



# **HBV:**

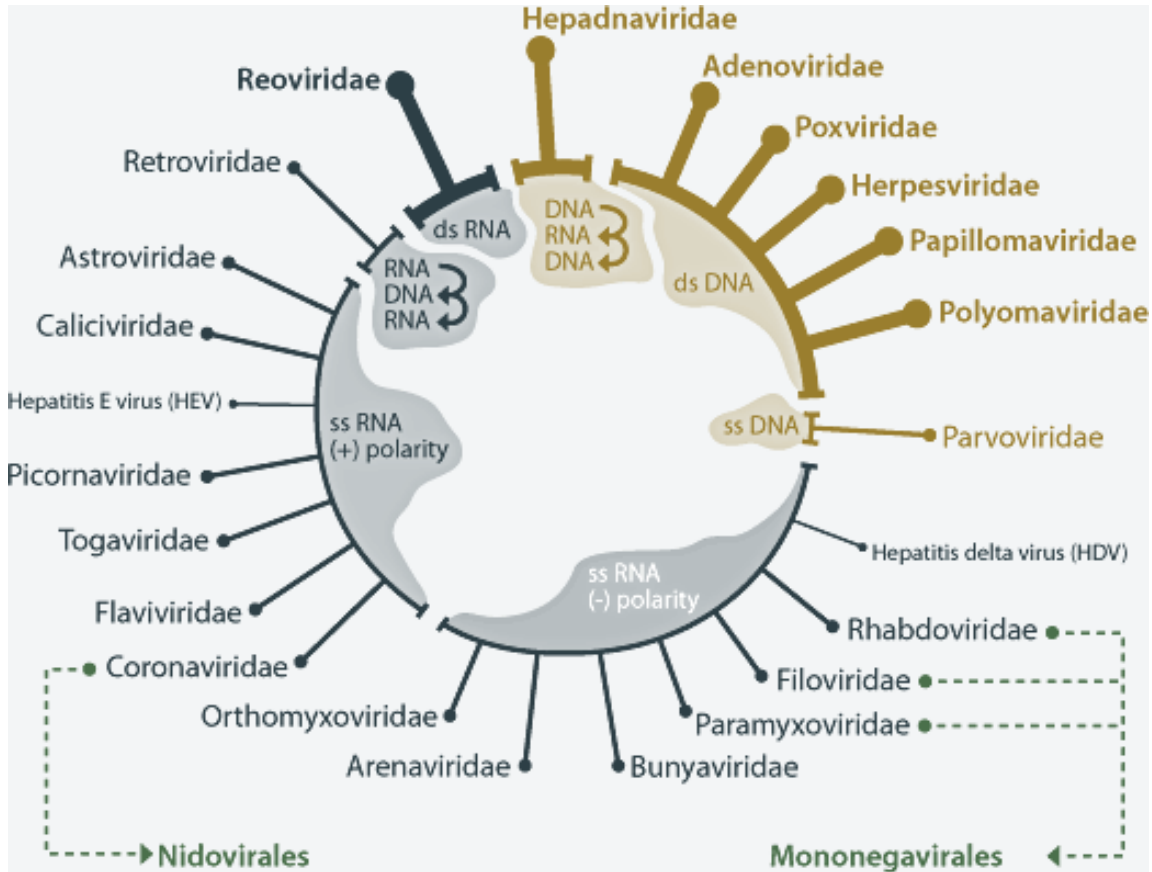
## **Viroloji ve Epidemiyoloji**

Prof. Dr. Murat Sayan  
Kocaeli Üniversitesi

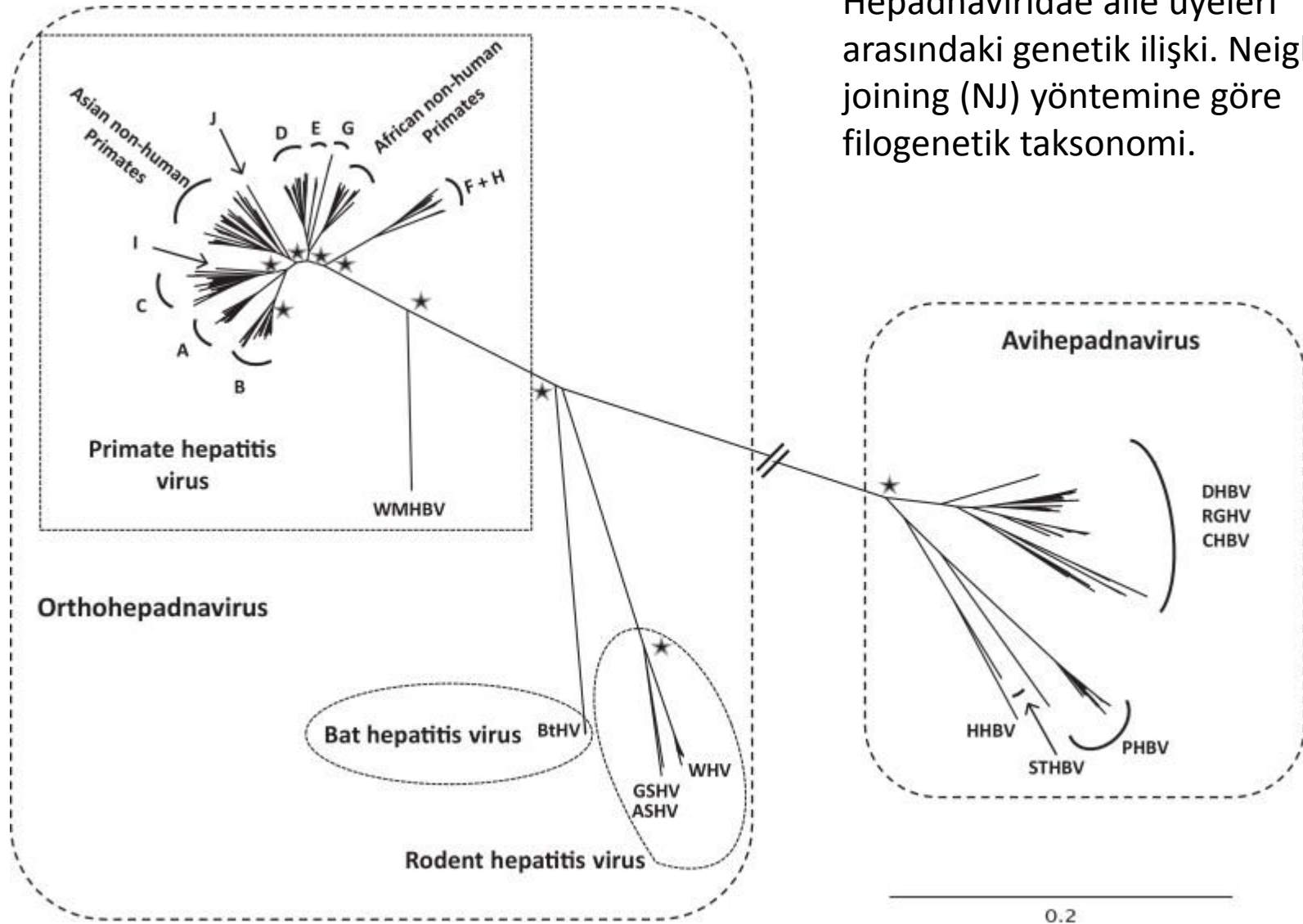
Hepatit Akademisi: Temel Bilgiler  
11 -13 Ocak 2019  
Edirne

# Taksonomi

Aile	Cins	Tür	Konak
<i>Hepadnaviridae</i>	<i>Orthohepadnavirus</i>	Hepatit B virusu	Vertebralılar
	<i>Avihepadnavirus</i>	Duck hepatit B virusu	Vertebralılar



# Taksonomi



Hepadnaviridae aile üyeleri arasındaki genetik ilişki. Neighbour joining (NJ) yöntemine göre filogenetik taksonomi.

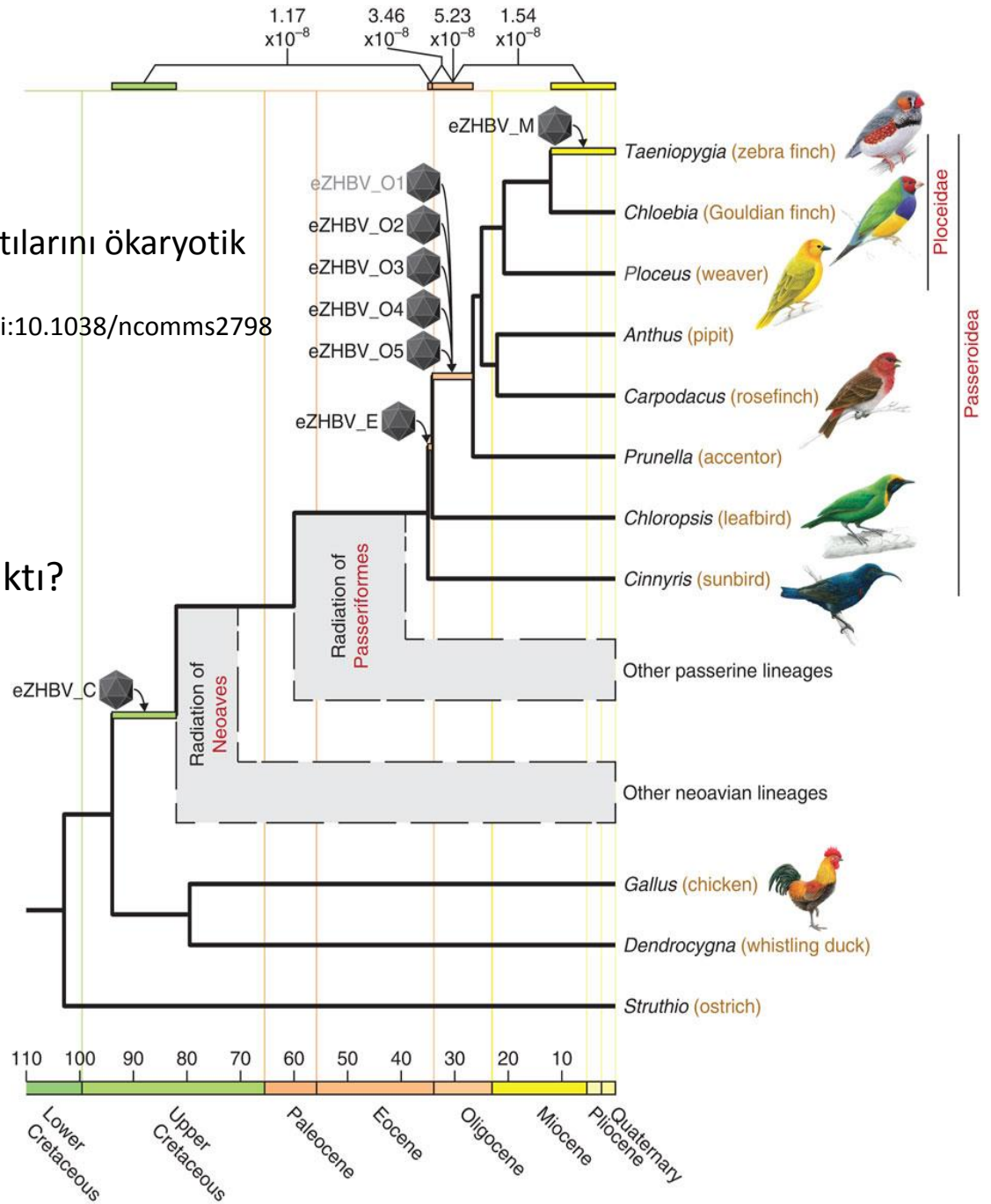
# Paleoviroloji

Eski (ansient) endojen viral element kalıntılarını ökaryotik genom içinde arar, tanımlar ve tarihler.

Nature, doi:10.1038/ncomms2798

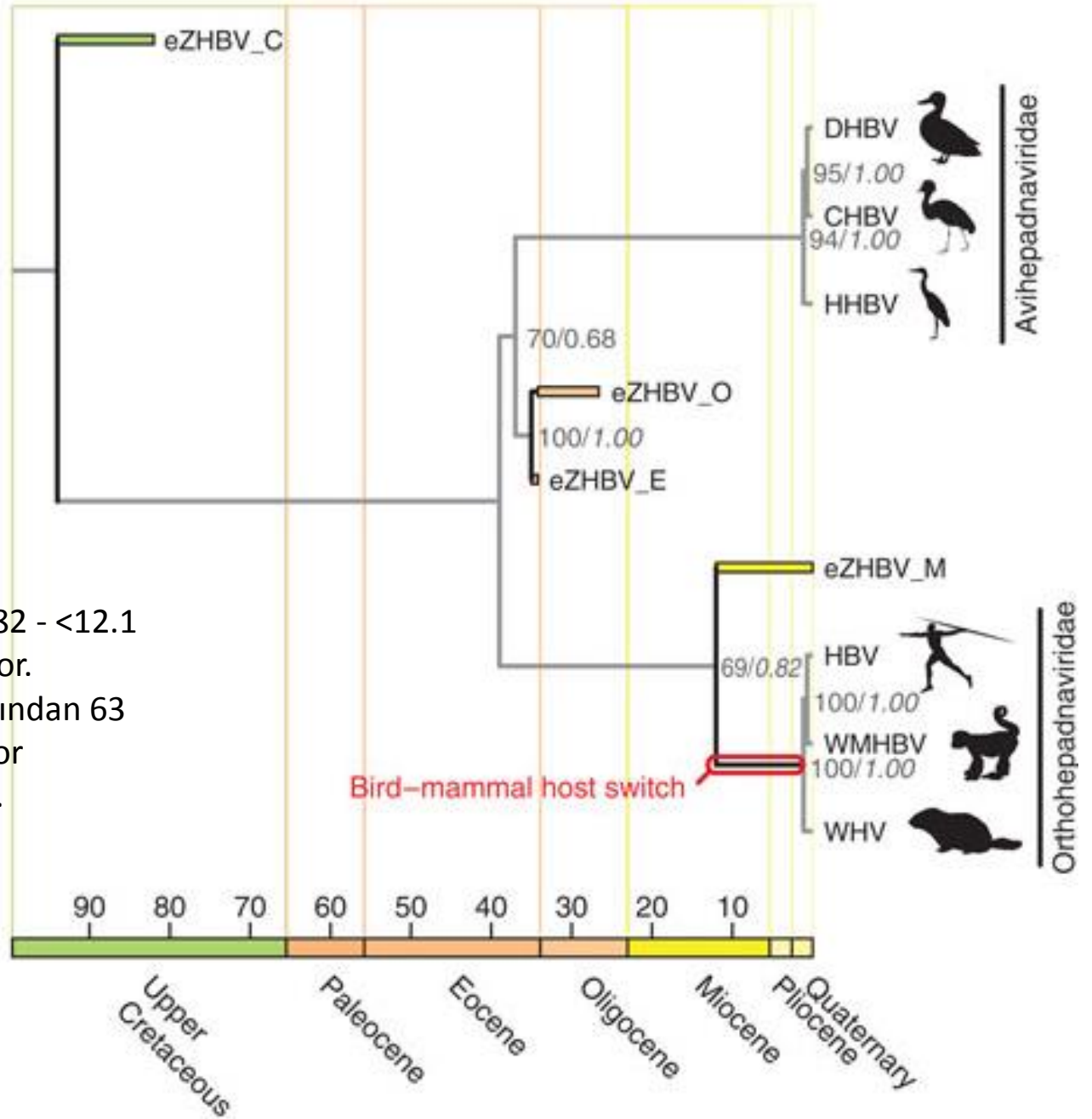
İlham verici bir soru:

Viruslar ilk olarak ne zaman ortaya çıktı?

