



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇOCUK GASTROENTEROLOJİ, HEPATOLOJİ VE BESLENME BİLİM DALI

ÇOCUKLUK ÇAĞINDA

KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONUNDA

MANNOZ BAĞLAYAN LEKTİN GEN POLİMORFİZMİNİN ROLÜ

Uzm. Dr. Gülin ERDEMİR

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Bursa-2010



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK GASTROENTEROLOJİ, HEPATOLOJİ VE BESLENME BİLİM DALI

ÇOCUKLUK ÇAĞINDA
KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONUNDA
MANNOZ BAĞLAYAN LEKTİN GEN POLİMORFİZMİNİN ROLÜ

Uzm. Dr. Gülin ERDEMİR

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Tanju BAŞARIR ÖZKAN

Bursa-2010

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Hepatit B Virüsü.....	1
Doğal Bağışıklık ve MannoZ Bağlayan Lektin.....	17
Gereç ve Yöntem.....	22
Bulgular.....	28
Tartışma ve Sonuç.....	34
Kaynaklar.....	41
Ekler	47
Teşekkür.....	48
Özgeçmiş.....	49

ÖZET

Önlenebilir kronik hastalıklar arasında kronik hepatit B önemli yer kaplamaktadır. Koruyucu hekimlik hizmetlerine rağmen çocuk ve adölesan yaş grubu gerek vertikal gerekse de horizontal olarak bulaş riskinin en çok olduğu popülasyondur. Hepatit B enfeksiyonunun seyrini etkileyen faktörler bulaş yolu, virüse ait virülans faktörleri ve konağın immün sistemidir.

Mannoz bağlayan lektin kompleman sistemi lektin yolundan aktive ederek doğal bağışıklıkta rol alır. Mannoz bağlayan lektin eksikliğinin birçok enfeksiyöz ve otoimmün hastalıkla ilişkili olduğu anlaşılmıştır.

Bu çalışmada çocuklarda kronik hepatit B enfeksiyonu seyrinde mannoz bağlayan lektin gen polimorfizmi ve serum düzeyinin rolü araştırılmıştır.

Çalışmaya kronik hepatit B tanısı ile izlenmekte olan 2-18 yaş grubun 67 hasta alındı ve bu hastalar immuntoleran, kronik inaktif ve tedavi grubu olmak üzere üç gruba ayrılarak incelendi. Tüm hastalarda mannoz bağlayan lektin gen polimorfizmi ve serum düzeyleri çalışıldı. Hastaların klinik, laboratuvar ve histopatolojik özelliklerinin ve kronik hepatit B enfeksiyonu seyrinin mannoz bağlayan lektin gen polimorfizmi ve serum düzeyi ile ilişkisi incelendi.

Hastaların %8,9'unda homozigot, %11'9'unda heterozigot kodon 54 mutasyonu saptandı ve çalışma grubunda MBL mutasyon sıklığı toplum ortalamasına göre fazla bulundu. Serum MBL düzeyleri mutasyon varlığı ile ters korelasyon göstermekteydi. Kodon 54 mutasyonu sıklığı ve serum MBL düzeyi gruplar arasında farklılık göstermedi, ayrıca tedaviye yanıtı ve yanıtız hastalar arasında da farklı değildi. İstatistiksel anlam taşımamakla birlikte MBL serum düzeyi düşük olan hastalarda karaciğer histolojik aktivitesinin daha fazla olduğu görüldü.

Sonuç olarak, MBL genindeki kodon 54 polimorfizmi kronik hepatit B tanılı çocuk hastalarda ortalamanın üzerinde bir sıklıkta görülmektedir. Bu mutasyonun hastalığın kronikleşmesine zemin oluşturduğu ancak

kronikleşmiş hastalığın çocukluk yaş grubundaki progresine etkisi bulunmadığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Çocukluk çağı, kronik hepatit B, mannoz bağlayan lektin.

SUMMARY

The Relation of Mannose Binding Lectin Gen Polymorphism with Progression of Chronic Hepatitis B Infection in Children

Although chronic hepatitis B is a preventable infectious disease, it is still an important health problem. Vertical and horizontal ways are the main transmission routes for children and adolescents. The progression of hepatitis B infection depends on transmission route, virulence factors of the virus and immune system of the host.

Mannose binding lectin is a member of innate immune system and activates complement system through lectin pathway. Mannose binding lectin deficiency is considered to be associated with infectious and autoimmune diseases.

In this study the relation of mannose binding lectin gen polymorphism and serum levels with the progression of chronic hepatitis B infection in children is evaluated.

The study included 67 patients between 2-18 years of age with the diagnosis of chronic hepatitis B. The patients divided into immuntolerant, chronic inactive and treatment groups according to their clinical status. Mannose binding lectin gen polymorphism and serum levels were measured in all patients and their associations with clinical, laboratory and histopathological properties were evaluated.

Mannose binding lectin gen polymorphism rates were found to be higher in our patient group than general population that homozygous codon 54 mutation was found in 8.9% and heterozygous mutation was found in 11.9% of our patients. Serum mannose binding lectin levels were inversely correlated with gene polymorphism. The rate of mutation was similar in all groups and moreover it was not different in responsive and non-responsive patients in the treatment group. Lower levels of serum mannose binding

lectin are found to be related with higher histological activity in liver biopsy specimens, without a statistical significance.

Consequently, codon 54 mutation of mannose binding lectin gene is seen commonly in children with chronic hepatitis B infection. This mutation is considered to be a risk factor for the persistence of disease but it did not have an influence on the progression of chronic hepatitis B infection in children.

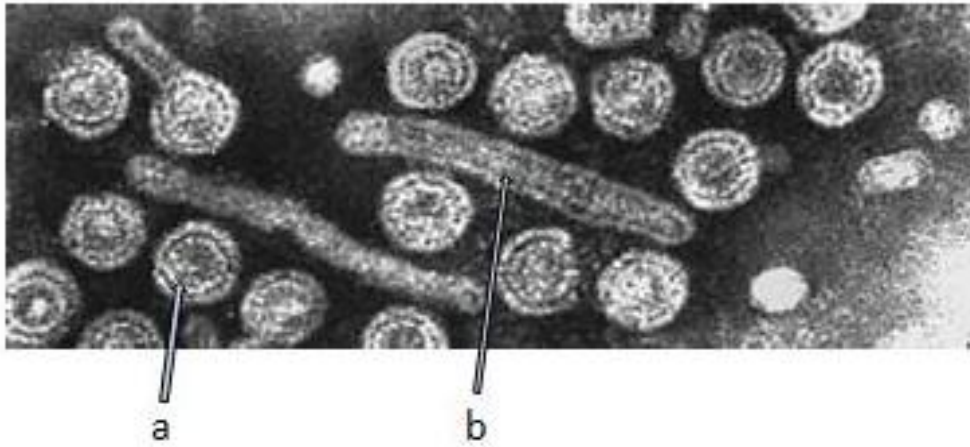
Key words: Childhood, chronic hepatitis B, mannose binding lectin.

GİRİŞ

Dünya nüfusunun yaklaşık olarak %40'ı yani 350 milyon insanın Hepatit B virüsü ile temas ettiği bilinmektedir. Enfekte bireylerin %75'i Asya kıtasındadır (1). Aşılama yirmi yıldan uzun süredir etkin olarak kullanılmakla birlikte, ülkemiz gibi yüksek prevalanslı bölgelerde perinatal ve erken çocukluk dönemindeki bulaşlar sonucu kronikleşen hepatit B enfeksiyonu halen önemli bir sağlık sorunudur.

Hepatit B Virüsü

1965 yılında Blumberg ve arkadaşları tarafından Afrikalı Aborjinlerin serumunda daha önce bilinmeyen yeni bir antijen tanımlanmıştır. Bu antijen Avustralya (Au) antijeni olarak tanımlanmış ve daha sonraki yıllarda hepatiti tablosuna neden olduğu anlaşılmıştır (2). 1970 yılında Dane ve arkadaşları yaptıkları elektron mikroskopik incelemede Avustralya antijeni taşıyan bireylerin serumlarında iki farklı yapıda partikül taşıdıkları tespit etmişlerdir. 22 nm çapında sferik ve filamentöz şekilli olanlar ve 42nm çapındaki Dane partikülü olarak isimlendirilmiş ve 1973 yılında bunlar Hepadnoviridea ailesinden olan Hepatit B virüsü olarak tanımlanmıştır (Şekil-1) (3, 4).



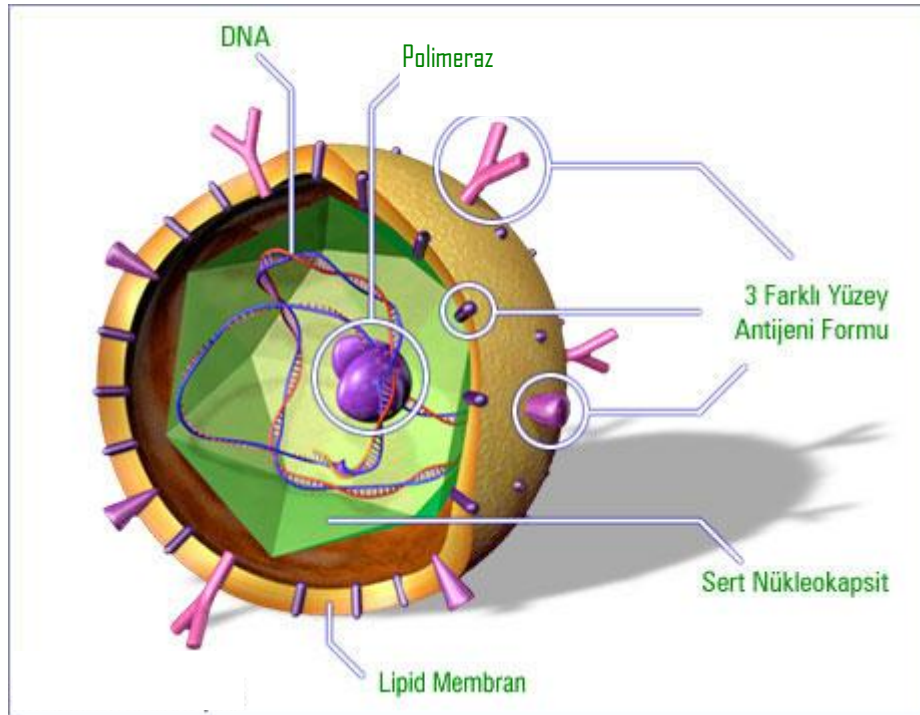
Şekil-1: Hepatit B virüsü ve viral partiküller (a: sferik, b: filamentöz).

Virion Yapısı ve Genomik Organizasyon

Hepatit B virüsü hepadnoviridea ailesinin ortohepatoviridea subfamilyasının bir üyesidir ve sadece insanlarda ve deneysel olarak şempanzelerde enfeksiyona neden olur (1).

Hepatit B virüsü (HBV) zarflı bir DNA virüsüdür. En dışta yüzey antijenlerini taşıyan bir lipid zarf yer almaktadır. Zarfın içinde ise viral genomu ve HBc ag'i içeren, ikozohedral yapıda nükleokapsid yer alır (Şekil-2).

Viral genom 3200 baz çiftinden oluşur, kısmen çift (%70) ve kısmen tek (%30) sarmalıdır. Negatif sarmal tüm genomu içerir ve tam uzunluktadır, pozitif sarmal ise daha kısa olup uzunluğu negatif sarmalın 2/3'ü kadardır. Genomunda %8 farklılık içeren 8 genotip (A→H) ve S geninde %4 farklılığa göre de 24 subtip tanımlanmıştır (5).

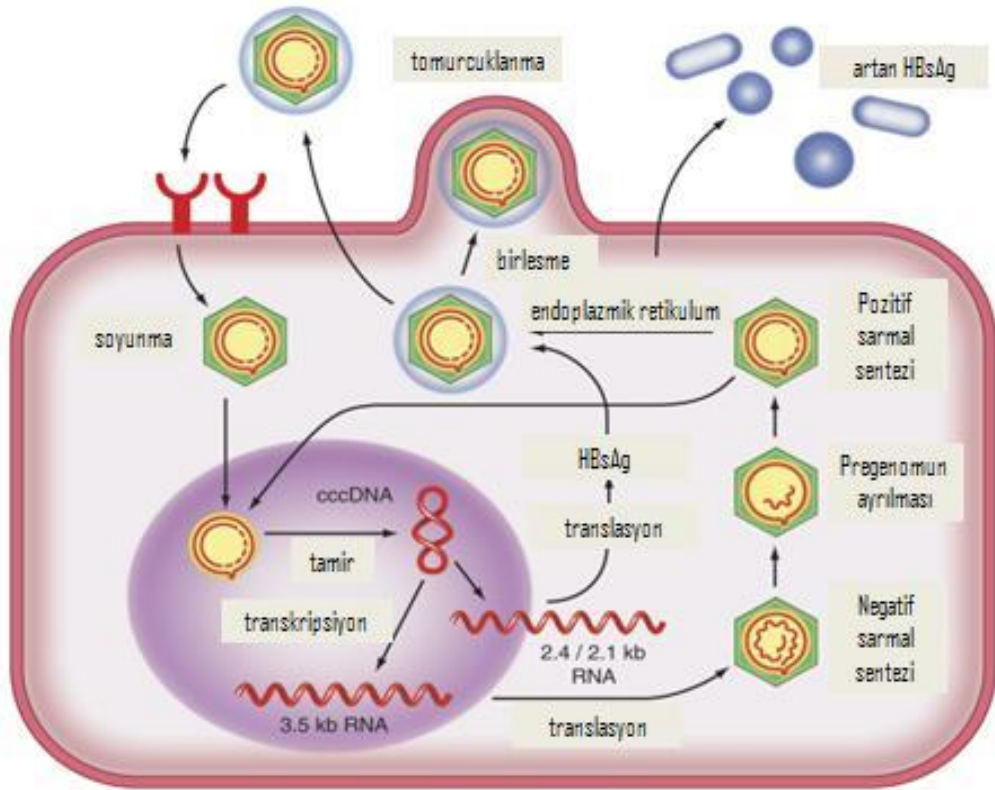


Şekil-2: Hepatit B virüsünün yapısı.

Viral genom 4 farklı proteini kodlayan “open reading frame (ORF)” bölgeden oluşur (Şekil-3):

- 1- Kor (Core) geni
- 2-Yüzey antijeni geni

bağımlı DNA polimeraz özelliği taşıyor yani replikasyonu RNA aracılığı ile olur. Reverse transkriptazın okurken doğrulama (proof reading) özelliği olmaması nedeniyle viral replikasyon sırasında diğer DNA virüslerine göre oldukça fazla oranda mutasyon oluşur (tahmini olarak yılda $>2 \times 10^4$ baz değişikliği). Hastalığın kronikleşmesi halinde yıllarca devam eden replikasyonlar sonucu aynı hastada farklı mutant virüsler ortaya çıkabilir (7).



Şekil-4: Hepatit B virüsünün hepatosit içindeki replikasyonu.

Şekil-4'te HBV'nün yaşam döngüsü gösterilmektedir. Hepatit B virüsünün hepatosit yüzeyindeki reseptörü tam bilinmemekle birlikte yüzey antijeninin rol oynadığı düşünülmektedir (8). Virüsün hepatosit içine girmesi, viral ve host membranlarının füzyonu sonucu viral nükleokapsid hücre içine salınır. Viral replikasyonun ilk basamağında kısmen çift sarmal olan viral genom tamamlanarak çift sarmal haline gelir ve "covalently- closed circular DNA" (cccDNA) olarak adlandırılır. cccDNA'nın oluşumu hepatosit nükleusunda viral DNA replikasyonunu başlatır. RNA polimeraz tarafından

oluşturulan viral RNA'dan virüsa ait proteinler olan nükleokapsid proteini (HBcAg), HBeAg, viral polimeraz, yüzey antijenleri ve X proteini sentezlenir. Nükleokapsid içinde ise viral RNA kalıp olarak kullanılarak reverse transkripsiyon ile viral DNA sentezi başlar. Kısmi çift iplikli DNA oluştuğunda ise nükleokapsid endoplazmik retikulum içinde zarf proteinleri ile birleşir ve oluşan olgun virion hepatosit dışına çıkarak kan dolaşımına katılır. (5, 8, 9).

