg kaybı olmadan anti-HBe serokonversiyonu sonrası en az 12 ay tedavinin sürdürülmesi önerilir.

Bazen gerçek şiddetli akut hepatit B ve kronik hepatit B reaktivasyonu arasındaki ayırım zor olabilir ve karaciğer biyopsisi gerekebilir. Ancak NA ile tedavi her iki durumda da tercih edilen tedavidir (2).

### **Kronik Hepatit**

#### **Tedavi Öncesi Karaciğer Hastalığının Değerlendirilmesi**

Kronik hepatit B'li hastalarda ilk adım hastalığın şiddetinin değerlendirilmesidir. Bunun için AST, ALT, gama-glutamil transferaz (GGT), ALP, bilirubin, serum albumin ve globulini, kan sayımı, protrombin zamanı da dahil olmak üzere biyokimyasal parametrelere bakılmalı, karaciğer ultrasonu yapılmalıdır. Genellikle ALT düzeyleri AST düzeylerine göre daha yüksektir. Bununla birlikte hastalık siroza doğru ilerledikçe oran tersine çevrilebilir. Progresif azalmış serum albumin konsantrasyonu ve/veya artmış gama globulinler ve protrombin zamanında uzama, trombosit sayısında azalma siroz gelişiminden sonra karakteristik olarak gözlenir. HBV DNA tespiti ve HBV DNA düzeyi ölçümü tanı, tedavi kararı ve hastaların sonraki izlemi için gereklidir. Kronik karaciğer hastalığının diğer nedenleri, HDV, HCV ve/veya HIV ile ko-enfeksiyon, alkolik hepatit, otoimmün hepatit, metabolik karaciğer hastalığı, steatohepatit sistematik olarak değerlendirilmelidir. Hepatit A enfeksiyonunu geçirmeyenler aşılmalıdır. Genellikle karaciğer histolojisinde saptanan nekroz, inflamasyon ve fibrozis derecesi tedaviye başlamak için karar vermede yardımcı olduğundan karaciğer biyopsisi önerilir. Karaciğer biyopsisi invaziv bir yöntem olmasına rağmen ciddi komplikasyon riski (1/4,000-10,000) çok düşüktür. Karaciğer biyopsisi klinik ve laboratuvar olarak siroz saptanan hastalarda gerekli değildir.

Bunlara ek olarak kronik hepatit B'li hastaların birinci derece yakınları ve cinsel partnerleri HBV serolojik göstergeleri (HBsAg, anti-HBc, anti-HBs) için test edilmeli, negatif saptananlara HBV aşısı yaptırmaları tavsiye edilmelidir (2).

#### **Kronik Hepatit B Tedavisinde Hedefler**

Kronik hepatit B tedavisinin hedefi hastalığın siroz, dekompanse

siroz, son dönem karaciğer hastalığı, HCC ve ölüme ilerlemesini engellemek, yaşam kalitesini arttırmaktır. Bu nedenle HBV replikasyonunun sürekli baskılanması amaçlanır. Karaciğerde histolojik aktivitede azalma hastalığın siroza ilerlemesi ve özellikle non-sirotik hastalarda HCC riskini azaltır. Kronik HBV enfeksiyonu, enfekte hepatositlerin çekirdeğindeki cccDNA'nın kalıcılığı nedeniyle tamamen yok edilemez.

Biyokimyasal remisyon, histolojik düzelme ve komplikasyonların önlenmesi viral baskılanma derecesiyle ilişkilidir. İdeal tedavi amacı HBsAg kaybıdır, ancak günümüzde kullanılan antiviral tedavi ile bu durum nadiren sağlanabilir. HBeAg pozitif hastalarda HBeAg serokonversiyonunu ve bunun devamlılığını sağlamak amaçlanır. HBeAg negatif hastalarda ve HBeAg pozitif olup HBeAg serokonversiyonu sağlanamamış hastalarda tedavi ile HBV DNA' nın ölçülemeyecek düzeye inmesi ve bu düzeyde devamlılığının sağlanması da amaçlar arasındadır (2).

### **İnaktif HBsAg Taşıyıcılarında İzlem**

İnaktif HBsAg taşıyıcıları kimlerdir (59);

- HBsAg (+) >6 ay
- HBeAg (-), anti-HBe (+)
- HBV DNA <2,000 IU/mL
- AST/ALT normal
- Anti-HDV (-)
- İleri karaciğer hastalığı bulgularının olmaması (albumin, protrombin zamanı ve trombosit sayısının normal olması, gerek olmamakla beraber eğer karaciğer biyopsisi yapılırsa histolojisinin normal veya normale yakın olması)

Kronik hepatit B'de HBV DNA düzeyi dalgalanma gösterebileceği için, HBV DNA düzeyinin tek ölçümü ile inaktif HBsAg taşıyıcısı tanısı konulmamalıdır. Hastalar ilk yıl 3 ay arayla ALT yönünden izlenmelidir. ALT düzeyi normal devam eden olgularda ise 6-12 ayda bir ALT düzeyi ölçülmelidir. İnaktif HBsAg taşıyıcılarında HBV DNA düzeyi 6-12ay ara ile ölçülmelidir. HCC için 6 ayda bir kez karaciğer ultrasonu ve alfa-feto protein kontrolü ile izlenmelidir. Transaminazlarda yükselme saptanırsa HBV DNA

düzeyi bakılmalıdır (59, 91, 92, 93).

### **Kronik Hepatit B Enfeksiyonunda Kimlere Tedavi Verilmelidir?**

Kronik hepatit B tedavisi kararı başlıca 3 kritere dayanır:

- Serum HBV DNA düzeyi
- Serum ALT düzeyi
- Karaciğer hastalığının şiddeti
- **HBeAg pozitif hastalar**

ALT düzeyi normalin iki katını aşan hastalar spontan HBeAg serokonversiyonu açısından 6 ay izlenir. 6 ay sonunda ALT hala yüksek,  $\geq$ HBV DNA 20,000 IU/mL, karaciğer biyopsisinde Histolojik Aktivite İndeksi (HAI) $\geq$ 4 ve/veya fibrozis $\geq$ 2 ise tedavi düşünülür (59, 91). ALT düzeyi normal ile iki kat arasında olan hastalar 35-40 yaş üzerinde ise biyopsi yapılmalı ve HAI $\geq$ 4 ve/veya fibrozis $\geq$ 2 olanlar tedavi edilmelidir (59, 94, 95). ALT düzeyi normal olan olgularda 3-6 ayda bir ALT kontrolü, 6-12 ayda bir HBeAg kontrolü yapılır (59).

- **HBeAg negatif hastalar**

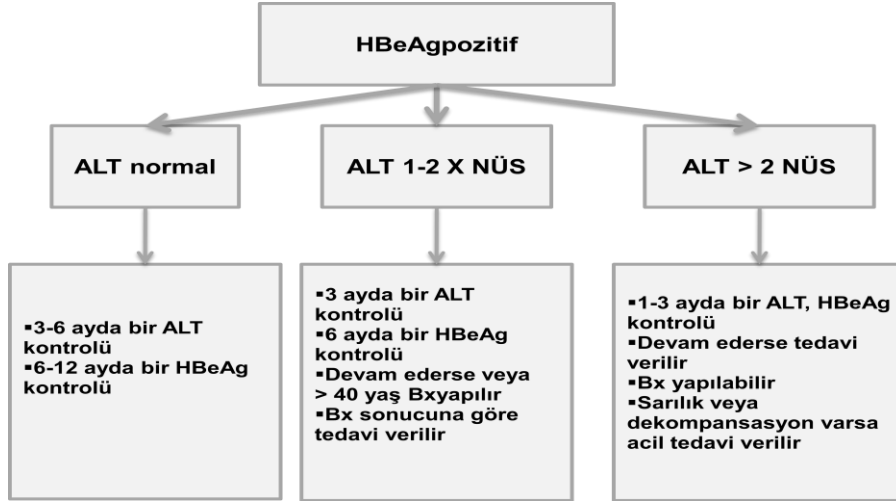
HBV DNA seviyesi  $\geq$ 2,000 IU/mL, biyopside kronik hepatit saptanan (HAI $\geq$ 4 ve/veya fibrozis $\geq$ 2), ALT normal ya da yüksek hastalar tedavi edilmelidir (59, 94, 96).

- **Siroz hastaları**

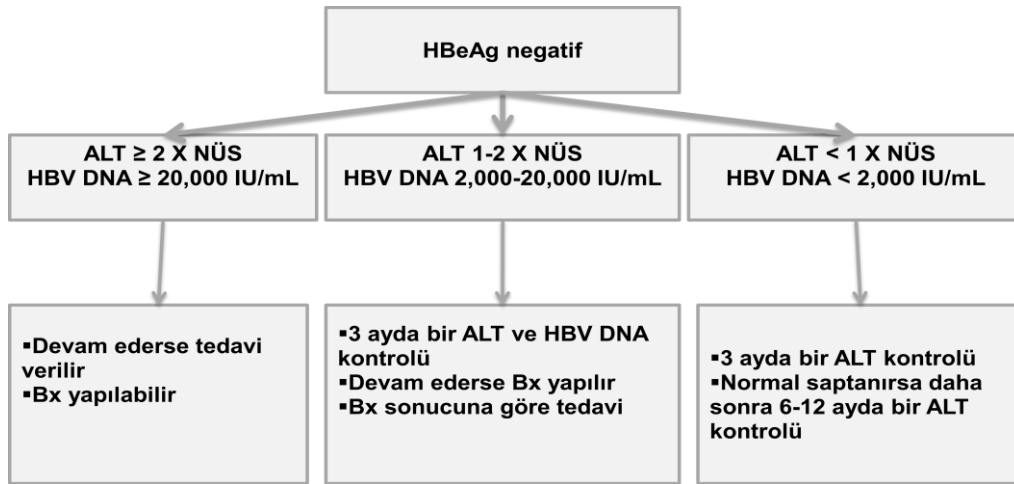
Saptanabilir HBV DNA düzeyi olan bütün kompanse siroz hastaları ALT düzeyleri normal olsa bile tedavi edilmelidir. Dekompense sirozu ve saptanabilir HBV DNA düzeyi olan bütün hastalarda acil NA ile tedavi gereklidir. Viral replikasyonun kontrolü önemli klinik düzelme sağlayabilir. Bununla birlikte antiviral tedavi yeterli olmayabilir, karaciğer nakli açısından da hazırlıklı olmak gereklidir (2).

HBeAg pozitif ve HBeAg negatif kronik hepatit B hastalarında izlenebilecek takip ve tedavi algoritmaları şekil-13 ve şekil-14'de verilmiştir.





**Şekil-13:** HBeAg pozitif kronik hepatit B hastalarının takip ve tedavi algoritması (59'dan uyarlanmıştır). ALT, alanin aminotransferaz; NÜS, normalin üst sınırı; Bx, biyopsi.



**Şekil-14:** HBeAg negatif kronik hepatit B hastalarının takip ve tedavi algoritması (59'dan uyarlanmıştır). ALT, alanin aminotransferaz; NÜS, normalin üst sınırı; Bx, biyopsi.

### Kronik Hepatit B Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Günümüzde kronik hepatit B tedavisinde ruhsat almış ya da alma aşamasında olan birçok ilaç vardır. Bunlardan ruhsat almış olanlar standart interferonlar (sIFN), pegile interferonlar (peg-IFN) ve 6 tane de NA içerir. Kronik hepatit B tedavisinde kullanılan NA, nükleozidler (lamivudin, telbivudin, emtrisitabin, entekavir) ve nükleotidler (adefovir ve tenofovir) diye ayrılabilir. Peg-IFN-2b ve emtrisitabin Avrupa ülkelerinin çoğunda HBV

tedavisi için lisanslı değildir. Lamivudin, adefovir, entekavir, telbivudin ve tenofovir Avrupa'da HBV tedavisi için onaylı ilaçlardır. Bir tablet içinde tenofovir ve emtrisitabin kombinasyonu (Truvada ®) HIV enfeksiyonunun tedavisi için lisanslıdır (2). Timozin-alfa Doğu-Güney Asya ülkelerinde kullanılmaktadır. Klevudin, valtorsitabin ve pradefovir onay alma aşamasındaki ilaçlardır (97).

sIFN alfa ve peg-IFN alfa antiviral, antiproliferatif ve immün düzenleyici görevi olan immün modülatörlerdir. NA ise direkt olarak viral polimerazı hedef alır ve replikasyonu inhibe eder (59).

### **IFN alfa Tedavisi**

#### **Standart IFN**

İnterferon alfa 1970'lerden beri denenen ve üzerinde en çok araştırma yapılan ajanlardandır. 1992 yılında A.B.D.'de F.D.A.'dan onay alan ilk ilaç olmuştur (98).

IFN, HBV enfeksiyonunda 2 mekanizmayla antiviral etkide bulunur. Birincisi direkt antiviral etkiyle viral DNA sentezini inhibe eder ve 2'-5'oligoadenilat sentetaz, protein kinaz ve ribonükleaz gibi antiviral enzimleri aktive eder. İkinci olarak interferon immünomodülatör özelliği ile immünsistem üzerinde MHC sınıf I antijen ekspresyonunda artma, doğal öldürücü hücre aktivitesinde artış, antijen sunan hücrelerin aktivitesinde artış, doğal IFN salgısında artma gibi etkileri sonucu HBV ile enfekte hepatosite karşı hücrel immün yanıtı artırır (99).

#### **Pegile İnterferon (peg-IFN)**

İnterferon molekülüne polietilenglikol polimerinin bağlanmasıyla plazma yarı ömrü daha uzun olan pegile interferonlar elde edilmiştir. Yarı ömrü daha uzun olduğundan daha yüksek sistemik kalıcılık ve daha iyi biyolojik etki oluşturan bir moleküldür. Tolerans ve yan etkileri standart IFN ile aynıdır. Pegile interferonun terapötik etkinliği öncelikle kronik hepatit C tedavisinde gösterilmiştir. Kronik hepatit C tedavisinde standart interferonlardan çok daha etkili olduğunun anlaşılması, kronik hepatit B tedavisinde de klinik çalışma yapılması gerekliliğini doğurmuştur (88, 100).

İyi seçilmiş, küçük bir grup hastada etkili olduğu bilinmektedir. Kadın

cinsiyet, düşük HBV DNA düzeyi, yüksek ALT düzeyi, karaciğerde yüksek inflamatuvar skor ile düşük fibrozis skorlarının varlığında tedaviye daha iyi yanıt alınmaktadır. Son yıllarda bu faktörlerin içine HBV genotipleri de eklenmiştir. Yapılan çalışmalarda HBV genotiplerinin diğer faktörlerden bağımsız olarak özellikle peg-IFN tedavisine yanıtta etkili olduğu bildirilmektedir. Buna göre tedaviye en iyi kalıcı yanıt Avrupa ve Kuzey Amerika'da sıklıkla saptanan genotip olan A ile daha sonra da genotip B ve C'de sağlanmaktadır. Ülkemizde, Hindistan ve Kuzey Afrika'da daha yaygın olarak saptanan genotip D'de ise peg-IFN tedavisine kalıcı yanıt, diğer genotiplerle karşılaştırıldığında daha kötüdür (97).

HBeAg pozitif hastalarda 6 ay, negatif hastalarda ise 12 ay olan standart kullanma süresi, antiviral tedavilere göre bir avantajdır. Direkt antiviral etkinliğin yanı sıra immün sistem üzerine de etkili olması nedeniyle, antiviral tedavilere göre daha yüksek oranda HBeAg kaybı ve serokonversiyonu ile HBsAg kaybı söz konusudur. Direnç gelişiminin de olmaması önemlidir. Ancak antiviral tedavilere göre HBV DNA'yı daha düşük oranda baskılaması, subkutan enjeksiyon sıkıntısının yanında interferon kullanıma bağlı oluşan yan etkiler bu tedavinin en önemli dezavantajlarıdır. Kısa dönemde; grip benzeri sendrom ile kemik iliği süpresyonuna bağlı, anemi, lökopeni ve trombositopeni gibi yan etkilerle karşılaşılırken, uzun dönemde psikiyatrik yan etkiler, tiroid fonksiyon bozuklukları, saç dökülmesi ve gastrointestinal yan etkilerle karşılaşmaktadır. Ciddi depresyon, otoimmün hastalık, kontrol altında olmayan hipo veya hipertiroidi varlığı interferon tedavisi için kontrendikasyon oluşturmaktadır (97).

Dekompanse sirozu olan hastalarda ciddi enfeksiyon ve hepatit alevlenmesi riski nedeniyle güvenli değildir. Ayrıca immünsüpresif hastalarda da kontrendikedir.

### **Nükleoz(t)id Analogları (NA)**

NA hücresel DNA polimerazlara bağlanmak için doğal substratlar ile yarışan, bu yolla yeni yapılmakta olan DNA'ya bağlanma sonucunda DNA zincir sentezini durdurup viral replikasyonu önleyen bileşiklerdir (DNA polimeraz inhibitörleri). Çoğu NA sitoplazmada bulunan enzimler tarafından

nükleozid 5'-trifosfatlara fosforillenir, ardından virüs özgün polimerazlar ile etkileşir. Her bir NA kendine özgü metabolik ve farmakolojik özellikleri ile etki, etkinlik ve toksisite açısından farklılık gösterir. Kronik hepatit B tedavisinde ilk denenen DNA polimeraz inhibitörleri adenin arabinosid ve aköz monofosfat türevidir. Her ikisi de sınırlı etkileri ve nöromusküler toksisiteleri nedeniyle tedavide fazla kullanılmamışlardır (101).

NA ön ilaç (pro-drug) olarak kabul edilebilir, çünkü polimeraz inhibitörü olarak etki gösterebilmeleri için fosforile edilerek aktive olmaları gereklidir. Bu ilaçlar önce hücresel kinazlarla nükleozid monofosfatlara, daha sonra da yine hücresel enzimlerle difosfat ve trifosfat formlarına dönüşmektedir. Günümüzde; L-nükleozidler (lamivudin, telbivudin, emtrisitabin, klevudin), asiklik fosfonat nükleotidler (adefovir, tenofovir) ve siklopentan deoksiguanozin analogları (entekavir, abakavir/karbovirin) olmak üzere üç grup ajan mevcuttur (102).

### **Lamivudin**

Lamivudin, 1998 yılında kronik hepatit B tedavisinde ruhsat alarak kullanıma girmiş olan ilk L-nükleozid analogudur. Bir siklik nükleozid analogu olan lamivudin, intrasellüler hepatosit kinazlar tarafından fosforile edilerek aktive metaboliti trifosfata dönüşür. Bu form, HBV polimerazın doğal substratı olan nükleozid trifosfatla yarışmaya girerek polimeraz enzimini bloke etmekte ve böylece viral replikasyon durmaktadır (97).