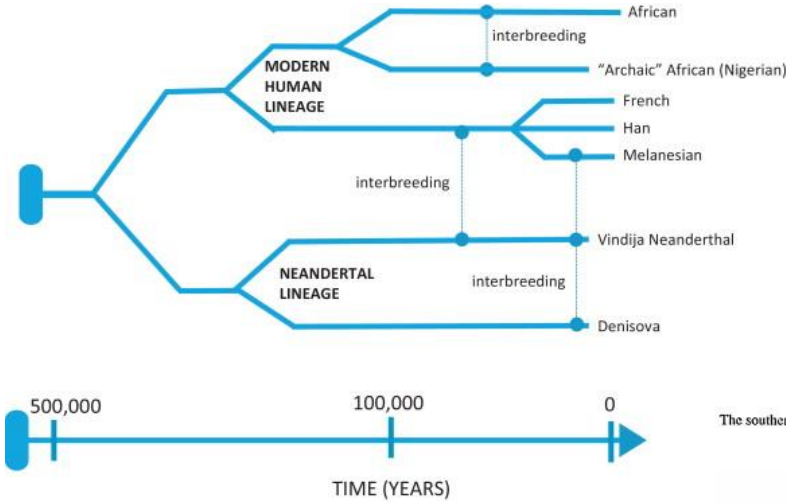


Kanatlılar,  
günümüzdeki  
HBV'nin  
potansiyel atasıdır.

- Muhtemelen kuş/memeli melezleşmesi gerçekleşti.
- HBV ters transkripsiyonu >82 - <12.1 milyon yıl önceye tarihleniyor.
- Hepadnaviridae, bilinen yaşından 63 milyon yıl daha eskiye gidiyor (Mesozoic ve Cenozoic çağ).

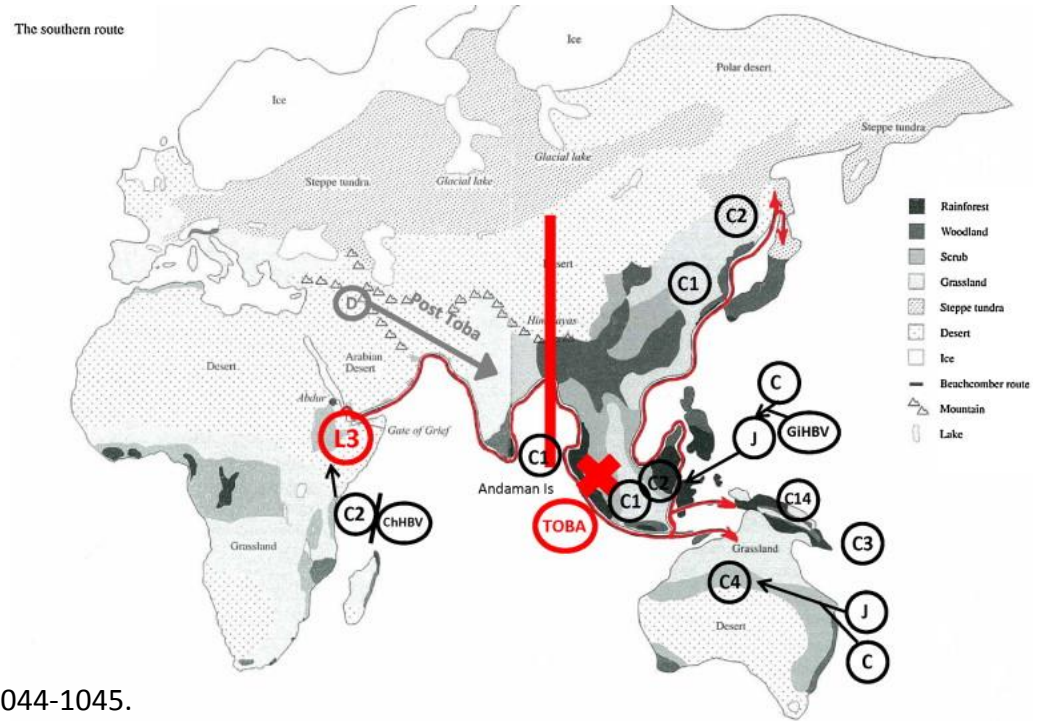


İnsan ailesi ağacı. Ağaç; *H.sapiens*, Neanderthals, Denisovans ve arkaik African (Nigerian) arasındaki ilişkileri gösteriyor.



Bir grup Afrikalı mt DNA'sı (L3); 84 000 yıl önce. Sahil şeridi boyunca Asya'yı kat etmiş.

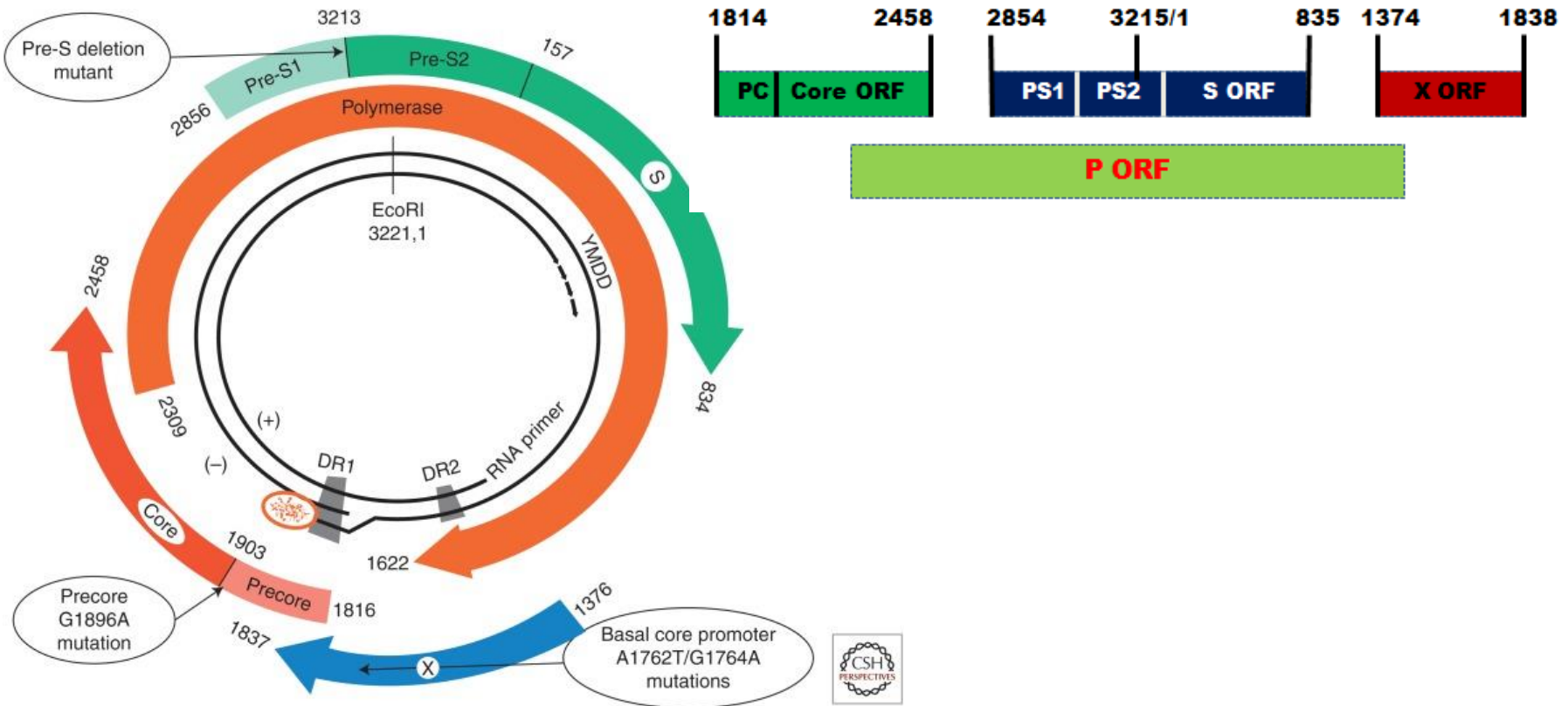
Kanatlı-primat melezleşmesi:  
iki farklı HBV'nin tek bir canlıda rekombinasyonu



Bustamante CD, et al. Human origins. Nature 2010; 468:1044-1045.  
Oppenheimer S. 2004. "Out of Eden", Robinson, London, p.70-71.

# HBV'nin genom organizasyonu

- Parsiyel (eksik) çift iplikli sirküler DNA (rc-dsDNA)
- Genom 3200 nt (3.2 kb) büyüklüğünde.
- Ters transkriptaz enzimi var.
- 4 ayrı ORF kodluyor (S, C, P ve X).
- Patogenezde rolü bulunan doğal gelişen mutasyonları var.



# ORF çıkışması

HBV genomu ve kodlanan proteinler

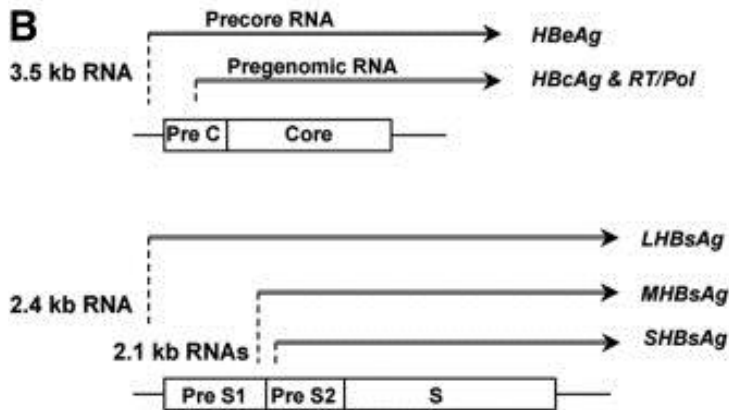
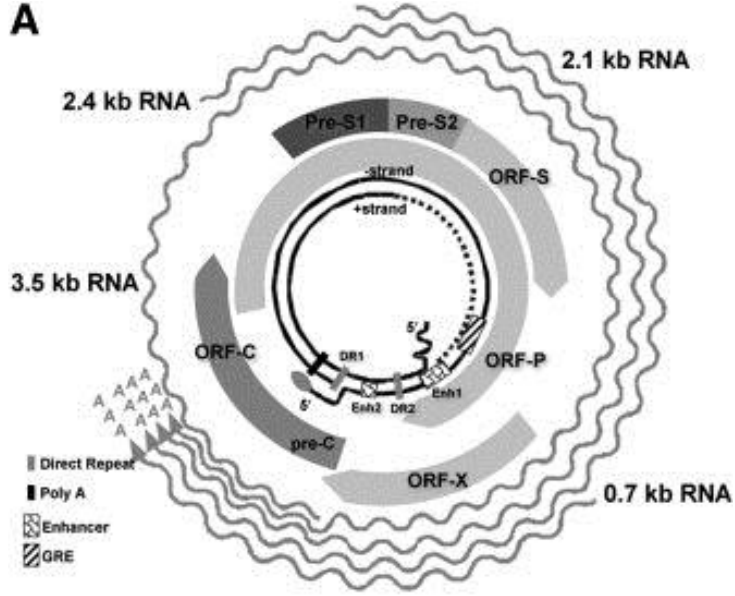
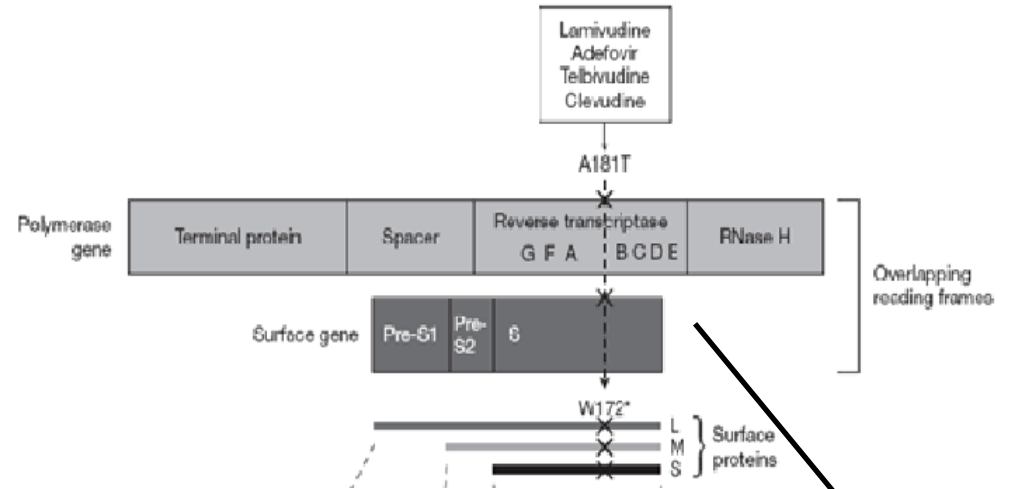