Hepatit B Genotipleri ve Klinik Önemi

Hepatit B virüsü genotiplendirmesi, tüm genomda %8 ya da daha fazla farklılık göstermesine göre yapılmıştır. A'dan H'ye 8 genotip tanımlanmıştır (10). Hepatit B virüsünün genotiplerinin özellikleri Tablo1'de özetlenmiştir.

Tablo-1: Hepatit B virüsünün genotiplerinin coğrafi dağılımı ve klinik önemi.

A	Kuzeybatı Avrupa, Kuzey Amerika, Afrika
B	Güneydoğu Asya
C	Güneydoğu Asya
D	Güney Avrupa, Orta doğu, Hindistan
E	Batı Afrika
F	Orta ve Güney Amerika, Amerikan yerlileri
G	ABD, Fransa
H	Orta ve Güney Amerika

- ✓ HBeAg serokonversiyonu ve HBsAg kaybı C>B
 - ✓ Kronikleşme D>A
 - ✓ İnterferon alfa ile tedaviye yanıt A > B ≥ C > D
 - ✓ Hızlı ilerleyen kronik hastalık C>B
 - ✓ Kor-prekor mutantlar D>B>C>>>A
-

Hepatit B Virüs Genomundaki Mutasyonlar

Replikasyon döngüsünün özelliği nedeniyle mutasyonların sıkça ortaya çıkması ve buna ilave olarak çok hızla çoğalan bir virüs olması

nedeniyle Hepatit B virüsünün genomunda mutasyonlar çok sık olmaktadır. Genellikle klinik önemi olmayan nokta mutasyonlar görülmekle birlikte bazı belirli mutasyonların hastalık seyrine etkileri önemlidir.

Hepatit B yüzey antijeni mutasyonları: Yüzey antijeni genindeki, özellikle Pre-S2 bölgesindeki, mutasyonlar antikor bağlayıcı bölgede değişikliklere neden olur. Tipik mutasyon HBs Ag'nin 145. pozisyonundaki glisinin arginin ile yer değiştirmesi ya da 144. aminoasit olan aspartatın alanine dönüşmesi sonucu oluşur ve bu mutasyonlar majör antikor bağlayan epitop olan "a" determinantında değişikliğe neden olur. Sonuçta hem virüsün anti HBs ile nötralizasyonu mümkün olmaz hem de HBs antijenini antikor bağlama metoduyla ölçümünde hatalar oluşur(1). HBs ag mutant virüs suşları ile enfekte olan kişilerde kanda HBV DNA, HBe Ag ve anti HBs pozitif saptanır(12). Yani var olan anti HBs virüsü nötralize edememektedir. HBV'nun endemik olduğu bölgelerde geniş popülasyonlardaki aşılama çalışmalarında HBsAg'nde mutasyon görülen HBV suşları %2-3 oranında görülmüştür. "Vaccine Escape" suşlar olarak isimlendirilen bu mutantlar özellikle 145. aminoasitteki değişiklikler sonucu oluşurlar(5). Transplantasyon sonrası HBIg kullanımına rağmen görülen HBV enfeksiyonlarında da yine HBsAg mutant suşlar suçlanmıştır (1).

Precore, bazal core promotor ve core genlerindeki mutasyonlar:

"Precore" bölgesindeki mutasyonlar HBe ag sentezini durdururken, "bazal core promotor" genindeki mutasyonlar HBe ag sentezinin %70 oranında azaltmaktadır (e minus enfeksiyon)(13, 14). Her iki tipteki mutasyonlar, Hbe Ag'nin immün tolerans sağlayan etkisinin ortadan kalkması sonucunda fulminan hepatit tablosuna neden olabilmektedir. Bu tipteki mutant suşlar genellikle Asya ve Avrupa ülkelerinde görülmüştür ve HBeAg negatif hastalarda anlamlı olarak daha sık görülmektedir (15). Bu mutasyonların yanı sıra "core" genindeki mutasyonlar da HBV'nun sitotoksik T lenfositleri tarafından tanınmasını engellemektedir (immüne escape) ve bu da interferon tedavisine alınan yanıtı etkilemektedir(16).

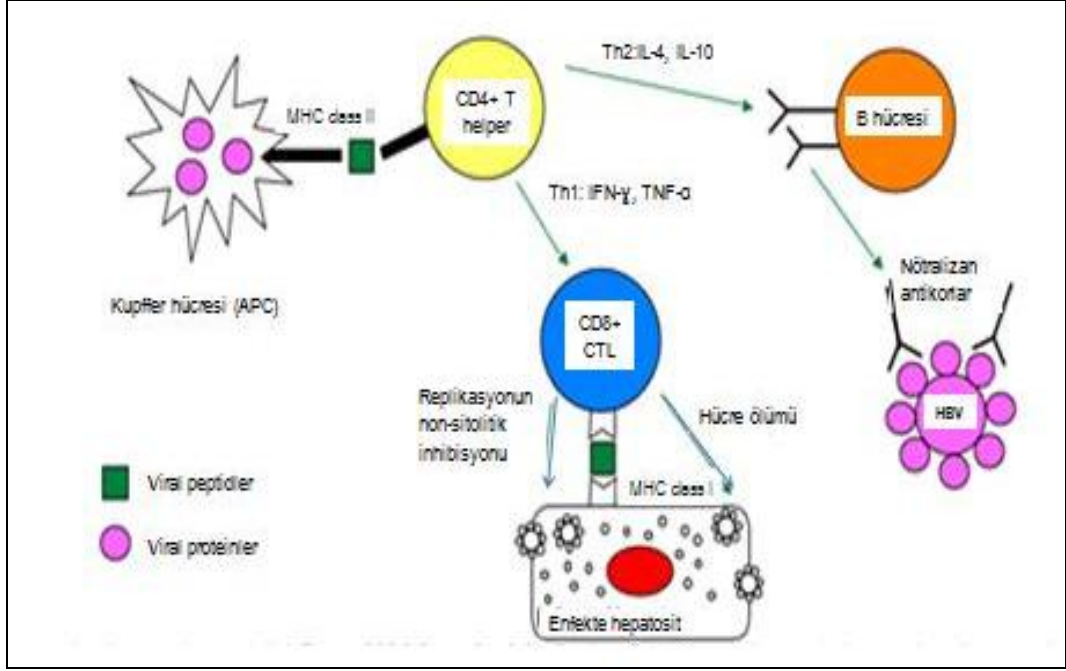
Polimeraz gen mutasyonları: Polimerazın amino terminali pregenomik RNA'nın paketlenmesi ve DNA sentezi için priming görevini

üstlenirken, karboksi terminali reverse transkriptaz ve RNAaz aktivitesinden sorumludur. Tedavide uzun süreli nükleozid analoglarının kullanılması sonucu polimeraz geninin çeşitli bölgelerinde oluşan mutasyonlar YMDD mutasyonları olarak isimlendirilir. Sonuç olarak polimeraz gen mutasyonları nükleozid analoglarına dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olur. Viral replikasyonda önemli rol oynayan reverse transkriptaz bölgesi genellikle korunur. Nükleozid analogları ile 1 yıllık tedavi sonrası direnç oluşma oranı %15-20 iken 4 yıllık tedavi sonrası %65'e çıkmaktadır (17). Mutant suşlar tedaviye yanıtızlık ve hastalığın hızlı ilerlemesi ile sonuçlanır (18). Ayrıca virüsün mutasyona uğraması sonrasında hastalığın alevlenmesi de söz konusu olabilir(19).

Patogenez

Hepatit B virüsü sitopatik bir virüs değildir. Enfekte olan bireylerde ilerleyici karaciğer hastalığı virüsa karşı gelişen immün yanıt nedeniyle olur. Hepatit B virüsüne karşı hem doğal hem de adaptif immün yanıt uyarılır. Virüsün klirensinde öncelikle hücresele immün yanıt önemli rol oynasa da humoral yanıtın da katkısı olduğu bilinmektedir.

Akut HBV enfeksiyonları sırasında doğal immün yanıtın elemanları olan TNF-alfa, IFN alfa ve beta tarafından HBV DNA'nın çoğu (%90'a kadar) ortadan kaldırılır. Bu aşamadan sonra ise enfekte hepatositler Th1 yanıtının ön planda olduğu HBV-spesifik sitotoksik CD₈ T lenfositleri tarafından temizlenir. Kronikleşen enfeksiyonlarda ise sitotoksik T lenfosit yanıtı yetersizdir ve Th2 lenfositlerin rol oynadığı hümorele yanıt ön plandadır (20-22) (Şekil-5). Hastalığın sınırlandırılması veya kronikleşmesine neden olan viral ve konak faktörleri araştırılmaktadır.



Şekil-5: Hepatit B virüsüne karşı oluşan immün yanıt.

Hepatit B Enfeksiyonunda Histopatolojik Bulgular

Hepatit B enfeksiyonunda histopatolojik olarak diğer hepatitlerde de görülebilen tüm bulgular izlenebilir. Kronik Hepatit B enfeksiyonunun en tipik özelliği buzlu cam hücreleridir. Bu görünümü oluşturan HBsAg içeren endoplazmik retikulumdan oluşan ince sitoplazmik inklüzyonlardır. Hepatositlerin nükleusları pembe, ince granüler inklüzyonlar (kuşluk nükleus) içerir ki bunlar da kor yapısına işaret ederler ve HBcAg pozitif saptanırlar. Bu şekilde nukleer boyanma aktif replikasyonun göstergesidir.

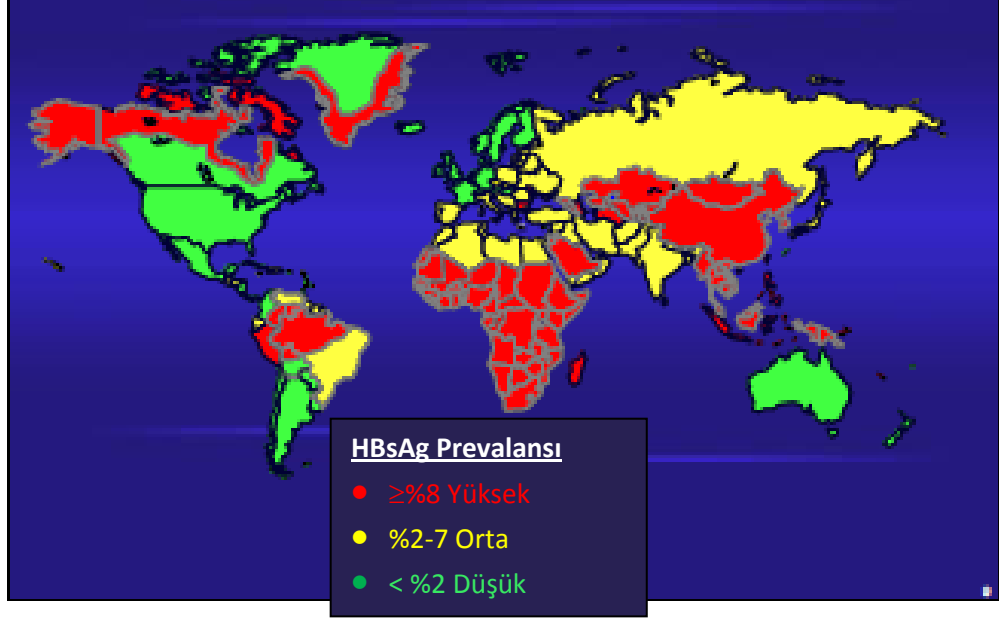
Kronik HBV enfeksiyonu olan çocuklarda histopatolojik olarak tanımlanan elementer lezyonlar erişkinlerinki ile aynıdır, en önemli fark çocuklarda histopatolojik bulguların daha hafif olmasıdır (23).

Kronik hepatit B enfeksiyonunun histopatolojik değerlendirmesinde Knodell ve modifiye İshak skoru kullanılmaktadır (24).

Hepatit B Virüsü Epidemiyolojisi

HBsAg ve anti-HBs gibi serumda kalıcı göstergelerinin varlığı sayesinde HBV enfeksiyonunun prevalansı çok iyi araştırılabilmiştir. HBV göstergeleri ve taşıyıcıların prevalansı dikkate alınarak dünya; düşük, orta ve yüksek endemite bölgelerine ayrılmıştır (Şekil-6).

Prevalansın düşük olduğu bölgelerde başlıca yetişkinler risk altındadır ve bulaş yolu genellikle perkütan ve cinsel yoldur. Orta ve yüksek endemisite gösteren bölgelerde ise başlıca çocuk ve adölesanlar risk altındadır ve perinatal bulaş en önemli nedendir.



Şekil-6: Dünyada HBV'nün endemisitesi (25).

Ülkemiz genel taramalarda ortaya konan %3,9-12,5 arasındaki HBsAg seroprevalansı değerleri ile orta derecede endemik bir ülke konumundadır (26).

Hepatit B Virüsünün Bulaş Yolları

Hepatit B'nin yayılmasında en büyük etken Dünya'da 400 milyonluk büyük bir rezervuar olan taşıyıcılardır. HBV'nin en yoğun bulunduğu vücut sıvıları sırasıyla, kan, semen ve vajinal sekresyonlardır. Bunların dışındaki diğer vücut sıvıları da (tükürük, ter, gözyaşı, süt, nazofarengeal sıvılar) potansiyel olarak enfeksiyözdür (27, 28). HBV'nün bulaş yolları aşağıda listelenmiştir:

- Seksüel
- Perkütan
- Perinatal
- Horizontal

- Transfüzyon
- Nozokomiyal enfeksiyon
- Organ nakli

Düşük prevalanslı bölgelerde seksüel bulaş en sık bulaş nedeni iken yüksek endemite gösteren yerlerde perinatal bulaş ilk sıradadır. Perinatal (vertikal) geçişte, annede HBsAg ve HBeAg pozitif ise bebeğe bulaştırma %70-90, bebeklerde kronik enfeksiyon gelişme riski %90, annede HBeAg negatif ise perinatal enfeksiyon bebeklerin %20'sinde görülmekte, bu bebeklerin %40-70'inde enfeksiyon kronikleşmektedir. Perinatal bulaşmanın kesin şekli bilinmemekle beraber, %10 kadarının in utero alındığı, büyük bir kısmının doğum sırasında kan ve vücut sıvılarının yutulması ile geliştiği kabul edilir Sezeryan doğumun koruyuculuğu yoktur ve bebeğin anne sütü alması sakıncalı değildir (29).

Diğer olası bulaş yollarından perkütan bulaşa intravenöz ilaç kullananlarda sık rastlanmaktadır. Horizontal bulaş virüsü taşıyan kişilerle yakın temas ile, diş fırçasının, traş bıçağının ortak kullanılması sonucu derideki veya müköz membranlardaki çatlaklar yoluyla oluşur (30). Transfüzyon ile bulaş kan bankalarında HBsAg'nin rutin taranması ile oldukça az görülmektedir. Düşük prevalanslı bölgelerde $4/10^6$ iken yüksek prevalanslı yerlerde $1/20000$ oranında görülmektedir (31,32).

Nazokomiyal enfeksiyon sağlık çalışanları ile hastalara arasında meydana gelen bulaştır. Gerçek risk oranı bilinmemekle birlikte oluşabildiği bildirilmektedir (33). HBsAg pozitif donörlerden alınan böbrek ve kornea gibi organ transplantasyonları sonucunda da HBV enfeksiyonu bulaşabilmektedir(34).