Lamivudin HBV replikasyonunu çok etkin biçimde bloke etmektedir. Ancak hücre içinde replike olmayan ve viral mRNA sentezini yürüten cccDNA'ya etkisi yoktur (103).

Kronik hepatit B tedavisinde lamivudin 100 mg/gün oral olarak kullanılır. Pediatrik hastalarda (2-17 yaş) 3 mg/kg/gün (maksimum 100 mg/gün) tek doz halinde kullanılır. Aç ya da tok karnına alınabilir. Gastrointestinal sistemden'den absorpsiyonu çok iyidir. Biyoyararlanımı erişkinlerde %80, çocuklarda %68'dir. Oral yolla alındıktan 1 saat sonra maksimum plazma seviyesine ulaşır. Plazma yarı ömrü 6,2 saat, hepatositlerin içindeki yarı ömrü ise 17–19 saattir. Vücut sıvılarına iyi dağılır, plazma proteinlerine bağlanma oranı düşüktür. Plasentadan serbestçe

geçebilir, anne sütüne geçer. Renal yolla değişmeden atılır. Bu nedenle glomerül filtrasyon hızı (GFR)≤50 mL/dk olan hastalarda doz ayarlaması yapılması gerekir (104).

Genel olarak lamivudin çok iyi tolere edilir. İlimli (2-3 kat) ALT yükseklikleri bildirilmekle birlikte kontrollerle arasında fark saptanmamıştır (59).

Lamivudin monoterapisi, karaciğer hastalarının iyileştirilmesinde ve HBV replikasyonunun baskılanmasında etkilidir. 1 yıllık lamivudin tedavisinden sonraki HBeAg serokonversiyonu 16 haftalık sIFN alfa tedavisinin sonuçlarıyla benzerdir. Ama 1 yıllık peg-IFN alfa tedavisi kadar iyi değildir (59).

HBeAg pozitif, kalıcı veya aralıklı ALT yüksekliği olan, toplam 731 hasta içeren 3 klinik çalışmanın değerlendirilmesinde, lamivudin ile tedavi edilen naive hastalarda 1 yılın sonunda, HBeAg serokonversiyonu %16-18 iken bu oran tedavi verilmeyen kontrol grubunda %4-6 olarak bildirilmiştir. Nekroinflamatuvar skorun ≥2 puan düşmesi şeklinde tanımlanan histolojik iyileşme oranı da tedavi grubunda %49-56 iken, kontrol grubunda %23-25'tir. Tedavi süresi 5 yıla uzatıldığında HBeAg serokonversiyon oranı %50 olarak bulunmuştur. Tedavi öncesi en az 2 kez ALT düzeyi normal saptanan hastalarda HBeAg serokonversiyonu 1 yılda %10'dan az, 3 yılın sonunda %19 bulunmuştur (59).

Yuen ve ark. tarafından yapılan çalışmada, ileri hastalığı olmayan HBeAg pozitif hastalarda uzun dönem lamivudin etkinliği araştırılmıştır. 142 HBeAg pozitif hasta (ortalama yaş 33,9 ve ortalama lamivudin kullanım süresi 89,9 ay) ve 124 HBeAg pozitif kontrol (ortalama yaş 33,4) karşılaştırıldığında, lamivudin kullanan hastalarda siroz ve/veya HCC gelişimi oranı kümülatif olarak belirgin düşük bulunmuştur (105).

Lamivudin tedavisinin HBeAg negatif hastalarda da yararlı olduğu gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalarda tedavinin 1. yılında, hastaların %60-70'inde HBV DNA'nın PCR ile saptanamayan düzeylere indiği gösterilmiştir. Ancak tedavi kesildiğinde hastaların yaklaşık %90'ında relaps izlenmiştir. Tedavi süresi uzadığında ise lamivudin dirençli mutantların seçilmesine bağlı

tedaviye yanıt oranı giderek azalmaktadır. 201 hastayla yapılan bir çalışmada virolojik remisyonun (PCR ile saptanamayan HBV DNA) 12. ayda %73 iken 48. ayda %34'e düştüğü, biyokimyasal remisyonun da %84'den %36'ya düştüğü bildirilmiştir (59).

Lamivudin tedavisinde, tedavi süresinin uzatılması yanıt oranını arttırmaktadır. 1000 hastayı içeren kohort çalışmasında HBeAg serokonversiyon oranları lamivudin tedavisinin 1, 2, 3, 4, 5. yıllarında %16, %17, %23, %28 ve %35 olarak bulunmuştur. Tedavi başlangıcında ALT düzeyi normalin 2 katı olan hastalarda 3 yıllık tedavinin sonunda HBeAg serokonversiyon oranı %35-65 olarak bulunmuştur (106).

Kronik hepatit B tedavisinde, lamivudin kullanımını sınırlandıran en önemli sorun, tedavide kullanıldığı sürenin uzamasıyla doğru orantılı olarak artan ilaca karşı direnç gelişimidir. Başlıca gelişen mutasyon, HBV polimeraz geninin C bölgesindeki YMDD ( tirozin, metionin, aspartat, aspartat) motifi içinde bulunan 204. aminoasit olan metioninin, sırasıyla valin, izolösin ve serin ile yer değiştirmesiyle YVDD, YIDD, YSDD mutasyon paternleri (rtM204V/I/S mutasyonu) dir. Bu mutasyonlar, C bölgesindeki kompensatuar mutasyonlar (V173L, L180M) ile bir arada olabilir (107). YMDD aminoasit motifi, HBV ve HIV polimerazlarının her ikisinde de görülmekte olup, bu motif lamivudin, emtrisitabin ve telbivudine karşı dirence neden olmakta ve aynı zamanda entekavir ile tedavi için de direnç riski taşımaktadır (108, 109).

Yapılan bazı çalışmalarda lamivudin ile tedavi sonrası direnç insidansı 1. yılda %24, 2. yılda %42, 3. yılda %53, 4. yılda %67 ve 5. yılda %68 olarak bildirilmiştir (110). 2 yıldan fazla tedavi edilen HBeAg negatif hastalarda da dirençli mutantların gelişimi %57-64 oranında bildirilmektedir (107, 111). Benzer şekilde uzun dönem lamivudin monoterapisi alan hastalarda 52 haftalık tedavi sonrası hastaların %16-32'sinde HBV DNA polimeraz geni YMDD motifinde viral mutasyon geliştiği bildirilmiştir. Bu mutasyonların sıklığının sonra gelen her yıl için yaklaşık olarak %15 arttığı ve tedavinin 4. yılında %67'ye ulaştığı gösterilmiştir (112).

Bazı çalışmalarda YMDD motif mutasyonu ile tedavi öncesi vücut-kitle indeksi, HBV DNA düzeyi, histolojik aktivite indeksi, ALT düzeyi, ileri yaş

ve erkek cinsiyet arasında ilişki olabileceği rapor edilmiştir (113).

YMDD mutant HBV gelişmesi lamivudine klinik ve virolojik yanıtı azaltır. Lamivudin direnci hepatit progresyonuyla karaciğer sirozuna, siroz hastalarında dekompanse siroza, HCC gelişmesine ve karaciğer nakli gereksinimine neden olabilir (114, 115). Dekompanse sirozu olan veya karaciğer nakli sonrası rekürren hepatit B'si olan hastalarda YMDD mutasyonu gelişmesi yüksek insidanslıdır ve klinik olarak hızlı bir şekilde ilerler ve ciddi karaciğer hastalığı şeklinde sonuçlanır (116).

Yapılan çeşitli çalışmalarda lamivudin tedavisi sırasında HBV polimerazın YMDD motifinde mutasyon saptandıktan sonra klinik kötüleşme olduğu, transaminaz ve HBV DNA düzeylerinin yükseldiği, karaciğer histolojisinde korele olarak kötüleştiği rapor edilmiştir. Bu nedenle, klinik kötüleşme olmadan ilaç direncinin saptanmasını sağlamak amacıyla, lamivudin tedavisi sırasında belirli aralıklarla direnç testi yapılması önerilmektedir (59). Direnç gelişimini önceden belirleyen faktörler ve direnç gelişimini erken saptama yöntemleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Bir çalışmada, serumda HBV DNA düzeylerinin ölçülebilir seviyeye geldiğinin görülmesinin, YMDD motif mutasyonunun geliştiğinin bir ön belirleyicisi olduğu gösterilmiştir (117).

### **Adefovir Dipivoksil**

Adefovir dipivoksil (PMEA yani 9-2-phosphonylmethoxy-ethyl adenine), asiklik nükleozid fosfonatın oral biyoyararlanımı yüksek bir üyesidir. Eylül 2002 tarihinden itibaren kronik hepatit B tedavisinde günde 10 mg dozu ile kullanılmaktadır. Aktif formu, hem revers transkriptazı hem de DNA polimerazı inhibe ederek HBV DNA zincirinin sonlanmasına neden olur. İn-vitro ve klinik çalışmalarda hem vahşi tip virüsü hem de lamivudin dirençli kökenleri inhibe ettiği gösterilmiştir (118).

Adefovir dipivoksil 10 mg/gün dozunda verilir. Oral yolla alındıktan sonra barsakta aktif molekülü olan adefovire dönüşür. Yarılanma süresi 7,5 saattir. Renal yolla atılır. Aslında HIV tedavisi için kullanıldığı dozlarda nefrotoksiktir, ancak kronik hepatit B tedavisinde düşük dozda kullanıldığından dolayı bu yan etkisi az görülür. Karaciğer yetmezliğinde doz

ayarlaması gerekmez. Böbrek yetmezliğinde ise GFR≤50 mL/dk olduğunda doz ayarlaması gerekir. Nefrotoksisite riski nedeniyle düzenli aralıklarla böbrek fonksiyonlarının kontrolü gerekir (59).

HBeAg negatif hastalarda 5 yıllık tedaviden sonra %29 oranında dirence neden olan rtA181T ve rtN236T mutasyonları gelişmektedir (119). Adefovire direnç oranları genel olarak 48. haftada %0, 96. haftada %2 ve 144. haftada %7 bulunmuştur. Homojen popülasyonda hastaları (HBeAg negatif, çoğu naiv) içeren başka bir çalışmada retrospektif olarak adefovire direnç oranları 2, 3 ve 4. yıllarda sırasıyla %5, %11 ve %18 olarak bulunmuştur (119, 120). Verilere göre adefovire direnç gelişimi geç olur ve lamivudinden çok daha azdır. Adefovirle ideal tedavi süresi bilinmemektedir.

Bazı çalışmalarda günde 10 mg adefovir alan hastaların % 20'sinde primer yanıtıza rastlanmasının, onay alan adefovir dozunun suboptimal olmasına bağlanmaktadır. Son yıllarda onay alarak kullanımda olan bir diğer nükleotid analogu olan tenofovirle ilgili çalışmalarda, HBeAg negatif ve pozitif hastalarda, etkinlik açısından adefovirden üstün olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle son yıllarda yayınlanan tedavi rehberlerinde adefovirin yerini tenofovirle bıraktığı gözlenmiştir (97).

### **Entekavir**

Entekavir, A.B.D.'de 2005, Türkiye'de ise 2007 yılında ruhsat alarak kronik hepatit B tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. 2-deoksiganosin'in trisiklik analogu olup, HBV replikasyonunu 3 farklı basamakta; HBV DNA polimerazın başlangıcında (priming), pregenomik RNA'da negatif HBV DNA polimeraz zincirine revers transkripsiyonda ve HBV DNA pozitif zincir sentezinde inhibe etmektedir (121). Aktif formu entekavir trifosfattır. HBV replikasyonunu, diğer nükleozid ya da nükleotit analoglarından farklı olarak, 3 ayrı basamakta inhibe ettiği için HBV DNA'nın yüksek baskılanma oranlarını sağlamış, in-vitro çalışmalarda entekavirin lamivudin ve adefovire oranla daha güçlü bir antiviral olduğu gösterilmiştir. Hepatoma hücrelerinden oluşan hücre kültürlerinde entekavirin, lamivudine göre 30-2200 kat daha fazla oranda viral replikasyonu baskıladığı gösterilmiştir (97).

Oral yolla alınır. Gıdalar emilimini geciktirir ve AUC %20 oranında



azalır. Bu nedenle yemeklerden 2 saat önce veya 2 saat sonra, aç karnına alınmalıdır. Erişkin dozu, daha önceden nükleozid analogu tedavisi almamış hastalarda 0,5 mg/gün, lamivudin dirençli hastalarda 1 mg/gün' dür. Adefovir dirençli suşlar (N236T polimeraz mutant) ile enfeksiyonda ise normal dozunda kullanılır. Atılımı idrar yolu ile olduğundan (%60-70'i değiştirilmeden atılır) GFR≤50 mL/dk olduğunda renal doz ayarı yapılmalıdır. Yan etkiler açısından, klinik çalışmalarda lamivudin ile benzer güvenlik profili olduğu gösterilmiştir (59).

HBeAg pozitif hastalarla yapılan bir faz 3 çalışmada; kompanse karaciğer hastalığı olan 715 hastada, Entekavir 0,5 mg/gün ile lamivudin 100 mg/gün etkinlikleri karşılaştırılmıştır. 48. Haftada entekavir, lamivudin ile karşılaştırıldığında histolojik düzelme %72-62, virolojik yanıt, yani HBV DNA negatifliği %67-36 ve biyokimyasal yanıt %68-60 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte HBeAg serokonversiyonları iki grupta da benzerdir (%21-18). HBV DNA'sı baskılanmış, HBeAg pozitif hastalar arasında ikinci yıl entekavir ile HBeAg serokonversiyonu %11, lamivudin ile %13 bildirilmiştir. İkinci yılda HBV DNA negatifliği entekavir ile %81, lamivudin ile %39, ALT normalizasyonu ise sırasıyla %79-68 bildirilmiştir.

HBeAg negatif hastalarda yapılan bir faz 3 çalışmada da kompanse karaciğer hastalığı olan 648 hasta entekavir 0,5 mg/gün ve lamivudin 100 mg/gün almak üzere randomize edilmiştir. 48. hafta sonunda histolojik, virolojik ve biyokimyasal yanıtlar entekavir grubunda anlamlı olarak daha iyi bulunmuştur (59).

Entekavir direncinin gelişmesi için lamivudin direnç mutasyonlarının yanında (rtM204V ve rtL180M) HBV polimerazda ek mutasyonların (rtI169T, rtT84S/A/I/LG/C/M, rtS202G/C/I, rtM205I/V) da olması gerektiği bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda 5 yıldan uzun süredir entekavir kullanan hastalarda düşük direnç oranlarının (<%1), entekavirin daha potent bir antiviral olmasının yanında birkaç basamaklı mutasyon gerektiren güçlü genetik bariyer yapısına da bağlı olduğu bildirilmektedir (97).

### **Tenofovir Disoproksil Fumarat**

Öncelikle HIV/AIDS ve HIV/HBV ko-enfekte hastalarda kullanıma

giren tenofovir, yapılan çalışmalarda hem vahşi hem de lamivudin dirençli kökenlere karşı etkili olduğunun saptanması üzerine 2008 yılında A.B.D. ve ülkemizde kronik hepatit B enfeksiyonunun tedavisinde ruhsat alarak kullanıma girmiştir (97).

Tenofovir disoproksil fumarat bir nükleotid (adenosin5'monofosfat) analogudur. Hücre içerisinde tenofovire hidrolize olduktan sonra aktif tenofovir difosfata fosforillenir. HIV enfeksiyonlu kronik hepatit B'li hastalarda, (lamivudin dirençli hastalar dahil) HBV DNA düzeyini anlamlı olarak azalttığına görülmesi üzerine çalışmalar başlatılmıştır. HIV enfeksiyonunun tedavisinde oral dozu 300 mg/gün'dür. 245 mg tenofovir disoproksil'e eşdeğer, 300 mg disoproksil fumarat tabletleri halinde bulunur. Aç veya tok karnına alınabilir. Karaciğer yetmezliğinde doz ayarlaması gerekmez. %70-80'i değişmeden filtrasyon ve aktif sekresyon ile böbrekler aracılığı ile atılır, bu nedenle GFR≤50 mL/dk olduğunda doz ayarlaması yapılır. Adefovirden daha az nefrotoksiktir.

HBeAg pozitif 266 kompanse kronik hepatit B hastasında yapılan bir faz 3 çalışmada, hastalar 300 mg/gün tenofovir ve 10 mg/gün adefovir kollarına 2:1 randomize edilmiştir. 48. haftada tenofovir ve adefovir grubunda HBV DNA PCR ile negatifleşme oranı sırasıyla, %76-13 oranlarındadır. HBsAg negatifleşme oranları %3-0, histolojik iyileşme %74-68 ve HBeAg serokonversiyonu %21-18 olarak bulunmuştur.

Aynı çalışma HBeAg negatif 375 kompanse kronik hepatit B hastası ile yapıldığında, 48. haftada tenofovir grubunda HBV DNA negatifleşme oranı %93 iken, adefovir grubunda %63 olarak görülmüştür. Histolojik iyileşme oranları sırasıyla %72-69 iken, HBsAg kaybı hiçbir hastada görülmemiştir (122).

Lamivudin dirençli hastalarda, tenofovir tedavisi ile HBV DNA negatifleşmesi, adefovirden daha yüksek oranlardadır. Adefovir dirençli hastalarda, HBV DNA düzeylerini negatifleştirmekle birlikte, tenofovire de çapraz direnç geliştiği düşünülmektedir (123).

Fanconi sendromu, osteomalazi ve kemik dansitesinde azalma, tenofovir yan etkileri olarak bildirilmiştir (121).

Gebelikte kullanımında risk kategorisi B'dir.

### **Telbivudin (L-deoksitimidin)**

Timidinin L deoksi modifikasyonu olan nükleozid analogu bir antiviraldir. Fosforilasyon sonrası, aktif formu HBV DNA polimeraz tarafından sentezlenen DNA zincirine katılabilmek için timidin ile yarışır. 2006 yılında A.B.D.'de kronik hepatit B hastalarının tedavisinde ruhsat alarak kullanıma girmiştir. Klinik çalışmalarda, telbivudinin lamivudine oranla hepatit B replikasyonunu baskılamada daha potent bir antiviral olduğu gösterilmiştir. Ancak telbivudine karşı direnç gelişme riski yüksektir ve telbivudine direnç neden olan mutasyonlar, lamivudin ile çapraz direnç gösterir. Bu yüzden kronik hepatit B tedavisinde kullanımı kısıtlıdır. Günlük onay alan dozu 600 mg'dır ve GFR≤50 mL/dk olan hastalarda doz ayarlaması gerekir. İyi tolere edilir ve yan etki profili lamivudine benzerdir. Telbivudin için önemli bir özellik pre-klinik toksikolojik testlerde embriyo üzerine mutajenik ya da karsinojenik etkinliği olduğu saptanmamıştır. Bu nedenle gebelikte kullanımı açısından B grubunda yer alan ilaçlar içindedir (97).

