



T.C.  
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALILARI ANABİLİM DALI

**HEPATİT B VİRÜSÜ İLE KARŞILAŞMIŞ TİP 2 DİYABETES  
MELLİTUSLU HASTALARDA GİZLİ HEPATİT B VİRUS  
ENFEKSİYON SIKLIĞI**

**Dr. Mehmet DEMİR**

GASTROENTEROLOJİ YAN DAL  
UZMANLIK TEZİ

**Tez Danışmanı; Doç. Dr. Ender SERİN**

ANKARA  
2006

## TEŞEKKÜR

Gastroenteroloji yan dal uzmanlık eğitimimi en iyi Őekilde tamamlamıő olmamı sağlamak ićin yapmıő oldukları ćok değerli katkılarından dolayı baőtta Baőtent Üniversitesi Rektörü Sayın Prof. Dr. Mehmet Haberal olmak üzere, Baőtent Üniversitesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Faik Sarıalioğlu'na, Dahili Tıp Bilimleri Baőtkanı Prof. Dr. Haldun Müderrisođlu'na, İć Hastalıkları Ana Bilim Dalı Baőtkanı Prof. Dr. Nurhan Özdemir'e Őükranlarımı sunarım.

Üć yıllık Gastroenteroloji Yan Dal Uzmanlık eđitimim süresince, yüksek bilgi ve engin tecrübesi ile bundan sonraki meslekî ve günlük yaőantımın Őekillenmesinde büyük rolü olan Baőtent Üniversitesi Gastroenteroloji Bilim Dalı Baőtkanı Sayın Prof. Dr. Uđur Yılmaz baőtta olmak üzere Doć Dr. Gürden Gür, Doć Dr. Birol Özer, Yrd. Doć Dr Didem Akkaya, Yrd. Doć Dr. Haldun Selćuk'a en derin saygı ve teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca kısa bir dönem kendisinin bilgi ve tecübesinden yararlanabildiđim Prof. Dr. Sedat Boyacıođlu'na derin saygı ve teőekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aőamasında ve eğitimimde büyük emeği olan tez danıőmanım Sayın Doć Dr. Ender Serin'e teőekkürlerimi sunarım. Tezime yaptıkları katkıdan ötürü Baőtent Üniversitesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Baőtkanı Sayın Prof. Dr. Suna Türkođlu'na, Baőtent Üniversitesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Baőtkanı Prof. Dr. Hande Arslan'a ve üć yıl boyunca aynı zorlukları paylaőtığımız baőtta Dr. Nevin Akćaer Öztürk, Dr. Savaő Göktürk, Dr. Gülhan Ünler olmak üzere tüm arkadaőlarıma, sevgi ve desteğini hep yanımda hissettiğim eőim Rahime'ye teőekkür ederim.

**Dr. Mehmet DEMİR**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
	No
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar DİZİNİ	iii
1.GİRİŞ	1
2.AMAÇ	3
3.GENEL BİLGİLER	4
3.A. HEPATİT B VİRÜS ENFEKSİYONU	4
3.A.1.Epidemiyolojisi	4
3.A.2.Virolojik Özellikleri	5
3.A.3.Gizli hepatit B enfeksiyonu	6
3. B. TİP 2 DİABETES MELLİTUS	14
4.MATERYAL VE METOD	19
5.BULGULAR	23
6.TARTIŞMA	30
7.SONUÇ	35
8.ÖZET	36
9.KAYNAKLAR	40

## TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Şekil 4.1 Çalışmaya alınan hastaların seçiminin şematik görünümü</b> .....	25
<b>Tablo 3.1 Gizli hepatit B için riskli gruplar</b> .....	26
<b>Tablo 5.1. Tip 2 Diabetes mellitus'lu hastalar ile kontrol grubunun genel özellikleri</b> .....	26
<b>Tablo 5.2 Tip 2 diabetes mellitus ve kontrol grubunda HBV DNA pozitif saptananların demografik ve klinik özellikleri, ALT ve HBV DNA düzeyleri</b> .....	27
<b>Tablo 5.3 Çalışma gruplarında alanin amino transferaz düzeyleri ve HBV DNA pozitifliğinin dağılımı</b> .....	28
<b>Tablo 5.4 HBV DNA pozitifliği saptanan Tip 2 DM'lu hastaların, HBV DNA pozitifliği saptanan kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri</b> .....	28
<b>Tablo 5.5 Tip 2 DM'lu hastalarda HBV DNA pozitifliğine göre demografik ve klinik özelliklerin dağılımı</b> .....	29

## 1. GİRİŞ

Gizli hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) negatif bireylerde hassas tekniklerle kan veya dokuda HBV DNA'nın bulunması olarak tanımlanmıştır (1). Gizli HBV'nin, hepatit B enfeksiyonunun biyolojik ve klinik spektrumundaki yeri tam olarak bilinmemektedir. Ama etyolojisi tanımlanmamış kronik hepatitlerde ve hepatoselüler kanserde HBsAg ve HCV antikoru negatif olmasına karşın %13-71 oranında karaciğer dokusunda HBV enfeksiyonu gösterilmiştir (1). HBsAg taramaları ile enfeksiyöz kan vericilerinin elimine edilmesine rağmen HBV bulaşının kan transfüzyonu sonrasında olabileceği bildirilmiştir (2). Bu vakaların en azından bir kısmından gizli HBV enfeksiyonun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Günümüzde gizli HBV enfeksiyonun halk sağlığı açısından klinik önemi, HBV'nin bulaşına neden olmasıdır (3). Gizli HBV enfeksiyonu için risk gruplarının belirlenmesi, HBV bulaşının önlenmesi açısından önemlidir.

Gizli HBV enfeksiyonu iyi gösterilmiş bir klinik durum olmasına karşın mekanizması tartışmalıdır. HBV enfeksiyonun seyri konak immün cevabı ile viral replikasyon oranının dengesine bağlıdır. HBV proteinlerine karşı gelişen yeterli immün cevap ile virüs klirensi olurken, yetersiz immün cevap virüsün kalıcı olmasına neden olur (4). Teorik olarak konak immün cevabının azalması gizli HBV enfeksiyonun gelişimini kolaylaştırır. İmmün sistemi baskılanmış HBsAg (-) kanserli hastalarda HBV-DNA (+)'liği %11,6 olarak bildirilmiştir (5). Ayrıca son dönemlerde gizli HBV enfeksiyonunun, edinilmiş immün yetmezlik sendromuna (HIV'lü hastalar) sahip hastalarda daha sık olduğunu bildiren çalışmalar yayınlanmıştır (6,7). Tip 2 diyabetes mellitus (DM)'lu hastalarda görülen immün sistem anormallikleri nedeniyle enfeksiyonlara yatkınlık bilinmektedir (8,9). Dolayısı ile bu bulgular DM hastalarında gizli HBV enfeksiyonun daha fazla olabileceğini düşündürmektedir. Ek olarak DM'lu hastalarda hepatoselüler kanser (HSK) görülme riskinin arttığı gösterilmiş ve bunun DM'a eşlik eden non-alkolik steatohepatite bağlı olabileceği

düşünülmüştür (10,11). DM'lu hastalarda artmış gizli hepatit B sıklığının daha sık HSK görülmesine katkıda bulunabileceği akla yatkın gelmektedir. Fakat literatürde diyabetik hastalarda gizli HBV enfeksiyon sıklığı ile ilgili veri bulunmamaktadır.

## 2. AMAÇ

Hepatit B virüsü ile karşılaşmış (HBsAg -, antiHBc IgG + ve/veya antiHBsAg +) tip 2 DM'lu hastalarda gizli HBV enfeksiyon sıklığını araştırmaktır.

### 3. GENEL BİLGİLER

#### 3.A. HEPATİT B VİRÜS ENFEKSİYONU

##### 3.A.1 Epidemiyolojisi

Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonları tüm dünyada ve ülkemizde en önemli toplum sağlığı problemlerinden biridir. Tüm dünyada yaklaşık 400 milyon kişinin bu virüsü taşıdığı tahmin edilmektedir (12,13). Hepatit B enfeksiyonuna bağlı ölüm tüm dünyadaki ölüm nedenlerinin arasında onuncudur (14,15). Her yıl bir milyondan fazla insan HBV enfeksiyonunun neden olduğu karaciğer hastalıklarından dolayı ölmektedir. Ülkemizde HBV enfeksiyonu önemli bir sağlık sorunu olarak gündemdeki yerini korumaktadır. 1980'den günümüze kadar ülkemizde 7 milyona yakın sağlıklı kişide yapılan HBsAg taşıyıcılık çalışmaları 80'li yıllarda % 6,8 olan taşıyıcılık oranının 90'lı yıllarda % 5,85'e indiğini göstermektedir ve bu azalış 2000'li yıllarda da devam etmektedir (16). HBV'nin dünya üzerindeki sıklığı ülkelerin gelişmişlik düzeyi ile ilgili özellikler göstermektedir. Kıtalar, ülkeler ve hatta bölgeler arasında farklılıklar vardır. Dünyada, enfeksiyon alınma yaşı ve sık görülen bulaş yoluna göre yüksek (% 8-15 arası olan toplumlar), orta (sıklığı %3-7 arası olan toplumlar) ve düşük (% 2'den az olan toplumlar) derecede olmak üzere 3 farklı endemite bölgesi bulunmaktadır. Ülkemiz Güney Avrupa, İtalya, Yunanistan gibi orta derecede endemite bölgesi (sıklığı % 3-7 arası olan toplumlar) içerisindedir ve yaklaşık olarak 3-4 milyon kişinin hepatit B virüsünü taşıdığı tahmin edilmektedir (17).

Hepatit B virüsü akut ve kronik hepatit, fulminan hepatit, asemptomatik taşıyıcılık, karaciğer sirozu ve HSK'ya neden olur. Hepatit B enfeksiyonu sıklığı coğrafi bölge ve toplumun özelliklerine göre farklılıklar gösterir (18,19). Hepatit B ile enfekte hastaların yaklaşık % 45'i Afrika, Pasifik ülkeleri ve Asya'dadır.

Hepatit B virüsü kan ve tüm vücut sekresyonlarında (tükürük, semen, vajinal sekresyon, idrar, göz yaşı, anne sütü) bulunur. Endemik bölgelerde, HBV



enfeksiyonu ile en sık perinatal veya çocukluk döneminde karşılaşılır (20,21). Ayrıca parenteral ilaç kullanımı, kan transfüzyonu almak, korunmasız seksüel aktivite, kontamine cerrahi aletler, enfekte donör organ nakli yolları ile HBV enfeksiyonu bulaşma riski vardır.

Gelişmiş ülkelerde kan transfüzyonu yoluyla geçiş, HBV antijen taramaları sayesinde dramatik biçimde düşmüştür.

### **3.A.2. Virolojik Özellikleri**

Hepatit B virüsü hepadnaviridae ailesinden bir virüstür ve doğal kaynağı insandır. Bu virüs temel olarak hepatotropik bir virüstür. Hepatit B virüsü 3,2 kilobaz uzunluğunda, küçük çift sarmallı bir DNA virüsüdür.

Hepatit B virüs enfeksiyonu perinatal ve çocukluk döneminde subklinik veya anikterik bir seyir gösterir ve oldukça yüksek kronikleşme riski taşır. Kronikleşme oranı % 70-90 arasında değişmektedir. Erişkinlerde ise bu risk oldukça düşük olup, yaklaşık % 5 civarındadır. Kronik HBV hepatitinin doğal seyrinde üç klinik tablo söz konusudur

1. HBeAg (+) kronik hepatit; klinik ve histopatolojik kronik hepatit bulguları ile birlikte serolojik olarak HBsAg (+)'liği, HBeAg (+)'liği ve serum HBV-DNA'sının 100.000 kopya/ml'den fazla olması ile karakterizedir.

2. HBeAg (-) kronik hepatit; klinik ve histopatolojik kronik hepatit bulguları ile birlikte serolojik olarak HBsAg (+)'liği, HBeAg (-)'liği ve serum HBV DNA'sının 100.000 kopya/ml'den fazla olması ile karakterizedir.

3. İnaktif HBsAg taşıyıcılığı; klinik ve histopatolojik bulguların normal olmasına rağmen, HBsAg'nin 6 aydan fazla, devamlı pozitif olması ile karakterizedir. HBeAg (-) ve Anti-HBe (+) olup, HBV DNA; PCR yöntemi ile negatif veya çok düşük düzeylerde saptanır.

### 3.A.3. Gizli hepatit B enfeksiyonu

HBsAg negatif kişilerde serum örnekleri veya karaciğer dokusunda HBV DNA'nın tespit edilmesi olarak tanımlanır. Duyarlılıkları hibridizasyon yöntemine göre daha yüksek olan polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) geliştirilmesi gizli hepatit B enfeksiyon tanımlamasını sağlamıştır. Çoğunluğunda HBV DNA düzeyleri  $10^4$  kopya /ml (tipik  $10^1$ - $10^3$  kopya /ml arasında)'nin altındadır (22).

Daha önceleri HBsAg (-) hastalar enfeksiyonu geçirmiş veya iyileşmiş olarak değerlendirilirdi. Konakçının immün cevabı yeterince güçlü ise virüs çoğalmasını tamamen baskılayarak tespit edilemeyecek seviyelere indirebilmektedir. Ancak immün cevabı yeterince güçlü değilse hibridizasyon yöntemleri ile tespit edilemeyecek fakat PCR yöntemi ile ölçülebilecek düzeyde HBV DNA kalmakta ve gizli hepatit B adını almaktadır (1). Bununla ilişkili olarak daha önce iyileşmiş ama sonrasında immünsüprese olanlarda tekrarlayan (rekürren) HBV enfeksiyonu tanımlanmıştır (23).

