



**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**HEPATİT B VİRÜSÜ'NE BAĞLI KRONİK HEPATİT VE
KARACİĞER SİROZUNDA HEPATİK DİSFONKSİYONUN
DERECESİ İLE SERUM IGF-1 VE IGFBP-3
KONSANTRASYONLARI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
İNCELENMESİ**

Dr. CEMALETTİN ULUSOY

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL, 2008



**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**HEPATİT B VİRÜSÜ'NE BAĞLI KRONİK HEPATİT VE
KARACİĞER SİROZUNDA HEPATİK DİSFONKSİYONUN
DERECESİ İLE SERUM IGF-1 VE IGFBP-3
KONSANTRASYONLARI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
İNCELENMESİ**

Dr. CEMALETTİN ULUSOY

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. YAVUZ TAGA

İSTANBUL, 2008

TEŞEKKÜRLER

Tıpta uzmanlık öğrencisi olarak klinik biyokimya eğitimim süresince yakın ilgisi, katkı ve yönlendirmelerinden dolayı Anabilim Dalı Başkanımız, değerli danışmanım,

Prof. Dr. Yavuz TAGA' ya

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri;

**Prof. Dr. Kaya EMERK,
Prof. Dr. A. Süha YALÇIN,
Prof. Dr. Nesrin KARTAL ÖZER,
Prof. Dr. Serpil BİLSEL,
Prof. Dr. Goncagül HAKLAR,
Prof. Dr. Önder ŞİRİKÇİ'ye**

Tezimde kullandığım kronik hepatit B ve siroz hastalarına ulaşmamda yardımcı olan

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Anabilim Dalı Gastroenteroloji
Bilim Dalı Öğretim Üyesi;

Doç. Dr. Neşe İMERYÜZ'e

T.C. Sağlık Bakanlığı
Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniği'nden

Dr. Şafak KIZILTAŞ ve Dr. Feruze ENÇ'e

Uzmanlık eğitimim süresince her zaman yardım ve desteklerini gördüğüm,

Aileme

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
TEŞEKKÜRLER.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iii
ŞEKİLLER VE TABLOLAR.....	iv
i. ŞEKİLLER	iv
ii. TABLOLAR	iv
ÖZET	v
SUMMARY	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2- GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. KRONİK HBV ENFEKSİYONU.....	2
2.1.1. HBV	2
2.1.2. Epidemiyoloji.....	4
2.1.3. Patogenez.....	5
2.1.4. Histoloji	7
2.1.5. HBV ve karaciğer sirozu.....	8
2.2. İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ-1 (IGF-1)	13
2.2.1. Yapısı.....	13
2.2.2. Sentezi ve regülasyonu	13
2.2.3. Etki mekanizması	14
2.2.4. Etkileri	17
2.3. İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ BAĞLAYICI PROTEİN 3 (IGFBP-3).....	20
2.3.1. Yapısı.....	20
2.3.2. IGFBP-3'ün fonksiyonel bölgelerinin (domain) görevleri	21
2.3.3. Sentezi ve regülasyonu	22
2.3.4. Etkileri	23
2.3.4.1. IGF-1 üzerindeki etkileri.....	23
2.3.4.2. IGFBP-3'ün IGF-1'e bağlı olmayan etkileri	24
2.4. IGF-1/IGFBP-3 ve HBV'YE BAĞLI KRONİK KARACİĞER HASTALIĞI	26
2.5. KEMİLÜMİNESANS İMMÜN ÖLÇÜM YÖNTEMİ.....	27
3. HASTALAR ve YÖNTEMLER.....	29
3.1. HASTALAR	29
3.2. REAKTİFLER ve ÖLÇÜM YÖNTEMİ	30
3.3. İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER	31
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA.....	38
6. KAYNAKLAR.....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	Adrenokortikotrofik hormon
Akt/PKB	Protein kinaz B
ALS	Aside dayanıksız alt birim
bFGF	Bazik fibroblastik büyüme faktörü
CTL	Sitotoksik T lenfosit
EGF	Epidermal büyüme faktörü
GH	Büyüme hormonu
HBcAg	Hepatit B core antijeni
HBeAg	Hepatit B e antijeni
HBsAg	Hepatit B yüzey antijeni
HBV	Hepatit B virüsü
HCV	Hepatit C virüsü
HDV	Hepatit D virüsü
HDM	Hücre dışı matriks
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
HIV	İnsan immün yetmezlik virüsü
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGF-1R	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörü
IGFBP-3	İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3
IRS1	İnsülin reseptör substratı-1
KYH	Karaciğer yıldızsı hücresi
MAPK/ERK	Mitojenle aktive olan protein kinaz/ hücre dışı sinyalle ilişkili kinaz
MFB	Miyofibroblast
MMP	Matriks metalloproteinaz
NGF	Sinir büyüme faktörü
NKH	Doğal öldürücü hücre
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü 1
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PDK	Fosfoinositid bağımlı kinaz
PI3K	Fosfatidilinositol 3 kinaz
RXR	Retinoid X reseptörü
SH2	<i>Src homoloji 2</i>
Shc	<i>Src homology/collagen</i>
STAT1	Sinyal uyarıcı ve transkripsiyon aktivatörü 1
TfR1	Transferin reseptörü 1
TGF β 1	Transforme edici büyüme faktörü beta 1
Th	Yardımcı T lenfosit
TIMP	Doku matriks metalloproteinaz inhibitörü
TLR2	Toll benzeri reseptör 2
TNF α	Tümör nekrotize edici faktör alfa

i. ŞEKİLLER

- Şekil 1. HBV genomu yapısı ve organizasyonu.
Şekil 2. HBV'nin hücreye bağlanması, replikasyonu ve kana salınması.
Şekil 3. Kronik HBV enfeksiyonunun coğrafik dağılımı.
Şekil 4. Disse aralığındaki fibroz oluşumuna bağlı fonksiyonel değişiklikler.
Şekil 5. Karaciğer hücreleri ve hepatik sinüzoid.
Şekil 6. Karaciğer yıldızsı hücresinin fonksiyonları.
Şekil 7. Karaciğer yıldızsı hücre aktivasyonu.
Şekil 8. IGF-1'in yapısı
Şekil 9. Büyüme hormonu/IGF-1 etkileşimi.
Şekil 10. IGF-1R öncü peptiti.
Şekil 11. IGF-1 reseptörü.
Şekil 12. IGF1R (İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü) sinyal iletim yolları.
Şekil 13. IGFBP-3'ün yapısı.
Şekil 14. IGFBP-3'ün IGF-1 üzerindeki etkileri.
Şekil 15. IGFBP-3'ün hücre yüzeyine bağlanması.
Şekil 16. IGFBP-3 ve hücre içi sinyal iletim yolları.
Şekil 17. Lüminesans reaksiyonu.
Şekil 18. Kontrol, kronik hepatit ve siroz gruplarında IGF-1 ($\mu\text{g/mL}$) ölçümleri.
Şekil 19. Kontrol, kronik hepatit ve siroz gruplarında IGFBP-3 (ng/mL) ölçümleri.
Şekil 20. Child-Pugh skoruna göre serum IGF-1 ($\mu\text{g/mL}$) ölçümleri.
Şekil 21. Child-Pugh skoruna göre serum IGFBP-3 (ng/mL) ölçümleri.
Şekil 22. Kronik hepatit olgularında fibroz evresine göre serum IGF-1 ($\mu\text{g/mL}$) ölçümleri.
Şekil 23. Kronik hepatit olgularında fibroz evresine göre serum IGFBP-3 (ng/mL) ölçümleri.

ii. TABLOLAR

- Tablo 1. Büyüme hormonu ile düzenlenen lokal büyüme faktörleri ve sitokinler.
Tablo 2. IGF-1'in metabolik etkileri.
Tablo 3. IGFBP-3'ün karboksil ucuna bağlanan proteinler.
Tablo 4. IGFBP-3'ün fonksiyonel bölgeleri.
Tablo 5. Child-Pugh Sınıflaması.
Tablo 6. Hastaların demografik özellikleri.
Tablo 7. Kontrol, siroz ve kronik hepatit gruplarında serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri.
Tablo 8. Siroz hastalarında Child-Pugh skoruna göre serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri.
Tablo 9. Kronik hepatit olgularında fibroz evresine göre serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri.
Tablo 10. Kronik hepatit olgularında IGF-1 ve IGFBP-3 ve biyokimyasal veriler arasındaki ilişki.
Tablo 11. Siroz olgularında IGF-1 ve IGFBP-3 ve biyokimyasal veriler arasındaki ilişki.

ÖZET

Kronik karaciğer hastalığında IGF homeostazında değişiklikler görülmektedir. Karaciğer hasarında birçok hücreden sentezlenen IGF-1 ve IGFBP-3 ile karaciğer yıldızlı hücreleri aktive olmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda kronik viral hepatit ve sirozda IGF-1 ve IGFBP-3'ün serum düzeyleri düşük bulunmuştur.

Bu çalışmalar ışığında hepatit B virüsüne bağlı kronik hepatit ve sirozun serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyine etkisini ve bunun hepatik disfonksiyonla ilişkisini incelemeyi amaçladık.

Çalışmamıza 40 kronik hepatit, 40 siroz hastası ve kontrol grubu olarak 40 sağlıklı birey dahil ettik. Siroz hastaları Child-Pugh (CP) ve kronik hepatit hastaları fibroz evresine göre gruplara ayrıldı.

Serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyi sirozlu olgularda kronik hepatit ve kontrol gruplarına göre belirgin düşük bulundu. Hepatit ve kontrol grubunun IGF-1 ölçümleri arasında fark görülmezken IGFBP-3 ölçümleri arasında fark bulundu. CP A ile B gruplarının IGF-1 düzeyleri arasında fark bulunmamakla beraber CP A ile C ve CP B ile C grupları arasında belirgin fark gördük. CP A ile C grubunun IGFBP-3 ölçümleri arasında belirgin fark bulduk, fakat A ile B ve B ile C arasında fark görmedik. Hepatit hastalarında fibroz evresi arttıkça serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri düşmekteydi. Ancak evre 0 ile 1 ve evre 2 ile 3 fibroz gruplarında fark bulamadık.

Serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri kronik viral hepatit ve sirozda karaciğer disfonksiyonunu göstermekte bir belirteç olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Kronik hepatit B, karaciğer sirozu, IGF-1, IGFBP-3.

SUMMARY

Chronic liver disease is associated with alterations in IGF homeostasis. Hepatic stellate cells are activated in liver damage by IGF-1 and IGFBP-3 produced by many cells, but serum IGF-1 and IGFBP-3 concentrations have been found to be decreased in many studies.

In the light of these studies we aimed to investigate serum IGF-1 and IGFBP-3 concentrations in chronic hepatitis and cirrhosis related to hepatitis B virus and their associations with hepatic dysfunction.

We enrolled 40 patients with chronic hepatitis, 40 patients with liver cirrhosis and 40 healthy controls. Cirrhotic patients were grouped according to Child-Pugh (CP) score and patients with chronic hepatitis were grouped according to fibrosis stage.

Serum IGF-1 and IGFBP-3 concentrations were significantly lower in cirrhotic patients than in chronic hepatitis and control groups. There was a significant difference between hepatitis and control groups in IGFBP-3 levels, but not in IGF-1 levels. There were also significant differences between CP A and C, and CP B and C groups in IGF-1 levels, but not between CP A and B groups. A significant difference was found between CP A and C groups in IGFBP-3 levels, but not between CP A and B, and CP B and C. Serum IGF-1 and IGFBP-3 levels were decreased with the fibrosis stage in patients with chronic hepatitis, but there were no differences between stage 0 and 1, and stage 2 and 3 fibrosis groups.

Serum IGF-1 and IGFBP-3 levels may be used as a marker for the assessment of hepatic dysfunction in chronic viral hepatitis and cirrhosis.

Key words: Chronic hepatitis B, liver cirrhosis, IGF-1, IGFBP-3.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünyada 400 milyondan fazla insan Hepatit B virüsü (HBV) ile enfektidir (1). Hepatit B aşısı bulunmasına rağmen hepatit B enfeksiyonu prevalansındaki yakın zamandaki düşme çok azdır (2). HBV' ye bağlı gelişen akut enfeksiyonların % 5-10'u kronikleşir (3).

Siroz, karaciğer parenkiminin fibrozu sonucunda karaciğer yapısının ve fonksiyonlarının bozulmasıyla sonuçlanan bir durumdur (4). Karaciğer fibrozu kronik karaciğer hasarı sonucu gelişen yara iyileşmesi cevabıdır (5). Kronik B hepatiti olan hastaların % 15-40'ında karaciğer sirozu gelişir (1).

Karaciğer yıldızsı hücreleri (KYH) karaciğer hasarını takiben aktive olur (6). Hepatositler, Kupffer hücreleri ve lenfositler KYH'lerin DNA sentezi, mitotik aktivite ve proliferasyonlarını arttıran insülin benzeri büyüme faktörü 1 (insulin-like growth factor, IGF-1) sentezlemektedir (7,8).

IGF-1, anabolik metabolizmayı uyaran, DNA sentezi ve hücre proliferasyonunu arttıran bir polipeptittir (9). Dolaşımda insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3 (inulin-like growth factor binding protein, IGFBP-3) ile taşınmaktadır (10). IGFBP-3 taşıma fonksiyonu dışında serbest IGF-1 düzeyini ve aktivitesini düzenleyerek IGF-1'in KYH üzerine olan etkisini kontrol eder (8).

HBV'ye bağlı karaciğer sirozunda IGF-1 ve IGFBP-3 sentezi artmasına rağmen yapılan birçok çalışmada serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyinin hastalığın şiddetine bağlı olarak düştüğü görülmüştür. Ayrıca kronik HBV ile serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyi arasındaki ilişkiyi inceleyen yeterli çalışma yoktur.

Serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri enzimle işaretli kemilüminesans immün ölçüm yöntemiyle kantitatif olarak tespit edilebilmektedir.

Çalışmamızda kronik HBV enfeksiyonu ve HBV'ye bağlı karaciğer sirozunda karaciğer disfonksiyonu ve fibrozun derecesi ile serum IGF-1 ve IGFBP-3 konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi ve IGF-1 ve IGFBP-3'ün karaciğer disfonksiyonunu değerlendirmekte klinik bir belirteç olarak rolünü incelemeyi amaçladık.

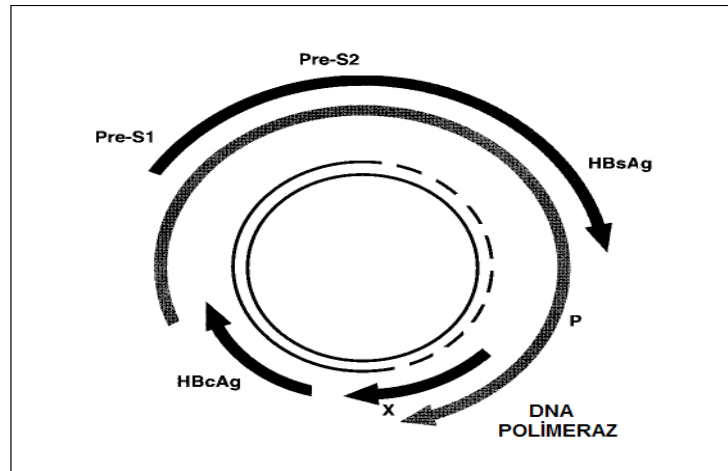
2- GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK HBV ENFEKSİYONU

2.1.1. HBV

HBV, sarılık etkeni olarak ilk defa Blumberg ve Alter'in 1965 yılında "Avustralya antijeni"ni (HBsAg) bulmasıyla tanımlanmıştır (11).

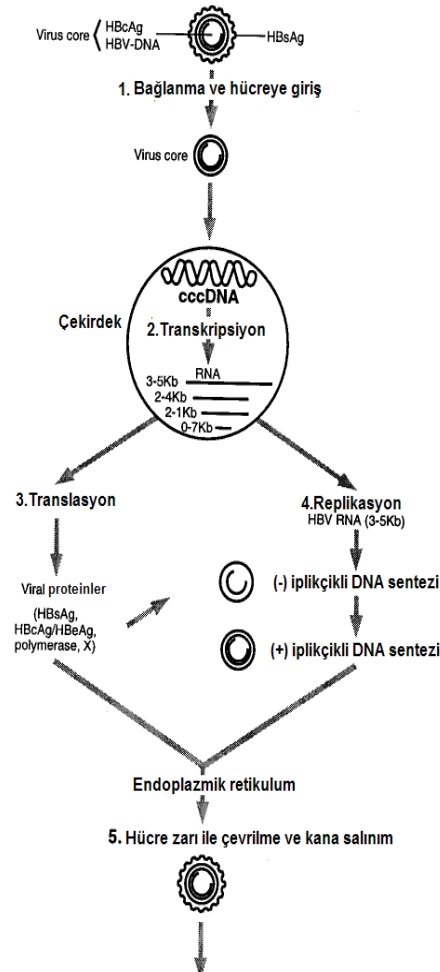
1979'da HBV DNA'sı klonlanmıştır. Hepadnaviridae ailesinin Orthohepadnavirus genusunda yer alır (12). Sferik biçimde ve zarflı bir virüstür. Kısmen çift sarmallı, 3.2 kb uzunluğunda sirküler DNA genomu içermektedir (13). Yapısal ve yapısal olmayan proteinleri kodlayan, kısmen üst üste yerleşik dört adet açık okuma çerçevesi (Open reading frame) içerir (Şekil 1) (14). Bunlar, zarf, çekirdek antijeni, polimeraz ve X proteinini kodlar. PreS/S geni yüzey proteinlerini (HBsAg), precore/core geni enfektiviteden sorumlu HBeAg antijeni ve çekirdek antijeni olan HBcAg'yi kodlar. Polimeraz geni reverse transkriptaz ve DNA polimeraz aktivitesinden sorumludur. X geni konakçı ve viral genlerin transkripsiyonunu aktive eder ve hepatokarsinom gelişiminden sorumlu X proteinini kodlar. Aktif replikasyon sırasında viral partiküller serumda 42 nm çapında viryon (Dane partikülü) ve 22 nm çapında sadece HBsAg'yi içeren boş viral zarf olarak iki formda bulunur.



Şekil 1. HBV genomu yapısı ve organizasyonu.

HBV'nin tek kanıtlanmış enfeksiyon bölgesi hepatositlerdir (15). Böbrek, pankreas ve mononükleer hücrelerde de virüs DNA'sına rastlanmaktadır (16). Ancak hepatosit dışındaki replikasyon bölgelerinin patogeneizde etkisinin olmadığı düşünülmektedir.

Viral replikasyon, direkt DNA kalıbı kullanılarak DNA replikasyonu yerine retroviruslardakine benzer şekilde pregenom olarak adlandırılan RNA aracısını kullanarak reverse transkripsiyonla DNA sentezlenmesi basamaklarını içerir (17). Hücre içinde gerçekleşen bu basamaklar virüsün hücre içine girmesi ve çekirdekte çift iplikçikli DNA'nın tamamlanması, RNA'ların sentezlenmesi, viral kapsidin sentezi ve genomun replikasyonu, diğer viral proteinlerin (HBsAg, HBeAg, X proteini) sentezi, zarfın kazanılması ve hücreden salınmasını içerir (Şekil 2).



Şekil 2. HBV'nin hücreye bağlanması, replikasyonu ve kana salınması.

2.1.2. Epidemiyoloji

Dünya nüfusunun yaklaşık % 5’inde kronik HBV enfeksiyonu olduğu bildirilmektedir (18, 19).

