

Interferon ve Kronik Hepatit B İnfeksiyonunda Kullanımı

*Dilşad TÜRKDOĞAN**

İnterferonlar, virusların infekte ettiği hayvan ve insan hücrelerinde yapılan glikoproteinlerdir. İnsan lökosit, fibroblast ve lenfoblastoid hücrelerinin uyarılmasıyla, son yıllarda da rekombinan DNA teknolojisi ile eldesi mümkün olan bu bileşikler antiviral, antiproliferatif ve immünomodülatör özelliklere sahiptirler (1). Bu özellikleri ile son on yılda bazı neoplazik hastalıklar ve virus infeksiyonlarında başarıyla kullanılmıştır. Bunlar içinde Hepatit B infeksiyonuna (HBV) bağlı kronik aktif hepatitin tedavisinde ulaşılan sonuç ilerisi için umut vericidir.

Bu yazıda interferonların yapı ve görevleri, HBV infeksiyonundaki kullanımları gözden geçirilmiştir.

İNTERFERONLAR

İnterferonlar molekül ağırlıkları 15000-21000 dalton olan ve 165-187 aminoasitden oluşan suda erir bileşiklerdir (2). Sağladıkları kaynaklara göre 3 ana tipe ayrılırlar:

1. **Lenfoblastoid veya lökosit interferon (alfa interferon, IFN-a)**: Periferik kandaki mononükleer hücrelerden salınır.

2. **İminim interferon (gamma interferon, IFN-y)**: Mitojen ve antijenler tarafından uyarılan T-hücrelerinden salınır.

3. **Fibroblast interferon (beta interferon, IFN-p)**: Fibroblastlardan salınır.

Bu üç ana tip interferon, işlev açısından çok az farklılığı olan pekçok alt tipe sahiptir (1). Örneğin insan alfa interferonunun genetik olarak farklı en az 14 alt tipi vardır (2).

IFN-a'nın en az 23 geni, IFN-p'nin ise tek bir geni olup 9. kromozomda yerleşiktirler. IFN-7'nin bir tane olan geni de 12. kromozomdadır (3).

İnterferonlar, başlıca virusların, bazı biyolojik veya yapay maddelerin indüksiyonu ile yapılırlar (1,3). DNA Ve RNA virusları, bakteriler, interlökin-1 ve 2, koloni uyarıcı faktörler doğal indükleyicidirler. Bunların en güçlüsü çift zincirli RNA olup, interferonlarının yanında diğer lenfokinlerin de yapımını uyarır, virus ile infekte hücrenin parçalanmasına sebep olur. Bu amaçla AIDS tedavisinde denenmiştir. Doku kültüründe etkili olan metilen mavisi, akrinin oranj ve floran gibi yapay maddeler invivo etkisiz kalmıştır (1).

Türe has olan interferonlar, kendilerinin salınımını indükleyen virusa özgü kalmayıp diğer virusları da öldürebilirler.

Etki Mekanizması

Hücrel aktivitesini göstermek için hücre zarındaki reseptörlere bağlanmak zorundadırlar. İnsan lenfoblastoid hücrelerinden, **H25** ile işaretli rekombinan IFN-a 2b kullanarak izole edilen reseptörlerin asimetric protein bileşikleri olduğu anlaşılmıştır (2). IFN-a ve - (3 türleri için ortak bir reseptör gösterilmiştir. IFN-7'nin ise molekül ağırlığı daha küçük bir reseptörü vardır (1). Bu reseptörler değişik düzeylerde türe özgündürler (2).

IFN-reseptör kompleksinden doğan uyarılar, nükleusda interferonun biyolojik aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülen genleri aktive eder. İndükleyici olarak çift zincirli RNA'nın varlığında

*İstanbul Üniv. Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD

protein kinaz ve protein translasyon-2-5A oligoadenil sentetaz gibi viral protein sentezini inhibe eden bir seri enzimi uyararak viral RNA'nın parçalanmasını sağlar (1,4). Bu etkiye çok düşük konsantrasyonlarda bile sahiptirler.