Yapılan çalışmalarda gizli viral B hepatitin bazı hasta gruplarında daha sık olduğu bulunmuştur (1) (Tablo 3.2).

*Gizli hepatit B prevalansı* coğrafik değişkenlik ve kullanılan PCR yöntemlerinin farklı olması nedeni ile tam bilinmemektedir. Çok uluslu bir çalışmada çeşitli nedenlerle (alkolik hepatit, kronik idiyopatik hepatit, HSK gibi) karaciğer biyopsisi yapılmış HBsAg (-) hastaların parafin blokları incelenmiş olup, bunların karaciğer dokusunda nested PCR yöntemiyle gizli hepatit B prevalansı İtalya'da % 11, Hong Kong'ta % 6,9, İngiltere'de % 0 bulunmuştur (24). Bizim merkezimizde serum HBsAg (-), AntiHBc (+), HBV DNA (-) 12 karaciğer transplantasyon donöründen sadece birinin (% 8,3) karaciğer dokusunda nested PCR ile HBV DNA bulunmuştur (25). HBV DNA tespiti için farklı yöntemlerin kullanılması, toplumdaki HBV risk faktörlerinin farklı olması nedeniyle prevalans çalışmalarının birbiriyle karşılaştırılması zordur. İlk topluma dayalı çalışma Kuzey Amerika'dan Kanada'da yapılmıştır. Daha önce hepatit B geçirenlerde gizli hepatit B prevalansı %18 iken, seronegatif (tüm HBV belirteçleri negatif) olanlarda % 8,1 olarak bulunmuştur (26). Yaş, cinsiyet ve karaciğer biyokimyasal testlerinin gizli hepatit B'yi tespit etmede

yararsız olduğu gösterilmiştir. Gizli hepatiti olanların büyük çoğunluğunda S varyantı bulunmuştur.

Gizli hepatit B'si olanların %35'inde antiHBs (+), %42'sinde antiHBc(+), %22'sinde hem antiHBs hem de antiHBc (-) bulunmuştur (2). Hepatit B'nin risk faktörlerine bağımlı olarak özel gruplarda değişik prevalanslar bulunmuştur. Bunlara karşın antiHBc (+) olanlarda, negatif olanlara göre gizli hepatit B prevalansı daha yüksektir (27,28). Gizli hepatit B'si olanlarda olmayanlara göre antiHBs, antiHBc, antiHBe antikor titrelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (28).

Kronik HCV enfeksiyonu olan hastalarda, genel populasyonun HBV prevalansıya açıklanamayacak şekilde, HBV antikor prevalansının arttığı çalışmalarda gösterilmiştir (29). ‘İzole antiHBc’ durumu, diğer HBV belirteçlerin bulunmayıp sadece antiHBc (+)'liği olarak tanımlanır. AntiHCV (+)'lerde % 10 oranında antiHBc ve antiHBs (+) iken, % 49'unda izole antiHBc (+)'liği bulunmuştur (30). İzole antiHBc (+)'lerin yarısından fazlasında HBV DNA pozitifliği görüldüğünden, gizli hepatit B'nin önemli göstergesi olarak düşünölmüştür. İzole antiHBc'nin varlığı HBV DNA (-) olsa bile bazı çalışmalarda gizli hepatit B'nin göstergesi olarak kullanılmıştır (31).

Verilerin standardizasyon yokluğundan dolayı HBV DNA tespitinde kullanılan yöntemlerin direkt karşılaştırılması mümkün değildir. Gizli hepatit B'de serum DNA titresi sıklıkla birçok kantitatif yöntemlerle tespit edilebilir düzeyin altındadır. Nested PCR, Real time PCR, nükleik asit amplifikasyon (NAT) testi en sık kullanılan duyarlılıkları diğer yöntemlere göre daha fazla olan yöntemlerdir. Duyarlı PCR yöntemlerinde, non-HBV DNA hedeflerinin çoğaltılması veya kontaminasyon nedeniyle yanlış pozitiflik riski bulunabilmektedir. Birden fazla genomik (S,X geni) segmentin çoğaltılması, işaretlenmiş DNA problemlerinin hibridizasyonu veya ampikonların dizilimi ile spesifite artırılabilir, kontaminasyon engellenmiş olur (26). S gen mutasyonu olan hastalarda olmayanlara göre serum HBV DNA titreleri daha yüksek bulunmuştur (32).

Periferik kan hücrelerinde olduğu gibi, ekstrahepatik dokularda da düşük düzeyde HBV çoğalması olabilmektedir (33). Gizli hepatit B'de serum HBV

DNA'nın tespiti, ekstrahepatik replikasyon ihtimalini yükseltmektedir. Serum HBV DNA'sı olanlarda mutlaka karaciğer dokusunda DNA görülmekte iken, karaciğerde HBV DNA yok ise, serumda tespit edilememektedir (34). HBV DNA'nın konsantrasyonu seruma göre karaciğerde daha yüksek olmaktadır. Serumdaki HBV DNA, sadece sitoplazmik veya entegre DNA'nın normal hepatosit döngüsü sırasında salınmasından kaynaklanmamaktadır. Çünkü karaciğer ve serumdaki DNA moleküllerinin yapısı farklıdır. Karaciğerde gösterilen DNA kapalı sirküler tarzda iken, serumdaki tipik enfeksiyöz virondakine benzer kesilmiş halka şeklindedir (27).

*Gizli HBV enfeksiyonu oluşum mekanizması tartışmalıdır (35). Bu konuda birçok mekanizma öne sürülmüştür;*

1. S Bölgesinde mutasyon: Pre S/S bölgelerindeki herhangi bir mutasyon HBsAg antijenitesini veya üretimini etkileyebilir. Bazı gizli HBV enfeksiyonlu hastalarda belli pre S/S mutasyonları (aminoasid [aa] 124-147, aa 98-156) gösterilmiştir (36,37). Tek bir mutasyon tanımlanmamasına rağmen, aynı bölgedeki mutasyonların sıklığının artması en azından bazı hastalarda patogeneze sorumlu olabilir (37).
2. Genoma integrasyon: Gizli HBV enfeksiyonu tespit edilen hastalarda genoma entegre veya serbest epizomal HBV DNA molekülleri gösterilmiştir (38). HBV DNA entegrasyonu virüs DNA zincirinin yeniden düzenlenmesine neden olabilir. Sonuç olarak HBsAg ekspresyonu azalabilir veya durabilir. Gizli HBV enfeksiyonu olan HSK'lilerde HBV entegrasyon sıklığı fazla bulunmuştur (39).
3. Periferik kandaki mononükleer hücrelerde (PKMH) HBV enfeksiyonu: Akut ve kronik HBV enfeksiyonu sırasında PKMH'de HBV DNA sıktır (39). HBV'ye bağlı karaciğer hastalığı nedeni ile karaciğer nakli olan hastalarda yüksek doz hiperimmünglobulin verilmesi serumda HBsAg'nin ve karaciğerde HBV DNA'nın negatif kalmasını sağlar, bununla birlikte bu hastalarda PKMH'de HBV DNA varlığı gösterilmiştir (40). Bu durum karaciğer nakli sonrasında nüks HBV enfeksiyonlarından sorumlu olabilir.
4. HBV içeren immün kompleksler: Akut HBV enfeksiyonu ardından antiHBs oluşsa bile, kanda immünglobulin ile kompleks halinde HBV partiküllerinin

varlığı devam edebilir (20). HBV içeren immükomplekslerin nasıl devamlılığını sürdürdüğü belli

değildir (29). Kronik HBV enfeksiyonu sonrasında HBsAg negatifleşip HBV DNA PCR ile pozitif saptanan gizli HBV enfeksiyonlu hastaların serumlarında ise HBV içeren immun kompleksler bulunmamıştır (29).

5. Konak immun cevabı: HBV enfeksiyonunun seyri, konak immun cevabı ile viral replikasyon oranının dengesine bağlıdır. Virus eliminasyonunda hem hücresel, hemde hümorale faktörler rol oynar. HBV proteinlerine karşı gelişen multispesifik yeterli T hücre cevabı ile virüs klirensi olurken, yetersiz immün cevap, virüsün kalıcı olmasına neden olur (41). Teorik olarak konak immun cevabın azalması gizli HBV enfeksiyonu gelişimini kolaylaştırır. Karaciğer nakli sonrasında immunsupresyon ile HBV enfeksiyonunun nüks etmesi buna bir örnektir. Ayrıca kronik C hepatitli hemodiyaliz hastalarında da gizli HBV enfeksiyonu oranı (%36,4) yüksektir (41).
6. Koenfeksiyon: Kronik C hepatitli hastalarda gizli HBV enfeksiyonu sıktır. Kronik HBV ve HCV koenfeksiyonunda HBV DNA düzeyi düşük olma eğilimindedir ve önemli oranda HBsAg klirensi gerçekleşir (42). Çalışmalar HCV 'core' proteininin HBV replikasyonunu engellediğini göstermiştir (42).
7. Diğer olası mekanizmalar: Nükleotid dizi analizlerine göre HBV'nin A'dan F'ye kadar 6 farklı genotipi tespit edilmiştir (41). Genotip hastalık aktivitesini, prognozunu ve tedaviye cevabı etkilemektedir. Gizli HBV enfeksiyonlu hastaların %61'i genotip D'dir. Buna karşılık HBsAg (+) hastaların %53'ü genotip A'dır (36). Bu sonuçlarda gizli HBV enfeksiyonu gelişiminde genotipinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Türkiye'deki HBV virus genotipi D'dir, diğer tipler nadir olarak görülmektedir (36).

*Gizli Hepatit B'nin klinik önemi* halen aydınlığa tam olarak kavuşmamıştır. Çalışmalarda kronik HCV enfeksiyonunda, gizli hepatit B varlığında ilerlemiş fibrozis, siroz daha sık, çeşitli tedavi çalışmalarında interferon tedavisine daha kötü yanıt olduğu gösterilmiştir (1). Gizli hepatit B'si olan kronik C hepatitli hastalarda daha yüksek oranda HSK geliştiği görülmüştür (1). Gizli hepatit B ile koenfekte

HCV hastalarında klinik ve histolojik izlem bilgileri sınırlı olsa da, birçok çalışmada HBV replikasyon miktarındaki artış, çok sayıda alanin aminotransferaz (ALT) alevlenmesine neden olduğu gösterilmiştir. Bu hastalarda ALT düzeyleri hafif yüksek ve düzeyleri 38-158 IU/ml arasında değişmektedir (43). Bu düzeyler sadece HCV ile enfekte olan hastalarla benzer yada hafif daha yüksektir (28,43). Genellikle hafif yüksek olan ALT düzeyleri biyopsideki inflamatuvar aktivite ile ilişkilidir (44). Hafif inflamasyonun aksine, gizli hepatit B olan HCV'li hastalarda ilerlemiş fibrozis ve siroz prevalansının arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (29,31,34,44). İki yüz yirmi hasta ile yapılan bir çalışmada gizli hepatit B saptanan HCV'lilerin % 33'ünde, olmayanların % 19'unda siroz bulunmuştur (44). Multivaryant analiz yapıldığında diğer faktörlerden bağımsız olarak, hepatit B ile karşılaşmak, interferon  $\alpha$ 'ya cevap oranını azaltmaktadır (29). İnterferon  $\alpha$ 'ya cevap sadece HCV'nin genotipi ile açıklanamaz, çünkü birçok çalışmada ilişki bulunmamıştır (28,29,43). Buna karşın, genotip Ib HCV'de gizli hepatit B prevalansı daha yüksek bulunmuştur (45). İnterferon  $\alpha$ 'ya yanıtı azaltan mekanizma net bilinmese de, gizli hepatit B'de interferon reseptörünün mRNA ve proteinin intrahepatik üretimini azaldığı gösterilmiştir (45). Antiviral etkinliğin karmaşık ve çok faktörlü olmasından dolayı gizli hepatit B'nin antiviral tedaviye cevabı etkilemesiyle ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. HCV RNA düzeyi ile gizli hepatit B arasındaki ilişki net değildir. Bazı çalışmalar yüksek (44) derken bazıları fark bulamamıştır (28,34).

Yapılan çalışmalarda gizli hepatit B prevalansı HSK'li hastalarda % 5-56 arasında bulunmuştur (21,46). Kronik HBV enfeksiyonunun HSK gelişimini HBeAg (+) ve yüksek düzeyde HBV DNA varlığında yaklaşık 60 kat arttırdığı bilinmektedir. Fakat gizli hepatit B enfeksiyonu için henüz net bir bilgi mevcut değildir (21). Fakat antiHBs (+) hastalarda bile HSK riski olduğu bildirilmiştir (47). Epidemiyolojik çalışmalarda kronik HCV'li, HBV ile koenfekte hastalarda HSK gelişimi arasında güçlü ilişkiler ortaya konmuştur. Bu ilişki HBV enfeksiyonu geçirmiş olsa da devam etmektedir (48,49). Bu ilişkiyi destekleyen bir çalışmada HCV ile enfekte HSK gelişen hastaların neoplastik ve komşu nonneoplastik karaciğer hücrelerinde gösterilebilir düzeyde HBV DNA ve proteinlerinin varlığıdır (50,51). HSK'i olan, HBsAg (-) kronik HCV'li hastaların %32'sinin serumunda HBV DNA bulunmaktadır (52). HBV'nin tümör gelişimi ile ilişkisinde birçok mekanizma

bulunmaktadır. Bunlar hücre sinyal yollarının, DNA tamir mekanizmalarının ve apoptotik yolların bozulmasıdır (53). Fibrojeniz ve neoplastik ilişkili TGF- $\beta$  sinyal yolunun bozulması bunlara sadece bir örnektir (54). HSK gelişiminde rol oynayan birçok sinyal yolunu HBV X gen ürünleri güçlü olarak aktive etmektedir (55). Gerçekte gizli hepatit B'de gelişen tüm vakalarda olmasa da, bazılarında klonal HBV DNA'nın entegre olduğu ve sıklıkla viral X gen ürettiği gösterilmiştir (56).