HBV temel olarak üç yolla bulaşır:

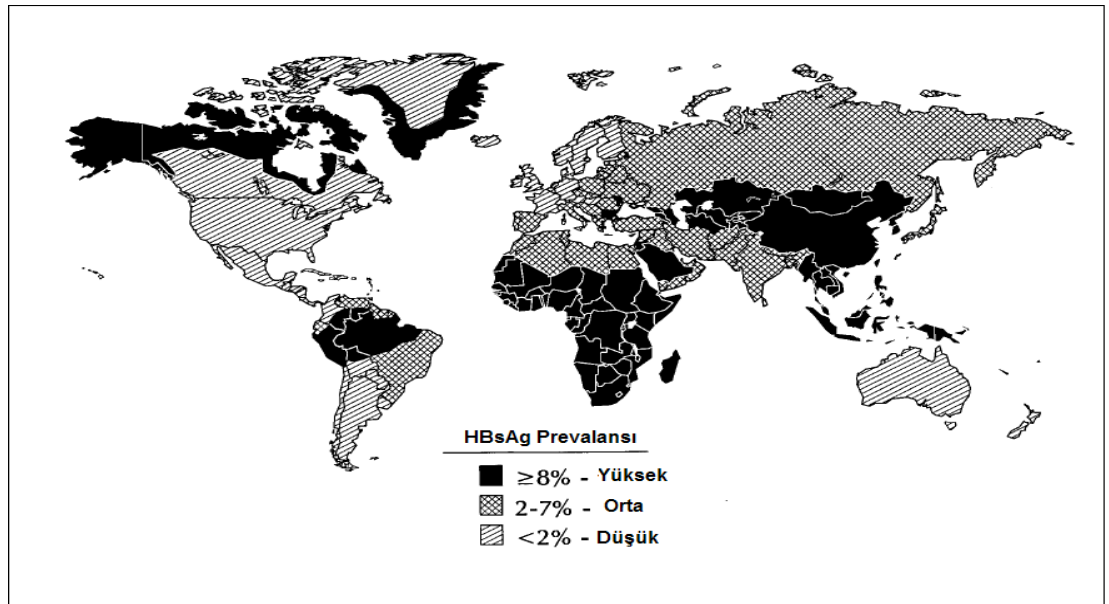
Parenteral yol: Enfekte kan ve kan ürünleri kullanmak, damar içi uyuşturucu kullanmak ve delici-kesici aletlerin ortak kullanımı (19).

Cinsel yol: HBV taşıyıcılarıyla cinsel temas (19).

Taşıyıcı anneden bebeğe bulaşma: In-utero bulaşma % 10-15’dir (18).

HBV enfeksiyonunun sıklığı ve geçiş şekli coğrafi olarak farklılık gösterir (11). Uzak Doğu, Afrika ve diğer gelişmekte olan ülkelerde HBV enfeksiyonu yeni doğanların ve çocukların hastalığıdır; anneden yenidoğana geçerek meydana gelir. Kuzey Amerika ve batı Avrupa’da ergenlik ve geç erişkinlerin hastalığıdır; cinsel yaşama ve mesleki maruziyete bağlı olarak meydana gelir.

Dünya nüfusunun yaklaşık % 45’i HBV enfeksiyonu prevalansının $>8\%$ olduğu “yüksek endemik” bölgelerde (Asya, Orta Doğu, Sahra altı Afrika, Güney Amerika, Kuzey Kutbu) yaşamaktadır (11). Geri kalan % 43’ü prevalansın $2-7\%$ olduğu “orta derecede endemik” bölgelerde ve % 2’si prevalansın $<2\%$ olduğu “düşük endemik” bölgelerde yaşamaktadır (Şekil 3).



Şekil 3. Kronik HBV enfeksiyonunun coğrafik dağılımı.

Yüksek endemik bölgelerde HBV enfeksiyona yakalanma riski $> \% 60$ 'tır ve sıklıkla yeni doğan ile çocukluk çağında bulaşma olur (11). Orta derecede endemik bölgelerde enfeksiyona yakalanma riski $\% 20-60$ 'tır ve tüm yaş gruplarında görülebilir. Düşük endemik bölgelerde ise yakalanma riski $< \% 20$ 'dir ve erişkin dönemde görülür.

HBV enfeksiyonu için risk grupları, damar içi uyuşturucu kullananlar, homoseksüel erkekler, çok eşli heteroseksüeller, hemofili ve hemodiyaliz hastaları, sık kan ve kan ürünü transfüzyonu yapılanlar, HBV prevalansının yüksek olduğu bölgelere seyahat edenler, sağlık çalışanları, HBV taşıyıcısı bireylerin cinsel eşleri ve aile bireyleri, HBV taşıyıcısı anneden doğan bebekler ve bakımevlerinde yaşayanlar bulunmaktadır (14).

Türkiye'de HBsAg pozitifliği $\% 1-14.3$ arasında bildirilmiştir. İstanbul ve İzmir gibi batı illerinde $\% 3-4.5$ gibi daha düşük oranda görülürken Diyarbakır, Van, Elazığ gibi doğu illerinde $\% 8-14.3$ gibi daha yüksek oranda görülür (18).

2.1.3. Patogenez

Yeni doğanların $\% 90$ 'ında, 1-6 yaş arası çocukların $\% 30$ 'unda ve erişkinlerin $\% 5-10$ 'unda HBV enfeksiyonu kronikleşir (20).

HBV enfeksiyonunun kronikleşmesinde konakçıya bağlı (yaş, cinsiyet, immün yanıt), virüse bağlı (HBV genotipi, viral mutasyonlar, HBV replikasyon miktarı) ve diğer faktörler (eş zamanlı enfeksiyonlar, alkol kullanımı, diyabet gibi kronik hastalıklar) gibi birçok faktör etkili olmaktadır (18).

HBV direkt hepatotoksik bir virüs değildir (21). Karaciğer hasarı oluşumunda virüsün konakçı immün sistemiyle etkileşimi önemli rol oynar (16). Virüsle enfekte karaciğer hücrelerine karşı gelişen immün yanıtla karaciğer hasarı oluşur. İmmünsüpresyon viral replikasyon ve sitotoksik hasarı artırır.

Karaciğer hasarının ağırlığı serumda HBeAg antijeninin varlığına bağlı olarak değişmektedir (22). HBV enfeksiyonunu takiben serumda her bir HBV proteinine karşı antikor tespit edilebilir. Kabul edilen görüşe göre antiHBs antikorları HBV enfeksiyonunun iyileşmesinde rol almaktadır. Bunu enfeksiyonun yayılmasını önleyerek, viral partiküllerin temizlenmesini ve yıkılmasını kolaylaştırarak yapmaktadır (23). Kronik HBV enfeksiyonunda yüzey proteinlerine karşı antikorlar

(antiHBs) oluşmamaktadır (24). Kronik enfeksiyonu olan hastalarda HBV'ye özgül immün cevap tüm hepatositlerden HBV'yi atmak için çok zayıftır, fakat bu zayıf cevap HBV ile enfekte hepatositlerin devamlı olarak hasar görmesine ve sonuçta kronik enflamatuvar karaciğer hastalığına sebep olmaktadır (2).

Akut sınırlı enfeksiyonlarda T hücre cevabı şiddetli, poliklonal ve multiözügöl sitotoksik T lenfosit (*cytotoxic T lymphocyte*, CTL) ve yardımcı T lenfosit (*T helper*, Th) şeklinde olmaktadır (25). Virüsün ortadan kaldırılması sıklıkla virüse özügöl T hücrelerle, enfekte hücrelerin öldürölmesiyle olmaktadır. Bununla beraber lenfomononökleer hücrelerden salınan sitokinlerin de hücrelerin öölümüne neden olmadan hücre içinde virüslerin inaktivasyonunu gerçekleştirdiğı gösterilmiştir.

Düşük miktardaki virüsün Th1 aracılı koruyucu CTL cevabını uyardığı, yüksek miktardaki virüslere karşı bu yanıtın olmadığı ve koruyucu olmayan Th2 aracılı humoral cevabın geliştiğı bildirilmektedir. Bu da göstermektedir ki enfeksiyonun başlangıcındaki virüs miktarı, konakçının koruyucu veya koruyucu olmayan immün yanıt geliştirmesinde ve dolayısıyla kronik enfeksiyon oluşumunda önemli rol oynamaktadır (2).

HBV özügöl CTL'ler enfeksiyonun kontrolündeki rolleri dışında karaciğerde oluşan doku hasarından da sorumlu tutulmaktadır (18). Kronik HBV enfeksiyonunda zayıf CTL yanıtı gözlenmektedir. Histolojik olarak portal aralıklarda ve bazı hepatik loböllerde CD8+ T hücrelerinin çoğunlukta olduğı mononökleer hücre infiltrasyonu ile birlikte hepatosit nekrozu görölmektedir. Bu sürekli ve etkin olmayan CTL yanıtı karaciğer hasarına neden olmaktadır. CTL, enfekte hepatositi tanıyınca apoptotik sinyal göndermekte ve hepatositin öölümüne neden olmaktadır (26). Bu olay biyopsi örneklerinde apoptotik hepatositlerin, asidofilik "*Councilman* cisimcikleri" olarak görölmesiyle de histolojik olarak desteklenmektedir.

Doğal ööldürücü hücrelerin (*natural killer cell*, NKH) HBV enfeksiyonuna karşı immün yanıtta önemli rol oynadığı gösterilmiştir (2). Bu hücreler direkt HBV veya diğler lenfositler tarafından aktive edilmektedir. Antiviral etkilerini sitotoksik ve yüksek miktarda sitokin salgılayarak gerçekleştirmektedir. Ayrıca bu hücreler diğler lenfositlerle etkileşime girerek immün yanıtı düzenlemektedir. Kronik HBV enfeksiyonunda NK miktarının azalmaktadır.

T hücre aktivasyonuna neden olan antijen sunucu dendritik hücreler de HBV enfeksiyonunda rol oynamaktadır (27). Kronik HBV enfeksiyonunda dendritik hücrelerin T hücre aktivasyonunu gerçekleştirme kapasitelerinin azaldığı ve IL-12 salgılamalarının da azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca fonksiyonel defektler de gözlenmiştir (28).

HBx proteini birçok hücreyel yolakla etkileşime girerek immün yanıt ve antijen sunumunu etkilemektedir. Bu protein hepatositlerde normalde düşük miktarda eksprese olan HLA sınıf I moleküllerini aktive eder. Bu aktivasyon, yabancı antijenin T hücreleri tarafından tanınmasını sağlamasına rağmen T hücrelerinin karaciğerde toplanmasına ve karaciğer hasarı oluşumuna zemin hazırlamaktadır (27).

HBeAg monositlerde Toll benzeri reseptör 2 (*toll-like receptor*, TLR2) ekspresyonunu azaltır ve bu da etkili CTL cevabını engellemektedir (29).

Kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda lökosit, CD4+ T hücre, CD8+ T hücre ve NK sayısının azaldığı gösterilmiştir (27).

Diğer mekanizmalar arasında virüsün hepatosit dışındaki bölgelerde replikasyonu da kronik enfeksiyonda sorumlu tutulmuştur (30).

2.1.4. Histoloji

Histolojik sınıflandırma nekroenflamatuvar aktiviteye (derece) ve fibrozun şiddetine (evre) göre yapılmaktadır. Buna göre kronik hepatit olgularında üç histolojik durum gözlenir (14). Bunlar:

Kronik Persistan Hepatit: Portal alanlarla sınırlı kalan mononükleer hücre infiltrasyonu vardır. Periportal hepatositlerin sınırlayıcı plakları sağlamdır ve karaciğer lobüllerinde nekroenflamatuvar aktivite yoktur.

Kronik Lobüler Hepatit: Portal enflamasyonla beraber karaciğer lobüllerinde nekroz ve enflamatuvar aktivite bulunmaktadır. Sınırlayıcı plak sağlamdır, periportal fibroz yoktur ya da sınırlıdır ve lobüler yapı korunmuştur.

Kronik Aktif Hepatit: Hepatik nekroz, portal/periportal ve lobüler enflamasyon ve fibroz vardır. Sınırlayıcı plak erozyonu (piecemeal nekroz), portal alanları çevreleyen bağ dokusu septaların oluşumu ve bunların portal alanlardan lobüllere uzanması ve köprüleşme nekrozu görülür.

2.1.5. HBV ve karaciğer sirozu

Karaciğer sirozu, karaciğerin yapısının yaygın hepatoselüler nekroz, rejeneratif nodüller ve aşırı miktarda hücre dışı bağ dokusu artmasıyla oluşan fibroz sonucunda bozulmasıdır (31).

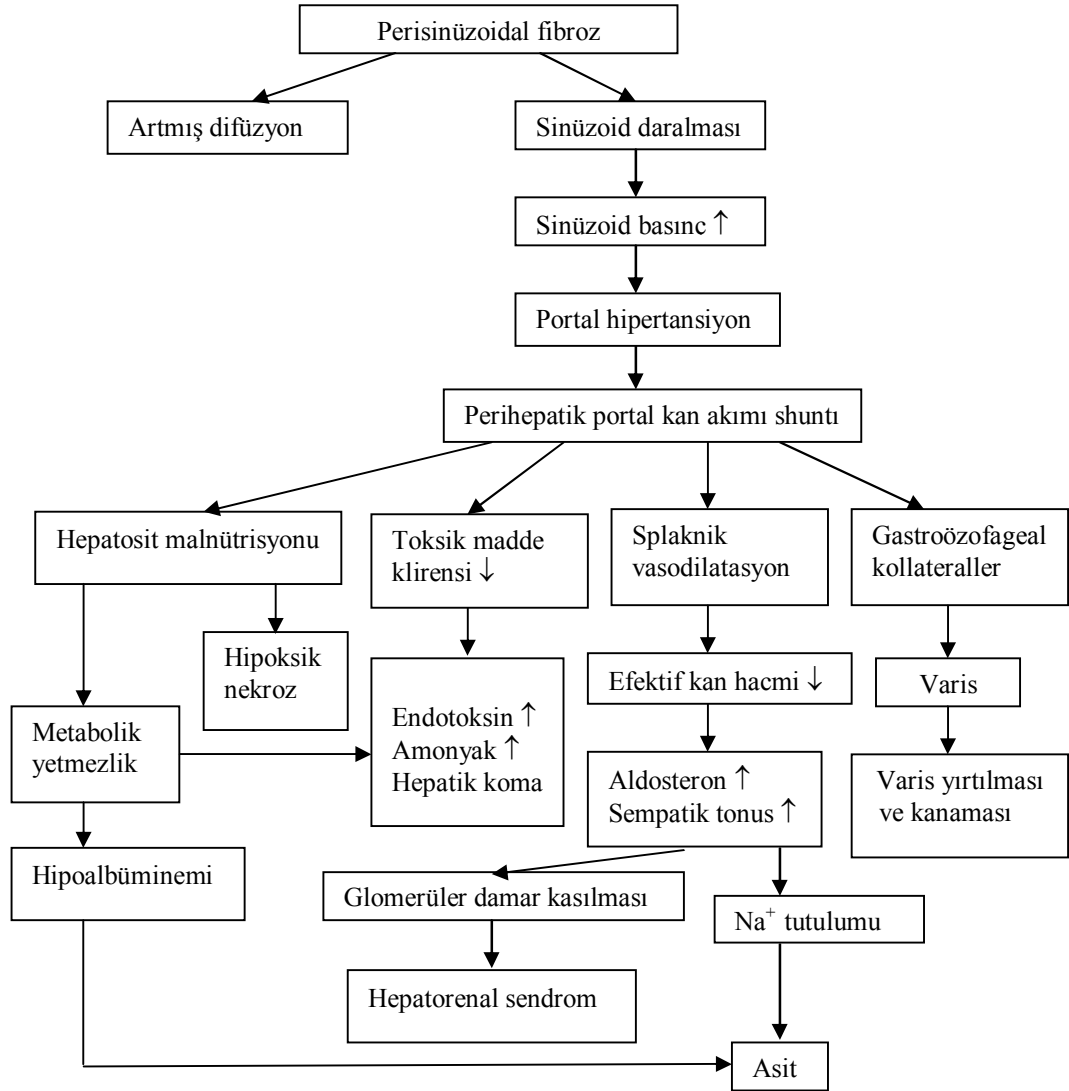
Kronik HBV enfeksiyonu karaciğer sirozunun en önemli nedenlerinden biridir (3). Karaciğer sirozu gelişmesinde risk faktörleri konakçıya bağlı ve virüse bağlı faktörler olarak ikiye ayrılabilir (19). Konakçıya bağlı faktörler ileri yaş, uzun süren HBV enfeksiyonu, erkek cinsiyet, konakçının immün yanıtı, koenfeksiyonlar (HCV, HDV, HIV), alkol tüketimi, sigara içilmesi, Diabetes Mellitus ve obezitedir. Virüse bağlı faktörler ise aşırı miktarda HBV replikasyonu, HBV genotipi (özellikle C genotipi) ve mutant virüsler olarak sayılabilir.

HBeAg pozitif hastalarda yıllık karaciğer sirozu insidansı % 2-6 ve HBeAg negatif hastalarda ise bu oran % 8-10'dur. Siroz oluşuktan sonra yıllık karaciğer dekompanzasyonu gelişme oranı % 3-5'tir. Dekompanzasyonun en önemli bulgusu asit oluşumudur ve bunu sarılık, özofagus varis kanaması ve ensefalopati takip eder. Dekompanzasyon geliştikten sonra prognoz kötüdür ve 5 yıllık sağ kalım % 15-35 oranındadır (20, 21).

Karaciğerde enflamatuvar hücrelerin devamlı aktivite göstermesi sonucunda karaciğer fibrozu ve siroz gelişir. Enflamatuvar hücreler farklı mekanizmalarla hücre ölümü ve sonuçta karaciğer hasarına yol açar. Hepatositlerin apoptozu sıklıkla CD8+ T hücrelerle meydana gelmektedir ve TNF α aracılığıyla gerçekleşmektedir. HBx proteini hepatosit yüzeyindeki TRAIL reseptörü ekspresyonunu dört kat arttırarak TNF α ile uyarılan apoptozu yönlendirmektedir. Ayrıca HBV enfeksiyonu esnasında hepatosit yüzeyinde Fas ekspresyonu da artmaktadır. Fas ligandı (FasL; CD8+ T hücre yüzeyinde eksprese olmaktadır) ve Fas (hepatosit yüzeyinde eksprese olmaktadır) arasındaki etkileşim de apoptoza neden olur. Hepatosit apoptozunun uyarılması, sürekli devam eden HBV replikasyonu ve enflamatuvar hücrelerin karaciğerde devamlı aktif halde bulunması karaciğer hasarı ve fibrozunda rol oynayan hücrelerin aktivitesinin artmasına yol açar (27).

Fibroz, kronik karaciğer hasarına yanıt olarak gelişen yara iyileşmesidir (5). Kollajen, glikoproteinler, proteoglikanlar ve hyaluronik asitten oluşan hücre dışı matriksin aşırı artması ve subendotelyal Disse aralığında birikimi olmaktadır (32).

Subendotelyal matriks birikimi bazal membranın sürekliliğini bozmaktadır. Sinüzoid lümeninin fibrotik dokuyla daralması parenkim içinde hemodinamik direnç artışına, portal hipertansiyona ve fonksiyonel değişikliklere neden olur (33) (Şekil 4).