Hepatit B Enfeksiyonunda Doğal Seyir ve Klinik Bulgular

Hepatit B enfeksiyonunun klinik spektrumu asemptomatik enfeksiyondan fulminan hepatite kadar geniş bir yelpazedir. Semptomatik hepatit tablosu, enfekte yeni doğanların %1'inden azında, 1-5 yaş arası enfekte olan çocukların ise yaklaşık %10'unda ortaya çıkar. Fulminan hepatit çocukluk çağında çok nadir olmakla birlikte genellikle HBsAg taşıyıcısı, HBeAg negatif annelerden doğan bebeklerde görülür.

Enfeksiyon erişkinlerin %95'inde HBsAg klirensi ve doğal bağışıklık gelişimi ile sonuçlanır. Pediatrik hastalarda ise bu durum enfeksiyonun bulaş yaşı ve bulaş şekli ile ilişkilidir. Enfeksiyon perinatal bulaş ile %90, 1-5 yaş arası enfekte olan çocuklarda %20-30, 5-15 yaş arası enfekte olanlarda %6 ve erişkin yaşta enfekte olan kişilerde ise %1-5 oranında kronikleşir (35).

Akut Hepatit B Enfeksiyonu: İnkübasyon periyodu, viral yükü doğru orantılı olarak 2-6 ay arası değişir. Klinik bulguların ortaya çıkmasından 1-6 hafta önce HBsAg ve HBeAg kanda saptanabilir ve bundan 1-2 hafta sonra da anti HBcIgM oluşur.

İnkübasyon sonrasında yaklaşık bir hafta süren preikterik (prodrom) evrede ateş, halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma ve kas ağrıları görülebilir. Bu dönemdeki semptomlar Hbs immün komplekslerinin kompleman aktivasyonuna yol açması nedeniyle ortaya çıkar(36). Bu dönemde laboratuvar olarak ALT yükselmiştir, serumda HBV DNA ve HBsAg, HBeAg ve AntiHBcIgM varlığı devam eder. Serum ALT değerleri genellikle 1000-2000IU/L civarındadır, ALT yüksekliğinin prognostik önemi yoktur. Sarılık ve koyu renkli idrarın ortaya çıkması ile 1-2 hafta sürecek olan ikterik dönem başlar. Daha sonra ise konvalesan dönem başlar. En erken kaybolan antijen HBeAg'dir ve eş zamanlı olarak serumda AntiHBeAk saptanır. Replikasyonun baskılanması ile yaklaşık olarak hastalık semptomlarının başlamasından 12 hafta sonra, serum HBV DNA düzeyi saptanamayacak kadar düşüktür. Konvalesan dönemin başında HBsAg kandan kaybolur ve ortalama 8 hafta sonra (pencere dönemi) AntiHBsAk oluşur. Pencere döneminde serum AntiHBcIgM tek tanısal test olarak değerlidir. Ardından antiHbCİgG (total anti HBc) oluşur ve ömür boyu kalır. Doğal bağışıklık kazanılmış olur.

Fulminan hepatit hastaların %1'inden azında ve klinik bulguların ortaya çıkmasından sonraki 4 hafta içinde görülür. Mortalite %80'den fazladır.

HbsAgnin kanda 6 aydan uzun süre kalması kronikleşmeyi düşündürür. Ayrıca HBeAg'nin kanda 10 haftadan uzun süre devam ettiği hastalarda da kronikleşme açısından dikkat edilmelidir. (36, 37)

Kronik Hepatit B Enfeksiyonu: Kronik hepatit B'li hastaların öyküsünde genellikle akut veya semptomatik bir hastalık yoktur. Semptomatik olarak ise ön planda halsizlik ve bazı hastalarda sağ üst kadranda ağrısı görülür. Fizik bakı tamamen normal olabileceği gibi hepatosplenomegali görülebilir.

Hepatit B enfeksiyonunun kronikleşmesi; virüs, hepatosit ve inflamatuvar yanıt arasındaki dengelere göre 3 fazda seyreder: İmmün tolerans fazı, immün aktivasyon fazı ve non-replikatif (inaktif taşıyıcı) faz.

Erken çocukluk döneminde enfekte olan bireylerde yüksek DNA düzeylerine karşı aminotransferazlar normaldir ve aktif hepatit tablosu yoktur. Bu durum immün tolerans olarak adlandırılır. Özellikle perinatal dönemde HBeAg varlığı yenidoğanda immün toleransa neden olur. Hastalar uzun yıllar immüntoleran fazda kalabilir ya da immün aktivasyon fazına geçiş olabilir.

İmmün toleran fazdan immün aktivasyon fazına geçişi tetikleyen mekanizmalar tam bilinmemekle birlikte konağın immün yanıtındaki değişiklik sonucu oluştuğu bilinmektedir (38).

İmmün aktivasyon fazında HBV DNA seviyesi düşer, alanin aminotransferaz yükselir ve histolojik olarak aktif hepatit saptanır. Bu dönemde immün sistem enfekte hepatositleri ortadan kaldırmaktadır. Bu dönem genellikle uzun yıllar devam eder. İmmün aktivasyon fazında aminotransferazların 5 kattan fazla yükselmesi durumu "hepatik flare" olarak tanımlanır. Hepatik flare hepatik dekompanseasyonla sonuçlanabileceği gibi HBeAg serokonversiyonu (inaktif taşıyıcılık fazına geçiş) ve HBsAg klirensi ile de sonuçlanabilir(38).

İnaktif taşıyıcı fazı, anti HBe'nin oluşması ile başlar. HBV DNA seviyesi ve aminotransferazlar düşer, karaciğerdeki nekroinflamasyon durur. Bu faz ömür boyu sürebilir ancak bazı hastalar reaktivasyon fazına girebilir; HBV DNA ve ALT yükselir, HBeAg seroreversiyonu olabilir/ olmayabilir (39).

Kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda yıllık spontan HBe serokonversiyonunun %2-15, HBs serokonversiyonunun ise %1 oranında gözlenir (37).

Ekstrahepatik Bulgular

Hepatit B virüsü ile enfekte olan hastaların %1-10'unda karaciğer dışı organ ve sistemlerde de tutulum görülmektedir. Bu tutulumların yüksek HBV antijenemisi sonucu oluşan immün komplekslere bağlı geliştiği düşünülmektedir(40). En sık görülen ekstrahepatik tablolar;

- Serum hastalığı benzeri tablo (41)
- Akut nekrotizan vaskülit (poliarteritis nodosa)(42)
- Membranöz glomerulonefrit (43)
- Papüller akrodermatit (Gianotti-Crosti sendromu)'dur (44).
- Daha nadir olarak da aplastik anemi ve mixt kriyoglobulinemi görülebilir(45).

Tanı

Akut hepatit tablosu dışında Hepatit B enfeksiyonu genelde sessizdir ve rastlantısal testlerde ya da taramalar sırasında saptanır. Hastalık tanısında kullanılan serolojik belirteçler ve yorumları Tablo-2' gösterilmiştir.

Tablo-2: Hepatit B enfeksiyonu tanısında kullanılan serolojik belirteçler.

	HBsAg	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBc IgM	Anti-HBc IgG
İnkübasyon periyodu	+	-	+	-	-	-
Akut enfeksiyon	+	-	+	-	+	-
Akut enfeksiyon pencere dönemi	-	-	-	-	+	+/-
Akut enfeksiyon konvalesan dönem	-	-	-	+	+	+
Kronik inaktif (taşıyıcı)	+	-	-	+	-	+
Kronik hepatit İmmun aktif/ immüntoleran faz	+	-	+	-	-	+
Doğal bağışıklık	-	+	-	+/-	-	+
Aşı ile immünite	-	+	-	-	-	-

İzlem

Hastaların tanısı ve hastalık izleminde aminotransferazlar, serolojik testler, HBV DNA ve histopatoloji önemlidir.

Akut Hepatit B saptanan hastalarda hepatit tablosu geriledikten sonra 2 hafta aralarla serolojik takip yapılması ve HBsAg'nin kaybolup AntiHBsAk'nun oluşumu takip edilmelidir. AntiHBsAk pozitifleştikten sonra hastada doğal bağışıklığın kazanıldığı kabul edilir.

HBsAg'nin 6 aydan uzun süre devam etmesi halinde hastalık kronikleşmiştir ve bu hastaların takibinin Tablo-3'de gösterildiği şekilde yapılması önerilmektedir (46).

Tablo-3: Kronik hepatit B tanılı hastalarda izlem şeması.

Serum HBeAg	ALT	İzlem
Pozitif	Normal	6 ay ara ile
Negatif	Normal	6-12 ay ara ile
Pozitif veya negatif	Artmış (<2xN)	3 ay ara ile
Pozitif veya negatif	Artmış (≥2xN)	1 ay ara ile

Karaciğerin histopatolojik olarak değerlendirilmesi tüm kronik karaciğer hastalıklarında olduğu gibi Kronik Hepatit B tanılı hastalarda da önemlidir. Histopatolojik incelemede karaciğer dokusundaki inflamasyon, nekroz ve fibrozise göre yorum yapılmaktadır. İnflamasyon ve nekroz hastalığın aktivite derecesini (grade) gösterirken, fibrozis prognostik değer taşır ve hastalık evresini (stage) gösterir. Günümüzde sıklıkla Knodell ve Modifiye İshak skorlamaları hastalığın histopatolojik durumunu tanımlamak için kullanılmaktadır (47).

Tedavi

Çocuklarda kronik HBV tedavisinin mümkün olan en erken yaşta başlanması viral replikasyonu ve sonuçta ortaya çıkacak karaciğer hasarını önleme açısından önemlidir. Tedavi kararından önce HBsAg pozitif saptanan bir hastada hastalığın hangi fazda olduğunun tespit edilmesi, tedavi

planı ve izlem belirlenmelidir. Bu amaçla karaciğer enzimleri, tam kan sayımı, HBV DNA, HBsAg ve HBeAg değerlendirilmelidir (48).

Kronik HBV'de tedavi amacı hastalık etkenini ortadan kaldırmak ve dolayısıyla bulaştırıcılığı önlemek, etkenin karaciğerde neden olduğu hasarı tedavi etmek ve komplikasyonları önlemektir.

Tedaviye yanıtın daha iyi olduğu durumlar, normalin 2 katından yüksek ALT değerleri, HBV DNA'nın düşük olması (<20000IU/ml), hepatoselüler inflamasyonun fazla olması ve enfeksiyonun hayatın geç dönemlerinde alınmış olmasıdır (46).

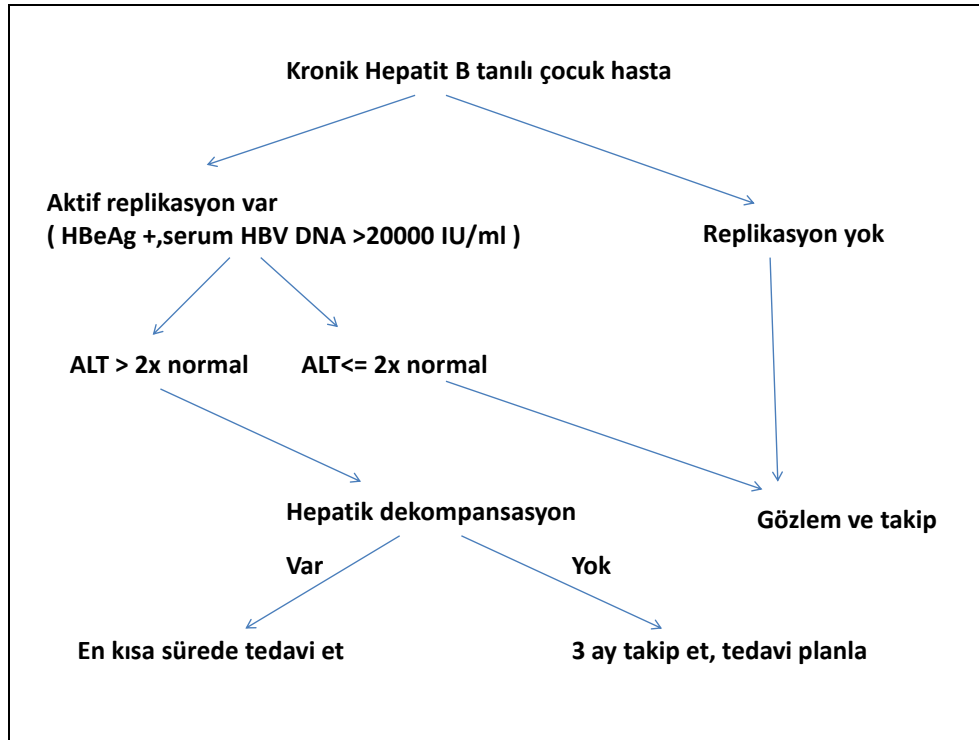
ALT değerleri normal sınırlarda olan hastalarda tedaviye yanıt alınamamaktadır bu nedenle bu hastaların tedavi edilmesi önerilmemektedir.

Kronik HBV'li hastalarda tedaviye başlama kriterleri şunlardır:

3-6 aydan uzun süredir devam eden ALT yüksekliği ($\geq 2xN$)

Aktif viral replikasyon (HBeAg pozitifliği ve/veya HBV DNA >20000IU/ml) (48).

Kronik Hepatit B'li çocuklarda önerilen değerlendirme şeması Şekil-7'de gösterilmiştir (46).



Şekil-7: Kronik hepatit B tanılı çocukların yönetimi.

Tedavide pediatrik yaş grubunda onay almış ilaçlar İnterferon alfa, lamivudin ve adefovir' dir.

İnterferon, immün sistemimizde doğal olarak yer alan ve viral enfeksiyonlara karşı oluşan bir proteindir. Antiviral etkinliğini virüsün hücre içine girişini, replikasyonunu, viral zarfın açılmasını ve viral mRNA'nın translasyonunu inhibe ederek gösterir. Ayrıca enfekte hücrelerin sitotoksik T lenfositleri tarafından tanınmasını ve yok edilmesini sağlar (49). İnterferon alfa 5-10 mU/m², haftada 3 kez subkutan yolla 24 hafta süreyle uygulanır. Tedavi iki yaşından büyük çocuklar için uygundur. Tedavinin etkinliği ALT'nin normale dönmesi, HBV DNA'nın negatifleşmesi ve HBeAg serokonversiyonu ile değerlendirilir. Yapılan çalışmalarda çocuk yaş grubunda interferonun etkinliğinin (%23-35) kontrol grubuna göre (%10) daha yüksek bulunmuştur(50). İnterferon tedavisinin ateş, kas ağrısı, baş ağrısı, kilo kaybı, saç dökülmesi, depresyon otoimmünitenin tetiklenmesi ve lökopeni gibi önemli yan etkileri vardır ve tedavi süresince hastalar bu yönden de yakın takip edilmelidir.

Lamivudin, viral replikasyonu önleyen bir nükleozid analogudur. HBV DNA'yı yüksek oranda (%97) 4 hafta içinde negatifleştirir (51). Yan etkileri çok azdır ve oral yolla kullanılır. Dozu 3mg/kg (max 100mg/gün)'dir. Tedavide hedef İnterferonda olduğu gibi HBeAg serokonversiyonu ve ALT normalizasyonudur. 286 çocuk hasta ile yapılan bir çalışmada lamivudinin etkinliğinin (%23) plaseboya göre (%13) daha yüksek bulunmuştur(52). Tedavi süresinde farklı uygulamalar olmakla birlikte genel olarak 3 yıl ya da HBe serokonversiyonu sonrası 6 ay daha devam edilmesi şeklinde uygulanmaktadır.

Adefovir, yakın zamanda FDA onayı alan bir pürin analogudur. Viral replikasyonu baskılar ve endojen IFN aktivitesini indükler. Yapılan çalışmalarda 48 haftalık tedavi ile 6 yaşından büyük çocuklarda HBe serokonversiyon oranı %22 bulunmuştur. 6 yaş altında farklılık bulunmamıştır. Çocuk yaş grubunda adefovir direnci saptanmamıştır (53).