Gizli hepatit B enfeksiyonunun klinik ve biyolojik olarak önemi net olarak bilinmemektedir. Nedeni bilinmeyen kronik hepatitli ve HSK'li hastalarda gizli hepatit B enfeksiyonu saptandığından dolayı, karaciğer hastalığına neden olduğu aşıkardır. Fakat gizli hepatit B'li hastaların büyük bir çoğunluğu asemptomatik olup genellikle tarama sırasında tespit edilirler. AntiHBs (+) gizli hepatit B'li hastaların hepsinin normal serum ALT ve AST düzeyine sahip olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (57). Yapılan bir çalışmada 20 tane antiHBs ve antiHBc (+)'liği olan gizli viral B hepatitli kan vericisi hastada yapılan tetkikler sonucu biyolojik ve histopatolojik olarak karaciğer hastalığı saptanmamıştır (59). Başka bir çalışmada 19 tane gizli hepatitli hastanın serum ALT ve AST değerleri normal olarak bulunmuştur (59). Yapılan bir diğer çalışmada 1000 adet serum ALT yüksekliği nedeni ile araştırılan hastaların 19'unda gizli hepatit B tespit edilmiştir (60).

İmmunosupresif ilaçlar immun sistemi baskılayarak viral replikasyonun artmasına ve hastalığın ilerlemesine neden olurlar. İmmunosupresif hastalarda gizli HBV enfeksiyonunun reaktif olduğu ve karaciğer hasarına, hatta karaciğer yetmezliğine neden olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (61, 62). Bir çalışmada HBsAg (-) kanserli hastalarda HBV DNA (+)'liği %11,6 olarak bulunmuştur (57). AntiHBc (+) vericilerden organ nakli yapılan hastalarda gizli viral B hepatit geliştiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (2). Organ nakli sırasında, vericideki gizli HBV enfeksiyonu, alıcıya HBV enfeksiyonunu bulaştırabilir (58). Vericilerden gizli HBV enfeksiyonu alma riski %25-94 arasında değişmektedir (55).

Kriptojenik karaciğer hastalıklarında gizli HBV prevalansı coğrafik bölgeye göre değişkenlik göstermektedir. Hindistan'da yapılan bir çalışmada HBV ve HCV açısından serolojik belirteçleri negatif olan kronik hepatitli hastalarda PCR ile

bakılan HBV DNA (+)'lik saptama oranı %10,8 olarak bulunmuştur (5). Diğer bir çalışmada 50 kriptojenik hepatitli hastanın 15'inde (% 30) gizli HBV enfeksiyonu saptanmıştır (44). Bu hastaların %53'ünün karaciğer biyopsilerinde şiddetli fibrozis veya siroz geliştiği görülmüştür

The Food Drug Administration (FDA) tarafından nested PCR onaylanmadığından, gizli hepatit B taraması sadece geniş olarak çalışma bazında yapılmaktadır. Kimlerin gizli hepatit B için taranmasına dair kılavuz bulunmamaktadır. Bazıları tedavi ile HCV RNA'sı temizlenmiş HCV ile enfekte hastaların taranmasını önermektedir. Birçok otorün hemfikir olduğu; gizli hepatit B taramasının önerildiği durumlar;

1. Kanser nedeniyle kemoterapi alan veya başka bir nedenle immünsüprese, HBV enfeksiyonu için risk faktörü taşıyan hastalar taranmalıdır. Çünkü bu durumlarda gizli hepatit B alevlenmesi tanımlanmış ve antiviral ilaçlar ile başarıyla tedavi edilmişlerdir.
2. Yağlı karaciğer, ilaçlar, toksinler gibi diğer hepatik nedenlerle açıklanamayan ALT yüksekliği veya kriptojenik sirozu olan hastalar taranmalıdır.
3. Solid organ donörü veya HBV aşılması yapılacaklar gibi klinik kararı etkileyecebileceği düşünülen izole antiHBc(+) olanlarda gizli hepatit B yönünden taranmalıdır.

*Gizli hepatit B'nin bulaştırıcılığı* diğer viral enfeksiyonlarda olduğu gibi, 2 ana faktöre bağlıdır; enfeksiyöz doz ve konakçının immün sistemi. Kan ve kan ürünlerinin transfüzyonla verildiği göz önüne alındığında herhangi bir miktarda HBV DNA'nın varlığı kişiyi enfekte edebilir. Rutin yapılan HBsAg taramaları ile HBV enfeksiyonu bulaşma riski 1/63.000'dir (65). Gizli HBV enfeksiyonunun buna katkısı olduğu düşünülmektedir. Bazı ülkelerde HBV prevalansı düşük olduğundan, istatistiksel başarı sağlamak için çok geniş kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu da maliyeti çok yükseltmektedir. İngilterede 20.000 kan ünitesinde, alıcı verici prospektif olarak izlenmiş, hiçbirinde HBV bulaşı görülmemiştir (66). AntiHBc ile antiHBs bulunduran kan ürünlerinde HBV bulaşı



görülmemektedir (67). Mosley ve arkadaşları çalışmalarında, antiHBs düzeyi ile bulaştırıcılık arasında ters ilişkiyi göstermiş olup , sadece düşük antiHBs olan kan ürünlerinin % 10 oranında bulaştırıcı olduğu saptanmıştır. HBV DNA açısından bazı örnekler test edilmiş, buna karşın tespit edilebilir HBV DNA varlığı ile enfektivite arasında bir ilişki bulunmamıştır (67).

İmmün yetmezliği olan veya immünsuprese alıcılarda antiHBc(+) kan ürünlerinin enfektivitesi çalışılmamıştır. Kısmen karaciğer transplantasyonu organ vericilerinden elde edilmiş bilgiler bulunmaktadır (68,69). Bir çalışmada antiHBc(+) vericilerden 14 organ nakli yapılmış, bunlar arasından 3 karaciğer, 1 böbrek nakli yapılan hastaya HBV'nin bulaştığı gösterilmiştir (69). İzole antiHBc(+) kan ürünleri veya organların bulaştırıcılığı ile ilgili daha çok veri bulunmaktadır. İzole antiHBc(+) kan ve kan ürünleri alanlarda % 4'ten fazla olmayan posttransfüzyon hepatitler bildirilmiştir (70). İzole antiHBc(+) vericilerden alınan ürünlerle, pencere dönemindeki vericilerden alınan ürünlere göre daha sık transfüzyon sonrası hepatit görülmüştür (71). Mosley ve arkadaşları alıcının immün sistemine bakılmaksızın izole antiHBc(+) kan ürünlerinin % 17 oranında enfektif olduğunu rapor etmişlerdir (68).

Gelişmekte olan ülkelerde, HBV prevalansı yüksek, dolayısı ile transfüzyon sonrası hepatit daha sık görülmektedir. Hindistandan yapılmış bir çalışmada, kardiyak cerrahi nedeniyle 3-9 ünite kan alan hastalarda %10 oranında HBV enfeksiyonu olduğu gösterilmiş, HBsAg (-) olmasına karşın 24 ünitenin 11'inde HBV DNA taşıdığı rapor edilmiştir (72). Yüksek sıklıkta HBV DNA'ya karşın rölatif olarak düşük oranda transfüzyon sonrası hepatit gelişimi, tüm HBV DNA taşıyan ünitelerin enfeksiyöz olmadığını göstermektedir. Buna karşın viral yük ve enfektivite arasındaki ilişkiyle ilgili sistematik çalışma bulunmamaktadır. Şempazelerde en düşük enfeksiyöz dozun 10-100 virüs partikülü olduğu gösterilmiştir(72).

İzole antiHBc (+) kan ürünleri ve organların HBV'yi bulaştırdığı tanımlanmıştır. Bir çalışmada izole antiHBc (+) organ alan alıcılarda %94 oranında HBV enfeksiyonu geliştiği gösterilmiştir (74). Buna karşın sonuçlar da mevcuttur.

Geniş kapsamlı olmasa da, bu verilerden çıkarılan sonuç; çok düşük titrede olması nedeniyle HBV DNA tespit edilemez ise de, izole antiHBc (+) vericiler immün yetmezliği olanlar için bulaştırıcı olabilmektedir.

Organ nakilleri sırasında, vericideki gizli HBV enfeksiyonu, alıcıya HBV enfeksiyonunu bulaştırabilir (64,74). Gizli HBV enfeksiyonu olan vericilerden enfeksiyonun bulaşma riski %25 ile %94 arasında değişik oranlarda bildirilmiştir (61,72,74). Nakil öncesinde gizli HBV enfeksiyonu olan alıcılarda nakil sonrası enfeksiyonun tekrarlama riski bilinmemektedir. Yine de bunların yaşam süreleri gizli HBV enfeksiyonu olan vericiden HBV enfeksiyonu alanlara göre daha kısadır (74). Nakil öncesinde alıcı ve vericide gizli HBV enfeksiyonunun aranması, sonraki değerlendirmeler ve tedavi yaklaşımları için önemlidir.

### **3.B. TİP 2 DİYABETES MELLİTUS**

Diyabetes mellitus (DM), insülin salgısının ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli eksikliği sonucu, bozulmuş karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması ile karakterize, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlara neden olabilen metabolik bir sendromdur. DM'un tanısı klasik klinik ve biyokimyasal bulgularla konulmaktadır. Hastalık genellikle ağız kuruluğu, poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı gibi semptomlarla ortaya çıkmaktadır. Hastaların çoğu tesadüfen bakılan kan şekeri ya da idrar tetkiki sonucu tanı almaktadır.

Daha önce yapılan çalışmalarda diyabetin spesifik ve en yaygın komplikasyonu olan retinopati oluşumunun, glikoz yüklemesinden sonraki 2. saatteki 200 mg/dl'ye eşit yada yüksek plazma glikoz düzeyi ile yakın ilişkili olduğu, bunun da 140 mg/dl açlık plazma glikozuna karşılık geldiği gösterilmiştir (75). Fakat bu konuda yapılan yeni çalışmalarda bunun doğru olmadığı, retinopati gelişme açısından gerçekte 120 ve 126 mg/dl arasında açlık plazma glikoz düzeylerinin glikoz yüklemesinden sonraki 2. saatteki 200 mg/dl'ye eşit yada yüksek plazma glikoz düzeyleri ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (76,77). Bunun üzerine 1998

yılında American Diabetes Association (ADA) ve European Diabetes Policy Group (EDPG) tarafından gözden geçirilerek yeni kurallar getirilmiştir.

Buna göre;

- 1- Diyabete özgü semptomların varlığına ek olarak günün herhangi bir zamanında ölçülen plazma glikoz değerinin 200 mg/dl (11,1 mmol/L)'ye eşit veya yüksek olması (Diyabet semptomlarının varlığı; poliüri, polidipsi, kilo kaybı vb.)
- 2- En az iki defa açlık plazma glikoz değerinin 126 mg/dl (7,0 mmol/L)'ye eşit veya yüksek olması
- 3- 75 gram glikoz ile yapılan oral glikoz tolerans testi (OGTT) sırasında ilk iki saatin içinde glikoz değerinin 200 mg/dl (11,1 mmol/L)'ye eşit veya yüksek olması

diyabetes mellitusun yeni tanı kriterleri olarak önerilmiştir. Ayrıca açlık plazma glikoz düzeyi  $>110$  mg/dl ve  $< 126$  mg/dl, *bozulmuş açlık glikozu (IFG: Impaired fasting glukose)* olarak tanımlanmıştır. Hipergliseminin ve metabolik bozukluğun belirgin olmadığı hallerde testlerin tekrar edilmesi ve OGTT'nin rutin olarak uygulanmaması tavsiye edilmiştir.

*Tip 2 Diyabetes mellitus* genel diyabet popülasyondaki sıklığı %80-90 arasındadır. Hastalık sinsi başlangıçlıdır ve genellikle 40 yaşın üstünde tanı konur. Tanı konulduğunda geç diyabet komplikasyonları (retinopati, nöropati, nefropati) ile karşılaşılabilir. Bazı hastalarda tesadüfen glikozüri veya hipergliseminin saptanması ile tanı konur.

Hipergliseminin patogenezinde üç önemli faktörün rol oynadığı bilinmektedir. Bunlar beta hücre insülin salgısının bozulması, insülin direnci ve karaciğerde glikoz üretiminin artışıdır. Hem insülin direnci hem de bozulmuş insülin sekresyonu, tip 2 diyabetin patogenezinde genetik olarak kontrol edilen faktörler olup bunlardan hangisinin primer ağırlıkta rol oynadığı henüz açık değildir. Genetik faktörler Tip 2 DM'da Tip 1 DM'dan daha etkindir. Monozigot ikizlerde uzun süreli

takiplerde konkordans hızı %100'e yakındır. Aile anemnezi hemen hemen hepsinde olmasına rağmen hastalık henüz tek bir genetik zemin üzerine oturtulamamıştır. Yine de tip 2 DM genetik faktörlerle ilişkilidir. Tip 2 DM'da pankreas otoantiklorları olağan değildir. Spontan ketoasidoz tip 2 DM'de gelişmez. Ancak ağır bir enfeksiyon veya ağır stres yaratan durumlarda ketoasidoz ve koma görülür. Bu hastalarda daha sık görülebilen koma, yeterli sıvı alınamamasına bağlı gelişen hiperglisemik hiperosmolar non-ketotik komadır. Hastalık genellikle erişkin yaşta görülür. Hastaların %85'i obezdir. Obezite insülin direncini artırarak hiperglisemiyi ağırlaştırmasına rağmen, obezite olmadan da tip 2 DM gelişebilir. Obez ve non-obez ayrımı aslında etyolojik bir farklılık oluşturur. Obez tip 2 diyabetin patogeneğinde insülin direnci daha önemli iken, non-obez diyabetiklerde insülin sekresyon bozukluğu ön plana geçer.