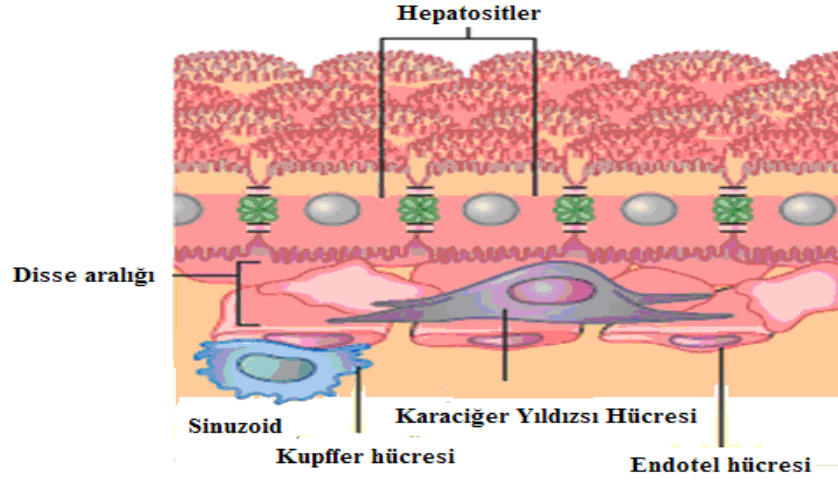


Şekil 4. Disse aralığındaki fibroz oluşumuna bağlı fonksiyonel değişiklikler.

Fibrotik süreç, parenkimin nekroza bağlı olarak bozulması sonucunda portal alandaki fibroblastların, Disse aralığındaki miyofibroblastların (MFB) aktivitesinin artması sonucu meydana gelen aktif bir sentez sürecidir. Bu süreçte birçok hücre rol almasına rağmen içlerinde en önemlisi karaciğer yıldızlı hücreleridir (KYH) (34).

KYH (Ito hücreleri, perisinüzoidal lipositler) diken benzeri uzantılarıyla sinüzoidal endotel hücrelerine ve hepatositlere destek ortamı sağlamaktadır (Şekil 5). Bu hücreler A vitamini depolayan ve normal bazal membran matriksinin

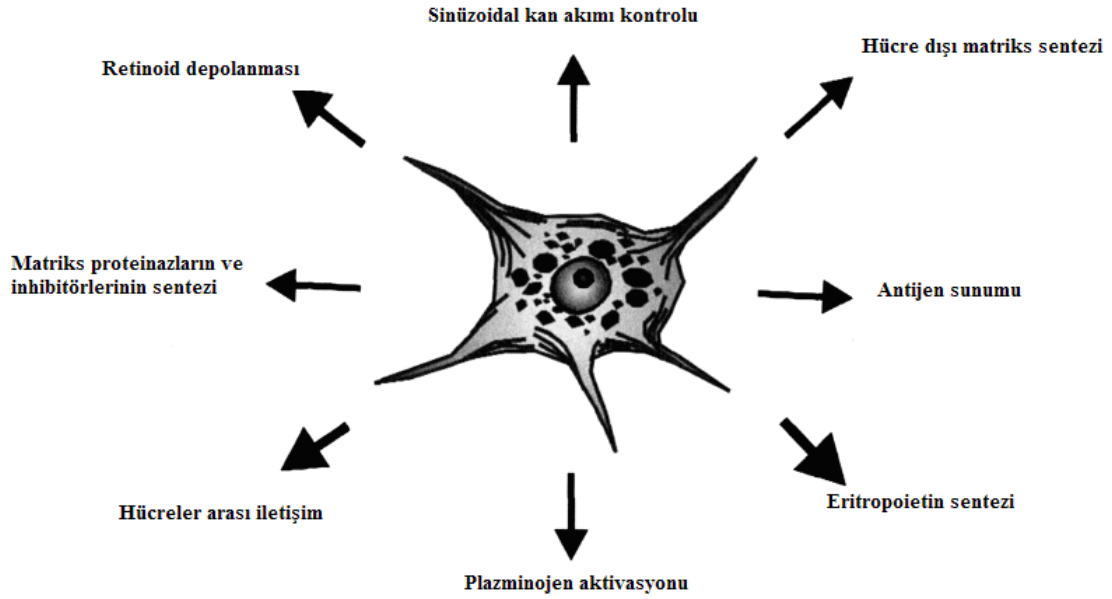
sağlanmasından sorumlu parenkim dışı hücrelerdir (35). Parenkim dışı hücrelerin (Kupffer hücreleri, endotel hücreleri, KYH) 1/3'ünü ve karaciğerde bulunan tüm hücrelerin % 15'ini oluşturmaktadırlar (6). KYH nöral yarıktan köken almış mezanşim hücreleridir (36).



Şekil 5. Karaciğer hücreleri ve hepatik sinüzoid.

KYH'nin, bir kısmı aktivasyonu sonucunda gözlenen birçok fonksiyonu vardır (Şekil 6):

- Antijen sunucu hücre gibi davranabilir. HLA grubu membran proteinleri ve T hücre aktivasyonuna neden olan faktörleri eksprese eder (32).
- Aktive olmuş KYH düşük ve yüksek molekül ağırlıklı maddeleri fagositte edebilir (34).
- Apoptotik parenkimal hücrelerin endositozunu yapar (32).
- Karaciğerde bulunan hücrelerin ve karaciğer dışındaki hücrelerin uyarılmasını sağlayan birçok sitokin ve büyüme faktörü sentezler (4).
- Hücre dışı matriksi parçalayan metalloproteinazları ve bunların inhibitörlerini salgılar (37).
- Anjiyogenez, damar şekillenmesi ve karaciğer kan akımının düzenlenmesine neden olur (38).
- Eritropoietin sentezinde ve plazminojen aktivasyonunda rol oynar (32).



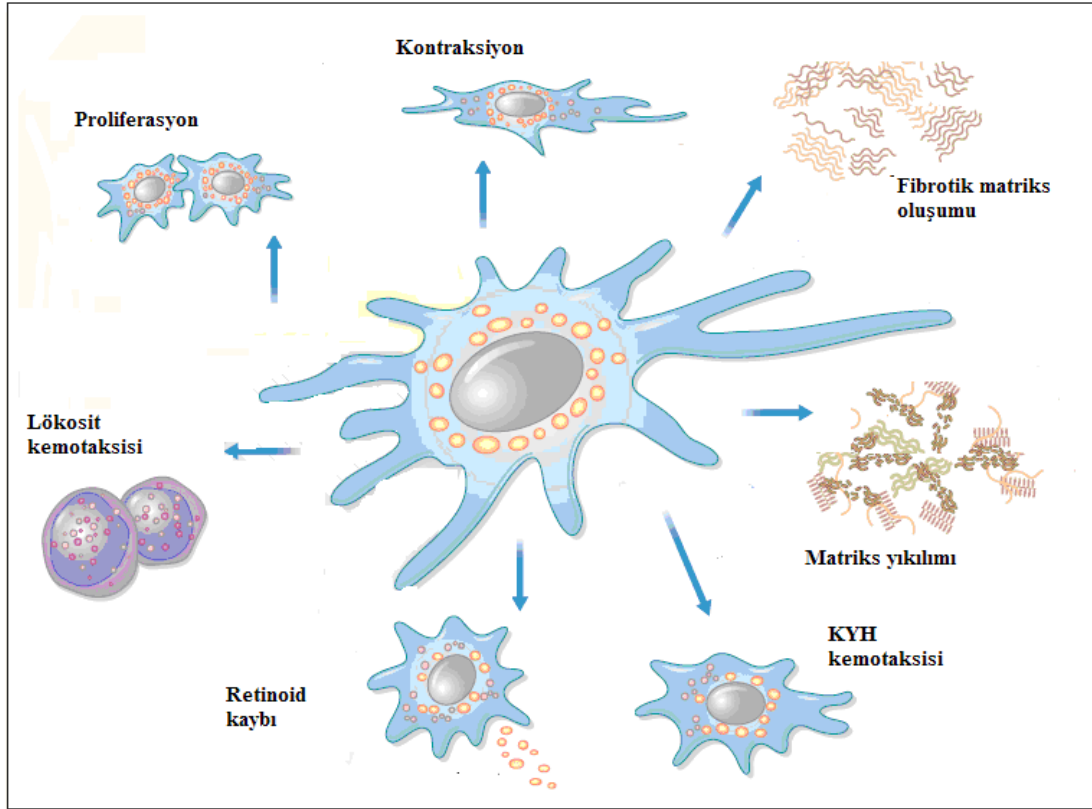
Şekil 6. Karaciğer yıldızsı hücresinin fonksiyonları.

Karaciğer hasarına bağlı olarak aktive olan KYH' de fenotipik, morfolojik ve metabolik değişiklikler olmaktadır. Fenotip olarak MFB benzeri şekil alır, morfolojik olarak bir hücre iskeleti proteini olan α düz kas aktin (α -smooth muscle actin, α -SMA) oluşur, hücre içi A vitamini depoları boşalır ve kaba endoplazmik retikulumda artış gözlenir. Metabolik olarak DNA sentezi ve proliferasyonu artar. Hücre dışı matriks proteinleri ve özellikle de tip I ve tip III kollajeni kodlayan genlerin, fibrojenik sitokinlerin gen ekspresyonları artar (32).

KYH aktivasyonu üç basamakta gerçekleşmektedir (32, 36, 38, 39):

I- Enflamasyon öncesi evre: Hasarlı hepatositler, endotel hücreleri ve Kupffer hücrelerinin parakrin etkileriyle olmaktadır (38). Bu hücreler birçok fibrojenik, mitojenik sitokin, büyüme faktörü (IGF-1 vb.) salgılayarak ve ayrıca Kupffer hücreleri reaktif oksijen türleri oluşturarak KYH' yi aktive etmektedir (39).

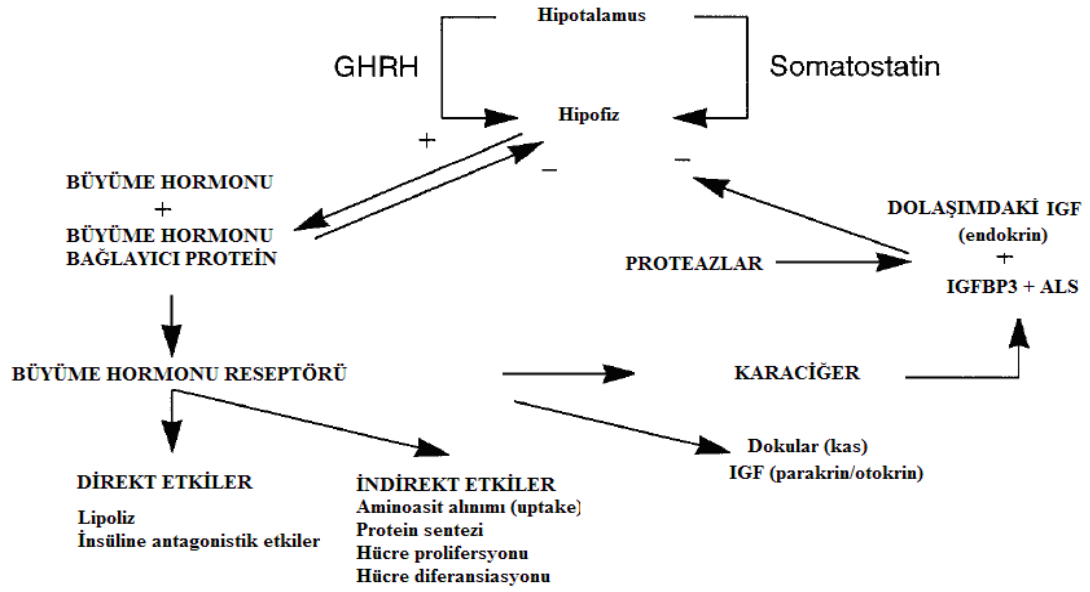
II- Enflamatuvar evre: Hasarlı bölgeye gelen nötrofiller, Kupffer hücreleri, yardımcı T lenfositlerin Th1 alt grubu ve sitotoksik T lenfositlerin salgıladıkları sitokin ve büyüme faktörlerine (IGF-1 vb.) bağlı gerçekleşir. KYH proliferasyonu ve hücre dışı matriks sentezi artmaktadır (36) (Şekil 7).



Şekil 7. Karaciğer yıldızsı hücre aktivasyonu.

III- Enflamasyon sonrası evre: Miyofibroblastlar salgıladıkları sitokinlerle ve büyüme faktörleriyle (IGF-1 vb.) hem kendilerini, hem de diğer KYH'leri uyarmaktadır (32). Bu evre fibrotik sürecin devam etmesine neden olmaktadır (38).

Aktive olmuş KYH hücre dışı matriks sentezini arttırmakla beraber aynı zamanda bu matriksin yıkılmasına neden olan matriks metalloproteinazları (MMP) ve doku matriks metalloproteinazların inhibitörlerini (*tissue inhibitor of matrix metalloproteinase*, TIMP1) sentezlemektedir (5, 40). Ancak MMP sentezi TIMP1 sentezine oranla daha azdır ve bu sebeple matriksin yıkılmasında bir azalma olmamaktadır (5). Ayrıca aktif KYH, tip 1 plazminojen aktivatör inhibitörü (*plasminogen activator inhibitor*, PAI-1) sentezlemektedir. PAI-1, tip I ve tip III kollajeni parçalayan MMP1'in aktif hale gelmesini engellemektedir (41). TIMP1, MMP inhibisyonu yanında KYH apoptozunu engeller (5, 40).



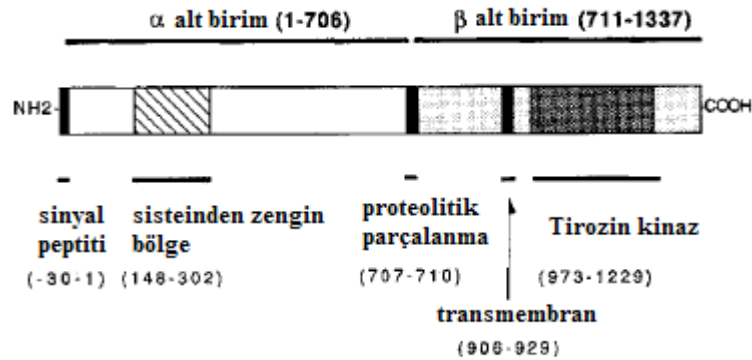
Şekil 9. Büyüme hormonu/IGF-1 etkileşimi.

GHRH (büyüme hormonu salgılayıcı hormon), ALS (aside dayanıksız alt birim).

2.2.3. Etki mekanizması

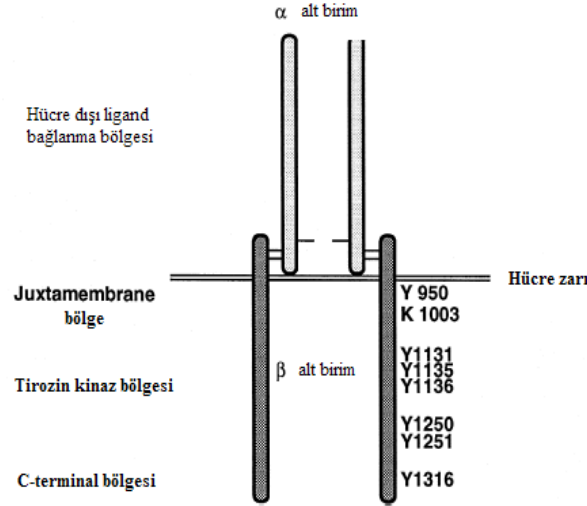
IGF-1, etkilerini tirozin-kinaz aktivitesine sahip bir transmembran reseptörü (IGF-1R) aracılığıyla yapmaktadır. IGF-1R, insülin reseptörü ile %70 benzerlik göstermektedir (47). Tirozin kinaz bölgeleri de % 84 benzerdir (48).

IGF-1R'yi kodlayan gen 15. kromozomun uzun kolundadır (15q25-26). 1367 aminoasitten oluşan bir öncü (prekürsör) polipeptit olarak sentezlenir (Şekil 10). Amino ucunda 30 aminoasitten oluşan sinyal peptiti bulunur ve bu peptit endoplazmik retikulumla taşınırken parçalanır. Daha sonra proreseptörün 707-710. pozisyonlarındaki aminoasitler parçalanarak α ve β alt birimlerine ayrılır (49).



Şekil 10. IGF-1R öncü peptiti.

α ve β alt birimleri primer disülfid bağlarıyla birbirine bağlıdır. Reseptör $\alpha_2\beta_2$ yapısındadır. $\alpha\beta$ zincirleri de sekonder disülfid bağlarıyla bağlıdır. α alt birimi tamamen hücre dışındadır ve diğer α alt birimiyle dimer oluşturur. α alt biriminde bulunan sisteinden zengin bölge ligand bağlanmasından sorumludur. β alt biriminin hücre dışı, hücre zarı ve sitoplazmada bulunan üç bölgesi vardır (49) (Şekil 11).



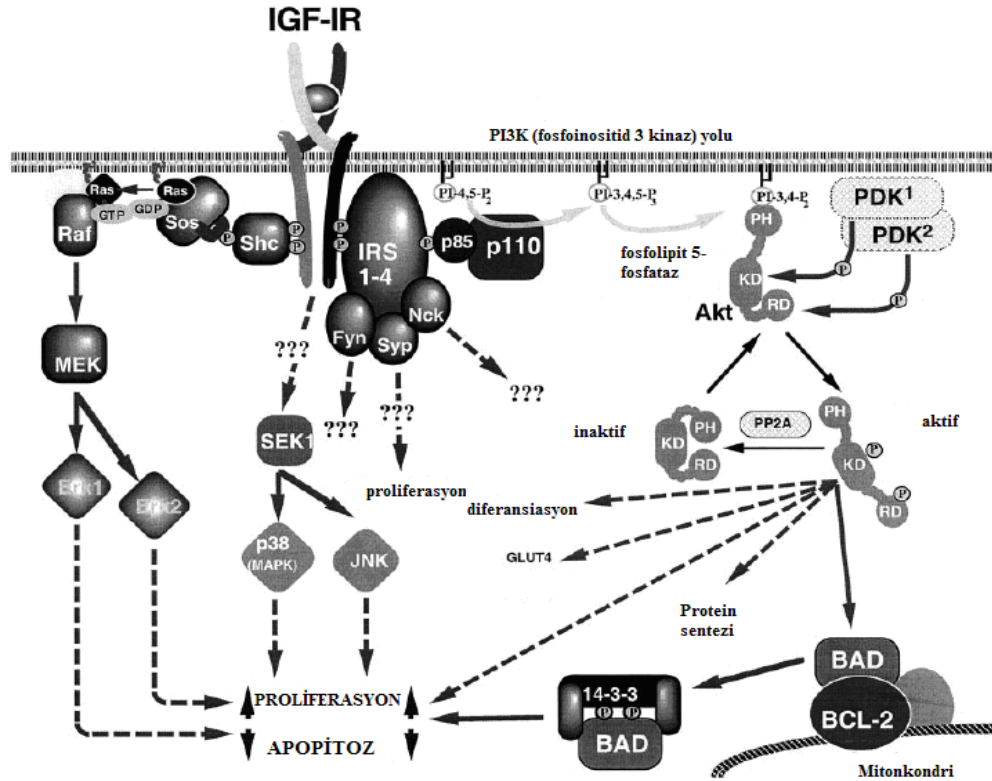
Şekil 11. IGF-1 reseptörü.