### **Emtrisitabin**

HIV ve HBV için güçlü bir inhibitördür. Tekli ve tenofovir ile kombine tabletleri vardır. Yapısal olarak lamivudine benzer. 248 hasta içeren bir çalışmada (%63'ü HBeAg pozitif ) emtrisitabin 200 mg/gün uygulanmış ve 48. haftada tedavi sonuçları plasebo ile karşılaştırıldığında histolojik (%62-25), virolojik (%54-2) ve biyokimyasal (%65-25) yanıtlar önemli ölçüde yüksek bildirilmiştir. Ama her iki grupta da HBeAg serokonversiyon oranları (%12) aynıdır (59).

### **Klevudin (L-FMAU, 2'-fluoro-5-metil-beta-L-arabinofuranosil urasil)**

Selektif HBV inhibitörü pirimidin analogudur. Klinik çalışmalarda günde 30 mg dozunda 24 haftada iyi tolere edildiği gösterilmiştir. Tedavi sonunda HBeAg pozitif hastalarda %59, HBeAg negatif hastalarda %92 oranında HBV DNA negatifliği bildirilmiştir. Klevudinin benzersiz bir özelliği de bazı hastalarda tedavi kesildikten sonra 24. haftaya kadar kalıcı viral süpresyon sağlamasıdır. Bununla birlikte, in-vitro çalışmalarda YMDD motif

mutasyonu olan seçilmiş hastalarda HBeAg serokonversiyonu oranı klevudin ve plaseboda benzer gösterilmiştir (59).

### **Timozin**

T hücre fonksiyonunu uyanan timik-derive peptidlerdir. Klinik çalışmalar timozinin iyi tolere edildiğini göstermiştir, ama etkinliği konusundaki veriler çelişkilidir (59).

### **Tedaviye Yanıtın Değerlendirilmesi**

Kronik hepatit B tedavisinin yanıtları biyokimyasal, serolojik, virolojik ve histolojik olarak ayrılabilir. Tüm bu tedavi yanıtları tedavi sırasında ve sonrasında birkaç zaman noktalarında tahmin edilebilir. Virolojik yanıtların tanımları tedavinin tipine ve zamanlamasına (tedavi sırasında veya sonrasında) göre farklılık gösterir. Kronik hepatit B tedavisinde iki farklı tipte ilaç kullanılabilir: konvansiyonel veya pegile interferon alfa (sIFN veya peg-IFN) ve nükleotid/nükleozid analogları (NA).

**Biyokimyasal yanıt:** ALT düzeylerinin normalizasyonu olarak tanımlanır. Bu yanıt tedavi sırasında ve sonrasında birkaç noktada değerlendirilir. Tedavi sonrası biyokimyasal yanıt diyebilmek için en az 1 yıllık takipte her 3 ayda bir ALT düzeyinin normal saptanması gerekir.

**Serolojik yanıt:** HBeAg pozitif hastalarda HBeAg kaybı ve anti-HBe serokonversiyonudur. HBsAg için serolojik yanıt tüm kronik hepatit B hastalarında aynıdır, HBsAg kaybı ve anti-HBs gelişmesidir.

### **Virolojik yanıt:**

#### **sIFN/peg-IFN tedavisi için;**

- Primer yanıtızsızlık gösterilmemiştir.
- Virolojik yanıt HBV DNA'nın 2000 IU/mL'den az olması olarak tanımlanır. Genellikle tedavinin 6. ayında ve 12 aylık tedaviden sonra 6 ayda bir değerlendirilir.
- Tedavi sonrası sürekli virolojik yanıt tedavi bitiminden sonra en az 12 ay HBV DNA<2000 IU/ mL saptanmasıdır.

#### **NA ile tedavi için;**

- Primer yanıtızsızlık tedavinin 3. ayında HBV DNA düzeyinin 1 log IU/mL'den daha az azalmasıdır.

- Virolojik yanıt duyarlı PCR ölçüleriyle HBV DNA düzeyinin saptanamaması olarak tanımlanır. Genellikle karaciğer hastalığının şiddeti ve kullanılan NA'na bağlı olarak tedavi sırasında her 3-6 ayda bir değerlendirilir.
- Kısmi virolojik yanıt tedaviye uyumlu hastalarda 6. ayda HBV DNA'da 1 log IU/mL'den fazla düşüş olması ama HBV DNA'nın saptanabilir düzeyde olmasıdır.

**Histolojik yanıt:** Tedavi öncesi histolojik bulgular ile kıyaslandığında nekroinflamatuvar aktivite (HAI'de en az 2 puan) de ve fibrozis de azalma olmasıdır.

**Tam yanıt:** Biyokimyasal ve virolojik yanıtla birlikte HBsAg'nin kaybolmasıdır (2).

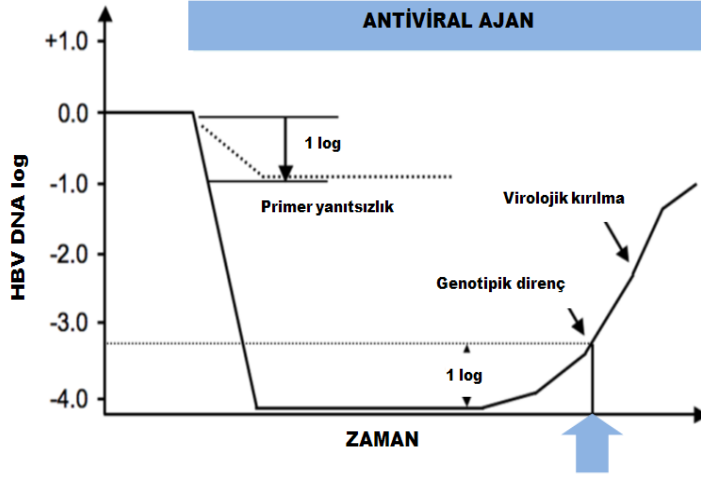
### **Antiviral Direnç**

Antivirallerin kronik hepatit B tedavisinde kullanıma girmesi ile birlikte bu ilaçlara karşı direnç bildirilmeye başlanmış ve yıllar içinde direnç sıklığında artış gözlenmiştir. Antiviral ilaç direnci virüste mutasyon sıklığı, ilacın selektif baskısı, virüsün çoğalma hızı gibi faktörlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Antiviral tedavi sırasında kullanılan ilaçlar duyarlı virüslere etkili olurken dirençli mutantlar seçilir. Özellikle yüksek viral yüke sahip olgularda virüs replikasyonunun baskılanması yavaş olursa direnç gelişme riski de artmaktadır. Ayrıca çapraz direnç mekanizmasına sahip olan antivirallerin dirençli olgularda kullanılması da direnç gelişme riskini arttırmaktadır (124).

Antiviral direnç, tedavi uyumsuzluğu ile birlikte tedavi başarısızlığındaki en önemli etkidir. Direnç gelişimi sonucunda hepatit alevlenmesi ortaya çıkabilmekte ve klinik tablo bazen çok ağırlaşarak ölümle sonuçlanabilmektedir. Antiviral direncin saptanması ve yönetiminde bazı önemli tanımlamalar mevcuttur.

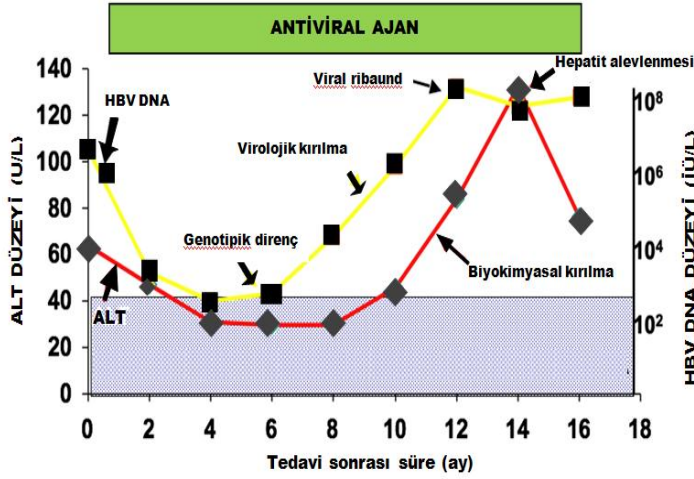
**Primer yanıtsızlık:** Antiviral tedavinin 6. ayında HBV DNA düzeylerinde  $\geq 1\log_{10}$  düşüş olmaması olarak tanımlanmaktadır. Primer yanıtsızlık, antiviral ajanın gücü ya da ön ilacın aktif forma dönmesinde etkili enzimlerin polimorfizmi ile ilişkili olabilir. Önceden mevcut olan mutasyonların primer yanıtsızlık ile ilişkisine dair kanıt bulunamamıştır. Primer yanıtsızlıkta

tedavinin 6-12. aylarındaki yüksek viral kalıntı düzeyinin direnç gelişmesi riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu durumda tedavinin değiştirilmesi gerekmektedir (Şekil-15) (125).



**Şekil-15:** Kronik hepatit B tedavisi sırasında tedavi başarısızlığına neden olan virolojik formlarının oluşum zamanlaması ve tanımları. Primer yanıtı, genotipik direnç ve virolojik kırılma içerir (125).

**Virolojik kırılma (breakthrough):** Antiviral ilaç direnci gelişiminin ilk klinik belirtisidir. Antiviral tedaviye uyumlu hastalarda, tedavi yanıtı sonrası iki veya daha fazla ardışık izlemde HBV DNA düzeyinde  $\geq 1 \log_{10}$  artış olması olarak tanımlanmaktadır. Serum HBV DNA düzeyleri başlangıçta düşük olma eğilimindedir, çünkü en antiviral dirençli mutantlar wild-tip virüs ile kıyaslandığında düşük replikasyon düzeyine sahiptir. Bununla birlikte, zamanla kompensatuar mutasyonlar geliştirerek yeniden çoğalır ve viral düzey tedavi öncesi değerlerin üzerine çıkar. Bu duruma viral rebound denir (125) (Şekil-16).



**Şekil-16:** Bir antiviral ajanla tedavi gören kronik hepatit B hastasında genotipik direnç, virolojik ve biyokimyasal kırılma, virolojik rebaund ve hepatit alevlenmesi şeması(125).

**Biyokimyasal kırılma:** Tedavi ile ALT düzeyi normal değerlere dönen hastalarda tedavi sırasında tekrar ALT artışı olması olarak tanımlanmaktadır. Genellikle virolojik kırılmadan sonra meydana gelir, serum ALT düzeyleri antiviral direnç gelişiminden sonra haftalar ya da yıllarca normal kalabilir. Bu nedenle antiviral direnç için hassas bir gösterge değildir. Serum ALT düzeylerindeki artış hepatit alevlenmesini gösterir ( serum ALT düzeyleri normal üst sınırın 5 katından yüksek bulunabilir) ve hepatik dekompanseasyon için bir risk faktörüdür (125).

**Genotipik direnç:** Antiviral tedavi sırasında HBV genomunun revers transkriptaz bölgesinde ilaç direnciyle ilgili mutasyonların gösterilmesidir. Bu mutasyonlar virolojik kırılma olan hastalarda çoğunlukla tespit edilmiştir. Ancak virüs düzeyleri plato yapan hastalarda düşük düzeylerde olabilir. Nadiren bu mutasyonlar tedavi öncesi tespit edilebilir (125).

**Fenotipik direnç:** Saptanan mutasyonla birlikte tedavide kullanılan nükleoz(t)id analoguna karşı duyarlılığın azaldığının in-vitro olarak gösterilmesidir.

**Çapraz direnç:** Aynı aminoasit dizilimini kullanarak birden fazla antiviral ilaca karşı oluşan direnç demektir. Klinik deneyimlere bakıldığında tedavi sırasında ortaya çıkan çapraz direnç art arda uygulanan tedavilerde

çoklu ilaç dirençli nesillerin seçimine yol açar. Bu nedenle add-on stratejisinde dikkatli olunması gerekir. İlk basamak tedavinin seçimi dikkatli yapılmalıdır. Çapraz direnç olabilecek yüksek risk gruplarında da direnci en aza indirmek için de-novo kombinasyon tedavileri düşünülmelidir (126) (Tablo-5).

**Tablo-5:** Sık görülen dirençli HBV varyantları için çapraz direnç verileri. S (duyarlı), R (dirençli), I (orta dereceli) (2).

	Lamivudin	Telbivudin	Entekavir	Adefovir	Tenofovir
Vahşi tip	S	S	S	S	S
M204V	R	S	I	I	S
M204I	R	R	I	I	S
L180M+M204V	R	R	I	I	S
A181T/V	I	S	S	R	S
N236T	S	S	S	R	I
L180M+M204V/I±I169T±V173L±M250V	R	R	R	S	S
L180M+M204V/I±T184G±S202I/G	R	R	R	S	S

Direnç oranları, L-nükleozid sınıfı antiviral ajanlarda (lamivudin, telbivudin) asiklik fosfanatlar (adefovir, tenofovir) ve siklopentan (entekavir) grubundan daha yüksektir.

#### **L-Nükleozidler:**

Bu grupta lamivudin ve telbivudin dışında klevudin ve emtrisitabin de bulunmaktadır. Tüm L-nükleozidlerde moleküler yapı ve hedef bölgesi benzerdir, bu nedenle antiviral direnç mutasyonları da benzerdir. Sonuç olarak sınıf içi çapraz direnç vardır. Bu ilaçların hedefi HBV DNA'nın revers transkriptaz bölgesidir.

Lamivudin direncine neden olan primer mutasyonlar rtM204V/I iken, telbivudin de sadece rtM204I mutasyonu görülür. Olgu sunumlarında lamivudine primer dirençte rtA181T/S mutasyonunda bildirilmektedir. Mutasyon olan bölgeye lamivudin molekülü bağlanamayıp, etkisini gösterememektedir. Bu mutasyonlar geliştiğinde, viral polimerazın fonksiyonel kapasitesi belirgin olarak azalmaktadır. Viral polimeraz fonksiyonlarının yeniden sağlanması için kompensatuar olarak rtV173L,



rtL180M ve rtL80I mutasyonları gelişmektedir.

Klinik çalışmalarda lamivudin direnci yüksek oranlarda bildirilmektedir. HBeAg pozitif hastalarda 1 yıllık direnç oranı %14-24, HBeAg negatiflerde %6-18 iken, bu oran 8 yıl sürekli tedavi sonunda %70'e kadar yükselmektedir.

Telbivudin ile direnç oranları lamivudinden daha düşük olmakla birlikte, HBeAg pozitif hastalarda 1. yılda direnç %5, 2. yılda %22 bildirilmiştir ki, bu da uzun tedavi süresinin direnç gelişimini önemli bir sorun haline getirebileceğini düşündürmektedir. HBeAg negatif hastalarda bu oranlar 1. yılda %2, 2. yılda %11 bildirilmektedir. Hastalarda yüksek başlangıç HBV DNA düzeyleri, HBV DNA düşüşünün yavaş olması, uzun tedavi süreleri lamivudin ve telbivudine direnç gelişimine eğilim yaratan faktörler olarak bildirilmiştir. Bir çalışmada lamivudin tedavisinin 24. haftasında HBV DNA>200 kopya/mL saptanan hastalarda lamivudin direnci %60, HBV DNA<200 kopya/mL olanlarda ise %8 olarak bildirilmiştir (125).

#### **Asiklik fosfanatlar:**

Adefovir ve tenofovir, kronik hepatit B tedavisinde kullanılan asiklik fosfonat grubu ilaçlardır. Adefovir direnci mutasyonları HBV polimerazın YMDD motifi dışında B ve D bölgesindedir. Primer dirençten sorumlu iki mutasyon bildirilmiştir, bunlar rtA181T ve rtN236T'dir.

Uzun süreli izlem çalışmalarında HBeAg negatif hastalarda, adefovir tedavisi ile genotipik direnç oranı 2. yılda %3, 5. yılda %29 bildirilmiştir. HBeAg pozitif hastalarda uzun süreli direnç sonuçları net değildir. Lamivudinde olduğu gibi tedavinin ilk yılındaki rezidüel virüs direnç gelişimini belirlemede prediktiftir.

İn-vitro çalışmalarda tenofovirin adefovir ile eşit güçte olduğu, ancak klinik olarak kullanılan dozu 30 kat fazla olduğu için daha etkili olduğu gösterilmiştir. Tenofovir ile tedavi sırasında HBeAg negatif ve pozitif hastalarda virolojik kırılma gözlenmiştir, ama 2 yıllık tedavi sonunda hiçbir genotipik direnç tespit edilmemiştir (125).

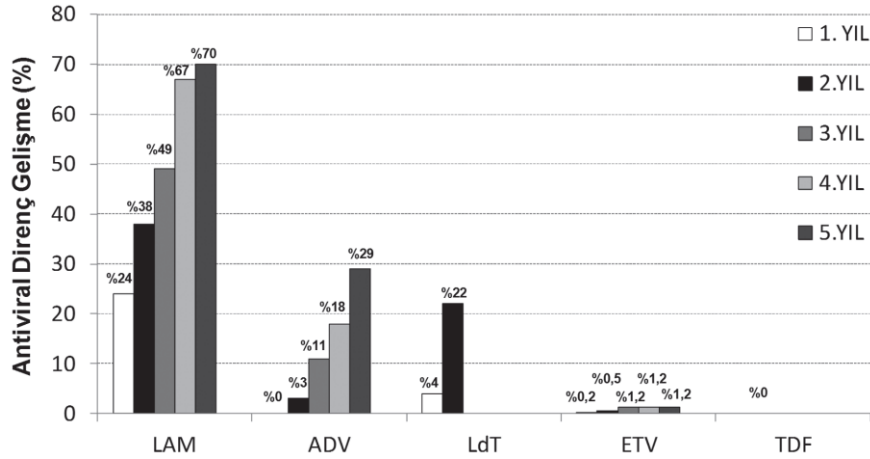
Tenofovir HBV/HIV ko-enfeksiyonu olan olgularda lamivudin veya emtrisitabin ile birlikte kullanılmıştır ve bu tedavi sırasında tenofovir karşı

rtL180M + rtA194T mutasyonu ile direnç geliştiği gösterilmiştir (127).