Figure 1. Polymerase/surface gene overlap



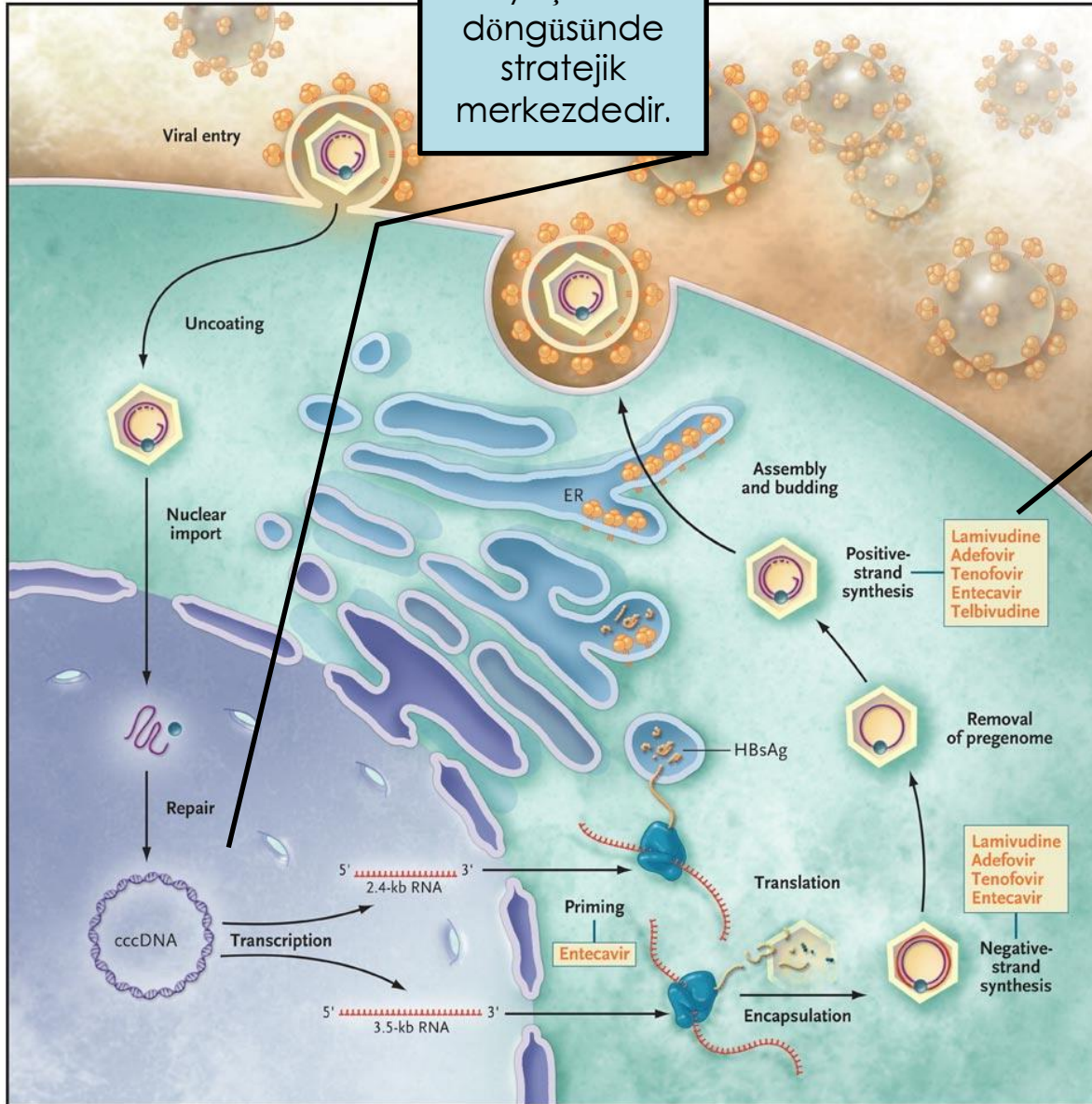
*pol/S* geni çıkışması  
oral antiviral  
tedavide sorun  
yaratırken  
analizlerde kolaylık  
sağlar.



# Replikasyon

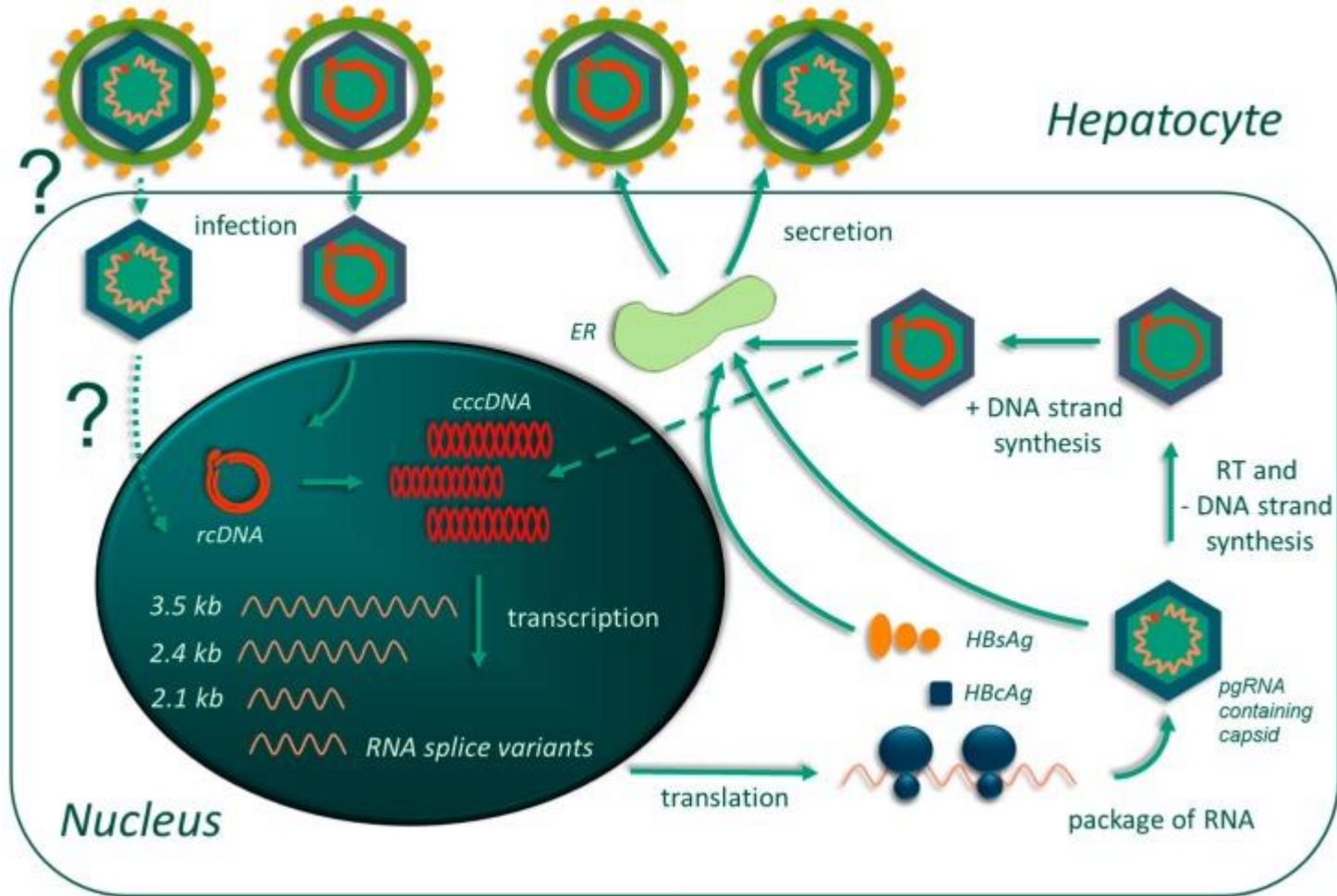
cccDNA ve pgRNA, HBV yaşam döngüsünde stratejik merkezdedir.

Oral antiviraller HBV replikasyonunda farklı basamakları hedefler. Ancak stratejik merkeze yaklaşılamazlar.



Serumda kapsidlenmemiş pgRNA bulunur.

Wang J, et al. Serum hepatitis B virus RNA is encapsidated pregenome RNA that may be associated with persistence of viral infection and rebound. J Hepatol 2016;65:700–710.



## HBV'nin pgRNA'sı tanıda kullanılabilir.

cccDNA tanısı için biyopsi almak gerekir. Bu durumda pgRNA HBV'nin replikasyon aktivitesi için ideal belirteç olabilir.

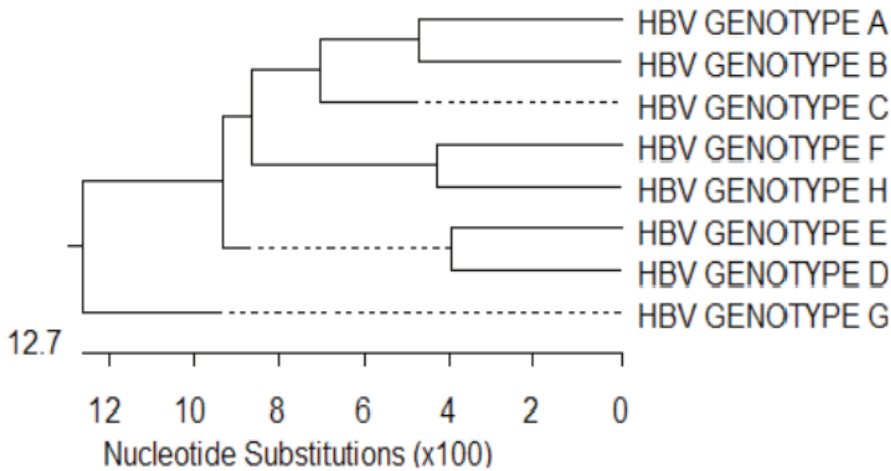
	Metod	Özgüllük	Tanısal limit	Avantaj	Dezavantaj
<b>HBV RNA</b>	RUO HBV RNA assay (Abbot)	Yüksek özgüllük	44 IU/mL	Duyarlı; otomatize	-
	RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends) PCR	Özgül	54 IU/mL	İzolasyonda ek basamak yok; duyarlı	-
	DNaz I işlemi sonrası tanı	Özgül	66.7 IU/mL	-	Komplex izolasyon işlemi var (DNaz I işlemi ve saflaştırma); zaman alıcı; var olan tüm DNA giderilemiyor.

Kostyusheva A, *et al.* Genes 2018; 9(10): 483

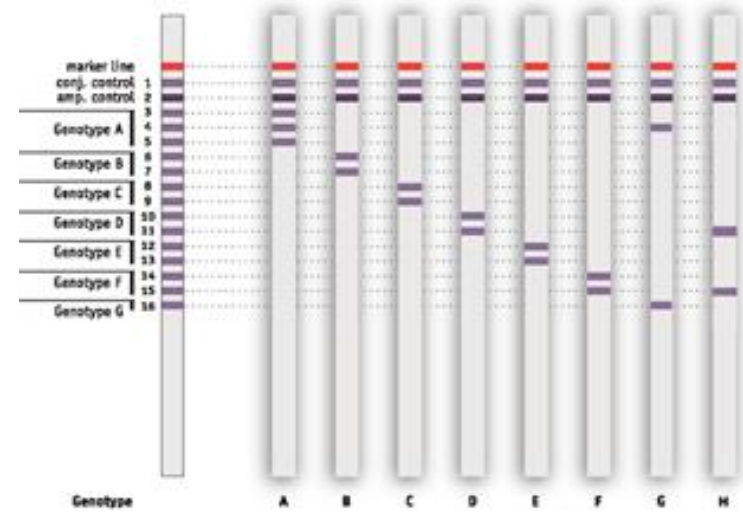
RACE PCR için bakılacak makale: Giersch K, *et al.* Serum HBV pgRNA as a clinical marker for cccDNA activity. J. Hepatol. 2017;66:460–462

# Genotip

Genotiplendirme, filogenetik ağaçta tüm genom sekans uzunluğuna göredir (A - H). Genomdaki farklılık yaklaşık en az %8 oranındadır.



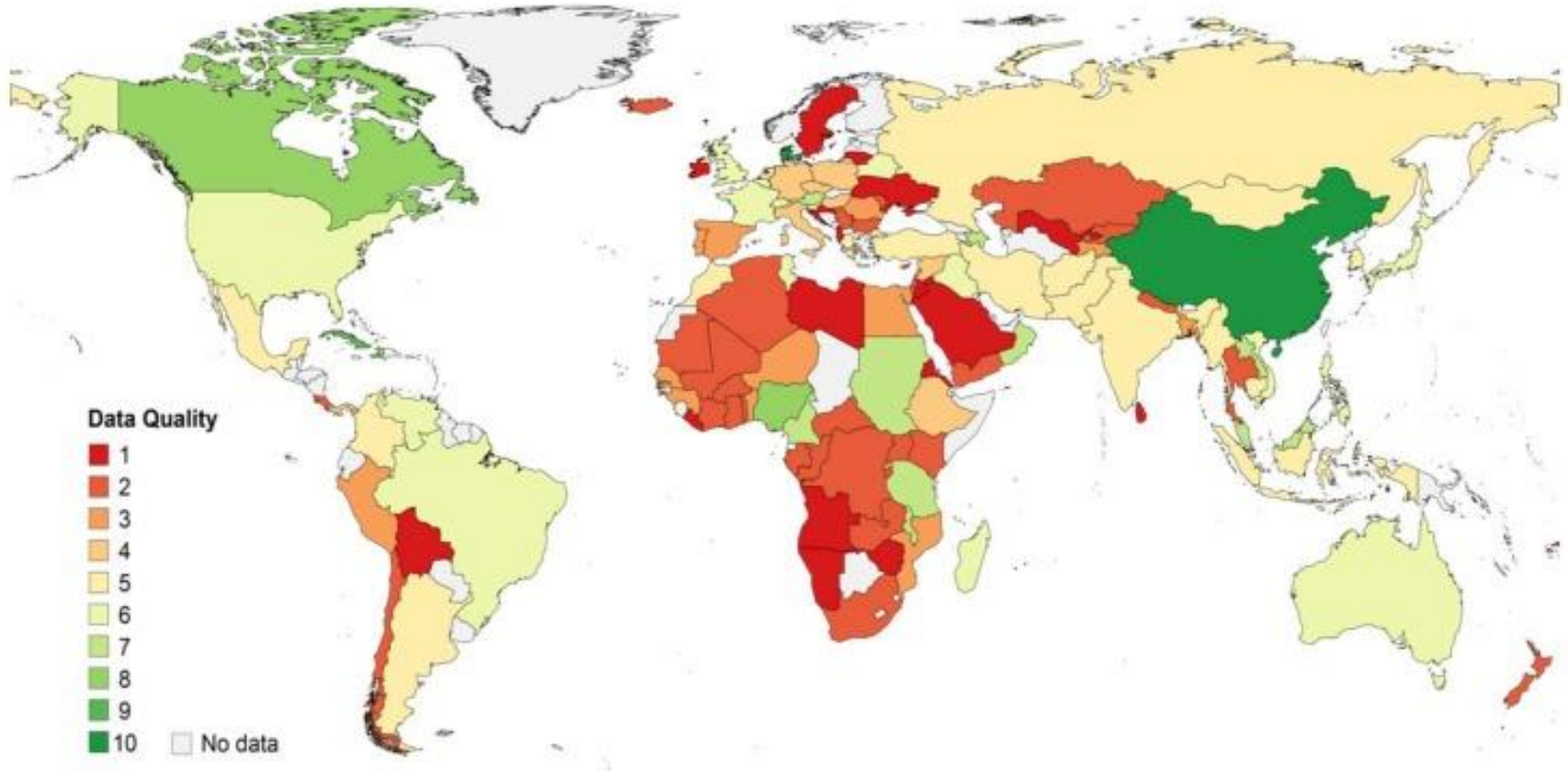
Filogenetik ağaç;DNA Sekanslama



Hibridizasyon;LiPA

HBV, günümüzdeki genotip çeşitliliğine muhtemelen ~35 000 yıl önce ulaştı.

