

İNAKTİF HBsAg TAŞIYICILARINDA SERUM ALANİN AMİNOTRANSFERAZ İZLEMİ VE HEPATİT B VİRUS YÜKÜNÜN ARAŞTIRILMASI

THE FOLLOW-UP OF SERUM AMINOTRANSFERASE LEVELS AND INVESTIGATION OF HEPATITIS B VIRUS LOAD IN INACTIVE HBsAg CARRIERS

Ali Ilgın OLUT¹, Haluk ÖZÜNLÜ¹, Hüsniye BOZDAĞ¹, Nisel ÖZKALAY²

ÖZET: Bu çalışmada inaktif HBsAg taşıyıcılarında bir yıl boyunca alanin aminotransferaz (ALT) düzeylerinin izlemi ve yıl sonunda bakılan hepatit B virus (HBV) DNA düzeyleri ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya, Buca Seyfi Demirsoy Devlet Hastanesi kronik hepatit polikliniğinde Mayıs 2005 tarihi itibarıyla takip edilen kronik hepatit B hastalarından; HBeAg negatif/anti-HBe pozitif, son 6 ayda bakılan iki ALT düzeyi normal, ultrasonografik incelemede karaciğerde yağlanma veya fokal lezyon bulunmayan, alkol veya düzenli ilaç kullanım öyküsü olmayan, anti-HCV negatif ve çalışma başladığında ALT düzeyi normal olan 61 hasta dahil edilmiştir. Çalışmanın başlangıcından itibaren hastaların ALT düzeyleri 3., 6. ve 12. aylarda izlenmiş ve 12.ayın sonunda kantitatif HBV-DNA analizi yapılmıştır. Bir yıl boyunca hastaların %89'unda (54/61) ALT düzeyi sürekli normal olarak seyrederken, %11'inde (7/61) en az bir kez ALT yüksekliği (ALT>1.2 kat) saptanmış ve toplam HBV-DNA pozitiflik oranı %59 (36/61) olarak belirlenmiştir. İnaktif taşıyıcı olarak kabul edilen HBeAg negatif ve ALT düzeyleri sürekli normal seyreden 54 hastanın 31'inde (%57.4) HBV-DNA pozitif, 23'ünde (%42.6) ise negatif olarak tespit edilmiştir. HBV DNA'sı pozitif olan hastaların altısında (%19.4) virus yükü 10^4 - 10^5 kopya/ml, 25'inde (%80.6) ise $<10^4$ kopya/ml olarak bulunmuştur. Takip sürecinde en az bir kez ALT yüksekliği tespit edilen yedi hastanın beşinde (%71.4) HBV DNA'sının pozitif olduğu izlenmiş; bu hastalardan ikisinde HBV-DNA $>10^5$ kopya/ml, üçünde ise 10^4 - 10^5 kopya/ml olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, inaktif HBsAg taşıyıcılarının yarısından fazlasında ALT düzeylerinin normal sınırlarda seyretmesine rağmen düşük düzeyde de olsa viral replikasyonun devam ettiği göz önünde tutulmalı ve akut alevlenmelerin kaçırılmaması için HBV-DNA ve karaciğer enzim düzeylerinin düzenli kontrolü yapılmalıdır.

Anahtar sözcükler: HBV-DNA düzeyi, inaktif HBsAg taşıyıcılığı, kronik hepatit B virus enfeksiyonu, izlem.

ABSTRACT: The aim of this study was to follow-up the serum alanine aminotransferase (ALT) levels in inactive HBsAg carriers during one year period and investigate the association between hepatitis B virus (HBV) DNA levels detected at the end of the year. At May 2005, 61 patients with HBeAg negative/anti-HBe positive chronic HBV infection, followed in our viral hepatitis clinic were included to the study.

¹ Buca Seyfi Demirsoy Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, İzmir. (aliolut@yahoo.com)

² Tepecik Eğitim Hastanesi, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir.

The patients' ultrasonographic examination of the liver were normal, they had no history of taking alcohol or routine medication, were anti-HCV seronegative and had normal ALT levels during the last 6 months and at the beginning of the study. Serum ALT levels of patients were followed in the 3rd, 6th and 12th months of the study, and blood HBV-DNA levels were analysed quantitatively in 12th month. During the one year period 89% (54/61) of the patients yielded continuously normal ALT levels, while 11% (7/61) showed at least one ALT value above the normal levels (ALT>1.2x). Total HBV-DNA positivity rate was found as 59% (36/61). In inactive HBsAg carrier group, -namely HBeAg negative and serum ALT levels constantly normal- 57.4% (31/54) of patients were HBV-DNA positive and 23 (42.6%) were negative. Amongst the HBV-DNA positive patients the viral load were detected as 10⁴-10⁵ copies/ml in six (19.4%), and <10⁴ copies/ml in 25 (80.6%) patients. In patients who had at least one ALT value above normal limits, 71.4% (5/7) of them were found HBV-DNA positive; two with HBV-DNA values of >10⁵ copies/ml and three with values between 10⁴-10⁵ copies/ml. In conclusion, although ALT levels may be normal, it should always be taken into consideration that more than half of inactive HBsAg carriers exhibited low level viral replication, thus HBV-DNA and liver enzyme levels should be monitored routinely in order not to miss the acute manifestations.

