



**T.C. SAğLIK BAKANLIğI**  
KONYA  
EğİTİM VE ARAşTIRMA  
HASTANESİ

**T.C.**

**SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**

**KONYA ŞEHİR HASTANESİ**

**İÇ HASTALIKLARI KLİNİğİ**

**KRONİK HEPATİT B TANILI HASTALARDA SERUM ALFA  
KLOTHO DÜZEYİ İLE KARACİğER FİBROZİS DÜZEYİ  
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**Dr. Muhammed Hasan GÜLER**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**KONYA/2022**





**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI**  
KONYA  
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA  
HASTANESİ

**T.C.**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**

**KONYA ŞEHİR HASTANESİ**

**İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ**

**KRONİK HEPATİT B TANILI HASTALARDA SERUM ALFA  
KLOTHO DÜZEYİ İLE KARACİĞER FİBROZİS DÜZEYİ  
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**Dr. Muhammed Hasan GÜLER**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim GÜNEY**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**KONYA/2022**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, eğitimim boyunca desteğini ve yardımını esirgemeyen, yetişmemde büyük emeği olan değerli hocam İç Hastalıkları Kliniği Eğitim Görevlisi Prof. Dr. İbrahim GÜNEY'e saygı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım, asistanlık eğitim sürecimin başlangıcından beri eğitimim ve yetişmemde büyük emeği olan değerli hocam İç Hastalıkları Kliniği Eğitim Sorumlusu Doç. Dr. Muhammet Cemal KIZILARSLANOĞLU'na teşekkür ederim.

Tezimin tüm aşamalarında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bir abi olarak da hep yanımda olan, sayın Doç. Dr. Bilal TOKA ve sayın Doç. Dr. Hüseyin KURKU'ya teşekkür ederim.

Ayrıca rotasyonlarımı tamamladığım bölümlerin değerli eğitim sorumlularına saygı ve teşekkürü bir borç bilirim.

Asistanlığım sırasında birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm uzman, asistan, hemşire arkadaşlarıma ve hastane çalışanlarına teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen anneme, babama, sevgili eşim Esra'ya ve canım ailemin diğer üyelerine teşekkür ederim.

MUHAMMED HASAN GÜLER

Ocak 2022

# İÇİNDEKİLER

|   | Sayfa |
|---|-------|
| TEŞEKKÜR.....   | i     |
| İÇİNDEKİLER .....                                     | ii    |
| KISALTMALAR .....                                     | iv    |
| TABLOLAR LİSTESİ.....                                 | v     |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                | vi    |
| ÖZET.....   | vii   |
| ABSTRACT.....   | viii  |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                                | 1     |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                               | 4     |
| 2.1. HEPATİT .....                                    | 4     |
| 2.1.1. Viral Hepatitler.....                          | 4     |
| 2.2. HEPATİT B VİRÜSÜ.....                            | 5     |
| 2.2.1. Hepatit B Virüsünün Tarihçesi.....             | 5     |
| 2.2.2. Hepatit B Virüsünün Yapısı .....               | 5     |
| 2.2.3. Viral Replikasyon.....                         | 8     |
| 2.2.4. Genotipler ve Mutasyonlar.....                 | 9     |
| 2.2.5. Epidemiyoloji ve Bulaş Yolları.....            | 10    |
| 2.2.6. Patogenez .....                                | 12    |
| 2.2.7. Hepatit B Enfeksiyonu ve Klinik .....          | 14    |
| 2.2.7.1. Akut HBV enfeksiyonu .....                   | 14    |
| 2.2.7.2. Kronik HBV enfeksiyonu .....                 | 15    |
| 2.2.7.3. Hepatit B Virüsü Enfeksiyonunun Tanısı ..... | 18    |
| 2.2.7.4. Tedavi.....                                  | 19    |
| 2.3. KARACİĞER FİBROZİSİ .....                        | 20    |

|   |    |
|---|----|
| 2.3.1. Patogenez .....  | 20 |
| 2.4. KARACİĞER BİYOPSİSİ .....  | 23 |
| 2.5. ALFA KLOTHO ( $\alpha$ -KLOTHO) .....  | 27 |
| 2.5.1. $\alpha$ -Klothonun Yapısı.....  | 27 |
| 2.5.2. $\alpha$ -Klotho ve İnflamasyon .....  | 29 |
| 2.5.3. $\alpha$ -Klotho ve Fibrozis .....   | 29 |
| 2.5.4. $\alpha$ -Klotho ve Karaciğer.....   | 31 |
| 2.6. KARACİĞER FİBROZİS BELİRTEÇLERİ.....   | 32 |
| 2.6.1. Aspartat Aminotransferaz-Trombosit Oranı İndeksi (APRI).....                           | 32 |
| 2.6.2. Dört Faktöre Dayalı Fibrozis İndeksi (FIB-4) .....                                     | 32 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....  | 33 |
| 3.1. ÇALIŞMA DİZAYNI VE HASTA SEÇİMİ.....   | 33 |
| 3.2. ETİK KURUL ONAYI VE BÜTÇE .....  | 34 |
| 3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....   | 34 |
| 4. BULGULAR.....  | 36 |
| 4.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ VE ALFA KLOTHO DÜZEYİ .....                      | 36 |
| 4.2. KRONİK HEPATİT B HASTALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....                                     | 37 |
| 4.3. KRONİK HEPATİT B HASTALARININ KARACİĞER BİYOPSİ BULGULARINA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI ..... | 40 |
| 4.4 KORELASYON ANALİZİ .....  | 46 |
| 5. TARTIŞMA .....   | 47 |
| 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....  | 56 |
| 7.KAYNAKLAR .....   | 57 |

## KISALTMALAR

|       |   |
|-------|---|
| CTL   | : Sitotoksik T lenfosit                     |
| EBV   | : Epstein-Barr virüsü                       |
| HAV   | : Hepatit A virüsü                          |
| HBsAg | : Hepatit B yüzey antijeni                  |
| HBV   | : Hepatit B virüsü                          |
| HCC   | : Hepatoselüler karsinom                    |
| HCV   | : Hepatit C virüsü                          |
| HDV   | : Hepatit D virüsü                          |
| HEV   | : Hepatit E virüsü                          |
| HLA   | : İnsan lökosit antijeni                    |
| FGF   | : Fibroblast büyüme faktörü                 |
| FGFR  | : Fibroblast büyüme faktörü reseptörü       |
| HAI   | : Histolojik Aktivite İndeksi               |
| IFN   | : İnterferon                                |
| KHB   | : Kronik Hepatit B                          |
| ORF   | : Açık okuma çerçevesi (Open reading frame) |
| PCR   | : Polimeraz zincir reaksiyonu               |
| TGF   | : Tümör Growth Faktör                       |
| TNF   | : Tümör nekroz faktörü                      |

## TABLolar LİSTESİ

**Tablo 2.1. HBV genotiplerinin coğrafik dağılımı (A-J)**

**Tablo 2.2. Hepatit B'nin küresel seroprevalans oranları ve bulaşma yolları**

**Tablo 2.3. Hepatit B Enfeksiyonu İçin Antikor/Antijen Yorumlama**

**Tablo 2.4. Modifiye HAI Skořlama Sistemi**

**Tablo 4.1. Çalışma grubunun demografik özellikleri ve alfa klotho düzeyi**

**Tablo 4.2. Hasta grubunun demografik ve hepatit B ilişkili bulguları**

**Tablo 4.3. Hasta grubunun laboratuvar bulguları**

**Tablo 4.4. Hastaların ultrasonografi sonuçları**

**Tablo 4.5. Hasta grubunun biyopsi sonuçları**

**Tablo 4.6. Hasta grubunun fibrozis evresine göre demografik ve hepatit B ilişkili bulgularının karşılaştırılması**

**Tablo 4.7. Hasta grubunun fibrozis evresine göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması**

**Tablo 4.8. Hasta grubunun HAI skoruna göre demografik ve hepatit B ilişkili bulgularının karşılaştırılması**

**Tablo 4.9. Hasta grubunun HAI skoruna göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması**

**Tablo 4.10. Alfa klotho düzeyi ile diğeri sayısal parametreler arasındaki korelasyon analizi sonuçları**

## ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 2.1. Hepatit B virüsü ve hepatit B yüzey antijeni partiküllerinin yapısı
- Şekil 2.2. HBV'nin moleküler yapısı ve organizasyonu
- Şekil 2.3. HBV'nin yaşam döngüsü
- Şekil 2.4. HBsAg pozitifliğinin küresel prevalansı
- Şekil 2.5. Tipik hepatit B seyri
- Şekil 2.6. Kronik HBV enfeksiyonu fazları ve yeni adlandırma
- Şekil 2.7. Kronik hepatit B'li hastalarda antiviral tedavi seçimine yönelik algoritma
- Şekil 2.8. Normal karaciğer parankimi
- Şekil 2.9. Karaciğer fibrozisinde matriks ve hücrel değişiklik
- Şekil 2.10. Sirozda fibrozun patogeneğine ve fibrozun tersine çevrilmesine şematik genel bakış
- Şekil 2.11. Karaciğer fibrozisinin histolojik aşamaları
- Şekil 2.12. Klotho geni ve proteini
- Şekil 2.13. Solubl Klotho proteininin oluşması
- Şekil 4.1. Vaka ve kontrol grubunun alfa klotho düzeylerinin karşılaştırılması

## KRONİK HEPATİT B TANILI HASTALARDA SERUM ALFA KLOTHO DÜZEYİ İLE KARACİĞER FİBROZİS DÜZEYİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

### ÖZET

**Amaç:** HBV enfeksiyonu tüm dünyada görülen ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Kronik Hepatit B hastalarında tedavi başlanması için karaciğerdeki fibrozis varlığının ve evresinin tespit edilmesi önemlidir. Alfa klotho, FGF23 için ortak reseptör olarak görev yapan bir transmembran proteinidir. Alfa klotho proteinin yaşlanmayı geciktirici, tümör ilerlemesini yavaşlatıcı, anti-inflamatuvar ve antioksidan özellikleri olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda serum alfa klotho düzeyi ile karaciğerde fibrozis varlığı ve evresi arasında ilişki olup olmadığını göstermek amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya Temmuz 2020 ve Ocak 2021 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Konya Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Enfeksiyon Hastalıkları, Gastroenteroloji ve İç Hastalıkları Polikliniklerine başvuran, 18 yaşından büyük, kronik hepatit B tanısı ile biyopsi yapılması planlanmış hastalar dahil edildi. Başka nedenler ile İç Hastalıkları Polikliniği'nde tetkik edilen ve laboratuvar parametreleri istenmiş kişiler kontrol grubu olarak dahil edildi. Hasta ve kontrol grubundan alınan serumlardan ELISA yöntemi ile alfa klotho düzeyi çalışıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya 90'ı kronik hepatit B hastası, 83'ü sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 173 kişi dahil edildi. İki grup arasında cinsiyet dağılımı ve yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla;  $p=0,250$  ve  $p=0,560$ ). Hasta grubunun serum alfa klotho düzeyi  $1,24 (1,00-1,48)$  ng/ml, kontrol grubunun ise  $1,20 (0,97-1,49)$  ng/ml olarak hesaplandı ( $p=0,098$ ). Hasta grubunda alfa klotho düzeyi ile fibrozis evresi ( $r=-0,027$ ,  $p=0,798$ ) ve HAI skoru ( $r=0,104$ ,  $p=0,329$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde korelasyon saptanmadı.