*Enfeksiyonlar*, insülin ve antimikrobial tedavilerin kullanıma girmesinden önce, diyabetik hastalarda en sık ölüm nedeni idi. İnsülin tedavisi bu durumu dramatik bir şekilde değiştirmesine rağmen, enfeksiyonlar, ketoasidozu kolaylaştıran bir faktör olarak, halen morbidite ve mortalitede önemli rol oynamaktadır. İyi kontrol altındaki diyabetik hastalarda enfeksiyona eğilimi arttıracak devamlı bir immünite bozukluğu saptanmamıştır. Peterson ve arkadaşları diyabetik hastalarda eritrosit, lökosit ve trombosit fonksiyonlarında bozukluk saptamışlardır (78). Her üç hücre tipinde de fonksiyonel bozukluk glikoz metabolizması kontrol altına alındığında düzelmektedir. Glikoz metabolizmasını kontrolde kullanılan bir parametre HbA<sub>1</sub>C dir. Eğer bir protein yapısal olarak değişebiliyorsa, diğer yapısal ve fonksiyonel proteinlerin de aynı şekilde değişebileceği düşünülebilir.

Diyabetes mellitus granülosit fonksiyonlarının bozulduğu bir hastalıktır. Kemotaksis, adherans, fagositoz ve bakterisidal aktivite diyabetiklerde bozulmuştur ve tüm bu önemli fonksiyonlar enerjiye dayalı olaylardır. Granülositler enerjiyi hemen tamamen glikoz metabolizmasından sağlarlar (79-81). Granülositlerin enerji depoları nisbeten küçüktür ve enerjiye bağımlı etkinliklerin devamlılığı için dışarıdan glikoz sağlanması gerekir. Diyabetik hastalardan alınan lökositler, 36-72 saat insülinle bırakıldıklarında glikozun hücre içerisine alınması, glikojen sentezi ve laktat üretiminin azaldığı, insülinle inkübe edildikten sonra ise arttığı saptanmıştır

(79-81). Kötü kontrollü diyabetik hastalarda, bu metabolik aktivite parametrelerinin bozuk olması, granülositlerdeki fonksiyon bozukluğunun enerji üretiminden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Granülosit fonksiyonlarındaki bozulmadan sorumlu tutulan diğer bir faktör de kapiller bazal membran kalınlaşmasıdır. Bu durum lökosit hareket bozukluğunu arttırabilir, ayrıca bakteri invazyonunun olduğu bölgelere çıkmış lökositlere insülin ve glikoz ulaşmasında güçlük oluşturabilir.

*Kemotaksis* bir hücrenin kemotaktik faktörler olarak adlandırılan maddelerin ortamdaki kimyasal konsantrasyonuna göre bu ortamda yer alması ve hareket etmesidir. Diyabetik hastaların bir çoğunda polimorfonükleer lökositlerde kemotaksis bozukluğu vardır. Diyabetik hastalardaki kemotaksisteki bozukluk, polimorfonükleer lökositlerin akut inflamatuvar reaksiyonun erken fazında ortaya çıkışında gecikmeye neden olmaktadır. Bu durum diyabetin regüle edilmesi ile düzelmektedir (82,83). Lokal savunma reaksiyonunda ilk üç saatin mikroorganizmaların çoğalma ve invazyonu için belirleyici bir faktör olduğu düşünülürse, diyabeti regüle olmayan hastalardaki kemotaksis bozukluğu, savunma mekanizmasında önemli bir handikap olarak görünmektedir.

Kemotaksis, adherans, fagositoz ve bakterisidal aktivite bozuklukları, diyabetteki metabolik olayların kontrol altına alınması ile düzeldiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (79-83). Sonuçta bu çalışmalar diyabette metabolik olayların kontrol altına alınmasının, enfeksiyon olasılığını azaltmak için en iyi yöntem olduğunu ortaya koymaktadır.

*Hücre sel bağışıklıkta bozulma sonucu*, mantar ve diğer alışılmamış enfeksiyon etkenleri ile enfeksiyonlara duyarlılık oluşmaktadır. Bu enfeksiyonlar diyabetik hastalarda diyabetik olmayanlara göre daha sık görülmektedir. Metabolik kontrolü iyi olmayan diyabetik hastalarda T hücre transformasyonunda bozulma, toplam T hücre sayısında ve spesifik olarak CD4 fenotipinde (yardımcı) azalma görülmektedir. Bunun sonucunda CD4/CD8 oranı azalmaktadır. Bu bozukluk insülin düzeylerinde ya da insülin aktivitesinde azalma veya bunların her ikisine bağlı olarak ortaya çıkabilir. Bununla birlikte bozulmuş metabolik olayların kontrol altına alınması, normal lenfosit transformasyonunun ve bunun sonucunda T lenfosit alt

grup oranlarının normalleşmesini sağlamaktadır (84). Metabolik kontrolü iyi olan hastalarda tüberküloz, tetanoz, difteri, trichophyton, streptokok, proteus ve candida antijeni ile karşılaşma, hızlı sekonder bağışık yanıtı neden olmaktadır. Bu sonuç T-hafıza hücreleri ile CD4-pozitif lenfositler arasında normal bir kooperasyonun varlığına işaret etmektedir (84).

Sıvısal bağışık yanıt kan ve doku sıvısında bulunan gama globülin yapısında antijene özgül antikorları ifade eder. Kan ve doku sıvısındaki antikorlara genel olarak immünoglobülin adı verilir. Diyabetiklerde serum immun globulin düzeyleri sağlıklı bireylere göre daha düşük bulunmaktadır. Bununla birlikte diyabetiklerde pnömokok polisakkariti gibi antijenlere karşı antikor yanıtı normaldir (84). Hepatit B aşılması yapılan uzun süredir tip 1 diyabeti olan kişilerde hepatit B antijenlerine karşı antikor yanıtı zayıftır (84).

Sıvısal ve hücrel immün yanıtta bozulma, kısmen antijenlerin tanınmasında bir bozulmaya bağlanabilir. Bu defekt makrofajların antijenleri tanıyamaması sonucunda ortaya çıkabilir. Diğer yandan influenza aşısı uygulaması sonrasında, hafıza T hücreleri aktivasyonu gibi sekonder immün yanıtlardaki değişiklikler muhtemelen metabolik durum ile ilişkilidir.

#### 4. MATERYAL VE METOD

**Hastalar:** Bu çalışmada Nisan 2006- Haziran 2006 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Konya Uygulama ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji ve Endokrinoloji polikliniğine başvuran ardışık 582 tip 2 diabetes mellituslu hasta değerlendirildi. Hastaların 2'sinde diyaliz gerektiren kronik böbrek yetmezliği, 2'sinde karaciğer sirozu ve 2'sinde malignensi olması nedeniyle değerlendirme dışı bırakıldı. Geriye kalan 576 hastanın 23 (% 3,9)'ünde HBsAg (+), 8 (%1,3)'inde anti-HCV (+) saptanarak çalışma dışı bırakıldı. Geriye kalan 545 hastanın 107 (%19,6)'sinde antiHBc IgG (+) ve/veya antiHBsAg (+)'liği mevcuttu. AntiHBc IgG (+) ve/veya antiHBsAg (+)'liği 'liği saptanan 107 hastadan rastgele 100 DM'lu hasta çalışma grubunu oluşturdu. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Kan Bankasına Nisan 2006- Haziran 2006 tarihleri arasında başvuran ardışık 642 kan donörü değerlendirilerek HBsAg (-) ve antiHBc IgG (+) ve/veya antiHBsAg (+)'liği bulunan 129 kan dönöründen (%20) rastgele yaş ve cinsiyetle uyumlu 100 kan dönörü kontrol grubunu oluşturdu. Şekil 4.1'de hastaların seçimi ile ilgili şema sunulmuştur.

Kronik karaciğer hastalığı, diyaliz gerektiren kronik böbrek yetmezliği, diyalize girme hikayesi, HBsAg, anti-HCV ve anti HIV pozitifliği, karaciğer veya böbrek nakli yapılmış olması, HSK ve diğer malignensilerin saptanmış olması, immünoşüpresif ilaç kullanımını çalışmaya alınmama kriterleri olarak belirlendi.

Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan tüm hastalardan demografik veriler, kan transfüzyonu, ameliyat, sarılık, HBV için aşılama öyküsü ve alkol kullanımı sorgulanarak kaydedildikten sonra kantitatif olarak HBV DNA ve alanin aminotrasferaz (ALT) düzeyleri belirlendi.

Tip 2 diyabetes mellitus tanısı Amerikan Diyabet Derneğininin tanı kriterlerine göre (açlık kan şekerinin 126 mg/dl ve üzerinde olması veya OGGT'de 2. saat kan şekerinin 200 mg/dl ve üzerinde olması) göre konuldu. Tüm DM'lu

hastaların 12 saatlik açlıktan sonra alınan plazma örneklerinde açlık kan şekeri, hemoglobin A1c düzeyleri saptandı.

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Araştırma Kurulu'nun önerisi ile Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik ve İlaç Araştırmaları Yerel Etik Kurulu tarafından 08.04.2006 tarih ve 2006/AP-424 karar sayısı ile etik açıdan onaylandı

#### **4.A. Kullanılan kitler ve yöntemler**

##### **Serum HBsAg Tayini:**

AxSYM® HBsAg (V2) reaktifi ile AxSYM® analizöründe Mikropartikül Enzim Immunoassay (MEIA) yöntemi ile ölçüldü (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA).

##### **Serum antiHBsAg Tayini:**

AxSYM® antiHBsAg reaktifi ile AxSYM® analizöründe Mikropartikül Enzim Immunoassay (MEIA) yöntemi ile ölçüldü (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA).

##### **Serum Anti HCV Tayini:**

AxSYM® HCV versiyon 3,0 reaktifi ile AxSYM® analizöründe Mikropartikül Enzim Immunoassay (MEIA) yöntemi ile ölçüldü (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA).

##### **Serum antiHBc IgG Tayini:**

AxSYM® CORE reaktifi ile AxSYM® analizöründe Mikropartikül Enzim Immunoassay (MEIA) yöntemi ile ölçüldü (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA).



### **Serum HBV DNA tayini:**

Viral DNA izolasyonu 0,2 ml serum örneklerinden High Pure Viral Nucleic Acid kit (Roche Diagnostics, Almanya) kullanılarak üreticinin önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Kalitatif ve kantitatif HBV DNA real-time PCR testleri ve analizler LightCycler sisteminde gerçekleştirilmiştir (Roche Diagnostics, Almanya). HBV DNA primerleri ve LC640/Floresan işaretli probun S gen bölgesinden Primer Premier 5,1 yazılımı kullanılarak Metis Biyoteknoloji Ltd tarafından tasarlanmıştır. Real-time PCR reaksiyonlarında 5 µl saflaştırılmış DNA, 10 pmol primer, 3 pmol prob, 4,5 nM MgCl<sub>2</sub> ve LightCycler DNA Master Hybridization Probe kit (Katalog no: 2105102, Roche Diagnostics, Almanya) içinden 1X DNA Master hibridizasyon prob miksi kullanılmıştır. Real-time PCR amplifikasyonları kapiller tüpler içinde toplam 20 µl toplam reaksiyon hacminde 45 siklus 95 °C-0 saniye, 60 °C-10 saniyeden oluşan basamaklarda gerçekleştirilmiştir. Her siklusun annealing basamağının sonunda cihazın 640 nm dalga boyunu algılayan F2 sinyal kanalından okutma yaptırılmıştır. Sonuçlar LightCycler Software versiyon 3.5.3 kullanılarak analiz edilmiş ve logaritmik çoğalma gösteren amplifikasyon ürünleri belirlenmiştir. Kantitatif analizler için 100-5x10<sup>7</sup> HBV DNA kopyası içeren dilusyonlardan yapılan amplifikasyonlarla eksternal kalibrasyon eğrisi çıkarılmış ve bu lineer regresyon verisini içeren dosya her kantitatif analizde kullanılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü 98/375 nolu referans plazmasından elde edilen DNA saflaştırma sonrası, kantitatif testlerde her reaksiyona dahil edilerek referans titre olarak kullanılmıştır. LightCycler Software versiyon 3.5.3 kullanılarak referans titrenin eksternal kalibrasyon eğrisi üzerinde yerleştirilmesi sonrası her örnekten elde edilen kantitatif titre belirlenmiştir. Her çalışmada DNA yerine distile su içeren kapiller tüp negatif kontrol olarak kullanılmıştır. HBV DNA real-time PCR protokolünde analitik duyarlılık 100 kopya/ml olarak saptanmıştır.

### **4.B. İstatistik Yöntemler**

Elde edilen bulgular SPSS for Microsoft Windows 11,3 (SPSS Inc., Chicago, IL, Amerika Birleşik Devletleri) programı kullanılarak istatistiksel açıdan uygun yöntemlerle analiz edildi. Sonuçlar, ortalama ± standart sapma olarak ifade

edildi. Hastalardan elde olunan değerlerin ortalamalarının karşılaştırılması normal dağılım gösterenler için student T testi ile değerlendirildi. Sayımların değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı.  $P < 0,05$  istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmada toplam 100 HBsAg (-), antiHBc IgG (+) DM'lu hasta çalışma grubunu, 100 HBsAg (-), anti-HbcIg G (+) kan donörü kontrol grubunu oluşturdu. Çalışma gruplarının genel özellikleri tablo 5.1'de gösterilmiştir.