Biyolojik Özellikleri

1. Antiviral Etkileri: İnterferonlar virüslara karşı en hızlı oluşan savunma hatundadırlar (5). Beta interferonu yapan fibroblast veya epitel hücreleri viral infeksiyondan etkilenen ilk hücrelerdir. Eğer viral replikasyon IFN- β ile durdurulamazsa, infeksiyon kan veya lenf yoluyla yayılıp alfa interferonu yapan mononükleer hücreler ile etkileşebilir (5). Bu olay hücreye virus girişini gerektirmez. IFN- α kana sürekli salınır ve zamanla azalan oldukça yüksek bir düzeye ulaşır. Daha sonra özgün immün cevap, viral antijenlere karşı duyarlanmış T hücrelerinin gelişimine neden olursa gamma interferon da yapılabilir. Reseptöre bağlanan interferon, viral replikasyonu inhibe eden antiviral veya efektör hücrelerin yapımına sebep olur. Geriye dönüşümlü olan antiviral etki, birkaç dakika içinde gelişir ve maksimum düzeyine yaklaşık 5-8 saatte ulaşır (6). İnterferonlar kaybolduktan 36-48 saat sonraya kadar efektör proteinler hücrelerde görülebilir (7).

İnterferonlar, virüsün yaşam siklusunu; bağlanma zarfının açılması, transkripsiyon, translasyon, protein sentezi ve hücre yüzeyinden çıkma aşamalarında etkileyebilirler (1).

İnterferonların her virüsü inhibe etmediği, klinikte akut viral infeksiyonda etkili olmadığı, ancak bazı kronik viral infeksiyonlarda yararlı oldukları gösterilmiştir. Bunlar endojen interferon yapımının çok az yada hiç olmadığı infeksiyonlardır. Herpes simpleks, HBV, HCV, VZ, CMV, papilloma virus ve rinovirus infeksiyonlarında bazı olgularda yararlı sonuçlar alınmıştır (8). Anti-retroviral etkisi ile HIV-1 infeksiyonunun erken devresinde de denenmiştir (9,10).

Klamidya, plazmodyum ve toksoplazmozise karşı antimikrobiyal aktivite gösterilmiştir (8).

2. İmmünomodülatör (Regülatör) Etkileri: Bu etki hücre yüzeyindeki major histokompatibilite kompleksi (MHC) antijenlerinin aktivasyonu veya arttırılması ile sağlanır. IFN- α ve - β sınıf I MHC, IFN- γ ise sınıf II MHC genlerini aktive ederler. Ayrıca interferonlar IgG'nin Fc ve sitokin

reseptörlerinin ekspresyonunu uyarır ve arttırırlar. Böylece diğer sitokinlerin de yapımı artmış olur (2).

IFN-7 immün cevapta daha etkin bir rol oynamaktadır. Makrofaj aktive edici (MAF) özelliği vardır, T ve B hücre cevaplarında etkilidir (1).

İnterferonların sitotoksik, sitostatik, T ve B hücre büyüme ve çoğalmasını uyarma, ateş oluşturma özellikleri de saptanmıştır.

3. Antiproliferatif Etkileri: Normal hücrede geriye dönüşümlü sitostaz yaparken, neoplazik hücrede kalıcı olarak çoğalmayı önler, ayrıca virüsün transforme edici etkisini de kaldırabilir. Bu amaçla en iyi incelenen alfa interferon olup, klinikte hematolojik malignitelerin tedavisinde kullanılmaktadır. Hairy-cell lösemisinin tedavisinde %70-90, KML'de %70 başarı sağlanırken, multipl miyelomun ancak idame tedavisinde yararlı olduğu ve sağ kalım oranını arttırdığı gösterilmiştir (1).

Solid tümörlerde ise başarı oranı daha düşüktür. Klasik tedavi ile remisyona sağlandıktan sonra, idame tedavisinde önerilmektedir. Kaposi sarkomu, habis pankreas tümörü, renal hücreli karsinom, baş-boyun, mesane ve over tümörlerinde umut verici sonuçlar alınmıştır.

Multipl sklerozda alfa ve beta interferonun intratekal kullanımı ile hastalığın stabilize olduğu veya nökslerin gerilediği görülmüştür (11). IFN-7 ise bu hastalığı aktive etmektedir (12).

Klinik kullanımda yer alan interferon bileşikleri 3 yoldan sağlanır: 1) Sendai virüsü ile uyarılmış insan periferik kam lökositlerinden elde edilen interferon. 2) Sendai virüsü ile uyarılmış Namalwa hücre serisinde kültüre edilmiş lenfoblastlarda üretilen interferon. 3) Rekombinan DNA teknolojisi ile interferon geni taşıyan plazmid yerleştirilmiş E.Coli susunun fermantasyonu ile sağlanan interferonlar

Yan Etkileri

1. Sistemik Bulgular: "Flu-like" semptomlar (ateş, titreme, kas ve eklem ağrıları) en sık görülen klinik tabloyu oluşturur, asetaminofene cevap verir. Nadiren kat değişiklikleri, iştahsızlık ve kilo kaybı görülür (1,2).