β alt biriminin tirozin kinaz aktivitesi vardır ve kinazların hedefi olan tirozin aminoasitleri bulunmaktadır. IGF-1'in bağlanması tirozin aminoasitlerinin otofosforilasyonuna neden olmaktadır (48). Y950 rezidüsü sinyal iletimindeki insülin reseptör substratı 1 (*insulin receptor substrate*, IRS1) ve Shc (*Src homology/collagen*) substratlarının bağlanma bölgesidir. 1003. pozisyonda bulunan lizine ATP bağlanmaktadır. 1131., 1132. ve 1136. tirozin aminoasitleri tirozin kinaz aktivitesinden sorumludur. ATP bağlanma ve tirozin kinaz aktivitesinden sorumlu bölgeler reseptörün tüm fonksiyonu için gereklidir (50). IGF-1R'nin karboksil ucunda insülin reseptöründe (IR) bulunmayan 1250. ve 1251. pozisyonlarda tirozin aminoasitleri ile 1280., 1281. ve 1282. pozisyonlarda serin aminoasitleri vardır. 1250. ve 1251. pozisyonlardaki tirozin aminoasitlerinin IGF-1'in hücre farklılaşması, tümör oluşumu ve mitojenik aktivitelerini yönlendirdiği gösterilmiştir. 1280., 1281. ve 1282. pozisyonlardaki serin aminoasitleri ise hücre farklılaşması ve apoptozun inhibisyonuna neden olduğu bulunmuştur (51).

IGF-1'in reseptöre bağlanması sonucunda IRS1 fosforillenmekte ve P13K (Fosfatidilinositol 3 kinaz), 85 kDa'luk alt biriminin (p85 proteini) SH2 (*Src*

homology 2) bölgesiyle IRS1'e bağlanmaktadır. Böylece PI3K aktif hale gelip AKT/PKB (Protein kinaz B) ve Fosfoinositid bağımlı kinazı (*phosphoinositide dependent kinase*, PDK) aktifleştirmektedir. Bu yolağın glukoz taşınması, glikojen sentezi, protein sentezi, mitogenez, apoptozun inhibisyonu ve gen transkripsiyonuna neden olduğu gösterilmiştir (51).

İkinci bir sinyal iletim yolu IRS1 ve Shc'nin fosforillenmesi ile bir guanin nükleotid değiştirici faktör (Ras aktive edici faktör) olan Sos'nin (*Son of sevenless*) aktive edilmesidir. SH2 içeren Grb2 (*growth factor receptor-bound protein*, büyüme faktörü reseptörüne bağlı protein 2) aracılığıyla Sos, IRS1 ve Shc'ye bağlanmaktadır. Aktif hale gelen Sos, Ras'ı aktifleştirmekte ve GDP'den GTP oluşmasına neden olmaktadır. GTP bağlı Ras, protein serin kinaz olan Raf ve MAPK/ERK'i (*mitogene activated protein kinase/extracellular signal-related kinase*, mitojenle aktive olan protein kinaz/hücre dışı sinyalle ilişkili kinaz) aktifleştirmektedir. Bu yolun apoptozun inhibisyonu ve gen transkripsiyonunun düzenlenmesinden sorumlu olduğu gösterilmiştir (51) (Şekil 12).



Şekil 12. IGF-1R (İnsülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü) sinyal iletim yolları.

Shc ayrıca IRS benzeri Gab1 ve Gab2 proteinleri aracılığıyla PI3K'yı uyarmaktadır (52).

Bunların dışında IGF-1R'nin IRS1 aracılığıyla sinyal iletiminde görev yapan hücre içi birçok proteinin aktifleşmesine neden olduğu gösterilmiştir. Ancak bu proteinlerin etkileri kesin olarak bilinmemektedir (49, 51).

IR ve IGF-1R ile bunların uyarılması sonucu aktifleşen hücre içi sinyal iletim mekanizmalarının aynı olmasına rağmen neden farklı etkilere sebep oldukları henüz aydınlatılamamıştır (53, 54). Sinyal iletiminde farklı proteinlerin aktifleşmesi, IGF-1 ve insülinin reseptörlerine bağlanma kinetikleri, farklı substrat seçimi, ortak substratların farklı şekilde aktivasyonu gibi birçok mekanizmanın buna sebep olduğu öne sürülmektedir (55, 56). Örneğin, CEACAM-2 isimli hücre yüzey molekülünün, MAD-2 isimli hücre siklusunu düzenleyen proteininin sadece IR'nin, Ras sinyal iletim yolunda görev alan c-Crk proteininin ise sadece IGF-1R'nin substratı olduğu bilinmektedir. Ayrıca Grb10 her iki reseptöre bağlanırken bu bağlanma farklı şekilde meydana gelmektedir (55).

2.2.4. Etkileri

İlk defa 1957'de Salmon ve Daughaday (48) IGF-1'i, *in vitro* ortamda ³⁵S-sülfatın sıçan kıkırdak dokusuna girmesini sağlayan bir faktör olarak tanımlamışlar ve bunu "sülfatlayıcı faktör aktivitesi" olarak adlandırmışlardır. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu faktörün DNA, protein, proteoglikan ve glukozaminoglikan sentezini uyardığı gösterilmiştir. Bunun üzerine ismi somatomedin (somatotropin + mediator: somatotropinin etkilerini yönlendirici) olarak değiştirilmiştir. Yapılan başka çalışmalarda anti-insülin antikorlarıyla etkisi baskılanamayan insülin benzeri aktivitesi olan serum faktörleri tespit edilmiştir (45). Aynı zamanda somatomedinin insülin benzeri aktivitesi gösterilmiş. 1978'de her iki faktörün aynı olduğu bulunmuş. Yapısal ve fonksiyonel olarak insüline benzerlik gösterdiğinden ismi insülin benzeri büyüme faktörü olarak değiştirilmiştir (43).

IGF-1, GH'nin büyümeyi uyarıcı etkilerini yönlendirmektedir. Yapılan çalışmalarda GH ve IGF-1'in birbirlerini tamamlayıcı etkilerinin olduğu bulunmuştur. Şöyle ki; GH, kondrositlerin, adipositlerin ve miyoblastların proliferasyonunu uyarmakta daha sonra IGF-1, prolifer olmuş bu hücrelerin diferansiasyonuna neden olmaktadır. GH, IGF-1'den bağımsız olarak diğer büyüme faktörleri ve sitokinler aracılığıyla da büyümeyi uyarmaktadır (57) (Tablo 1).

Tablo 1. Büyüme hormonu ile düzenlenen lokal büyüme faktörleri ve sitokinler.

Doku	Büyüme faktörü/sitokin
Karaciğer	Hepatosit büyüme faktörü (HGF)
Kondrosit	Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF)
Böbrek	Epidermal büyüme faktörü (EGF)
Pankreas β hücresi	Sinir büyüme faktörü (NGF) reseptörleri
	Preadiposit faktör-1/delta benzeri protein
Timik stromal hücreler	IL-1 α , IL-1 β
Timositler	
Osteoblastlar	IL-6
Fibroblast	Kemik morfogenetik proteinler 2 ve 4
Uterus, meme, karaciğer	Östrojen reseptörü
Adipositler	Preadiposit faktör-1/delta benzeri protein

Hücre siklusuna etkisi: Hücre siklusu G₁ (sentez öncesi), S (DNA sentezi), G₂ (premitotik) ve M (mitoz) fazı olmak üzere 4 faza ayrılır. Bölünmeyen hücre G₀ fazındadır (49). Diğer büyüme faktörleri ile G₀ fazından G₁ fazına geçen hücrelerde G₁ fazından sonra hücrelerin S fazına geçmesini ve siklusun devamını sağlar (42). Bu nedenle ‘progresyon faktörü’ ismi de verilir (58). Hücre siklусundan sorumlu olan siklin C, D1, D2, E ve siklin bağımlı kinazları (cyclin dependent kinase, CDK) aktive eder (57). G₁ fazından sonra siklusun devam etmesinden IGF-1R’nin uyarılması sonucu aktif hale geçen Ras sinyal iletim yolu sorumludur (48).

Hücre çoğalmasına etkisi: Kondrosit, osteoblast, kas hücreleri, kanser hücreleri ve daha birçok hücrede DNA sentezinin artması ve hücre bölünmesine neden olur (42, 48, 57).

Hücre farklılaşmasına etkisi: Birçok hücrede hücrelerin diferansiasyonuna neden olan genlerin transkripsiyonunu arttırmaktadır (42, 48, 57).

Hücre ölümüne ve apoptozuna etkisi: Değişik reseptör substratları ve sinyal iletim yolları aracılığıyla hücrelerde apoptozu engellemektedir. Bunu proapoptotik proteinlerin direkt ya da dolaylı olarak gen ekspresyonlarını inhibe ederek veya antiapoptotik proteinlerin gen ekspresyonlarını arttırarak gerçekleştirmektedir (59, 60). Ayrıca ölüm uyarıcı reseptörlerin de ekspresyonunu inhibe etmektedir (50). Sonuçta apoptoza neden olan kaspazlar, apoptotik Bcl-2 (*B-cell lymphoma*, B hücreli lenfoma 2) proteinleri ve ölüm reseptörü olan Fas’ın etkileri engellenirken apoptozu önleyen antiapoptotik Bcl proteinleri ile kaspaz inhibitörleri aktive olmaktadır (60).

Hücre fonksiyonuna etkisi: Hormon ve nörotransmitter salınması ve immün sistem hücrelerinin etkilerinin düzenlenmesine neden olmaktadır. Ayrıca birçok hücrede kemotaktik etkileri vardır (48). Adrenal hücrelerde ACTH reseptörlerini arttırarak kortizol salınmasını, overde granüloza ve teka hücrelerinde hormon sentezi ve salınmasını uyarmaktadır. Sitotoksik T lenfositlerin etkisini, bazofillerden histamin salınmasını arttırmaktadır. Purkinje hücrelerinde glutamatla uyarılmış γ amino bütirik asit salınmasını engelleyerek nöromodülatör etki göstermektedir. Sinir hücrelerinden asetilkolin, katekolamin ve nöropeptitlerin salınmasına neden olmaktadır (42, 48, 57). Eritropoietin sentezini uyarmaktadır (42).

Metabolik etkileri: Glukoz, aminoasit metabolizmasına belirgin etkileri varken yağ asidi metabolizmasına etkisi zayıftır (61, 62). İnsülin benzeri etkileri göz önüne alınarak yapılan çalışmalarda tip I ve tip 2 diyabetli hastalarda plazma glukozunu düşürdüğü gösterilmiştir (57). İnsülin reseptör bozukluğu olan sıçanlarda IGF-1'in insülininden daha etkili şekilde plazma glukozunu düşürdüğü gözlenmiştir (48). Glikolizi ve glikojen sentezini arttırmakta ve glukoneogenezi inhibe etmektedir. Aminoasitlerin hücre içine alınmasını ve protein sentezini uyarmaktadır. Protein yıkılmasını engellemektedir. Lipolizi inhibe etmekte ve serumda serbest yağ asidi işe keton konsantrasyonunu azaltmaktadır (46) (Tablo 2).

Tablo 2. IGF-1'in metabolik etkileri.

Glukoz Metabolizması	↑ Glukoz alımı (hücre) ↓ Karaciğer glukoz üretimi ↑ İnsülin sensitivitesi
Protein Metabolizması	- Hipoglisemi ↑ Protein sentezi ↓ Nitrojen atılması ↑ Vücut/organ ağırlığı (dalak, böbrek) ↑ Yara iyileşmesi
Yağ Metabolizması	↓ Keton, yağ asidi, kolesterol, trigliserit
Renal Etkiler	↑ Glomerüler filtrasyon hızı ↑ Renal plazma akımı ↓ Serum potasyumu
Diğer Etkileri	↓ GH ↓ Glukagon ↓ İnsülin ve C peptit ↑ Katekolaminler

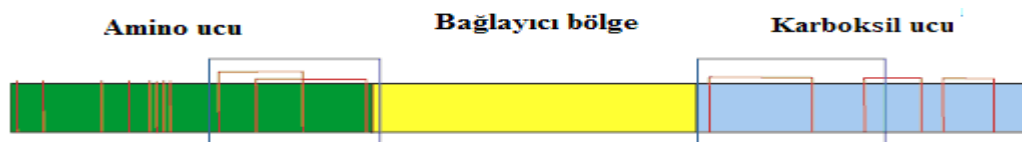
IGF-1 ve kanser: Son 20 yılda yapılan çalışmalarda IGF-1'in mitojenik aktivitesine bağlı olarak birçok tümör tipinde rol aldığı gösterilmiştir. Tümör hücreleri tarafından aşırı miktarda üretilen IGF-1 otokrin ve parakrin olarak malign hücre bölünmesini uyarır. Ayrıca fonksiyonel olmayan IGF-1R içeren tümör hücrelerinin endojen olarak ürettikleri IGF-1 bu reseptörler aracılığıyla hücrelerin proliferasyonunu uyarmaktadır. Bu uyarının tümörün otonom ve hızlı büyümesine neden olduğu bildirilmektedir (43).

Tümör oluşumuna IGF-1R'nin ekspresyonunun artışının da sebep olduğu düşünülmektedir. IGF-1R gen ekspresyonu birçok tümör baskılayıcı gen ve onkogenle düzenlenmektedir. p53 tümör baskılayıcı geni IGF-1R gen ekspresyonunu azaltmaktadır, fakat mutasyona uğramış p53 aksine IGF-1R gen ekspresyonunu arttırmaktadır. Mdm-2 isimli bir protein p53 proteinini yıkıma uğratarak IGF-1R gen ekspresyonunu arttırmaktadır (52).

2.3. İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRÜ BAĞLAYICI PROTEİN 3 (IGFBP-3)

2.3.1. Yapısı

IGFBP-3, 264 aminoasitten oluşan 53 kDa'luk bir polipeptittir (42). IGFBP-3'ü kodlayan gen 7. kromozomun kısa kolundadır (7p14-12). IGFBP-3 prekürsörü 20-40 aminoasitten oluşan sinyal peptiti taşır. Daha sonra bu sinyal peptiti hücre içinde parçalanır ve olgun IGFBP-3 proteini hücre dışına salgılanır (58). IGFBP-3 proteini N (amino) ucu, L (linker=bağlayıcı) bölge ve C (karboksil) ucu olmak üzere üç adet fonksiyonel (domain) bölgeden oluşur (63-65). Amino ucunda 12 ve karboksil ucunda 6 adet sistein aminoasit taşımaktadır. Bunlar birçok omurgalıda benzerlik gösterir ve yüksek oranda korunmuştur. Ancak bağlayıcı bölge türler arasında farklılık gösterir (65). Amino ucunda 6 ve karboksil ucunda 3 adet disülfid bağı bulunur (64) (Şekil 13).



Şekil 13. IGFBP-3'ün yapısı.

Kırmızı dikey çizgiler: Sisteinler, kırmızı yatay çizgiler: Disülfid bağları, mavi kutular: IGF-1 bağlanma bölgesi.

2.3.2. IGFBP3'ün fonksiyonel bölgelerinin (domain) görevleri

Amino ucu IGF-1 bağlanmasından sorumludur (63). Disülfid bağlarının özgül, yüksek afinite ile IGF-1 bağlanmasını gerçekleştirdiği düşünülmektedir (58). Ayrıca amino ucunun IGF-1'den bağımsız olarak mitogenezi engelleyebilme fonksiyonu gösterilmiştir (63). Karboksil ucu da IGF-1 bağlanmasından sorumludur ve IGF-1'e olan afinitesi amino ucundan daha fazladır (66). Karboksil ucunun diğer fonksiyonları arasında IGFBP-3'ün nükleer lokalizasyon sinyal iletimi, ALS'nin (aside duyarlı alt birim) IGFBP-3'e bağlanması ve IGFBP-3'ün hücrelere bağlanması sayılabilir. Ayrıca birçok proteinin karboksil ucuna bağlanabildiği gösterilmiştir. (64) (Tablo 3).

Tablo 3. IGFBP-3'ün karboksil ucuna bağlanan proteinler.

Protein	Bulunduğu bölge
Plazminojen	Serum
Transferin	Serum
Laktoferin	Serum
Fibrinojen-fibrin	Serum
Tip Iα kollajen	HDM
Fibronektin	HDM
Glukozaminoglikanlar	Hücre zarı
TGFβ tip V reseptörü	Hücre zarı
Kaveolin	Hücre zarı
İmportin β	Sitozol
RXR	Hücre çekirdeği

HDM: Hücre dışı matriks. RXR: Retinoid X reseptörü.

Bağlayıcı bölge IGF-1 bağlanmasından sorumlu değildir. Bu bölge glikozilasyon ve fosforilasyon gibi posttranslasyonel modifikasyonlara uğramaktadır. Glikozilasyon IGFBP-3'ün IGF-1 bağlanmasını etkilememektedir. Glikozilasyon IGFBP-3 proteininin stabilizasyonu, proteolize duyarlılığını, hücrelere bağlanmasını ve dolaşımdaki yarı ömrünü etkilediği düşünülmektedir. Fosforilasyonun bazı çalışmalarda IGF-1 bağlanmasını etkilediği gösterilmiştir. Fosforilasyon, IGFBP-3'ün proteolize duyarlılığını ve hücre yüzeyine bağlanmasını etkiler (64, 67, 68). Ancak fosforilasyon ve glikozilasyonun fonksiyonel etkileri kesin olarak aydınlatılamamıştır (63). IGFBP-3'ün fonksiyonel bölgelerinin görevleri Tablo 4'de olduğu gibi özetlenebilir:

Tablo 4. IGFBP-3'ün fonksiyonel bölgeleri.

Bölge	Fonksiyon
Amino Ucu	IGF-1 bağlanması İnsülin bağlanması İnsülin reseptör otofosforilasyon inhibisyonu Mitogenez inhibisyonu
Bağlayıcı Bölge	Heparin bağlanması Hücrelere bağlanma
Karboksil Ucu	IGF-1 bağlanması Nükleer lokalizasyon sinyali Heparin bağlanması ALS bağlanması Hücrelere bağlanma

ALS: Aside dayanısız alt birim.

2.3.3. Sentezi ve regülasyonu

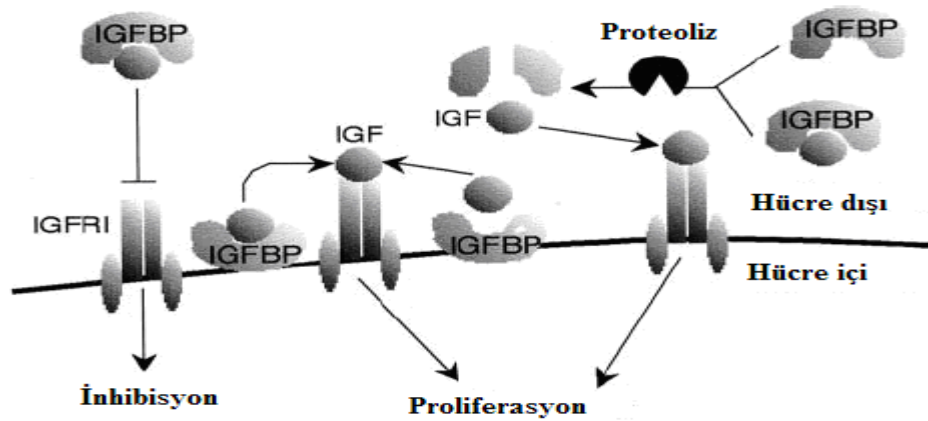
Başlıca karaciğerde Kupffer hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Ancak bunun yanında birçok dokuda lokal olarak sentezlendiği bilinmektedir. Dolaşımdaki IGFBP-3 konsantrasyonu GH ile düzenlenmektedir. Ancak bu etkinin IGF-1 aracılığı ile yönlendirildiği düşünülmektedir. Çünkü hipofizektomi yapılmış sıçanlarda IGF-1 verildikten sonra dolaşımdaki IGFBP-3 konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir. Ayrıca kondrosit, fibroblast, endometrial ve meme karsinom hücrelerinde IGFBP-3 sentezinin IGF-1 ile uyarılabildiği gösterilmiştir (58).