Prognoz

Kronik HBV tanılı hastaların yaklaşık olarak 1/3'ünde uzun dönemde siroz, terminal dönem karaciğer hastalığı ya da hepatoselüler karsinom gibi ciddi komplikasyonların geliştiği bilinmektedir. Prognoz hem viral (HBV DNA seviyesi, HBV genotipi, mutant virüsler) hem de konağa ait faktörler (yaş, cinsiyet, genetik yapı ve immün sistem) ile ilişkilidir (54).

Korunma

Hepatit B enfeksiyonundan korunma iki şekilde mümkün olmaktadır

Hepatit B İmmünglobulin

HBV içeren materyalin deri yoluyla inokulasyonu veya doğrudan mukozalara teması, akut olarak viral Hepatit B geçiren kişi ile yakın temas ve hepatit B'li anneden doğan bebeklere uygulanır. Doğum sonrası 0,5 ml HBIg intramuskuler olarak ilk 12 saatte Hepatit B aşısı ile birlikte ancak farklı bölgelerden uygulanır. Temas sonrasında ise ilk 2 hafta içinde 0,06ml/kg (maks. 5ml) HBIg intramuskuler olarak uygulanmalıdır. Koruyuculuğu %75'ten fazladır (55).

Aşı

Saflaştırılmış HBsAg (>%95) içeren rekombinant aşılar kullanılmaktadır. . Doğumdan itibaren her yaşta 0,5-1 ml aşı 3 doz olarak (ilk 2 doz birer ay ara ile 3. doz birinci dozdan 6 ay sonra olmak üzere) kas içine uygulanmaktadır. Üç doz aşı sonrası sağlıklı erişkinlerde %90'dan fazla oranda, çocuklarda %95 oranında antikor oluşturur. Koruyucu antikor düzeyi 100 IU/ml'dir (55).

Doğal Bağışıklık ve MannoZ Bağlayan Lektin

Enfeksiyonlara karşı ilk basamak savunmada doğal bağışıklık rol oynar. Konak ile temas bölgesindeki fiziksel ve kimyasal bariyerleri aşan enfeksiyöz ajan "patern tanıyan moleküller" olarak adlandırılan bir grup protein ile karşılaşır. Bu moleküller temel olarak enfeksiyöz etkenin fagositozu ve lizisine neden olurken diğer yandan edinsel immün sistemin uyarılmasını da sağlar. Toll benzeri reseptörler, kollektin ve fikolinler patern

tanıyan moleküllere örnek olarak gösterilebilir. Mannoz bağlayan lektin insan kollektinleri arasında en iyi tanımlanmış olandır(56).

Mannoz Bağlayan Lektin

1946 yılında Nobel ödülü alan Sir Frank Macfarlane Burnet, serumda influenza virüsünü inaktive eden 3 adet inhibitör protein (alfa, beta, gamma) varlığını göstermiştir. Uzun yıllar sonra 1990 yılında Anders ve ark beta proteininin “mannoz bağlayan lektin” (MBL) olduğunu saptamışlardır (57,58). MBL, lektin bölge içeren kollajen yapıda bir proteindir ve kollektinler adı verilen bir protein ailesinin elemanıdır. Diğer belli başlı kollektinler yoğun olarak akciğerlerde ve diğer mukozal alanlarda bulunan surfaktan protein A ve D dir.

MBL'nin Yapısal Özellikleri

MBL primer olarak karaciğerde üretilen bir akut faz reaktanıdır. C tipi lektinler ailesinin bir üyesidir. Birbirine özdeş ve 32kDa ağırlığında 3 polipeptid zincirden oluşur, toplam 96kDa ağırlığındadır ve üçlü heliks yapısındadır. (59). Polipeptid zincirlerin her biri C terminalinde patojen mikroorganizmaların oligosakkarid yapısını tanıyan “kalsiyum bağımlı lektin bölgesi” içerir. Kanda fonksiyonel MBL bu üçlü heliks yapısının multimerleri (tetramer, pentamer, heksamer) halinde bulunur. Polimer sayısı arttıkça MBL'nin oligosakkaridlere, affinitesi artar ve MBL asosiyasyon proteazlar (MASP) aktive olur. MBL yapısal ve fonksiyonel olarak komplemanın C1q komponentine benzer ancak farklı olarak MBL antikor olmaksızın patojenleri bağlayabilir (60).

MBL 10.kromozom üstünde yer alan ve 4 eksondan oluşan Mbl2 geni tarafından kodlanır. Ekzon 1'de codon 52, 54 ve 57'de oluşan mutasyonlar MBL yapısını bozmakta ve polimerizasyonu engellemektedir. Mutasyona uğramamış allel 'A' olarak tanımlanırken, kodon 54'teki (Gly→Asp) mutasyon 'B' alleli, kodon 57'deki (Gly→Glu) mutasyon 'C' allelini ve kodon 52'deki (Arg→Cys) mutasyon 'D' allelini oluşturur. Homozigot ya da heterozigot mutasyonlar serum MBL düzeylerinde azalmaya neden olur. Mutasyon taşımayan bireylerde (AA) serum MBL düzeyi genellikle 1000ng/ml'nin üzerindeyken, heterozigot mutantlarda (AB, AC, AD) düzey genellikle 500-

1000ng/ml civarındır. Homozigot mutantlarda (BB,CC,DD) ise serum MBL düzeyi genellikle <50ng/ml'dir(60).

Beyaz ırkta serum MBL düzeyi azlığının %40, MBL'nin eksikliğinin ise %8 oranında görüldüğü bildirilmiştir (56). Yakın zamanda farklı etnik gruplardaki mutasyon sıklığı araştırılmış ve Güney Amerika'da B allel sıklığının %80, Avrasya popülasyonlarında B allel sıklığı %11-16, Batı Afrika'da C allel sıklığının %32 olduğu, Avustralya Aborjinlerinde ise mutant allellerin görülmediği bildirilmiştir (61).

MBL'nin İmmun Sistemdeki Rolü

MBL kompleman sistemi aktive etme yeteneğine sahip tek kollektindir. Kompleman sistemi (KS) hem doğal hem adaptif immün yanıtta önemli rol oynayan bir dizi protein ve enzim kompleksidir. Plazmada inaktif olarak bulunan enzimlerin sırasıyla aktivasyonu ile inflamatuvar peptidlerin, opsoninlerin ve hücre zarı atak kompleksinin oluştuğu bir yoldur. Kompleman sistem karşılaştığı mikroorganizmalara karşı fagositozu güçlendirme, B hücrelerinin antijen duyarlılığını artırma, immün kompleksleri dolaşımdan uzaklaştırma ve büyük immün agregatların oluşumunu önleme gibi inflamatuvar reaksiyonlar ile cevap verir (62).

Plazma globulinlerinin %10 kadarını kompleman oluşturur ve başlıca üretim yerleri monositler, makrofajlar, böbrek tubulus ve glomerulları ve hepatositlerdir.

Normalde kompleman sistem plazmada inaktif halde bulunur. Aktivasyon için antijen antikor agregatları ile fikse olmaları gerekir. Kompleman sistemi 3 yolla aktive olur:

- 1- Klasik yol
- 2- Alterne yol
- 3- MBL yolu

MBL yolu, MBL mikroorganizmalardaki karbonhidrat yapılarına bağlanması ile aktive olur. Bağlandığı karbonhidratların çoğu memeli hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunmayan spesifik aminoasit motifi taşıdığından, self yapıları ayırt edebilir, sıklıkla mikrobiyal hücrelerin yüzeyleri ile iyi uyum gösterir (ref-eddi ip). Bu hücrelerle bağlanması; fagositlerin MBL

ile kaplanan bakterilere tutunması, bakterinin hücre içine alınması ve öldürülmesi ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle MBL, direkt olarak bir opsonin olarak görev yapmaktadır (63).

MBL, C1q'dan bağımsız olarak C1r2-C1s2 kompleksleri ile ilişkiye girerek klasik yoldan komplemanı aktive etmektedir. MBL, MBL asosiye serin proteaz (MASP) ile birleşerek, "serum bakterisidal faktör" olarak adlandırılan bir kompleks oluşturmaktadır. MASP, fonksiyonel olarak aktive C1s'ye benzer ve hem C4 hem de C2'yi parçalayarak C3 konvertaz aktivitesi ile C4b2a komplekslerini oluşturabilir. Bu antikor ve C1q'dan bağımsız mekanizma, "kompleman aktivasyonunun lektin yolu" olarak isimlendirilmektedir. MASP, C3'ü direkt olarak parçalayabilecek bir yapıya sahip olduğundan, alternatif yoldan da komplemanı aktive edebileceği düşünülmektedir (63).

MBL, spesifik immün yanıt oluşuncaya kadar geçen 2-3 günlük sürede doğal bağışık yanıtı aktive etmesi nedeniyle önemlidir.

MBL Eksikliğinin Klinik Sonuçları

Dünyadaki en yaygın immün yetmezlik olan MBL eksikliği, çocukluk döneminde tekrarlayan çocukluk çağı enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar, MBL mutant allelleri için hem homozigot hem de heterozigot olanlarda enfeksiyon riskinin arttığını göstermektedir (63).

Günümüzde yapılan çok sayıdaki çalışma mannoz bağlayan lektin gen polimorfizmlerinin ve düşük serum düzeyinin birçok bakteriyel, viral, fungal ve protozoal enfeksiyonun sıklığını artırdığını göstermiştir. Ayrıca MBL polimorfizmi kemoterapi alan hastalarda, kemik iliği transplantasyonu yapılanlarda ve post operatif dönemdeki hastalarda enfeksiyon riskini arttırmakta, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, gebelikte tekrarlayan düşükler ve prematür doğum, iskemik kalp hastalığı, sistemik lupus eritematozus ve romatoid artrit gibi kollajen doku hastalıkları ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir (56).

Hepatit B enfeksiyonu ile MBL ilişkisini araştıran çalışmalarda serum MBL düzeyi yüksek olan bireylerde viral klirens oranının daha yüksek olduğu ve düşük bireylerde ise kronikleşmenin daha sık görüldüğü bildirilmiştir (64).

Ayrıca MBL gen mutasyonu olan kronik hepatit B'li hastalarda siroza ilerleme hızının ve spontan bakteriyel peritonit sıklığının arttığı gösterilmiştir (65).

Hepatit C'li hasta grubundaki bir çalışmada ise MBL eksikliği olanlarda interferon tedavisine yanıtın daha düşük olduğu bildirilmiştir (66).

MBL Eksikliğinde Replasman Tedavisi

Serumda MBL eksikliğini sonuçlarının anlaşılmasından sonra ilk defa 1998 yılında kan donörlerinden elde edilen saflaştırılmış MBL tekrarlayan enfeksiyonları olan bir hastada ve kistik fibrozisli bir hastada başarıyla kullanılmıştır. Son dönemde rekombinant olarak üretilmiş MBL'nin faz çalışmaları yapılmaktadır. Bu ürünün 1- MBL eksikliği nedeniyle enfeksiyonlara yatkınlığı olan kişiler, 2- MBL'nin hastalık progresini etkileyebileceği akut enfeksiyonlarda ve 3- MBL desteğinin faydalı olabileceği kronik enfeksiyonlarda (65) terapötik kullanıma gireceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada kronik hepatit B enfeksiyonu tanısıyla izlemekte olduğumuz 3-18 yaş arası çocuk hastalarda MBL gen polimorfizmi ve serum düzeyinin hastalık progresine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme bilim dalında kronik hepatit B tanısı ile izlenen 2-18 yaş arası hastalar alındı.

Hastalar kronik hepatit B enfeksiyonunun fazına göre 3 gruba ayrılarak incelendi ve bu gruplar:

- İmmüntoleran grup; HBsAg (+), HBeAg (+), HBV DNA (+) ve ALT normal,
- Spontan serokonversiyon göstermiş olan inaktif taşıyıcı grubu; HBsAg (+), anti-HBe (+), HBV DNA <2000IU/ml ve ALT normal,
- Tedavi almış grup ise HBsAg (+), HBeAg (+), HBV DNA>20000 IU/ml, ALT normalin 2 katından yüksek ve karaciğer histopatolojisinde Knodell indeksi ≥ 4 veya fibrozis ≥ 2 olan ve bu nedenle tedavi verilmiş yani kronik aktif hepatit tablosu göstermiş olan hastalar olarak tanımlandı.

Eşlik eden başka bir kronik hastalığı olan ve çalışma için kan alındığı sırada akut enfeksiyon geçiren olgular çalışma dışı bırakıldı.

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 30 Aralık 2008 tarihli ve 2008-21/50 no'lu karar ile onay alındıktan sonra araştırmaya başlandı.

Tez çalışmasında kullanılacak kanların toplanması amacıyla hastalar telefon ile aranarak konu hakkında bilgi verilmiş ve hastaneye çağrıldı. Bilgilendirilmiş olur formu imzalandıktan sonra her hastadan MBL gen polimorfizmi için 3 ml EDTA'lı kan alınarak -20'C'de muhafaza edildi. MBL serum düzeyi ve Hepatit B virüs genotiplendirmesi için ise 5 ml düz kan alınarak 3000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek -20C'de saklandı.

Çalışmaya alınan 67 hasta, immüntoleran olanlar Grup 1 (n=16), spontan serokonversiyon ile inaktif taşıyıcı olanlar Grup 2 (n=23) ve tedavi almış olanlar ise Grup 3 (n= 28) olarak gruplara ayrıldıktan sonra Grup 3 tedaviye yanıtı (3a) (n:17) ve yanıtızlar (3b) (n:11) olarak iki alt grupta değerlendirildi.

Hastaların cinsiyet, tanı yaşı, izlem süresi, aile öyküsü, başvuru semptomları, hastalık fazına göre laboratuvar izlemleri [serum HBV DNA (IU/ml), ALT(IU/ml) düzeyleri, HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe değerleri, ultrasonografi bulguları, serum AFP düzeyleri (ng/ml)], biyopsi yapıldı ise histopatolojik bulgular, tedavi grubundaki hastaların tedavi dozları ve süreleri, ayrıca tedaviye yanıt durumları retrospektif olarak kaydedildi.

Tedavi öncesi histopatolojik inceleme Patoloji AD laboratuvarında Knodell histopatolojik aktivite indeksine göre yorumlandı (48).

Kronik hastalık seyrini etkileyebileceği için HBV DNA elde edilebilen tüm hastalarda hepatit B virüs genotiplendirmesi yapıldı. PCR yöntemi kullanıldı ve ülkemizde D genotipinin baskın olması nedeniyle hastalar genotip D ve non-D olarak sınıflandırıldı.

MBL genotiplendirmesi için literatürde tanımlandığı şekilde

A → mutasyon olmayan

B → kodon 54 mutasyonu

C → kodon 57 mutasyonu

D → kodon 52 mutasyonu kullanıldı.

MBL serum düzeyi ELISA yöntemi (Oligomer-ELISA kit-Antibody Shop, Danimarka) ile ve MBL gen polimorfizmi PCR ve Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi ile Mikrobiyoloji AD İmmunoloji laboratuvarında ve Hepatit B virüs genotiplendirmesi PCR yöntemi ile Mikrobiyoloji AD PCR laboratuvarında çalışıldı.