2. Kardiyovasküler Sistem Bulguları: Hipotansiyon nadiren semptomatiktir. Hipertansiyon ve taşikardi enderdir.

3. Gastrointestinal Bulgular: Bulantı, kusma, hafif ishal olabilir.

4. Hematolojik Bulgular: Trombositopeni, geçici granülositopeni sıklıdır.

5. Psikiyatrik Bulgular: Anksiyete, depresyon, konvülsiyon, ataksi, EEG bozuklukları çok nadirdir.

6. Deri Bulguları: Kaşıntı, alopesi, geçici deri döküntüsü (Hairy-cell lösemide görülür) enderdir.

7. Renal Bulgular: Nefrotik sendrom, böbrek yetmezliği görülmüştür.

8. Diğerleri: Bacak krampları, kabızlık, uykusuzluk, herpetik döküntüler, ürtiker, sıcak basması, supraventriküler aritmiler epistaksis, paralitik ileus, dehidratasyon, koagülasyon bozuklukları, görme bozukluğu, tremor, göğüs ağrısı, farenjit ve senkop %5 ve altında sıklıkla görülür. %1'in altında rastlananlar ise dispepsi, purpura, dispne, burun akıntısı, okülomotor paralizisi, hiperglisemi, hipersalivasyondur (2).

Tüm bu istenmeyen etkiler doz ile ilişkilidir.

HBV İNFEKSİYONUNDA INTERFERON KULLANIMI

HBV, dünyanın bazı yörelerinde ve risk gruplarında daha fazla olmak üzere hemen her ülkede görülür. Akut infeksiyon, yenidoğan dönemi ve immün yetmezlik durumları dışında %90 olguda tamamen iyileşirken, %1-3'ünde fulminan karaciğer yetmezliği ile ölüm, %5-10'unda ise kronikleşme ile sonuçlanır (4,13). Dünyada 200 milyon taşıyıcı vardır (14) ve genellikle kronik hepatit olgularının yaklaşık yarısından sorumludur.

Virus sitopatik olmadığından infekte hepatositin immünolojik olarak yok edilmesi karaciğer hücre hasarına neden olur (4). Hepatosit yüzeyindeki MHC sınıf I proteinleriyle birleşen virus antijenleri, hücreyi sitotoksik T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler (NK) için hedef haline getirir. Akut HBV infeksiyonunun erken evresinde alfa interferon yapımı ile normalde sayıca az olan MHC sınıf I antijenlerinin ekspresyonu artar. Bu artış klinikte aminotransferaz düzeylerindeki artış ile eş zamanlıdır, interferon, aynı zamanda viral protein sentezini inhibe edip, nötralizan antikorların gelişimi ile de kısa ve uzun dönemli nüks ve reinfeksiyonları önlemiş olur.

Kronik hepatitin ağırlığını belirleyen başlıca faktörler ise yaş, immün durum, infeksiyonlar, ilaç bağımlılığı ve sirozdur (13). Kronik aktif hepatitli hastaların %20-70'inde hastalık 2-7 yıl içinde ilerler (15,16) ve 5 yıllık mortalite %25-50 arasındadır (17,18).

Kronik taşıyıcılık da bazı risk gruplarında daha sık görülür: İlaç bağımlıları, hemofililer, homoseksüeller, Çin ve Güney Asya'da yaşayanlar, HBV infeksiyonunu aniktirik geçirenler ve erkekler gibi...

Kronik taşıyıcılık durumunu hazırlayan bazı durumlar vardır: HBeAg müsbet kronik infeksiyonlu anneden doğan bebeklerin infekte olma şansı %90 iken, bunların %90'dan fazlası da kronik taşıyıcı olurlar. Bu yüksek oranın nedenleri tam olarak bilinmemektedir. Ancak transplanter geçişi mümkün olan HBeAg, infekte hepatositin immünolojik olarak imhasında hedef olan nükleokapsid proteinlerine karşı oluşacak hücrel immün cevabın gelişimini önleyebilir. Yenidoğanın immün sisteminin henüz tam gelişmemesi, immünoşüpresif faktörlerin (alfa fetoprotein gibi) varlığı ve virüsün fazla sayıda alınması kronik infeksiyon riskinin bu denli yüksek olmasından sorumlu olabilir (4).