IGFBP-3 dolaşımda 150 kDa'luk üçlü bir kompleks şeklinde bulunur (69). Bu kompleks 85kDa'luk aside duyarlı alt birim (*acid-labile subunit*, ALS), 53 kDa'luk aside dirençli bağlayıcı alt birim (IGF bağlayıcı protein 3) ve IGF-1'den oluşur (42). ALS sentezi de GH tarafından düzenlenmektedir. ALS, lözinden zengin bir bölge içerir ve bu bölge protein-protein etkileşimini kolaylaştırarak ALS'nin IGFBP-3'e bağlanmasını sağlamaktadır (48). ALS aynı zamanda IGFBP-3'e bağlandığında yapısal değişikliğe sebep olur ve IGF-1'in IGFBP-3'e bağlanmasını kolaylaştırır (70). Dolaşımda ve dokularda birçok proteolitik enzimin etkisi ile üçlü kompleks parçalanmaktadır. Böylece IGF-1 serbest kalır (69). Bu proteazlar serin proteazlar (BP3 proteaz, plazmin, trombin, PSA), matriks metalloproteinazlar (MMP1, MMP2, MMP3) ve asit proteazlardır (katepsinler) (71).

2.3.4. Etkileri

2.3.4.1. IGF-1 üzerindeki etkileri

IGF-1'i bağlayarak depo görevi yapar (72). Serbest IGF-1 düzeyini kontrol etmekte, fazla miktardaki IGF-1'i bağlayarak etkilerini önlemekte ve IGF-1'in yarı ömrünü uzatmaktadır (73). *In-vitro* çalışmalarda yağ hücrelerinde IGF-1'e bağlı hücre içine glukoz taşınmasını, insan deri fibroblastlarında ve sıçan granüloza hücrelerinde IGF-1 ile uyarılmış DNA sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (48). IGF-1'in insülin benzeri etkilerini engelleyerek kan glukoz homeostazını sağladığı düşünülmektedir. Çünkü IGF-1'in hipoglisemik etkileri insülinin % 5'i olmasına rağmen dolaşımda insülinin 1000 kat daha fazla konsantrasyonda bulunmaktadır ve kan glukoz düzeyinden etkilenmemektedir (69). *In-vivo* bir çalışmada IGFBP-3 ile IGF-1'in birlikte verilmesinin, tek başına IGF-1'e oranla kortikosteroidin yara iyileşmesindeki olumsuz etkisini daha iyi düzelttiği gösterilmiştir. Bu etkinin kesin mekanizması bilinmemekle beraber IGFBP-3'ün IGF-1'i bağlayarak parçalanmasını önleyerek ve serbest IGF-1 düzeyini kontrol ederek gerçekleştirdiği düşünülmektedir (67). IGFBP-3 hücre yüzeyine ya da hücre dışı matrikse bağlanabilmektedir. Bu bağlanma sonucunda IGF-1'i bağlama kapasitesi azalmaktadır. Böylece daha kolay IGF-1 serbestleşmekte ve ortamdaki IGF-1 düzeyi kontrol edilebilmektedir (73). Bu etkinin kesin mekanizması bilinmemekle beraber birçok hücrede örneğin osteoblastlar, fibroblastlar ve meme kanseri hücrelerinde IGF-1 etkisi bu şekilde düzenlenmektedir (Şekil 14). IGFBP-3, IGF-1R ile etkileşime girerek IGF-1'in reseptöre bağlanmasını engellemektedir (67). Ancak reseptöre bağlanmadığı gösterilmiştir (63).



Şekil 14. IGFBP-3'ün IGF-1 üzerindeki etkileri.

2.3.4.2. IGFBP-3'ün IGF1'e bağılı olmayan etkileri

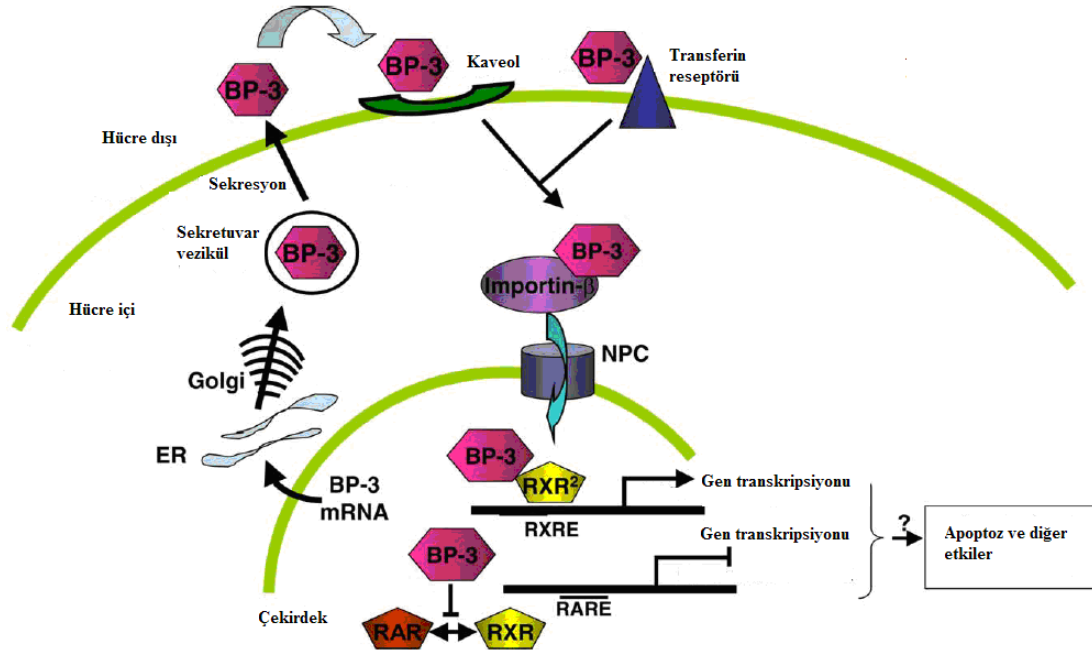
IGF-1 üzerine olan etkilerinin dışında IGF-1'den bağımsız olarak hücre büyümesi, farklılaşması ve hücrenin hayatta kalması gibi birçok süreçte rol almaktadır (74).

Birçok dokuda hücre büyümesi ve proliferasyonunu inhibe etmektedir. IGFBP-3'ün gen ekspresyonu birçok faktör tarafından arttırılmaktadır. Bu faktörler arasında TGF β 1, retinoik asit, TNF α , tümör baskılayıcı gen p53, antiöstrojenler ve vitamin D sayılabilir (75). Ayrıca yapılan çalışmalarda IGFBP-3'e karşı oluşturulmuş antikorlarla bu faktörlerin proliferasyonu önleyici etkilerinin kısmen engellendiği bulunmuştur (63).

IGFBP-3'ün transferine bağlanarak Transferin reseptörü 1 (TfR1) üzerinden de etki ettiği bulunmuştur. Transferin, TfR1 ile bağlandığında ve IGFBP-3 bağlanmadan hücrelerde büyümeyi uyarmaktadır. Ancak IGFBP-3 ile bağlandığında hücrelerde büyümenin inhibisyonuna ve apoptoza yol açmaktadır (76).

IGFBP-3 yara iyileşmesinde de rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda plazminojenin IGFBP-3 ve IGFBP-3/IGF-1 kompleksine bağlanabildiği gösterilmiştir. Bu bağlanma IGFBP-3'ün heparin bağlanma bölgesiyle gerçekleşir. Aynı şekilde IGFBP-3, fibrinojen ve fibrinle de bağlanır. Böylece yara bölgesinde fibrine bağılı olarak immobilize olmuş IGFBP-3'e bağılı IGF-1 konsantrasyonu artmakta ve IGF-1 stromal hücre proliferasyonunu uyarmaktadır. Aynı zamanda in-vitro çalışmalarda hipertrofik skar fibroblastlarının artmış şekilde IGFBP-3 ve tip 1 α kollajen ürettiği gözlenmiştir. IGFBP-3 tip 1 α kollajene bağlanarak tip 1 α kollajenle uyarılan düz kas hücre göçünü engellemektedir (77).

IGFBP-3'ün hücre yüzeyine bağlanabildiği bilinmektedir. Bu bağlanma kaveoller, transferin reseptörü 1 ile olmaktadır. Ayrıca henüz tespit edilememiş bir IGFBP-3 reseptörünün de olabileceği öne sürülmektedir (76) (Şekil 15).



Şekil 15. IGFBP-3'ün hücre yüzeyine bağlanması.

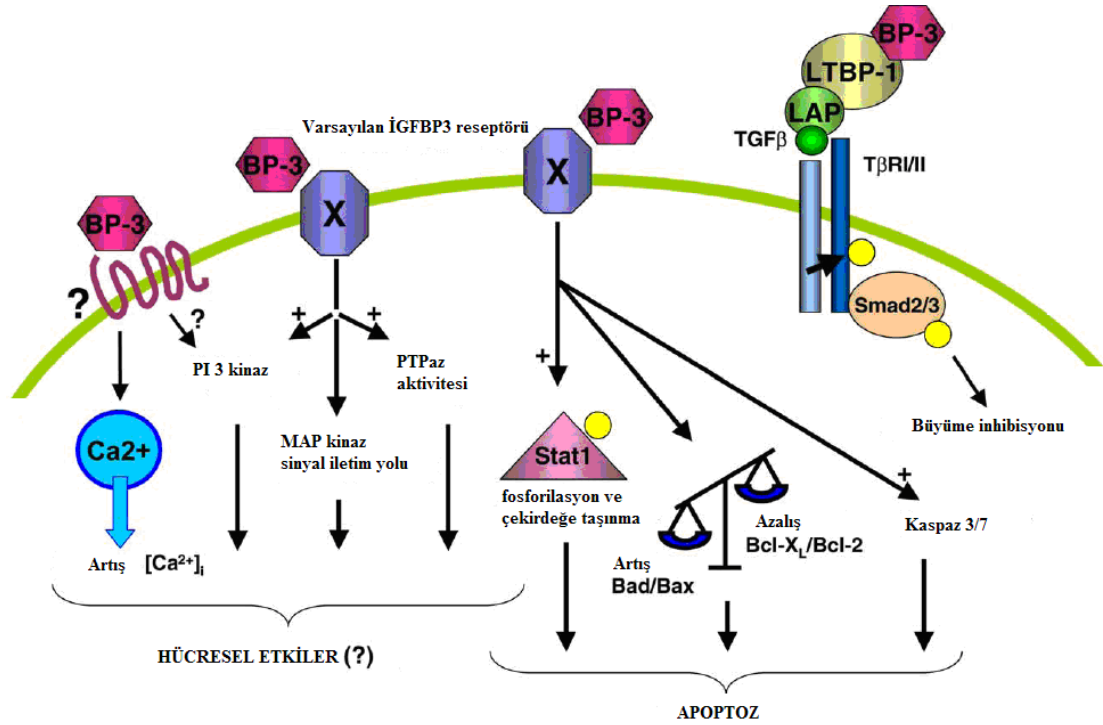
ER: Endoplazmik retikulum. NPC: Nükleer pore kompleksi. RXR²: Retinoid X reseptör heterodimeri
RXRE: RXR cevap elemanı. RARE: Retinoik asit cevap elemanı.

IGFBP-3'ün çekirdeğe taşınması sitozoldeki importin β ile gerçekleşir. Importin β , IGFBP-3'ün karboksil ucundaki Nükleer lokalizasyon sekansına (NLS) bağlanarak IGFBP-3'ü çekirdeğe taşımaktadır (78).

Hücre çekirdeğinde Retinoid X reseptörü (RXR) ile etkileşime girer. Apoptoz ve diğer hücreyel yanıtlara neden olur. Ancak bu etkileşimin sonucu ortaya çıkan etkiler ve mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır (74). RXR ile etkileşimin IGFBP-3'ün apoptozu uyarması için gerektiği gösterilmiştir (79).

IGFBP-3'ün kaspazları aktivasyonu, antiapoptotik Bcl-xL ve Bcl-2 inhibisyonu, apoptotik Bad ve Bax ekspresyonu artışı ve Sinyal uyarıcı ve transkripsiyon aktivatörü 1 (*signal transducer and activator of transcription-1*, STAT1) fosforilasyonu ile apoptozu yol açabildiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (74, 80).

Ayrıca IGFBP-3 birçok hücre içi sinyal iletim yolunu uyararak apoptozu ve henüz kesin olarak aydınlatılamamış başka etkilere de yol açmaktadır (74) (Şekil 16).



Şekil 16. IGFBP-3 ve hücre içi sinyal iletim yolları.

PTPaz: Fosfotirozin fosfataz, PI3 kinaz: Fosfatidilinositol 3 kinaz, LAP: Latency-associated peptide, LTBP-1: Latent TGF β bağlayıcı protein 1.

Yakın zamanda yapılmış epidemiyolojik çalışmalarda düşük serum IGFBP-3 düzeyinin meme, prostat ve kolorektal kanserleri için negatif risk faktörü olduğu ortaya konmuştur. Yapılan hücre kültürlerinde IGFBP-3'ün neoplastik hücre büyümesini inhibe ettiği gözlenmiştir (81).

2.4. IGF-1/IGFBP-3 ve HBV'YE BAĞLI KRONİK KARACİĞER HASTALIĞI

Karaciğer hasarı ile hepatositler ve enflamatuvar hücrelerden sentezi artan IGF-1, fibrotik süreçteki en önemli hücre olan KYH'yi uyarmakta ve MFB benzeri yapı kazanmalarına neden olmaktadır (82). MFB, morfolojik ve fonksiyonel olarak fibroblast ve düz kas hücresi gibi davranan bir hücredir. Düz kas hücresine benzer şekilde kontraksiyonda rol oynayan sitoplazmik mikrofilament demetleri içerir. Hücre dışı matriks üretimi ve bu matriksi yıkan enzimleri sentezlemektedir (83). Ayrıca fibroblastları, düz kas hücrelerini de aktive ederek MFB benzeri hücrelere dönüştürür. Bu hücrelerin proliferasyonlarını ve DNA sentezlerini artırır. Tip I başta olmak üzere kollajen sentezlemelerini uyarır (84). Aktive olmuş KYH için kemoatraktan özellik gösterir. Böylece KYH'nin hasarlı bölgeye göçünü

uyarmaktadır (85). MFB'lerin apoptozunu da engellemektedir. Bu şekilde prolifer olmuş MFB'lerin yaşam sürelerini uzatır (86, 87).

IGF-1 diğer fibrojenik büyüme faktörleriyle de etkileşime girmektedir. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (*platelet derived growth factor*, PDGF) ile birlikte birbirlerinin mitojenik etkilerini arttırmaktadır. PDGF'nin bazı hücrelerde IGF-1R ve IGF-1 ekspresyonunu ve IGF-1 salgılanmasını arttırmaktadır. Ancak karaciğerde böyle bir etkisi henüz aydınlatılmamıştır, fakat PDGF'nin karaciğerde IGF-1R gen ekspresyonunu ve sentezini uyardığını gösteren çalışmalar vardır (88, 89).

Ancak yapılan birçok çalışmada karaciğer sirozunda serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerinin düştüğü bulunmuştur. Bu azalmanın sirozun komplikasyonlarıyla ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. IGF-1 verildikten sonra karaciğer fonksiyonlarının iyileştiği (albümin ve koagülasyon faktörü sentezi artışı, bilirubin azalması), osteopeni, hipogonadizm ve daha birçok komplikasyonun düzeldiği deneysel olarak gösterilmiştir. IGF-1'in karaciğerde kollajen sentezini azalttığını, hepatosit büyüme faktörü (HGF) sentezini artırarak hepatosit rejenerasyonuna neden olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (61, 99, 107).

IGFBP-3'ün serbest ve bağlı IGF-1 düzeyini kontrol ederek IGF-1'in etkilerini düzenlediği düşünülmektedir (82, 90).

Kronik hepatit B'ye bağlı enflamasyon ve nekroz hepatositlerin ölümüne neden olur (83). Hepatositler IGF-1 sentezini sağlayan en önemli hücrelerdir (61). Ayrıca kronik enflamasyon sonucu sentezi artan sitokinlerin hepatositlerden IGF-1 ve IGFBP-3 sentezini baskıladığı gösterilmiştir (90).

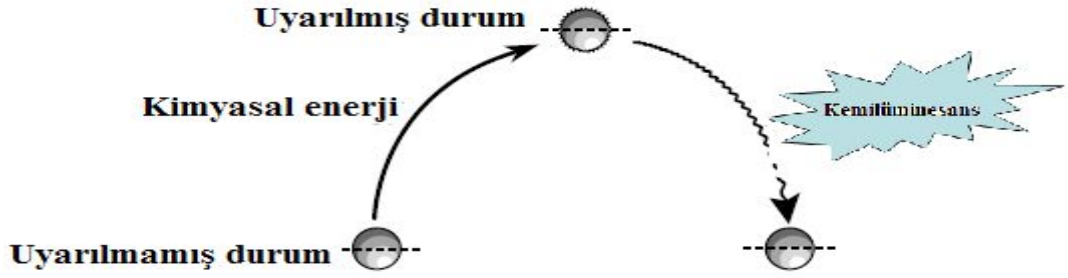
2.5. KEMİLÜMİNESANS İMMÜN ÖLÇÜM YÖNTEMİ

İmmünokimyasal yöntemler özgül bir antijen-antikor reaksiyonu ile organizmadaki biyolojik moleküllerin saptanması ve miktar tayinine dayanan yöntemlerdir. Bu yöntemlerde reaktif olarak antikorlar kullanılmaktadır (91).

Antijen, antikor üretimine neden olan protein, karbonhidrat, lipit, nükleik asit ve benzeri birçok yapıda olabilen moleküllerdir. Antikorlar, immün sistemin savunma amaçlı olarak yabancı antijenlere karşı ürettiği immünoglobulinlerdir. İmmünokimyasal ölçümlerde kullanılan antikorlar IgG yapısındadır. (92).

Antijenin antikorla bağlanan bölgesi epitop olarak adlandırılır. Antikoron antijen bağlama bölgesi 6–10 aminoasitten oluşur. Antikor-antijen bağlanması özgül bir olaydır. Antijen yapısındaki ufak değişiklikler (ör: bir aminoasit) antikor-antijen etkileşimini etkiler. Antikor ile antijen arasındaki bağın gücü afinitedir ve antikor-antijen arasındaki çekici-itici güçlerin toplamıdır (93).

Lüminesans, bir elektronun uyarılmış durumdan ya da daha yüksek enerji düzeyinden daha düşük enerji düzeyine dönerken ortaya çıkan ışık emisyonudur (yayılma) (94) (Şekil 17).



Şekil 17. Lüminesans reaksiyonu.

Kemilüminesans, kimyasal reaksiyon sonucu oluşan ışık emisyonudur (95). Kemilüminesans reaksiyonlar oksidatif moleküllerin (Hidrojen peroksit gibi) veya enzimlerin (Alkalen fosfataz, peroksidaz gibi) varlığında gerçekleşir (94). Reaksiyon sonucu oluşan stabil olmayan ürün uyarılmamış düzeyine dönerken ışık emisyonu meydana gelir (96). En sık kullanılan kemilüminesans substratlar luminol, isoluminol, karboksiamid akrilan ve dioksetanlardır (97).

