

HEPATİT B VİRUS (HBV) MARKERLERİ İLE HBV-DNA İLİŞKİSİ: BURSA BÖLGESİ SONUÇLARI*

Yasemin HEPER**, Reşit MISTIK**, Cüneyt ÖZAKIN**, Okan TÖRE**

ÖZET

Bu çalışmada hepatit B virus (HBV) enfeksiyonunun serolojik markerleri ile HBV-DNA arasındaki ilişki araştırıldı. Bu amaçla 194 olguda HBV markerleri enzim immün assay (EIA), HBV-DNA ise polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çalışıldı. Olguların 40'ında HBsAg, HBeAg ve HBV-DNA negatif iken, HBsAg pozitif olan 154 olgunun 41'inde HBV-DNA pozitifliği saptandı. Bu 41 olgunun % 66'sında HBeAg'de pozitif bulundu. Geriye kalan HBV-DNA negatif 113 olgunun % 8'inde ise yine HBeAg pozitifliği saptandı. Sonuçlarımız serolojik markerlere bakarak viral replikasyonun belirlenemeyeceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Hepatit B, HBV-DNA, hepatit B markerleri.

SUMMARY

THE CORRELATION BETWEEN THE SEROLOGICAL MARKERS OF HEPATITIS B VIRUS (HBV) AND HBV-DNA: RESULTS OF BURSA REGION

In this study, the correlation between the serological markers of HBV infection and HBV-DNA were evaluated. The sera of 194 patients were investigated for the serological markers of HBV by using enzym immunassay (EI) and HBV-DNA by polymerase chain reacton (PCR). HBsAg, HBeAg and HBV-DNA were negative in 40 of these patients. HBV-DNA were positive in 41 of the HBsAg positive 154 patients, and of 66% were seropositive for HBeAg. 8% of the remaining HBV-DNA negative 113 patients, have also been found to be HBeAg positive. Our results show that the use of serological markers alone is unreliable to make a decision for the determination of viral replication.

Key words: Hepatitis B, HBV-DNA, hepatitis B markers

Giriş

Replikatif fazda bir hepatit B virus (HBV) enfeksiyonunun farklı serolojik profilleri olabilir. Son 10 yılda polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi çok duyarlı yöntemin araştırma alanına girmesi, serolojik profiller konusundaki klasik bilgilerimizde önemli değişikliklere yol açmıştır. Bu nedenle bölgemizde HBV-DNA ile HBV enfeksiyonunun serolojik markerleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve olası nedenleri açıklamak amacıyla bu çalışma planlandı.

Gereç ve Yöntem

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı PCR laboratuvarına HBV-DNA istemi ile gelen olguların serumları ayrıldı. Serumlar çalışma gü-

nüne kadar -80°C'da saklandı. HBV markerleri olan HBsAg, anti-HBs, anti-HBcIgG, anti-HBc IgM, HBeAg ve anti-HBe mikro partikül enzim immün assay (axsym-Abbott EIA) ile çalışıldı ve sonuçlar pozitif veya negatif olarak değerlendirildi. PCR için olguların serumundan DNA, fenol-kloroform ekstraksiyon yöntemi ile elde edildi ve HBV-DNA pre-S gen bölgesine ait 22 ve 21 aminoasitlik primer çifti (5'-CAT CTT CTT GTT GGT TCT TCT G-3' ve 5'-TTA GGG TTT AAA TGT ATA CC-3') ile Taq polimeraz (Boehringer-Mannheim) kullanılarak çalışıldı. PCR sonucu oluşan amplifikasyon ürünü etidyum bromid ile boyanan agaroz jel elektroforezde gösterildi.

* III. Viral Hepatit Simpozyumu (7-9 Kasım 1996 Ankara)'nda sunulmuştur.
** Uludağ Ü. Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Görükle-Bursa

Bulgular

Hepatit B markerleri çalışılan 194 olguda PCR ile HBV-DNA bakıldı. HBsAg negatif olan 40 olgunun tümünde HBV-DNA ve HBeAg de negatif bulundu. Bu olguların 11 tanesinde tüm markerler negatif iken, 29 tanesinde HBV ile karşılaşıldığını gösteren anti-HBs, anti-HBe, anti-HBc IgG, anti-HBc IgM'den en az ikisi pozitif idi. Bu olgulardan 2 tanesinde anti-HBc IgM ile birlikte anti-HBc IgG, anti-HBs ve anti-HBe de pozitif bulundu. HBsAg pozitif 154 olgudan 41 tanesinde HBV-DNA pozitif, 113 tanesinde ise HBV-DNA negatif olarak saptandı. HBsAg pozitif olguların HBeAg, anti-HBe ve HBV-DNA profillerine göre dağılımları Tablo 1 ve 2'de görülmektedir.