Key words: HBV-DNA levels, inactive HBsAg carrier state, chronic hepatitis B virus infection, follow-up.

GİRİŞ

Akut hepatit B virus (HBV) enfeksiyonunu takiben, bireylerin ortalama %5-10'unda altıncı aydan sonra HBV yüzey antijeni (HBsAg) negatifleşmemekte ve bu durum "kronik HBsAg taşıyıcılığı" veya "kronik HBV enfeksiyonu" olarak adlandırılmaktadır¹. Bu hastaların bir kısmında yüksek aminotransferaz düzeyleri ile seyreden ve karaciğerde ilerleyici hasar oluşturan; daha önemli bir kısmında da normal aminotransferaz düzeyleri ile seyreden ve normal karaciğer histolojisi veya minimal hasar ile karakterize bir hastalık tablosu gözlenir. İlk kez 1987 yılında Hoofangle ve arkadaşları² "sağlıklı HBsAg taşıyıcılığı" ve "kronik hepatit B" ayrımını gündeme getirmişlerdir. Ancak doyurucu olmayan bu tanım, 2000 yılındaki NIH (National Institute of Health) uzlaşısı toplantısında tekrar değerlendirilmiş ve "sağlıklı HBsAg taşıyıcılığı" terminolojisi yerine "inaktif HBsAg taşıyıcılığı" kullanılması önerilmiştir³. Bu terim, HBsAg pozitifliği altı aydan uzun süre devam eden, HBeAg negatif/anti-HBe pozitif, serum aminotransferaz seviyeleri sürekli normal saptanan, sağlıklı ya da minimal hasar gösteren karaciğer histolojisine sahip ve serum HBV-DNA düzeyleri <10⁵ kopya/ml olan hasta grubunu tanımlamaktadır³. HBV-DNA testinde aktif ve inaktif hastalık arasındaki ayrımı ortaya koymak için seçilen 10⁵ kopya/ml düzeyi, aslında o dönemde pek çok test yönteminin bu düzeyden düşük değerleri gösterememesinden kaynaklanmıştır. Son yıllarda çok daha duyarlı moleküler tanı yöntemlerinin kullanıma girmesiyle bu eşik (cut-off) değerinin tekrar değerlendirilmesi gündeme gelmiştir.

Çalışmamızda, son altı ayda iki kez yapılan testlerde normal alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri saptanan HBsAg pozitif hasta grubunda, sonraki bir yıllık dönemde ALT düzeyleri izlenmiş ve takip sürecinde hem sürekli normal ALT düzeyleri hem de ALT yükselmeleri gösteren gruplarda HBV-DNA düzeyleri saptanarak aralarındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, İzmir Buca Seyfi Demirsoy Devlet Hastanesi kronik hepatit polikliniğinde Mayıs 2005 tarihi itibarıyla takip edilen kronik hepatit B hastalarından; HBsAg pozitif, HBeAg negatif/anti-HBe pozitif, son altı ayda bakılan iki ALT düzeyi normal olan, ultrasonografik incelemede karaciğerde yağlanma veya fokal lezyon bulunmayan, alkol veya düzenli ilaç kullanım öyküsü olmayan, anti-HCV negatif ve çalışma başladığında ALT düzeyi normal olan 79 hasta dahil edildi. Hastaların 42'si erkek, 37'si kadın olup, yaş ortalamaları sırasıyla 36.3 ± 8.2 ve 34.5 ± 6.6 idi. Hastaların HBsAg, anti-HBc IgG, HBeAg, anti-HBe ve anti-HCV analizleri ticari ELISA yöntemi (Beckman Coulter, France; Access 2 Immunoassay System, USA) ile çalışıldı. İlk başvuruda ve 3., 6., 12. aylarda olmak üzere bir yıl içinde dört kez ALT düzeyleri kontrol edildi. Çalışmaya düzenli iştirak ederek tamamlayan 61 hastaya 12. ayın sonunda kantitatif HBV-DNA (Real-time PCR, TaqMan, Roche Diagnostic Systems, Basel, Switzerland; duyarlılık >6 IU/ml) analizi yapıldı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 79 inaktif HBsAg taşıyıcısının 61'i (%77.2) çalışmayı tamamlayabilmiştir. Bir yıl içinde serum ALT düzeyleri sürekli normal bulunan 54 hastanın 31'inde (%57.4) HBV-DNA pozitif bulunmuş ve bunların hepsinde viral yükün $\leq 10^5$ kopya/ml olduğu izlenmiştir (Tablo I). Takip sürecinde en az bir ALT kez yüksekliği (ALT >1.2 kat) tespit edilen 7 hastanın ise 5'inde (%71) HBV-DNA pozitif olarak saptanmış ve bunların hepsinde viral yükün $\geq 10^4$ kopya/ml olduğu belirlenmiştir (Tablo I).