Kemilüminesans immün ölçüm klinik kimya, immünoloji, toksikoloji, viroloji ve endokrinoloji laboratuvarlarında birçok hastalığın tanısı, terapötik ilaç izlenmesi, kanser ve enfeksiyöz ajanların tanısı gibi birçok durumda yaygın olarak kullanılmaktadır (97).

3. HASTALAR ve YÖNTEMLER

3.1. HASTALAR

Bu çalışma için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 11/05/2007 tarih ve B.30.2.MAR.0.01.00.02/AEK-784 sayılı onay alınmıştır. Çalışmaya Ağustos 2007-Aralık 2007 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Hastanesi ve Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merdivenköy Gastroenteroloji Polikliniği'nde takip edilen hastalar ile sağlıklı gönüllüler dahil edilmiştir.

Çalışmamıza klinik, laboratuvar, serolojik, radyolojik ve histolojik olarak kronik aktif hepatit B (n=40; 17 kadın, 23 erkek) ve HBV'ye bağlı karaciğer sirozu (n=40; 15 kadın, 25 erkek) tanısı almış 80 hasta ile sağlıklı gönüllüler (n=40; 22 kadın, 18 erkek) dahil edildi. Kronik hepatit ve siroz hastaları ile sağlıklı gönüllülerin ortalama yaşları sırasıyla 41.5 ± 10.5 , 45.4 ± 10.3 ve 40.9 ± 9.4 'du. Kronik hepatit olguları fibrotik evreye göre evre 0 (fibroz yok) (n=11), evre 1 (septayı içermeyen minimal fibroz) (n=12), evre 2 (septanın tutulduğu portal fibroz) (n=8) ve evre 3 (birden fazla septayı içeren köprüleşme fibrozu) (n=9) olarak dört gruba ayrıldı. Siroz olguları Child-Pugh (CP) sınıflamasına (Tablo 5) göre CP A (n=11), CP B (n=13) ve CP C (n=16) olarak üç gruba ayrıldı. Otoimmün hepatit, kronik C hepatiti, toksik hepatit, alkolik hepatit, metabolik karaciğer hastalığı, karaciğer dışındaki organların terminal yetersizliği, malabsorbsiyon yapan bir hastalığı olanlar, mide-barsak rezeksiyonu geçirenler, metabolik hastalığı, hepatoselüler karsinom ve diğer malignite şüphesi olanlar ve steroid tedavisi altında olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların ve kontrol grubunun onayları alınarak 8ml'lik kuru tüplere kanları alınmıştır.

Tablo 5. Child-Pugh (CP) sınıflaması.

	1 puan	2 puan	3 puan
Bilirubin (mg/dL)	<2	2-3	>3
Albümin (g/dL)	>3.5	2.8-3.5	<2.8
PT uzaması (saniye)	1-3	4-6	>6
Asit	Yok	Orta	Tedaviye dirençli
Ensefalopati	Yok	Orta	Ağır

CP A: 5-6 puan. CP B: 7-9 puan CP C: 10-15 puan. PT: Protrombin zamanı.

3.2. REAKTİFLER ve ÖLÇÜM YÖNTEMİ

Bu çalışmada IGF-1 ve IGFBP-3 ölçümleri için Diagnostic Products Corporation (DPC, Los Angeles, CA, USA) tarafından üretilen reaktifler kullanıldı. Ölçümler IMMULITE 2000® (DPC, Los Angeles, CA) cihazında yapıldı.

IGF-1 ölçümünde kullanılan reaktifler:

Monoklonal fare anti IGF-1 antikor kaplı boncuklar.

Alkalen fosfatazla işaretli poliklonal tavşan anti-IGF-1 antikoru.

Kemilüminesan substrat: AMPPD® (3-(4-metoksispirol[1,2-dioksetan-3,2'-trisiklo-[3.3.1.1^{3,7}]dekan]4-il)fenil fosfat).

IGF-1 ölçümü için 8ml'lik kuru tüplere alınan örnekler 1500xg'de 10dk santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Serumlar analize kadar -20°C'de saklandı. Örnekler bir defada toplu olarak çalışıldı. Yöntemin ölçüm aralığı 25ng/mL-1600ng/mL, ortalama değişkenlik katsayısı (CV) gün içi % 3.05 ve günler arası % 6.17, analiz için gerekli örnek hacmi 20µL idi. Ölçüm süresi 60 dakikadır.

Ölçüm yönteminin prensibi: IMMULITE 2000® (DPC, Los Angeles, CA) cihazında IGF-1 ölçümü enzimle işaretli kemilüminesans immün ölçüm yöntemine dayanmaktadır. Plastik tüplere adsorbe edilmiş monoklonal fare anti-IGF-1 antikorları ile örnekler ve alkalen fosfatazla (dana bağırsağı kaynaklı) işaretli poliklonal tavşan anti-IGF-1 antikorları 37°C'de inkübe edilmektedir. İnkübasyon sırasında tüpler 2000xg'de dikey eksen boyunca santrifüj edilmektedir. Santrifüj sırasında supernatant, sifon etkisiyle atık hücrelerine iletilmektedir. İnkübasyondan sonra tüpler yıkama istasyonuna iletilmekte ve bağlanmamış işaretli antikorların uzaklaştırılması için yıkanmaktadır. Yıkama işleminden sonra kemilüminesan substrat ilave edilmektedir. Substrat eklenmesinden sonra tüp ölçüm hücrelerine yönlendirilmektedir. Lüminojenik reaksiyonla ortaya çıkan ışık miktarı foton çoğaltıcı tüp (*photomultiplier tube*, PMT) ile ölçülür.



Kemilüminesans

IGFBP-3 ölçümü için kullanılan reaktifler:

Monoklonal fare anti IGFBP-3 antikor kaplı boncuklar.

Alkalen fosfatazla işaretli poliklonal tavşan anti-IGFBP-3 antikoru.

Kemilüminesan substrat: AMPPD® (3-(4-metoksispiro[1,2-dioksetan-3,2'-trisiklo-[3.3.1.1^{3,7}]dekan]4-il)fenil fosfat).

IGFBP-3 ölçümü için 8ml'lik kuru tüplere alınan örnekler 1500xg'de 10dk santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Serumlar analize kadar -20°C'de saklandı. Örnekler bir defada toplu olarak çalışıldı. Yöntemin ölçüm aralığı 0.7µg/mL-16µg/mL, ortalama değişkenlik katsayısı (CV) gün içi % 4.4 ve günler arası % 6.2 analiz için gerekli örnek hacmi 5 µg/mL idi. Ölçüm süresi 30 dakikadır.

Ölçüm yönteminin prensibi: IMMULITE 2000® (DPC, Los Angeles, CA) cihazında IGFBP-3 ölçümü enzimle işaretli kemilüminesans immün ölçüm yöntemine dayanmaktadır. Plastik tüplere adsorbe edilmiş monoklonal fare anti-IGFBP-3 antikorları ile örnekler ve alkalen fosfatazla (dana bağırsağı kaynaklı) işaretli poliklonal tavşan anti-IGFBP-3 antikorları 37°C'de inkübe edilmektedir. Inkübasyon sırasında tüpler 2000xg'de dikey eksen boyunca santrifüj edilmektedir. Santrifüj sırasında supernatant, sifon etkisiyle atık hücrelerine iletilmektedir. Inkübasyondan sonra tüpler yıkama istasyonuna iletilmekte ve bağlanmamış işaretli antikorların uzaklaştırılması için yıkanmaktadır. Yıkama işleminden sonra kemilüminesans substrat ilave edilmektedir. Substrat eklenmesinden sonra tüp ölçüm hücrelerine yönlendirilmektedir. Lüminojenik reaksiyonla ortaya çıkan ışık miktarı foton çoğaltıcı tüp (*photomultiplier tube*, PMT) ile ölçülür.

3.3. İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER

İstatistiksel analizler için Windows uyumlu GraphPad Instant Version 3.05 programı kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve normal dağılım göstermeyen parametrelerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Parametreler arası ilişkiler ise Pearson korelasyon analizi ile değerlendirildi. Çalışma verileri ortalama±standart sapma (SD) olarak verildi. Sonuçlar % 95 güven aralığında, anlamlılık p<0.05 düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların demografik ve biyokimyasal parametreleri Tablo 6’da belirtilmiştir:

Tablo 6. Kontrol grubu ve hastaların demografik ve biyokimyal parametreleri.

	Kontrol grubu (n=40) Ortalama±SD	Kronik Hepatit (n=40) Ortalama±SD	Karaciğer Sirozu (n=40) Ortalama±SD
Yaş (yıl)	40.9±9.4	41.5±10.5	45.4±10.3
Cinsiyet (K/E)	22/18	17/23	15/25
AST (U/L)	23.9±12.3	49.4±15.2*	37.7±13.2
ALT (U/L)	23.7±12.2	55.2±22.2*	32.7±13.2
Total bilirubin (mg/dL)	0.7±0.1	0.9±0.3	1.8±1.1**
Direkt Bilirubin (mg/dL)	0.1±0.1	0.2±0.1	0.4±0.4**
Total Protein (g/dL)	8.0±0.2	7.6±0.3	7.3±0.7**
Albumin (g/dL)	4.7±0.2	4.3±0.3	3.6±0.8**
PT (sn)	12.4±0.2	12.5±0.4	15.7±3.7**
ALP (U/L)	119.2±15.4	111.3±33.0	135.5±79.7**
GGT (U/L)	55.4±17.4	44±13.3	60.7±43.9**

* Kontrol ve siroz grubuna göre anlamlı farklılık (p<0.05).

** Kontrol ve kronik hepatit grubuna göre anlamlı farklılık (p<0.05).

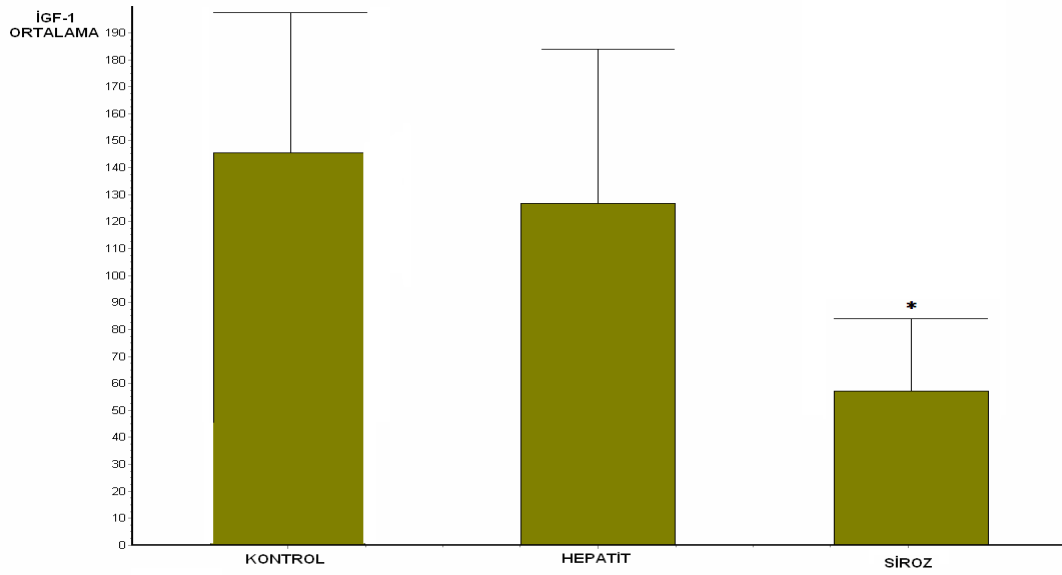
Siroz hastaları ile kontrol ve kronik hepatit hastalarının IGF-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık görüldü (p<0.01). Kronik hepatit ve kontrol grubu arasında IGF-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak arasında fark gözlenmedi (p>0.05) (Tablo 7, Şekil 18).

Tablo 7. Kontrol, siroz ve kronik hepatit gruplarında serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri.

	IGF-1 (µg/mL) Ortalama±SD	IGFBP-3 (ng/mL) Ortalama±SD
Kontrol (n=40)	147.6±51.9	4.0±0.8
Kronik Hepatit (n=40)	126.9±57.2	3.2±0.9**
Siroz (n=40)	57.6±26.6*	1.8±0.9*

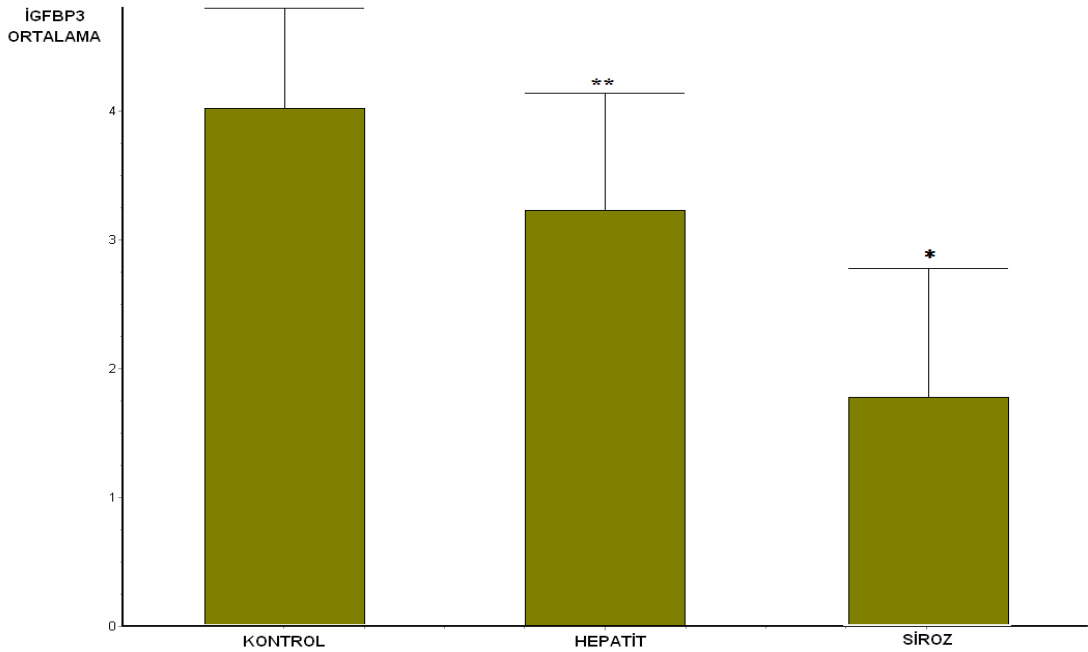
* Kontrol ve kronik hepatit grubuna göre anlamlı farklılık (p<0.01).

** Kontrol ve siroz grubuna göre anlamlı farklılık (p<0.01).



Şekil 18. Kontrol, kronik hepatit ve siroz gruplarında IGF-1 (µg/mL) ölçümleri. Sonuçlar ortalama±SD olarak verilmiştir.
* Kontrol ve kronik hepatit grubuna göre anlamlı farklılık ($p<0.01$).

Siroz hastaları ile kontrol ve kronik hepatit hastalarının ve ayrıca kronik hepatit hastaları ile kontrol grubunun IGFBP-3 ölçümleri arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık görüldü ($p<0.01$). (Tablo 7, Şekil 19).

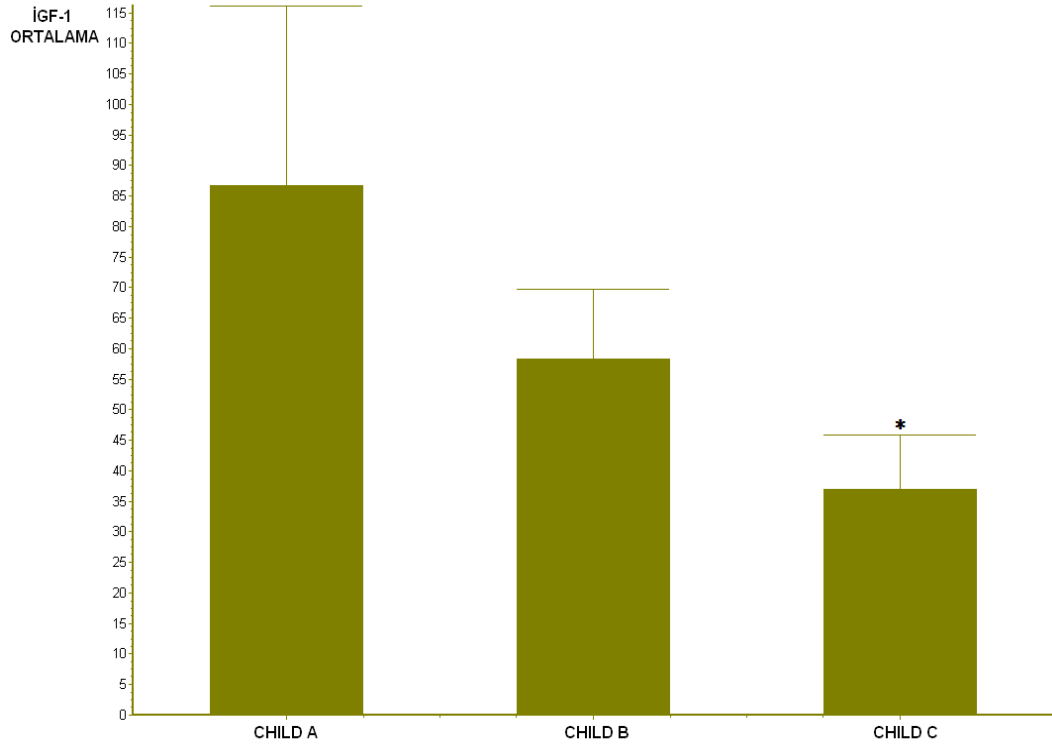


Şekil 19. Kontrol, kronik hepatit ve siroz gruplarında IGFBP-3 (ng/mL) ölçümleri. Sonuçlar ortalama±SD olarak verilmiştir
* Kontrol ve kronik hepatit grubuna göre anlamlı farklılık ($p<0.01$).
** Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ($p<0.01$).

CP C ile A ve CP C ile B gruplarının IGF-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık görüldü ($p<0.01$). CP A ile B gruplarının IGF-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 8, Şekil 20).

Tablo 8. Siroz hastalarında Child-Pugh (CP) skoruna göre serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri.