**Sonuç:** Kronik hepatit B seyrinde, alfa klotho proteinin öneminin daha net ortaya konabilmesi için fazla sayıda hasta ile daha kapsamlı ve uzun süreli gözlemsel çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** Alfa klotho, fibrozis, kronik hepatit B, siroz

## THE RELATIONSHIP BETWEEN SERUM ALFA KLOTHO LEVEL AND LIVER FIBROSIS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS B

### ABSTRACT

**Aim:** HBV infection is a serious public health problem seen all over the world. It is important to determine the presence and stage of fibrosis in the liver for initiation of treatment in patients with chronic hepatitis B. Alpha klotho is a transmembrane protein that acts as a co-receptor for FGF23. Alpha klotho protein has been reported to have anti-aging, tumor progression slowing, anti-inflammatory, and antioxidant properties. In this study, it was aimed to show whether there is a relationship between serum alpha klotho level and the presence and stage of liver fibrosis in patients with chronic HBV infection.

**Materials and Methods:** Patients over 18 years of age, who were scheduled to undergo biopsy with the diagnosis of chronic hepatitis B, who applied to the Health Sciences University Konya Health Application and Research Center, Infectious Diseases, Gastroenterology and Internal Medicine outpatient clinics between July 2020 and January 2021 were included in the study. Persons who were examined in the Internal Medicine outpatient clinic for other reasons and whose laboratory parameters were requested were included as the control group. Alpha klotho level was studied by ELISA method from serum taken from patient and control groups.

**Results:** A total of 173 people, 90 of whom were chronic hepatitis B patients and 83 healthy controls, were included in the study. There was no statistically significant difference between the two groups in terms of gender distribution and age ( $p=0.250$  and  $p=0.560$ , respectively). The serum alpha klotho level of the patient group was 1.24 (1.00-1.48) ng/ml, and 1.20 (0.97-1.49) ng/ml in the control group ( $p=0.098$ ). There was no statistically significant correlation between alpha klotho level and fibrosis stage ( $r=-0.027$ ,  $p=0.798$ ) and HAI score ( $r=0.104$ ,  $p=0.329$ ) in the patient group.

**Conclusion:** More comprehensive and long-term observational studies with a large number of patients are needed to more clearly demonstrate the importance of alpha klotho protein in the course of chronic hepatitis B.

**Keywords:** Alpha klotho, fibrosis, chronic hepatitis B, cirrhosis

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu önemli bir halk sağlığı sorunu olup tüm dünyada görülmektedir. Dünyada 2015 yılında 257 milyon kişide kronik HBV enfeksiyonu olduğu ve kronik HBV nedeniyle yaklaşık 887.000 ölüm meydana geldiği tahmin edilmektedir. Aşı öncesi dönemde 5 yaş altındaki çocuklarda kronik HBV enfeksiyon oranı %5 iken, aşılamaya sonrası 2019 yılında bu oran %1'in altına düşmüştür (1).

Ülkeler; HBsAg pozitif olup HBV prevalansına göre  $>8\%$  yüksek,  $2-8\%$  arası orta ve  $2\%$ 'den az düşük endemik bölgeler olarak sınıflandırılır (2). Ülkemiz orta endemik bölgede bulunmaktadır. Ülkemizde HBV seroprevalansı coğrafik bölgeler arasında çeşitlilik gösterir; batı bölgelerinde HBV taşıyıcılığı yaklaşık  $6\%$ , Doğu ve Güneydoğu bölgelerinde ise  $12,5-14,3\%$  arasında olup daha fazladır (3).

Kronik HBV enfeksiyonuna, 6 aydan uzun süren HBsAg varlığı, HBV DNA  $>10^5$  kopya/mL ve devamlı veya aralıklı ALT veya AST yüksekliği ile tanı konur (4). HBV başlıca parenteral, cinsel temas, enfekte anneden yenidoğana bulaş (vertikal), horizontal yollarla bulaşır ve kronik HBV enfeksiyonu siroz, hepatoselüler karsinom (HCC) gibi komplikasyonlara yol açarak mortaliteye neden olabilir.

Kronik Hepatit B (KHB) hastalarında doğru zamanda, doğru hastaya, doğru tedavinin başlanması için karaciğerdeki fibrozis varlığının ve derecesinin tespit edilmesi önemlidir. Karaciğer biyopsisi, karaciğer fibrozis derecesinin tespit edilmesinde altın standarttır. Ancak, girişimsel işlem olması, komplikasyon riski taşınması, örneklem hatası, patolojik değerlendirmede farklılık olması ve hastalarda anksiyete oluşturması gibi olumsuz yönleri olan bir işlemdir. Birçok marker kullanılarak skorlama sistemleri geliştirilmiş (FİB-4 skoru, APRI skoru vb.), ancak bu skorlama sistemlerinin sensitivite ve spesifitesi sınırlı kalmakta, tedavi planı ve takibi için çoğu kez karaciğer biyopsisi gerekmektedir. Fibrozis evrelemesinde karaciğer biyopsisi gerekliliğini azaltacak yeni yöntem ve tetkiklere ihtiyaç bulunmaktadır.

Klotho proteinleri, alfa Klotho ve beta Klotho, FGF19, FGF21 ve FGF23'ün konjuge fibroblast büyüme faktörü (FGF) reseptörlerine (FGFR'ler) yüksek afiniteli

bağlanması için gerekli olduklarından endokrin FGF reseptör komplekslerinin temel bileşenleridir. Bu proteinler, memelilerdeki çoklu metabolik işlemleri yöneten benzersiz bir endokrin sistemi oluşturur (5). Alfa klotho, FGF23 için ortak reseptör olarak görev yapan bir transmembran proteindir. Alfa klotho, kendisi tarafından bir hormon olarak işlev gören proteinin çözünebilir formunu (soluble klotho) üreten, membran nükleozit proteazları [diğer faktörlerin yanı sıra tümör nekroz faktörü (TNF)-alfa] tarafından aktive edilebilir. Hücreler içine kalsiyum geçişini modüle eder, IGF-1/İnsülin sinyalini zayıflatar, antioksidanların sentezini teşvik eder, genellikle tümör ilerlemesini yavaşlatır, hücre yaşlanmasını geciktirir, nöroprotektiftir, oligodendrosit olgunlaşmasını, miyelin sentezini ve kas gençleşmesini destekler (6). Alfa klothonun çözünebilir formu, FGF-23'ün kalsiyum, fosfat ve potasyum metabolizması üzerine bağımsız etkilerinin yanı sıra, güçlü antioksidan etkileri gösterir, kendi başına bir hormon gibi davranabilir. Sadece kemik-mineral metabolizmasında değil, aynı zamanda anti-inflamatuvar yanıtta rol oynayan ana mekanizmadır.

Çalışmalarda, alfa klothonun oksidatif stresin meydana getirdiği etkileri azalttığı gösterilmiştir (7). Bu sayede oksidatif stresin meydana getirdiği hasar ile ilişkili inflamasyonu azaltarak anti-inflamatuvar etkiler gösterir. Hsieh ve arkadaşları çalışmalarında, karaciğer ekstraktında bu antioksidan etkinliği göstermişlerdir (8). Ayrıca, alfa klotho; TNF-alfa, ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonunu azaltarak da anti-inflamatuvar etkiler göstermektedir (9). Alfa klotho TGF-beta tip 2 reseptörlerine bağlanarak karaciğer fibrogenezinde ve HCC gelişiminde önemli rol oynayabilmektedir (10).

Alkolik karaciğer sirozlu hastalarda yapılan bir çalışmada, CHILD skoru yüksek olanlarda alfa klotho seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Bir başka çalışmada da yine alfa klotho seviyeleri karaciğer fonksiyon bozukluğu ile doğrudan ilişkili olarak saptanmıştır. Alfa klothonun bu anti-inflamatuvar etkinliğinin inflamatuvar mediatörlerin muhtemelen bir anti-inflamatuvar ajan görevi gören alfa klotho sekresyonunu artırması ile ortaya çıktığı düşünülmektedir (11).

İnflamatuvar durumlarda artmış klotho, karşı-düzenleyici işlevler gösterebilir. Rekombinant klotho uygulanması ile tedavi edilen farelerin multiorgan hasarını

iyileştirdiği görülmüştür. Klotho tarafından TNF-alfa'nın sentezi azaltılabilir; ve sirozlarda artmış klotho, bilinen bir fibrojenik promotör olan TGF-beta'nın profibrojenik etkisine karşı koruyucu olabilir.

Son araştırmalar, alfa klothonun anti-inflamatuvar özelliklere sahip ve antioksidan sistemde önemli oranda etkin bir hormon olduğunu göstermiştir (12).

Artan kanıtlar, FGF-Klotho endokrin sisteminin, karaciğer hastalıkları, diyabet, kanser, arteriyoskleroz ve kronik böbrek hastalığı gibi yaşlanma ile ilişkili hastalıkların patofizyolojisinde de önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bu nedenle, FGF-Klotho endokrin eksenlerini hedef almak, birçok organ sisteminin tedavisinde yarar gösterecek mekanizmaların anlaşılmasında fayda sağlayabilir (5).

Bizim araştırmalarımıza göre, literatürde kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda karaciğerdeki fibrozis ile alfa klotho düzeyi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır. Amacımız; kronik HBV enfeksiyonu bulunan hastalarda serum alfa klotho düzeyi ile karaciğerde fibrozis varlığı ve fibrozis evresi arasında ilişki olup olmadığını göstermek, karaciğer biyopsisine alternatif olarak kullanılabilir bir belirteç olup olmadığını anlaşılmasını sağlamaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. HEPATİT

Hepatit karaciğer iltihabıdır, kendini sınırlayabilir veya fibrozis (skarlaşma), siroz veya karaciğer kanserine kadar ilerleyebilir. Hepatitin en sık nedeni hepatit virüsleridir, daha az sıklıkla enfeksiyonlar, toksik maddeler (alkol, bazı ilaçlar vs.) ve otoimmün hastalıklar da hepatite neden olabilir (13). Hastalığın seyrine göre akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılır. Kronik hepatit, farklı seviyelerde karaciğerde inflamasyon ve nekrozun 6 aydan uzun sürdüğü, çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan karaciğer hastalığını tanımlar (14). Akut hepatitte klinik tablo 6 aydan kısadır.

#### 2.1.1. Viral Hepatitler

Viral hepatit ön planda karaciğere tesir eden sistemik bir enfeksiyondur. Çoğunlukla akut veya kronik viral hepatit vakaları beş virüsten birine bağlıdır; HBV, hepatit C virüsü (HCV), hepatit A virüsü (HAV), HBV ile ilişkili delta ajanı veya hepatit D virüsü (HDV) ve hepatit E virüsü (HEV). Transfüzyonla geçen “TT” virüsü ve “hepatit G” virüsü gibi başka virüsler de saptanmıştır, fakat hepatit yapmazlar. DNA virüsü olan HBV dışındaki hepatit virüsleri RNA virüsleridir. Bu virüsler benzer olarak; asemptomatik hastalıktan fulminan hepatite kadar çeşitli klinik tablolara yol açarlar. Ancak, daha çok parenteral yolla geçen tiplerde (HBV, HCV, HDV) ortak olan subklinik persistan enfeksiyondan, sirozla ve hatta HCC ile birlikte hızlı progrese olan kronik karaciğer hastalığına neden olabilmeleridir (15).

Herpes simpleks virüsü, Epstein-Barr virüsü (EBV), suçiçeği-zoster virüsü, enterovirüsler, adenovirüsler, sarı humma virüsü, kabakulak, kızamıkçık ve rubeola enfeksiyonlarında sistemik enfeksiyonların bir parçası olarak zaman zaman karaciğer tutulumu da görülebilir, ancak bu virüsler primer karaciğeri etkileyen enfeksiyonlara neden olmaz (16).