Tablo I. İlk 6 Aylık Takiplerinde ALT Düzeyleri Normal Olan İnaktif HBsAg Taşıyıcılarının, Sonraki Bir Yıllık ALT Takibi ve HBV-DNA Analiz Sonuçları

İnaktif HBsAg Taşıyıcıları (n=61)	HBV-DNA		Viral Yük (%) ^a		
	Pozitif (%)	Negatif (%)	$<10^4$	$10^4 - 10^5$	$>10^5$
ALT sürekli normal (n= 54; %89)	31 (57.4)	23 (43.6)	25 (80.6)	6 (19.4)	0
ALT en az 1 kez yüksek (n= 7; %11)	5 (71.4)	2 (28.6)	0	3 (60)	2 ^b (40)

a: Yüzdelere HBV-DNA pozitif hastalara göre alınmıştır.

b: Bu hastalardan birinde 6. aydaki ALT düzeyi normalin 4 kat üzerinde olup, viral yük 7.8×10^6 kopya/ml'dir ve aktivasyon kabul edilmiştir.

TARTIŞMA

Dünyada tahmin edilen 400 milyon HBsAg taşıyıcısının yaklaşık 300 milyonu inaktif taşıyıcıdır. Sürekli normal ALT düzeyleri ile seyreden bu grupta, uzun süreli takiplerde yaklaşık %20-30'a varan oranda -zaman zaman- aktivasyonlar gözlemlendiği bildirilmektedir⁴. Bu tekrarlayan aktivasyonlar sonucunda progresif karaciğer hasarı oluşabilmektedir. 2000 yılındaki NIH uzlaşılı toplantısında, HBV

replikatif aktivitesi için HBV-DNA eşik değeri olarak 10^5 kopya/ml kabul edilmiş, ancak bazı araştırmacılar daha sonra bu değerin daha düşük olması gerektiğini öne sürmüşlerdir^{5,6}. Farklı çalışmalarda inaktif taşıyıcılarda oldukça farklı oranda HBV-DNA pozitifliği bildirilmektedir. Martinot-Peignoux ve arkadaşları⁵, duyarlılığı 200 kopya/ml olan yöntemle 85 inaktif taşıyıcının %84'ünde HBV-DNA pozitifliği saptamışlar; HBV yükünü olguların %66'sında $<10^4$ kopya/ml, %16'sında 10^4 - 10^5 kopya/ml, %2'sinde $>10^5$ kopya/ml olarak belirlemişlerdir. Zacharakis ve arkadaşları⁴, ortalama beş yıl izlenen 195 inaktif taşıyıcıda HBV-DNA pozitiflik oranını (Amplicor HBV-monitor kit, Roche Diagnostic Systems; duyarlılık 400 kopya/ml) %50.3 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda inaktif HBsAg taşıyıcılarının %59'unda (36/61) saptanan HBV-DNA pozitifliği bu sonuçlarla uyum göstermektedir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise, duyarlılığı 280.00 kopya/ml olan sıvı hibridizasyon yöntemi ile 126 inaktif HBsAg taşıyıcısının hiçbirisinde HBV DNA'sı tespit edilmemiş, duyarlılığı 1000 kopya/ml olan PCR ile sadece üç hastada pozitiflik saptanmıştır⁷.

Çalışmamızda, son altı ayda bakılan iki ALT düzeyi normal olan 61 HBeAg negatif inaktif taşıyıcının yedisinde (%11) bir yıllık takipte ALT düzeyi en az bir kez yüksek bulunmuş, 54 hastada (%89) ise sürekli normal sınırlarda kalmıştır. ALT düzeyi normal olan taşıyıcıların %57.4'ünde (31/54) HBV DNA'nın pozitif olması, inaktif taşıyıcıların yarısından fazlasında viral aktivitenin devam ettiğini vurgulamaktadır. Ancak bu gruptaki olguların hiçbirisinde HBV-DNA düzeyi $>10^5$ kopya/ml saptanmamıştır ve bu sonuç Chu¹ ve Zacharakis⁴'in sonuçları ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda HBeAg negatif olup, ALT dalgalanması gösteren yedi olgunun beşinde (%71.4) HBV-DNA pozitif bulunmuş ve tamamında HBV-DNA düzeyi $\geq 10^4$ kopya/ml olarak saptanmıştır. Bu grupta bir hastada ALT düzeyi 4 kat yüksek olarak saptanmış, bu hastada bakılan HCV-RNA, anti-HAV IgM ve otoantikör serolojisinin negatif, HBV-DNA'nın ise 7.8×10^6 kopya/ml olarak bulunması, hepatit B'nin akut alevlenmesi olarak kabul edilmiştir.