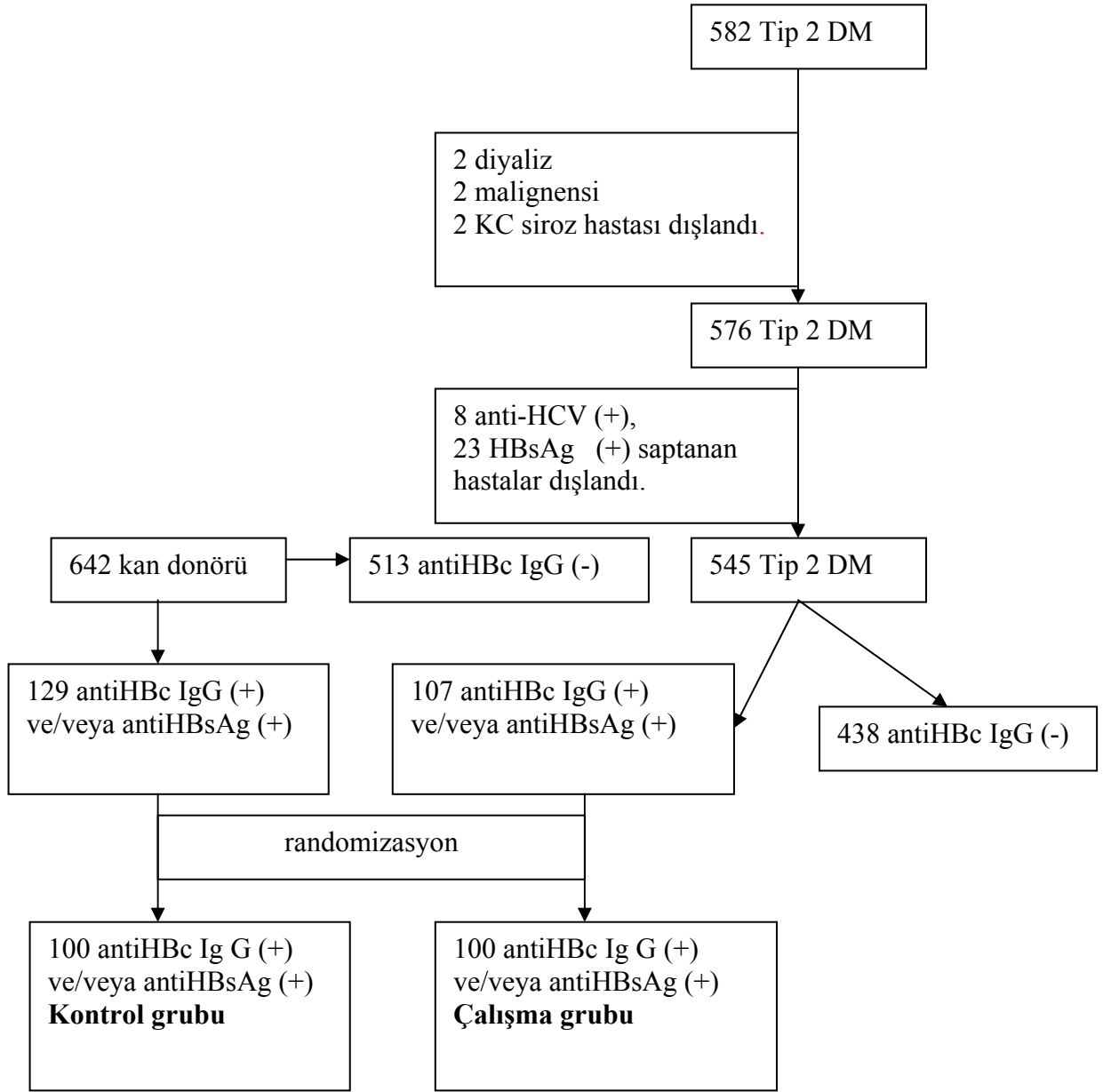
Tip 2 DM'lu hastaların yaş ortalaması 48,74±9,68, erkek/kadın oranı 49/51, kontrol grubunun yaş ortalaması 46,44±13,67, E/K 58/42 idi. Demografik özellikler açısından iki grup arasında anlamlı farklılık yoktu (P>0,05)

Tip 2 DM'lu hastaların bireylerin 6 (%6)'sında kan transfüzyon hikayesi, 19 (%19)'unda ameliyat öyküsü, 7 (%7)'sinde HBV'ne karşı aşılama öyküsü ve 14 (%14)'ünde alkol kullanımı mevcut idi. Kontrol grubu bireylerin 1 (% 1)'inde kan transfüzyon hikayesi, 15 (% 15) 'inde ameliyat, 12 (%12) 'sinde HBV'ne karşı aşılama öyküsü ve 13 (% 13) 'ünde alkol kullanımı mevcut idi. Tip 2 DM'lu hastalar ile kontrol grubu arasında kan transfüzyonu, ameliyat, HBV'ne karşı aşılama öyküsü ve alkol kullanımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (P>0,05). Tip 2 DM'lu hastalar ile kontrol grubunu oluşturanların hiçbirinde sarılık öyküsü yoktu.

Tip 2 DM'lu hastalarda ALT düzeylerinin ortalaması kontrol grubundan yüksekti fakat fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (26,24 IU/L ± 16,40 IU/L karşın 23,28 IU/L ± 9,65 IU/L P>0,05). Tip 2 DM'lu hastaların 16 (%16)'sında, kontrol grubunun 6 (%6)'sında ALT düzeyi normal değer üst sınırı olan 41 U/L'nin üzerinde idi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( P<0,05). Tip 2 DM'lu hastaların 11 (%11)'inde, kontrol grubunun 3 (%3)'ünde HBV DNA (+) saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (P<0,05). Tip 2 DM'lu hasta grubunda HBV DNA düzeyleri  $1 \times 10^2$ - $5 \times 10^3$  kopya/ml, kontrol grubunda ise  $4 \times 10^3$  ile  $1 \times 10^5$  kopya/ml arasında değişiyordu. Tip 2 DM'lu ve kontrol grubunda HBV DNA (+) saptananların klinik özellikleri, ALT ve HBV DNA düzeyleri tablo 5.2'de, çalışma gruplarındaki ALT düzeyleri, sıklığı ve HBV DNA pozitifliğinin dağılımı tablo 5.3 de görülmektedir.

HBV DNA (+) saptanan Tip 2 DM'lu hastalar, HBV DNA (+) saptanan kontrol grubundaki kişiler arasında yaş, cinsiyet, kan transfüzyonu, ameliyat, HBV'ne karşı aşılama öyküsü, alkol kullanımı, ALT yüksekliği ve sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (Tablo 5.4)( $P>0,05$ ).

HBV DNA (+) saptanan Tip 2 DM'lu hastalar ile (-) saptanan hastalar arasında yaş, cinsiyet, kan transfüzyonu, ameliyat, HBV'ne karşı aşılama öyküsü, alkol kullanımı, ALT yüksekliği ve sıklığı, DM süresi, açlık kan şekeri ve hemoglobin A<sub>1c</sub> düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu (Tablo 5.5)(  $P>0,05$  ). Gizli HBV enfeksiyonu olan 11 tip 2 DM'lu hastanın 4 (%36,4)'ünde, olmayan 89 hastanın 21 (%23,6)'inde izole antiHBcIg G ( +)'liği saptandı. İzole HbcIg G (+) olanlarda gizli HBV enfeksiyonu (25 hastanın 4 (%16)'ünde), antiHBs ve HbcIg G (+) olanlardan (75 hastanın 7 (%9,3)'sinde) fazla olmasına karşın, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.



**Şekil 4.1** Çalışmaya alınan hastaların seçiminin şematik görünümü

**Tablo 3.1** Gizli hepatit B için riskli gruplar

**Klinik gruplar**

HCC’u olan HCV’li hastalar

AntiHBc (+) vericilerden yapılan karaciğer transplantasyonu

AntiHBc (+) kronik hepatit C

Kriptojenik siroz

Intravenöz ilaç kullanıcıları

Kan donörleri

HbsAg taşıyıcıların aile bireylerinde

HIV (+) hastalar

Hemofili hastaları

**Tablo 5.1** Tip 2 Diabetes mellitus’lu hastalar ile kontrol grubunun genel özellikleri

	<b>Tip 2 DM grubu</b>	<b>Kontrol grubu</b>	<b>P</b>
<b>Hasta sayısı</b>	100	100	
<b>Yaş (ortalama/yıl)</b>	48,74±9,68	46,44±13,67	0,171
<b>Cinsiyet (kadın/erkek) (n)</b>	49/51	58/42	0,257
<b>Kan tranfüzyon öyküsü</b>	6	1	0,118
<b>Ameliyat öyküsü</b>	19	15	0,286
<b>HBV’una karşı aşılama</b>	7	12	0,167
<b>Alkol kullanımı</b>	14	13	1,000
<b>Sarılık öyküsü</b>	0	0	-

HBV:Hepatit B virüs DM;Diabetes mellitus

**Tablo 5.2** Tip 2 diabetes mellitus ve kontrol grubunda HBV DNA pozitif saptananların demografik ve klinik özellikleri, ALT ve HBV DNA düzeyleri

<b>Olgu</b>	<b>yaş</b>	<b>cins</b>	<b>Kan tx</b>	<b>ameliyat</b>	<b>alkol</b>	<b>aşı</b>	<b>DM süre yıl</b>	<b>HbA<sub>1c</sub> %</b>	<b>AKŞ mg/dl</b>	<b>ALT U/L</b>	<b>HBV DNA kopya/ml</b>
DM	44	K	var	var	yok	var	8	6,10	102	9	900
DM	34	K	yok	yok	yok	yok	0*	6,10	141	19	700
DM	44	K	yok	yok	yok	yok	13	8,40	256	25	100
DM	47	E	yok	yok	yok	yok	10	6,90	96	17	100
DM	57	K	yok	yok	yok	yok	13	7,20	126	122	4000
DM	45	E	yok	yok	yok	yok	7	7,70	142	43	5000
DM	41	K	yok	yok	var	yok	2	5,60	139	5	2000
DM	63	K	yok	yok	yok	yok	20	7,20	183	7	1000
DM	48	E	yok	yok	yok	yok	3	7,10	122	42	1000
DM	35	E	yok	yok	var	yok	0*	11,20	354	18	3000
DM	48	E	yok	yok	yok	yok	15	6,40	105	21	2000
Kontrol	36	E	yok	var	yok	yok	-	-	-	11	4000
Kontrol	54	E	yok	var	yok	yok	-	-	-	17	52000
Kontrol	28	E	yok	yok	yok	yok	-	-	-	42	100000

DM;Diabetes mellitus, Kan Tx; Kan transfüzyon hikayesi ALT:Alanin aminotransferaz, Cins;Cinsiyet AKŞ; Açlık kan şekeri, HbA<sub>1c</sub>; Hemogloblin A<sub>1c</sub>, \*; Yeni tanı diabetes mellitus

**Tablo 5.3** Çalışma gruplarında alanin amino transferaz düzeyleri ve HBV DNA pozitifliğinin dağılımı

	<b>DM grubu</b>	<b>Kontrol grubu</b>	<b>P</b>
<b>Hasta Sayısı</b>	100	100	
<b>ALT ortalaması (N:0-41 U/L)</b>	26,24±16,40	23,28±9,65	0,121
<b>ALT yüksekliği (n)</b>	16	6	<b>0,040</b>
<b>HBV DNA (+) (n)</b>	11	3	<b>0,049</b>

ALT:Alanin aminotransferaz DM;Diabetes mellitus

**Tablo 5.4** HBV DNA pozitifliği saptanan Tip 2 DM'lu hastaların, HBV DNA pozitifliği saptanan kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri

	<b>HBV-DNA (+) DM</b>	<b>HBV-DNA (+) kontrol</b>	<b>P</b>
<b>Hasta Sayısı</b>	11	3	
<b>Yaş</b>	46,00±8,47	39,30±13,29	0,298
<b>Cinsiyet (kadın/erkek) (n)</b>	6/5	0/3	0,209
<b>Kan tranfüzyon öyküsü</b>	1	0	0,786
<b>Ameliyat öyküsü</b>	1	2	0,093
<b>HBV'una karşı aşılama</b>	1	0	0,786
<b>Alkol kullanımı</b>	2	0	0,604
<b>ALT yüksekliği (n)</b>	3	1	0,670
<b>ALT ortalaması</b>	29,82±33,03	23,33±16,44	0,753

ALT;Alanin aminotransferaz, DM;Diabetes mellitus, HBV;Hepatit B virüs



**Tablo 5.5** Tip 2 DM'lu hastalarda HBV DNA pozitifliğine göre demografik ve klinik özelliklerin dağılımı

	<b>HBV-DNA (+)</b>	<b>HBV-DNA (-)</b>	<b>P</b>
<b>Hasta Sayısı</b>	11	89	
<b>Yaş</b>	46,00±8,47	49,08±9,81	0,322
<b>Cinsiyet (kadın/erkek) (n)</b>	6/5	52/37	1,000
<b>Kan tranfüzyon öyküsü</b>	1	5	0,513
<b>Ameliyat öyküsü</b>	1	18	0,685
<b>HBV'una karşı aşılama</b>	1	6	0,570
<b>Alkol kullanımı</b>	2	12	0,477
<b>DM süresi</b>	8,27±6,60	7,10±6,42	0,571
<b>AKŞ</b>	160,55±78,47	169,28±55,80	0,641
<b>HbA1c</b>	7,26±1,52	7,66±1,94	0,514
<b>ALT yüksekliği (n)</b>	3	13	0,376
<b>ALT ortalaması</b>	29,82±33,03	25,80±13,29	0,697
<b>İzole HBc Ig G (+)</b>	4 (%36,4)	21 (% 23,6)	0,460

ALT;Alanin aminotransferaz, DM;Diabetes mellitus, HBV;Hepatit B virüs, AKŞ; Açlık kan şekeri, HbA<sub>1c</sub>; Hemogloblin A<sub>1c</sub>

## 6. TARTIŞMA

Gizli hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu HBsAg (-) bireylerde hassas tekniklerle kan veya dokuda HBV DNA'nın bulunması olarak tanımlanmıştır (1). Daha önce yapılan çalışmalarda HCV enfeksiyonuna sahip hemodiyaliz hastalarında %36 (33 hastanın 12'sinde), HCV-RNA (+) intravenöz ilaç kullananlarda %45 (180 hastanın 81'inde), hemofili hastalarında %53 (43 hastanın 22'sinde) ve HIV(+) hastalarda %20 (26/128) oranında gizli HBV enfeksiyonu bildirilmiş ve bu açıdan riskli gruplar olarak tanımlanmıştır (6,41,85,86). Halk sağlığı açısından gizli HBV enfeksiyon için riskli grupların belirlenmesi önemlidir.