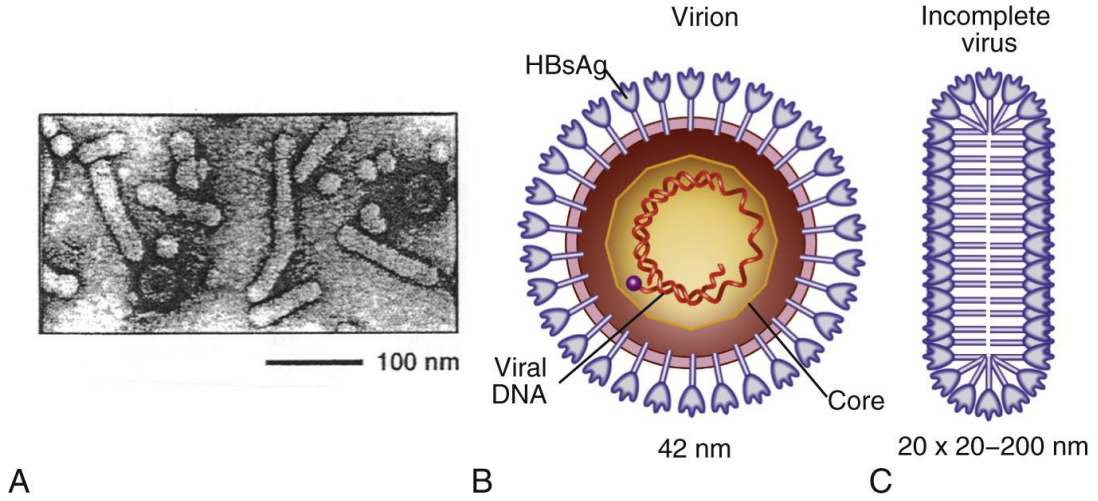
## **2.2. HEPATİT B VİRÜSÜ**

### **2.2.1. Hepatit B Virüsünün Tarihçesi**

Hepatit B, 82 milyon yıllık geçmişi olan bir virüstür (17). 20. yüzyılın başlarında, kontamine şırıngaların ve iğnelerin, insülin kullanan diyabet tedavisi gören hastalar tarafından artan kullanımı, hepatit B bulaşının önemini artırdı. Hepatit B virüs antijeni Avusturalya'lı bir hastada 1963 senesinde tespit edilmiş ve Avusturalya antijeni olarak isimlendirilmiş, sonraki yıllarda HBsAg olarak tanımlanmıştır. Virüsün genomik yapısı araştırılmaya devam edilmiş; 1970 yılında enfektif etkisi olan "Dane partikülü" tanımlanmıştır (18). Ülkemizde kan ürünlerinin Hepatit B açısından taranması, 1998 yılında Hepatit B aşısının rutin uygulamaya girmesiyle Hepatit B enfeksiyon profilaksisinde önemli yol alınmış; son yıllarda virüsün tanı ve tedavisinde önemli gelişmeler olmuştur.

### **2.2.2. Hepatit B Virüsünün Yapısı**

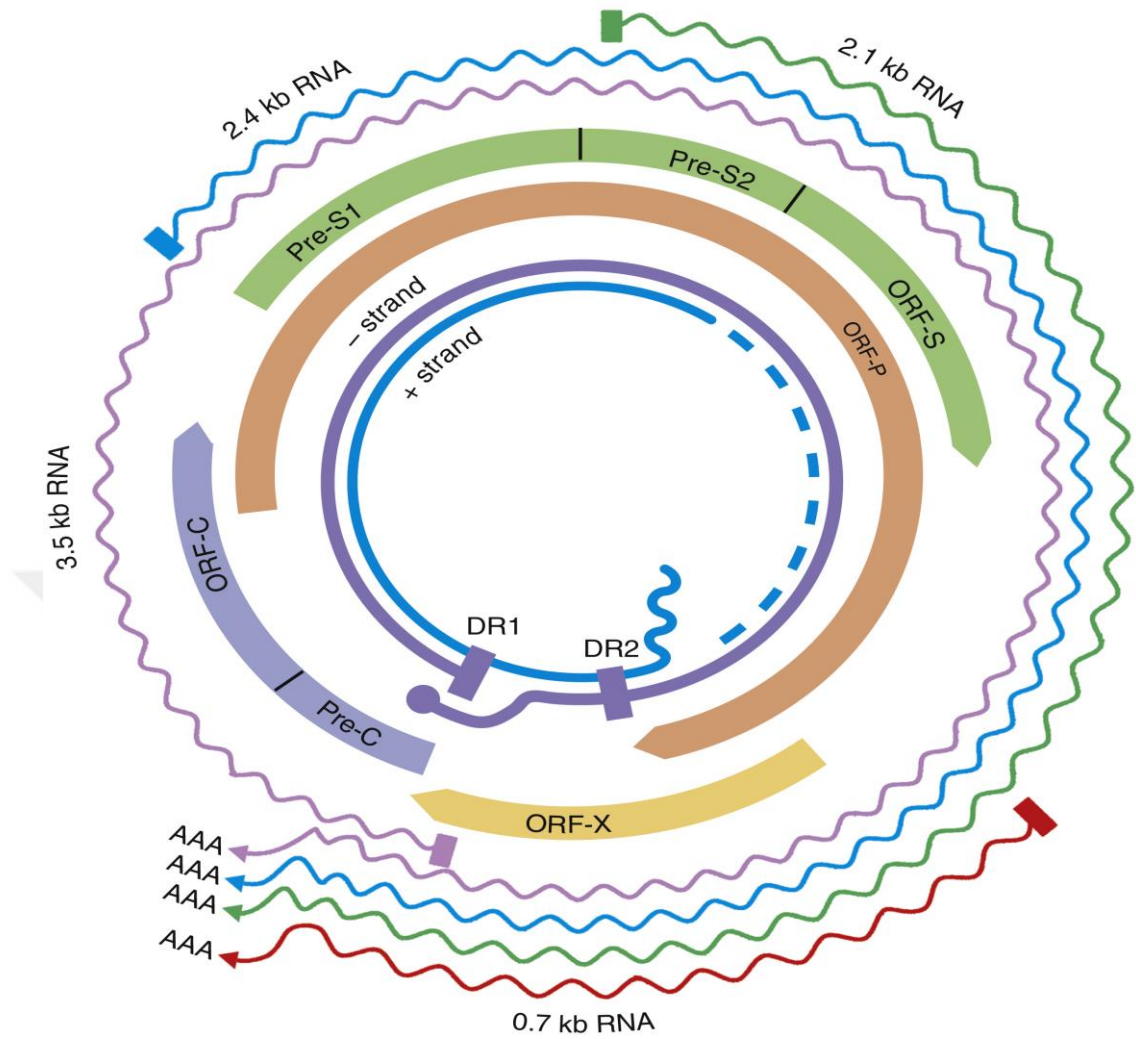
Hepatit B virüsü, Hepadnaviridae ailesine ait 3200 nükleotidden oluşan kısmen çift sarmallı DNA genomu olan dairesel bir yapıda tutulan küçük bir DNA virüsüdür (19). HBV enfeksiyonunun benzersiz özelliklerinden biri, enfektif özelliği olan tam virüs partiküllerine ek olarak HBV DNA'sı bulunmayan ve dolayısıyla enfeksiyöz olmayan büyük miktarlarda subviral küresel ve ipliksi HBsAg partiküllerinin bulunmasıdır. Elektron mikroskobu altında, tam virüs (Dane) partikülleri için 42 nm'lik bir çap ve subviral partiküller için 22 nm'lik küresel ve ipliksi yapılar ile ayırt edilir. HBsAg, viral DNA genomunu ve virüs tarafından kodlanmış polimeraz proteinini içeren bir çekirdek kabuğunu çevreleyen lipoprotein zarfının viral bileşenini oluşturur (20) (Şekil 2.1). Yüksek immünojenisite nedeniyle saflaştırılmış HBsAg partikülleri, bir HBV aşısı olarak kullanılabilir. HBsAg, yeniden enfeksiyona karşı koruma sağlayan nötralize edici antikoları ortaya çıkarır (21). Doğal enfeksiyon sırasında hastalarda yüksek HBsAg titreleri, potansiyel olarak nötralize edici antikoru etkisiz hale getirebilir veya T hücresi tükenmesini sağlayarak virüsü konak savunmalarından korur (22).



**Şekil 2.1. Hepatit B virüsü ve hepatit B yüzey antijeni partiküllerinin yapısı (20)**  
 (A) Negatif boyanmış HBV'nin elektron mikrografı (B) Tam pozitif sarmalın 5 'ucunda kovalent olarak bağlanmış bir protein ile kısmen çift yönlü DNA genomunu gösteren 42-nm HBV diyagramı (C) 22 nm HBsAg filamentinin diyagramı (20)

Hepatit B virüs DNA genomu, birkaç genin üst üste geldiği ve farklı viral proteinleri kodlamak için aynı DNA'yı kullandığı kompakt bir tasarımı olan 4 açık okuma çerçevesinden (ORF) oluşur. Dört viral gen komponenti; *core*, *surface*, *X* ve polimeraz genlerini içerir (Şekil 2.2).

1. *Core* geni: HBeAg'nin viral paketlenmesi ve üretiminde önemli olan çekirdek nükleokapsid proteinini kodlar.
2. *Surface* geni: S, Pre-S1 ve Pre-S2 proteinlerini kodlar.
3. *X* geni: Transaktive edici özelliklere sahip olan ve hepatik karsinogenezde önemli olabilen X proteinini kodlar.
4. Polimeraz geni: Yaklaşık 800 amino asit içeren büyük bir ORF'ye sahiptir ve ORF yüzeyinin tüm uzunluğu boyunca örtüşür. DNA polimerazın sentezinde görev alır.

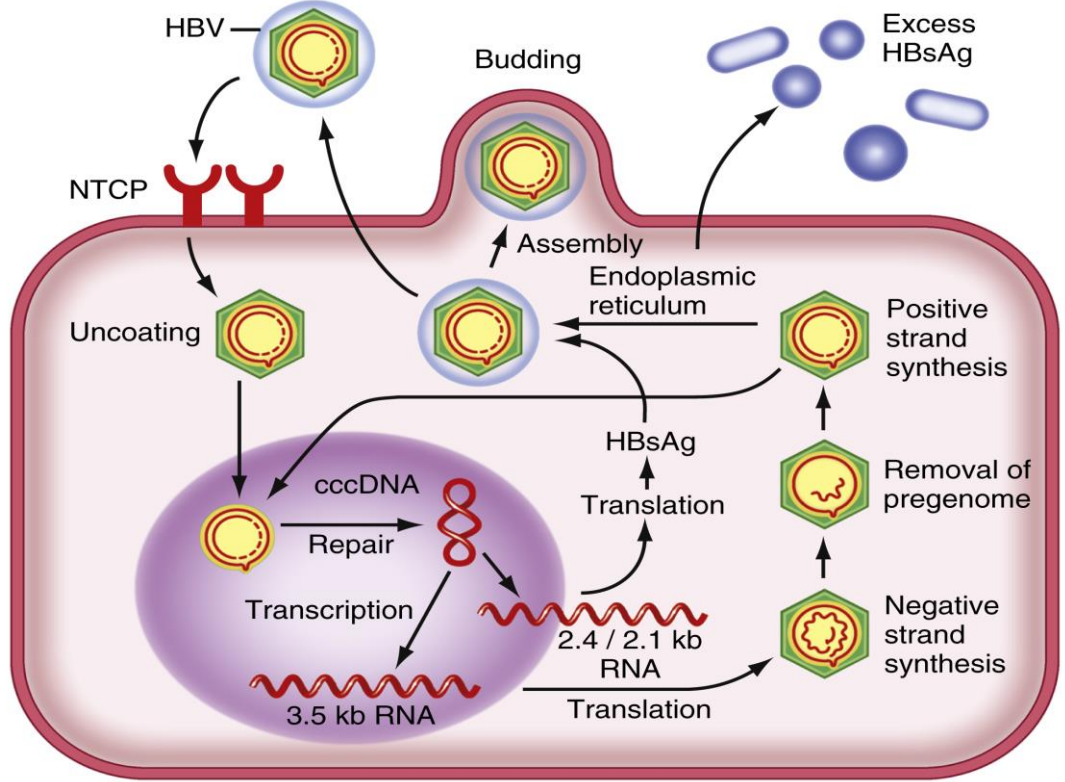


**Şekil 2.2. HBV'nin moleküler yapısı ve organizasyonu (23)**

Viral genomun üst üste gelen ORF'lerine ve büyük kopyalarına dikkat edin (dalgalı çizgiler). Genom, 4 örtüşen ORF veya gen ile kısmen çift sarmallıdır. S geni; pre-S1, pre-S2 ve S bölgelerinden oluşan viral yüzey zarf proteinini (hepatit B yüzey antijeni, HBsAg) kodlar. Core gen (C), sırasıyla HBeAg ve core protein oluşturan precore (pre-C) ve core bölgelerden oluşur. Polimeraz (P) geni tüm S geniyle örtüşür ve bu bölgedeki mutasyonlar teorik olarak HBsAg proteininde HBsAg'ye karşı antikor tarafından nötralizasyonu etkileyen değişikliklere neden olabilir. Dördüncü gen (X), tam olarak anlaşılmamış bir protein olan hepatit B, X proteini (HBX) kodlar. AAA, RNA'nın 3' ucunda poliadenozin kuyruğunu ifade eder. İki 11 baz çifti (DR1 ve DR2) viral replikasyon sırasında ipliğe özgü HBV DNA sentezi için gereklidir (23).