Yenidoğan dönemi dışında, kronikleşmeyi hazırlayan nedenlerin bazıları şunlardır: Periferik kan mononükleer hücrelerin de alfa interferon yapımının azalması, interferonun hepatositleri aktive etmesindeki kusurlar, interferon tarafından yapımının uyarıldığı 2-5A oligoadenil sentetaz enziminin ve MHC sınıf I antijenlerinin azalması gibi interferona cevapsızlık durumlarıdır.

HBV infeksiyonunun 2 fazı vardır:

1. Replikasyon Fazı: Virus DNA'sı (HBV-DNA) epizomaldır, replike eder. Dane partikülü ve bol miktarda HBsAg üretir. Hücre yüzeyinde viral işaretleyiciler ve antikorlar gelişir, serumda HbeAg, HBV-DNA ve DNA polimeraz aktivitesi (DNAP) saptanır. Bunlar içinde replikasyonun en duyarlı göstergesi HBV-DNA'dır (19-20), moleküler hibridizasyon tekniği ile ölçülebilir. DNAP ölçümünün duyarlılığı ve müsbetliği örneğin alınışına göre değişir ve tek başına kantitatif tayinler için uygun değildir. HBeAg, hepatit B virüsünün prekor bölgesinde sürekli transkripsiyon ile üretilir, bu bölgenin sonundaki bir mutasyon ile bu işlem durur ise, kişi HBV-DNA'yı taşıyıp

kronik aktif hepatit geçirirken serumda HBeAg saptanamaz (4).

Bu fazda periportal mononükleer hücreler OKT3 (tümü T hücreli) ve T& (sitotoksik, süpresör) kaynaklıdır. T4/T8 oranı azalmıştır.

2. İntegrasyon Fazı: Değişken bir süre sonunda serumdaki HBeAg kaybolup antiHBe gelişir. Bu dönüşüm esnasında klinikte bir alevlenme, serumda ALT artışı ile akut hepatite benzer bir tablo gözlenir. HBV genomu konağın genomuna integre olmuş ve r-transkripsiyon ile sadece HBsAg yapılmaktadır. Bu integre hücrelerde malignite gelişme olasılığı çok artmıştır. Histolojisi kronik aktif hepatite benzer, T4 hücreleri sayıca artar, B hücreleri görülür.

KRONİK HBV İNFEKSİYONUNUN TEDAVİSİ

Esas amaç, infeksiyonun tamamen ortadan kaldırılması olmakla beraber, pratikte HBV-DNA'sının replikasyonunun sürekli olarak durdurulması ile karaciğer hastalığında remisyon ve infektivitede azalma sağlanmış olur. Bu amaç için en uygun zaman virus DNA'sının replikasyon fazı, en etkili ajanlar da antiviral ilaçlardır. Bu amaçla kullanılan antiviral ilaçlar şunlardır:

1. Vidarabin (Adenin Arabinozid): Pekçok DNA virusuna etkilidir. HBV ile ilgili çalışmalarda tedavi boyunca viral replikasyonun %90 oranında durduğu, ancak bu aktivite azalmasının kalıcı olmadığı görülmüştür. Tedavi öncesi ASTD düzeyi yüksek olanlar ile DNA polimeraz aktivitesi düşük olanlarda virus replikasyonunun inhibisyon oranının daha fazla olduğu saptanmıştır. Ancak etkinin ilaçtan çok kendiliğinden olduğu düşünülmektedir. Çünkü HBeAg'nin serumda kayboluşu tedavi sonrası aylarda olmuştur.

Doza bağımlı ve sık görülen yan etkilerden dolayı artık seçilmeyen vidarabin (21,22), son yıllarda kısa süreli (4-8 hafta) kortikosteroid uygulamasından hemen sonra denenmiş ve etkili bulunmuştur (23,24). Vidarabinin tek başına kullanımında anti-HBe gelişme yüzdesi %17 iken, steroid sonrası kullanımda bu oran %57, diğer bir çalışmada ise %15'den %73 olmuştur, yan etkilerin az olduğu gözlenmiştir (22,23). Son yıllarda Vidarabin, steroid ve interferondan oluşan üçlü tedavi denenmektedir (25).

2. Acyclovir: Etkisini direk ve indirek (sitotoksik T ve NK hücreleri uyararak) yollarla sağlar. Tek başına veya kortikosteroid ile beraber en etkili ilaç olarak görülmektedir. Serokonversiyonu (antiHBe oluşumu) sağlamadaki başarısı çeşitli çalışmalarda %22(28), %32(29,30), %47(31) bulunmuştur. Sadece HBeAg'nin kaybı %59 olguda saptanmıştır (31, bu oran tedavi kesildikten sonra 1 yıl boyunca sürmüş ve %65'e ulaşmıştır (32). Uzun süreli kullanımda ise %50'ye ulaşan serokonversiyon ve %75 olguda HBV-DNA'sının kaybı %40-50 dolaylarında kalmıştır (33). Burada spontan serokonversiyon oranının her yıl için %2.5 ile %25 arasında değiştiğini de söylememiz gerekmektedir (34-36).