### Siklopentan grubu:

Entekavir HBV'ye karşı güçlü aktiviteye sahip 2'deoksiguanozinin bir karboksilik analogudur. HBV DNA sentezini 3 aşamada inhibe eder. Direnç gelişimi için yüksek genetik bariyere sahiptir, bu nedenle virolojik kırılmadan önce çoklu mutasyonların oluşması gerekir. Entekavir ile virolojik kırılma olması için klasik lamivudin direnci ile ilişkili rtM204V/I mutasyonu gereklidir. Bu mutasyonun yokluğunda gelişen entekavir mutasyonlarında ilaç etkinliği 10 kat azalırken, rtM204V/I varlığında 1000 kat azalma olmaktadır. Mutasyonlarda iki patern bildirilmiştir. Birinci patern rtL169T+rtL180M+rtM204V+rtM250V mutasyonlarını içerir. Diğer patern ise, rtL180M+rtT184G+rtS202I+rtM204V'dir.

Nükleozid naiv hastalarda entekavir direnci 1. yılda %0, 5. yılda %1,2 olarak bildirilmiştir. In-vitro verilerle lamivudin direnç mutasyonları rtM204V/I±rtL180M olan hastalarda entekavir direncinin daha yüksek oranda geliştiği tahmin edilmiştir. Lamivudin dirençli hastalarda entekavir direnci 1. yılda % 1, 5.yılda % 51 olarak bildirilmektedir (125) (Şekil-17).



**Şekil-17:** Kronik hepatit B'li NA naiv hastalarda lamivudin (LAM), adefovir (ADV), telbivudin (LdT), entekavir (ETV) ve tenofovire (TDF) karşı gelişen direnç oranları (2).

### **Antiviral Direncin İzlemi**

Antiviral direncin saptanabilmesi için kılavuzlar ve uzman görüşleri, aralıklı olarak duyarlı ölçümlerle HBV DNA düzeyinin değerlendirilmesini önermektedir. Genotipik direncin saptanması için kullanılan testler yetersiz olup maliyeti de yüksektir. Sadece ALT takibi dedirenci saptamada duyarlı değildir. Önerilen HBV DNA izlemidir. Bu izlem HBV DNA negatif olana kadar 3 ayda bir, daha sonra da 3-6 ayda bir ve aynı yöntemle yapılmalıdır. Direncin saptanması için düşük özgüllüğüne rağmen virolojik kırılma açısından serum ALT düzeyi de mutlaka izlenmelidir (125).

### **Antiviral Direncin Yönetimi**

Virolojik kırılma saptanır saptanmaz yapılan tedavi değişikliği ile uzun dönemde iyi sonuçlar alınmıştır. Lamivudin tedavisi altında iken, genotipik direnç saptanır saptanmaz adefovir başlanan hastalarda 2. yıl sonunda virolojik yanıt %100 iken, genotipik direnç ve biyokimyasal kırılma olduğunda başlanan hastalarda yanıt %78 oranındadır.

Bir diğer önemli nokta ise çoklu ilaç direncinin önlenmesi açısından başka tedaviye geçiş yerine kullanılan tedaviye ekleme yapılması daha üstün bir yaklaşım gibi görünmektedir. Lamivudin direnci saptanan 588 hastayla yapılan bir retrospektif analizde, 303 hastada lamivudin kesilerek adefovir verildiği, 285 hastada da lamivudin tedavisine adefovir eklendiği görülmüştür. Her iki grupta da virolojik yanıtlar benzerdi, 3. yıl sonunda sadece adefovir alanlarda %71, adefovir ve lamivudin alanlarda %78. Bununla birlikte virolojik kırılma oranları sırasıyla %30 ve %6 bulundu. Adefovire karşı genotipik dirençte %16 ve %0 idi. Bu da çoklu ilaç direncini önlemede kombinasyon tedavisinin daha yararlı olduğunu göstermiştir.

Sirotik hastalarda ilaç direnci geliştiğinde, hepatit alevlenmesi ve hepatik dekompanseasyon riski nedeniyle tedavi hızlıca değiştirilmelidir. İlaç değişimi, çapraz reaksiyonlar ve renal yetmezlik gibi ko-morbid durumlar göz önünde bulundurularak yapılmalıdır (125).

### **Antiviral Dirençte Tedavi Seçenekleri**

Lamivudin direnci geliştiğinde, adefovir eklenmesi, entekavir ve tenofovir gibi güçlü ve direnç gelişimi için genetik bariyeri yüksek ilaçlara

geçilmesi veya tenofovir ve emtrisitabin kombinasyonlarına geçilmesi düşünülebilir. Lamivudin dirençli hastalarda entekavire karşı da çapraz direnç geliştiği için bu durumda entekavire geçilmesi önerilmemektedir (128).

Adefovir direnci geliştiğinde, tedavi direnç mutasyonuna göre yapılmalıdır. rtN236T mutasyonu olan hastalarda, entekavire geçilebilir ya da entekavir eklenebilir, lamivudin eklenebilir, tenofovire ya da tenofovir-emtrisitabin kombinasyonuna geçilebilir. Eğer rtA181T mutasyonu gelişmişse, seçenekler daha az olup, entekavire geçilebilir, entekavir eklenebilir, tenofovire ya da tenofovir-emtrisitabin kombinasyonuna geçilebilir. Bu durumda çapraz direnç nedeniyle lamivudin kullanılması önerilmemektedir (129).

Entekavir direnci gelişmişse, sınırlı sayıdaki veriler ışığında önerilenler, adefovir eklenmesi ya da adefovire geçilmesi, tenofovir ya da tenofovir-emtrisitabin kombinasyonu eklenmesi ya da değiştirilmesidir (130).

#### **Antiviral Direncin Önlenmesi**

Tedavi stratejilerindeki ana amaç antiviral direnç gelişiminin önlenmesi olmalıdır. Bunun için de uygun hasta seçimi ve antiviral ilaçların akılcı kullanımı önemlidir. İmmün tolerans fazındaki hastalara ilaç başlanmamalıdır. Eğer tedavi gerekiyorsa, güçlü etkinliği ve direnç için yüksek genetik bariyeri olan ilaçlar tercih edilmelidir. Antiviral yanıt yakından izlenmeli ve aralıklarla HBV DNA ölçümleri yapılmalıdır (125).

Bu çalışmada amaç; Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dalı Polikliniğinde Kronik hepatit B enfeksiyonu tanısıyla lamivudin ile tedavi edilen hastaların tedavisi sırasında oluşan genotipik direncin izlenmesi ve direnç gelişimlerinin erken tespit edilerek yeni tedavi stratejilerinin oluşturulmasına ve daha etkili bir antiviral tedavi sağlanmasına katkıda bulunmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı polikliniğinde klinik, patoloji ve laboratuvar değerlendirmesinde kronik hepatit B tanısı almış, en az 6 ay lamivudin kullanan, tedaviye viral yanıt alındıktan sonra lamivudin direnci gelişen 33 hasta alındı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'ndan 2011-10/11 No'lu etik krul kararı alındı. Hastaların dosyalarından elde edilen bilgiler retrospektif olarak değerlendirildi.

Hastaların çalışmaya alınma kriterleri aşağıda belirtildiği gibi belirlendi:

- 18 yaş ve üzerinde olması
- En az 6 aydır HBsAg pozitifliği olması
- En az 6 ay lamivudin tedavisi almış olması
- Tedavi sırasında virolojik yanıt alındıktan bir süre sonra virolojik kırılma saptanmış olması
- Tedaviye uyumlu ve sürekli tedavi almış olması

Hastaların çalışmadan dışlanma kriterleri aşağıda belirtildiği gibi belirlendi:

- 18 yaşından küçük, 70 yaşından büyük olması
- Birlikte HDV, HCV, HIV pozitifliği olması
- Bilinen kronik karaciğer hastalığına yol açan başka bir etyolojik faktör olması
- Lamivudine karşı primer yanıtızsızlık (tedavinin 6. ayında HBV DNA düzeyinde  $\geq 1 \log_{10}$  düşüş olmaması) saptanmış olması
- Tedavi uyumsuzluğu olması

Hastaların demografik özellikleri, alışkanlıkları, eşlik eden hastalıkları, laboratuvar bulguları ve patolojik verileri üniversitemiz hasta veri tabanından toplandı. Bunlar;

- 1) Demografik özellikler (yaş, cinsiyet, boy, kilo, beden kütle indeksi)
- 2) Alışkanlıklar (sigara, alkol)
- 3) Eşlik eden hastalıkları

- 4) Serolojik bulgular (HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe), HBV DNA, anti-HDV, anti-HCV, laboratuar bulguları (AST, ALT, Alfa-fetoprotein [AFP])
- 5) HBV DNA polimeraz geni mutasyonları
- 6) Patolojik bulgular (İshak ve Knodell'a göre histolojik aktivite indeksleri ve fibrozis evreleri)
- 7) Lamivudin ile tedavi süreleri
- 8) Lamivudin direnci sonrası verilen tedaviler.

Hastane veri tabanından ulaşılamayan bilgiler için hastalar telefon ile arandı. Özellikle hasta alışkanlıkları, boy, kilo gibi demografik veriler bu yöntem ile öğrenildi.

Hastaların boy ve kilolarına göre kilo(kg)/boy<sup>2</sup>(m<sup>2</sup>) formülü kullanılarak beden kütle indeksleri (BKİ) hesaplandı. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği'nin klavuzlarına göre obezite sınıflaması yapıldı. BKİ <18,5 olanlar zayıf, 18,5-24,9 olanlar normal kilolu, 25-29,9 olanlar toplu, 30-34,9 olanlar obezite basamak 1, 35-39,9 olanlar obezite basamak 2, ≥40 olanlar obezite basamak 3 olarak değerlendirildi.

Sigara, alkol alışkanlıkları ve eşlik eden hastalıkları not edildi.

Kronik hepatit B tanısıyla lamivudin tedavisi alan ve tedavi sırasında HBV DNA'sı negatif iken tedavinin seyri sırasında pozitifleşen hastalar lamivudine dirençli olarak kabul edildiler. Bu hastaların tedavi öncesi serolojik göstergeleri, HBV DNA düzeyleri, laboratuar verileri ve karaciğer biyopsi sonuçları kaydedildi. Virolojik kırılma anındaki serolojik göstergeleri, HBV DNA düzeyleri ve laboratuar verileri kaydedildi. HBV DNA polimeraz geni mutasyon analizlerinde belirlenen mutasyon kodonları ve lamivudin ile tedavi süreleri kaydedildi.

Hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında HBV DNA ölçümü 2000 yılına kadar 'Digene Hybrid Capture System' (5-2000 pg/mL) kullanılarak hibridizasyon yöntemi ile yapılmaktayken, 2000-2003 yılları arasında 'Rotor Gene PCR Kit, Qiagen' (kopya/mL) ile Real-Time PCR yöntemiyle yapılmıştır. 2003 yılından beri 'Rotor Gene Qiagen' (IU/mL) ile ölçüm

yapılmaktadır. Verilerin girişi sırasında tüm HBV DNA düzeyleri IU/mL'ye çevrilerek standardize edilmiştir.

### **İstatistiksel Analiz**

Tüm istatistiksel analizler SPSS 13,0 paket programı ile yapılmıştır.

Sonuçlar ortalama ( $\pm$ SD=standart deviation=standart sapma) ve ortanca (minimum-maksimum) olarak verilmiştir. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılmayan veri için iki grup karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon, Spearman korelasyon katsayıları ve NPar testi ile incelenmiştir. Anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak belirlenmiştir. HBV DNA düzeyi  $E=10^8$  olarak belirtilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya kronik hepatit B tanısıyla 6 aydan uzun süredir lamivudin tedavisi alan, izleminde virolojik kırılma saptanıp genotipik mutasyon analizi yapılan 33 hasta dahil edildi. Hastaların 12'si (%36,4) kadın, 21'i (%63,6)erkek olup; yaş ortalamaları  $51,24 \pm 10,76$  yıl ve yaş ortanca değerleri 49 (20-68) yıl olarak saptandı. Boy ortalamaları  $169 \pm 8,9$  cm, ortanca değerleri 168 (150-189) cm; ağırlık ortalamaları  $79,6 \pm 11,16$  kg, ortanca değerleri 80 (55-104) kg olarak bulundu. Formül kullanılarak BKİ'leri ortalaması  $27,88 \pm 3,94$ , ortanca 28 (20,8-38,6) olarak hesaplandı. BKİ'lerine göre sınıflama Tablo-6'da verilmiştir.

**Tablo- 6:** BKİ'ne göre hastaların dağılımı

	Hasta sayısı	%
<b>Normal</b>	7	21,2
<b>Toplu</b>	18	54,5
<b>Obezite, basamak 1</b>	6	18,2
<b>Obezite, basamak 2</b>	2	6,1

Daha öncesinde ya da halen sigara kullanımı olan 8 hasta (%24,2), geçmişte alkol kullanımı olan 3 hasta (%9,1) mevcuttu. Hastaların 18'inde (%54,5) kronik hepatit B enfeksiyonuna eşlik eden başka hastalıkları mevcuttu. Hastalara ait bu hastalıklar Tablo-7'de gösterilmiştir. Karaciğer sirozu saptanan hasta sayısı 6 (%18,2) idi.



**Tablo- 7: Hastaların özellikleri**

Hasta numarası	Yaş	Cinsiyet	Sigara kullanımı	Alkol kullanımı	Eşlik eden hastalıklar	KC Sirozu
1	42	kadın	yok	yok	yok	yok
2	53	kadın	yok	yok	Tip 2 DM	yok
3	49	erkek	var	yok	Tip 2 DM, Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma	var
4	49	erkek	yok	yok	yok	yok
5	48	erkek	yok	yok	Splenik Marjinal Zon Lenfoma	var
6	57	kadın	yok	yok	Romatoid Artrit, Opere Paratiroid Adenomu, Osteoporoz	yok
7	41	erkek	yok	yok	yok	yok
8	58	erkek	var	var	Tip 2 DM, HT	yok
9	48	erkek	yok	yok	Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma	yok
10	47	erkek	yok	yok	yok	yok
11	40	erkek	yok	yok	yok	yok
12	67	kadın	yok	yok	Opere Meme Kanseri	yok
13	64	erkek	var	yok	Tip 2 DM, KAH, Geçirilmiş SVO, HCC	var
14	51	erkek	var	yok	yok	yok
15	47	kadın	yok	yok	Epilepsi	yok
16	41	erkek	yok	var	yok	yok
17	47	erkek	var	yok	Tip 2 DM	yok
18	40	erkek	yok	yok	yok	yok
19	47	kadın	yok	yok	yok	yok
20	58	kadın	yok	yok	Tip 2 DM, HT	var
21	68	erkek	yok	yok	Tip 2 DM, Opere HCC	var
22	63	erkek	yok	yok	yok	yok
23	61	erkek	yok	yok	HT, KAH	yok
24	64	kadın	yok	yok	Miyastenia Gravis	yok
25	37	erkek	yok	var	yok	yok
26	39	kadın	var	yok	Tip 2 DM	yok
27	20	erkek	yok	yok	yok	yok
28	62	erkek	var	yok	yok	yok
29	52	kadın	yok	yok	Nonhodgkin Lenfoma	yok
30	47	erkek	yok	yok	yok	yok
31	60	erkek	var	yok	Tip 2 DM, KAH, Metalik MVR	yok
32	68	kadın	yok	yok	KOAH, Opere HCC	var
33	56	kadın	yok	yok	yok	yok

Tedavi başlangıcında HBeAg pozitif olan hasta sayısı 8 (%24,2), HBeAg negatif olan hasta sayısı 25 (%75,8) idi. Mevcut verilerden 8 hastanın tedavi öncesi HBV DNA değerlerine ulaşılamadı. Yirmi beş hastanın tedavi öncesi HBV DNA değerleri ortalaması  $2E+008 \pm 8E+008$  IU/mL, ortanca 1.550.000 (1750-4E+009) IU/mL olarak saptandı. Tedavi başlangıcında 2 hastanın AST, ALT değerlerine, 1 hastanın AFP değerine ulaşılamadı. Otuz bir hastanın tedavi öncesi AST değerleri ortalaması  $86,23 \pm 144,1$  IU/L, ortanca 50 (16-815) IU/L; ALT değerleri ortalaması  $158,1 \pm 344$  IU/L, ortanca 73 (15-1946) IU/L; AFP değerleri ortalaması  $4,49 \pm 4,23$  IU/mL, ortanca 3,21 (0,4-21,16) olarak bulundu. Hastalardan 1 tanesinde tanı anında HCC mevcuttu, 2 hastada da izlemi sırasında HCC geliştiği gözlemlendi. Bu hastalardan 1 tanesinde HCC nedeniyle exitus görüldü.

Değerlendirilen hastaların 18'inin (%54,5) tedavi başlangıcında yapılan karaciğer biyopsi sonuçlarına ulaşıldı. Mevcut karaciğer biyopsi patolojik tanıları ve fibrozis skorları Tablo-8'de verilmiştir. Karaciğer biyopsi sonuçlarına göre HAI ortalaması  $10 \pm 4,1$ , ortanca 10,5 (2-16); fibrozis skoru ortanca değeri ise 3 (0-4) olarak saptandı.

**Tablo- 8:** Karaciğer biyopsi sonuçları

	Hasta sayısı	%
<b>Patolojik tanı</b>		
• Yok	15	45,5
• Minimal aktiviteli kronik hepatit	2	6,1
• Hafif aktiviteli kronik hepatit	5	15,2
• Orta aktiviteli kronik hepatit	4	12,1
• Şiddetli aktiviteli kronik hepatit	7	21,2
<b>Fibrozis</b>		
• 0	1	3
• 1	4	12,1
• 3	10	30,3
• 4	1	3

Direnç anında bakılan HBeAg 7 (%21,2) hastada pozitif, 26 (%78,8) hastada negatif saptandı, 1 hastada HBeAg serokonversiyonu geliştiği görüldü. Bu dönemde bakılan HBV DNA ortalama değeri  $5.979.961 \pm 2E+007$  IU/mL, ortanca değeri 26.500 (69-1E+008) IU/mL bulundu. Direnç anında AST değerleri ortalaması  $84,58 \pm 222,42$ , ortanca 27 (13-1289) IU/L; ALT değerleri ortalaması  $96,3 \pm 198,95$ , ortanca 35 (9-1011) IU/L; AFP değerleri ortalaması  $249,92 \pm 1368,42$ , ortanca 3,12 (1,68-7870) IU/mL olarak bulundu.

Değerlendirilen 33 hastanın 10'unda (%30,3) genetik mutasyon saptanmadı, 23'ünde (%69,7) mutasyon saptandı. Bu 23 hastanın 8'inde (%24,2) tek kodonda, 11'inde (%33,3) iki kodonda, 2'sinde (%6,1) üç kodonda ve 2'sinde (%6,1) dört kodonda mutasyon saptandı. Mutasyon kodon sayıları ve elde edilen mutasyon kodonları Tablo-9 ve Tablo-10'da verilmiştir.