Bizim çalışmamızda tip 2 DM'lu hastalarda gizli hepatit B sıklığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu bulunmuştur (%11 karşın %3 P=0,049). Tip 2 DM'lu hasta grubunda HBV DNA düzeyleri  $1 \times 10^2$ - $5 \times 10^3$  kopya/ml, kontrol grubunda ise  $4 \times 10^3$  ile  $1 \times 10^5$  kopya/ml arasında değişiyordu. Tip 2 DM'lu hastalarda saptanan HBV DNA düzeyleri, daha önce gizli hepatit B enfeksiyonunda bildirilen  $10^1$ - $10^3$  kopya/ml düzeyleri ile benzer idi (22). Literatürde DM'lu hastalarda anti-HCV, HBsAg sıklığı ile ilgili birçok çalışma olmasına karşın, gizli hepatit sıklığı hakkında veri bulunmamaktadır.

Bizim çalışmamızda kontrol grubunu oluşturan antiHBc(+) kan donörlerinde gizli hepatit B sıklığını % 3 oranında saptadık. Ülkemizde kan donörlerinde gizli hepatit B sıklığı ile ilgili literatürde bir veriye ulaşamadığımızdan karşılaştırma imkanımız olmadı. Çalışmamızda 642 kan donörünün 129 (% 20,09)'unda, 545 tip 2 DM'lu hastanın 107'sinde (% 19,63) geçirilmiş HBV enfeksiyon bulgusu (antiHBc + ve/veya antiHBs +) saptandı. Ülkemizde 1980-2000 yılları arasında toplam 8000 kişinin %30'unda geçirilmiş HBV enfeksiyonu saptanmıştır (87). Bu oran bizim çalışmamızdakinden yüksekti. Fakat bu veriler tüm yaş gruplarını temsil etmektedir. Pahsa ve arkadaşlarının 1999 yılında İstanbulda yaptıkları çalışmada, bizim çalışmadaki hasta popülasyonu ile benzer olan 45-49 yaş gruplarında geçirilmiş HBV enfeksiyonunu % 21,7 olarak bildirmişlerdir (88). Bu oran çalışmamızda bulunan

hasta ve kontrol grubundaki oranlarla benzer idi. Dolayısıyla bulgularımız DM'lu hastaların genel populasyona göre daha fazla HBV'ne maruz kaldıklarını düşündürmemektedir.

Dış merkezlerde kan donörlerinde gizli HBV enfeksiyonunu bildiren birkaç çalışma mevcuttur. Meksikadan yapılmış bir çalışmada 11.240 kan donörü taranmış olup, izole antiHBc pozitifliği %1,93 bulunur iken, izole antiHBc(+) olanların % 8,23'ünde gizli hepatit B enfeksiyonu tespit edilmiştir (89). İsviçre'de kan donörlerinde izole antiHBc(+)’liği %0,5, HBV DNA (+)’liği % 3,9, Almanya’da sırasıyla bu oran % 0,2, % 7,4 olarak bulunmuştur (90). Çalışma yapılan bölgelerin HBV prevalansı ve kullanılan PCR yöntemlerinin farklı olması nedeniyle, bizim sonuçlarla bunları karşılaştırmak uygun olmasa da, İsviçre’de kan donörlerinde bildirilen gizli HBV enfeksiyon sıklığı ( %3,9) ile, bizim kontrol grubumuzda saptadığımız HBV sıklığı (%3) benzer idi. Ek olarak Hindistan’dan yapılmış bir çalışmada antiHBs ve antiHBc(+)’liği olanlarda %27,2, izole antiHBc(+)’liği olanlarda ise % 20,8 oranında HBV DNA (+)’liği tespit edilmiştir. İzole antiHBc(+)’liği olanlarda gizli HBV sıklığının, antiHBs ile birlikte ve antiHBc(+)’liği olanlarla karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmadığı ortaya konulmuştur (91). Bizim çalışmamızda da tip 2 DM’lu hastalardaki izole HbcIg G (+) olanlarda gizli HBV enfeksiyonu (25 hastanın 4 (%16)’ünde), antiHBs ve HbcIg G (+) olanlardan (75 hastanın 7 (%9,3)’sinde) fazla olmasına karşın, istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu sonuçlar bize kan donörlerinin yalnızca izole antiHBc Ig G (+)’liğinin taranması ile bulaşıcılığın önüne geçilemeyeceğini düşündürmüştür.

Gizli HBV’nun, hepatit B enfeksiyonunun biyolojik ve klinik spektrumundaki yeri net olarak bilinmemektedir. HBsAg taramaları ile enfeksiyöz kan vericilerinin elimine edilmesine rağmen HBV bulaşının kan transfüzyonu sonrasında olabileceği bildirilmiştir (2). Bunda da gizli hepatit B enfeksiyonunun rol oynadığı düşünülmüştür. Günümüzde gizli HBV enfeksiyonun ağırlıklı klinik önemi, HBV’nin bulaşına neden olmasıdır (3). Ancak spontan düzelmeye gösteren akut hepatit B enfeksiyonundan 2-9 yıl sonraki değerlendirmelerde bazı hastaların serumunda ve karaciğer dokusunda HBV-DNA’nın gösterilmesi canlı karaciğer donörleri,

immünsüpresif tedavi alacak kişilerin daha hassasiyetle incelenmesi ve HSK riski açısından da dikkatli olunması gerektiğini ortaya koymaktadır (92).

Nitekim çalışmamızda antiHBs (+) DM'lu hastalarda da serumda HBV-DNA'nın tespit edilmesi akut hepatit B'den sonra spontan düzelme gösterenlerde de yukarıda sayılan riskler açısından dikkatli olunması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Gizli HBV enfeksiyonu için risk gruplarının belirlenmesi, HBV enfeksiyonun bulaşının önlenmesi açısından önemlidir. Şempanzelerde yapılmış çalışmalarda, 10-100 viron gibi çok az sayıda HBV inokulasyonunun enfeksiyona neden olduğu gösterilmiştir (93). Bu düşük titredeki PCR ile HBV DNA (+)'liği enfeksiyon için yeterli inokulasyonu sağlamaktadır. Bizim çalışmamızda gerek tip 2 DM'lu hasta grubunda gerekse kontrol grubunda saptanan HBV DNA düzeyleri bulaştırıcılık için yeterli düzeyde idi. Bu sonuçlar bize HBV bulaştırıcılığı açısından gizli HBV enfeksiyonuna sahip tip 2 DM hastalar, DM'un toplumda yaygınlığı düşünüldüğünde, halk sağlığı açısından diğer tanımlanmış risk grubuna göre çok daha önemli olduğunu düşündürmüştür.

Gizli HBV enfeksiyonu iyi gösterilmiş bir klinik durum olmasına karşın mekanizması tartışmalıdır. Virus eliminasyonunda hem hücresel, hem de hümorale faktörler rol oynar. HBV proteinlerine karşı gelişen multispesifik yeterli T hücre cevabı ile virüs klirensi olurken, yetersiz immün cevap, virüsün kalıcı olmasına neden olur (35). Teorik olarak konak immün cevabının azalması gizli HBV enfeksiyonu gelişimini kolaylaştırır. İmmün sistemi baskılanmış HBsAg (-) kanserli hastalarda HBV-DNA (+)'liği %11,6 olarak bildirilmiştir (5). Ayrıca son dönemlerde gizli HBV enfeksiyonunun, edinilmiş immün yetmezlik sendromuna (HIV (+)'li hastalar) sahip hastalarda daha sık olduğunu bildiren çalışmalar yayınlanmıştır (6,7). Tip 2 DM'lu hastalarda görülen immün sistem anormallikleri nedeniyle enfeksiyonlara yatkınlık bilinmektedir (8,9). Metabolik kontrolü iyi olmayan diyabetik hastalarda T hücre transformasyonunda bozulma, toplam T hücre sayısında ve spesifik olarak CD4 fenotipinde (yardımcı) azalma görülmektedir (84). Bunun sonucunda CD4/CD8 oranı azalmaktadır. Dolayısıyla tip 2 diyabetes mellitus (DM)'lu

hastalarda görülen immün sistem anormallikleri gizli hepatit B gelişiminde etkili olabilir.

Kanada'dan yapılan bir çalışmada yaş ve cinsiyetin gizli hepatit B enfeksiyonu ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir (26). Buna benzer şekilde gizli hepatit B enfeksiyonu olan tip 2 DM'lu hastalar ile olmayan hastalar ve HBV DNA (+) saptanan kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $P>0,05$ ). Ayrıca gizli hepatit B enfeksiyonu olan tip 2 DM'lu hastalar ile olmayan hastalar arasında DM'un süresi, açlık kan şekeri ve hemoglobin A<sub>1c</sub> düzeyleri açısından da istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $P>0,05$ ). Gizli hepatit B enfeksiyonlu hasta sayılarının az olması yorumu güçleştirmekle birlikte, bulgular bize gizli HBV enfeksiyonunun diyabetin süresi ve regülasyonu ile ilişkili olmadığını düşündürmektedir.

Tip 2 DM'lu hastalarda ALT düzeylerinin ortalaması kontrol grubundan yüksekti fakat fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $26,24\pm 16,40$  karşın  $23,28\pm 9,65$  IU/L  $P>0,05$ ). Tip 2 DM'lu hastaların 16 (%16)'sında, kontrol grubunun 6 (%6)'sında ALT düzeyi normal değer üst sınırı olan 41 U/L'nin üzerinde idi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $P<0,05$ ). Bu bulgunun tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda sık görülen yağlı karaciğer hastalığına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ancak çalışmamızda hastalar yağlı karaciğer hastalığı yönünden araştırılmamıştır. Gizli hepatit B enfeksiyonu olan 11 tip 2 DM'lu hastanın 3'ünde (%27,27), olmayan 89 hastanın 13'ünde (%14,60), kontrol grubunda HBV DNA (+) saptanan 3 kişiden 1 (%33,33)'inde ALT düzeyi normal değer üst sınırı olan 41 U/L'nin üzerinde idi. Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $P>0,05$ ). Gruplar arasındaki ALT düzey ortalamalarında da fark yoktu (Tablo 5.3). Gizli hepatit B'li hastaların hepsinin normal serum ALT ve AST düzeyine sahip olduğu bildirilmiştir (57,59). Bizim çalışmamızdaki sonuçlar da tip 2 diyabetes mellituslu hastalarda gizli HBV enfeksiyonunun karaciğer enzimlerine etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarda gizli hepatit B prevalansı HSK'li hastalarda % 5-56 arasında bulunmuştur (21,46) Epidemiyolojik çalışmalarda kronik HCV'li, HBV ile

koenfekte hastalarda HSK gelişimi arasında güçlü ilişkiler ortaya konmuştur. AntiHBs (+) hastalarda bile HSK riski olduğu bildirilmiştir (47-49) Spontan HBsAg seroklirensi (büyük çoğunluğu S mutant) olan hastalarda nekroinflamasyon düzeliyor olsa da HSK gelişim riskinin devam ettiği ortaya konmuştur (94). DM'lu hastalarda da HSK görülme riskinin, DM'lu olmayanlara göre arttığı gösterilmiş ve bunun DM'a eşlik eden non-alkolik steatohepatite bağlı olabileceği düşünülmüştür (10,11). Ancak bir diğer çalışmada DM'un primer karaciğer kanseri riskini hepatit B, hepatit C veya alkolik siroz gibi risk faktörlerinin mevcudiyetinde artırdığını göstermiştir (95). Bu çalışmaya paralel olarak bizim çalışmamız DM'lu hastalarda artmış gizli hepatit B sıklığının DM'lu hastalarda, DM'lu olmayanlara göre daha sık HSK görülmesine katkıda bulunabileceğini ve DM'lu hastaların daha önce HBV ile karşılaşmamışsa DM tanısı aldıktan sonra erken dönemde aşılmasının faydalı olabileceğini düşündürmektedir

## 7. SONUÇ

Günümüzde gizli HBV enfeksiyonunun klinik önemi daha çok HBV'nin bulaşına neden olması ve muhtemelen HSK riskini artırmasıdır (3). Gizli HBV enfeksiyonu için risk gruplarının belirlenmesi, HBV enfeksiyonunun bulaşının önlenmesi açısından önemlidir. Bu çalışmada tip 2 DM'lu hastalarda gizli hepatit B sıklığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha sık olduğu bulunmuştur (%11 karşın %3). Tip 2 DM'lu hasta grubunda HBV DNA düzeyleri  $1 \times 10^2$ - $5 \times 10^3$  kopya/ml, kontrol grubunda ise  $4 \times 10^3$  ile  $1 \times 10^5$  kopya/ml arasında değişiyordu. Bu düzeyler bulaştırıcılık için yeterli düzeydedir. Bu çalışmaya göre her 10 tip 2 diyabetes mellituslu hastanın biri HBsAg (-) olsa bile potansiyel HBV bulaştırıcısıdır. Türkiyede kan donörleri HBV enfeksiyonu açısından sadece HBsAg ile taranmaktadır. HBsAg (-)'ler HBV'ünü bulaştırma açısından güvenilir görünse de, bu durum serum HBV DNA negatifliği açısından yeterli değildir. Donörlerden alınan kanların, eritrosit süspansiyonu, plazma, trombosit, kryopresipitat gibi ürünlere ayrıştırıldığı düşünülür ve herbir ürünün farklı kişilere verildiği gözönüne alınır ise, tek bir donörün enfekte olmasından kaç kişiye enfeksiyonun bulaşabileceği hatırlanmalıdır. En azından gizli HBV enfeksiyonu için risk grubu oluşturanların kan donörü olarak kabul edilmemesi veya HBV DNA ile taranması transfüzyon sonrası HBV enfeksiyon bulaş riskini azaltabilir. Tip 2 DM'un popülasyondaki sıklığı düşünüldüğünde bu çalışmanın sonuçlarının halk sağlığı açısından önemli epidemiyolojik veriler olduğunu düşünmekteyiz.