### 2.2.3. Viral Replikasyon

Hepatit B virüsü bir DNA virüsü olmasına rağmen, replikasyon bir RNA ara ürünü aracılığıyla gerçekleşir ve aktif bir viral reverse transkriptaz/polimeraz enzimi gerektirir (23) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. HBV'nin yaşam döngüsü (23)

Viral giriş için reseptör tanımlanmamıştır, ancak çalışmalar, NTCP'nin (*sodium taurocholate cotransporting polypeptide*), HBsAg'yi bağlamak için reseptör olma olasılığının yüksek olduğunu ileri sürmüştür. Hepatositin içine girdikten sonra, virüs kapsidinden ayrılır (*uncoating*) ve HBV genomu çekirdeğe girer, ardından tek sarmallı DNA sarmalının onarımı ve kovalent olarak kapalı dairesel (ccc) DNA şablonunun oluşumu izler. Viral transkriptler, HBsAg, DNA polimeraz, X proteini ve RNA pregenomu için oluşturulur; pregenom ve polimeraz olgunlaşan nükleokapside dahil edilir ve translasyondan sonra çıkarılır. Yüzey protein zarflama süreci endoplazmik retikulumda gerçekleşir. Bazı zarfsız nükleokapsidler çekirdeğe geri

döner ve döngü yeniden başlar. HBsAg'nin tübüler ve sferik formları büyük oranda salgılanır (24).

#### 2.2.4. Genotipler ve Mutasyonlar

Genotip sınıflandırmaları, HBV genomik dizisinin tamamında %8 veya daha fazla farka göre kategorize edilir. Ülkemizde baskın olan HBV genotip D'dir (25). Klinik ilişkiler çeşitli genotiplerde mevcuttur. Örneğin; HBeAg serokonversiyonu, HBV genotip B'li hastalarda genotip C'ye göre daha erken meydana gelir ve daha yüksek HBsAg serokonversiyonu olasılığı mevcuttur. İnterferon (IFN) ile tedaviye yanıt, genotip C ve D'de, A ve B'den daha kötüdür. *Precore/core promoter* mutant frekansı genotip B ve D'de, A ve C'den daha fazladır. Aktif karaciğer hastalığı aktivitesi ve ilerleme riski genotip C'de genotip B'den daha fazladır. Kronik karaciğer hastalığına dönüşüm riski A dışı genotiplerde, genotip A'ya göre daha fazladır. HCC riski, Tayvan'da genç yaş grubunda genotip B'de genotip C'den daha fazla iken, Japonya'daki daha ileri yaşlarda genotip C'de genotip B'den daha fazladır (23) (Tablo 2.1).

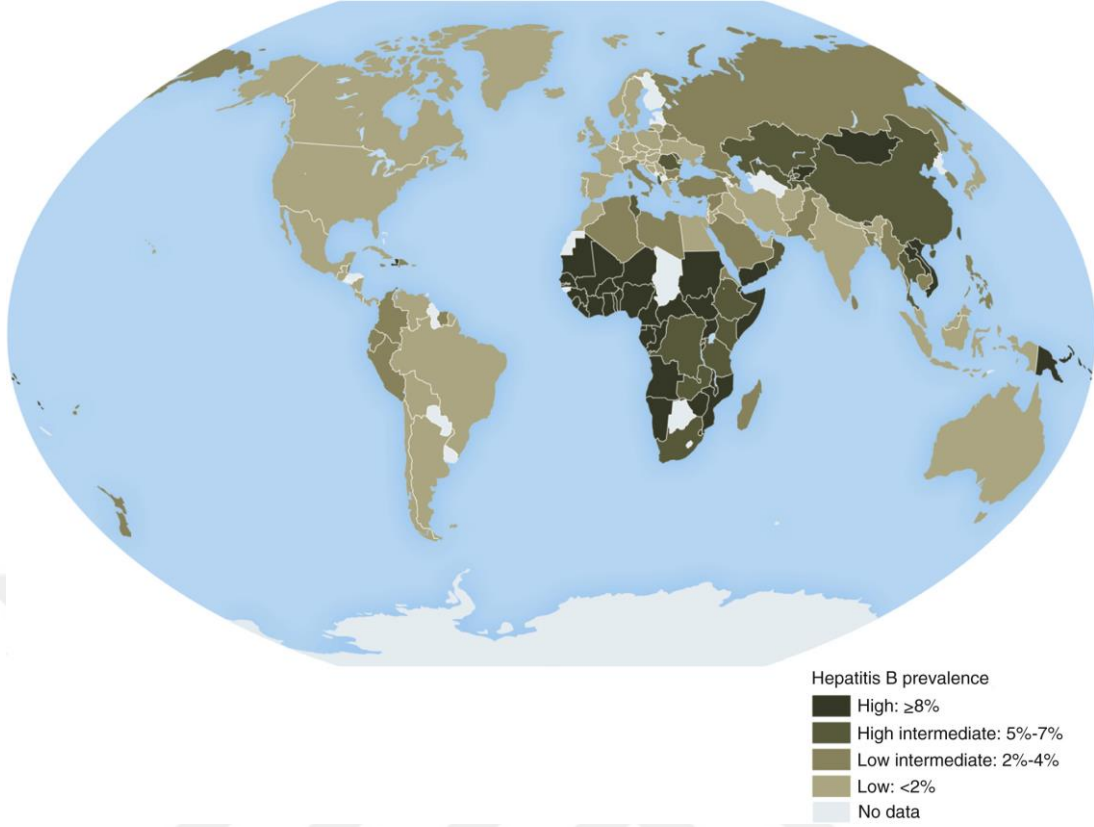
**Tablo 2.1. HBV genotiplerinin coğrafik dağılımı (A-J) (23)**

|           |  |
|-----------|--|
| Genotip A | Orta Afrika , Kuzey Amerika ,Kuzeybatı Avrupa                                    |
| Genotip B | Japonya ve Tayvan dahil Güneydoğu Asya (yaygınlık Kuzey Amerika'da artıyor), Çin |
| Genotip C | Güneydoğu Asya (Kuzey Amerika'da yaygınlık artıyor)                              |
| Genotip D | Hindistan, Orta Doğu, Güney Avrupa   |
| Genotip E | Batı Afrika  |
| Genotip F | ABD (Yerli Amerikalılar), Polinezya, Orta ve Güney Amerika                       |
| Genotip G | Almanya, Fransa, ABD   |
| Genotip H | Güney ve Orta Amerika  |
| Genotip I | Laos ve Vietnam  |
| Genotip J | Japonya, Ryukyu  |

Hepatit B virüsü genomundaki, nükleotid sekanslarında tanımlanan çoğu mutasyon sessizdir veya belirli bir ORF'deki amino asit sekansını değiştirmez; bununla birlikte, bazı mutasyonların potansiyel olarak önemli hastalık ilişkileri vardır (23).

### **2.2.5. Epidemiyoloji ve Bulaş Yolları**

Dünya nüfusunun yaklaşık %3,6'sı ( $\approx 257$  milyon kişi) kronik olarak HBV ile enfektedir ve yılda 800.000'den fazla HBV nedeniyle ölüm meydana gelmektedir (1). Kronik HBV ile yaşayan en çok sayıda insan Batı Pasifik bölgesinde (>95 milyon) ve Afrika'da (>75 milyon) yaşamaktadır (26) (Şekil 2.4). Tipik olarak düşük prevalans bölgesi olarak kabul edilen Avrupa'nın bazı bölgelerinde, HBV yaygınlığı orta/yüksek olan ülkelere göç eden kişilerde yüksek HBV yaygınlık oranları gözlemlenmiştir (27). Uyuşturucu kullananlar, homoseksüeller ve HIV ile enfekte hastalar gibi belirli hasta gruplarında, genel popülasyondan önemli ölçüde daha yüksek oranda kronik HBV enfeksiyonu olduğu gösterilmiştir (28). Kronik enfeksiyon riski, enfeksiyon kapma yaşıyla ters orantılıdır. Seroprevalansın yüksek olduğu bölgelerde, HBV'nin perinatal olarak edinilmesi daha olasıdır ve buna eşlik eden yüksek kronik enfeksiyon riski %90'dır. 6 ay ile 5 yaş arasında edinilen enfeksiyonlar için kronik enfeksiyon riski %20 ile %60 arasındadır ve bağışıklığı yeterli yetişkinler tarafından edinilen enfeksiyonlar için risk yaklaşık %5'tir (29).



**Şekil 2.4. HBsAg pozitifliğinin küresel prevalansı (26)**

Türkiye’de hepatit B yaygınlığı %2-8 arasındadır. Siroz hastalarında HBsAg yaygınlığı %64, HCC hastalarında HBsAg yaygınlığı ise %54 olarak belirtilmiştir. Avrupa’da hepatit B prevalansının en fazla olduğu ülkelerden biri Türkiye’dir. Ülkemizde hepatit B prevalansı doğudan batıya gittikçe azalmaktadır (30).

Hepatit B, özellikle hastalığın akut aşamasında kanda yüksek titreye ( $10^8$ -  $10^9$  virion/ml) ulaşır. Enfekte kana parenteral veya mukozal maruziyet, hepatit B'nin edinilmesi için potansiyel bir risk oluşturur ve iğneye maruziyet sonrasında bulaş açısından HIV ile karşılaştırıldığında HBV 100 kat daha bulaşıcıdır (31). HBV ayrıca meni, tükürük, servikal sekresyonlar ve gözyaşları dahil olmak üzere diğer vücut sıvılarında çeşitli derecelerde bulunur ve cansız yüzeylerde 7 güne kadar hayatta kalabilir (32). HBV, idrarda, terde veya dışkıda bulunmaz. HBV'nin tipik bulaşma şekli, enfeksiyon prevalansına göre kısmen değişir. Yüksek ve orta endemik bölgelerde bulaş baskın olarak çocukluk döneminde perinatal veya horizontal şekilde

meydana gelir. Düşük endemik bölgelerde bulaş sıklıkla, uyuşturucu kullanımı ve yüksek riskli cinsel davranışlar yoluyla gerçekleşir (20). Hepatit B Virüsü, perinatal (enfekte anneden yenidoğana, vertikal), cinsel temas, perkutan (kan veya vücut salgılarıyla) ve horizontal (enfekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temasla) olmak üzere 4 temel şekilde bulaşmaktadır (33). HBV'nin sağlık uygulamaları sırasında bulaşı "nozokomiyal bulaş" olarak tanımlanmıştır.