TABLO 1. HBsAg ve HBV-DNA pozitif olgular (n=41)

Markerler	Olgu Sayısı	Yüzdesi
HBeAg(+), anti-HBe(-)	25	%61
HBeAg(+), anti-HBe(+)	2	%5
HBeAg(-), anti-HBe(+)	13	%32
HBeAg(-), anti-HBe(-)	1	%2

Tablo 1'de görüldüğü gibi HBV-DNA pozitif olan 41 olgudan 25 tanesinde HBeAg pozitif, anti-HBe negatif (%61), 2 tanesinde HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitif (%5), 13 tanesinde HBeAg negatif, anti-HBe pozitif (%32) ve 1 tanesinde de hem HBeAg, hem de anti-HBe negatif (%2) bulunmuştur. Bu grupta toplam olarak HBeAg pozitifliği % 66, HBeAg negatifliği de % 34'dür.

Tablo 2'de görüldüğü gibi HBsAg pozitif olguların içinde, HBV-DNA'nın negatif saptandığı 113 olgunun 95 tanesinde HBeAg negatif ve anti-HBe pozitif (%84), 9 tanesinde hem HBeAg hem de anti-HBe negatif (%8) saptandı, toplam HBeAg negatifliği % 92 bulundu. Bu 113 olgudan HBeAg pozitif, anti-HBe negatif bulunan olgu sayısı 8 (%7) ve hem HBeAg, hem anti-HBe pozitif bulunan olgu sayısı ise 1 (%1) olup, toplam HBeAg pozitifliği ise % 8 olarak saptandı.

Tartışma

HBsAg negatif 40 olguda alışılmışın dışında bir serolojik ve moleküler profil saptanmadı. Anti-HBs, anti-HBe, anti-HBc IgG ve anti-HBc IgM pozitif HBV-DNA negatif 2 olgudaki profil, IgM'in henüz ölçülebilir sınırların altına düşmediği akut viral hepatit B enfeksiyonlarının nekahat dönemlerinde görülmektedir. Literatürde HBsAg negatif olgularda HBV-DNA pozitifliği bildirilmiş de (1,2), çalışmamızda böyle bir olgu saptanmamıştır.

HBsAg pozitif, HBV-DNA negatif olgularımızın % 8'inde HBeAg pozitifliği saptanmıştır. Bu durumun olası açıklamaları

TABLO 2. HBsAg pozitif ve HBV-DNA negatif olgular (n=113)

Markerler	Olgu Sayısı	Yüzdesi
HBeAg(-), anti-HBe(+)	95	%84
HBeAg(-), anti-HBe(-)	9	%8
HBeAg(+), anti-HBe(-)	8	%7
HBeAg(+), anti-HBe(+)	1	%1

şöyle özetlenebilir (3-5):

1. HBV-DNA hepatosit genomuna entegre olabilir ve viral replikasyon olmaksızın HBsAg ve HBeAg sentezi sürebilir.
2. Akut viral hepatit B'nin nekahat döneminde viral replikasyon durmuş, ancak HBeAg serumdan henüz temizlenememiş olabilir. Serumda HBeAg'i lipoproteinler gibi bazı makromoleküllere bağlanabilir ve eliminasyonları da gecikebilir.
3. Kronik hepatit B'nin doğal seyri sırasında olarak zaman zaman veya interferon-alfa tedavisi sırasında viral replikasyon geçici olarak durabilir. HBV-DNA pozitif olguların % 32'sinde HBeAg negatif, ancak anti-HBe pozitif saptandı. Bu durumun olası nedenleri şöyle özetlenebilir (6-9):

1. Viral genomun 1896. nükleotidinde oluşan nokta mutasyon (prekor mutasyonu) ile HBeAg sentezi durur, serumdan HBeAg kaybolur, ancak viral replikasyon sürer.
2. Serumda bulunan inaktif, degrade DNA parçacıklarının da amplifiye edilerek PCR'da HBV-DNA pozitif sonuç verebileceğini, bu nedenle de saptanan HBV-DNA molekülünün mutlaka aktif replikasyon göstergesi olmak zorunda olmadığını gösteren çalışmalar vardır. HBsAg ve HBV-DNA pozitif olgularımızın % 5'inde olduğu gibi, HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitif saptanabilir. Bu durumun olası açıklamaları ise (6,10-12):