# HBV genotiplerinin belirlenmesinde data kalitesinin küresel görünümü



Data kalitesi; yeşil/güçlü, kırmızı/zayıf

Skorlamanın temeli: örnekleme bölgeselliği, çalışma grubunun oluşumu, örnekleme yılı, genotipleme yöntemi, analiz süresi, örnekleme büyüklüğü

## HBV'de genotip - klinik ilişkisi

**Table 3 Clinical associations with hepatitis B virus genotypes**

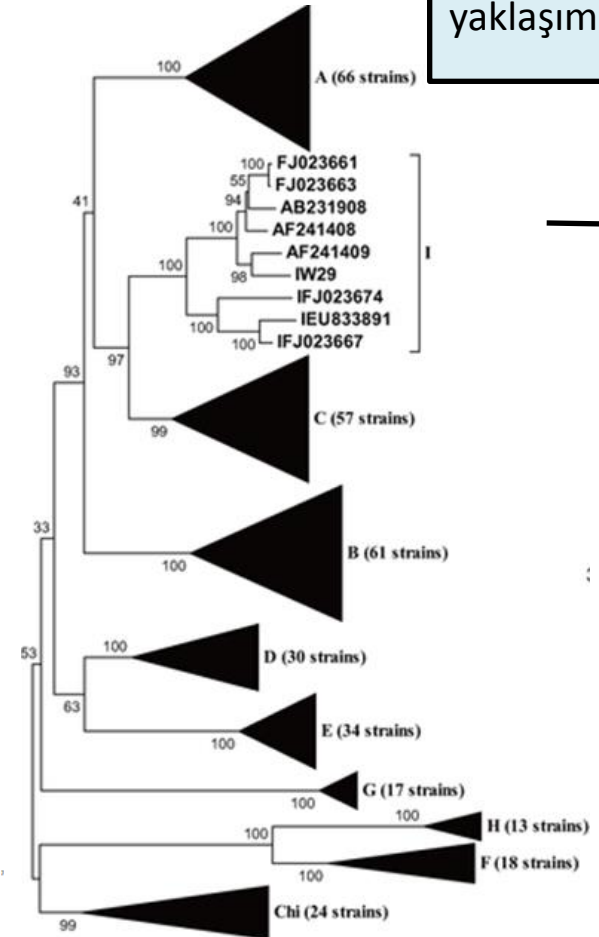
	A	B	C	D	E	F	G	H
Progression to chronicity	+++	++	+++	++				
Histological inflammation	++	++	+++	+++		+/-		
Histological fibrosis	+	+	++	++		+/-		
Association with advanced liver disease	+	++	+++	++		+/-		+
Association with HCC	+ (subgeno A1)	+	++	++		++ (subgeno F2)		+
Early HBeAg seroconversion	++	+++	+	+++		+++		++
Sustained remission after HBeAg Seroconversion	+++	+++	++	++		++		
HBsAg clearance	+++	++	+	++				+++
Response to IFN Tx	+++	++	+	+/-	+	+++	+	++
Association with PreCore mutations	-	++	+	+++	++	+++		
						(F1 but not F2)		
Association with BCP mutation	++		++		++			++

## Yeni bir genotip: I Tüm genom dizileme (Neighbour Joining metodu)



Genotype I; ilk kez Vietnam ve Laos'da saptandı.



Filogenetik analiz metodu, orjini ve evrimsel ilişkileri (filocoğrafi) belirlemede "altın standart" yaklaşımdır.



## Molecular and Phylogenetic Analyses Suggest an Additional Hepatitis B Virus Genotype "I"

Hai Yu , Quan Yuan , Sheng-Xiang Ge, Hurng-Yi Wang, Ya-Li Zhang, Qing-Rui Chen, Jun Zhang , Pei-Jer Chen, Ning-Shao Xia



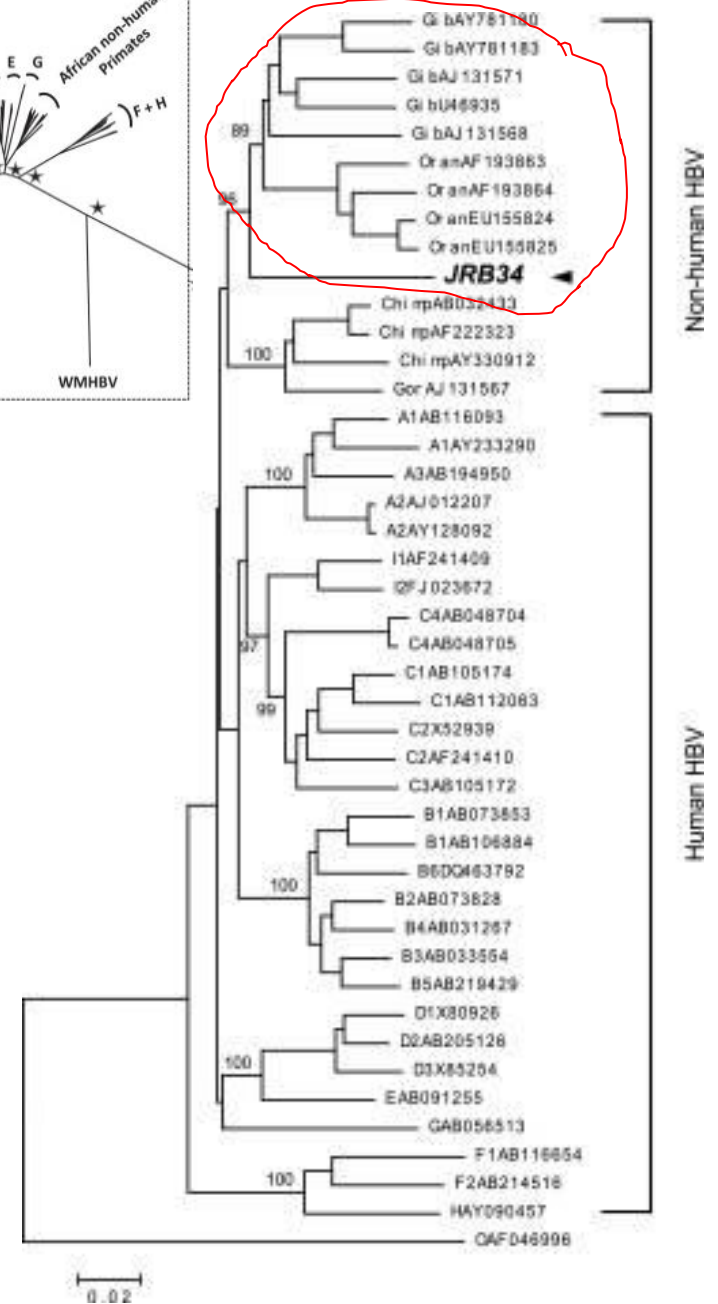
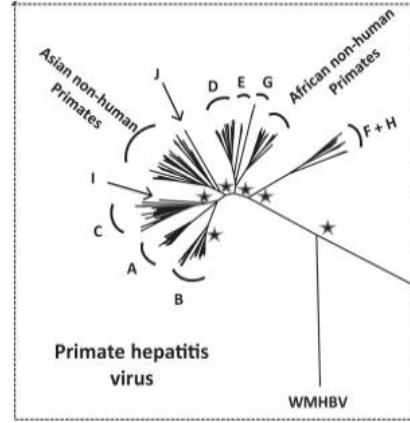
## Yeni bir genotip: J

Genotype J; ilk kez Japonya'nın Ryukyu adalarında saptandı.

HCC'li Japon hasta; Borneo'da uzun yıllar yaşamış. Tüm genom analizine göre taşıdığı HBV suşunda nonhuman - gibbon, orangutan, şempanze ve goril - HBV sekansları mevcut.



Tatematsu K, *et al.* J Virol 2009; 83(20): 10538-10547





# Subgenotip

**Table 2. Geographic distribution of HBV genotypes and subtypes**

Genotype	Subtype	Geographic location
A	A1	Sub-Saharan Africa
	A2	Northern Europe
	A3	Western Africa
B	B1	Japan
	B2-B5	Taiwan, China, Indonesia, Vietnam, Philippines
	B6	Alaska, Northern Canada, Greenland
C	C1-C3	Taiwan, China, Japan, Korea, Southeast Asia
	C4	Australia
	C5	Philippines, Vietnam
D	D1-D5	Africa, Europe, <u>Mediterranean basin</u> , India
E		Restricted to West Africa
F	F1-F4	Central and South America
G		France, Germany, United States
H		Central America
I		Laos, Vietnam
J		Japan

A1 ilk tanımlanan subgenotiptir.

Ülkemizde genotip D predominant, D1 en sık görülen subgenotiptir.

## Gözden geçirilmiş HBV sınıflandırması ve güncellenmiş kararlar: subgenotip değişiklikleri.

**Table 1** The misclassifications detected in hepatitis B virus subgenotyping

Genotypes	Subgenotypes old classification	Reasons (R) for misclassification				Suggested resolution	New proposed subgenotypes reclassification
A	A1, A2						A1, A2
	A3, A4, A5	R1	R2	R3	R5	Quasisubgenotype-A3	QS-A3
	A6						A4
	A7		R2	R3	R5	Quasisubgenotype-A3	QS-A3
B	B1, B2						B1, B2
	B3, B5, B7, B8, B9	R2	R3			Quasisubgenotype-B3	QS-B3
	B4						B4
C	B6						B5
	C1						C1
	C2			R3		Quasisubgenotype-C2	QS-C2
	C3						C3
	C4				R4	Trace recombination	RS-C4
	C5				R4	Trace recombination	RS-C5
	C6-C13						C6-C13
	C14	R2				Quasisubgenotype-C2	QS-C2
D	C15, C16						C15, C16
	C/D1, C/D2				R4	Inter-genotypic recombinant	Not considered as subgenotype
	D1, D2, D3	R2				Not decided yet	
	D4, D5, D6, D7, D8, D9				R4	Recombino-subgenotype	RS-D4, RS-D5, RS-D6, RS-D7, RS-D8, RS-D9

Number (R1-R5) indicates the reason of problems in classification. R1: Applying partial gene in introducing subgenotype; R2: < 4% nucleotide divergence; R3: Weak bootstrap value or no monophyletic cluster; R4: Recombination; R5: Bias in reference collection. QS: Quasi-subgenotype; RS: Recombino-subgenotype.

# Türkiye'de HBV genotip çalışma sonuçları

Türkiye'de HBV genotip D predominant olduğuna göre epidemiyolojik ve/veya klinik surveyans subgenotipler ile yapılabilir mi?

Yazar	Yöntem	Hasta sayısı, n	HBV genotip	Kaynak
Emekdaş G	RFLP, Sekanslama	54	D (%100)	Mikrobiyol Bul. 2012;46(3):432-45.
Aksoy A	RFLP	127	D (%100)	Mikrobiyol Bul. 2006;40(3):215-23.
Atalay MA	PCR	110	D (%97)	Saudi Med J. 2011;32(4):360-3.
Sertöz RY	RFLP	54	D (%100)	New Microbiol. 2008;31(2):189-94.
Bozdayı M	Sekanslama	41	D (%100)	Arch Virol. 2004;149(11):2115-29.
Sayan M	Sekanslama	327	D (%99,5) A1 (%0,5)	Int J Infect Dis. 2010;14S:e136–e141
Sayan M	Sekanslama	248	D (%99) G (%1)	Ann Hepatol. 2012;11(6):849-54.
Sayan M	Sekanslama	442	D (%100)	Int J Infect Dis. 2011;15(10):e722-6
Asan A	Sekanslama	528	D (%99,6) H (%0,4)	Hepat Mon. 2018 ; 18(1):e12472.