Serum MBL Düzeylerinin Çalışılması

Serum örnekleri oda ısısına getirilerek çözünmeleri sağlandı ve homojen karışım elde etmek için yavaş hızda vortekslendi. Her bir serum örneğinden 5 mikrolitre (μ l) alınarak 495 μ l dilüsyon solüsyonu ile karıştırılarak serumlar 1/100 oranında sulandırıldı. Çalışma plağındaki her bir kuyucuğa dilüe edilmiş serumlardan 100 μ l konarak oda ısısında 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında her bir kuyucuk 300 μ l yıkama solüsyonu ile 4 kez yıkandı. Yıkama işlemi sonrasında 1/100 sulandırılmış serum konmuş olan kutucuklara 100 μ l biyotinlenmiş MBL antikoru eklendi. Oda ısısında 1 saat inkübe edildikten sonra yıkama solüsyonu ile 4 kez

yıkandı. Daha sonra kuyucuklara 100µl HRP-Streptovudin solüsyonundan eklenerek oda ısısında 1 saat inkübe edildi ve ardından 4 defa yıkama yapıldı. Son olarak ise kuyucuklara 100 µl tetrametilbenzidin eklenerek oda ısısında ve karanlık alanda 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kuyucuklara 100µl stop solüsyonu eklendi ve reaksiyon durduruldu. Oluşan optik dansiteler 450nm'de 620 nm dalga boyu referans alınarak okundu. Elde edilen değerler üreticinin talimatlarına göre yorumlandı ve 100 ng/ml'nin altındaki değerler düşük, 1000ng/ml' nin üstündeki değerler ise normal olarak kabul edildi.

MBL Gen Polimorfizminin Çalışılması

MBL gen polimorfizmi Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji laboratuvarında çalışıldı. EDTA'lı tüpe alınmış 2ml tam kandan DNA örnekleri izole edildi.

DNA İzolasyonu

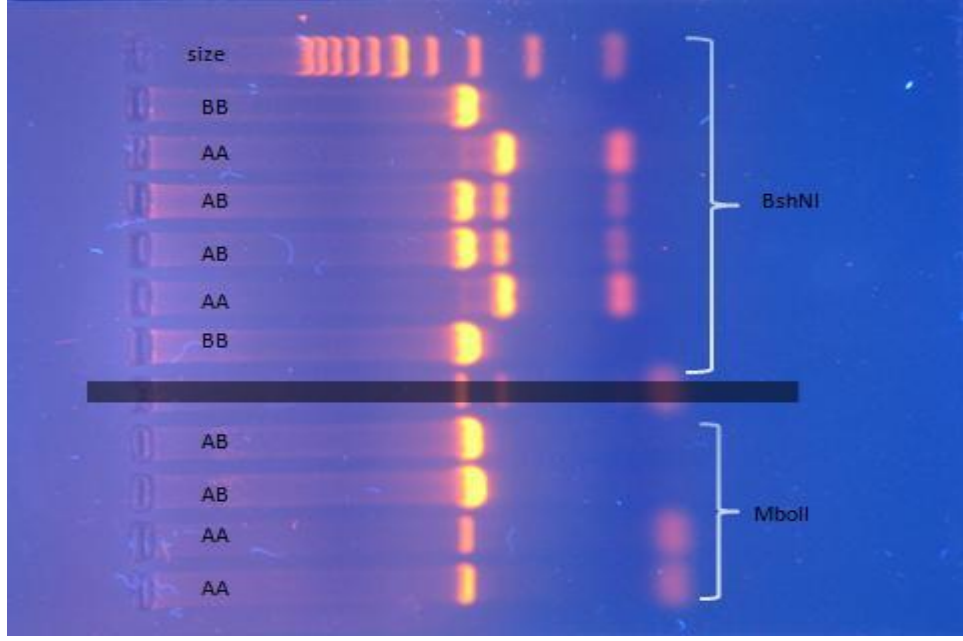
DNA izolasyonu ticari bir kit (QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN....) kullanılarak firmanın talimatlarına göre yapıldı. 1,5 ml eppendorf tüplerinin içine 20 µl Protease konu ve her bir tüpe 200 µl kan ve 200µl Buffer AL eklenerek 15 saniye vortekslendi. 56'C'de 10 dakika inkübe edildikten sonra 200µl %100 etanol eklenerek 15 saniye vortekslendi. Tüplerin içindeki karışım QIAGEN spin kolona aktarıldı ve 8000 rpm hızda 1 dakika santrifüj edildi. Daha sonra tüplerin içine 500µl Buffer AW1 eklendi ve tekrar 8000rpm hızda 1 dakika santrifüj edildi. QIAamp spin kolon temiz 2ml'lik tüplere yerleştirildi ve içine 500µl Buffer AW2 eklendi. Daha sonra spin kolon 14000rpm hızda 3 dakika santrifüj edildi ve tekrar temiz 2ml'lik temiz tüplere aktarıldı. Son olarak spin kolona 200µl Buffer AE eklenerek oda ısısında 1 dakika inkübe edildikten sonra 1 dakika 8000 rpm hızda santrifüj edilerek DNA izolasyon işlemi sonlandırıldı.

MBL Gen Amplifikasyonu

İzole edilen DNA, PCR yöntemi ile amplifiye edildi. Her bir hasta için PCR karışımı 5'- GTA GGA CAG AGG GCA TGC TC-3' ve 5'-CAG GCA GTT TCC TCT GGA AGG-3' baz dizilimizi içeren primer sekanstan 0,5'er µl, nükleotidleri içeren dNTP karışım solüsyonundan 1µl, DNA polimeraz enzimi

olan Taq polimeraz enziminden (5ü/µl) 0,25 µl, Taq polimerazın tampon solüsyonu olan Taq Buffer'dan 5µl ve MgCl₂'den 3µl eklenerek hazırlandı. Son olarak, izole edilen hasta DNAları her bir tüpe 10µl eklendi ve üzerine 50µl ye tamamlayacak şekilde 29,75µl distile su ilave edildi. Elde edilen karışımlar önceden programlanmış olan Thermocycler' a (Corbett Research, Avustralya) yerleştirildi. DNA denatürasyonu için 94°C'de 30 saniye, pimerlerin DNA'ya bağlanması için 60°C'de 1 dakika, polimerizasyon için 72°C'de 2 dakika ve en son olarak yarım kalan zincirlerin tamamlanması için 72°C'de 5 dakika tutulacak şekilde programlandı. İşlem sonunda çoğaltılan DNA'dan 10µl alınarak %2'lik agaroz jel kullanılarak elektroforez yapıldı. DNA zincirleri etidyum bromür ile boyanarak ultraviyole ışık kaynağında görüntülendi.

Elde edilen MBL gen ürünlerinde gen polimorfizmlerinin saptanması amacıyla her hasta için 2 ayrı tüpe 17,5 µl çoğaltılmış DNA konu. Bir tüpe 5 ünite BshNI restriksiyon enzimi (10 ü/µl) ve 2 µl tampon solüsyonundan (10X Buffer) eklenerek 37°C'de 90 dakika inkübe edildi. Diğer tüpe ise 3,5 ünite MbolI restriksiyon enzimi (5ü/µl) ve 2µl tampon solüsyonu (10x Buffer) ilave edilerek 37°C'de 90 dakika inkübe edildi. Restriksiyon işlemi tamamlandıktan sonra oluşan ürünler %2'lik agaroz jel elektroforezde 100 volt uygulanarak 45 dakika yürütüldü ve ultraviyole ışık kaynağında görüntülendi. BshNI restriksiyon enzimi ile kesilmiş DNA A alleli, MbolI ile kesilmiş DNA C alleli, her iki enzimle de kesilme gözlenmeyen DNA B alleli olarak tanımlandı. Elektroforez sırasında kesilen bölgelerde oluşan çift bant heterozigot mutasyon, tek bant ise homozigot mutasyon olarak değerlendirildi (Şekil-8).



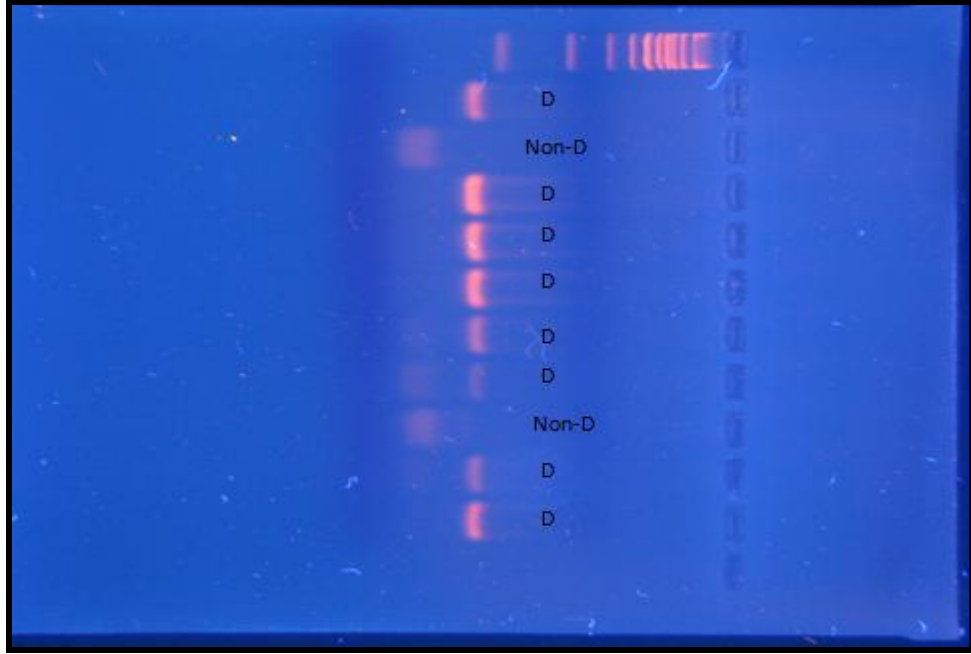
Şekil-8: MBL genotiplendirme çalışmasında jel elektroforez örneği.

Hepatit B Virüs Genotip Çalışması

Hepatit B genotip çalışması, kanda $>10^4$ copy/ml HBV DNA saptanan immüntoleran ya da tedavi grubu hastaların serumundan (n: 35), tedaviye yanıtı hastalarda ise tedavi öncesi alınan karaciğer biyopsi örneklerinden (biyopsi materyali hastanemizde ise) (n: 5) çalışıldı. Ülkemizde en sık D genotipi saptanması nedeniyle, 2004 yılında Eroğlu ve ark tarafından tanımlanan basit PCR yöntemi kullanılarak, D ve non-D olarak genotiplendirme yapıldı.

Düz tüpe alındıktan sonra santrifüj edilerek -20°C 'de saklanan hasta serumlarından AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Biosciences, Birleşik Devletler) kullanılarak üreticinin talimatlarına göre DNA izolasyonu yapıldı. Doku örnekleri ise patoloji laboratuvarındaki parafin bloklar eritilerek 0,5cm uzunlukta doku parçaları alındı. 24 saat Ksilen içinde bekletildi ve elde edilen saflaştırılmış dokudan QIAamp DNA FFPE Tissue kit (QIAGEN, Almanya) kullanılarak üreticinin talimatlarına göre DNA izole edildi. Amplifikasyon için karışımlar her biri toplam $45\mu\text{l}$ olacak şekilde 1 ml'lik tüplerde oluşturuldu. $200\mu\text{M}$ dNTP mix, 1,25U Taq DNA Polimeraz ($5\text{U}/\mu\text{l}$), $2,5\text{ nM}$ MgCl_2 ve distile su ile hazırlandı. HBV1 (5'-

TCACCATATTCTTgggAACAAgA-3') ve HBV3 (5'- (G/A)TCGGGAAAGAATCCCCAgAg-3') primerlerden 0,4µM eklendi. Her bir tüpe 5µl izole edilmiş DNAi ilave edildi ve işlem başlatıldı. Denaturasyon için 94'C'da 1 dakika, primerlerin DNA' ya bağlanması için 55'C'de 1 dakika ve polimerizasyon için 72'C'de 1 dakika inkübe edildi ve bu şekilde toplam 40 döngü yapılarak amplifikasyon tamamlandı. Elde edilen PCR ürünü %2'lik agaroz jelde 100 volt uygulanarak 45 dakika yürütüldü ve ultraviyole ışık kaynağında görüntülendi. 79 bp uzunlukta kesilen parçalar genotip D, kesilme görülmeyenler non-D olarak tanımlandı (Şekil-9).



Şekil-9: Hepatit B virüs genotiplendirme çalışmasında jel elektroforez örneği.

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 16.0TM kullanılarak yapıldı. Kategorik değişken sıklıkları arasındaki farklar chi-square testi ile araştırıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testiyle incelendi. Normal dağılım göstermeyen iki grup değişkenleri arasındaki fark Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Ortalamalarla birlikte standart sapma verildi ve anlamlılık düzeyi, $\alpha = 0.05$ ($p < 0.05$) olarak alındı.

BULGULAR

Çalışmaya kronik hepatit B tanısıyla izlenmekte olan 37 erkek, 30 kız toplam 67 hasta alındı. Yaş ortalaması $13,8\pm 4,1$ idi. Hastaların izlem süresi ortalama $4,09\pm 3,64$ yıldır. Aile öyküsü hastaların %64'ünde (n: 43) mevcuttu ve hastaların %11,9 (n: 8) başvuru sırasında semptomatikti.

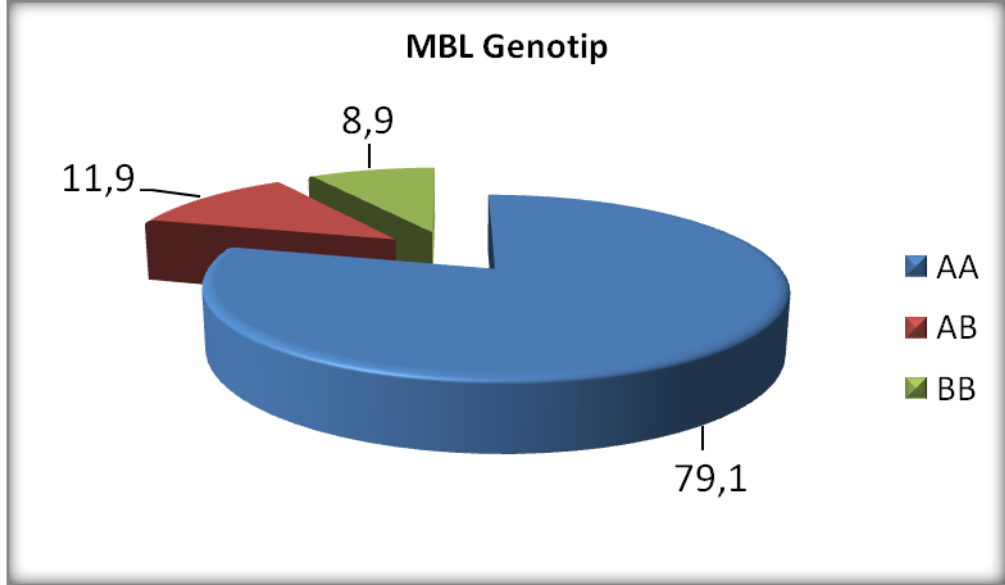
Çalışma grubu kronik hepatit B enfeksiyonunun progresyonuna göre alt gruplara ayrıldığında immün toleran olanlar (Grup 1) %23,8 (n: 16), spontan HBe serokonversiyonu göstererek kronik inaktif olanlar (Grup 2) %34,3 (n: 23) ve izlem süresince immün aktivite göstererek tedavi edilmiş hastalar ise (Grup 3) %41,7 (n: 28) idi. Tedavi almış hasta grubu ise tedaviye yanıtlılar (Grup 3a, n=17) ve yanıtızlar (Grup 3b, n=11) olarak ayrıca incelendi. Grupların demografik özellikleri Tablo-4'te gösterilmektedir.

Tablo-4: Grupların demografik özellikleri.