**Tablo-9:** Mutasyon kodon sayıları ve hastalar

	Hasta sayısı	%
<b>Mutasyon kodon sayısı</b>		
• 0	10	30,3
• 1	8	24,2
• 2	11	33,3
• 3	2	6,1
• 4	2	6,1

**Tablo-10:** Mutasyon kodonları ve hasta sayıları

<b>Mutasyonlar</b>	<b>Hasta sayısı</b>	<b>%</b>
M204I	7	21,2
L80I	1	3
M204V, M204I	2	6,1
L80V, M204I	2	6,1
L180M, M204I	3	9,1
L180M, M204V	4	12,1
L180M, L80V, M204I	1	3
L180M, L80I, M204V	1	3
L80M, L80V, M204V, M204I	1	3
L180M, L80M, M204V, M204I	1	3
Belirlenemeyen	10	30,3
<b>Toplam</b>	<b>33</b>	<b>100</b>

Hastaların cinsiyetlerine göre yaş, lamivudin tedavisi başlangıcındaki HBV DNA, AST ve ALT değerleri, yapılan karaciğer biyopsi sonuçlarına göre HAİ ve fibrozis skorları, direnç anındaki HBV DNA, AST, ALT değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ortalama, ortanca değerler ve istatistiksel anlamlı düzeyleri Tablo-11’de verilmiştir.

**Tablo-11:** Cinsiyete göre laboratuvar ve karaciğer biyopsi sonuçları

	<b>Ortalama±standart sapma</b>	<b>Ortanca değer (minimum-maksimum)</b>	<b>p</b>
<b>Yaş</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kadın</li><li>• Erkek</li></ul>	54,17±9,37 49,57±11,36	54,5 (39-68) 48 (20-68)	0,308
<b>Tedavi öncesi HBV DNA</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kadın</li><li>• Erkek</li></ul>	1E+007±4E+007 3E+008±1E+009	191.000 (3.950-1E+008) 3.940.223 (1.750-4E+009)	0,136
<b>Tedavi öncesi AST</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kadın</li><li>• Erkek</li></ul>	48,91±34,28 106,75±175,84	51 (17-112) 49,5 (16-815)	0,279
<b>Tedavi öncesi ALT</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kadın</li><li>• Erkek</li></ul>	77,36±60,99 202,5±423,21	62 (17-182) 78,5 (15-1946)	0,427
<b>HAI</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kadın</li><li>• Erkek</li></ul>		8 (2-13) 12 (3-16)	0,213
<b>Fibrozis</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kadın</li><li>• Erkek</li></ul>		3 (1-3) 3 (0-4)	0,661
<b>Direnç anı HBV DNA</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kadın</li><li>• Erkek</li></ul>	9.397.305±3E+007 4.027.193±9.670.322	9.815 (374-1E+008) 39.200 (69-38.300.000)	0,365
<b>Direnç anı AST</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kadın</li><li>• Erkek</li></ul>	56,42±62,74 100,67±276,11	26,5 (15-220) 28 (13-1289)	0,671
<b>Direnç anı ALT</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kadın</li><li>• Erkek</li></ul>	60,08±51,74 117±246,21	30 (9-160) 39 (15-1011)	0,927

\*p<0,05

Hastaların yaşları ile tedavi başlangıcındaki HBV DNA, AST, ALT, direnç gelişimi sırasındaki HBV DNA, AST, ALT ve mutasyon kodon sayıları

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Tedavi başlangıcındaki HBV DNA düzeyleri ile tedavi başlangıcındaki AST, ALT, direnç gelişimi sırasındaki HBV DNA, AST, ALT ve mutasyon kodon sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Tedavi başlangıcındaki AST değerleri ile ALT değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu, aradaki ilişkinin pozitif korelasyon gösterdiği görüldü. Tedavi başlangıcındaki AST değerleri ile direnç anındaki HBV DNA, AST, ALT ve mutasyon kodon sayıları arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Tedavi başlangıcındaki ALT değerleri ile direnç anındaki HBV DNA, AST, ALT ve mutasyon kodon sayıları arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Direnç anındaki HBV DNA düzeyleri ile direnç anında bakılan AST, ALT düzeyleri ve mutasyon kodon sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Direnç anındaki AST düzeyleri ile direnç anındaki ALT düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu, aradaki ilişkinin pozitif korelasyon gösterdiği görüldü. Direnç anındaki ALT değerleri ile mutasyon kodon sayıları arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Lamivudin tedavi süreleri ile mutasyon kodon sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Verilerin istatistiksel analiz bulguları Tablo-12' de gösterilmiştir.

**Tablo-12:** Yaş, tedavi öncesi ve sonrası laboratuvar bulguları, mutasyon kodon sayısı arasındaki ilişki

	Yaş	Tedavi öncesi HBV DNA	Tedavi öncesi AST	Tedavi öncesi ALT	Direnç anı HBV DNA	Direnç anı AST	Direnç anı ALT	Mutasyon kodon sayısı
Yaş		-0,200 (p=0,337)	-0,001 (p=0,996)	-0,034 (p=0,858)	0,214 (p=0,232)	-0,029 (p=0,872)	-0,08 (p=0,656)	0,041 (p=0,822)
Tedavi öncesi HBV DNA	-0,200 (p=0,337)		-0,045 (p=0,831)	-0,039 (p=0,852)	-0,066 (p=0,753)	-0,06 (p=0,777)	-0,058 (p=0,785)	-0,089 (p=0,672)
Tedavi öncesi AST	-0,001 (p=0,996)	-0,045 (p=0,831)		<b>0,970</b> (p=0,000)*	-0,079 (p=0,674)	-0,090 (p=0,630)	-0,116 (p=0,536)	-0,006 (p=0,976)
Tedavi öncesi ALT	-0,034 (p=0,858)	-0,039 (p=0,852)	<b>0,970</b> (p=0,000)*		-0,064 (p=0,731)	-0,105 (p=0,574)	-0,128 (p=0,494)	0,028 (p=0,882)
Direnç anı HBV DNA	0,214 (p=0,232)	-0,066 (p=0,753)	-0,079 (p=0,674)	-0,064 (p=0,731)		0,093 (p=0,607)	0,074 (p=0,681)	0,140 (p=0,436)
Direnç anı AST	-0,029 (p=0,872)	-0,060 (p=0,777)	-0,090 (p=0,630)	-0,105 (p=0,574)	-0,093 (p=0,607)		<b>0,907</b> (p=0,000)*	0,127 (p=0,482)
Direnç anı ALT	-0,080 (p=0,656)	-0,058 (p=0,785)	-0,116 (p=0,516)	-0,128 (p=0,494)	0,074 (p=0,681)	<b>0,907</b> (p=0,000)*		0,129 (p=0,475)
Mutasyon kodon sayısı	0,041 (p=0,822)	-0,089 (p=0,672)	-0,006 (p=0,976)	0,028 (p=0,882)	0,140 (p=0,436)	0,127 (p=0,482)	0,129 (p=0,475)	

\*p<0,05

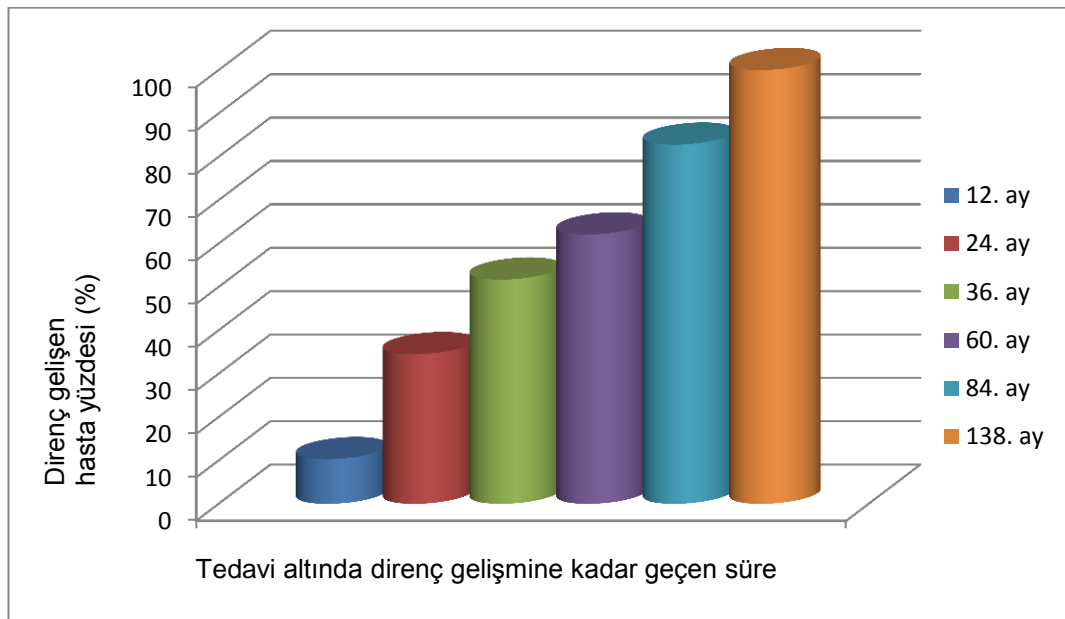
Yapılan karaciğer biyopsi sonuçlarının değerlendirilmesinde HAİ ve fibrozis skorları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu, aradaki ilişkinin pozitif korelasyon gösterdiği görüldü. HAİ skoru ile yaş, direnç anındaki HBV DNA, AST, ALT ve tedavi süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Fibrozis skorları ile yaş, direnç anındaki AST, ALT düzeyleri ve tedavi süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Fibrozis skorları ile direnç anında bakılan HBV DNA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu, aradaki ilişkinin negatif korelasyon gösterdiği görüldü. Verilerin istatistiksel analiz bulguları Tablo-13' de gösterilmiştir.

**Tablo-13:** Karaciğer biyopsi sonuçları ile yaş, direnç anı laboratuvar bulguları arasındaki ilişki

	HAI	Fibrozis
HAI		<b>0,720 (p=0,002)*</b>
Fibrozis	<b>0,720 (p=0,002)*</b>	
Yaş	0,285 (p=0,251)	0,324 (p=0,221)
Direnç anı HBV DNA	-0,051 (p=0,841)	<b>-0,563 (p=0,023)*</b>
Direnç anı AST	-0,144 (p=0,570)	-0,495 (p=0,051)
Direnç anı ALT	-0,171 (p=0,497)	-0,449 (p=0,081)
Tedavi süresi (ay)	0,054 (p=0,836)	0,194 (p=0,489)

\*p<0,05

Hastaların 29'una ait direnç gelişimine kadar olan tedavi süreleri hesaplandı, 4 hastada tedavi süresi net olarak elde edilemedi. Ortalama tedavi süreleri  $53,07 \pm 40,44$  ay, ortanca 38 (7-138) ay olarak bulundu. Hasta populasyonumuzda lamivudin tedavisine direnç gelişim oranları 12. ayda %10,3, 24. ayda %34,5, 36. ayda %51,7, 60. ayda %62,1, 84. ayda %82,8 ve 138. ayda %100 olarak saptandı. Hastaların lamivudine direnç gelişim oranları Şekil-18'de gösterilmiştir.



**Şekil-18:**Lamivudin tedavisine direnç gelişim oranları



Genetik mutasyon saptanan hastaların (n=19) tedavi öncesi HBV DNA düzeyleri ortalaması  $2E+008 \pm 894208658$  IU/mL, ortanca değeri 1550000 (1750-4E+009) IU/mL, mutasyon saptanmayan hastaların tedavi öncesi HBV DNA düzeyleri ortalaması  $3E+007 \pm 48301235$  IU/mL, ortanca değeri 4054983 (12800-1E+008) IU/mL idi. Her iki grup HBV DNA düzeylerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (**p=0,733**). Tedavi öncesi HBV DNA düzeyi  $10^7$  IU/mL'nin üzerinde olan 6 (%24) hastanın 4'ünde (%66,7) mutasyon saptanırken 2'sinde (%33,3) mutasyon saptanmadı; HBV DNA düzeyi  $10^7$  IU/mL'nin altında olan 19 (%76) hastanın 15'inde (%78,9) mutasyon saptanırken 4'ünde (%21,1) mutasyon saptanmadı. Hastalar tedavi öncesi HBV DNA düzeyleri  $10^7$  IU/mL sınır değer olarak kabul edilerek mutasyon durumuna göre değerlendirilip her iki grup birbiriyle karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (**p=0,948**).

Tedavi öncesi HBeAg pozitif olan 8 (%24,2) hastanın 3'ünde (%37,5) mutasyon saptanırken 5'inde (%62,5) mutasyon saptanmadı; HBeAg negatif olan 25 (%75,8) hastanın 20'sinde (%80) mutasyon saptanırken 5'inde (%20) mutasyon saptanmadı. Tedavi öncesi HBeAg pozitif veya negatifliğine göre mutasyon durumu karşılaştırıldığında; HBeAg negatif hastalarda daha sık mutasyon geliştiği gözlemlendi ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,036**).

Hastalar lamivudin ile tedavi süresi 36 ay sınır değer olarak alınıp değerlendirildi. Tedavi süresi 36 ayın üzerinde olan 15 (%51,7) hastanın 12'sinde (%80) mutasyon saptanırken 3'ünde (%20) mutasyon saptanmadı. Tedavi süresi 36 ayın altında olan 14 (%48,3) hastanın 10'unda (%71,4) mutasyon saptanırken 4'ünde (%28,6) mutasyon saptanmadı. Her iki grup mutasyon durumuna göre karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (**p=0,682**).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Hepatit B virüsü dünya nüfusunun üçte birini etkileyen ve 400 milyon kişinin taşıyıcı olduğu önemli bir enfeksiyon etkenidir. Asemptomatik enfeksiyondan fulminan hepatite, inaktif taşıyıcılıktan karaciğer sirozu ve HCC gibi değişik klinik tablolara neden olabilmektedir. HBV'ye bağlı kronik hepatit tüm dünyada önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. HBV siroz zemininde veya siroz olmaksızın HCC'ye neden olmaktadır. Halen geçerli olan tedaviler ile HBV'nin eradikasyonu mümkün olmamaktadır. Kronik hepatit B tedavisinin kısa ve uzun dönem hedefleri vardır. Kısa dönem hedefler; ALT düzeylerinin normal değerlere gelmesi, HBeAg serokonversiyonu, viral replikasyonun baskılanarak HBV DNA düzeyinin düşürülmesi, karaciğer histopatolojisinde düzelmedir. İdeal olanı HBV DNA'nın PCR ile saptanamamasıdır. Çünkü sürekli viremi tedaviye yanıtızlığın yanı sıra viral direnç riskinin de artmasına yol açar. Uzun dönem hedefler ise; yaşam kalitesinin iyileştirilmesi, HCC, siroz ve komplikasyonlarının önlenmesidir.

Günümüzde yapılan çalışmalar göstermiştir ki; kronik hepatit B tedavisinde en önemli olan HBV DNA'nın süpresyonudur. İdeal olanı HBsAg kaybıdır, fakat HBsAg kaybı bile ileride HCC gelişimi riskini tam olarak önleyememektedir. Yeni bulgulara göre, HBV DNA düzeyleri 2,000 IU/mL'nin üzerinde olan, ALT düzeyleri sürekli yüksek olan hastalarda HBeAg/anti-HBe durumuna bakılmaksızın tedavi düşünölmelidir (131).

HBV enfeksiyonu patogeneğinde enfekte hepatositlere karşı yetersiz ve devam eden bir immün yanıt rol oynar. Bu nedenle kronik hepatit B enfeksiyonunun iki yönü vardır; birincisi HBV antijenlerine karşı immün yanıtı kuvvetlendirmek, ikincisi ise virüsü bloke veya eradike etmek. Günümüzde bunun için kullanılan iki tedavi yönteminden birincisi immünmodölatörler (sIFN alfa ve peg-IFN alfa), diğeri ise viral polimeraz inhibitörleridir (lamivudin, telbivudin, adefovir, entekavir, tenofovir) (132).

Lamivudin, kronik hepatit B tedavisinde 1998 yılında FDA onayı

almış ilk nükleozid analogudur. Lamivudin HBeAg pozitif ve negatif kronik hepatit B enfeksiyonlarında, kompanse ya da dekompanse sirozlu hastalarda ve çocuklardaki kronik hepatit B enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (133, 134). Lamivudin uzun süreli kullanımıyla etkinliği artmakla birlikte en önemli sorun direnç gelişimidir. İlacın kullanıldığı süreyle orantılı olarak yıllar içinde direnç gelişiminde artış gözlenmekte, birinci yıl %15 olan direnç oranı dördüncü yılda %67'ye yükselmektedir (135). Lamivudin direnci gelişmesinden sonra meydana gelen “viral ve biyokimyasal kırılma” tedavi sırasında istenmeyen olaylara yol açmakta, hastalığın kliniğinin tedavi öncesi döneme geri dönmesine, hatta daha da kötüleşmesine sebep olmaktadır. Bundan dolayı direnç gelişiminin erken saptanması için hastalar tedavi altındayken yakından izlenmelidir (136-138).

Literatürlerde lamivudin direnç gelişimiyle ilgili olabilecek belirleyici faktörler olarak HBV genotipi, tedavi öncesi serum ALT ve HBV DNA düzeyleri, HBeAg pozitifliği, karaciğerin histopatolojik durumu, hastanın yaşı, cinsiyeti, BKİ bildirilmektedir (133, 139, 140, 141).

Çalışmamızda 6 aydan uzun süre lamivudin ile tedavi edilen, takibi sırasında virolojik kırılma saptanan 33 hasta değerlendirildi. Hastaların 12'si (%36,4) kadın, 21'i (%63,6) erkek olup; yaş ortalamaları  $51,24 \pm 10,76$  yıl ve yaş ortanca değerleri 49 (20-68) yıl olarak saptandı. Ülkemizde yapılan bir çalışmada kronik hepatit B tanısı alan 88 hastanın değerlendirilmesinde erkek cinsiyet oranı %67, kadın cinsiyet oranı %33, yaş ortalamaları  $35 \pm 11$  yıl bulunmuştur (142). Yine Türkiye'de 77 kronik B hastasıyla yapılan bir çalışmada erkek cinsiyet oranı %72, kadın cinsiyet %28, yaş ortalamaları  $31,6 \pm 13,8$  bulunmuştur (143). Literatür bilgileri doğrultusunda ülkemizde kronik hepatit B'nin orta yaş grubunda ve erkeklerde daha sık görüldüğünü söyleyebiliriz.