## Türkiye'de HBV genotip/subgenotip dağılımı\*

HBV (+)	Naif grup	Tedavi grubu (viral breakthrough saptanan)
<b>Hasta</b>	n=249	n=150
<b>Genotip</b>	D; 248 (%99.6) H; 1(%0.4)	D; 150 (%100)
<b>Subgenotip</b>	<b>D1</b> ; 220 (%88.8) D3; 17 (%6.8) D2; 10 (%4) D4; 1 (%0.4)	<b>D1</b> ; 129 (%86) D3; 11 (%7.3) D2; 9 (%6) D4; 1 (%0.6)

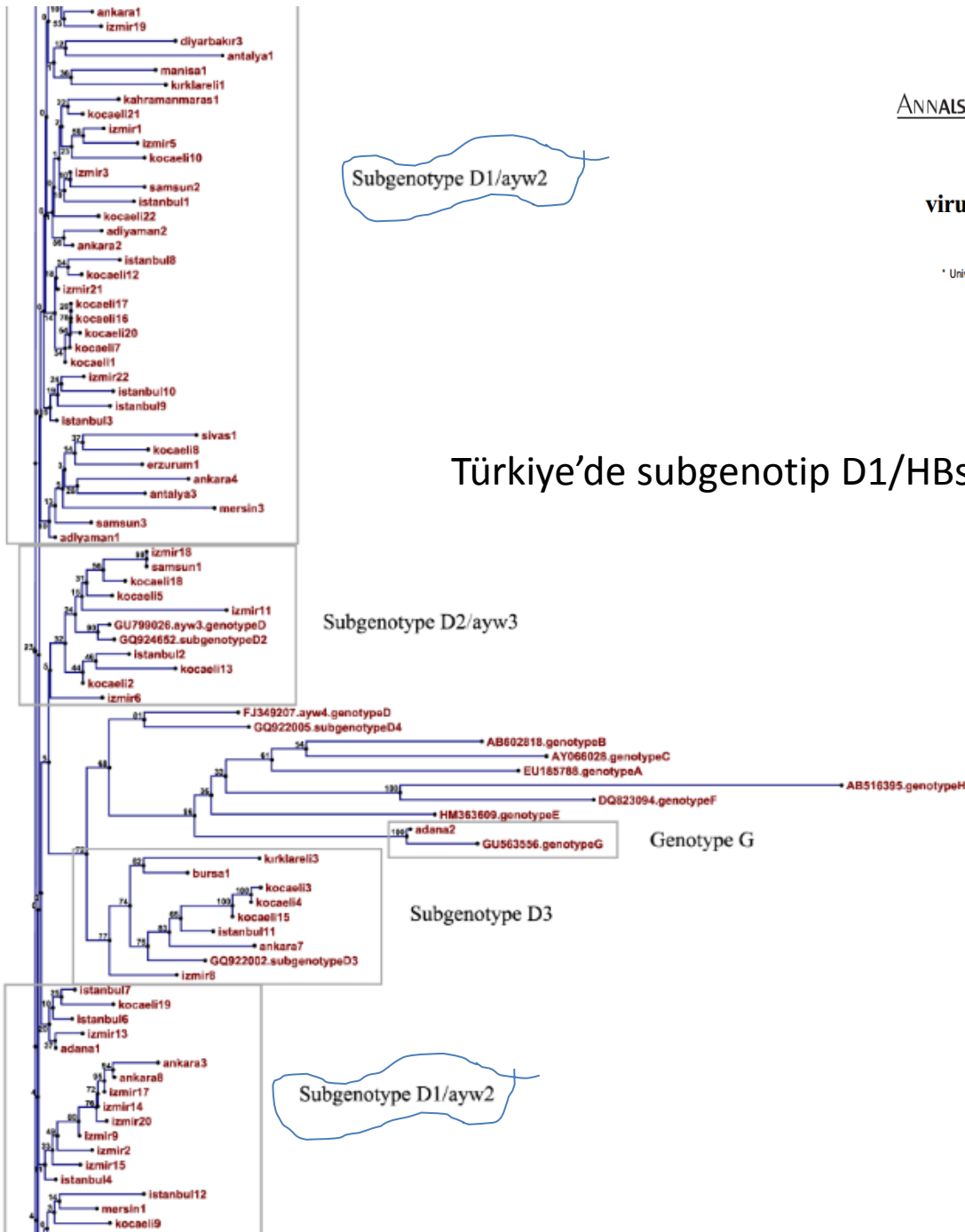
\*Klimik ulusal HBV ilaç direnci surveyansı

## Genotype/subgenotype distribution of hepatitis B virus among hemodialysis patients with chronic hepatitis B

Murat Sayan,\* Cengiz Dogan\*\*

\* University of Kocaeli, Faculty of Medicine, Clinical Laboratory, PCR Unit, Kocaeli, Turkey. \*\* Fresenius Medical Care, Istanbul, Turkey.

Türkiye’de subgenotip D1/HBsAg serotip ayw2 baskındır.

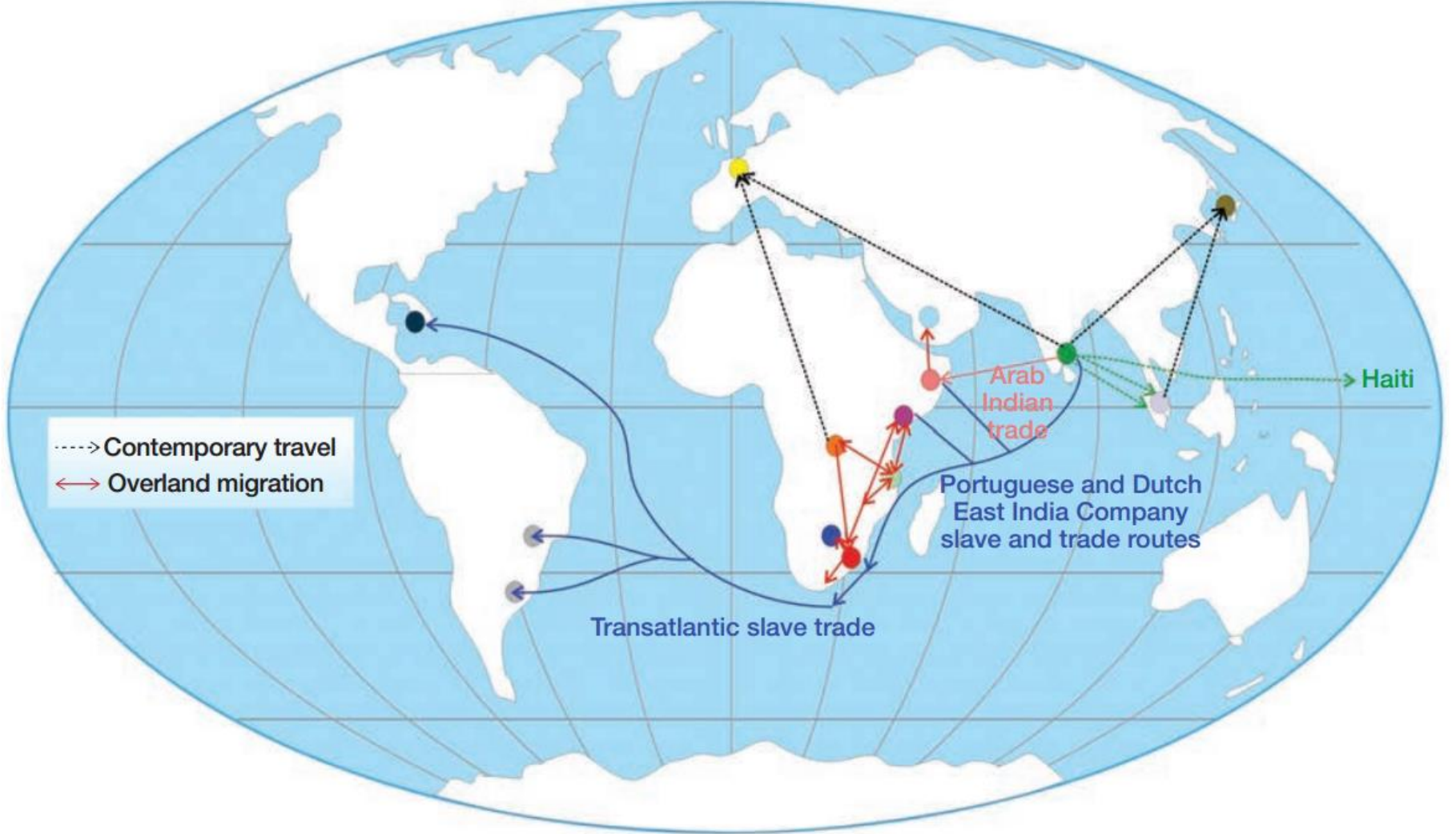


**Figure 1.** Phylogenetic tree of hepatitis B virus (HBV) isolates obtained from hemodialysis patients. The phylogenetic analysis based to reverse transcriptase (codon; 43-344) and S gene (codon; 34-277) regions of HBV sequences (768 bp). Neighbor-Joining analysis was carried out with other sequences from all HBV genotypes from GenBank using CLC Sequence Viewer 6.0 (CLC bio A/S, Aarhus, Denmark) software. Bootstrap support value (100 replicates) are shown at the respective branches.

15.- 19. yy köle ticaretinin etkisi:

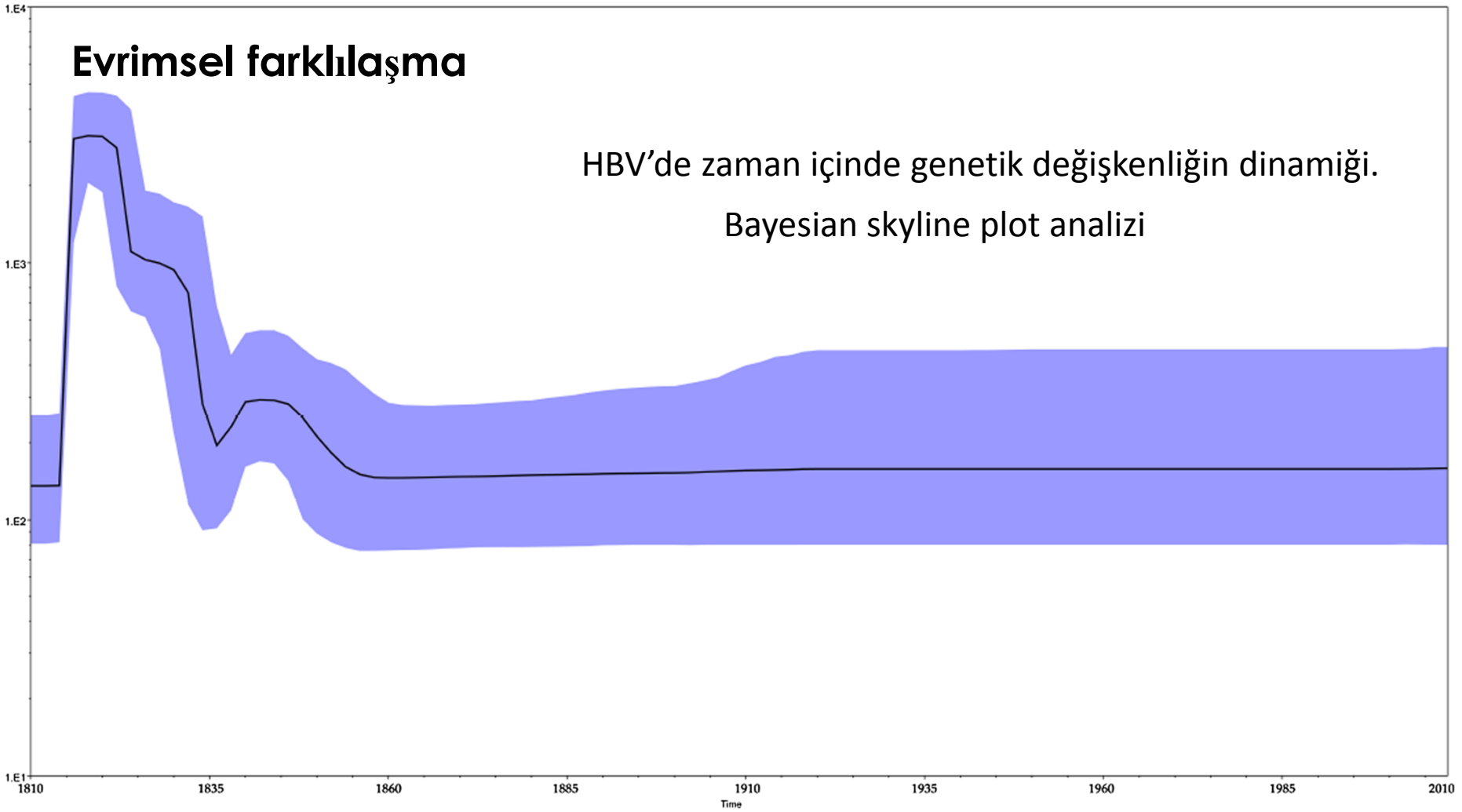
Afrika'da dominant olan HBV subgenotip A1'in orjini ve göç yolları

(Tüm genomun Neighbour Joining analizi ile):