**Tablo 2.2. Hepatit B'nin küresel seroprevalans oranları ve bulaşma yolları (20)**

| PREVALANS          | YÜKSEK   | ORTA DÜZEY   | DÜŞÜK   |
|--------------------|--|--|---|
| Taşıyıcı oranı (%) | ≥8   | 2–7.99   | <2  |
| Dağılım            | Alaska<br>Eskimoları, Sahra<br>altı Afrika,<br>Somali,<br>Yemen, Cibuti<br>Haiti, Kırgızistan,<br>Papua<br>Yeni Gine,<br>Solomon Adaları,<br>Nauru,<br>Vietnam | Kırgızistan hariç<br>Doğu ve Güney<br>Avrupa,<br>Doğu Akdeniz,<br>Avustralya hariç<br>Batı Pasifik bölgesi,<br>Japonya, Papua<br>Yeni Gine, Vietnam,<br>Nepal ve Hindistan<br>hariç<br>Güneydoğu ve Orta<br>Asya | Amerika Birleşik<br>Devletleri,<br>Kanada, Batı<br>Avrupa,<br>Avustralya,<br>Meksika; Peru,<br>Surinam,<br>Columbia ve<br>Belize hariç<br>Güney ve Orta<br>Amerika, Nepal,<br>Hindistan,<br>Japonya |
| Enfeksiyon yaşı    | Perinatal ve erken<br>çocukluk   | Çocukluk   | Yetişkin  |
| Bulaş şekli        | Maternal, perinatal  | Perkutan, horizontal   | Cinsel, perkütan  |

### 2.2.6. Patogenez

Hepatit B virüsü genellikle bir sitopatik virüs değildir ve HBV ile ilişkili karaciğer hastalığının ciddiyetinin, virüse verilen konakçı immünolojik yanıtın yoğunluğu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Virüsün temizlenmesi ve yeniden enfeksiyona karşı uzun vadeli koruma için hem hücresel hem de humoral immün yanıtı ihtiyaç duyulsa da, esas olarak hastalığın patogeneğinde hücresel immün yanıtın olduğu düşünülmektedir. HBV 'ye verilen immünolojik yanıt, hem doğuştan gelen hem de antijene özgü olmayan yanıtı kapsar (örn, NK'ler ve IFN'ler) (34) ve viral antijenlere, HLA class II CD4(+) T hücrelerine ve HLA class I CD8(+) CTL'ye (sitotoksik T lenfosit) karşı antikorlar dahil olmak üzere uyarlanabilir bir immün yanıtı kapsar (35). Antijene özgü T hücre yanıt indüksiyonunun, konakçı T hücrelerinin dendritik hücreler, B hücreleri ve makrofajlar gibi antijen sunan hücreler tarafından sunulan viral peptit antijenleriyle (veya epitoplarla) karşılaştığı lenfoid organlarda meydana geldiği düşünülmektedir (36). Bu süreç, viral epitoplara özgü T hücrelerinin olgunlaşması ve genişlemesi ile sonuçlanır ve bunu, efektör işlevlerini gerçekleştirdikleri karaciğere göçleri izler. Akut HBV enfeksiyonu sırasında HBV, logaritmik bir replikasyon aşamasına ulaşıncaya kadar klinik olarak karaciğerde inflamasyona neden olmadan karaciğere yayılır (37). Bu noktada, HBV 'ye özgü T hücreleri saptanabilir ve çoğu HBV DNA molekülü, karaciğere nüfuz eden HBV 'ye özgü CD8(+) hücreleri tarafından salınan sitokinlerin aracılık ettiği sitopatik olmayan mekanizmalar yoluyla karaciğerden temizlenir (38). Hücre aracılı immün yanıtlar, kendi kendini sınırlayan enfeksiyonda etkilidir, çünkü yanıtlar kuvvetlidir, multispesifiktir ve tip1 T helper hücrelerinin işlevlerine yöneliktir. Bunun aksine, kronik HBV enfeksiyonu olan kişiler, HBV'yi enfekte hepatositlerden temizlemede başarısız olan seyrek ve zayıf biçimde HBV'ye özgü T hücre yanıtları sergiler (39). Kronik hepatit B'de, herhangi bir zamanda hastaların karaciğer infiltratlarındaki mononükleer hücrelerin çoğu antijene özgü değildir (40). CD8(+) CTL'ler, HBV nin vücuttan temizlenmesinde primer mediatördür (41) ve HBV'ye özgü T hücrelerinin fazla sayıda olması, kronik olarak enfekte hastalarda HBV replikasyonunun daha iyi kontrolünü sağlar (42). Bununla birlikte, CD8(+) CTL'lerin antiviral işlevi, hepatit sırasında gözlemlenen spesifik olmayan mononükleer inflamatuvar infiltratları harekete geçiren kemokinleri indükleyerek immüнопatolojiye de katkıda bulunabilir (43). Hedeflenen hepatositlerin CD8 + CTL'ler tarafından tanınmak için, viral

epitopları, endojen olarak işlenmiş ve sınıf I MHC moleküllerinin peptit bağlama bölgesine uyan kısa peptitler olarak sunulmalıdır (44). CTL T-hücresi reseptörünün hepatosit yüzeyindeki peptid-MHC kompleksine bağlanması, daha sonra enfekte olmuş hücrenin doğrudan öldürülmesine ve aktive CTL tarafından güçlü antiviral sitokinlerin salınmasına neden olabilir. Hepatositler MHC-I eksprese etmelerine rağmen, MHC-II eksprese ettiklerine veya doğrudan MHC class II CD4 + yardımcı T hücreleri tarafından tanındığına dair çok az kanıt vardır. CD4 + T hücresi aktivasyonu, lenfoid dokularda veya dendritik hücreler, Kupffer hücreleri ve endotel hücreleri gibi karaciğerde yerleşik antijen sunan hücrelerde meydana gelebilen *class* II MHC molekülleri için viral peptitlerin uygun sunumunu gerektirir. CD4 + hücreleri, antiviral sitokinler üretir ve nötralizan antikor üretiminin uyarılmasına yardımcı olur. Antikor nötralizasyonu, primer enfeksiyon sırasında virüsün intrahepatik yayılmasını sınırlar ve yeniden enfeksiyonun önlenmesinde önemli bir rol oynar (23).

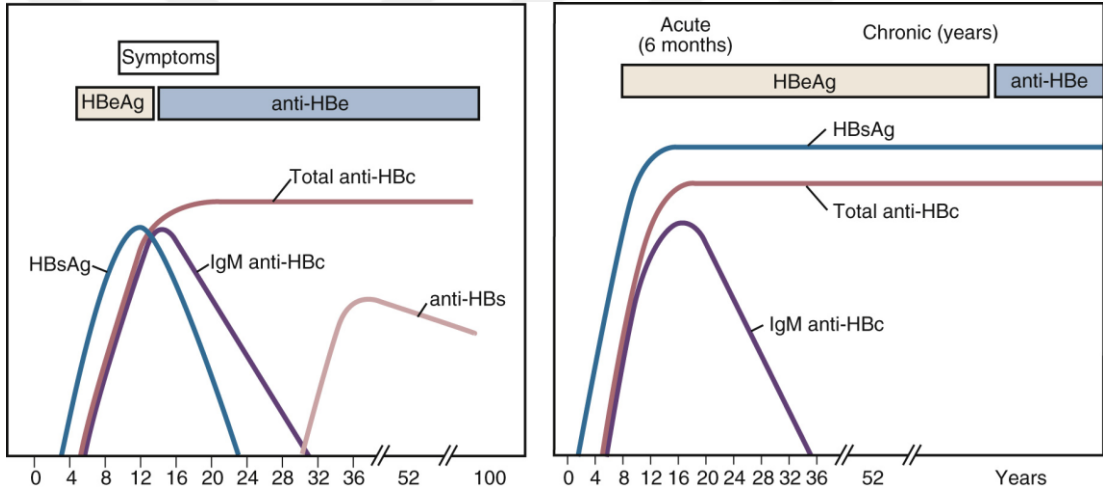
Belirli genetik polimorfizmlere ve insan lökosit antijeni (HLA) alellerine sahip kişiler, kronik enfeksiyona daha duyarlı görünmekte ve bazı HLA-DP allelleri, akut HBV enfeksiyonundan iyileşme ile ilişkilendirilmiştir (45). Bununla birlikte HBV ile karşılaşma yaşı, viral yük ve virüsün genotipi de kronikleşmeyi etkileyen faktörlerdendir (23). HBV enfeksiyonuna karşı immün cevap yetersiz olursa tekrarlayan enflamasyonun kronikleşmesi sonucunda karaciğerde zamanla fibroz, siroz veya hepatoselüler karsinom gelişimi meydana gelebilir (46).

## **2.2.7. Hepatit B Enfeksiyonu ve Klinik**

### **2.2.7.1. Akut HBV enfeksiyonu**

İnkübasyon süresi genellikle 3 aydır, ancak 6 hafta ile 6 ay arasında değişir. Akut HBV enfeksiyonunun klinik özellikleri yaşa bağlıdır. 5 yaşın altındaki çocukların çoğu ve yeni enfekte olmuş immünespresif yetişkinler genellikle asemptomatiktir, oysa 5 yaş ve üstü kişilerin % 30-50'sinde belirti ve semptomlar vardır. Enfeksiyon asemptomatik klinikten mide bulantısı, kusma, karın ağrısı, ateş, koyu renkli idrar, kil renkli dışkı, hepatomegali, splenomegali ve sarılık gibi farklı belirtilere yol açabilir. Halsizlik ve iştahsızlık şikayetleri, sarılıktan 1 ila 2 hafta önce meydana gelir. Fulminan HBV enfeksiyonu nadirdir (<% 1) ancak sıklıkla ölüm veya

karaciğer yetmezliği ile sonuçlanabildiği için karaciğer transplantasyonu gerektirir. Yorgunluk ve halsizlik şikayetleri genellikle birkaç hafta veya ay içinde kademeli olarak geriler. Sekelsiz iyileşme bebeklerin %90 ila %95'inde, horizontal geçişin olduğu yetişkinlerin %80-8'inde görülür ve mortalite %2'nin altındadır. Fulminan hepatit, bebeklerin %1-2'sinde, yetişkinlerin %1'inde ortaya çıkabilir. HDV ile koenfeksiyon, akut HBV enfeksiyonunun daha şiddetli klinik seyrine neden olabilir (47). Akut hepatit B sonrası iyileşen hastalar genellikle enfeksiyon açısından tedavi edilmez, çünkü hastaların büyük çoğunluğu, klinik iyileşmeden yıllar sonra polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tespit edilebilecek HBV DNA'sına sahip olacaktır (48). HIV, kemoterapi veya kemik iliği nakli gibi immünsupresif durumlar olmadığı sürece genellikle hastalıktan ömür boyu korunurlar (49) (Şekil 2.5).