	Grup1 n: 16	Grup2 n:23	Grup3 n: 28	P
Cinsiyet (E:K)	9:7	13:10	15:13	
Yaş (yıl) ort±SD	11,69±4,45	14,65±3,42	14,32±4,23	
İzlem süresi (yıl) ort±SD	4,44±4,14	2,80±3,16	4,97±3,62	
Aile öyküsü (%)	75	60,8	60,7	

Hepatit B virüs genotipleri 34 hastada kan, 5 hastada karaciğer dokusundan izole edilen HBV DNA'dan çalışılmıştı. Bunların 35 tanesi (%89,7) D genotipinde iken 4 tanesi (%10,3) non-D genotipinde idi. Non-D genotipte olan 4 hastanın iki tanesi immüntoleran, bir tanesi tedaviye yanıtlı, diğeri ise tedaviye yanıtızdı. Çalışma grubumuzda D genotipi sıklığı sayıca az olmakla birlikte gruplar arası farklılık göstermemekteydi (p=0,23).

Hastaların MBL gen polimorfizmlerine bakıldığında 53(%79,1) hastada mutasyon olmadığı (AA), 8 (%11,9) hastanın heterozigot kodon 54 mutasyonu (AB) taşıdığı ve 6 (%8,9) hastanın da homozigot kodon 54 mutasyonu (BB) taşıdığı görüldü (Şekil-10).

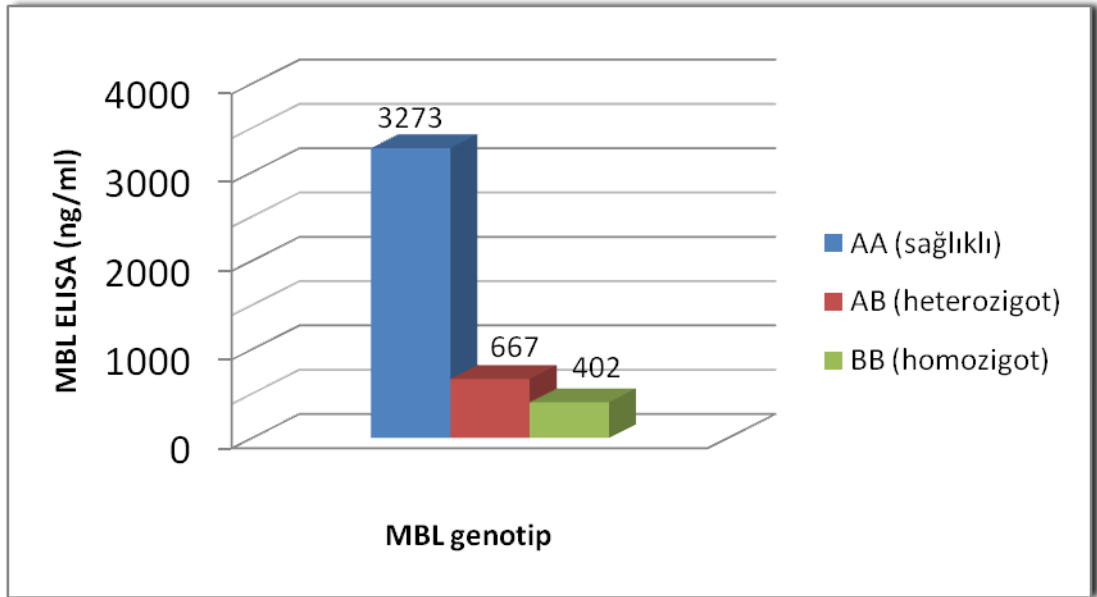


Şekil-10:Hastaların MBL genotip oranları.

Polimorfizmin cinsiyete göre değişiklik göstermiyordu ($p=0,73$).

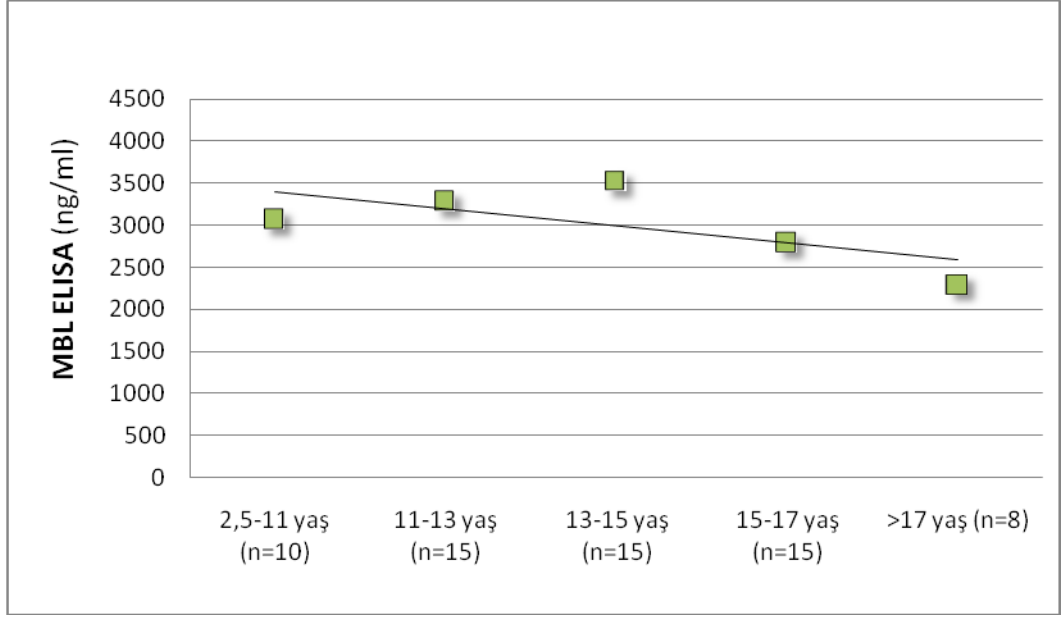
Hepatit B enfeksiyonunu vertikal (aile öyküsü) ya da horizontal bulaş ile kazananların MBL kodon 54 mutasyonları arasında farklılık bulunmadı ($p=0,73$).

MBL kodon 54 mutasyonu ile serum düzeyinin ilişkisine bakıldığında ise homozigot ve heterozigot mutantların serum MBL düzeylerinin birbiriyle korele ve mutant olmayanlara göre anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü ($p<0,05$) (Şekil-11).



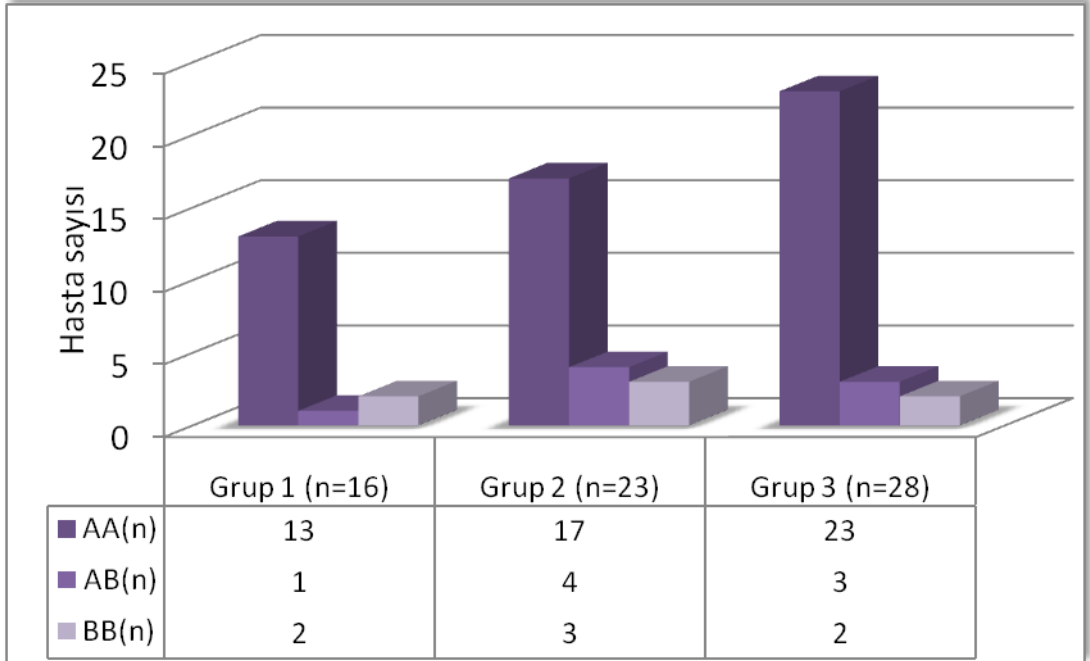
Şekil-11: MBL genotip B (kodon 54 mutasyonu) ile serum MBL düzeylerinin korelasyonu.

Hastaların serum MBL düzeylerine bakıldığında 54 hastanın (%80,5) serum düzeyinin normal, 7 hastanın (%10,4) normalden düşük, 6 hastanın (%8,9) ise serum MBL düzeyinin sıfır olduğu saptandı. MBL serum düzeyinin kızlarda $2680,94 \pm 1455,87$ ng/ml, erkeklerde $2823,37 \pm 1359,71$ ng/ml bulundu ve cinsiyete göre istatistiksel farklılık göstermedi ($p=0,67$). MBL serum düzeyinin yaşa göre değişiminde istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte yaş ile ters korelasyon gösterdiği görüldü ($p=0,315$, $r:-0,12$) (Şekil-12).



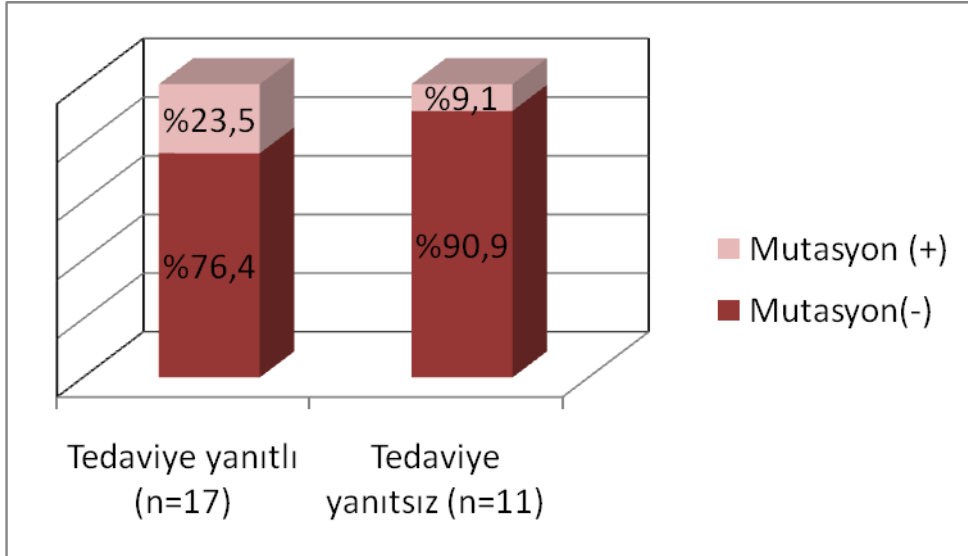
Şekil-12: MBL serum düzeyinin yaşla birlikte değişimi.

MBL kodon 54 mutasyonunun hastalık progresine etkisine bakıldığında gruplar arasında homozigot ya da heterozigot mutasyon taşıma oranlarında farklılık bulunmadı (Şekil-13) ($p=0,75$).



Şekil-13: MBL kodon 54 mutasyonu taşıyan hastaların gruplara göre dağılımı ($p=0,75$).

Tedavi almış grupta ise tedaviye yanıtı ve yanıtızların MBL geninde homozigot veya heterozigot kodon 54 (genotip B) mutasyon varlığının tedavi etkinliğini değiştirmediği görüldü ($p=0,61$) (şekil-14).



şekil-14: Tedaviye yanıtı ve yanıtız hastaların MBL genotip B (kodon 54 mutasyonu) oranları.

Hastalık progresine göre MBL serum düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo-5).

Tablo-5: Grupların serum MBL düzeylerinin karşılaştırılması.

	Serum MBL düzeyi (ng/ml)	p
Grup1 (n:16)	2764,18±1396,45	0,39
Grup2 (n:23)	2486,59±1428,58	
Grup3 (n:28)	2948,93±1404,07	
Tedaviye yanıtı	3002,57±1416,94	0,79
Tedaviye yanıtız	2859±1446,65	

Benzer şekilde tedaviye yanıtı ve yanıtı olmayanların MBL serum düzeylerinin farklılık göstermediği görüldü ($p=0,79$) (Tablo 5).

MBL polimorfizminin spontan ya da tedavi ile HBe serokonversiyonu oluşumu ile ilişkisine bakıldığında, serokonversiyon sağlanmış ve sağlanmamış hastaların MBL polimorfizm oranları ya da serum MBL düzeyleri arasında istatistiksel farklılık bulunmadı. ($p=0,78$) (Tablo-6).

Tablo-6: HBe serokonversiyonu olan hastaların MBL serum düzeylerinin karşılaştırılması.

	Serum MBL düzeyi (ng/ml)	
Anti Hbe Ak (+)	2707,72±1420,73	$p=0,78$
Anti Hbe Ak (-)	2802,81±1390,04	

Tedavi almış grupta karaciğer histopatolojisinin MBL gen polimorfizmi/ serum düzeyi ile ilişkisi araştırıldığında Knodell indeksi 4'ten az ya da fazla olanlar arasında farklılık bulunmadı ancak istatistiksel anlamlılık taşımayan ters korelasyon saptandı. Benzer şekilde karaciğerde fibrozis skoru 2'den az ya da fazla olanlar arasında da MBL polimorfizmi ya da serum düzeyi farklılık göstermediği saptandı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çocukluk çağında ortaya çıkan kronik hastalıklar uzun dönemde bireylerin yaşam kalitesini bozmakta, yaşam süresini kısaltmakta, çalışma gücünü azaltmakta ve ekonomik yük oluşturmaktadır. Bu nedenle çocukları önlenebilir kronik hastalıklardan korumak çocuk hekimlerinin önemli görevlerinden biridir.

Önlenebilir kronik hastalıklar arasında kronik hepatit B önemli yer kaplamaktadır. Koruyucu hekimlik hizmetlerinin artırılmasına rağmen çocuk ve adölesan yaş grubu gerek vertikal gerekse de horizontal olarak bulaş riskinin en çok olduğu popülasyondur (67).

Hepatit B aşısı dünyada 1982 yılında kullanılmaya başlanmış ve ülkemizde de 1998 yılında rutin aşılama takvimine girmiştir. Rutin aşılamının başarılması ile çocuk yaş grubunda enfeksiyon oranları birçok ülkede yaklaşık %80 oranında azalma göstermiştir (68). Ülkemizde ise rutin aşılama ile 10 yılda doğu illerindeki çocuklarda seropozitivite prevalansı %8-10'dan %2,7'ye gerilemiştir (69). Bütün bu çabalara rağmen Hepatit B halen tüm dünyada 350 milyondan fazla insanı etkileyen önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir (70).

Hepatit B enfeksiyonunun seyrini etkileyen faktörler bulaş yolu, virüse ait virulans faktörleri ve konağın immün sistemidir.

Orta ve yüksek endemik bölgelerde hastalığın kronikleşmesini etkileyen en önemli faktörün yenidoğan döneminde ya da erken çocuklukta bulaş olduğu bilinmektedir (71).

Ülkemizde kronik hepatit B orta endemisite göstermektedir ve hastalığın kronikleşmesinde önemli olacağı için çalışma grubumuzdaki hastalarda bulaş yolu sorgulanmıştır. Grubumuzdaki hastalar, hastalıklarının herhangi bir döneminde izleme girdikleri için tam olarak bulaş zamanı ve yolu bilinmemektedir. Ancak annede kronik hepatit B enfeksiyonu olanların vertikal geçişle enfekte oldukları düşünüldüğünde tüm grupta bu oran %64 idi

ve farklı progresyon gösteren gruplar arasında farklılık görülmedi. Yani bizim hasta grubumuzda bulaş zamanı prognostik farklılık oluşturmamaktadır.