Yapılan birçok çalışmada, inaktif HBsAg taşıyıcılarının, HBeAg negatif kronik hepatit B'li hastalardan ayırımı için eşik değeri belirlenmesiyle ilgili değişik yorumlar yer almaktadır^{5,8-11}. Buna karşın Chu ve arkadaşları¹ HBeAg negatif kronik hepatitlerde HBV-DNA düzeylerinin dalgalanma gösterdiğini ve bu yüzden de bir eşik değeri belirlemenin doğru olmayacağını ifade etmişlerdir. Zacharakis ve arkadaşları⁴ ise, tüm inaktif taşıyıcılarda HBV-DNA düzeyinin $<10^5$ kopya/ml olduğunu belirtmişler ve çalışma başlangıcında viral yükü $>10^4$ kopya/ml olan dört olguda takip sırasında aktivasyon saptadıklarından, bu düzeyin aktivasyon için eşik değeri olup olmadığını tartışmaya sunmuşlardır. Çalışmamızda da, $>10^4$ kopya/ml değerindeki HBV-DNA düzeyi kritik bir değer gibi görünmektedir; zira bu düzeyin altındaki tüm inaktif taşıyıcılarda ALT seviyesi normal sınırlarda seyretmiştir. Viral yükü $\geq 10^4$ kopya/ml olarak bulunan 11 hastanın beşi (%45) ise takip sırasında ALT yükselmesi olan gruptadır. Ancak bu değerin bir eşik değeri olup olmayacağını belirlemek için ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Sonuç olarak, inaktif HBsAg taşıyıcılarında normal ALT düzeylerinin saptanmasına rağmen düşük düzeyde de olsa viral replikasyonun devam ettiği gözardı edilmemeli ve HBeAg pozitifliği olsun ya da olmasın akut alevlenmelerin kontrolü için HBV-DNA ve karaciğer enzimlerinin düzenli olarak takibi yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Quantitative serum HBV DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 2002; 36: 1408-15.
2. Hoofangle JH, Shafritz DA, Popper H. Chronic type B hepatitis and the healthy HBsAg carrier state. *Hepatology* 1987; 7: 758-63.
3. Lok AS, Heathcote EJ, Hoofnagle JH. Management of hepatitis B: 2000- Summary of a workshop. *Gastroenterology* 2001; 120: 1828-53.
4. Zacharakis GH, Koskinas J, Kotsiou S, et al. Natural history of chronic HBV infection: a cohort study with up to 12 years follow-up in North Greece. *J Med Virol* 2005; 77: 173-9.
5. Martinot-Peignoux M, Boyer N, Colombat M, et al: Serum hepatitis B virus DNA levels and liver histology in inactive HBsAg carriers. *J Hepatol* 2002; 36: 543-6.
6. Manesis EK, Papatheodoridis GV, Sevastianos V, et al: Significance of hepatitis B viremia levels determined by a quantitative polymerase chain reaction assay in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B virus infection. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2261-7.
7. Yalçın K, Değertekin H, Alp MN, et al. Determination of serum hepatitis B virus DNA in chronic HBsAg carriers: clinical significance and correlation with serological markers. *Turk J Gastroenterol* 2003; 3: 157-63.
8. Papatheodoridis GV, Hadziyannis SJ. Diagnosis and management of pre-core mutant chronic hepatitis B. *J Virol Hepatol* 2001; 8: 311-21.
9. Manesis EK, Papatheodoridis GV, Hadziyannis SJ. Serum HBV-DNA levels in inactive hepatitis B virus carriers. *Gastroenterology* 2002; 122: 2091-5.
10. Chen CH, Lee CM, Wang JH, Tung HD, Hung CH, Lu SN. Correlation of quantitative assay of hepatitis B surface antigen and HBV DNA levels in asymptomatic hepatitis B virus carriers. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 1213-8.
11. Sayan M, Mutlu B, Erdoğan S, Meriç M, Willke A. İnaktif HBsAg taşıyıcılığı ile HBeAg negatif kronik B hepatiti ayırımında HBsAg düzeyleri yol gösterici olabilir mi? *Mikrobiyol Bült* 2007; 41: 87-93.