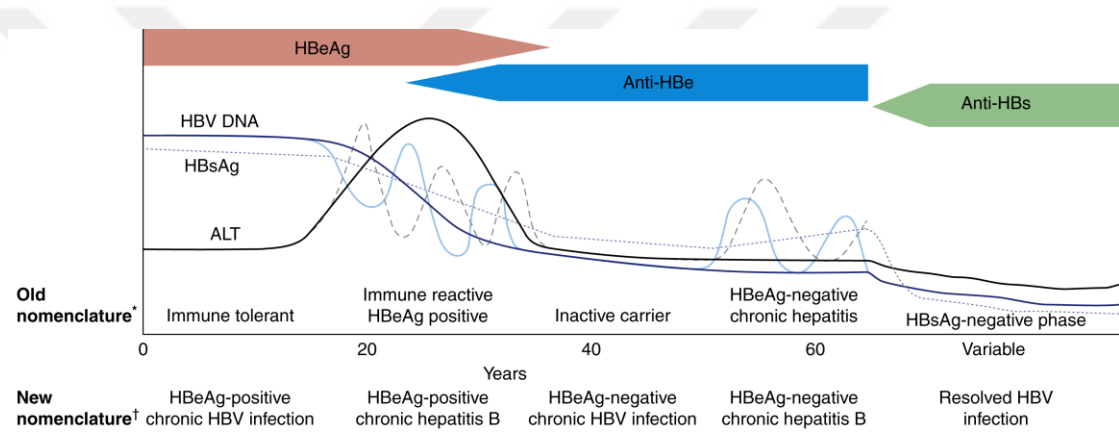
**Şekil 2.5. Tipik hepatit B seyri (Sol, Akut hepatit B; Sağ, Kronik hepatit B) (20)**

### 2.2.7.2. Kronik HBV enfeksiyonu

Kronik HBV enfeksiyonu, HBsAg'nin serumda en az 6 ay pozitif saptanması olarak tanımlanır. Hiçbir semptom olmayabilir veya kronik aktif hepatit ve siroza neden olabilir. Siroza ilerleme olursa spider nevüslere, asit, koagülopati ve özofagus varislerine yol açabilir. Kronik HBV taşıyıcılarının, HCC gelişme riski vardır. Kronik HBV enfeksiyonu teşhisi konan hastaların ALT, AFP, HBeAg, anti-HBe ve karaciğer ultrason ile değerlendirilmesi yapılmalıdır. ALT normalse, alfa fetoprotein 10 ng/mL'nin altındaysa ve aile öyküsü negatifse, 3-6 ay aralıklarla ALT ve DNA; 6-

12 ay aralıklarla HBeAg şeklinde periyodik takip önerilir. Anti-HBe antikorunun gelişimi, iyi bir prognostik işaretir ve HBsAg'nin rezolüsyonundan önce ortaya çıkabilir. Hastalığın evresini değerlendirmek için karaciğer biyopsisi düşünülebilir (47). HBV ile ilişkili kompanse sirozlu hastaların yaklaşık %2-5'i her yıl dekompanse siroza ilerler. Dekompansasyon zamanla ortaya çıkabilir veya hepatit alevlenmelerinden kaynaklanabilir (50).

Kronik hepatit B'nin beş fazı tanımlanmıştır. Bu ardışık fazlar, yaşamın erken dönemlerinde kronik hepatit B'si olan hastalarda daha belirgindir. Yeni isimlendirme, kronikliğin 2 ana özelliğinin tanımına dayanmaktadır: Enfeksiyon (inflamasyon yok) ve hepatit (inflamasyon) (51) (Şekil 2.6).



A

|                        | HBeAg-positive        |                                | HBeAg-negative              |                                  | HBsAg-negative         |
|------------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|------------------------|
|                        | Chronic HBV infection | Chronic hepatitis B            | Chronic HBV infection       | Chronic hepatitis B              | Resolved HBV infection |
| <b>HBsAg</b>           | High                  | High/intermediate              | Low                         | Intermediate                     | Negative               |
| <b>HBV DNA</b>         | $\geq 10^7$ IU/mL     | $10^4$ - $10^7$ IU/mL          | $< 2000$ IU/mL <sup>‡</sup> | $\geq 2000$ IU/mL                | Undetectable           |
| <b>ALT</b>             | Normal                | Elevated                       | Normal                      | Elevated <sup>§</sup>            | Normal                 |
| <b>Liver disease</b>   | None/minimal          | Moderate/severe                | None                        | Moderate/severe                  | None                   |
| <b>Old terminology</b> | Immune tolerant       | Immune reactive HBeAg positive | Inactive carrier            | HBeAg-negative chronic hepatitis | HBsAg-negative phase   |

B

**Şekil 2.6. Kronik HBV enfeksiyonu fazları ve yeni adlandırma (23)**

Özellikle yaşamın erken dönemlerinde enfekte olan hastalarda ilk aşama HBeAg-pozitif kronik HBV enfeksiyonudur (önceden immün tolerans aşaması olarak biliniyordu). Yıllarca süren normal serum ALT ve yüksek HBV DNA seviyelerinden sonra, bu faz değişken süreli HBeAg-pozitif kronik hepatit B'ye (önceden immün reaktif faz olarak biliniyordu) dönüşür. Bu aşamada, aktif viral replikasyon (yüksek serum HBV DNA seviyeleri) ve inflamasyon (yüksek serum

ALT seviyeleri) ve antiviral tedavi için bir endikasyon vardır. Sonrasında hastalar, HBeAg-negatif kronik HBV enfeksiyonu fazına (daha önce inaktif taşıyıcı faz olarak biliniyordu) kendiliğinden veya terapötik olarak indüklenmiş, minimum hastalık aktivitesi ile girerler. HBeAg-negatif kronik hepatit B aşamasında serum ALT seviyeleri tipik olarak dalgalanır ve antiviral tedavi genellikle endikedir. HBsAg-negatif faz olan son fazda (daha önce de HBsAg-negatif faz olarak biliniyordu), serumda HBsAg negatifleşir; HBcAg'ye (anti-HBc) ve HBsAg'ye (anti-HBs) karşı antikorlar oluşabilir. Bu aşama, HBV enfeksiyonunun fonksiyonel tedavisi olarak kabul edilir. Hasta bu aşamaya girmemişse ve tedavi edilmemişse, sıklıkla geç hastalık komplikasyonları ortaya çıkar. HBV DNA seviyeleri, kronik hepatit belirtileri olmayan bazı hastalarda 2000 ile 20.000 IU/mL arasında olabilir (23, 51, 52).

**1. HBeAg-pozitif kronik HBV enfeksiyonu (immün tolerans):** HBeAg pozitifliği, yüksek HBV DNA seviyeleri ( $\geq 10^7$  IU/mL), düşük veya normal serum aminotransferaz seviyeleri ve karaciğerde minimal nekroinflamasyon veya fibrozis ile karakterizedir.

**2. HBeAg-pozitif kronik hepatit B (immün klirens):** Genellikle birkaç dekat HBV enfeksiyonundan sonra başlar ve yüksek serum aminotransferaz seviyeleri, HBeAg-pozitif kronik HBV enfeksiyonundan daha düşük HBV DNA seviyeleri ve kronik hepatitin histolojik kanıtı ile karakterizedir. Enfekte hepatositlerin CD8(+) CTL aracılı lizisinin meydana geldiği gösterilmiştir. Bu fazın süresi net değildir ama genelde yıllarca sürer. HBeAg serokonversiyonu (anti-HBe pozitifleşmesi ve HBeAg negatifleşmesi) meydana gelebilir.

**3. HBeAg-negatif kronik HBV enfeksiyonu (inaktif taşıyıcı durum):** HBeAg serokonversiyonu geçiren hastaların çoğunda ortaya çıkar. Bu faz, serum ALT'nin normalleşmesi ve düşük ( $< 2000$  IU/mL) veya saptanamayan serum HBV DNA seviyeleri ile karakterizedir.

**4. HBeAg-negatif kronik hepatit B (reaktivasyon):** Viral replikasyon üzerindeki immünolojik kontrol kaybı nedeniyle kendiliğinden ortaya çıkabilir veya immünosupresif ilaç tedavisine bağlı olabilen reaktivasyondan sonra gelişir. Reaktivasyon, yüksek seviyelerde HBV DNA'nın yeniden ortaya çıkması ve ALT

seviyelerinde artışla tanımlanır. Bu nedenle, HBeAg serokonversiyonu her zaman hastalığın sessiz fazda olduğunu göstermez.

**5. HBsAg-negatif faz:** ALT değeri normaldir ve HBV DNA saptanamaz. Kovalent olarak kapalı dairesel HBV DNA (cccDNA), karaciğerde hala tespit edilebilir (23).

Aktif hepatit fazları tedavi edilmezse, vakaların en az %20'sinde siroz gelişmesi beklenebilir. İleri yaş, erkek cinsiyet, başvuru sırasındaki fibrozis aşaması, devam eden HBV replikasyonu, HDV, HCV veya HIV ile kombine enfeksiyon ve alkol kullanımı siroz oluşumunu arttıran risk faktörleridir (23).

### 2.2.7.3. Hepatit B Virüsü Enfeksiyonunun Tanısı

Akut HBV enfeksiyonunda transaminaz ve bilirubin seviyelerinde yükseklik görülür. Tanı, HBV'ye özgü antijen ve antikorların kullanılmasıyla doğrulanır. HBeAg varlığı, akut veya kronik enfeksiyonu olanlarda artmış enfektivitenin bir göstergesidir (Tablo 2.3).

**Tablo 2.3. Hepatit B Enfeksiyonu İçin Antikor / Antijen Yorumlama (53)**

| KLİNİK               | HBsAg | Anti-HBs | Anti-HBc IgM | Total Anti-HBc | HBeAg | Anti-HBe |
|----------------------|-------|----------|--------------|----------------|-------|----------|
| Duyarlı              | -     | -        | -            | -              | -     | -        |
| Aşılanmış            | -     | +        | -            | -              | -     | -        |
| Akut enfeksiyon      | +     | -        | +            | +              | +     | -        |
| İyileşmiş enfeksiyon | -     | +        | -            | +              | -     | +        |
| Kronik enfeksiyon    | -     | +        | -            | +              | +/-   | +        |

ALT seviyesi kronik hepatit B hastalarında hastalık aktivitesi olarak kullanılmaktadır. Ancak, normal ALT düzeyi hastalık aktivitesi açısından hatalı değerlendirmeye neden olabilir. Çalışmalarda, normal serum ALT seviyelerine ve 2000 IU/mL'nin üzerinde (kabaca 10.000 kopya/mL'ye eşdeğer) serum HBV DNA seviyeleri olan HBV taşıyıcılarının %20-30'unun karaciğer biyopsi örneğinde evre 2 veya daha ileri derecede fibrozis tespit edilmiştir (54). Bu nedenle, karaciğer

fibrozisinin invaziv olmayan bir şekilde belirlenmesi, bu tür hastalarda altta yatan karaciğer hastalığının ciddiyetinin hafife alınmamasını sağlamak için yararlı olabilir.