İnterferonun Başarısını Etkileyen Faktörler

1. Kısa Süreli Kortikosteroid Kullanımı: Omata ve ark. (37), 5 hastada 40mg/gün oral prednizolon 4 hafta kullandıktan 1-4 ay sonra interferon denemişler ve 3 olguda seronegativite, birinde de serokonversiyon sağlamışlardır. Oysa daha yüksek dozda interferon kullandıkları 15 hastadan hiçbirinde replikasyon inhibe edilememiştir. Steroidin DNAp aktivitesini arttırdığı (38,39) ve kesilince de azalttığı bilinmektedir (39-41). Periferik kan lenfositlerinin "lenfosit aktivasyon antijeni" CD69'un ekspresyonunu arttırarak hücreselel immün cevabın, steroidin kesilmesiyle arttığı bulunmuştur (42). Sadece interferon verilen grupta antiHBe oluşumu %3.4, HBV-DNA kaybı %6.8 iken, 6 hafta prednizolon verilen grupta ise bu oranlar sırasıyla %9.6 ve %19.4 olmuştur (43). Buna yakın sonuçlar benzer çalışmalarda da sağlanmıştır (25,33,42,44-46).

Ancak steroidlerden beklenen yararın görülmediği çalışmalar da vardır (47-49). Yine de genel kanı steroidlerin müsbet etkisi yönündedir.

2. Tedavi Öncesi Aminotransferaz Düzeyleri: Başlangıçta ALT düzeyinin yüksekliği (100 ünitenin üzeri) ile tedaviye cevap arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir (25,31,47-49). Bu sonuç interferonun etkisinin kronik viral infeksiyonun aktif immün cevap gösteren grubunda daha güçlü olduğunu gösterir (50-52). Cevap olarak klinik, biokimyasal ve histolojik bir alevlenme tablosunun oluşması da bunu ispatlar. Ancak steroidlerin de kullanıldığı bir çalışmada tedavi öncesi ALT

düzeinin düşük olduğu grupta daha iyi sonuç alınmıştır (44). Başka bir çalışmada da tedavi öncesi ALT düzeyi ile anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (32).

Tedavi öncesi AST, IgG, kolilglisin düzeylerinin yüksekliği (47,48) ve serum prokolajen tip III peptid (53) varlığı ile pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Ayrıca kadınların daha duyarlı (48,54), Çinlilerin daha dirençli (55) olduğuna dair araştırmalar vardır.

interferon kullanımı ile ilgili deneyimler arttıkça yüksek doz kullanımının ek bir yarar sağlamadığı, toksisitenin arttığı görülmüştür (37). Önerilen doz 3-5 milyon IÜ/haftada 3 kez, süre ise 3-6 ay, ort. 3,4 aydır. Genellikle 3 ay sonunda hepatite benzer klinik tablo oluşur, aminotferaz düzeyleri 10 katına çıkar. Bunu izleyerek serokonversiyon gelişir (54,56). Uzun süreli kullanım, 1 yıla dek süren tedavi protokollerine (57) rağmen, yararsız olduğu düşünülen önerilmemektedir.

Tedaviye cevap, sadece biokimyasal ve serolojik olmayıp, histolojik olarak da gösterilmektedir (28,31,37,44,45).

Son yıllara dek selim olarak düşünülen kronik persistan hepatit de interferon tedavisine aday gibi görülmektedir (54). Çünkü viral replikasyonun

sürdüğü persistan hepatit olgularından kronik aktif hepatit veya siroza dönüşüm saptanmış, replikasyonun durduğu olgularda ise çok daha az bir oranda rastlanmıştır (58).

interferon kronik HBV - HDV (hepatitis delta virusu) hepatitinde replikasyonu durdurmak için denenmektedir. Ancak replikasyonun durdurulması için yeterli olan doz ve sürede aynı başarı HDV için sağlanamamıştır (59,60). Genellikle replikasyon geçici süre için durmuş, tedavi kesildikten sonra nekroz, enflamasyon ve karaciğer hastalığı sürmüş veya nüks olmuştur.