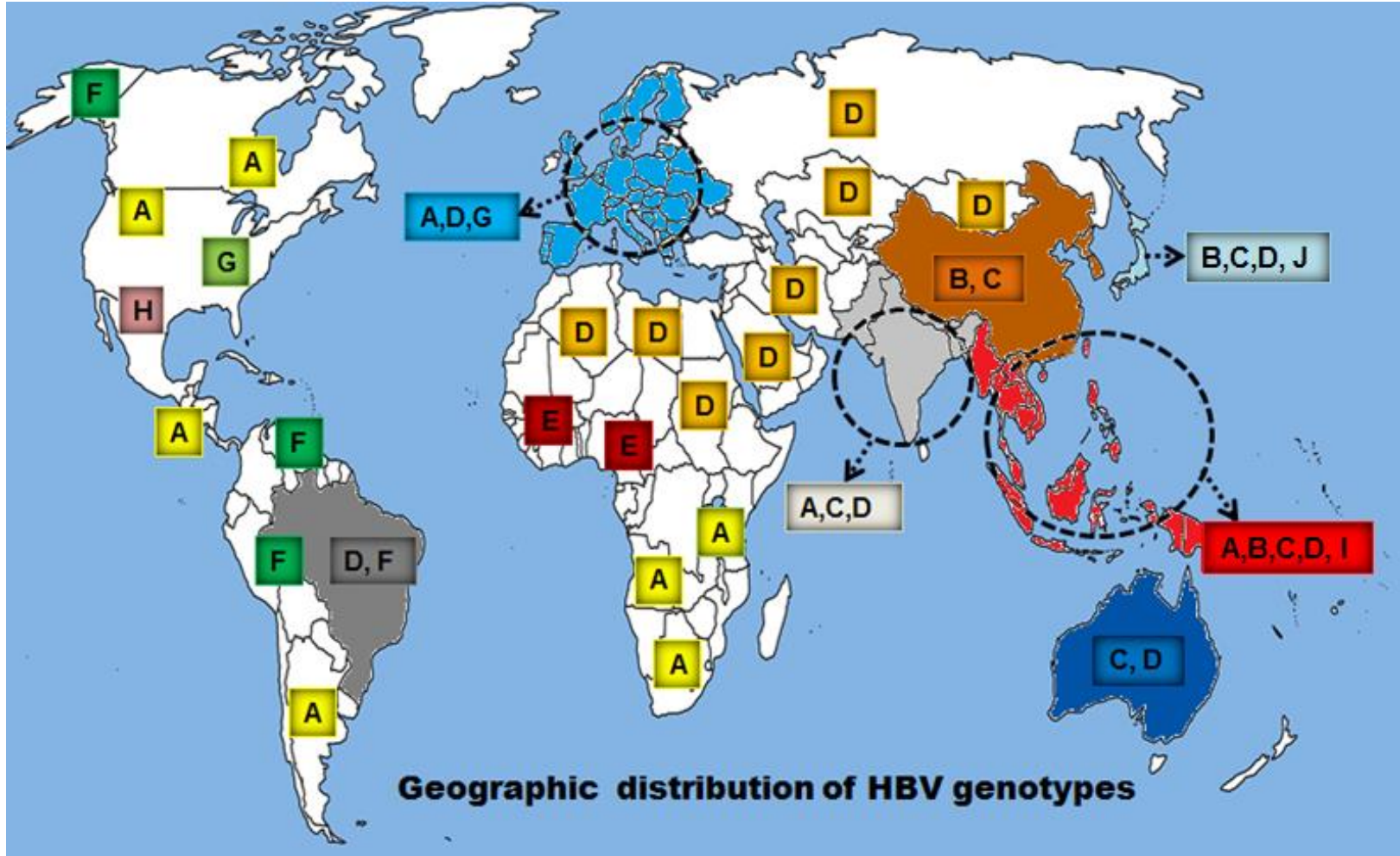
# Evrimsel farklılaşma

HBV'de zaman içinde genetik değişkenliğin dinamiği.  
Bayesian skyline plot analizi



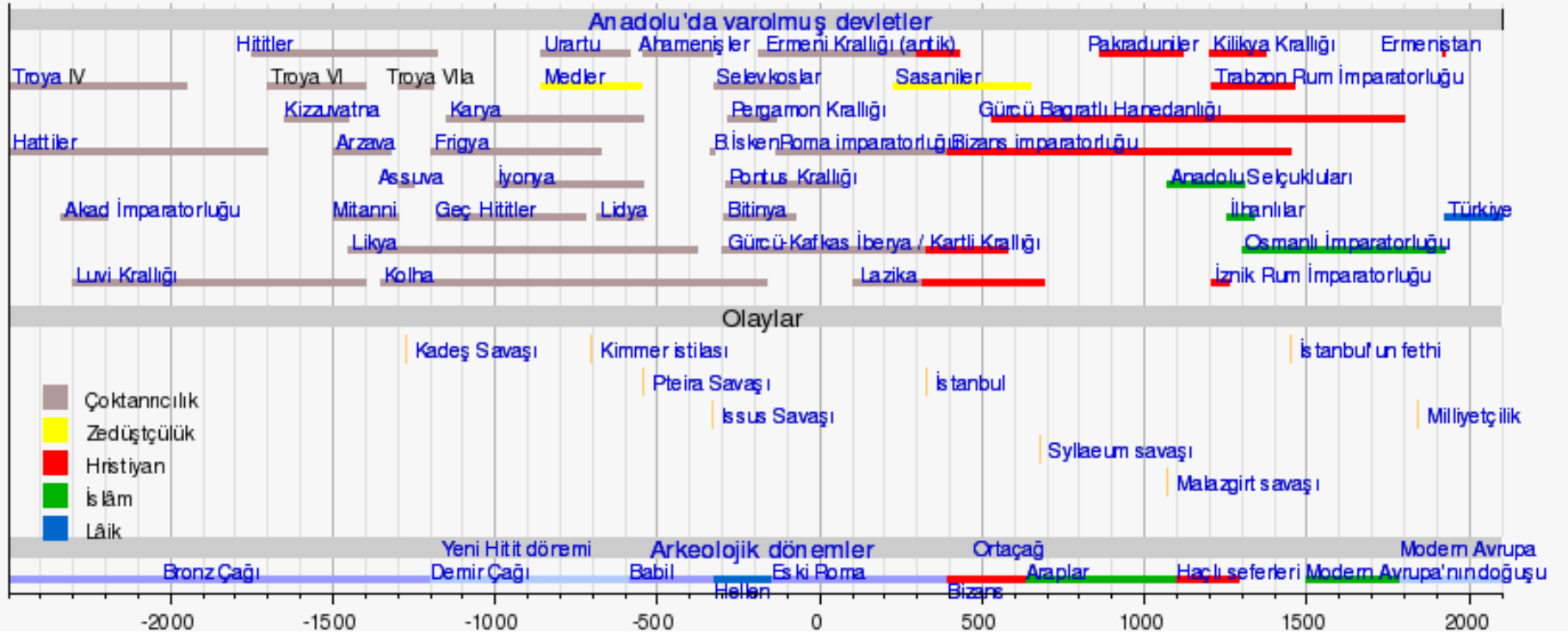
1810 yılında, HBcAg geninde (core proteini) - keskin bir yükselişle - bir farklılaşma gerçekleşmiş. Bu eğilim genotip A, B ve D için gözlenebilmiş.

# Genotiplerin küresel dağılımı

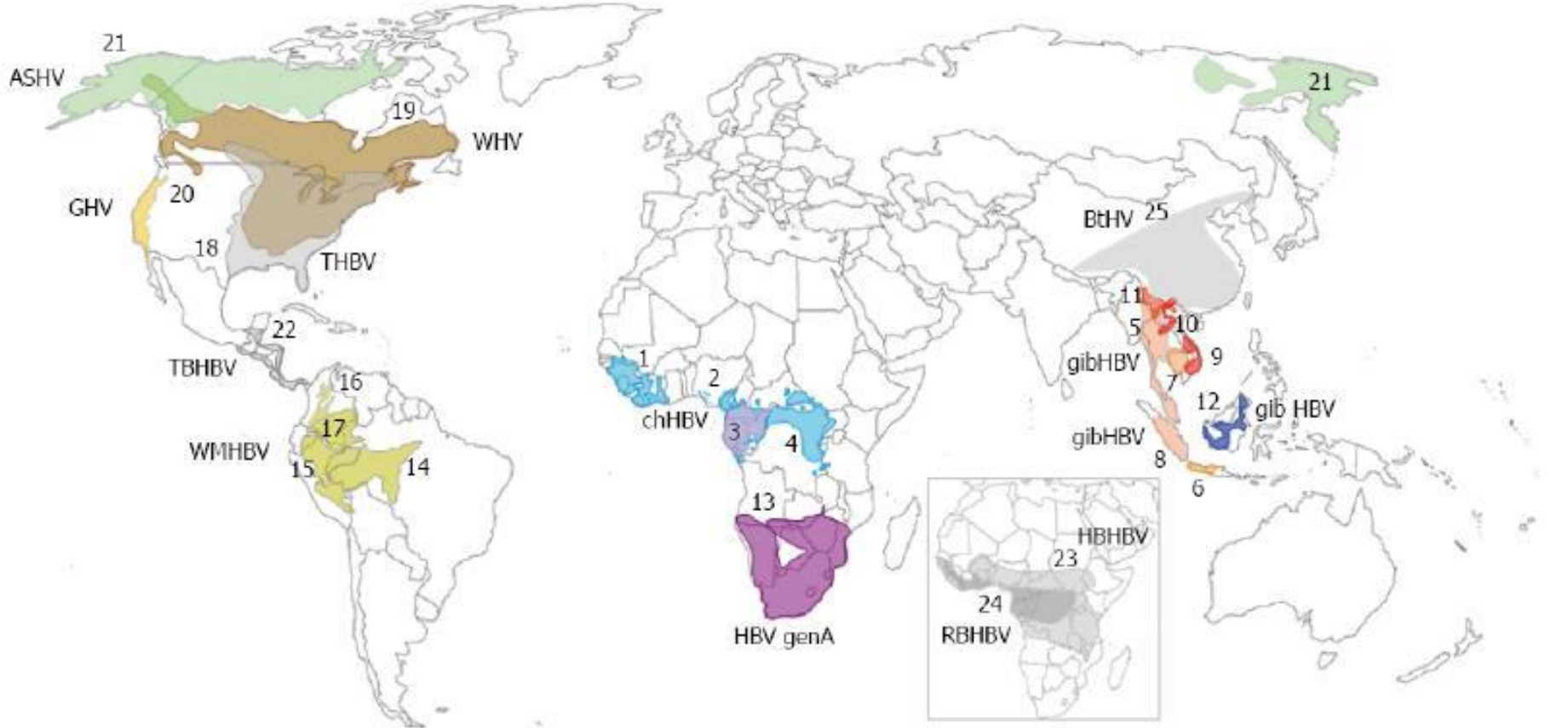




HBV genotip çeşitlenmesi, neolitik çağdan beri bir geçiş ve uygarlık bölgesi olan Anadolu'da gerçekleşmedi.



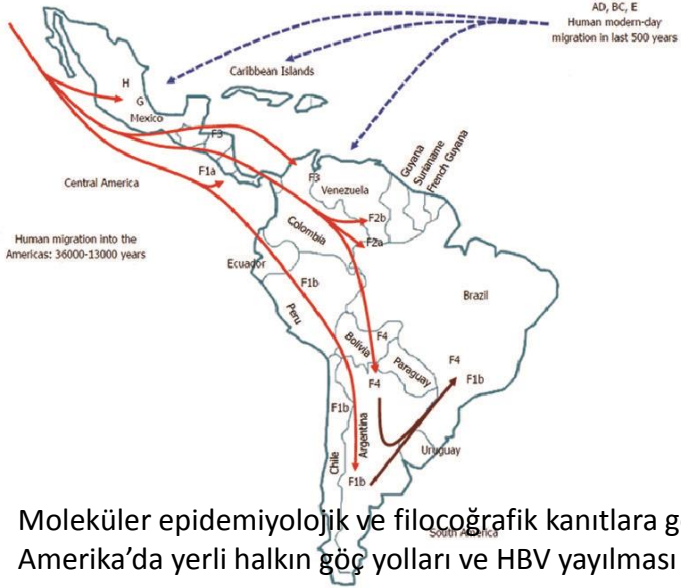
HBV konağı non-human primatların coğrafik dağılımı:  
Anadolu, non-human primatların yaşam alanı değil.



Subgenotiplerin küresel dağılımı; çevremizde genotip D/D1 baskın.

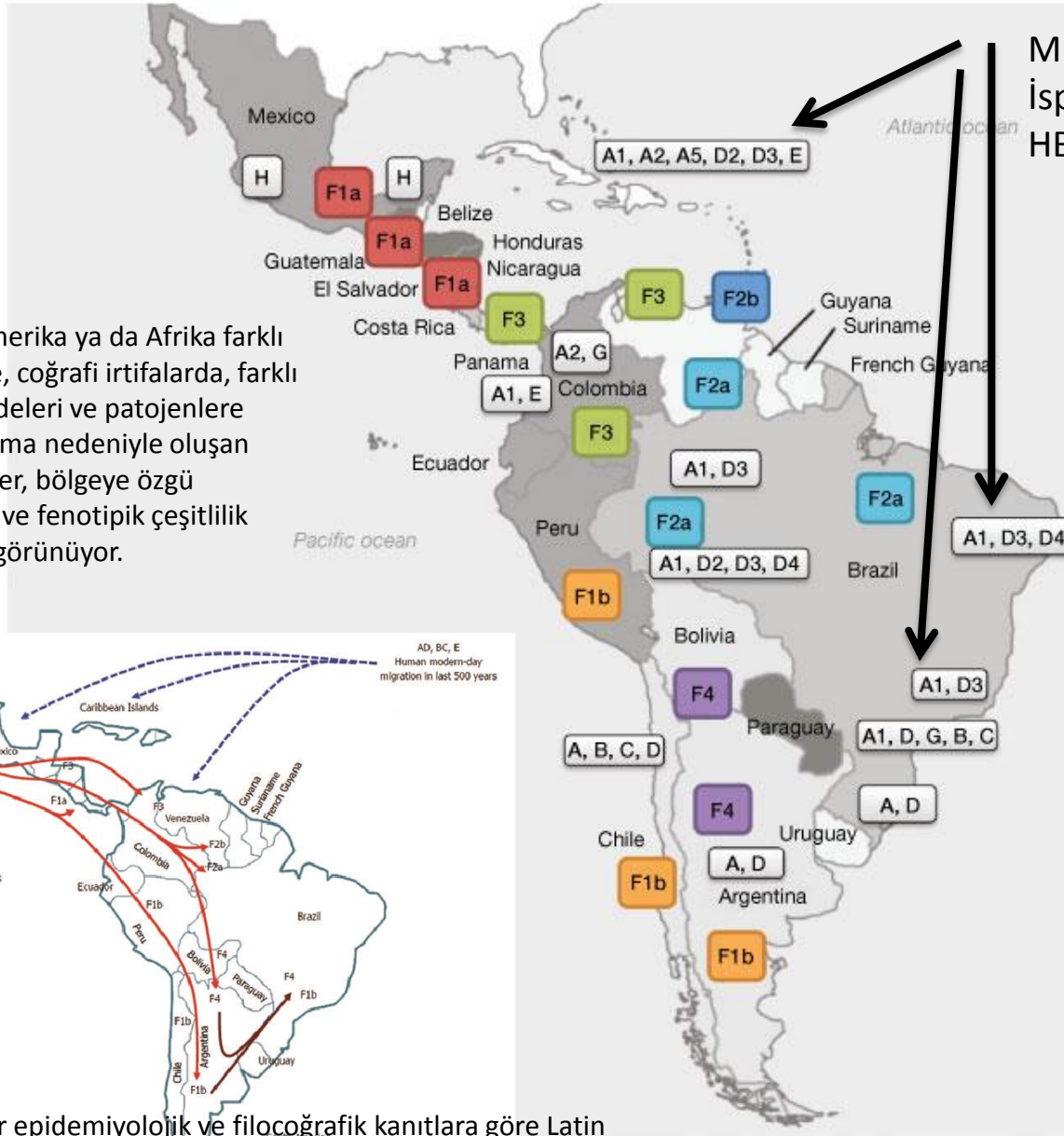


Güney Amerika ya da Afrika farklı iklimlerde, coğrafi irtifalarda, farklı gıda maddeleri ve patojenlere maruz kalma nedeniyle oluşan etkileşimler, bölgeye özgü genotipik ve fenotipik çeşitlilik sağlamış görünüyor.