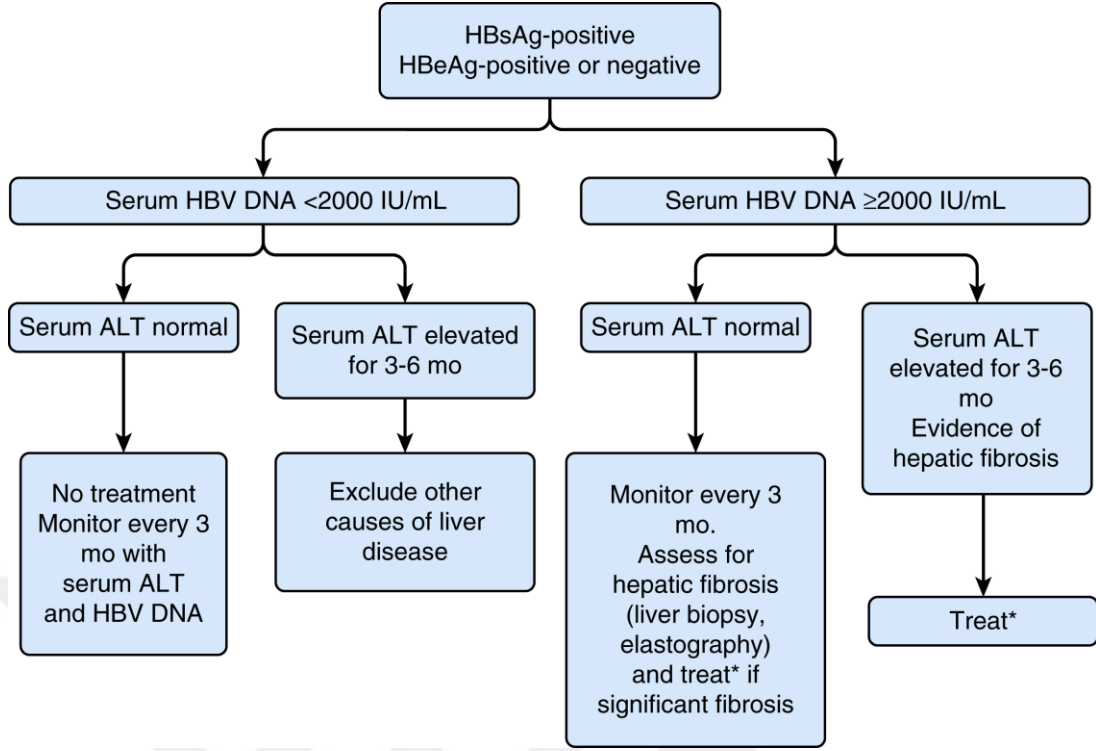
Çalışmalar, HBV ile enfekte kişilerde serum HBV DNA düzeyinin, gelecekte siroz ve HCC'ye ilerlemenin önemli öngörücüsü olduğunu ortaya koymuştur (55). 10.000 kopya/mL (2000 IU/mL) kadar düşük serum HBV DNA seviyeleri bile daha yüksek siroz ve HCC riski ile ilişkilendirilmiştir. Vireminin hem süresi hem de düzeyi, siroz ve HCC gelişimi için önemli risk faktörleri olarak kabul edilir (23).

#### **2.2.7.4. Tedavi**

1-Akut HBV Enfeksiyonu Tedavisi: Hidrasyon, beslenme ve istirahate önem verilerek öncelikle destek tedavisi uygulanır. Antiviral tedavi (entekavir, tenofovir) sadece fulminan hepatit veya uzun süreli şiddetli seyirler için endikedir (47).

2-Kronik HBV Enfeksiyonu Tedavisi: Kronik hepatit B hastalarının tedavisinde hedefler; hastalığın ilerlemesinin durdurulması, geç komplikasyonların önlenmesi ve mortalitede azalmayı içerir. Klasik tedavi sonlanım noktaları arasında serum HBV DNA'sının baskılanması, HBeAg-pozitif hastalarda HBeAg serokonversiyonu, HBsAg serokonversiyonu, serum ALT normalizasyonu ve histolojik iyileşme yer alır (Şekil 2.7) (23). Tedavide kullanılan ilaçlar başlıca 2 gruptur;

1. İmmün modülatörler; Alfa ve pegile interferon formları
2. Viral polimeraz inhibitörleri; Nükleozid (lamivudin, telbivudin, entekavir) ve nükleotid (adefovir dipivoksil, tenofovir dipivoksil fumarat, tenofovir afeenamid) analogları



**Şekil 2.7. Kronik hepatit B'li hastalarda antiviral tedavi seçimine yönelik algoritma (23).** Antiviral tedavi endikasyonlarında; persistan normal üst sınırdan

yüksek serum ALT seviyeleri, 2000 IU/mL'den yüksek HBV DNA seviyeleri ve biyopside gösterilmiş hepatic fibrozis yer alır. Normal serum ALT veya HBV DNA düzeyleri 2000 IU/mL'den az olan hastalar için, karaciğer hastalığının diğer nedenlerini dışlamak için karaciğer biyopsisi dahil ek değerlendirme gerekli olabilir.

\*HBeAg pozitif hastalarda birinci basamak ajanlar: PegIFN, tenofovir disoproksil fumarat, tenofovir alafenamid veya entekavir

\*HBeAg-negatif hastalarda birinci basamak ajanlar: tenofovir disoproksil fumarat, tenofovir alafenamid veya entekavir (23)

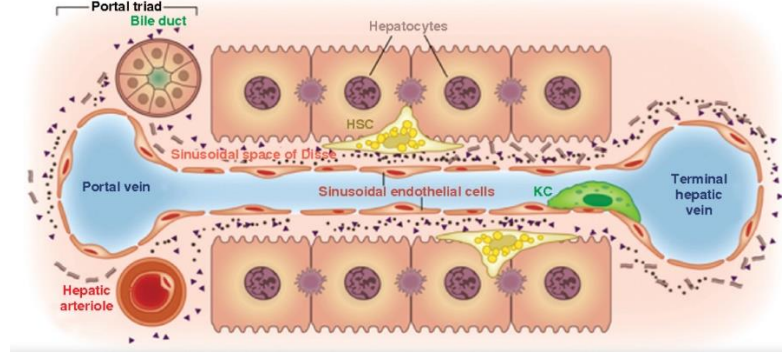
Tedavi, karaciğer biyopsisinde Ishak skoruna göre Histolojik Aktivite İndeksi (HAI)  $\geq 6$  veya Fibrozis evresi  $\geq 2$  olan hastalara uygulanmalıdır (56).

## 2.3. KARACİĞER FİBROZİSİ

### 2.3.1. Patogenez

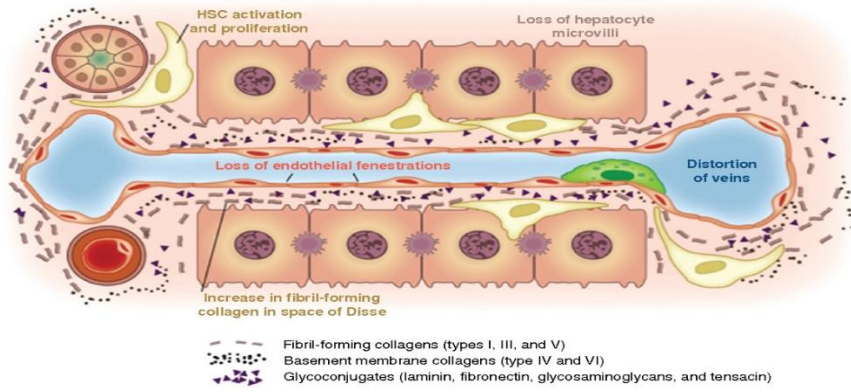
Karaciğer fibrozunun patogenezinde en çok rol oynayan karaciğer hücre tipi, *hepatik stellat* hücredir. Normal karaciğerde, hepatik stellat hücre, Disse alanında

sinüzoidal endotel hücrelerine lümen boyunca uzanan bir perisit olarak görülür (Şekil 2.8).

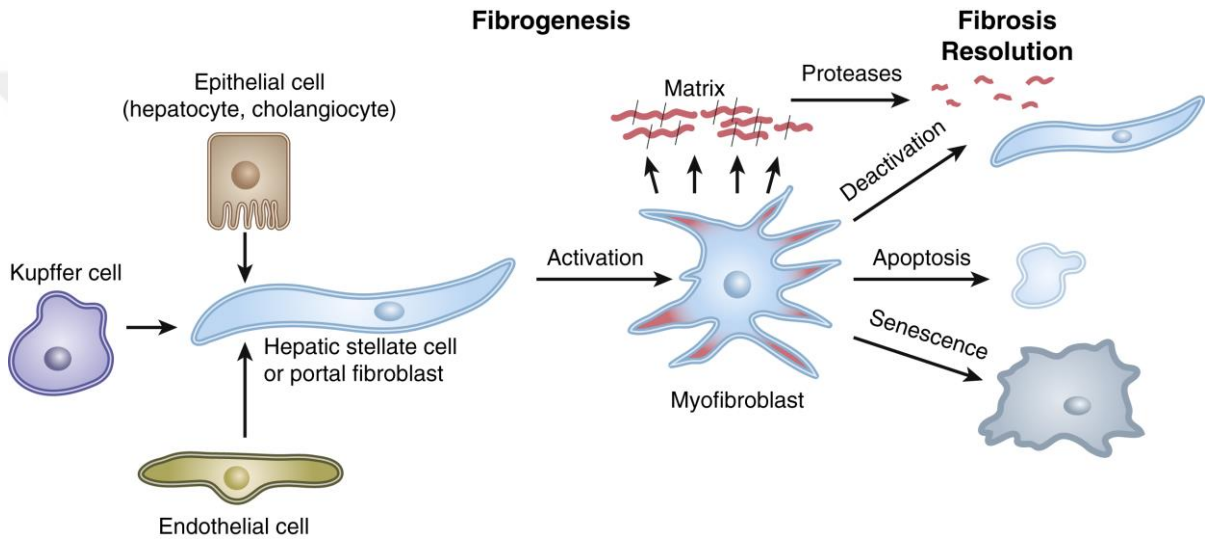


**Şekil 2.8. Normal karaciğer parankimi (57)**

Düz kas aktin ekspresyonundaki artış sonrasında meydana gelen aktivasyonla Hepatik stellat hücresi miyofibroblasta dönüşür. Karaciğer fibrozunun gelişimi için en önemlisi, stellat hücrenin karaciğer fibrozuna yol açan çeşitli matriks formlarını oluşturmaya başlamasıdır (58). Fibronektin, stellat hücreler tarafından üretilen ve sonuçta kolajen tip 1 dahil olmak üzere diğer matriks formlarını üreten en eski matriks formudur. Matriks birikimi sırayla daha fazla hepatik stellat hücre aktivasyonuna ve hepatik anjiyo mimaride değişikliklere yol açar (59). Hepatik stellat hücrenin aktivasyonunda en çok kabul edilen yollar, PDGF (*platelet derived growth factor*), TGF- $\beta$  (*transforming growth factor- $\beta$* ) ve integrin sinyal yollarının aracılık ettiği kinaz aktivasyon yollarını içerir. Hepatik stellat hücreye ek olarak, portal fibroblast da dahil olmak üzere diğer hücreler nihayetinde kollajen matriksi biriktiren miyofibroblast fenotipiyle sonuçlanabilir. Portal fibroblast, primer bilier siroz ve primer sklerozan kolanjit seyrinde olduğu gibi kolestatik hasara yanıt olarak gelişen karaciğer fibrozunda rol oynar (60). Periportal bölgedeki epitel hücre hasarının, portal fibroblastların miyofibroblastlara dönüşmesine yol açtığı varsayılmaktadır (Şekil 2.9-10).