Kronik HCV (hepatitis C virusu) hepatitinde kortikosteroid ve acyclovir başarısız olurken (61), interferon ile yapılan çalışmalar umut verici olmuştur (62,63). Düşük doz ile 8-12 haftalık tedavi sonrası biokimyasal ve histolojik düzelme sağlandığı bir araştırmada maalesef bu düzelme geçici olmuş ve nüks oranı 6 ay içinde %50 olmuştur (64). Etkinin daha güçlü ve uzun süreli olması için uzun süreli ve yüksek dozda interferon kullanımı önerilmektedir.

Şüphesiz son on yılda viroloji alanında bilim dünyasının kaydettiği aşama olağanüstüdür.

Ancak halen hepatotrop viruslar hakkında sahip olduğumuz bilgi dağarcığının ve dolayısıyla tedavi yaklaşımımızın kısıtlılığı aşikârdır.

KAYNAKLAR

- Kayaalp O: Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Toraman ve Ulucan Basımevi, 1987:928-30.
- Barnhart ER: Phycian's Desk Reference: Medical Economics Com. Inc., 1988: 1920-22.
 - Balkwill FR. Interferons: Lancet 2:1060-3,1989.
 - Thomas HC: Moleculer- and Immuno-Biology of HBV: Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A(interferon alfa-2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd., 1989:36-7.
 - dianzani F: The biological basis for the cilincal use of interferon: Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A (interferon alfa-2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd., 1989:4.
 - Dianzani F, Baron S: Unexpectedly rapid action of human interferon in hpsiological cond itions: Nature 257:682, 1975.
 - Kono S, Viluk I: The Clinical Potential of Interferons. Tokyo: University of Tokyo Press, 1982:353.
 - Dale M: The Extrapharmacope. London: The Pharmaceutical Press, 1989,696-9.
 - De Wit R, Schattenkerk JKME, Boucher CAB, Baker PJM, Veenhof KHN, Danner SA: Clinical and virological effects of high dose recombinant interferon-alfa in disseminated AIDS-related Kaposi's sarkoma: Lancet 2:1214-7,1988.
 - Lane HC, Kovacs JA, Feinberg J: Anti-retroviral effects of IFN-in AIDS-associated Kaposi's sarcoma: Lancet 2:1218-22,1988.
 - Jakops L: Multicenter double-blind study of effect of intrathecally administered natural human fibroblast interferon on exacerbations of multiple sclerosis: Lancet 2:1411-4,1986.
 - Panitch HS, Hirsch RL, Haley AS, Johnson KP: exacerbations of multiple sclerosis in patients treatid with gamma interferon. Lancet i:893-5,1987.
 - Sherlock S: Classifying Chronic Hepatitis. Lancet 2:1168-70,1989.
 - Szmaness W: Hepatocellular carcinoma and the hepatitis B virus: evidence for a causal association. Prog. Med. ViroI. 24:40-69,1978.