Lamivudin direncinde en önemli faktör tedavi süresidir. Tedavi süresi uzadıkça direnç oranı da artmaktadır. Suzuki ve arkadaşlarını yapmış olduğu bir çalışmada lamivudin direnci 1. yılda %12,5 olarak tespit edilirken bu oran tedavinin 3. yılında %43,5, 5. yılında %63 olarak bulunmuştur. Yine aynı çalışmada HBeAg negatif hastalarda direnç sıklığının daha az olduğu

gösterilmiştir (144). Nakanishi ve ark.'nın (145) yaptıkları bir çalışmada lamivudin tedavisinin 1.yılında %15, 2. yılında %34, 3. yılında %60 oranında direnç bildirilmiştir. Lok ve ark.'nın (107) kronik hepatit B hastalarıyla yaptıkları bir çalışmada lamivudin direnci 1. yılda %10, 2. yılda %56 saptanmıştır. HBeAg negatif ve pozitif hastalar arasında direnç açısından fark bulunmamıştır. İspanya'da yapılan bir çalışmada HBeAg negatif kronik hepatit B hastalarının lamivudin ile tedavisinin 1. yılında %19, 2. yılında %44 direnç saptanmıştır (146). Çin'de yapılan bir çalışmada HBeAg pozitif hastalarda lamivudin direnci 5 yılın sonunda %70,8 olarak bulunmuştur (147). Nishida ve ark.'nın (148) yaptıkları bir çalışmada lamivudin direnci 1. yılda %16, 2. yılda %42, 3. yılda %49, 4. yılda %53 bulunmuştur. Kanada'da Moskovitz ve ark.'ları (149) tarafından yapılan bir çalışmada 5 yıllık lamivudin tedavisi sonrası %74 oranında direnç saptanmış, direnç ile HBeAg durumu ve genotip arasında ilişki gösterilmemiştir. Tsubota ve ark.'ları (150) tarafından yapılan bir çalışmada lamivudin tedavisi uygulanan HBeAg pozitif kronik hepatit B hastalarında 1. yılda %23, 2. yılda %45, 3. yılda %47 oranında direnç saptanmıştır. Hastanın yaşı ve tedavi öncesi viral yük (HBV DNA düzeyi)'ün direnç ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Chan ve ark.'nın (151) 139 HBeAg negatif kronik hepatit B hastasıyla yaptıkları bir çalışmada genotipik direnç 1. yılda %24, 2. yılda %34 saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da lamivudin tedavisine direnç gelişim oranları literatür ile uyumlu olarak 12. ayda % 10,3, 24. ayda %34,5, 36. ayda %51,7, 60. ayda %62,1, 84. ayda %82,8 ve 138. ayda %100 olarak saptandı. Bütün çalışmalar göstermiştir ki; hem HBeAg pozitif hem de HBeAg negatif hastalarda tedavi süresi uzadıkça lamivudin direnci gelişme sıklığı artmaktadır.

Birçok çalışmada tedavi öncesi HBV DNA düzeyi ile lamivudin direnci arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Tayvan'da yapılan bir çalışmada HBeAg pozitif, tedavi öncesi HBV DNA düzeyi yüksek, tedavi öncesi ALT düzeyi <5X NÜS olan ve tedavi süresi uzun olan hastalarda lamivudin direncinin daha fazla bulunmuştur (152). Yan ve ark.'nın (153) 163 HBeAg pozitif kronik hepatit B hastasıyla yaptıkları bir çalışmada 2 yıllık lamivudin tedavisi sonrası %30,1 virolojik kırılma, %27,6 direnç mutasyonu saptanmıştır. Hastalar

değerlendirildiğinde tedavi öncesi HBV DNA düzeyi ve tedavi öncesi ALT düzeyinin lamivudin direnciyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bazal HBV DNA  $8,2 \log_{10}$  kopya/mL'nin üzerinde olan ve bazal ALT düzeyi 220 U/L'nin altında olan hastalarda daha fazla direnç geliştiği gösterilmiştir. Yuen ve ark.'nın (154) yaptıkları bir çalışmada tedavi öncesi HBV DNA ve ALT düzeyi lamivudin direnci ile ilişkili bulunmuştur. Bir hastada HBeAg serokonverisyonu sonrası mutasyon geliştiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda da bir hastada HBeAg serokonverisyonu sonrası mutasyon geliştiği görülmüştür.

Manolakopoulos ve ark.'ları (155) HBeAg negatif kronik hepatit B hastalarıyla yaptıkları bir çalışmada tedavi öncesi HBV DNA düzeyi ve tedavi öncesi karaciğer nekroinflamatuvar aktivitesinin lamivudin direnciyle ilişkili olduğunu bildirmişleridir. Nafa ve ark.'nın (139) yaptıkları bir çalışmada tedavi öncesi ALT ve HBV DNA düzeylerinin lamivudin direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Chae ve Hann'ın (156) yaptıkları bir çalışmada yaş, HBV ile enfeksiyon süresi, tedavi öncesi HBV DNA ve ALT düzeyi, HBeAg durumu değerlendirildiğinde lamivudin direncinde en önemli belirleyici faktörlerin HBeAg pozitifliği ve tedavi öncesi HBV DNA düzeyi olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda tedavi öncesi HBV DNA düzeyi ile lamivudin direnci arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Sadece tedavi öncesi HBV DNA düzeyleri değil, hastaların takiplerinde izlenen yüksek HBV DNA düzeylerinin de lamivudin direnciyle ilişkili olduğu bulunmuştur. Bir çalışmada 6 aylık lamivudin tedavisi sonrasında serum HBV DNA düzeyi 1000 kopya/mL'nin üzerinde devam eden ve etmeyen hastalar lamivudin direnci açısından değerlendirildiğinde direnç gelişme olasılığı sırasıyla %63'e karşı %13 bulunmuştur (154). Alam ve ark.'nın (157) lamivudin tedavisi alan 423 kronik hepatit B hastasıyla yaptıkları bir çalışmada; hastaların %86,8'i erkek, %61,7'si HBeAg pozitif idi. Lamivudin tedavisi altında takipte virolojik kırılma 1. yılda %4,4, 2. yılda %22,8, 3. yılda %45,3, 4. yılda %74 saptanmıştır. Tedavi öncesi yüksek HBV DNA düzeyleri ve kadın cinsiyet virolojik kırılma ile ilişkili saptanırken ALT, HBeAg durumu ve yaş arasında ilişki bulunmamıştır. Tedavi süresi, 6. ayda

HBV DNA yanıtı ve 1. yılda HBeAg kaybı olmaması virolojik kırılma ile ilişkili bulunmuştur. Daha önce bildirilen çalışmalardan farklı olarak kadın cinsiyette daha fazla virolojik kırılma saptanması çalışmadaki kadınların daha uzun süre lamivudin tedavisi almalarına bağlanmıştır.

Yuen ve ark.'nın (158) 5 yıl lamivudin tedavisi alan HBeAg pozitif 74 kronik hepatit B hastasıyla yaptıkları bir çalışmada 4. haftadaki HBV DNA düzeyinin direnç gelişimiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. 4. haftadaki HBV DNA düzeyinin 4 log<sub>10</sub> kopya/mL'nin üzerinde olan hastalarda lamivudin direncinin daha sık olduğu bulunmuştur.

Çalışma grubumuzdaki hastaların %24,2'si HBeAg pozitif, %75,8'i HBeAg negatif saptanmıştır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda HBeAg pozitiflik oranı %30, HBeAg negatifliği ise %70 oranında bildirilmiştir. Kanada'da yapılan bir çalışmada HBeAg pozitiflik oranı %57, Taiwan'da yapılan bir çalışmada %30 olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızdaki oranlar da Asya çalışmasına benzer bulunmuştur (159-161). Çalışmamızda HBeAg negatif hastalarda lamivudin direnci mutasyonu daha sık görülmüş ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Literatüre bakıldığında daha çok HBeAg pozitif hastalarda direnç gelişimi gözlenmektedir. Bizim çalışmamızda sonucun literatür ile farklı olmasının nedeni HBeAg negatif hasta sayısının daha çok olmasından ya da precore mutant varyantların varlığından kaynaklanabilir.

85 kronik hepatit B hastasıyla yapılan bir çalışmada lamivudin direnci ile precore ve bazal core promoter varyantları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hastalara en az 6 ay lamivudin tedavisi verilmiş, ortalama 19 (6-54) ay takip edilmiştir. Takiplerinde 12. ayda %6, 24. ayda %31, 48. ayda %51 lamivudin direnci saptanmıştır. Hastalar yaş, cinsiyet, etnik grup, tedavi öncesi HBV DNA, tedavi öncesi ALT, HBeAg durumu, fibrozis skoru, genotip (A,B,C,D), precore/bazal core promoter mutasyon ve 6. aydaki kalıcı HBV DNA durumlarına göre değerlendirilmiştir. Precore mutasyon (G1896A), 6. aydaki HBV DNA düzeyi, tedavi öncesi ALT düzeyi ve kadın cinsiyet lamivudin direnci ile ilişkili bulunmuştur. Yaş, tedavi öncesi HBV DNA düzeyi, genotip ve fibrozis düzeyi ile lamivudin direnci arasında ilişki saptanmamıştır (162).

Chayama ve ark.'nın (163) yaptıkları bir çalışmada yüksek tedavi

öncesi HBV DNA düzeyi ve HBeAg pozitifliği lamivudin direnci ile ilişkili bulunmuştur. Yuen ve ark.'nın (164) yaptıkları bir çalışmada HBeAg pozitif hastalarda lamivudin direncinin daha sık olduğu gösterilmiştir. Yine Da Silva ve ark.'nın (165) 2000 yılında 35 kronik hepatit B hastasıyla yaptıkları bir çalışmada tedavi öncesi HBV DNA düzeyinin yüksekliği ve HBeAg pozitifliği lamivudin direnciyle ilişkili bulunmuştur.

Lamivudin direnciyle HBV genotip ilişkisini araştıran birçok çalışma da yapılmıştır. Suzuki ve ark.'nın (166) yaptığı bir çalışmada Japonya'da baskın genotip olan genotip C'nin, tedavi öncesi HBV DNA düzeyinin yüksekliği ve HBeAg pozitifliğinin lamivudin direnciyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Haddar ve ark.'nın (167) yaptıkları bir çalışmada genotip A' da genotip D'den daha fazla lamivudin direnç mutasyonu geliştiği gösterilmiştir. Kobayashi ve ark.'nın (133) yaptıkları bir çalışmada HBeAg pozitif hastalarda ve genotip A'da lamivudin direnci daha sık bulunmuştur. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada en sık görülen genotipin genotip D olduğu bulunmuştur.

Lamivudin ile tedavi öncesi direnç mutasyonu araştırılan birçok çalışma da bildirilmiştir. Bunlardan bir tanesi olan Mirandola ve ark.'nın (168) yaptığı bir çalışmada tedavi almamış 255 kronik hepatit B hastasının %73'ü erkek, %85'i Kafkasyalı, %79'u HBeAg negatif ve %69'u genotip D saptanmıştır. Yaş ortalaması  $13,4 \pm 43,2$  bulunmuştur. İlaç direnciyle ilişkili HBV mutasyonu %5 hastada gösterilmiştir. HBV DNA düzeyi, HBeAg durumu ve öncesinde IFN tedavisi almış olmak ile ilaç direnci arasında ilişki saptanmamıştır. Bu sonuçlar gösterdi ki, hiç NA ile tedavi almamış olanlarda bile ilaç direnci görülebilir.

Torre ve ark.'nın (169) yaptıkları bir çalışmada yüksek doz başlangıç lamivudin tedavisi ile standart doz lamivudin tedavisi karşılaştırılmıştır. 62 kronik hepatit B hastasından 25 tanesine başlangıçta 2 hafta boyunca 300 mg/gün lamivudin tedavisi verilmiş, daha sonra 100 mg/gün'e düşülmüş, 37 hastaya 100 mg/gün lamivudin tedavisi başlanmıştır. Her iki grup karşılaştırıldığında direnç gelişimi açısından aralarında anlamlı bir fark bulunmamış, fakat başlangıçta yüksek doz tedavi verilen grupta direnç gelişiminin daha geç sürede olduğu gözlenmiştir.

Lamivudin direncinde primer mutasyon rtM204V/I bölgesinde olmaktadır. Ayrıca olgu sunumlarında lamivudine primer dirençte rtA181T/S bölgesindeki mutasyon da bildirilmektedir. Bu mutasyonlar geliştiğinde, viral polimerazın fonksiyonel kapasitesi belirgin olarak azalmaktadır. Viral polimerazın fonksiyonlarının düzeltilmesi için rtV173L, rtL180M ve rtL80I bölgelerinde kompensatuar mutasyonlar gelişmektedir (170). Bizim çalışmamızda en fazla tek başına rtM204I (%21,2), daha sonra rtL180M ve rtM204V birlikteliği (%12,1) görülmüştür. Tek başına rtM204V mutasyonu saptanmamıştır. Li ve ark.'nın (171) 185 kronik hepatit B hastasıyla yaptıkları bir çalışmada lamivudin direnci %49,19 saptanmıştır. %62,16'sı genotip B, %37,84'ü genotip C ile enfekte bulunmuştur. Lamivudin direnci insidansı açısından aralarında fark saptanmamıştır. Yaş, cinsiyet açısından da aralarında fark saptanmamıştır. Tek başına rtM204I mutasyonu %36,26, rtM204V+rtL180M mutasyonu %23,08 gösterilmiştir. rtM204I mutasyon oranı genotip B'de (%45,61) genotip C'den (%20,59) daha fazla saptanmıştır. Fakat diğer mutasyonlar açısından fark saptanmamıştır. Japonya'da Enomoto ve ark.'nın (108) yaptıkları bir çalışmada mutasyon desenleri ile lamivudin direnci ve klinik sonuçları arasında bir ilişki bulunmamıştır. rtM204V mutasyonun tüm hastalarda rtL180M ile birlikte olduğu görülmüştür.

Lamivudine direnç gelişmesi bazı hastalarda hepatit alevlenmesine ve hepatik dekompanseasyona neden olabilir. Bu nedenle lamivudin direncini erken dönemde saptayıp erken tedavi değişikliği yapmak oluşabilecek birçok komplikasyona engel olmak için önemlidir. Van Bömmel ve ark.'nın (172) Almanya'da yaptıkları çok merkezli bir retrospektif çalışmada daha önce NA ile tedavide başarısız olunmuş HBeAg pozitif ve negatif 131 hastada tenofovirin etkinliği değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya daha önce NA tedavisi ile başarısız olunan, en az 6 ay tenofovir tedavisi almış, HBV DNA 4 log kopya/mL'nin üstünde olan hastalar dahil edilmiştir. 18 hasta daha önce lamivudin tedavisi almış, 8 hasta adefovir tedavisi, 73 hasta lamivudin sonrası adefovir ardışık tedavisi, 29 hasta lamivudin ve adefovir kombinasyon tedavisi, 3 hasta da entekavir tedavisi almıştır. Bu çalışmada primer olarak takip sonrası HBV DNA<400 kopya/mL'ye inen hastaların oranı



yanında, HBeAg serokonversiyonu, ALT normalleşmesi, genotipik direnç gelişimi, etkinlik, güvenilirlik verileri elde edilmeye çalışılmıştır. 131 hastadan 113'ünde HBV direnç mutasyonları araştırılmıştır. 113 hastanın %62'sinde lamivudin direnci, %19'unda adefovir direnci saptanmıştır. Tenofovir ile tedavi öncesi HBV DNA düzeyi ortalama  $7,7 \pm 1,5 \log_{10}$  kopya/mL bulunmuştur. Hastalar ortalama 23 (6-60) ay tenofovir tedavisi sonrası değerlendirilmiştir. Hastaların %79'unda HBV DNA düzeyi 400 kopya/mL'nin altında saptanmış, adefovir dirençli varyantlar için bu oran %52, adefovir direnci olmayanlar için %100 olarak bildirilmiştir. Adefovir dirençli olgularda tenofovir ile tedaviye başlarken HBV DNA düzeyinin tedavi sonucunu belirleyen en önemli etken olduğu görülmüştür. Yaş, cinsiyet, ALT düzeyi, lamivudin ve adefovir ile tedavi süresi, HBeAg durumunun tenofovire yanıtı etkilemediği gösterilmiştir. Hastaların gözlem süresi boyunca hiçbir virolojik kırılma gözlenmemiştir. %24 hastada HBeAg serokonversiyonu, %3 hastada HBsAg kaybı saptanmıştır. Hastaların takipleri boyunca tenofovir ile hiçbir yan etki saptanmamıştır. Sonuç olarak bu çalışmada lamivudine dirençli olgularda tenofovirin tek başına yeterli olduğu, adefovire dirençli olgularda kısmen etkisinin azaldığı ifade edilmiştir. Lamivudin dirençli olgularda kombinasyon tedavisine gerek olmadığı, tek başına tenofovirin etkili ve uzun süreli viral yanıtı sağladığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da lamivudin direnci saptanan önceleri lamivudin ve tenofovir kombinasyon tedavisi uygulanırken daha sonraki dönemlerde tek başına tenofovir tedavisi uygulanmıştır. Tedavi sonrası takipleri yapılan 16 hastanın hepsinde de HBV DNA düzeyi PCR ile saptanabilen düzeylerin altına inmiştir.