Moleküler epidemiyolojik ve filoçoğrafik kanıtlara göre Latin Amerika'da yerli halkın göç yolları ve HBV yayılması

World J Gastroenterol.2014;20(23):7181-7196.



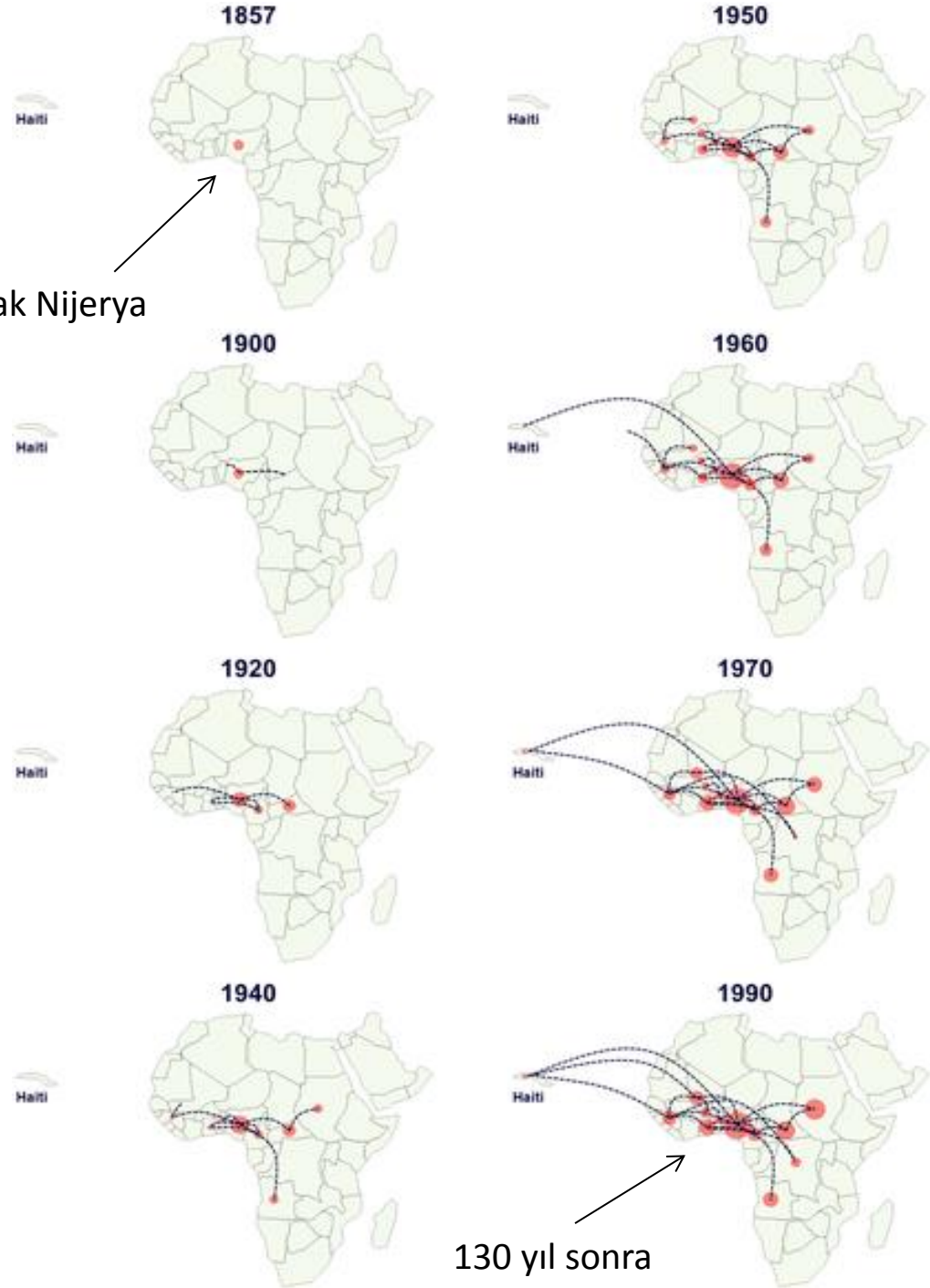
Muhtemelen İspanyol sömürgecilerinin getirdiği HBV genotipleri

Anadolu uygarlıkları deniz aşırı hareket etmedi; sömürgecilik ya da köle ticaretinde kaynak, duraklama ya da geçiş noktası olmadı.

# Sahraaltı Afrika'da HBV genotip E'nin filocoğrafik yayılımı

Kaynak Nijerya

S geni sekanslarının zamansal ve mekansal kestirim analizi:  
Genotip E'nin genetik değişkenlik özelliği düşüktür. Bu yüzden izlenmesi daha kolay.

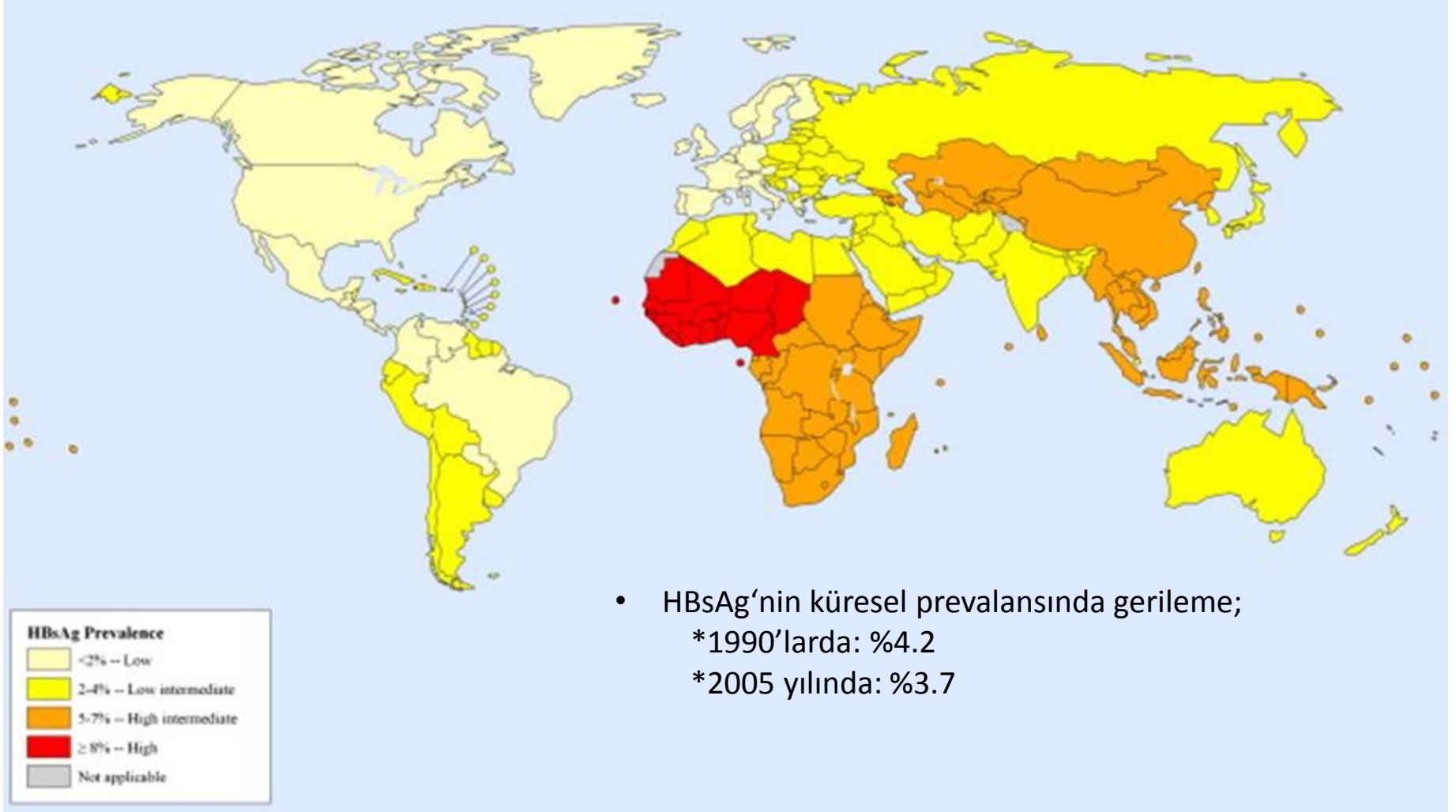


Andernach IE, et al. Bayesian Inference of the Evolution of HBV/E. PLoS ONE 2013; 8(11): e81690.

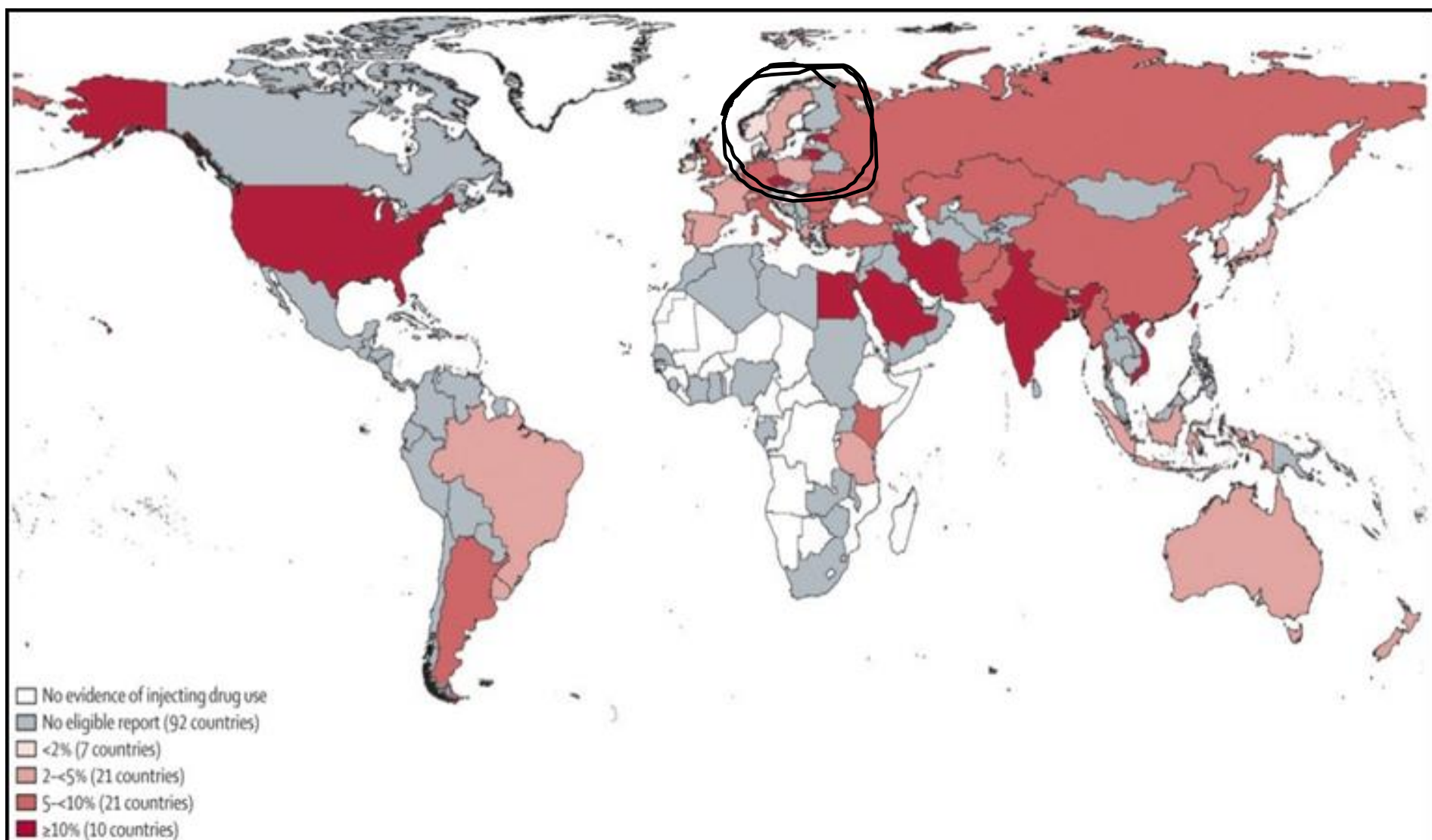
130 yıl sonra

# Epidemiyoloji

- 2 milyar insan HBV ile enfekte.
- 257 milyon kişi kronik HBV infeksiyonlu.
- 600 000 ölüm; HBV ile ilişkili KC hast. ve HCC nedeniyle.