15. Dudley HJ, Schucier PJ-Scherlock S: Natural history of hepatitis associated antigen positive chronic liver disease. *Lancet* ii: 1388-93,1972.
16. De Groote J, Fvery J, Lepontre L: Long-term follow up of chronic active hepatitis of emoderate severity. *Gut* 19: 510-3,1978.
17. Smith CI, Andress L.L., Scullard G: Survival in 279 patients with chronic hepatitis B liver disease (Abstract). *Hepatology* 1:548,1981.
18. Smith CI, Gregory PB: Management of patients with HBsAg positive chronic active liver disease. In: Cohen S, Soloway RS, eds. *Chronic active liver disease*. London: Churchill Livingstone 1983: 73-80.
19. Beasley R, Hwnand L: Epidemiology of hepatocellular carcinoma In: Vyas G, Dienstag J, Iloofnagle J, eds. *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Orlando: Grune and Stratton, 1984.
20. Dusheiko G, Di Bisceglie A, Bowyer S: Recombinant leukocyte interferon treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 5:556-60,1985.
21. Iloofnagle JII, Davis GL, Hanson RG: Treatment of chronic type B hepatitis with multiple ten days course of adenine arabinoside monophosphate. *J Med Virol* 15:121-8,1985.
22. Iloofnagle JII, Hanson RG, Minuk GY: Randomised controlled trial of adenine arabinoside monophosphate for choronic type B hepatitis. *Gastroenterology* 89:150-7,1984.
23. Perillo R, Regenstein F, Bodicky C: Comparative efficacy of adenisine arabinoside 5' monophosphate in the treatment of chronic active hepatitis type B, *Gastroenterology* 88:780-6,1985.
24. Yokosuka O, Omata M, imazeki F: Combination of short-term prednisolone and adenine arabinoside in the treatment of chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 89:246-51,1985.
25. Brissot P, Jacquelirot C, David V, Guyader D, Jouanolle H, Gueguen M: Short-term Prednisolone Followed by Recombinant Human Alpha-Interferon Alone or Combinad with Adenine-Arabinoside: A Prospective and Randomized Trial. Preliminary Results Management of chronic Viral Hepatitis Focus on INTRON A(interferon alpha-2b) (Abstract book): Adclphi Communications Ltd., 1989: 59.
26. Nair P, Tong MG, Stevenson D, Roskamp D, Boone C: Pulse prednisolone treatment of patients with chronic active hepatitis B: Results of a controlled clinical trial (Abstract). *Hepatology* 3:877,1983.
27. Schalm SW, Heytenk RA, Van Buuren HP, De Man RA: Acyclovir enhances the antiviral effect of interferon in chronic hepatitis B. *Lancet* ii: 358-60,1985.
28. Dooley JS, Davis GL, Peters M: Pilot Study of Recombinant Human alpha-interferon for Chronic Type B Hepiattis: *Gastroenterology* 90: 150-7,1986.
29. Castenada C, Fragoso T, Limonta B, Rodriguez N: Treatment with Interferon on Chronic active hepatitis B virus in children (Abstract). *Gastroenterology* supp 96:83, 1989.
30. Mueller R, Baumgarten R, Markus R, Schulz M: Treatment of chronic hepatitis B with Interferon alfa-2b: Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A(interferon alfa 2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd. 1989; 56.
31. Perez V, Tanno H, Villamil F, Fay O: Recombinant interferon alfa 2b after prednisone withdrawal in the treatment of chronic type B hepatitis: Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A(interferon alfa-2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd. 1989:48-9.
32. Hadziyannis SJ, Bramou Th, Markis A: Interferon treatment of HBeAg negative/serum HBV-DNA positive chronic hepatitis type B: Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A(interferon alfa 2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd. 1989:54-5.
33. Perrillo R, Schiff E, Davis GL: Multicenter randomised controle-trial of recombinant alpha-interferon in chronic hepatitis B: Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A(interferon alfa-2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd. 1989: 45.
34. Iloofnagle JH, Dusheka GM, Seef LB, Jones EA: Seroconversion from hepatitis B antigen to antibody in an chronic type B hepatitis: *Ann Int Med* 94:744-8,1981.
35. Norktam G, Nerdemnt H, Hermoysson S: Long term follow of chronic hepatitis patients with HBsAg, HBeAg and Dane particle associated DNA Polimeraz in serum: *Scand J Infec Dis* 12:159-60,1980.
36. Vola LA, Barrison IG, Coleman JL: Natural history of liver disease in chronic hepatitis B surface antigen carriers: Survey of 100 patients from GB: *Lancet* ii:1156-9,1981.
37. Omata M, Fimo I, Yokosuka O, Ito Y: Recombinant Leukocyte A interferon treatment in patients with chronic hepatitis B virus infectio *Gastroenterology* 88: 870-80,1985.
38. Sagnelli E, Manzillo G, Malo G: Serum levels hepatitis surface and core antigens during immunosupresive treatment of HBsAg-Positive chronic active hepatitis. *Lancet* ii:3957,1980.
39. Iloofnagle JH, Dusheiko GM, Schaffer DE: Reactivation of chronic hepatitis B virus infection by cancer chemotherapy. *Ann Intern Med* 96:447-9,1982.
40. Scullard Gil, Smith CL, Merigan TC: Effects of immunosuppressive therapy on viral markers in chronic active hepatitis B. *Gastroenterology* 81:987-91,1981.
41. Perrillo R, Regenstein F, Peters M, Bodicky C, Campbell C: Prednisone withdrawal followed by recombinant alpha interferon in the treatment of chronic hepatitis B (abst.). *Hepatology* 6:1129,1986.