Sonuç olarak; kronik hepatit B tedavisinde ilaç direnci önemli bir sorundur ve uzun süre lamivudin kullanımı ile yüksek oranda direnç ile karşılaşılmaktadır. Lamivudin direnci gelişmesinden sonra meydana gelen virolojik ve biyokimyasal kırılma hastaların kötüleşmesine, siroz ve HCC'ye progresyonu hızlandırmaya neden olmaktadır. Bu nedenle direnç gelişiminin erken saptanması için belirli aralıklarla HBV DNA düzeyi takibi önemlidir. Virolojik kırılma saptanır saptanmaz ilaç değişikliği yapılmalı, çapraz direnç, renal yetmezlik gibi ko-morbid hastalıklar göz önünde bulundurulmalı, genetik

bariyeri güçlü, uygun ilaçlar tercih edilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Maddrey WC. Hepatitis B: an important public health issue. *J Med Virol* 2000;61:326-62.
2. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection; Clinical Practice Guidelines European Association for the Study of the Liver *Journal of Hepatology* 2012 vol. 57:167–85.
3. Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, Poynard T. Viral hepatitis B. *Lancet* 2003;362:2089-94.
4. Yenice N, Mehtap Ö, Arıcan N, Gökden Y. Kronik hepatit B enfeksiyonunda lamivudin monoterapisi, interferon alfa monoterapisi ve kombinasyon tedavisi. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi* 2006;5(1):31-5.
5. Perrillo RP. Acute flares in chronic hepatitis B: the natural and unnatural history of an immunologically mediated liver disease. *Gastroenterology* 2001;120:1009-22.
6. Rehmann B. Immune responses in hepatitis B virus infection. *Semin Liver Dis* 2003;23:21-38.
7. Fattovich G. Natural history of hepatitis B. *J Hepatol* 2003;39:50-8.
8. Liaw YF, Chien RN, Yeh CT. No benefit to continue lamivudine therapy after emergence of YMDD mutations. *Antivir Ther* 2004;9(2):257-62.
9. Lok AS, Lai CL, Leung N, Yao GB, Cui ZY, Schiff ER, Dienstag JL, Heathcote EJ, Little NR, Griffiths DA, Gardner SD, Castiglia M. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2003;125(6):1714-22.
10. Kıyan M. Hepatit B virusu. Kılıçtırgay K, Badur S (eds). *Viral Hepatit 1*. Baskı. İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını. 2001;85-120.
11. Horvat RT, Tegtmeier GE. Hepatitis B and D viruses. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller A, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 8 th edition. Washington DC. ASM, 2003;1464-94.
12. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:351-66.
13. Robinson WS. Hepadnaviridae: Hepatitis B virus and hepatitis delta virus. Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds). *Principles and Practice of Infectious Disease*. 5 th Edition. New York. Churchill Livingstone. 2000;1652-85.
14. Purcell RH. The discovery of the hepatitis viruses. *Gastroenterology* 1993;104:955-63.
15. Blumberg BS, Gerstley BJ, Hungerford DA, London WT, Sutnick AI. A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia, and hepatitis. *Ann Intern Med*, 1967;66(5):924-31.

16. Krugman S, Giles JP, Hammond J. Viral hepatitis type B MS-2 strain: studies on active immunization. *JAMA* 1971;217(1):41-5.
17. Vyas GN, Yen TSB. Hepatitis B virus - Biology, pathogenesis, epidemiology, clinical description, and diagnosis, p: 35. In: Specter S (ed), *Viral Hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention*. Humana Press, New Jersey;1999.
18. Lok AS, Heathcote EJ, Hoofnagle JH. Management of Hepatitis B: 2000- Summary of a workshop. *Gastroenterology* 2001;120:1828-53.
19. Custer B, Sullivan SD, Hazlet TK, Iloeje U, Veenstra DL, Kowdley KV. Global epidemiology of hepatitis B virus. *J Clin Gastroenterol* 2004;38 (10 Suppl 3):158-68.
20. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat* 2004;11(2):97-107.
21. Centers for Disease Control and Prevention. Chapter 4. Prevention of Specific Infectious Diseases. Hepatitis, Viral Type B. Health Information for International Travel 2008. Atlanta, Georgia, USA <http://wwwn.cdc.gov/travel/yellowBookCh4-HepB.aspx>.
22. Baron EJ (Editor). *Medical Microbiology*. 4th edition. Bölüm 2. Virology - Hepatitis Viruses 1994. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books>.
23. Çullu F. Çocukluk Çağında A, B, C, Hepatitleri. Balık İ, Tekeli E (eds). *Viral Hepatit 2002*. Ankara. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını. 2002;47-73.
24. Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği Ulusal Hepatit Sıklığı Çalışması (TÜRKHEP 2010).
25. Curry MP, Chopra S. Acute Viral Hepatitis. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone 2005;1426-41.
26. Özdemir D, Kurt H. Hepatit B Virüsü Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (eds). *Viral Hepatit 2007*, İstanbul, Oban Matbaası, 1. Baskı. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını. 2007;108-17.
27. Taşyaran MA. HBV Enfeksiyonu Epidemiyolojisi. Kılıçturgay K, Badur S (eds). *Viral Hepatit 2001*, 1. Baskı, İstanbul. Deniz Ofset; 2000:121-8.
28. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *J Hepatol* 2003;39:64-9.
29. Lok ASF. Uptodate, 2010, Clinical manifestations and natural history of hepatitis B virus infection.
30. Liaw YF. Natural history of chronic hepatitis B virus infection and long-term outcome under treatment. *Liver Int* 2009;29(1):100-7.
31. Calabrese LH, Zein NN, Vassilopoulos D. Hepatitis B virus (HBV) reactivation with immunosuppressive therapy in rheumatic diseases: assessment and preventive strategies. *Ann Rheum Dis* 2006;65(8):983-9.
32. Yim HJ, Lok AS. Natural History of Chronic Hepatitis B Virus Infection: What We Knew in 1981 and What We Know in 2005. *Hepatology* 2006;43:173-81.

33. Dienstag JL. Chronic Viral Hepatitis. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds.) Principles and Practice of Infectious Diseases. 6 th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone. 2005;1441-64.
34. Guillevin L, Lhote F, Cohen P, Sauvaget F, Jarrousse B, Lortholary O, Noël LH, Trèpo C. Polyarteritis nodosa related to hepatitis B virus. A prospectiv study with long-term observation of 41 patients. Medicine (Baltimore) 1995;74(5):238-53.
35. Johnson RJ, Couser WG. Hepatitis B infection and renal disease: Clinical, immunopathogenetic and therapeutic considerations. Kidney Int 1990;37(2):663-76.
36. Lai KN, Lai FM, Chan KW, Chow CB, Tong KL, Vallance-Owen J. The clinico-pathologic features of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis. Q J Med 1987;63(240):323-33.
37. Warren Levinson, Ernest Jawetz (eds). Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Lange Tıp Kitabı, Barış Kitabevi, 1998.
38. Aşkar E. Sağlık çalışanlarında hepatit B ve hepatit C seroprevalansı. (Uzmanlık Tezi). Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, 2006.
39. <http://pathmicro.med.sc.edu/virol/hepatitis-virus.htm>, [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8006/bin](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8006/bin).
40. Kıyan M. HBV enfeksiyonu, Viroloji. Kılıçturgay K. (eds), Viral Hepatit 98. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını. İstanbul. Deniz Ofset. 1998;66–93.
41. Yenen OŞ. Viral hepatitler. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları. 1. Baskı, İstanbul, Nobel Kitapevleri Ltd. Şti. 1996:641–700.
42. Ustaçelebi Ş. Viroloji. Ustaçelebi Ş (eds). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1. Baskı, İstanbul Güneş Kitabevi. 1999;18:871–77.
43. Diamantis ID, McGandy CE, Chen TJ, Liaw YF, Gudat F, Bianchi L. Hepatitis B X-gene expression in hepatocellular carcinoma. J Hepatol 1992;15(3):400-3.
44. Bruss V. Envelopment of the hepatitis B virus nucleocapsid. Virus Res. 2004;106(2):199-209.
45. Gish RG, Locarnini S. Genotyping and genomic sequencing in clinical practice. Clin Liver Dis 2007;11:761-95.
46. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. Microbiol Mol Biol Rev, 2000;64:51–68.
47. Zhang X, Lin SM, Chen TY, Liu M, Ye F, Chen YR, Shi L, He YL, Wu LX, Zheng SQ, Zhao YR, Zhang SL. Asialoglycoprotein receptor interacts with the preS1 domain of hepatitis B virus in vivo and in vitro. Arch Virol. 2011;156(4):637-45.
48. Le Seyec J, Chouteau P, Cannie I, Guguen-Guillouzo C, Gripon P. Role of the pre-S2 domain of the large envelope protein in hepatitis B virus assembly and infectivity. J Virol 1998;72(7):5573-8.
49. Barrera A, Guerra B, Notvall L, Lanford RE. Mapping of the hepatitis B virus pre-S1 domain involved in receptor recognition. J Virol 2005;79(15):9786-98.
50. Cooper A, Paran N, Shaul Y. The earliest steps in hepatitis B virus

- infection. *Biochem Biophys Acta* 2003;1614(1):89-96.
51. Ganem D, Pollack JR, Tavis J. Hepatitis B virus reverse transcriptase and its many roles in hepadna viral genomic replication. *Infect Agent Dis* 1994;3:85-93.
  52. Lau JYN, Wright TL. Molecular virology and pathogenesis of hepatitis B. *Lancet* 1993;342:1335-40.
  53. Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. *Annu Rev Pathol* 2006;1:23-61.
  54. <http://www.clinicaloptions.com/Hepatitis/Annual%20Updates/2008%20Annual%20Update'den>.
  55. Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo R, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol*. 1988;69:2575-83.
  56. Miyakawa Y, Mizokami M. Classifying hepatitis B virus genotypes. *Intervirology*. 2003;46(6):329-38.
  57. Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnius LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol*. 2002;83(8):2059-73.
  58. Ustaçelebi Ş, Ergünay K. Hepatit B virusunun moleküler virolojisi. Tabak F, Balık İ, Tekeli E(eds). *Viral Hepatit 2007*. 1. baskı. İstanbul: Orhan Matbaası, 2007:96-107.
  59. Lok ASF, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007;45:507-39.
  60. Craxi A, Yurdaydın C. From viral pathobiology to treatment of hepatitis B virus infection EASL mono thematic conference. *Journal of Hepatology*. 2006;44(6):1186-95.
  61. Valsamakis A. Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis B. *Clin Microbiol Rev* 2007;20(3):426-39.
  62. Kidd Ljunggren K, Miyakawa Y, Kidd AH. Genetic variability in hepatitis B viruses. *J Gen Virol* 2002;83:1267-80.
  63. Şengönül A. Hepatit B virüs DNA polimeraz geni mutasyonlarının saptanması. (Uzmanlık Tezi). Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, 2008.
  64. Bozdayi AM, Bozkaya H, Turkyilmaz AR, Sarıodlu M, Çetinkaya H, Karayalçın S, Yurdaydın C, Uzunalımoğlu O. Nucleotide divergences in the core promoter and precore region of genotype D hepatitis B virus in patients with persistently elevated or normal ALT levels. *J Clin Virol*. 2001;21(1):91-101.
  65. Kao JH. Role of viral factors in the natural course and therapy of chronic hepatitis B. *Hepatol Int* 2007;1:415–30.
  66. Jazayeri SM, Alavian SM, Carman WF. Hepatitis B virus: origin and evolution. *J Viral Hepat* 2010;17(4):229-35.
  67. Thomas HC, Carman WF. Envelope and precore/core variants of hepatitis B virus. *Gastroenterol Clin North Am*. 1994;23(3):499-514.
  68. Bertolotti A, Sette A, Chisari FV, Penna A, Levrero M, De Carli M, Fiaccadori F, Ferrari C. Natural variants of cytotoxic epitopes are T-

- cell receptor antagonists for cytotoxic T cells. *Nature*. 1994;369(6479):407-10.
69. Hunt CM, McGill JM, Allen MI, Condreay LD. Clinical relevance of hepatitis B viral mutations. *Hepatology*. 2000;31(5):1037-44.
70. Carman WF, Trautwein C, van Deursen FJ, Colman K, Dornan E, McIntyre G, Waters J, Kliem V, Müller R, Thomas HC, Manns MP. Hepatitis B virüs envelope variation after transplantation with and without hepatitis B immune globulin prophylaxis. *Hepatology*. 1996;24(3):489-93.
71. Gunther S, Fischer L, Pult I, Sterneck M, Will H. Naturally occurring variants of hepatitis B virus. *Adv Virus Res*. 1999;52:251-37.
72. Serter D. Hepatit Virusları ve Viral hepatitler. Serter D (eds). *Virus, riketsiya ve klamidya hastalıkları*. 1. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri 1997;175-206.
73. Bozkaya H. Hepatit B virus mutasyonlarının klinik ve tedavi açısından önemleri. Ökten A, Çakaloğlu Y (eds). *Hepatit B Ulusal Uzlaşma Toplantı Metinleri*. 1. baskı İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevi 2003;29-42.
74. Bozdayi AM, Uzunalimoğlu Ö, Türkyılmaz AR, Aslan N, Sezgin O, Şahin T, Bozdayi G, Cinar K, Pai SB, Pai R, Bozkaya H, Karayalçın S, Yurdaydin C, Schinazi RF. YSDD: a novel mutation in HBV DNA polymerase confers clinical resistance to lamivudine. *J Viral Hepat*. 2003;10(4):256-65.
75. Thibault V, Benhamou Y, Seguret C, Bochet M, Katlama C, Bricaire F, Opolon P, Poynard T, Agut H. Hepatitis B virus mutations associated with resistance to lamivudine in patients coinfecting with HBV and human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol*. 1999;37(9):3013-6.
76. Asahina Y, Enomoto N, Nagayama K et al. Hepatitis B virus mutations associated with lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. *Hepatol Res* 1999;15:145-56
77. Shaw T, Bartholomeusz A, Locarnini S. HBV drug resistance: Mechanisms, detection and interpretation. *J Hepatol* 2006;44:593-606.
78. Locarnini S. Molecular virology and the development of resistant mutants: Implications of therapy. *Semin Liver Dis* 2005;25(1):9-19.
79. Locarnini S, Mason WS. Cellular and virological mechanisms of HBV drug resistance. *J Hepatol* 2006;44(2):422-31.
80. Locarnini S, Omata M. Molecular virology of hepatitis B virus and the development of antiviral drug resistance. *Liver Int* 2006;26(2):11-22.
81. Brunelle MN, Jacquard AC, Pichoud C, Durantel D, Carrouée-Durantel S, Villeneuve JP, Trépo C, Zoulim F. Susceptibility to antivirals of a human HBV strain with mutations conferring resistance to both lamivudine and adefovir. *Hepatology*. 2005;41(6):1391-8.
82. Kay A, Zoulim F. Hepatitis B virus genetic variability and evolution. *Virus Research*, 2007;127(82):164-76.
83. Etiz N, Türkoğlu S. Viral hepatitlerin tanısında kullanılan testler ve standardizasyon. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (eds). *Viral hepatit 2005*. 1. Baskı. Orhan matbaası. 2005:128-46.
84. Servoss JC, Friedman LS. Serologic and molecular diagnosis of hepatitis B virus. *Clin Liver Dis*. 2004;8(2):267-81.

85. Bilgiç A, Özaçar T. Hepatit B virus, Wilke TA, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyoloji 2 cilt,2. Baskı. İstanbul. Nobel Tıp kitabevleri, 2002:135-70.
86. Keeffe EB, Dieterich DT, Han SH, Jacobson IM, Martin P, Schiff ER, Tobias H, Wright TL. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: an Update. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4(8):936-62.
87. Fung SK, Lok AS. Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? *Hepatology* 2004;40(4):790-2.
88. Janssen HLA, Zonnevald M, Senturk H, Zeuzem S, Akarca US, Cakaloglu Y, Simon C, So TM, Gerken G, de Man RA, Niesters HG, Zondervan P, Hansen B, Schalm SW; HBV 99-01 Study Group; Rotterdam Foundation for Liver Research. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet* 2005;365(9454):123-9.
89. Tulunay O. Kronik Viral Hepatit Patolojisi. Tekeli E, Balık İ (eds.). *Viral Hepatit 2003*. 2003, 1. Baskı. İstanbul. Deniz Ofset. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği* 2003:330-45.
90. European guideline for the management of hepatitis B and C virus infections. *International Journal of STD & AIDS* 2010;21:669-7.
91. Lindh M, Uhnöo I, Bläckberg J, Duberg AS, Friman S, Fischler B, Karlström O, Norkrans G, Reichard O, Sangfeldt P, Söderström A, Sönneborg A, Weiland O, Wejstål R, Wiström J. Treatment of chronic hepatitis B infection: an update of Swedish recommendations. *Scand J Infect Dis* 2008;40(6-7):436-50.
92. McMahon BJ. Selecting appropriate management strategies for chronic hepatitis B: who to treat. *Am J Gastroenterol* 2006;101:7-12.
93. Sharma SK, Saini N, Chwla Y. Hepatitis B Virus: Inactive carriers. *Virology Journal* 2005;2:82.
94. Liaw YF, Leung N, Kao JH, Piratvisuth T, Gane E, Han KH, Guan R, Lau GK, Locarnini S; Chronic Hepatitis B Guideline Working Party of the Asian-Pacific Association for the Study of the Liver. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatology International* 2008;2(3):263-83.
95. Colle I, Adler M, Brenard R, Henrion J, Langlet P, Michielsen P, Orlent H, Reynaert H, Sprengers D, Stärkel P, Van Damme P, Verslype C, Delvaide J; Belgian Association for the Study of the Liver. Management and treatment of chronic hepatitis B virus: Belgian Association for the Study of the Liver (BASL) 2007 guidelines. *Acta Gastroenterol Belg* 2007;70(4):389-420.
96. Papatheodoridis GV, Manesis EK, Manolakopoulos S, et al. Is there a meaningful serum hepatitis B virus DNA cut-off level for therapeutic decisions in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B virus infection? *Hepatology* 2008;48(5):1451-9.
97. Yamazhan T: Kronik hepatit B tedavisinde güncel durum; *Ankem Derg* 2011;25(Ek 2):234-7.
98. Balık İ. KHB'nin Seyri ve İnterferon Tedavisi. Tekeli E, Balık İ (eds.). *Viral Hepatit 2003*. 2003, 1. Baskı. İstanbul. Deniz Ofset. *Viral*



- Hepatitle Savaşım Derneği 2003;135-55.
99. Thomas H, Foster G, Platis D. Mechanisms of action of interferon and nucleoside analogues. *J Hepatol* 2003;39:93–8.
  100. Chan HLY, Leung NWY, Hui AY, et al. A randomized, controlled trial of combination therapy for chronic hepatitis B: comparing pegylated interferon- $\alpha$ 2b and lamivudine with lamivudine alone. *Ann Intern Med* 2005;142(4):240-50.
  101. Villet S, Pichoud C, Ollivet A, Villeneuve JP, Trèpo C, Zoulim F. Sequential antiviral therapy leads to the emergence of multiple drug resistant hepatitis B virus. *Hepatology* 2005;42(1):581-91.
  102. Ghany M, Liang TJ. Drug targets and molecular mechanisms of drug resistance in chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2007;132(4):1574-85.
  103. Jarvis B, Faulds D. Lamivudine: a review of its therapeutic potential in chronic hepatitis B. *Drugs* 1999;58(1):101-41.
  104. Akarca US. Kronik B Hepatitinde İnterferon Dışı Tedaviler Ve İnterferon İle Yapılan Kombinasyonlar. Tekeli E, Balık İ (eds.). *Viral Hepatit* 2003. 2003, 1.Baskı. İstanbul. Deniz Ofset. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği* 2003:156-78.
  105. Yuen MF, Seto WK, Chow DH, Tsui K, Wonk DK, Ngai VW, Wong BC, Fung J, Yuen JC, Lai CL. Long term lamivudin therapy reduces the risk of long-term complications of chronic hepatitis B infection even in patients without advanced disease. *Antiv Ther* 2007;12(8):1295-303.
  106. Aydın K: Kronik hepatit B'de güncel tedavi; *Ankem Derg* 2006;20:203-7.
  107. Lok ASF, Hussain M, Cursano C, Margotti M, Gramenzi A, Grazi GL, Jovine E, Benardi M, Andreone P. Evolution of hepatitis B virus polymerase gene mutations in hepatitis B e antigen-negative patients receiving lamivudine therapy. *Hepatology*, 2000;32(5):1145–53.
  108. Enomoto M, Tamori A, Kohmoto MT, Morikawa H, Habu D, Sakaguchi H, Takeda T, Seki S, Kawada N, Shiomi S, Nishiguchi S. Mutational patterns of hepatitis B virus genome and clinical outcomes after emergence of drug-resistant variants during lamivudine therapy: analyses of the polymerase gene and full-length sequences. *J Med Virol.* 2007;79(11):1664-70.
  109. Warner N, Locarnini S, Kuiper M, Bartholomeusz A, Ayres A, Yuen L, Shaw T. The L80I substitution in the reverse transcriptase domain of the hepatitis B virus polymerase is associated with lamivudine resistance and enhanced viral replication in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(7):2285-92.
  110. Lok ASF, Lai CL, Leung N, Yao GB, Cui ZY, Schiff ER, Dienstag JL, Heathcote EJ, Little NR, Griffiths DA, Gardner SD, Castiglia M. 2003. Longterm safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, 2003;125(6);1714-22.
  111. Lampertico P, Vigano M, Lavarone M, et al. The long-term outcome of HBeAg-negative patients with cirrhosis treated with lamivudine monotherapy: a 5-year prospective cohort study (abstract). *J Hepatol* 2004;40(1):16.