	IGF-1 ($\mu\text{g/mL}$) Ortalama $\pm$ SD	IGFBP-3 (ng/mL) Ortalama $\pm$ SD
CP A (n=11)	86.8 $\pm$ 29.3	2.8 $\pm$ 1.3
CP B (n=13)	58.3 $\pm$ 11.5	1.6 $\pm$ 0.4
CP C (n=16)	36.9 $\pm$ 8.9	1.2 $\pm$ 0.4
CP A ile CP B	$p>0.05$	$p>0.05$
CP A ile CP C	$p<0.01$	$p<0.01$
CP B ile CP C	$p<0.01$	$p>0.05$

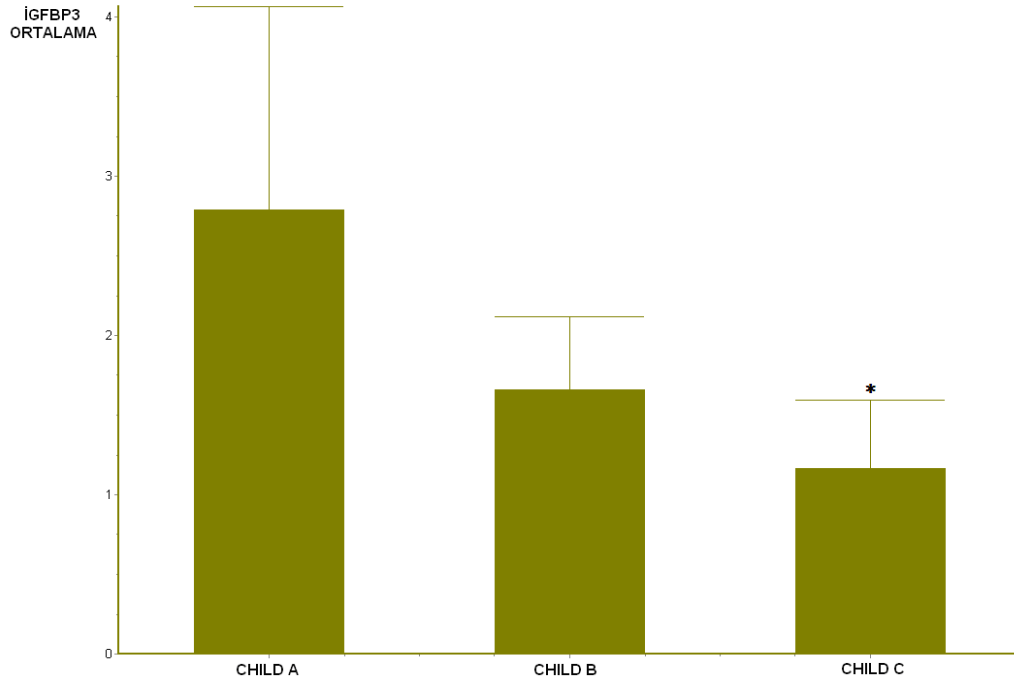


Şekil 20. Child-Pugh skoruna göre serum IGF-1 ($\mu\text{g/mL}$) ölçümleri.

Sonuçlar ortalama $\pm$ SD olarak verilmiştir.

* CP A ve B grubuna göre anlamlı farklılık ($p<0.01$).

CP A ile C grubunun IGFBP-3 ölçümleri arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık görüldü ($p<0.01$). CP A ile B ve CP B ile C grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 8, Şekil 21).



Şekil 21. Child-Pugh skoruna göre serum IGFBP-3 (ng/mL) ölçümleri.

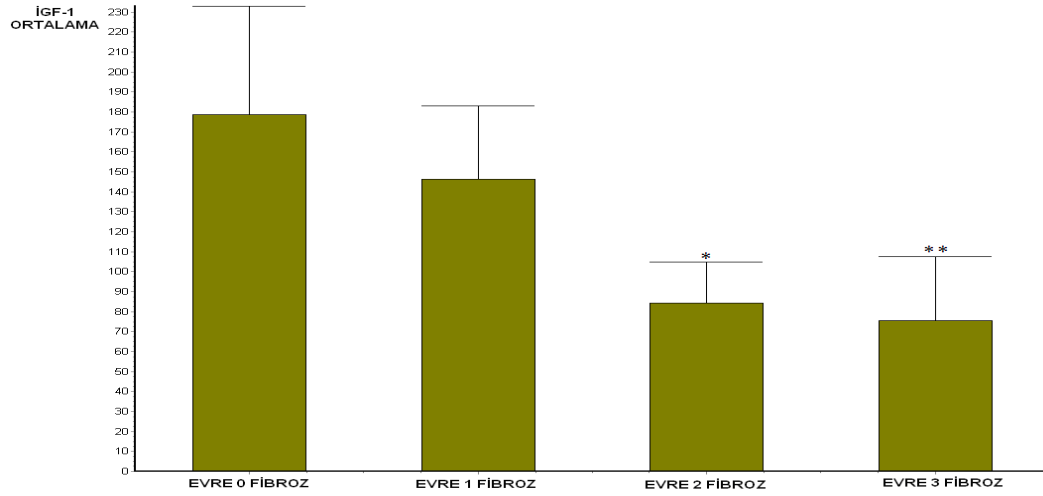
Sonuçlar ortalama±SD olarak verilmiştir.

* CP A grubuna göre anlamlı farklılık ($p < 0.01$).

Kronik hepatit evre 3 fibroz ile evre 0 ve evre 3 ile evre 1 fibroz olgularının IGF-1 ölçümleri arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık görüldü ($p < 0.01$). Evre 2 fibroz ile evre 0 ve evre 2 ile evre 1 fibroz olguları arasında da istatistiksel olarak belirgin farklılık bulundu ($p < 0.01$ ve $p < 0.05$). Evre 2 ile evre 3 fibroz ve evre 0 ile evre 1 fibroz olguları arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0.05$) (Tablo 9, Şekil 22).

Tablo 9. Kronik hepatit olgularında fibroz evresine göre serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri.

	IGF-1 ($\mu\text{g/mL}$) Ortalama±SD	IGFBP-3 (ng/mL) Ortalama±SD
Evre 0 (n=11)	178.4±54.4	3.9±0.6
Evre 1 (n=12)	146.3±36.5	3.6±0.6
Evre 2 (n=8)	84.4±20.2	2.5±0.6
Evre 3 (n=9)	75.5±32.0	2.3±0.6
Evre 0 ile Evre 1	$p > 0.05$	$p > 0.05$
Evre 0 ile Evre 2	$p < 0.01$	$p < 0.01$
Evre 0 ile Evre 3	$p < 0.01$	$p < 0.01$
Evre 1 ile Evre 2	$p < 0.05$	$p < 0.05$
Evre 1 ile Evre 3	$p < 0.01$	$p < 0.01$
Evre 2 ile Evre 3	$p > 0.05$	$p > 0.05$

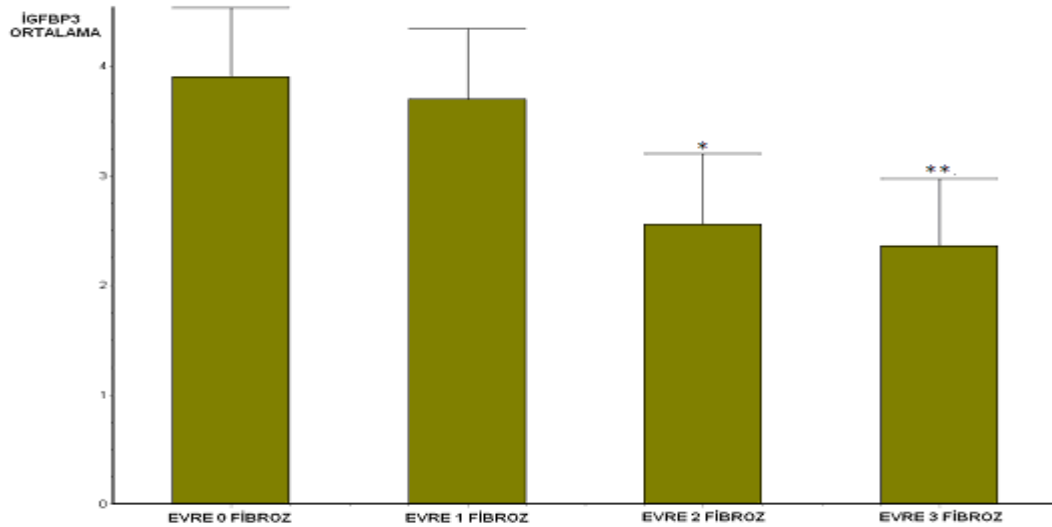


Şekil 22. Kronik hepatit olgularında fibroz evresine göre serum IGF-1 (µg/mL) ölçümleri. Sonuçlar ortalama±SD olarak verilmiştir.

* Evre 0 ve 1 grubuna göre anlamlı farklılık ($p<0.01$ ve $p<0.05$).

** Evre 0 ve 1 grubuna göre anlamlı farklılık ($p<0.01$).

Kronik hepatit hastalarında evre 3 ile evre 0 ve evre 3 ile evre 1 fibroz olgularının IGFBP-3 ölçümleri arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık görüldü ($p<0.001$ ve $p<0.01$). Evre 2 ile evre 0 ve evre 2 ile evre 1 fibroz olgularının IGFBP-3 ölçümleri arasında da istatistiksel olarak belirgin farklılık bulundu ($p<0.01$ ve $p<0.05$). Evre 3 ile evre 2 ve evre 1 ile evre 0 fibroz olguları arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 9, Şekil 23).



Şekil 23. Kronik hepatit olgularında fibroz evresine göre serum IGFBP-3 (ng/mL) ölçümleri. Sonuçlar ortalama±SD olarak verilmiştir.

* Evre 0 ve 1 grubuna göre anlamlı farklılık ($p<0.01$ ve $p<0.05$).

** Evre 0 ve 1 grubuna göre anlamlı farklılık ($p<0.01$).

Kronik hepatit olgularında IGF-1 ile serum AST ve ALT düzeyleri arasında negatif yönde ilişki bulundu ($r = -0.6756$, $p < 0.01$ ve $r = -0.5089$, $p < 0.01$). IGFBP-3 ile serum AST ve ALT düzeyleri arasında negatif yönde ilişki bulundu ($r = -0.5850$, $p < 0.01$ ve $r = -0.4719$, $p < 0.01$) (Tablo 10).

Tablo 10. Kronik hepatit olgularında IGF-1 ve IGFBP-3 ve biyokimyasal veriler arasındaki ilişki.

	r	p
IGF-1 ve AST	-0.6756	<0.01
IGF-1 ve ALT	-0.5089	<0.01
IGFBP-3 ve AST	-0.5850	<0.01
IGFBP-3 ve ALT	-0.4719	<0.01

Siroz olgularında IGF-1 ile serum albümin düzeyi arasında pozitif yönde ($r = 0.6672$, $p < 0.01$) IGF-1 ile protrombin zamanı ve total bilirubin arasında negatif yönde ilişki ($r = -0.5196$, $p < 0.01$ ve $r = -0.5800$, $p < 0.01$) bulundu. IGFBP-3 ile serum albümin düzeyi arasında pozitif yönde ($r = 0.5756$, $p < 0.01$), IGFBP-3 ile protrombin zamanı ve total bilirubin arasında negatif yönde ilişki bulundu ($r = -0.4403$, $p < 0.01$ ve $r = -0.5397$, $p < 0.01$) (Tablo 11).

Tablo 11. Siroz olgularında IGF-1 ve IGFBP-3 ve biyokimyasal veriler arasındaki ilişki.

	r	p
IGF-1 ve albümin	0.6672	<0.01
IGF-1 ve total bilirubin	-0.5800	<0.01
IGF-1 ve PT	-0.5196	<0.01
IGFBP-3 ve albümin	0.5756	<0.01
IGFBP-3 ve total bilirubin	-0.5397	<0.01
IGFBP-3 ve PT	-0.4403	<0.01

5. TARTIŞMA

Kronik HBV enfeksiyonu dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Kronik HBV enfeksiyonu olan hastalar karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinom gelişimi açısından artmış risk altındadır (11).

Karaciğer sirozu, karaciğer parenkiminin fibrozu sonucunda meydana gelen, karaciğer fonksiyonunda bozukluklara neden olan bir durumdur. Fibroz, kronik karaciğer hasarına yanıt olarak gelişen, kollajenden zengin aşırı hücre dışı matriks birikimiyle meydana gelen yara iyileşmesidir (33).

Karaciğer IGF sisteminin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. IGF-1 ve IGFBP-3'ün en önemli kaynağıdır. Yapılan çalışmalarda IGF homeostazının kronik karaciğer hastalığında bozulduğu bulunmuştur. Ancak IGF-1 ve IGFBP-3'ün kronik karaciğer hastalığı patogenezindeki rolü henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır (82).

Çalışmamızda HBV'ye bağlı kronik hepatit ve sirozun serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerine etkisini ve bu parametrelerin karaciğer disfonksiyonuyla ilişkisini inceledik.

Çalışmamızda siroz hastalarında serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyini kronik hepatit ve kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulduk. Child-Pugh skoruna göre incelediğimizde Child skoru arttıkça her iki analitin de serum düzeyinin azaldığını gözlemledik. Ayrıca karaciğerin sentez ve atılım fonksiyonlarıyla bu analitlerin ilişkisini araştırdık. Albümin düzeyi ile pozitif yönde, PT (protrombin zamanı) ve total bilirübin ile negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulduk.

Wu ve ark. (9) yaptıkları çalışmada serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyinin siroz hastalarında düştüğünü ve bu azalmanın Child skorunun yükselmesiyle korele olduğunu göstermişlerdir. Caregora ve ark. (98) siroz hastalarında serum IGF-1 düzeyinin albümin düzeyi ile pozitif ve Child skoruyla negatif yönde ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Donaghy ve ark. (99) serum IGF-1 düzeyinin siroz hastalarında düşük olduğunu ve bunun hepatosit hücre zarında GH reseptör kaybına bağlı olarak GH direnci sonucu meydana geldiğini ileri sürmüşlerdir. Siroza bağlı hasar sonucu hepatositlerin ve hepatosit hücre zarında GH reseptörlerinin azaldığı ve bunun serum IGF-1 düzeyini düşürdüğü düşünülmektedir (61). Assy ve ark. (100)

dışarıdan GH verilmesinin Child-Pugh skoru yüksek hastalarda serum IGF-1 düzeyini arttırmadığını bulmuşlardır. Aynı çalışmada GH ile IGFBP-3'ün serumda arttığını göstermişlerdir. Bu farklılığı, IGFBP-3 sentezinin hepatosit dışındaki hücrelerden sentezlenmesine bağlamaktadırlar. Artmış proenflamatuvar sitokinlerin GH direncine yol açabileceği düşünülmektedir. IL-1 β 'nın karaciğer hücrelerinde postreseptör mekanizmaları etkileyerek GH'nin karaciğerdeki etkilerini engelleyebildiği gösterilmiştir (101).

Sidlova ve ark. (102) ve Shaarawy ve ark. (103) karaciğer sirozu olan hastalarda serum IGFB-3 düzeyinin azaldığını ve bunun serum albümini ile pozitif, bilirübin düzeyi ve protrombin zamanı ile negatif yönde ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Siroz hastalarında dolaşımda IGFBP-3 azalmasının karaciğer hasarıyla aktive olmuş proteazlarla parçalanması sonucu meydana gelebileceği de düşünülmüştür. Ancak siroz hastalarının serumlarında artmış proteaz aktivitesi gösterilememiştir. Yapılan çalışmalarda IGF-1/IGFBP-3/ALS üçlü kompleksinin stabilitesini sağlayan ALS'nin de sentezinin azaldığı gösterilmiştir. Böylece IGFBP-3/IGF-1 ikili kompleksinin yarı ömrünün azaldığı ve dolaşımdan hızlı bir şekilde temizlendiği düşünülmektedir (99).

Wang ve ark. (104) fibroz ile karaciğerde IGF-1 ve hepatosit yüzeyinde IGF-1R ekspresyonunun arttığını bulmuşlardır. Bu artışın, IGF-1'in hepatosit çoğalması ve rejenerasyonunu uyarması, antifibrinojenik etkilerinin olmasını göz önüne alarak kompensatuvar bir mekanizma olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca bu artışın serumda gözlenmemesini IGF-1'in karaciğer hasarında otokrin etkili olabileceğine bağlamaktadırlar. Sirotik sıçanlara dışarıdan IGF-1 verilmesi sonucunda tip I ve tip III kollajen sentezinin azaldığı gösterilmiştir (105). Siroz hastalarında albümin sentezinin de IGF-1 ile arttığı gösterilmiştir (106). Aktive olmuş KYH'den sentezlenen IGF-1'in parakrin ve otokrin etkiyle KYH'den HGF sentezlenmesini arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (107).

Ancak ilginç olarak yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda IGF-1'in karaciğer fibrozuna yol açan MFB ve KYH'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Enflamasyona bağlı olarak uyarılan enflamatuvar hücreler, Kupffer hücreleri ve başka birçok hücrenin IGF-1 sentezleyerek MFB ve KYH aktivitesini arttırmaktadır.

Hasar görmüş hepatositlerin de IGF-1 sentezlerini arttırarak KYH üzerinde mitojenik etkileri olduğu gözlenmiştir. Scharf ve ark. (7) aktive olmuş KYH'de IGF-1 ve IGFBP-3 sentezinin arttığını göstermişlerdir. Ayrıca KYH ve MFB hücre zarlarında IGF-1R ekspresyonunun arttığı bulunmuştur. Böylece IGF-1'in bu hücrelerde mitojenik etkisini daha yoğun olarak gösterebildiği ve bu etkinin otokrin ve parakrin olduğu ileri sürülmektedir (90).

Svegliati-Baroni ve ark. (84) fibrotik dokunun yoğun olduğu yerlerde IGF-1 mRNA'sının arttığını bulmuşlardır. Novosyadlyy ve ark. (82) sirotik karaciğer dokusunda IGF-1 mRNA ekspresyonunun azaldığını ancak fibrotik dokunun yoğun olduğu yerlerde ise IGFBP-3 mRNA'sının arttığını göstermişlerdir. Bu lokal artışa rağmen dolaşımda IGFBP-3'ün düşmesini fibrotik dokudaki fibronektin ve tip I kollajenin IGFBP-3'ü bağlayarak dolaşıma çıkmasını engellediğini ve ayrıca fibrotik dokuda biriken IGFBP-3'ün de IGF-1'i bağlayarak dolaşıma çıkmasını engellediği ve karaciğerde IGF-1'in etkilerini arttırdığını ileri sürmüşlerdir.

Kronik hepatite bağlı karaciğer hasarının IGF-1 homeostazını nasıl etkilediğini inceleyen yeterli araştırma mevcut değildir. Raslan ve ark. (108) kronik hepatit C hastalarında serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerinin azaldığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada IGF-1 ve IGFBP-3 ile serum AST düzeyleri arasında negatif yönde bir ilişki bulunmuştur.

Çalışmamızda kronik hepatit hastalarında serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerini kontrol grubuna göre düşük bulduk, fakat IGF-1 düzeyindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu farklılığın görülmemesini çalışmaya aldığımız hastaların tedavi altında olmalarına bağlı olabilir.

Kronik enflamasyonun şiddetine bağlı olarak fibroz gelişimi de artar. Bu bağlamda kronik hepatitli hastalarda fibrozun evresiyle serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırdık. Fibroz evresi arttıkça her iki analitin de serum düzeyinin azaldığını gözlemledik. Ayrıca karaciğerde enflamasyonla serumda AST ve ALT artmaktadır. AST ve ALT ile serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri arasında negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulduk.

Kronik viral enfeksiyon sonucu sentezlenen $TNF\alpha$, IL-6, IL-11 gibi sitokinlere bağlı olarak karaciğerde IGF-1 ve IGFBP-3 sentezinin azaldığı bilinmektedir (109). $TNF\alpha$, karaciğerde IGF-1 mRNA ekspresyonunu azaltmaktadır.

Ancak bu etkinin mekanizması bilinmemektedir. Ayrıca GH sinyal iletimini reseptör sayısını azaltarak ve JAK/STAT sinyal iletim yolunu bozarak etkilemektedir. $TNF\alpha$, ALS mRNA ekspresyonunu azaltır. Bunun yanında karaciğerdeki enflamasyon ve nekrozun asidik bir ortam yarattığı ve IGFBP-3'ün proteolizle yıkılmasına sebep olan katepsinlerin asidik ortamda aktive olduğu düşünülmektedir (110).