Virüse ait prognostik faktörlerden ise en iyi tanımlanan genotiptir. Hepatit B virüsünün 8 genotipi tanımlanmıştır ve bunlar belli coğrafi bölgelerde endemisite gösterirler. Ülkemizde yapılan çalışmalarda %84-100 oranında D genotipi saptanmıştır (72). Bizim çalışmamızda hepatit B virüs genotipi 39 hastada çalışılabilir ve bunların %89.7'si genotip D iken %10,3'ü genotip non-D olarak belirlendi. Genotip non-D sayıca az olmakla birlikte immüntoleran, tedaviye yanıtı ve yanıtı olmayan gruplar arası eşit dağılım göstermekteydi. Kronik inaktif gruptaki hastalarda HBV DNA elde edilemediği için genotip çalışması yapılamamıştır.

Çalışmamızda genotip Non-D'nin Türkiye'de yapılmış diğer çalışmalara göre ortalama olarak daha yüksek oranda saptanmasının bölgemizin yüksek oranda Balkan ülkelerinden göç alması ile ilişkili olarak düşünüldü.

Erişkin hasta gruplarında yapılan çalışmalarda e minus enfeksiyonların, hızlı siroza ilerleyişin ve semptomatik akut hepatit B enfeksiyonlarından da genellikle D genotipinin sorumlu olduğu gösterilmiştir (11). Bizim hastalarımızda e-minus enfeksiyon saptanmamış olup, bunun hastaların çocukluk çağında olması ile ilişkili olduğu, ilerleyen yıllarda genotip D ile enfekte olan hastalarımızda e-minus hastalık riskinin olabileceği düşünüldü.

D genotipli hastalarımız fibrozis açısından incelendiğinde ise ortalama fibrozis evresinin 1 olduğu yani siroza hızlı ilerleyişin olmadığı görüldü. Bu sonuç da hastalarımızın çocuk yaşta olması ile ilişkilendirildi.

Hastalarımızın genellikle tarama sırasında saptanması ya da başka bir merkezde tanı alarak hastanemize sevk edilmesi nedeniyle hastaların akut hastalık dönemine ait bilgilerimiz kısıtlı idi. Bununla birlikte hastalarımızın %11,9'unun öyküsünde semptomatik hastalık öyküsü mevcuttu. Hastalarımızın genotiplere göre hastalık seyirleri incelendiğinde ise, genotip D' nin baskın olduğu bir ülkede olmamız ve çalışmamızda non-D genotipinin sayıca az olması nedeniyle genotip D ve non-D nin klinik tablo ile

ilişkinin istatistiksel olarak yorumlanması mümkün olmamıştır. Sonuç olarak hasta grubumuz için Hepatit B virüs genotipinin hastalık progresine etkisi bulunmamıştır.

Hepatit B'li hastaları ikiz kardeş, aile ve etnik kökenlere göre gruplandırarak araştıran çalışmalarda konak immünitesini etkileyen genetik faktörlerin hastalık progresi ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Hepatit B enfeksiyonuna karşı ön planda Th1 yanıtının olduğu ve bu yanıtın yetersiz kaldığı durumlarda ise hastalığı kronikleşme sürecine girdiği bilinmektedir.

Yapılan çalışmalarda diğer tüm enfeksiyöz durumlarda olduğu gibi viral enfeksiyonlarda da doğal immün yanıtın önemi vurgulanmıştır (73).

Mannoz bağlayan lektin kalsiyum bağımlı C tipi bir serum lektinidir ve kompleman sistemi aktive ederek doğal immün yanıtta rol alır.

Serum MBL düzeyi cinsiyete göre farklılık göstermezken, yaşla birlikte serum düzeyinin değiştiği bilinmektedir. Yenidoğanlarda serum düzeyi erişkin düzeyin 2/3'üdür ve 1. aydan sonra yaş arttıkça serum düzeyi azalmaya başlar ve erişkin dönemde stabil olarak devam eder. (74, 75). Çalışmamızda yenidoğan döneminde olan hastamız yoktu, tüm hastalarımız 2 yaşından büyüktü. Kız ve erkek hastalar arasında MBL serum düzeyleri farklı değildi.

Bizim çalışmamızda da literatürde belirtildiği gibi, istatistiksel anlamlılık taşımamakla birlikte, yaş arttıkça MBL düzeyinde azalma olduğu saptandı.

MBL, 10.kromozomda yer alan MBL-2 geni tarafından kodlanmaktadır ve bu gendeki tek nukleotid polimorfizmleri proteinin yapısını bozmakta ve serum düzeyinde azalmaya neden olmaktadır. Bilinen 3 tip mutasyon vardır:

Kodon 54 mutasyonu → B allelini

Kodon 57 mutasyonu → C allelini,

Kodon 52 mutasyonu → D allelini oluşturmaktadır.

Mutasyonların toplum sıklıkları etnik kökene göre değişmektedir. Güney Amerika'da sağlıklı populasyonun %80 oranında B alleli taşırken, Avrupa ve Asya'da toplum prevalansı % 25 olarak bildirilmiştir. Bu bölgede C

alleli nadir görülmektedir. Afrika' da ise C alleli sıklığı %50-60 civarındadır (76).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda sağlıklı populasyonda homozigot B alleli %2-6, heterozigot B alleli sıklığı ise %12-20 oranında bulunmuştur (77, 78).

Bizim çalışmamızda ise hastaların %79,1'inde mutasyon saptanmazken, %8,9'unda homozigot B alleli, %11,9'unda heterozigot B alleli saptandı. C ve D allelleri ise saptanmamıştır.

Literatürde kodon 54 mutasyonunun (B genotipi) hepatit B enfeksiyonu persistansına zemin hazırladığı yani hastalığın kronikleşmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (79). Bizim hasta grubumuzda da MBL genindeki homozigot kodon 54 mutasyon sıklığının sağlıklı popülasyona göre yüksek olması kodon 54 mutasyonunun hastalığın persistansında etkili olduğunu düşündürmektedir. Bu açıdan bulgularımız literatürü desteklemektedir.

Sağlıklı popülasyonda bu mutasyonlar sonucu MBL serum düzeyi düşüklüğü (100-1000 pg/ml) %40 oranında saptanırken ve %8 oranında ise ciddi MBL eksikliği (<50pg/ml) oluşmaktadır (giriş 56). Bizim çalışmamızda hastaların %80,5'inde serum MBL düzeyi normalken, %8,9'unda serum düzeyi azalmış, %10,4'ünde ise serumda MBL saptanamamıştır. Bu oranlar literatür ile uyumludur. Mutasyon saptanmayanların serum MBL düzeyleri ortalama 3273ng/ml, heterozigot mutantların 667ng/ml ve homozigot mutantların 402ng/ml bulunmuştur..

Çalışmamızda mutasyon taşımayanların, heterozigot ve homozigot mutantların serum MBL düzeyleri mutasyon varlığı ile korelasyon göstermiştir.

MBL eksikliğinin bazı bakteriyel, viral, fungal ve protozoal enfeksiyonun seyrini etkilediği anlaşılmıştır. Bunlardan en iyi tanımlananlar candida albicans, A grubu B hemolitik streptokoklar, Stafilococcus aureus, M tuberculosis, Leishmaniasis, HIV, Hepatit B ve C'dir (80). Enfeksiyonlar haricinde MBL eksikliğinin SLE, RA gibi otoimmün hastalıklar, tekrarlayan düşükler, preterm doğum ve iskemik kalp hastalığı ile de ilişkisi gösterilmiş (81-84).

MBL ile hepatit B enfeksiyonu ilişkisinde iki mekanizma öne sürülmüştür:

Birincisi, MBL'nin Hepatit B virüsüne zarf yapısındaki orta yüzey antijeninin mannoz oligosakkaridler vasıtasıyla bağlandığı ve kompleman aktivasyonunu başlattığı yönündedir. Bu sayede MBL hepatit B virüsünün direk klirensinde rol oynamaktadır (85). Ayrıca MBL'nin yine kompleman sistemi aktive ederek oluşan immün komplekslerin temizlenmesini sağladığı, bu sayede inflamatuvar hasarı azalttığı gösterilmiştir. Bu nedenle serumda MBL eksikliği kompleman sistem aktivasyonunun defektif olmasına neden olur ve HBV enfeksiyonu sırasında oluşan immün komplekslerin klirensi azalarak karaciğerde doku hasarına neden olur (86).

İkinci mekanizma ise MBL'nin sitokinler üzerine düzenleyici etkisi ile ilişkilidir. Yüksek serum MBL düzeyi monositlerden IL-6, IL-1B ve TNF-alfa gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltmaktadır. MBL eksikliği durumunda ise bu sitokinlerin arttığı gözlenmiştir ve sonuçta kronik inflamasyon ve fibrozisin ortaya çıktığı anlaşılmıştır (87).

Sonuçta düşük serum MBL düzeyinin viral yük ve inflamatuvar sitokin artışına neden olduğu, bunun da karaciğerde inflamatuvar hasarı ve fibrozis sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir.

Bizim hastalarımızda da istatistiksel anlam oluşturmamakla birlikte MBL serum düzeyi azaldıkça Knodell indeksinin ve fibrozisin arttığı görülmüştür. Bu durumun yıllar içinde istatistiksel anlam taşıyan bir inflamatuvar hasarın başlangıç dönemi olabileceği düşünüldü.

MBL eksikliği için belirlenen sınır değer değişik hasta gruplarında ortaya çıkan komplikasyonlara göre değerlendirildiğinde in vitro immün aktivasyon için en az 200 ng/ml, lösemi hastalarında en az 500-1000ng/ml ve obstetrik komplikasyonla için ise en az 100ng/ml olması gerektiği gösterilmiştir (88).

Biz çalışmamızdaki hastalarda ise tüm grupların, ayrıca tedaviye yanıtı ve yanıtızların MBL ortalamalarının birbirine yakın olduğu görüldü ve dolayısıyla bir sınır değer saptanmadı.

Mannoz bağlayan lektin gen polimorfizmi ve serum düzeyinin kronik Hepatit B hastalık progresine etkisi bugüne kadar az sayıda çalışmada ve erişkin hasta gruplarında çalışılmıştır.

Yuen ve ark. (79) yaptıkları bir çalışmada kodon 54 mutasyonunun hastalık persistansı ve hastalık progresyonunda etkili olduğunu savunmuşlar ve kodon 54 mutasyonu olan yetişkin HBV hastalarında semptomatik siroz ve spontan bakteriyel peritonit geliştirme olasılıklarının daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Böylelikle mutasyonu olan kişilerin izlem yaklaşımlarının değişebileceğini, koruyucu ab vb verilebileceğini savunmuşlardır.

ABD'de Thio ve ark. (89) tarafından 2005 yılında yapılan bir çalışmada toplam 527 yetişkin hasta incelenmiş ve mutasyon gözlenmeyen kişilerde hepatit B enfeksiyonu doğal bağışıklık ile sonuçlanırken, kodon 54 mutasyonu olan düşük serum MBL düzeyi gösteren hastalarda ise persistan hastalık anlamlı olarak daha sık görülmüş. Araştırmacılar, düşük serum MBL düzeyinin hastalık persistansı ile ilişkili olduğunu öne sürmüşler.

Song ve ark. (90), Vietnamlı hastalarda yaptıkları bir çalışmada akut hepatit B geçiren kişilerde kodon 54 mutasyonunun daha sık saptanmıştır. Aynı çalışmada hastalarda kodon 54 mutasyonu ile yüksek viral yük arasında ilişki bulunmuş ve bu sonuc ile MBL 'nin HBV klirensinde direk etkili olduğunu savunmuşlardır.

Hokazaki ve ark. (91) yaptıkları çalışmada ise MBL mutasyonlarının Hepatit B virüsünün neden olduğu fulminan hepatit tablosunda surviyi kısalttığını göstermişlerdir.

Bunların yanı sıra Chong ve ark. (92) yaptıkları çalışmalarda kodon 54 mutasyonu ile hepatit B virüs klirensi ya da hastalık progresyonu arasında ilişki saptamamışlardır.

Thomas ve ark. (93) 137 Asyalı hasta üzerinde yaptıkları çalışmada kodon 52 mutasyonunun hastalık persistansı ile ilişkili olduğunu göstermişler, kodon 54 mutasyonun ise bu yönde etkisinin olmadığını öne sürmüşlerdir.

Sonuç olarak, MBL serum düzeyinde azalmaya neden olan polimorfizmlerin Hepatit B enfeksiyonunun prognozunu kötü etkilediği görüşü ağırlık kazanmaktadır.

Tüm bu çalışmaların ışığında bizim sonuçlarımız değerlendirildiğinde 3 grupta incelediğimiz hastalarda, immüntoleran, spontan serokonversiyon gösteren ve tedavi almış olanlarda MBL gen polimorfizm oranları ve serum MBL düzeyleri arasında farklılık bulunmadı. Ayrıca hastalarımız Hbe serokonversiyonu olanlar -olmayanlar olarak incelendiğinde yine MBL mutasyonu ve MBL serum düzeyleri arasında farklılık bulunmadı. Siroz gelişen hastamız yoktu ve spontan bakteriyel peritonit saptanmadı.

Bu sonuçlar literatür ile uyum göstermektedir. Hastalık persistansında önemli olan kodon 54 mutasyonu, hastalarımızda hepatit B enfeksiyonunun kronikleşmesinde rol almış olabileceği ve yine uzun dönemde kötü prognostik önem taşıdığı gösterilen kodon 54 mutasyonunun çocuk yaş grubunda gerek klinik gerekse de histopatolojik olarak hızlı progresyona neden olmadığı görülmüştür.

Matsushita ve ark. (94) tarafından Hepatit C'li hastalarda yapılan bir çalışmada kodon 54 mutasyonu olanlarda İFN'a daha az yanıt olduğu gösterilmiştir. MBL gen mutasyonlarının kronik hepatit B hastalarında tedavi yanıtlarına ve ilaç dirençlerine olan etkisi henüz araştırılmamıştır.

Bizim hasta grubumuzda ise toplam 28 hasta tedavi almıştı ve %60 tedaviye yanıtı idi. Tedaviye yanıtı ve yanıtı olmayan hastalar arasında MBL gen mutasyonu ve serum düzeyleri farklılık göstermiyordu.

İlaç direnci ilacın kullanım süresiyle korelasyon göstermektedir ve bu nedenle tedavi alma süresi yetişkinlere göre daha kısa olan çocuk hastalarda ilaç direncine nadir rastlanmaktadır. Bizim hastalarımızda Lamivudin direnci saptanmadı ve bu nedenle MBL polimorfizmi ile çocuk hastalardaki ilaç direnci arasında ilişki kurulamadı.