112. Guan R, Lai CL, Liaw YF, Lim SG, Lee CM. Efficacy and safety of 5 years lamivudine treatment of Chinese patients with chronic hepatitis B (abstract). *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:60.
113. Lai CL, Dienstag J, Schiff E, et al. Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin Infect Dis* 2003;36(6):687-96.
114. Rizzetto M, Tassopoulos NC, Goldin RD, Esteban R, Santantonio T, Heathcote EJ, Lagget M, Taak NK, Woessner MA, Gardner SD. Extended lamivudine treatment in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2005;42(2):173-9.
115. Di Marco V, Marzano A, Lampertico P, Andreone P, Santantonio T, Almasio PL, Rizzetto M, Craxi A; Italian Association for the Study of the Liver (AISF) Lamivudine Study Group, Italy. Clinical outcome of HBeAg-negative chronic hepatitis B in relation to virological response to lamivudine. *Hepatology* 2004;40(4):883-91.
116. Mutimer D, Pillay D, Shields P, Cane P, Ratcliffe D, Martin B, Buchan S, Boxall L, O'Donnell K, Shaw J, Hübscher S, Elias E. Outcome of lamivudine resistant hepatitis B virus infection in the liver transplant recipient. *Gut* 2000;46(1):107-13.
117. Hatakeyama T, Noguchi C, Hiraga N, et al. Serum HBV RNA is a predictor of early emergence of the YMDD mutant in patients treated with lamivudine. *Hepatology* 2007;45(5):1179-86.
118. Fung SK, Chae HB, Fontana RJ, et al. Virologic response and resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2006; 44(2):283-90.
119. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Ma J, Brosgart CL, Borroto-Esoda K, Arterburn S, Chuck SL; Adefovir Dipivoxil 438 Study Group. Long term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg negative chronic hepatitis B for up to 5 years. *Gastroenterology* 2006;131(6):1743-51.
120. Locarnini S, Qi X, Arterburn S et al. Incidence and predictors of emergence of adefovir resistant HBV during four years of adefovir dipivoxil therapy for patients with chronic hepatitis B (abstract). *J Hepatol* 2005;42:36.
121. Funk SK, Lok ASF. Management of patients with hepatitis B virus-induced cirrhosis. *J Hepatol* 2005;42:54-64.
122. Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M et al. Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2008;359(23):2442-55.
123. Tan J, Degertekin B, Wong SN, Husain M, Oberhelman K, Lok AS. Tenofovir monotherapy is effective in hepatitis B patients with antiviral treatment failure to adefovir in the absence of adefovir-resistant mutations. *J Hepatol* 2008;48(3):391-8.
124. Leblebicioğlu H. Hepatit B virüs de antiviral direnç sorunu. *Ankem derg.* 2008;22:48-52.
125. Ghany MG, Doo EC. Antiviral Resistance and Hepatitis B Therapy. *Hepatology* 2009;49:174-84.

126. Villet S, Pichoud C, Villeneuve JP, Trèpo C, Zoulim F. Selection of a multiple drug-resistant hepatitis B virus strain in a liver transplanted patient. *Gastroenterology* 2006;131(84):1253-61.
127. Sheldon J, Camino N, Rodés B, Bartholomeusz A, Kuiper M, Tacke F, Núñez M, Mauss S, Lutz T, Klausen G, Locarnini S, Soriano V. Selection of hepatitis B virus polymerase mutations in HIV coinfecting patients treated with tenofovir, *Antivir Ther* 2005;10(6):727-34.
128. Tenney DJ, Pokomowski KA, Rose RE et al. Entecavir at five years shows long-term maintenance of high genetic barrier to hepatitis B virus resistance. *Hepatology* 2008;48(2):302-3.
129. Villet S, Pichoud C, Billioud G, Barraud L, Durantel S, Trèpo C, Zoulim F. Impact of hepatitis B virus rtA181V/T mutants on hepatitis B treatment failure. *J Hepatol* 2008;48(5):747-55.
130. Leemans WF, Niesters HG, van der Eijk AA, Janssen HL, Schalm SW, de Man RA. Selection of an entecavir-resistant mutant despite prolonged hepatitis B virus DNA suppression, in a chronic hepatitis B patient with preexistent lamivudine resistance: successful rescue therapy with tenofovir. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008;20:773-7.
131. Man-Fung Yuen, Ching-Lung Lai. Treatment of chronic hepatitis B: Evolution over two decades. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26:138-43.
132. Beşışık F. Kronik B hepatiti tedavisinde nükleozid analogları. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (eds), *Viral Hepatit 2007*. 2007, İstanbul. Oban Matbaası. *Viral Hepatit Savaşım Derneği* 2007;192-202.
133. Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Suzuki Y, Arase Y, Ikeda K, Hosaka T, Sezaki H, Kobayashi M, Iwasaki S, Sato J, Watahiki S, Miyakawa Y, Kumada H. Response to long-term lamivudine treatment in patients infected with hepatitis B virus genotypes A, B and C. *J Med Virol* 2006;78(10):1276-83.
134. Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, Tanwandee T, Tao QM, Shue K, Keene ON, Dixon JS, Gray DF, Sabbat J; Cirrhosis Asian Lamivudine Multicentre Study Group. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004;351(15):1521-31.
135. Leung NW, Lai CL, Chang TT. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. *Hepatology* 2001;33:1527-32.
136. Pallier C, Castéra L, Soulier A, Hézode C, Nordmann P, Dhumeaux D, Pawlotsky JM. Dynamics of hepatitis B virus resistance to lamivudine. *J Virol* 2006;80(2):643-53.
137. Chang UI, Lee YC, Wie SH, Jang JW, Bae SH, Choi JY, Yang JM, Yoon SK, Sun HS. Evolution of viral load and changes of polymerase and precore/core promoter sequences in lamivudine-resistant hepatitis B virus during adefovir therapy. *J Med Virol* 2007;79(7):902-10.
138. Liu K, Hou W, Zumbika E, Ni Q. Clinical features of chronic hepatitis B patients with YMDD mutation after lamivudine therapy. *J Zhejiang Univ Sci B* 2005;6(12):1182-7.

139. Nafa S, Ahmed S, Tavan D, Pichoud C, Berby F, Stuyver L, Johnson M, Merle P, Abidi H, Trépo C, Zoulim F. Early detection of viral resistance by determination of hepatitis B virus polymerase mutations in patients treated by lamivudine for chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2000;32(5):1078-88.
140. Fournier C, Zoulim F. Antiviral therapy of chronic hepatitis B: prevention of drug resistance. *Clin Liver Dis* 2007;11(84):869-92.
141. Yuen MF, Yuan HJ, Sablon E, Wong DK, Chan AO, Wong BC, Lai CL. Long-term follow-up study of Chinese patients with YMDD mutations: significance of hepatitis B virus genotypes and characteristics of biochemical flares. *J Clin Microbiol* 2004;42(9):3932-6.
142. Sunbul M, Leblebicioglu H. Distribution of hepatitis B virüs genotypes in patients with chronic hepatitis B in Turkey. *World J Gastroenterol* 2005;11(13):1976-80.
143. Tunçbilek S, Köse S, Elaldı A, Akman S. Lamivudine resistance in untreated chronic hepatitis B patients in Turkey. *The Turk J Gastroenterol*. 2008;19(2):99-103.
144. Suzuki F, Suzuki Y, Tsubota A, et al. Mutations of polymerase, precore and core promoter gene in hepatitis B virus during 5-year lamivudine therapy. *J Hepatol*. 2002;37(6):824-30.
145. Nakanishi H, Kurosaki M, Asahina Y, Onuki Y, Ueda K, Nishimura Y, Tsuchiya K, Kitamura T, Uchihara M, Miyake S, Enomoto N, Izumi N. Polymerase domain B mutation is associated with hepatitis relapse during long-term lamivudine therapy for chronic hepatitis B. *Intervirology*. 2005;48(6):381-8.
146. Buti M, Cotrina M, Jardi R, de Castro EC, Rodriguez-Frias F, Sánchez-Avila F, Esteban R, Guardia J. Two years of lamivudine therapy in anti-HBe-positive patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat*. 2001;8(4):270-5.
147. Yao GB, Zhu M, Cui ZY, Wang BE, Yao JL, Zeng MD. A 7-year study of lamivudine therapy for hepatitis B virus e antigen-positive chronic hepatitis B patients in China. *J Dig Dis*. 2009;10(2):131-7.
148. Nishida T, Kobashi H, Fujioka S, Fujio K, Takaguchi K, Ikeda H, Kawaguchi M, Ando M, Araki Y, Higashi T, Shoji B, Takaki A, Iwasaki Y, Sakaguchi K, Shiratori Y, Yamamoto K. A prospective and comparative cohort study on efficacy and drug resistance during long-term lamivudine treatment for various stages of chronic hepatitis B and cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;23(5):794-803.
149. Moskovitz DN, Osowy C, Giles E, Tomlinson G, Heathcote EJ. Response to long-term lamivudine treatment (up to 5 years) in patients with severe chronic hepatitis B, role of genotype and drug resistance. *J Viral Hepat*. 2005;12(4):398-404.
150. Tsubota A, Arase Y, Suzuki F, Kobayashi M, Matsuda M, Sato J, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H. Severe acute exacerbation of liver disease may reduce or delay emergence of YMDD motif mutants in long-term lamivudine therapy for hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Med Virol*. 2004;73(1):7-12.

151. Chan HL, Wang H, Niu J, Chim AM, Sung J. Two-year lamivudine treatment for hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B: a double-blind, placebo-controlled trial. *Antivir Ther.* 2007;12(3):345–53.
152. Chang ML, Chien RN, Yeh CT, Liaw YF. Virus and transaminase levels determine the emergence of drug resistance during long-term lamivudine therapy in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2005;43(1):72–7.
153. Yan J, Xie W, Wang Q, Li Y, Feng X, Cheng J. The optimal threshold: Baseline serum hepatitis B virus DNA and alanine transaminase levels can predict the 2-year on-treatment virological response to lamivudine. *Hepat Mon.* 2011;11(5):358-63.
154. Yuen MF, Sablon E, Hui CK, Yuan HJ, Decraemer H, Lai CL. Factors associated with hepatitis B virus DNA breakthrough in patients receiving prolonged lamivudine therapy. *Hepatology* 2001;34:785–91.
155. Manolakopoulos S, Bethanis S, Elefsiniotis J, et al. Lamivudine monotherapy in HBeAg-negative chronic hepatitis B: Prediction of response-breakthrough and long-term clinical outcome. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;23(6):787-95.
156. Chae HB, Hann HW. Baseline HBV DNA level is the most important factor associated with virologic breakthrough in chronic hepatitis B treated with lamivudine. *World J Gastroenterol.* 2007;13(30):4085-90.
157. Alam S, Azam G, Mustafa G, Ahmad N, Islam B, Podder PK, Khan M. Pretreatment and on-treatment predictors of viral breakthrough in lamivudine therapy for chronic hepatitis B. *Hepatol Int.* 2008;2(4):494-7.
158. Yuen MF, Fong DY, Wong DK, Yuen JC, Fung J, Lai CL. Hepatitis B virus DNA levels at week 4 of lamivudine treatment predict the 5-year ideal response. *Hepatology.* 2007;46(6):1695-703.
159. Keeffe EB. Liver transplantation: current status and novel approaches to liver replacement. *Gastroenterology* 2001;120(3):749-62.
160. Tseng PL, Lu SN, Tung HD, Wang JH, Changchien CS, Lee CM. Determinants of early mortality and benefits of lamivudine therapy in patients with hepatitis B virus-related decompensated liver cirrhosis. *J Viral Hepat.* 2005;12(4):386-92.
161. Akarca US. Chronic hepatitis B a guideline to diagnosis, approach, management and follow-up 2007. Turkish association for the study of liver. *Turk J Gastroenterol* 2008;19(4):207-30.
162. Thompson AJ, Ayres A, Yuen L, Bartholomeusz A, Bowden DS, Iser DM, Chen RY, Demediuk B, Shaw G, Bell SJ, Watson KJ, Locarnini SA, Desmond PV. Lamivudine resistance in patients with chronic hepatitis B: Role of clinical and virological factors. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22(7):1078-85.
163. Chayama K, Suzuki Y, Kobayashi M, Tsubota A, Hashimoto M, Miyano Y, Koike H, Koida I, Arase Y, Saitoh S, Murashima N, Ikeda K, Kumada H. Emergence and take over of YMDD motif mutant hepatitis B virus during long-term lamivudine therapy and re-take over by wild type after cessation of therapy. *Hepatology* 1998;27(6):1711–6.
164. Yuen MF, Sablon E, Libbrecht E, Van De Velde H, Wong DK, Fung J, Wong BC, Lai CL. Significance of viral load, core promoter/precore

- mutations and specific sequences of polymerase gene in HBV-infected patients on 3-year lamivudine treatment. *Antivir Ther.* 2006;11(6):779-86.
165. Da Silva LC, da Fonseca LE, Carrilho FJ, Alves VA, Sitnik R, Pinho JR. Predictive factors for response to Lamivudine in chronic hepatitis B. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2000;42(4):189-96.
  166. Suzuki F, Tsubota A, Arase Y, Suzuki Y, Akuta N, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kobayashi M, Matsuda M, Satoh J, Takagi K, Kumada H. Efficacy of lamivudine therapy and factors associated with emergence of resistance in chronic hepatitis B virus infection in Japan. *Intervirology* 2003;46(3):182–9.
  167. Haddad R, Martinelli Ade L, Uyemura SA, Yokosawa J. Hepatitis B virus genotyping among chronic hepatitis B patients with resistance to treatment with lamivudine in the City of Ribeirão Preto, State of São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(3):224-8.
  168. Mirandola S, Campagnolo D, Bortoletto G, Franceschini L, Marcolongo M, Alberti A. Large-scale survey of naturally occurring HBV polymerase mutations associated with anti-HBV drug resistance in untreated patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat.* 2011;18(7):212-6.
  169. Torre F, Giannini EG, Basso M, Fazio V, Savarino V, Picciotto A. Initial high dose of lamivudine delays the appearance of viral resistance in chronic hepatitis B patients. *J Gastrointest Liver Dis.* 2011;20(1):47-50.
  170. Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW, Tipples GA, Walters KA, Tyrrell DL, Brown N, Condreay LD. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. Lamivudine Clinical Investigation Group. *Hepatology* 1998;27(6):1670-7.
  171. Li SY, Qin L, Zhang L, Song XB, Zhou J, Lu XJ, Cao J, Wang LL, Wang J, Ying BW. Molecular epidemiological characteristics of Lamivudine resistance mutations of HBV in southern China. *Med Sci Monit.* 2011;17(10):75-80.
  172. Van Bömmel F, de Man RA, Wedemeyer H, Deterding K, Petersen J, Buggisch P, Erhardt A, Hüppe D, Stein K, Trojan J, Sarrazin C, Böcher WO, Spengler U, Wasmuth HE, Reinders JG, Möller B, Rhode P, Feucht HH, Wiedenmann B, Berg T. Long-term efficacy of tenofovir monotherapy for hepatitis B virus-monoinfected patients after failure of nucleoside/nucleotide analogues. *Hepatology.* 2010;51(1):73-80.

## TEŞEKKÜR

Tezimin tamamlanmasında ve eğitimimde bilgi ve deneyimleriyle büyük katkısı olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Selim GÜREL'e;

U.Ü.T.F. İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mustafa Abbas YURTKURAN'a;

Yetişmemde büyük emekleri geçen tüm değerli U.Ü.T.F. öğretim üyesi hocalarıma;

Tez çalışmamda verilerin istatistiklerinin yapılmasında yardımcı olan Sayın Dr. Güven ÖZKAYA'ya;

Asistanlığım süresince beraber çalıştığım tüm arkadaşlarım ve hastane personeline, özellikle asistanlığım boyunca desteklerini hep hissettiğim arkadaşlarım Uzm. Dr. Nihan ALKIŞ ve Uzm. Dr. Atakan TEKİNALP'e, tezimin grafiklerinde yardımlarını esirgemeyen Dr. Celal ACAR'a;

Beni yetiştiren ve bana her zaman destek olan sevgili anneme, babama, anneanneme, kardeşlerime ve rahmetli dedeme sonsuz şükran duygularıyla teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

12.12.1976 tarihinde Kumluca, Antalya'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Kumluca'da tamamladım. Lise öğrenimimi Ankara Özel Yüce Fen Lisesi'nde tamamladım. Daha sonra Tıp eğitimimi İzmir Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinde 2002 yılında tamamladım. Çankırı, Şabanözü ilçesinde pratisyen hekim olarak 2007 yılına kadar çalıştım. Haziran 2007'de Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak başladım. Halen Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak hekimlik hayatıma devam etmekteyim.