Sonuç olarak şunu diyebiliriz ki HBV'ye bağlı kronik hepatit ve sirozda serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyi azalmaktadır. Ancak yukarıda da belirttiğimiz gibi kronik hepatitli hastalar ile kontrol grubunun serum IGF-1 düzeyleri arasında fark saptayamadık. Bu bulgular bize HBV'ye bağlı kronik karaciğer hastalığında serum IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyinin hepatik disfonksiyonu belirlemekte klinik bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermekle beraber prospektif, daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Chwla Y. Hepatitis B Virus: Inactive carriers. *Virol J* 2005;2:82-86
2. Huang CF, Lin SS, Ho YC, Chen FL, Yang CC. The immune response induced by Hepatitis B Virus principal antigens. *Cell Mol Immunol* 2006;3:97-106.
3. Yim HJ, Lok ASF. Natural history of Hepatitis B Virus infection: What we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology* 2006;43:S173-S181.
4. Friedman SL. Liver fibrosis-from bench to bedside. *J Hepatol* 2003;38:S38-S53
5. Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006;364:33-60.
6. Chuang JH, Wang PW, Tai MH. An adiponectin view of liver fibrosis and cirrhosis. *Chang Gung Med J* 2004;27:855-868.
7. Scharf JG, Knittel T, Dombrowski F, Müller L, Saile B, Bräulke T, Hartmann H, Ramadori G. Characterization of the IGF axis components in isolated rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 1998;27:1275-1284.
8. Saile B, DiRocco P, Dudas J, El-Armouche H, Sebb H, Eisenbach C, Neubauer K, Ramadori G. IGF-1 induces DNA synthesis and apoptosis in rat liver hepatic stellate cells (HSC) but DNA synthesis and proliferation in rat liver myofibroblasts (rMF). *Lab Invest* 2004;84:1037-1049.
9. Wu YL, Ye J, Zhang S, Zhong J, Xi RP. Clinical significance of serum IGF-1, IGF-2 and IGFBP-3 in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2004;10:2740-2743
10. Scharf JG, Dombrowski F, Ramadori G. The IGF axis and hepatocarcinogenesis. *J Clin Pathol Mol Pathol* 2001;54:138-144.
11. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of Hepatitis B Virus infection. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:351-366.
12. Vyas GN, Yen TSB. Hepatitis B. Ed: Specter S, *Viral Hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention*. pp.35-63, Humana Press Inc, New Jersey, USA, 1999.
13. Chang MH. Hepatitis B Virus infection. *Semin Fetal Neonatal Med* 2007;12:160-167.

14. Dienstag JL, Isselbacher KJ. Acute Viral Hepatitis. Ed: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. Harrison's Principles of Internal Medicine 14th Edition, pp.1677-1692, The McGraw-Hill Companies, Inc, USA,1998.
15. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. Microbiol Mol Biol Rev 2000;64:51-68
16. Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-Natural history and clinical consequences. N Eng J Med 2004;350:1118-1129.
17. Seyec JL, Chouteau P, Connie I, Guguen-Guillouzo C, Gripon P. Infection process of the hepatitis B virus depends on the presence of a defined sequence in the pre-S1 domain. J Virol 1999;73:2052-2057
18. Bilgiç A, Özaşar T. Hepatit B Virus Ed: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. s.1350-1370. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002.
19. Lok ASE, McMahon BJ. Chronic Hepatitis B. Hepatology 2007;45:507-539.
20. Villeneuve JP. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. J Clin Virol 2005;34:S139-S142.
21. Merican I, Guan R, Amarapuka D, Alexander MJ, Chutaputti A, Chien RN, Hasnain SS, Leung N, Lesmana L, Phiet PH, Sjalfoellah Noer HM, Sollano J, Sun HS, Xu DZ. Chronic hepatitis B virus infection in Asian countries. J Gastroenterol Hepatol 2000;15:1356-1361.
22. Niederau C, Heintges T, Lange S. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon α for chronic hepatitis B. New Eng J Med 1996;334:1422-1427.
23. Brown JL, Carman WF, Thomas HC. The hepatitis B virus. Bailliere's Clin Gastroenterol 1990;4:721-747.
24. Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. J Viral Hepat 2002;9:243-257.
25. Guidotti LG, Ishikawa T, Hobbs MV, Matzke B, Schreiber R, Chisari FV. Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. Immunity 1996;4:25-36.

26. Hatashi N, Mita E. Involvement of Fas-system-mediated apoptosis in pathogenesis of viral hepatitis. *J Viral Hepat* 1999;6:357-365.
27. Chang JJ, Lewin SR. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Immunol Cell Biol* 2007;85:16-23.
28. van der Molen RG, Sprengers D, Binda RS, de Jong EC, Niesters HG, Kusters JG. Functional impairment of myeloid and plasmacytoid dendritic cells of patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2004;40:738-746.
29. Riordan SM, Skinner N, Kurtovic J, Locarnini S, Visvanathan K. Reduced expression of toll-like receptor 2 on peripheral monocytes in patients with chronic hepatitis B. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13:972-974.
30. Rehmann B, Fowler P, Sidney J, Person J, Redeker A, Brown M. The cytotoxic T lymphocyte response to multiple hepatitis B virus polymerase epitopes during and after acute viral hepatitis. *J Exp Med* 1995;181:1047-1058.
31. Berkow R, Fletcher AJ. The Merck Manual Tanı-Tedavi El Kitabı. (Çev: Keklikoğlu M, Tuzcu M.) s.893-897, 1. Cilt, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1995.
32. Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Evolving concepts of liver fibrogenesis provide new diagnostic and therapeutic options. *Comp Hepatol* 2007;6:7-19.
33. Rockey DC. Hepatic fibrosis, stellate cells, and portal hypertension. *Clin Liv Dis* 2006;10:459-479.
34. Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF- β as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006;10:76-99.
35. Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis-Role of hepatic stellate cell activation. *Med Gen Med* 2002;4:27.
36. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000;275:2247-2250.
37. Arthur MJP. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;279:G245-G249.
38. Valkova M. Hepatic fibrogenesis. *Bratisl Lek Listy* 2002;103:76-85.
39. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005;115:209-218.

40. Iredale JP. Hepatic stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin Liver Dis* 2001;21:427-436.
41. Boers W, Aarrass S, Linthorst C, Pinzani M, Elferink RO, Bomsa P. Transcriptional Profiling reveals novel markers of liver fibrogenesis. *J Biol Chem* 2006;281:16289-16295.
42. Humbel RE. Insulin-like growth factors I and II. *Eur J Biochem* 1990;190:445-462.
43. Pavelic J, Matijevic T, Knezevic J. Biological & physiological aspects of action of insulin-like growth factor peptide family. *Indian J Med Res* 2007;125:511-522.
44. LeRoith D. Insulin-like growth factors. *New Eng J Med* 1997;336:633-640.
45. Bhagavan NV. *Medical Biochemistry*. pp.729-747, 4th Edition, Harcourt/Academic Pres, San Diego, USA, 2002
46. Botfield C, Ross RJM, Hinds CJ. The role of IGFs in catabolism. *Bailliere's Clin Endocrinol Metab* 1997;11:679-92.
47. Baserga R, Hongo A, Rubini M, Prisco M, Valentinis B. The IGF-I receptor in cell growth, transformation and apoptosis. *Biochim Biophys Acta* 1997;1332:F105-F126.
48. Jones JJ, Clemmons DR. Insulin-like Growth Factors and their binding proteins: Biological actions. *Endocrine Rev* 1995;16:3-34.
49. LeRoith D, Werner H, Beitner-Johnson D, Roberts CT. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocr Rev* 1995;16:143-163.
50. Kooijman R. Regulation of apoptosis by insulin-like growth factor (IGF) I. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006;17:305-323.
51. Siddle K, Ursø B, Nielser CA, Cope DL, Molina L, Surinya H, Soos MA. Specificity in ligand binding and intracellular signalling by insulin and insulin like growth factor receptors. *Biochem Soc Trans* 2001;29:513-525.
52. LeRoith D, Roberts CT. The insulin-like growth factor system and cancer. *Cancer Lett* 2003;195:127-137.
53. Rakatzi I, Stosik M, Gromke T, Siddle K, Eckel J. Differential phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 by insulin and IGF-1 receptors. *Arch Physiol Biochem* 2006;112:37-47.

54. Nakae J, Kido Y, Accili D. Distinct and overlapping functions of insulin and IGF-I receptors. *Endocr Rev* 2001;22:818-835.
55. Kim JJ, Accili D. Signalling through IGF-I and insulin receptors: Where is the specificity? *Growth Horm IGF Res* 2002;12:84-90.
56. Denley A, Cosgrove LJ, Booker GW, Wallace JC, Forbes BE. Molecular interactions of the IGF system. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005;16:421-439.
57. LeRoith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A. The somatomedin hypothesis:2001. *Endocr Rev* 2001;22:53-74.
58. Cohick WS, Clemmons DR. The insulin-like growth factors. *Annu Rev Physiol* 1993;55:131-153.
59. Kurmasheva RT, Houghton PJ. IGF-I mediated survival pathways in normal and malignant cells. *Biochim Biophys Acta* 2006;1766:1-22.
60. Vincent AM, Feldman EL. Control of cell survival by IGF signaling pathways. *Growth Horm IGF Res* 2002;12:193-197.
61. Conchillo M, Prieto J, Quiroga J. Insulin-like growth factor I (IGF-I) and liver cirrhosis. *Rev Esp Enferm Dig* 2007;99:156-164.
62. Breier BH. Regulation of protein and energy metabolism by the somatotrophic axis. *Domest Anim Endocrinol* 1999;17:299-218.
63. Firth SM, Baxter RC. Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. *Endocr Rev* 2002;23:824-854.
64. Bach LA, Headey SJ, Norton RS. IGF-binding proteins – the pieces are falling into place. *Trends Endocrinol Metab* 2005;16:228-234.
65. Duan C. Specifying the cellular responses to IGF signals: Roles of IGF-binding proteins. *J Endocrinol* 2002;175:41-54.
66. Galanis M, Firth SM, Bond J, Nathanielsz A, Kort AA, Hudson PJ, Baxter RC. Ligand-binding characteristics of recombinant amino- and carboxyl-terminal fragments of human insulin-like growth factor-binding protein-3. *J Endocrinol* 2001;169:123-133.
67. Baxter RC. Insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins: Interactions with IGFs and intrinsic bioactivities. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000;278:E967-E976.

68. Payet LD, Wang XH, Baxter RC, Firth SM. Amino-and carboxyl-terminal fragments of insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 cooperate to bind IGFS with high affinity and inhibit IGF receptor interactions. *Endocrinol* 2003;144:2797-2806.
69. Rajaram S, Baylink DJ, Mohan S. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: Regulation and functions. *Endocr Rev* 1997;18:801-831.
70. Duan C, Xu Q. Roles of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins in regulating IGF actions. *Gen Comp Endocrinol* 2005;142:44-52.
71. Bunn RC, Fowlkes JL. Insulin-like growth factor binding protein proteolysis. *Trends Endocrinol Metab* 2003;14:176-181.
72. Devi GR, Yang DH, Rosenfeld RG, Oh Y. Differential effects of insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 and its proteolytic fragments on ligand binding, cell surface association, and IGF-1 receptor signalling. *Endocrinol* 2000;141:4171-4179.
73. Mohan S, Baylink DJ. IGF-binding proteins are multifunctional and act via IGF-dependent and-independent mechanisms. *J Endocrinol* 2002;175:19-31.
74. Ricort JM. Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) signalling. *Growth Horm IGF Res* 2004;14:277-286.
75. Rajah R, Valentinis B, Cohen P. Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 induces apoptosis and mediates the effects of transforming growth factor- β 1 on programmed cell death through a p53 and IGF-independent mechanism. *J Biol Chem* 1997;272:1281-1288.
76. Lee KW, Liu B, Ma L, Li H, Bang P, Koeffler HP, Cohen P. Cellular internalization of insulin-like growth factor binding protein-3. *J Biol Chem* 2004;279:469-476.
77. Liu B, Weinzimer SA, Gibson TB, Mascarenhas D, Cohen P. Type I α collagen is an IGFBP-3 binding protein. *Growth Horm IGF Res* 2003;13:89-97.
78. Schedlich LJ, Le Page SL, Firth SM, Briggs LJ, Jans DA, Baxter RC. Nuclear import of insulin-like growth factor-binding protein 3 and 5 is mediated by the importin β subunit. *J Biol Chem* 200;275:23462-23470.

79. Lee KW, Cohen P. Nuclear effects: Unexpected intracellular actions of insulin-like growth factor binding protein 3. *J Endocrinol* 2002;165:33-40.
80. Butt AJ, Fraley KA, Firth SM, Baxter RC. IGF- binding protein-3 induced growth inhibition and apoptosis do not require cell surface binding and nuclear translocation in human breast cancer cells. *Endocrinol* 2002;143:2693-2699.
81. Rosenzweig SA. What's new in the IGF-binding proteins? *Growth Horm IGF Res* 2004;14:329-336.
82. Novosyadlyy R, Dargel R, Scharf JG. Expression of insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding proteins during thioacetamide-induced liver cirrhosis in rats. *Growth Horm IGF Res* 2005;15:313-323.
83. Guyot C, Lepreux S, Combe C, Doudnikoff E, Sage PB, Balabaud C, Desmouliere A. Hepatic fibrosis and cirrhosis: The (myo)fibroblastic cell subpopulations involved. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38:135-151.
84. Svegliati-Baroni G, Ridolfi F, Di Sario A, Casini A, Marucci L, Gaggiotti G, Orlandoni P, Macarri G, Perego L, Benedetti A, Folli F. Insulin and insulin-like growth factor-1 stimulate proliferation and type I collagen accumulation by human hepatic stellate cells: Differential effects on signal transduction pathways. *Hepatology* 1999;29:1743-1751.
85. Gentilini A, Marra F, Gentilini P, Pinzani M. Phosphatidylinositol-3 kinase and extracellular signal-regulated kinase mediate the chemotactic and mitogenic effects of insulin-like growth factor-I in human hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2000;32:227-234.
86. Issa R, Williams E, Trim N, Kendall T, Arthur MJP, Reichen J, Benyon RC, Iredale JP. Apoptosis of hepatic stellate cells: Involvement in resolution of biliary fibrosis and regulation by soluble growth factors. *Gut* 2001;48:548-557.
87. Wang XZ, Chen ZX, Zhang LJ, Chen YX, Li D, Chen FL, Huang YH. Expression of insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor 1 receptor and its intervention by interleukin-10 in experimental hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2003;9:1287-1291.
88. Novosyadlyy R, Dudas J, Pannem R, Ramadori G, Scharf JG. Crosstalk between PDGF and IGF-1 receptors in rat liver myofibroblasts: Implication for liver fibrogenesis. *Lab Invest* 2006;86:710-723.

- 89.** Bridle KR, Li L, O'Neill R, Briton RS, Bacon BR. Coordinate activation of intracellular signalling pathways by insulin-like growth factor-1 and platelet-derived growth factor in rat hepatic stellate cells. *J Lab Clin Med* 2006;147:234-241.
- 90.** Novosyadlyy R, Tron K, Dudas J, Ramadori G, Scharf JG. Expression and regulation of the insulin-like growth factor axis components in rat liver myofibroblasts. *J Cell Physiol* 2004;199:388-398.
- 91.** Demir S, Köseoğlu MH. İmmünokimyasal Yöntemler ve Standardizasyonu. Ed: Taga Y, Aslan D, Güner G, Kutay FZ. Tıbbi Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Kalite Yönetimi. s.374-389, Türk Biyokimya Derneği Yayınları, Ankara, 2001.
- 92.** Koivunen ME, Krogsrud RL. Principles of immunochemical techniques used in clinical laboratories. *Lab Med* 2006;37:490-497.
- 93.** Kricka LJ. Principles of immunochemical techniques. Ed: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd Edition. pp 205-225, W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA, 1999.
- 94.** Tiffany TO. Fluorometry, nephelometry, and turbidometry. Ed: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd Edition. pp. 94-112, W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA, 1999.
- 95.** Miura K, Tsuchiya T, Nagashima M, Imai C. Fundamentals of chemiluminescence detection. March, 1999. (http://www.fujifilm.de/media/science/6_fundamentals_in_chemiluminescence_detection.pdf). Erişim tarihi: 20.03.2008.
- 96.** Soo VA. Immunochemistry analyzers. Ed: Ward KM, Lehmann CA, Leiken AM. *Clinical Laboratory Instrumentation and Automation*. pp. 276-307, W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA, 1994.
- 97.** Kricka LJ. Clinical applications of chemiluminescence. *Anal Chim Acta* 2003;500:279-286.
- 98.** Caregaro L, Alberino F, Angeli P, Gatta A. Insulin-like growth factor I (IGF-1) in liver cirrhosis: a marker of hepatocellular dysfunction. *J Hepatol* 1998;29:342.

99. Donaghy A, Delhanty PJD, Ho KK, Williams R, Baxter RC. Regulation of the growth hormone receptor/binding protein, insulin-like growth factor ternary complex system in human cirrhosis. *J Hepatol* 2002;26:751-758.
100. Assy N, Hochberg Z, Amit T, Shen-Orr Z, Enat R, Baruch Y. Growth hormone-stimulated insulin-like growth factor (IGF) I and IGF-binding protein-3 in liver cirrhosis. *J Hepatol* 1997;27:796-802.
101. Ottesen LH, Bendtsen F, Flyvbjerg A. The insulin-like growth factor binding protein ternary complex is reduced in cirrhosis. *Liver* 2001;21:350-356.
102. Sidlova K, Pechova M, Kotaska K, Prusa R. Insulin-like growth factor binding protein-3 in patients with liver cirrhosis. *Physiol Res* 2002;51:587-590.
103. Shaarawy M, Fikry MA, Massoud BA, Lotfy S. Insulin-like growth factor binding protein-3: A novel biomarker for the assessment of the synthetic capacity of hepatocytes in liver cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3316-3319.
104. Wang XZ, Chen ZX, Zhang LJ, Chen YX, Li D, Chen FL, Huang YH. Expression of insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor 1 receptor and its intervention by interleukin-10 in experimental hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2003;9:1287-1291.
105. Muguerza B, Cortazar IC, Garcia M, Quiroga J, Santidrian S, Prieto J. Antifibrogenic effect *in vivo* of low doses of insulin-like growth factor-I in cirrhotic rats. *Biochim Biophys Acta* 2001;1536:185-195.
106. Conchillo M, de Knecht RJ, Payeras M, Quiroga J, Sangro B, Herrero JI, Cortazar IC, Frystyk J, Flyvbjerg A, Yoshizawa C, Jansen PLM, Schrschmidt B, Prieto J. Insulin-like growth factor I (IGF-1) replacement therapy increases albumin concentrations in liver cirrhosis: Results of a pilot randomized controlled clinical trial. *J Hepatol* 2005;43:630-636.
107. Sanz S, Pucilowska JB, Liu S, Ortigosa CMR, Lund PK, Brenner DA, Fuller CR, Simmons JG, Pardo A, Chantar MLM, Fagin JA, Prieto J. Expression of insulin-like growth factor I by activated hepatic stellate cells reduces fibrogenesis and enhances regeneration after liver injury. *Gut* 2005;54:134-142.

- 108.** Raslan HM, Ezzat WM, Ahmed MM, Rasheed EA. Insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding protein-3 in Egyptian patients with chronic hepatitis C. *Arh Med Sci* 2007;1:46-51.
- 109.** Baricevic I, Nedic O, Nikolic JA, Nedeljkovic J. The insulin-like growth factor system in the circulation of patients with viral infections. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:1127-1131.
- 110.** Lang CH, Nystrom GJ, Frost RA. Tissue-specific regulation of IGF-1 and IGF-1-binding proteins in response to TNF α . *Growth Horm IGF Res* 2001;11:250-260.