Ayrıca DM'lu hastalarda da HSK görülme riskinin, DM'lu olmayanlara göre arttığı gösterilmiş ve bunun DM'a eşlik eden non-alkolik steatohepatite bağlı olabileceği düşünülmüştür (10,11). Bu çalışma bize DM'lu hastalarda artmış gizli hepatit B sıklığının, DM'lu olmayanlara göre daha sık HSK görülmesine katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür.

## 8. ÖZET

**Giriş;** Gizli hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) negatif bireylerde hassas tekniklerle kan veya dokuda HBV DNA'nın bulunması olarak tanımlanmıştır. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde daha sık oranda gizli HBV enfeksiyonu bildirilmiştir. Tip 2 diyabetes mellitus (DM)'lu hastalarda görülen immün sistem anormallikleri nedeniyle enfeksiyonlara yatkınlık bilinmektedir. Ayrıca Tip 2 DM'un viral hepatitlerin varlığında primer hepatosellüler kanser riskini arttırdığı gösterilmiştir.

**Amaç;** Hepatit B virüsü ile karşılaşmış (HBsAg -, antiHbc IgG + ve/veya antiHBsAg+) tip 2 DM'lu hastalarda gizli HBV enfeksiyon sıklığını araştırmaktır.

**Materyal-Metod;** Bu çalışmaya Nisan 2006- Haziran 2006 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Konya Uygulama ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji ve Endokrinoloji polikliniğine başvuran ardışık 582 tip 2 diabetes mellituslu hasta değerlendirilerek HBsAg (-) antiHbc IgG (+) ve/veya antiHBsAg (+)'liği saptanan 100 DM'lu hasta, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi Kan Bankasına Nisan 2006- Haziran 2006 tarihleri arasında başvuran ardışık 642 kan donörü değerlendirilerek HBsAg (-) ve antiHbc IgG (+) ve/veya antiHBsAg (+)'liği yaş ve cinsiyetle uyumlu 100 kan donörü alındı. Kronik karaciğer hastalığı, diyaliz gerektiren kronik böbrek yetmezliği, diyalize girme hikayesi, HBsAg, anti-HCV ve anti HIV pozitifliği, karaciğer veya böbrek nakli yapılmış olması, HSK ve diğer malignensilerin saptanmış olması, immünosüpresif ilaç kullanımı çalışmaya alınmama kriterleri olarak belirlendi. Hastaların demografik veriler, kan transfüzyonu, ameliyat, sarılık, HBV için aşılama öyküsü ve alkol kullanımı sorgulanarak kaydedildikten sonra kantitatif olarak HBV DNA ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri belirlendi.



**Bulgular;** Tip 2 DM'lu hastaların yaş ortalaması 48,74±9,68, erkek/kadın oranı 49/51, kontrol grubunun yaş ortalaması 46,44±13,67, E/K 58/42 idi. Demografik özellikler açısından iki grup arasında anlamlı farklılık yoktu (P>0,05). Tip 2 DM'lu hastaların 11 (%11)'inde, kontrol grubunun 3 (%3)'ünde HBV DNA (+) saptandı. Tip 2 DM'lu hasta grubunda HBV DNA düzeyleri  $1 \times 10^2$ - $5 \times 10^3$  kopya/ml, kontrol grubunda ise  $4 \times 10^3$  ile  $1 \times 10^5$  kopya/ml arasında değişiyordu. Tip 2 DM'lu hastalar ile kontrol grubu arasında kan transfüzyonu, ameliyat, HBV'ne karşı aşılama öyküsü ve alkol kullanımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (P>0,05). Tip 2 DM'lu hastalarda ALT düzeylerinin ortalaması kontrol grubundan yüksekti fakat fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (26,24±16,40 karşın 23,28±9,65 P>0,05). Tip 2 DM'lu hastaların 16 (%16)'sında, kontrol grubunun 6 (%6)'sında ALT düzeyi normal değerinin üst sınırı olan 41 U/L'nin üzerinde idi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( P<0,05).

**Sonuç;** Bu çalışmada tip 2 DM'lu hastalarda gizli hepatit B sıklığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha sık olduğu bulunmuştur. Gizli HBV enfeksiyonunun HBV bulaşına neden olduğu ve Tip 2 DM'un popülasyondaki sıklığı düşünüldüğünde bu çalışmanın sonuçlarının halk sağlığı açısından önemli epidemiyolojik veriler olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca sonuçlar DM'lu hastalarda artmış gizli hepatit B sıklığının, DM'lu olmayanlara göre daha sık primer hepatosellüler kanser görülmesine katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür.

## SUMMARY

### THE PREVALENCE OF OCCULT HEPATITIS B VIRUS INFECTION IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS EXPOSED TO HEPATITIS B VIRUS

**Introduction:** Occult hepatitis B virus (HBV) infection is generally defined as the detection of HBV-DNA in the serum or liver tissues of patients who test negative for hepatitis B surface antigen (HBsAg). The clinical significance of occult HBV infection is the transmission of HBV via blood transfusion or organ transplantation and the close association with increased risk of hepatocellular carcinoma. Impairment of immune system is thought to be responsible for more frequent and severe infections in diabetic patients.

**Aim;** In this study, we aimed to evaluate the prevalence of occult HBV infection in HBsAg negative/anti-HBc IgG positive and/or antiHBs positive type 2 diabetes mellitus patients.

**Material-Method;** The study involved 100 HBsAg negative/anti-HBc IgG positive and/or AntiHBs positive type 2 diabetes mellitus patients and 100 age and sex matched, HBsAg negative/anti-HBc IgG positive and/or antiHBs positive healthy blood donors. Exclusion criteria were chronic liver disease, chronic renal failure requiring dialysis, positive serology for HBsAg, HCV or HIV, diagnosis of malignancy or prior organ transplantation history, use of immunosuppressive therapy. All patients were questioned about the prior history of blood transfusion and operation, hepatitis, vaccination for HBV, alcohol use and were tested for serum ALT and HBV DNA, quantitatively.

**Results;** Of the type 2 diabetic patients, 51 were women and 49 were men with a mean age of  $48,74 \pm 9,68$ . Gender and mean age did not differ significantly between the two groups ( $P > 0,05$ ). HBV DNA was detected in 11 (11%) of the diabetic subjects ( $1 \times 10^2 - 5 \times 10^3$  copies/ml) and in 3 (3%) of the controls ( $4 \times 10^3 - 1 \times 10^5$  copies/ml). The difference between groups was statistically significant ( $P < 0,05$ ). Blood transfusion or history of surgery, vaccination for HBV, alcohol use were similar in both groups and no statistically significant relation was detected ( $P > 0,05$ ). Although the higher serum ALT levels were detected in diabetic patients ( $26,24 \pm 16,40$  IU/L vs  $23,28 \pm 9,65$  IU/L) the difference between groups were not statistically significant ( $P > 0,05$ ).

**Conclusion;** These data suggest that, the prevalence of occult HBV infection is higher in diabetics compared to healthy controls and this may contribute to the increased prevalence of primary hepatocellular carcinoma in diabetics.

## 8. KAYNAKLAR

1. Torbenson M, Thomas DL: Occult hepatitis B infection. *Lancet Infect Dis.* 2002;2:479-486.
2. Saraswat S, Banerjee K, Chaudhury N, Mahant T, Khandekar P, Gupta R.K, Naik S. Posttransfusion hepatitis type B following multiple transfusions of HBSAg-negative blood. *J.Hepatol* 1996;25:639-643.
3. Feitelson M, Lega L, Guo J, Resti M, Rossi ME, Azzari C, Blumberg BS, Vierrucci A: Pathogenesis of posttransfusion viral hepatitis in children with beta-thalassemia. *Hepatology* 1994; 19:558-568.
4. Reherman B, Ferrari C, PasquinelNelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persist for decades after patients recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med* 1996;2:1104-1108.
5. Pao CC, Yang WL, Wu SY, Lai GM, Shih LY, Sun CF, Liaw YF. Presence of hepatitis B virus DNA in serum of surface-antigen-seronegative immunocompromised patients. *J Clin Microbiol.* 1987;25:449-51
6. Shire NJ, Rouster SD, Rajcic N, Sherman KE Occult hepatitis B in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2004;36:869-75
7. Mphahlele MJ, Lukhwareni A, Burnett RJ, Moropeng LM, Ngobeni JM. High risk of occult hepatitis B virus infection in HIV-positive patients from South Africa *J Clin Virol.* 2006;35:14-20.
8. Unger RH, Foster DW. Diabetes mellitus. In: Wilson JD, Foster DW editors, *Williams' textbook of endocrinology*, 8th ed., Philadelphia: Saunders, 1992, pp. 1255–333

9. Marhoffer W, Stein M, Maeser E, Federlin K. Impairment of polymorphonuclear leukocyte function and metabolic control of diabetes. *Diabetes Care* 1992;15:256–60.
10. Matsuo M. Association between diabetes mellitus and hepatocellular carcinoma: results of a hospital- and community-based case-control study. *Kurume Med J.* 2003;50:91-8.
11. El-Serag HB, Richardson PA, Everhart JE. The role of diabetes in hepatocellular carcinoma: a case-control study among United States Veterans *Am J Gastroenterol.* 2001;96:2462-7.
12. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733-1745
13. Alter MJ. Epidemiology and prevention of hepatitis B. *Semin Liver Dis* 2003;23:39-46.
14. Ihsak K, Baptista A, Bianchi L . Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22:696-699.
15. Torberson M, Lee JH, Choti M. Hepatic adenomas: analysis of sex steroid receptor status and wnt signaling pathway. *Mod Pathol* 2002;30:189-196.
16. Mıstık R, Balık İ. Türkiye’de viral hepatitlerin epidemiyolojik analizi. In: Kılıçturgay K, Badur S, editors. *Viral Hepatit, İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, 2003; 10-55.
17. Ökten A. Türkiye’de karaciğer sirozunun etiyolojisi. ‘Hepatolojide Güncel Gelişmeler’ Sempozyumu, 16 Ekim 1998, Cuma, Diyarbakır, 1998; 67.
18. Hsia CC, Scudamore CH, Di Bisceglie AM, Tabor E: Molecular and serological aspects of HBsAg-negative hepatitis B virus infections in North America. *J Med Virol* 2003;70:20-26.

19. Chu CJ, Keeffe EB, Han SH. Hepatitis B virus genotypes in the United States: results of a nationwide study. *Gastroenterology* 2003; 70:20-26.
20. Michalak TI, Pardoe IU, Coffin CS. Occult lifelong persistence of infectious hepadnavirus and residual liver inflammation in woodchucks convalescent from acute viral hepatitis. *Hepatology* 1999;29:928-938.
21. Yang HL, Lu SN, Liaw YF. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *N Eng J Med* 2002; 347:168-174.
22. Pawlotsky JM, Bastie A, Hezode C. Routine detection and quantification of hepatitis B virus DNA in clinical laboratories: performance of three commercial assays. *J Virol Methods* 2000;85:11-21.
23. Xunrong L, Yan AW, Liang AR, Lau GK. Hepatitis B virus (HBV) reactivation after cytotoxic or immunosuppressive therapy-pathogenesis and management. *Rev Med Virol* 200;111:287-99.
24. Lo YM, Lo ES, Mehal WZ. Geographical variation in prevalence of hepatitis B virus DNA in HBsAg negative patients. *J Clin Pathol* 1993;46:304-08.
25. Boyacioglu S, Arslan H, Demirhan B, Gür G, Turan M, Haberal M. Is there risk of transmitting Hepatitis B virus in accepting hepatitis B core antibody-positive donors for living related liver transplantation? *Transplantation proceeding* 2001;33:2802-2803
26. Minuk GY, Sun DF, Uhanova J, Zhang M, Caouette S, Nicolle LE, Gutkin A, Doucette K, Martin B, Giulivi A. Occult hepatitis B virus infection in North American community-based population. *J. Hepatol* 2005;42:480-85
27. Koike K, Kobayashi M, Gondo M, Hayashi I, Osuga T, Takada S.. Hepatitis B virus DNA is frequently found in liver biopsy samples from hepatitis C virus infected Chronic hepatitis patients . *J Med Virol* 1998; 54:249-55.