Sonuç olarak, MBL genindeki kodon 54 polimorfizmi kronik hepatit B tanılı çocuk hastalarda ortalamanın üzerinde bir sıklıkta görülmektedir. Bu mutasyonun hastalığın kronikleşmesine zemin oluşturduğu ancak kronikleşmiş hastalığın çocukluk yaş grubundaki progresine etkisi bulunmadığı görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Perrillo R, Nair S. Hepatitis B and D. In: Feldman M, Freidman L, Brandt L (eds). Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2006. 1647-72.
2. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A "New" antigen in leukemia sera. JAMA 1965; 191:541-6.
3. Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia antigen-associated hepatitis. Lancet 1970; 7649:695-8.
4. Kaplan PM, Greenman RL, Gerin JL, Purcell RH, Robinson WS. DNA polymerase associated with human hepatitis B antigen. J Virol 1973;5:995-1005.
5. Ustaçelebi Ş, Ergünay K. Hepatit B virüsünün moleküler virolojisi. Tabak F, Balık İ, Tekeli E. (editörler). Viral Hepatit 2007. İstanbul. Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını; 2000. 96-107.
6. Cattaneo R, Will H, Schaller H. Hepatitis B virus transcription in the infected liver. EMBO J 1984;9:2191-6.
7. Kramvis A, Kew M, François G. Hepatitis B virus genotypes. Vaccine 2005;19:2409-23.
8. Lüsebrink J, Schildgen V, Schildgen O. HBV-Virology. In: Mauss, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H (eds). Hepatology 2009. Duesseldorf: Flying Publisher; 2009. 55-74.
9. Liang TJ. Hepatitis B: the virus and disease. Hepatology. 2009;5:s13-21.
10. Bartholomeusz A, Schaefer S: Hepatitis B virus genotypes: Comparison of genotyping methods. Rev Med Virol 2004;14:3-16.
11. Chu CJ, Lok AS. Clinical significance of hepatitis B virus genotypes. Hepatology 2002; 35:1274-76.
12. Pall H, Jonas MM. Acute and chronic hepatitis. In: Wyllie R, Hyams JS (eds). Pediatric gastrointestinal and liver disease. 3rd edition. Philadelphia: Saunders; 2006. 925-50.
13. Locarnini S, McMillan J, Bartholomeusz A. The hepatitis B virus and common mutants. Semin Liver Dis 2003;23:5-20.
14. Li J, Buckwold VE, Hon MW, Ou JH. Mechanism of suppression of hepatitis B virus precore RNA transcription by a frequent double mutation. J Virol 1999;73:1239-44.
15. Chu CJ, Keeffe EB, Han SH et al. Prevalence of HBV precore/core promoter variants in the United States. Hepatology 2003;38:619-28.
16. Naoumov NV, Thomas MG, Mason AL et al. Genomic variations in the hepatitis B core gene: A possible factor influencing response to interferon alfa treatment. Gastroenterology 1995;108:505.
17. Lai C-L, 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; 36:687-96.

18. Liaw YF. Impact of YMDD mutations during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. *Antivir Chem Chemother* 2001; 12(s1):67-71.
19. Mutimer D, Pillay D, Shields P et al. Outcome of lamivudine resistant hepatitis B virus infection in the liver transplant recipient. *Gut* 2000;46:107-13.
20. Rehermann B. İmmune responses in hepatitis B virus infection. *Semin Liver Dis* 2003;23:21-38.
21. Bertoletti A, Ferrari C, Fiaccadori F, et al: HLA class I–restricted human cytotoxic T cells recognize endogenously synthesized hepatitis B virus nucleocapsid antigen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:10445-9.
22. Koziel M. The immunopathogenesis of HBV infection. *Antivir Ther* 1998; 3(S3):13-24.
23. Nart D. Kronik viral hepatit ve otoimmün hepatit histopatolojisi. Aydoğdu S, Arıkan Ç.(editörler). *Çocuk hepatoloji kurs kitabı*. İzmir: Okur Ofset: 2009. 241-51.
24. Knodell RG, Ishak G, Back C, et al. Formulation and application of numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1: 431-5.
25. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *J Hepatol* 2003;39:S64-9.
26. Taşyaran MA. HBV enfeksiyonu epidemiyolojisi. Tekeli E. Balık İ. (editörler). *Viral Hepatit 2003*. Ankara: Viral Hepatitle Savaşım Derneği: 2003. 121-8.
27. Van Damme P, Cramm M, Van Der Auwera JC et al. Horizontal transmission of hepatitis B virus. *Lancet* 1995;345:27-9.
28. Kane MA. Transmission of the hepatitis B virüs in areas of low endemicity fields. In: Plot P, Andre FE (eds). *Hepatitis B: a Sexually transmitted disease in heterosexuals*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1990. 9-13.
29. Hwang L-Y. Perinatal transmission of hepatitis B virus: Role of maternal HBeAg and anti-HBc IgM. *J Med Virol* 1985;15:265–71.
30. Wasley A, Grytdal S, Gallagher K. Surveillance for acute viral hepatitis; United States, 2006. *MMWR Surveill Summ* 2008;57(2):1-24
31. Polizzotto MN, Wood EM, Ingham H, Keller AJ. Reducing the risk of transfusion-transmissible viral infection through blood donor selection: the Australian experience 2000 through 2006. *Transfusion* 2008;1:55-63.
32. Shang G, Seed CR, Wang F, Nie D, Farrugia A. Residual risk of transfusion-transmitted viral infections in Shenzhen, China, 2001 through 2004. *Transfusion* 2007;3:529-39.
33. Williams IT, Perz JF, Bell BP. Viral hepatitis transmission in ambulatory health care settings. *Clin Infect Dis* 2004;11:1592-8.
34. Dickson RC, Everhart JE, Lake JR, et al. Transmission of hepatitis B by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis B core antigen. The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Gastroenterology* 1997;5:1668-74.

35. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat* 2004;2:97-107.
36. Liang TJ. Hepatitis B: the virus and disease. *Hepatology* 2009;5:S13-21.
37. Chu CM, Hung SJ, Lin J, Tai DJ, Liaw F. Natural history of Hepatitis e antigen to antibody seroconversion in patients with normal serum aminotransferase levels. *Am J Med* 2004;116:829-34.
38. Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B infection. *Lancet* 2009;373:582-92.
39. McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009;49:S45-55.
40. Prysopoulos NT, Reddy KR: Extrahepatic manifestations of chronic viral hepatitis. *Curr Gastroenterol Rep* 2001;3:71-8.
41. Duffy J, Lidsky MD, Sharp JT, et al: Polyarthritits, polyarteritis and hepatitis B. *Medicine (Baltimore)* 1976; 55:19-37.
42. Guillevin L, Lhote F, Jarrousse B et al: Polyarteritis nodosa related to hepatitis B virus: A prospective study of 66 patients. *Ann Med Interne* 1992;143(S1):63-74.
43. Lai KN, Li PK, Lui SF, et al: Membranous nephropathy related to hepatitis B virus in adults. *N Engl J Med* 1991; 324:1457-63.
44. Lee S, Kim KY, Hahn CS, Lee MG, Cho CK. Gianotti-Crosti syndrome associated with hepatitis B surface antigen. *J Am Acad Dermatol* 1985;4:629-33.
45. Monti G, Galli M, Invernizzi F, et al: Cryoglobulinaemias: A multicenter study of the early clinical and laboratory manifestations of primary and secondary disease. GISC. Italian Group for the Study of Cryoglobulinaemias. *Q J Med* 1995; 88:115-26.
46. Shah U, Kelly D, Chang MH, et al. Management of chronic hepatitis B in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009;48:399-404.
47. Theise ND. Liver biopsy assessment in chronic viral hepatitis: a personal, practical approach. *Mod Pathol* 2007;20(s1):3-14.
48. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B (AASLD practice guidelines). *Hepatology* 2001;34:1225–41.
49. Peters M. Mechanisms of action of interferons. *Semin Liver Dis* 1989;9:235–9.
50. Torre D, Dambibi R. Interferon-alpha therapy for chronic hepatitis B in children: a meta- analysis. *Clin Infect Dis* 1996;23:131-37.
51. Farrel G. Hepatitis B e antigen seroconversion: effects of lamivudine alone or in combination with interferon alpha. *J Med Virol* 2000;61:374-79.
52. Sokal EM, Kelly DA, Mizerski J et al. Long term lamivudine therapy for children with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006;43:225-32.
53. Jonas M, Kelly D, Pollack H et al. Safety, efficacy and pharmacokinetics of adefovir dipoxivil in children and adolescents (age 2 to 18 years) with chronic Hepatitis B. *Hepatology* 2008;47:1863-7.
54. Park BK, Park YN, Ahn SH et al. Long term outcome of chronic hepatitis B based on histological grade and stage. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:383-88.

55. Advisory Committee for Immunization Practices: Update on hepatitis B prevention. *MMRW* 1987;36: 353-7.
56. Worthley DL, Barty PG, Mullighan CG. Mannose-binding lectin: biology and clinical implications. *Intern Med J* 2005;35:548-55.
57. Burnet FM, McCrea JF. Inhibitory and activating action of normal ferret sera against an influenza virus strain. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1946;4:277-82.
58. Anders EM, Hartley CA, Jackson DC. Bovine and mouse serum beta inhibitors of influenza A viruses are mannose-binding lectins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;12:4485-9.
59. Bouwman LH, Roep BO, Roos A. Mannose-binding lectin: clinical implications for infection, transplantation, and autoimmunity. *Hum Immunol*. 2006;4-5:247-56.
60. Kilpatrick DC. Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *Transfus Med*. 2002;6:335-52.
61. Garred P, Larsen F, Seyfarth J, Fujita R, Madsen HO. Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes Immün*. 2006;2:85-94.
62. Gadjeva M, Thiel S, Jensenius JC. The mannan-binding-lectin pathway of the innate immune response. *Curr Opin Immunol* 2001;13:74-8.
63. Karahan ZC, Akar N. Tüberküloza genetik yatkınlık. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2002;2:151-62.
64. Dommert RM, Klein N, Turner MW. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens* 2006;3:193-209.
65. Gupta K, Gupta RK, Hajela K. Disease associations of mannose-binding lectin and potential of replacement therapy. *Indian J Med Res* 2008;5:431-40.
66. Matsushita M, Hijikata M, Ohta Y et al. Hepatitis C virus infection and mutations of mannose-binding lectin gene MBL. *Arch Virol* 1998;143:645-51.
67. Wasley A, Kruszon-Moran D, Kuhnert W et al. The Prevalence of Hepatitis B Virus Infection in the United States in the Era of Vaccination. *J Infect Dis* 2010;202:192-201.
68. Centers for Disease Control and Prevention. Achievements in public health: hepatitis B vaccination – United States, 1982–2002. *MMWR* 2002;31:549–53.
69. Dikici B, Uzun H, Gözü A, Fidan M. Prevalence of Hepatitis B Infection among Schoolchildren in Southeast Turkey. *Turk J Med Sci* 2009; 39:289-93.
70. Lee W. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733–45.
71. Lai CL, Lok AS, Lin HJ, Wu PC, Yeoh EK, Yeung CY. Placebo-controlled trial of recombinant alpha 2-interferon in Chinese HBsAg-carrier children. *Lancet* 1987;2:877-80.
72. Arslan U, Tuncer İ, Fındık D, Ural O. *İnfeksiyon Dergisi* 2008;3:123-9.
73. McMahan BJ, Alward WL, Hall DB et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985;4:599-603.
74. Brown KS, Ryder SD, Irving WL, Sim RB, Hickling TP. Mannan binding lectin and viral hepatitis. *Immunol Lett* 2007;1:34-44.

75. Ip WK, To YF, Cheng SK, Lau YL. Serum mannose-binding lectin levels and mbl2 gene polymorphisms in different age and gender groups of southern Chinese adults. *Scand J Immunol* 2004;3:310-4.
76. Turner MW, Dinan L, Heatley S et al. Restricted polymorphism of the mannose-binding lectin gene of indigenous Australians. *Hum Mol Genet* 2000;9:1481-6.
77. Koturoglu G, Onay H, Midilli R et al. Evidence of an association between mannose binding lectin codon 54 polymorphism and adenoidectomy and/or tonsillectomy in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2007;8:1157-61.
78. Onay H, Pehlivan M, Alper S, Ozkinay F, Pehlivan S. Might there be a link between mannose binding lectin and vitiligo? *Eur J Dermatol* 2007;2:146-8.
79. Yuen MF, Lau CS, Lau YL, Wong WM, Cheng CC, Lai CL. Mannose binding lectin gene mutations are associated with progression of liver disease in chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 1999;4:1248-51.
80. Neth O, Jack DL, Dodds AW, Holzel H, Klein NJ, Turner MW. Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immun* 2000;2:688-93.
81. Ip WK, Chan SY, Lau CS, Lau YL. Association of systemic lupus erythematosus with promoter polymorphisms of the mannose-binding lectin gene. *Arthritis Rheum* 1998;9:1663-8.
82. Graudal NA, Homann C, Madsen HO et al. Mannan binding lectin in rheumatoid arthritis. A longitudinal study. *J Rheumatol* 1998;4:629-35.
83. Kruse C, Rosgaard A, Steffensen R, Varming K, Jensenius JC, Christiansen OB. Low serum level of mannan-binding lectin is a determinant for pregnancy outcome in women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 2002;5:1313-20.
84. Madsen HO, Videm V, Svejgaard A, Svennevig JL, Garred P. Association of mannose-binding-lectin deficiency with severe atherosclerosis. *Lancet* 1998;9132:959-60.
85. Gerlich WH, Lu X, Heermann KH. Studies on the attachment and penetration of hepatitis B virus. *J Hepatol* 1993;17:S10-4.
86. Saevarsdottir S, Vikingsdottir T, Valdimarsson H. The potential role of mannan-binding lectin in the clearance of self-components including immune complexes. *Scand J Immunol* 2004;1-2:23-9.
87. Jack DL, Read RC, Tenner AJ, Frosch M, Turner MW, Klein NJ. Mannose-binding lectin regulates the inflammatory response of human professional phagocytes to *Neisseria meningitidis* serogroup B. *J Infect Dis* 2001;9:1152-62.
88. Thiel S, Frederiksen PD, Jensenius JC. Clinical manifestations of mannan-binding lectin deficiency. *Mol Immunol* 2006;1-2:86-96.
89. Thio CL, Mosbrugger T, Astemborski J et al. Mannose binding lectin genotypes influence recovery from hepatitis B virus infection. *J Virol* 2005;79:9192-6.
90. Song le H, Binh VQ, Duy DN et al. Mannose-binding lectin gene polymorphisms and hepatitis B virus infection in Vietnamese patients. *Mutat Res* 2003;1-2:119-25.

91. Hakozaki Y, Yoshiba M, Sekiyama K et al. Mannose-binding lectin and the prognosis of fulminant hepatic failure caused by HBV infection. *Liver* 2002;1:29-34.
92. Chong WP, To YF, Ip WK et al. Mannose-binding lectin in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2005;5:1037-45.
93. Thomas HC, Foster GR, Sumiya M et al. Mutation of gene of mannose-binding protein associated with chronic hepatitis B viral infection. *Lancet* 1996;348:1417-9.
94. Matsushita M, Hijikata M, Ohta Y et al. Hepatitis C virus infection and mutations of mannose-binding lectin gene MBL. *Arch Virol* 1998;4:645-51.

EKLER

EK-1: Kısaltmalar

Ag	Antijen
Ak	Antikor
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
cccDNA	Covalently closed circular DNA
DNA	Deoksiribonükleik asit
ELISA	Enzim bağılı immün test
HBV	Hepatit B virüsü
IFN	İnterferon
KS	Kompleman sistem
MASP	MBL ilişkili serin proteaz
MBL	Mannoz bağlayan lektin
ORF	Open reading frame
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
RNA	Ribonükleik asit

TEŞEKKÜR

Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme yan dal eğitimim süresinde büyük emekleri olan, beni her zaman destekleyen değerli hocam Prof. Dr. Tanju Başarır Özkan'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca yan dal eğitimim sırasında katkı, destek ve yardımlarını her zaman hissettiğim başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Nihat Sapan olmak üzere Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm hocalarıma da teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında bilimsel destek ve laboratuvar imkanları sağlayan Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD öğretim üyeleri Prof. Dr. Reşit Mıstık, Prof. Dr. Barbaros Oral, Doç.Dr. Ferah Budak ve laboratuvar teknisyenleri Sn. Figen Aymak ve Sn. Binnaz Güngör'e de ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Yan dal eğitimim boyunca beni her zaman destekleyen Uzm. Dr. Taner Özgür'e ve Hemşiremiz Asiye Hacıarabacı'ya da çok teşekkür ederim.

Doğduğum günden bu günlere gelmemde büyük emeği olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

24 Şubat 1977 tarihinde Manisa'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi sırasıyla Manisa Gazi İlkokulu, İzmir Özel Türk Lisesi, Manisa Fatih Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1994-2000 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimimi tamamladıktan sonra, 2001-2005 yılları arasında Ege Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda tıpta uzmanlık eğitimimi tamamladım.

2006 yılından itibaren Uzman Doktor olarak Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı'nda yan dal ihtisasına devam etmekteyim.