# IVDU populasyonunda epidemiyoloji

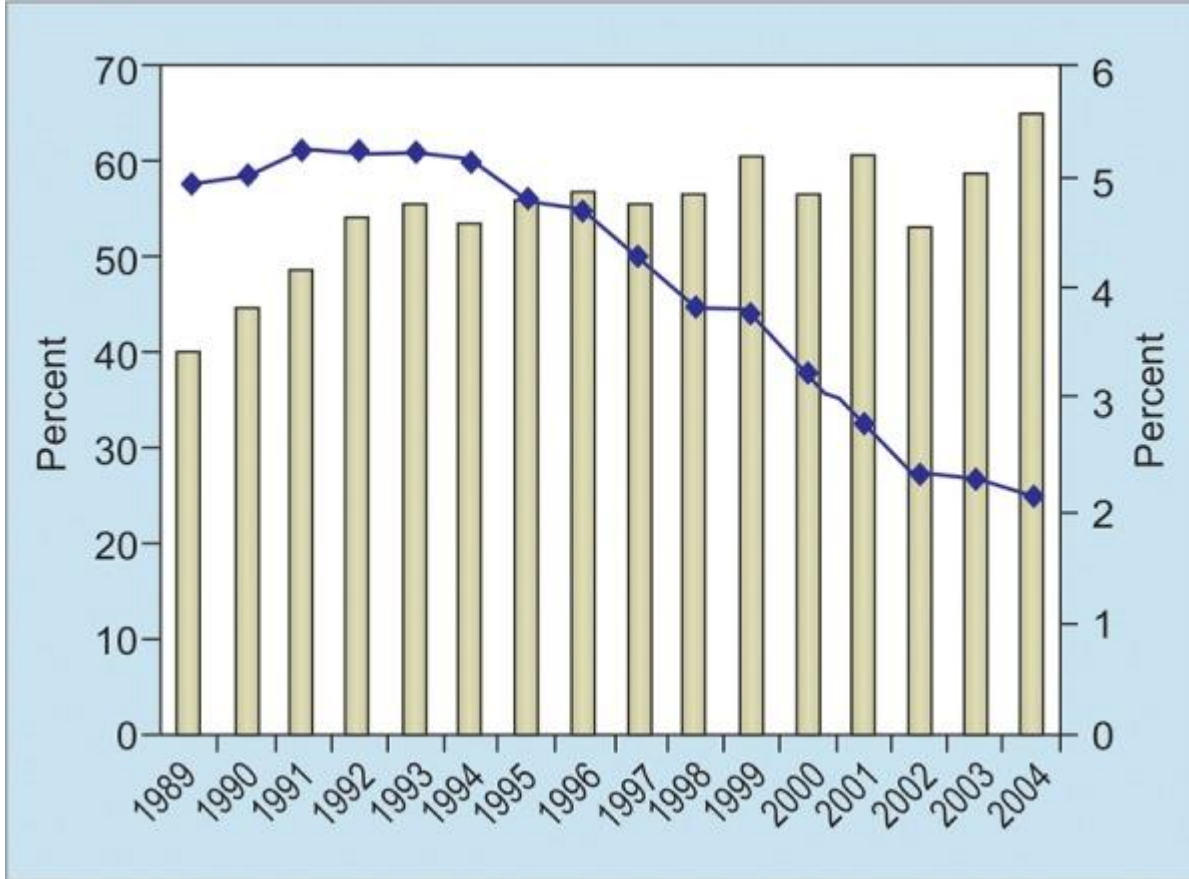


## Kuzey Doğu Avrupa ve Baltık Ülkelerinde HBV: Sovyetlerin çözülmesi ve IVDU artışı



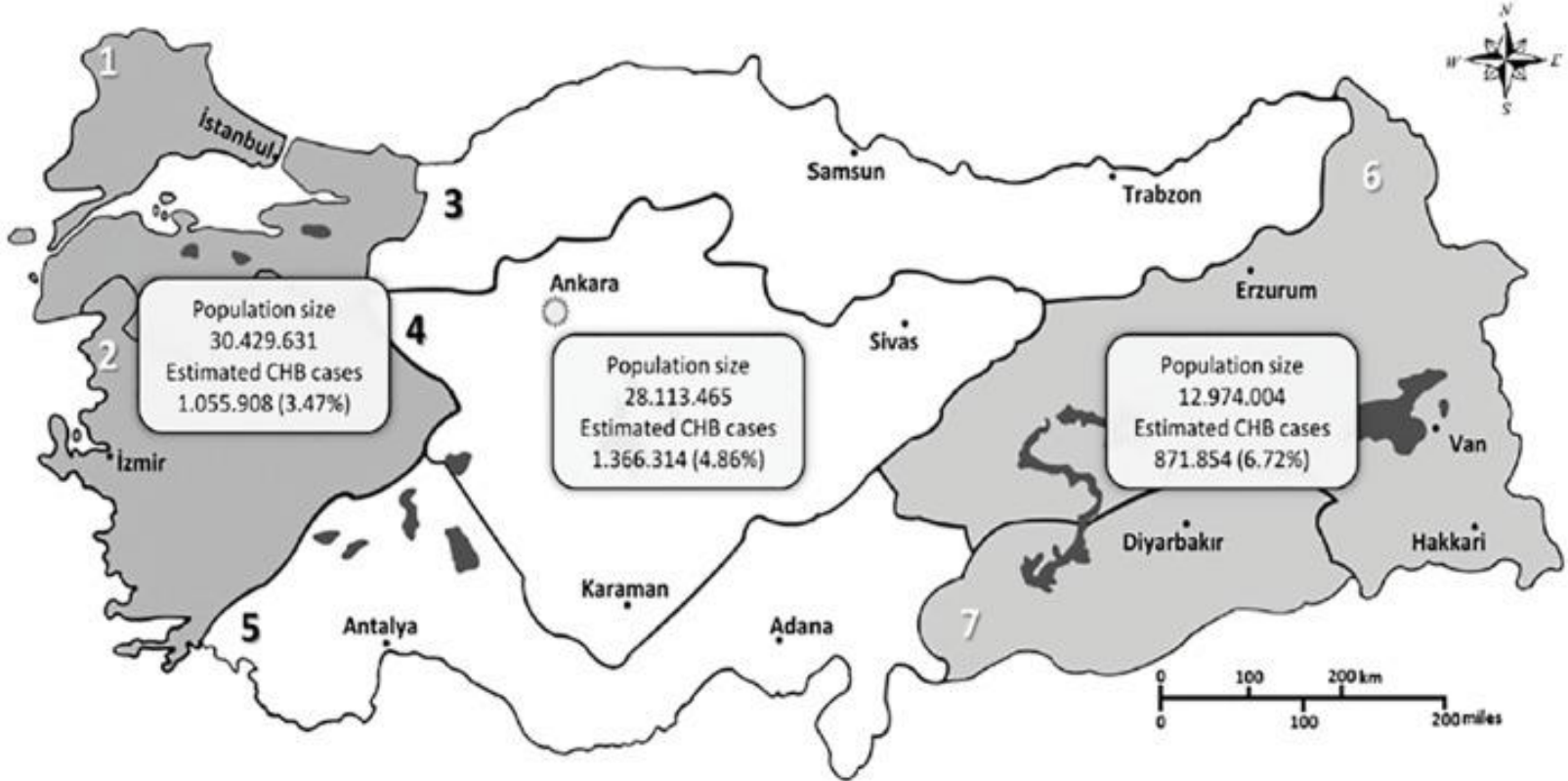


Türkiye'de yaklaşık 3.3 milyon HBV taşıyıcısı bulunuyor.  
Kan donörlerinde HBV prevalansındaki iyileşme var.



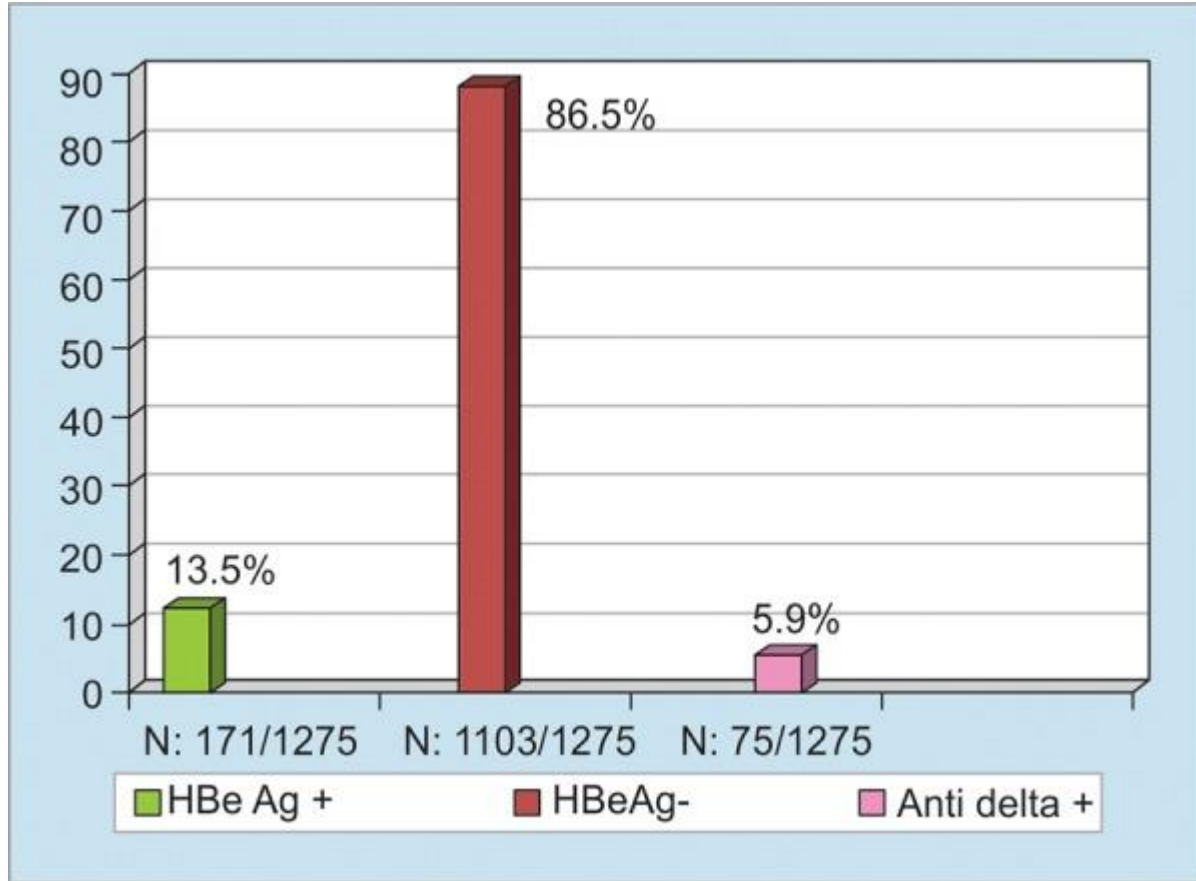
Özkan H. Epidemiology of Chronic Hepatitis B in Turkey.  
Euroasian J Hepatogastroenterol. 2018;8(1):73-74.

HBV'nin bölgesel dağılımında farklılıklar var.



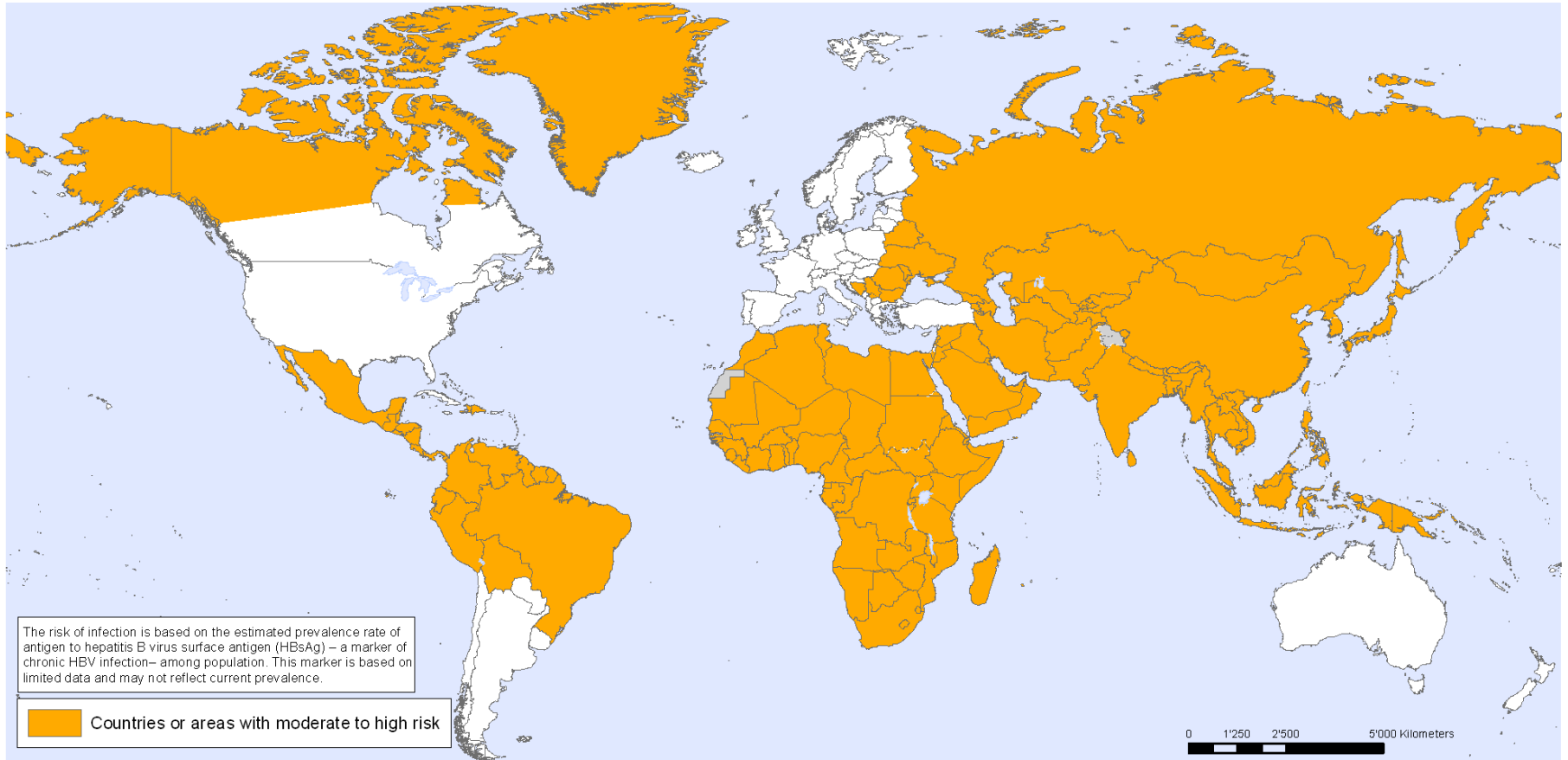
Özkan H. Epidemiology of Chronic Hepatitis B in Turkey. Euroasian J Hepatogastroenterol. 2018;8(1):73-74.

HBsAg (+) 1,275 olguda serolojik durum (1998-2016):



Özkan H. Epidemiology of Chronic Hepatitis B in Turkey.  
Euroasian J Hepatogastroenterol. 2018;8(1):73-74.

## Hepatitis B, countries or areas at risk



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Data Source: World Health Organization/CDC  
Map Production: Public Health Information  
and Geographic Information Systems (GIS)  
World Health Organization



© WHO 2012. All rights reserved

# Soru & Cevap