28. Nirei K, Kaneko M, Moriyama M, Arakawa Y. The clinical features of chronic hepatitis C are not affected by the coexistence of hepatitis B virus DNA in patients negative for hepatitis B surface antigen. *Intervirology* 2000; 43:95-101
29. De Maria N, Colantoni A, Friedlander L. The impact of previous HBV infection on the course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000;95:3529-3536
30. Jilg W, Sieger E, Zavhoval R, Schatzl H. Individuals with antibodies against hepatitis B core antigen as the only serological marker to hepatitis B infection: high percentage of carriers of hepatitis B and C virus. *J Hepatol* 1995;23:14-20.
31. Sagnelli E, Coppola N, Scolastico C, Mogavero AR, Filippini P, Piccinino F. HCV genotype and "silent" HBV co-infection :two main risk factors for a more severe liver disease. *J Med Virol* 2001;64:350-55.
32. Hou J, Wang Z, Cheng J. Prevalence of naturally occurring surface gene variants of hepatitis B virus in nonimmunized surface antigen-negative Chinese carriers. *Hepatology* 2001;34:1027-34.
33. Stoll-Becker S, Repp R, Glebede D. Transcription of hepatitis B virus in peripheral blood mononuclear cells from persistently infected patients. *J Virol.* 1997; 71:5399-407.
34. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimando G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999;341:22-26.
35. Besişık F, Akyüz F. Okult HBV enfeksiyonu. In: Cakaloğlu Y, Ökten A. Türkiye'de viral hepatitlerin epidemiyolojik analizi. 2003;77-89.
36. Weinberger KM, Bauer T, Bohm S, Jilg W. High genetic variability oh the group-specific a determinant of hepatitis B virus surface antigen and the

corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J General Virol* 2000;81:1165-1174.

37. Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. *J Virol Hepatol* 1997;4 (suppl.1):11-20.
38. Brechot C, Thiers V, Kremsdorf D, Nalpas B, Pol S, Paterlini-Brechot P: Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely 'occult'? *Hepatology* 2001; 34: 194-203.
39. Bouffard P, Lamelin JP, Zoulim F, Pichoud C, Trepo C. Different forms of hepatitis B virus DNA and expression of HBV antigens in peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis B. *J Med Virol* 1990; 31:312-317.
40. Feray C, Zignego AL, Samuel D, et al. Persistent hepatitis B infection of mononuclear blood cells without concomitant liver function. The liver transplantation model. *Transplantation*. 1990;49:1155-1158
41. Besisik F, Karaca C, Akyüz F et al. Occult HBV infection and YMDD variants in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol* 2003;38:506-510.
42. Liaw YF. Role of hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection. *Hepatology* 1995; 22:1101-1108.
43. Kazemi-Shirazi L, Petermann D, Muller C. Hepatitis B virus DNA in sera and liver tissue of HBsAg negative patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2000;33:785-90.
44. Chemin I, Zoulim F, Merle P, et al. High incidence of hepatitis B infection among chronic hepatitis cases of unknown etiology. *J Hepatol* 2001;34:447-454



45. Fukuda R, Ishimura N, Hamamoto S. Co-infection by serologically-silent hepatitis B virus may contribute to poor interferon response in patients with chronic hepatitis C by down regulation of type-I interferon receptor gene expression in the liver. *J Med Virol* 2001;63:220-27.
46. Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriya K, Fujie H, Tsutsumi T, Takayama T, Makauuchi M, Kimura S, Kolke K. The significance of hepatitis B virus DNA detected in hepatocellular carcinoma of patients with hepatitis C. *Cancer* 2000;88:2478-2486.
47. Yu MC, Yuan JM, Ross RK, Govindarajan S. Presence of antibodies to the hepatitis B surface antigen is associated with excess risk for hepatocellular carcinoma among non-Asians in Los Angeles County. *California Hepatol* 1997; 25:226-228.
48. Sheu JC; Huang GT, Shih LN. Hepatitis C and B viruses in hepatitis B surface antigen –negative hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1992;103:1322-27.
49. Brechot J, Jaffredo F, Lagorce D. Impact of HCV,HBV and GBV-C/HGV on hepatocellular carcinomas in Europe:results of European concerted action. *J Hepatol* 1998;29:173-83.
50. Takeuchi M, Fujimoto J,Niwamoto H, Yamamoto Y, Okamoto E. Frequent detection of hepatitis virus-X gene DNA in hepatocellular carcinoma and adjacent liver tissue in hepatitis B surface antigen negative patients.*Dig Dis Sci* 1997; 42:2264-69.
51. Kubo S, Tamori A, Ohba K. Previous or occult hepatitis B virus infection in hepatitis C virus associated hepatocellular carcinoma without hepatic fibrosis. *Dg Dis Sci* 2001;46: 2408-14.

52. Lee DS, Huh K, Lee EH, Lee DH, Hong KS, Sung YC. HCV and HBV coexist in HBsAg negative patients with HCV viremia: possibility of coinfection in these patients must be consider in HBV-endemic area. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12:855-61.
53. Koike K, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Kyoji M. Molecular mechanism of viral hepatocarcinogenesis. *Oncology* 2002;2(suppl 1):29-37
54. Shirota Y, Kaneko S, Honda M, Kawai HF, Kobayashi K. Identification of differentially expressed genes in hepatocelular carsinoma with cDNA microarrays . *Hepatology* 2001;33:832-40.
55. Arbuthnot P, Capovilla A, Kew M. Putative role of hepatitis B virus X protein in hepatocarcinogenesis:effects on apoptosis, DNA repair, mitogen-activated protein kinase and JAK/STAT pathways. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15:357-68.
56. Poussine K, Dienes H, Sirma H. Expression of mutated hepatitis B virus X genes in human hepatocellular carcinomas. *Int J Cancer* 1999;80:497-505.
57. Michalak TI, Pasquinelli C, Guillhot S, Chisari FV. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest* 1994; 93:230-239.
58. Yuki N, Nagaoka T, Yamashiro M, Mochizuki K, Kaneko A, Yamamoto K, Omura M, Hikiji K, Kato M. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 2003;37:1172-1179.
59. Yotsunayanagi H, Yasuda K, Ino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T, Kimura S, Koike K. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998; 27:1377-1382 .

60. Berasain C, Betes M, Panizo A, Ruiz J, Herrero JI, Civeira MP, Prieto J. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasaemia of unknown etiology. *Gut* 2000;47:429-435.
61. Brind A, Jiang J, Samuel D, et al. Evidence of selection of hepatitis B mutants after liver transplantation through peripheral blood mononuclear cell infection. *J Hepatol* 1997; 26:228-235.
62. Chung RT, Feng S, Delmonico FL. Approach to the management of allograft recipients following the detection of hepatitis B virus in the prospective organ donor. *Am J Transplant* 2001;1:185-191.
63. Pao CC, Yang WL, Wu SY, et al. Presence of hepatitis B virus DNA in serum of surface-antigen-seronegative immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* 1987;25:449-451.
64. Chazouilleres O, Mamish D, Kim M, et al. Occult hepatitis B virus as source of infection in liver transplant recipients. *Lancet* 1994;343:1685-1690.
65. Schreiber GB, Bush MP, Keinman SH, et al. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med* 1996;34:1685-1690.
66. Regan FA, Hewitt P, Barbara JA, Contreras M. Prospective investigation of transfusion transmitted infection in recipients of over 20 000 units of blood:TTI Study group. *Br Med J* 2000;320:403-406.
67. Mosley JW, Stevens CE, Aach RD, Hollinger FB, Mimms L, Solomon LR, Barbosa LH, Nemo GJ. Donor screening for antibody to hepatitis B core antigen and hepatitis B virus infection in transfusion recipients. *Transfusion* 1995; 35:5-1.
68. Wachs ME, Amend WJ, Ascher NL, Bretan PN, Emond J, Lake JR, Melzer JZ, Roberts JP, Tomlanovich SJ, Vincenti F. The risk of transmission of hepatitis B

from HBsAg (-), HbcAb (+), HBIGM (-) organ donors. *Transplantation* 1995;59:230-234.

69. Lowell JA, Howard TK, White HM, Shenoy S, Huettner PC, Brennan DC, Peters M. Serological evidence of past hepatitis B infection in liver donor and hepatitis B infection in liver allograft. *Lancet* 1995;345:1084-1085.
70. Sugg U, Schenzle D, Hess G. Antibodies to hepatitis B core antigen in blood screened for alanine aminotransferase level and hepatitis non-A-non-B in recipients. *Transfusion* 1988;28:386-388.
71. Soldan K, Ramsay M, Collins M: Acute hepatitis B infection associated with blood transfusion in England and Wales: review of database. *Br Med J* 1999;318:95-96.
72. Saraswat S, Banerjee K, Chaudry N, Mahant T, Khanderkar P, Gupta RK, Naik S: Post-transfusion hepatitis type B following multiple transfusions of HBsAg-negative Blood. *J Hepatol* 1996;25:639-643.
73. Prince AM, Stephan W, Brotman B. B-propiolactone irradiation : a review of its effectiveness for inactivation of viruses in blood derivatives. *Rev Infect Dis* 1983;5:92-107.
74. Uemoto S, Sugiyama K, Marusawa H, Inomata Y, Asonuma K, Egawa H, Kiuchi T, Miyake Y, Tanaka K, Chiba T: Transmission of hepatitis B virus from hepatitis B core antibody-positive donors in living related liver transplants. *Transplantation* 1998;65:494-499.
75. National Diabetes Data Group. Classification and Diagnosis of diabetes mellitus and categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979; 28:1039-57.

76. Lebovitz HE. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. In: Lebovitz HE, Ed. Therapy for diabetes mellitus and related disorders. American Diabetes Association Clinical Education Series, Third Edition, Virginia, 1998:4-7.
77. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20(supp 1):1183-97.
78. Peterson CM, Jones PL, Koenig RJ Reversible hematologic sequelae of diabetes mellitus. *Annals Intern Med* 1977; 86:425-9 .
79. Bagdade JD, Stewart M, Walters E. Impaired granulocyte adherans: A reversibl defect in patients With poorly controlled diabetes. *Diabetes* 1978; 27:677-81.
80. Mowat AG, Baum J. Chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes from patientswith diabetes mellitus. *N. Engl K Med* 1971; 284: 621-7.
81. Dziatkowiak H, Kowalska M, Denys A. Patogocytic and bactericidal activity of granulocytes in diabetic children. *Diabetes* 1982; 31:1041-3.
82. Sentochnik DE, Eliopoulos GM. Infection and Diabetes In: Khan CR, Weir GC eds. *Joslin's Diabetes Mellitus*. Lea & Fabeger Co. Phledalphia 1994 :867-89.
83. Perillie PE, Nolan JP, Finch SC. Studies of the resistance to infection in diabetes mellitus: Local exudattive cellular response. *J Lab Clin Med* 1962; 59:1008-15.
84. Pozzilli P, Signore A, Leslie RDG. Infections, immunity and diabetes. In: Pickup J, willams G, eds. *Text book of diabetes*. Oxford: Blackwell Science Ltd.,1997:1231-41.

85. Torbenson M, Kannangal R, Astemborski J, Strathdee SA, Vlahov D, Thomas DL. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* 2004;39:51-7.
86. Toyoda H, Hayashi K, Murakami Y, Honda T, Katano Y, Nakano I, Goto H, Kumada T, Takamatsu J. Prevalence and Clinical Implications of Occult Hepatitis B Viral Infection in Hemophilia Patients in Japan *J Med Virol*. 2004;73:195-9.
87. Mıstık R, Balık İ. Türkiyede viral hepatitlerin epidemiyolojik analizi. *Viral Hepatit* 2003, Viral hepatit ile savaşım derneği yayını, İstanbul, 10-55.
88. Pahsa A, Üzsoy MF, Altunay H, Koçak N, Ekren Y, Çavuşoğlu Ő, İstanbulda hepatit B ve C seoprevelansı. *Gülhane Tıp Derg* 1999;41:325-330.
89. Garcia-Montalvo BM, Farfan-Ale JA, Acosta-Viana KY, Puerto-Manzano FI. Hepatitis B virus DNA in blood donors with anti-HBc as a possible indicator of active hepatitis B virus infection in Yucatan, Mexico. *Transfusion Med*. 2005;15:371-378.
90. Grop P, Jilg W, Bornhak H et al. Serological pattern 'anti HBc alone': report on a workshop. *J Med Virol* 2006;2:450-455.
91. Chaudhuri V, Nanu A, Panda SK, Chand P. Evaluation of serological screening of blood donors in India reveals a lack of correlation between antiHBc titer and PCR-amplified HBV DNA: *Transfusion* 2003;43:1442-1448.
92. Yuki N, Nagaoka T, Yamashiro M, Mochizuki K, Kaneko A, Yamamoto K, Omura M, Hikiji K, Kato M. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 2003;37:1172-1179.

93. Tabor E, Purcell RH, Gerety RJ. Primate animal models and tiered inocula for the study of human hepatitis A, hepatitis B, and non-A, non-B hepatitis. *J. Med Primatology* 1983;12:305-318.
94. Ahn SH, Park YN, Park JY, Chang HY, Lee JM, Shin JE, Han KH, Park C, Moon YM, Chon CY. Long-term clinical and histological outcomes in patients with spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance. *J Hepatol* 2005;42:188-194.
95. El-Serag HB, Richardson PA, Everhart JE. The role of diabetes in hepatocellular carcinoma: a case-control study among United States Veterans. *Am J Gastroenterol.* 2001;96:2462-7.