42. Monzon CG, Otero RM, Buey LG, Bote ML: Randomised Controlled study of the efficacy and immunologic effects of a short course of prednisone followed by alpha-interferon alone in the treatment of chronic hepatitis B: Preliminary results. Management of Chronic hepatitis B: Preliminary results. Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A (interferon alfa-2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd. 1984:60.
43. Lai CL, Lok ASF, Lina HJ, Wub PC, Lau JYN: Use of recombinant alpha 2 interferon (r-IFN) with or without steroid in Chinese HBsAg carrier children: A prospective double-blind controlled trial. (Abstract). Gastroenterology supp 96: A618,1989.
44. Fevery J, Elewaut A, Michielsen P, Desmet V: Efficacy of interferon alfa-2b with or without prednisone withdrawal in the treatment of chronic active viral hepatitis BA prospective double-blind Belgian-Dutch study. Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A(interferon alfa-2b) (Abstract book); Adelphi Communications Ltd. 1989:46-7.
45. Leung NWY, Lau LJ, Guire LJ, Tam JSL: Recombinant interferon alfa-2b treatment following prednisone withdrawal in chronic hepatitis B Patients in Hong-Kong-A randomized controlled trial. Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A (interferon alfa-2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd. 1989; 61.
46. Reichen J, Lavanchy D, Frei P: Seroconversion induced by interferon alfa-2b ameliorates quantitative liver function in patients with chronic hepatitis B. Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A (interferon alfa-2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd. 1989, 63.
47. Lok ASF, Lai GL, Lau JYN, Wu PC: Effects of age, serum ALT level and prednisone withdrawal on the response to alpha-IFN therapy in Chinese patients with chronic HBV infection. (Abstract) Gastroenterology supp 96A623, 1989.
48. Hoofnagle JH, Marion P, Mullen KD, Jones DB, Rustki V: Randomized, controlled trial of recombinant human alpha-interferon in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology 95:1318-25,1988.
49. Lok ASF, Lai CL, Wu JYN, Leung EKY: Randomized controlled trial of recombinant interferon alfa-2b with or without prior prednisone in Chinese adults. Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A(interferon alfa-2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd, 1989,50-1.
50. dooley JS, Davis GL, Peters M, Waggoner JG: Pilot study of recombinant human alpha-interferon for chronic type B hepatitis: Gastroenterology 90:150-7,1986.
51. Dusheiko GM, Bisceglie A, Bowyer S, Sacks E, Kew MC: Prolonged recombinant leukocyte interferon treatment of chronic hepatitis B: Hepatology 5:556-60,1985.
52. Renault PH, Hoofnagle JH, Park Y: Psychiatric complications of long term interferon alfa therapy: Arch Intern Med 147:1577-80, 1987.
53. Velosa J, Serejo F, Saraiva A, Marinho R, Ramalho F, Moura MC: Serum procollagen type III peptide in chronic hepatitis b treated with recombinant interferon alfa-2b: Management of Chronic Viral Hepatitis Focus on INTRON A(interferon alfa-2b): Adelphi Communication Ltd, 1989, 64.
54. Alexander GJM, Williams R: Antiviral treatment in chronic infection with hepatitis B virus: British Med Jour 292:915-6,1986.
55. Lai CL, Lok ASF, Lin HJ, Wu FC, Yeok EK, Yeung CY: Placebo-controlled trial of recombinant alpha 2-interferon in Chinese HBsAg carrier children: Lancet 2:877,1987.
56. Alexander GJM, Brahm J, Fagan E, Smith HM, Daniels HM: Loss of HBsAg with interferon therapy in chronic hepatitis B virus infection: Lancet 2: 66,1987.
57. Picciotto A, Gambaro P, Mela GS, Rapicetta M, Varagona G, Cella G: Alpha 2b interferon therapy in chronic type B hepatitis: (Abstract). Gastroenterology supp 96: A644, 1989.
58. Aldershville J, Dietrichson O, Ekinhoj P: Chronic persistent hepatitis: Serological classification and meaning of the hepatitis B system: Hepatology 2:243-6,1982.
59. Craxi A, Marco VD, Marra S, Rizzetto M, Rosina F: Treatment with interferon alfa-2b of Chronic HDV hepatitis in children: Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A (interferon alfa-2b) (Abstract book): Adelphi Communications Ltd, 1989,75.
60. Rosina F: Long-term interferon therapy of chronic hepatitis D: A multicenter Italian study: Management of Chronic Viral Hepatitis: Focus on INTRON A(interferon alfa-2b) (abstract book): Adelphi Communications Ltd., 1989:68-9.
61. Pappas SC, Hoofnagle JH, Young N, Straus SE, Jones EA: Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with acyclovir: Pilot study: J Med Virol 15:1-9,1985.
62. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB: Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon: a preliminary report: N Engl J Med: 315: 1575-8,1986.
63. Thomson BJ, Donan M, Lever AML, Webster ADB: Alpha interferon therapy for non-A, non-B hepatitis transmitted by gammaglobulin replacement therapy: Lancet 1:539-41,1987.