1. Vahşi ve mutant virusla mikst enfeksiyonlar.
2. HBeAg-anti-HBe immun komplekslerinin test koşullarında dissosiyasyon olarak ayrı ayrı saptanması.
3. Akut viral hepatit B'de kısa süreli de olsa HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitif saptanması şeklinde sıralanabilir. HBV-DNA pozitif, ancak hem HBeAg hem de anti-HBe'nin negatif bulunduğu bir profil (çalışmamızda % 2), kişinin doğrudan prekor mutant bir virusla enfekte olması durumunda görülebilir.

Sonuç olarak, duyarlılıkları her gün artan yeni laboratuvar teknikleri bazen yorum güçlüğüne neden olabilmekte, bir yandan da hepatit B enfeksiyonlarında HBeAg'nin replikasyon kriteri olarak görülmesi gibi, klasik kabul edilen bazı bilgilerin değişmesine yol açmaktadır. HBV-DNA negatif ve HBeAg pozitif olgularımız (%8) ile tersine, HBV-DNA pozitif ancak HBeAg negatif olgularımız (%34), HBeAg'nin replikasyon kriteri sayılmayacağını gösteren diğer çalışmaları desteklemektedir. Bu sonuçlar, serolojik profillere bakarak replikasyonun belirlenemeyeceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Thiers V, Nakajima E, Kremsdorf D et al: Transmission of hepatitis B from hepatitis B seronegative subjects. *Lancet*, 1988, 2: 1273-1276.
2. Lai ME, Farci P, Figus A, Balestrieri A, Arnone M, Vyas GN: Hepatitis B virus DNA in the serum of Sardinian blood donors negative for the hepatitis B surface antigene. *Blood*, 1989, 73: 17-19.
3. Bilgiç A, Erensoy S: Viral hepatitlerde alışıl gelmişin dışında serolojik profiller. III. Ulusal Viral Hepatit Sempozyumu'nda atölye çalışması. *Viral Hepatit Derg*, 1998, 1: 63-68.
4. Scott JS, Pan PE, Pace RA, Sloots TP, Cooksley WG: The absence of hepatitis B virus DNA in hepatitis e antigene positive sera from chronic hepatitis B surface carriers in China. *J Med Virol*, 1990, 30: 103-106.
5. Scott JS, Pace RA, Sheridan JW, Cooksley WG: Discordance of hepatitis B e antigene and hepatitis B viral deoxyribonucleic acid. *J Med Virol*, 1990, 32: 225-231.
6. Kılıçturgay K: Hepatit B virusunda (HBV) mutasyon ve getirdiği sorunlar. *Viral Hepatit Derg*, 1995, 1: 1-7.
7. Lazizi Y, Grangeot-Keros L, Delfraissy JL et al: Reappearance of hepatitis B virus in immun patients infected with the human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis*, 1998, 158: 666-667.
8. Kurt H. HBV enfeksiyonu-klinik bulgular, "Kılıçturgay K (ed), *Viral Hepatit'98 1. Baskı*" kitabında s 101-106, 1998, Viral Hepatitle Savaşım Derneği, İstanbul.
9. Fukuda R, Thanh NX, Shimura N et al: X gene and precore region mutations in the hepatitis B virus genome in persons positive for antibody to hepatitis B e antigene: Comparison between asymptomatic "healthy" carriers and patients with severe chronic active hepatitis. *J Infect Dis*, 1995, 172: 1191-1197.
10. Okamoto H, Yotsumoto S, Akahane Y et al: Hepatitis B viruses with precore region defects prevail in persistently infected hosts along with seroconversion to the antibody against e antigen. *J Virol*, 1990, 64: 1298-1303.
11. Sällberg M, Norden H, Lindh G, Magnus LO: IgG subclasses in circulating immun complexes with hepatitis B a antigen in chronic hepatitis B. *Clin Exp Immunol*, 1991, 84: 116-121.
12. Maruyama T, Iino S, Koike K, Yasuda K, Milich DR: Serology of acute exacerbation in chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*, 1993, 105: 1141-1151.