**Şekil 2.9. Karaciğer fibrozisinde matriks ve hücresel değişiklik (57)**



**Şekil 2.10. Sirozda fibrozun patogenezinine ve fibrozun tersine çevrilmesine şematik genel bakış (61)**

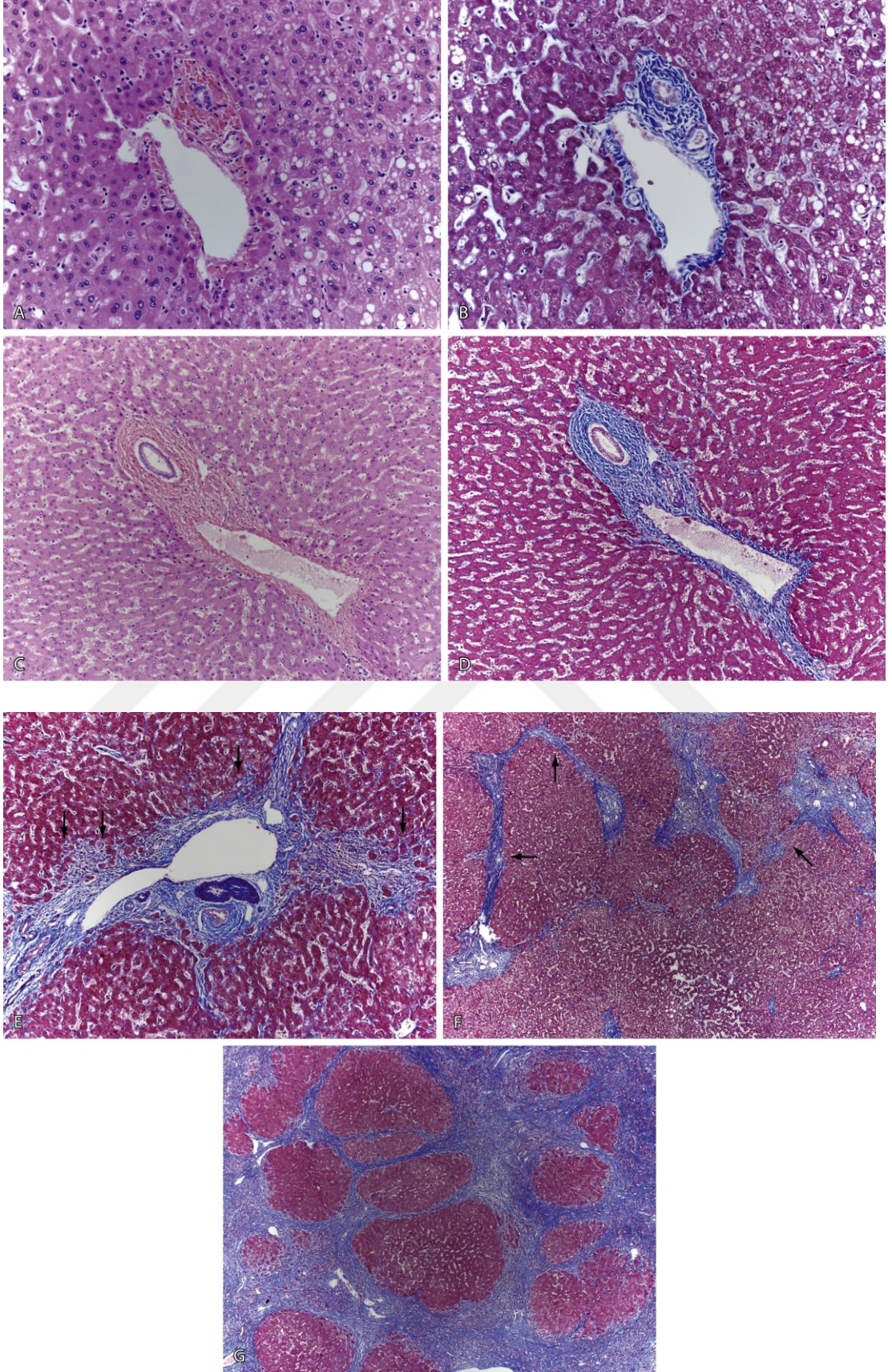
*Kupfer* hücreleri tarafından sitokin salınımı ve parakrin moleküllerinin sinüzoidal endotelial hücreler tarafından salınması ile kombinasyon halinde epitel hücre hasarı, hepatik stellat hücrelerin (veya portal fibroblastların) miyofibroblastlara aktivasyonuna yol açar. Fibrozisin tersine çevrilmesi, miyofibroblastların deaktivasyonu, apoptozu veya yaşlanmasıyla olur. Matriks proteazların salınımı ayrıca fibrozisin rezolüsyonunu sağlayabilir (61).

Fibrozis sürecinde miyofibroblastlar dışındaki hücre tipleri de önemlidir. Örneğin, fibroze yol açan çoğu karaciğer hasarı formu epitel hücre hasarıyla başlar. Apoptoz, iltihaplanma veya nekroz yoluyla epitel hücrelerinin yaralanması, hepatik stellat hücrelerin toplanması ve aktivasyonu ile sonuçlanır (62). Makrofaj,

inflamatuvar sitokinlerin salınması nedeniyle fibrozisde de önemlidir, hepatik stellat hücrelerinin miyofibroblastlara transaktivasyonuna yol açar. Makrofajlar hem fibrozis hem de fibrozis rezolüsyonu için gereklidir (58). Çalışmalarda sinüzoidal endotel hücrelerinin fibroz gelişiminde etken olduğu gösterilmiştir. Sinüzoidal endotel hücreleri, anjiyogeneze katılmak için otokrin ve parakrin sinyal yolları aracılığıyla hareket eder. Anjiyogenez, anjiyojenik sinüzoidal endotel hücrelerinden hepatik stellat hücresi aktive edici moleküllerin parakrin salınımı yoluyla fibroza yol açabilir. Görüldüğü gibi, karaciğerdeki çok sayıda hücre tipi fibrozeze katılır, ancak hepatik stellat hücre, matriks üretme kapasitesinin bol olması nedeniyle bu süreçte en çok rol oynar (61).

#### **2.4. KARACİĞER BİYOPSİSİ**

Karaciğer hastalığının tanısında, evrelemesinde ve tedavi planının yapılmasında karaciğer biyopsisi sık kullanılan bir tanı yöntemidir. Biyopsi karaciğerin histopatolojik değerlendirmesinde altın standarttır. Transtorasik, transjuguler, laparoskopik veya operasyon sırasında olmak üzere farklı şekillerde yapılabilir. En sık transtorasik (perkutan) karaciğer biyopsisi yapılmaktadır (63). Günümüzde daha az komplikasyon olması ve daha başarılı biyopsi materyali elde edilebilmesi nedeniyle görüntüleme eşliğinde yapılan karaciğer biyopsisi körleme olarak yapılan biyopsiye tercih edilmektedir. Komplikasyon olarak, biyopsi sonrası ağrı, nadiren kanama ve ölüm görülebilir. Karaciğer biyopsisinin komplikasyonları, patolojik değerlendirmede farklılıkların olması ve girişimsel işlem olması nedeniyle hastada anksiyeteye yol açması dezavantajlarındanadır. Biyopsi tanı konulma aşamasında sık kullanılmasına rağmen, dezavantajları nedeniyle tedavinin etkinliğinin izleminde rutin pratikte kullanılmamaktadır. Karaciğer biyopsi materyali minimum 5 portal bölge; yeterli olabilmesi için 11 den fazla portal bölge içermelidir. Uzunluğu 2,0 cm'den az olan biyopsilerde patolojik doğruluk oranı azalır. 1,5 cm'lik bir biyopsi örneği birçok karaciğer hastalığını değerlendirmek için yeterli olsa da, kısa bir örnek %20 oranında siroz tanısını koymada yeterli olmayabilir (64) (Şekil 2.11).



**Şekil 2.11. Karaciğer fibrozisinin histolojik aşamaları (61)** A: Bir portal ven dalı,

hepatik arter dalı ve interlobüler safra kanalı içeren normal bir portal triad. Hafif steatoz mevcut ancak fibrozis yok (evre 0 fibroz) (H & E). B: Masson trikrom boyası, portal triaddaki minimal kolajeni maviyle boyar (evre 0 fibroz). C: Evre 1'de, portal triaddaki kolajen (fibroz) önemli ölçüde artmıştır (H & E). D: Fibrozis, portal triadı genişletir ve Masson trikrom boyası ile mavi renkle boyanır, ancak çevresindeki periportal asiner parankimi etkilemez (evre 1 fibroz). E: Periportal fibrozis 2. evreyi düşündürür. Portal triadın fibrozis ile genişlemesi mavi renkte görülür. Kolajen portal triadla sınırlı değildir, aynı zamanda çevreleyen periportal asiner parankimi (oklar) da kapsayacak şekilde genişler (Masson trikrom boyası). F: Evre 3'te köprü oluşturan fibroz görülür. Portal triadlar, mavi renkte artmış fibrozis gösterir ve birbirleriyle bağlantı kurarak fibröz köprüler (oklar) oluşturur (Masson trikrom boyası). G: Evre 4, normal karaciğer yapısı tamamen bozulur ve yerini mavi fibröz septa ile ayrılan rejeneratif nodüller alır (Masson trikrom boyası) (61)

Kronik hepatitin ciddiyeti ve prognozu hakkında bilgi sahibi olmak için histolojik özelliklerin dikkate alınarak karaciğerdeki hasarın evreleme ve derecelendirmesini yapmak amacıyla çeşitli skorlama sistemleri oluşturulmuştur. Histolojik aktivite indeksinde periportal nekroz, parankim hasarı, portal inflamasyon, fibrozis parametreleri değerlendirilerek 0-18 arasında puanlama yapılır. 6 ve üstü puan alan hastalara tedavi verilmesi planlanır. Fibrozis 6 evrede değerlendirilir Evre 0 yok, evre 1-2 hafif, evre 3-4 orta, evre 5-6 ağır/siroz olarak sınıflandırılır. Evre 2 ve ileri olan hastalarda tedavi verilmesi planlanır. Karaciğerde fibrozisin ilerlemesinin durdurulması etkili tedaviyle mümkündür. Tedavinin amacı siroz, karaciğer yetmezliği, HCC'nin önlenmesi veya kompanse sirozu olan hastanın dekompanse karaciğer sirozuna ilerlemesinin önüne geçilmesidir (65, 66).

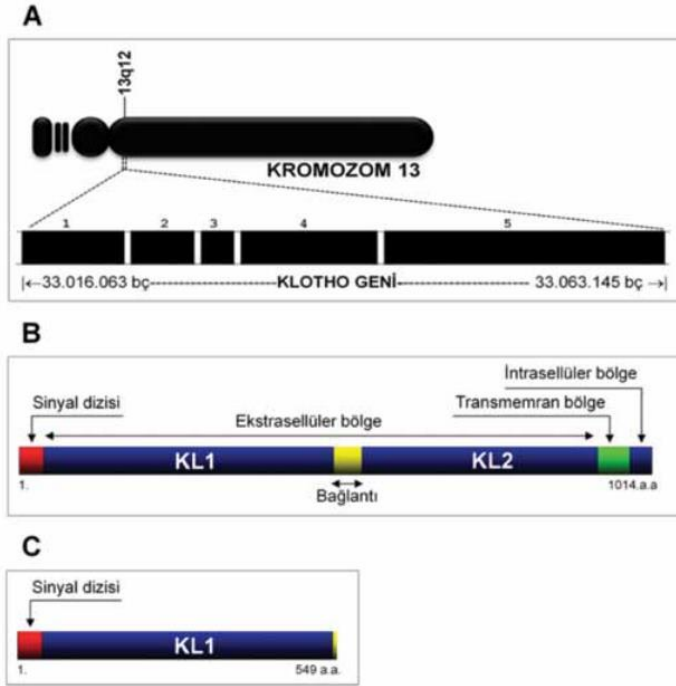
**Tablo 2.4. Modifiye HAİ Skorlama Sistemi (67)**

| <b>Modifiye HAİ Derecelendirmesi</b>  | <b>SKOR</b>                     |
|---|---------------------------------|
| <b>Nekroinflamatuvar Skorlar</b>  |                                 |
| <b>A. Periportal veya periseptal interface hepatiti</b><br>Yok<br>Hafif (fokal, birkaç portal alanda)<br>Hafif/Orta (fokal, portal alanların çoğunda)<br>Orta (trakt ya da septaların %50'den azında, çevresinde devamlılık gösteren)<br>Şiddetli (trakt ya da septaların %50'den fazlasında, çevresinde devamlılık gösteren)   | 0<br>1<br>2<br>3<br>4           |
| <b>B. Konfluent nekroz</b><br>Yok<br>Fokal konfluent nekroz<br>Zon 3 nekroz (bazı alanlarda)<br>Zon 3 nekroz (çoğu alanda)<br>Zon 3 nekroz + seyrek portal-santral (P-C) köprüleşme<br>Zon 3 nekroz + çok sayıda portal-santral (P-C) köprüleşme<br>Panasiner veya mültiasiner nekroz   | 0<br>1<br>2<br>3<br>4<br>5<br>6 |
| <b>C. Fokal litik nekroz, apoptozis fokal inflamasyon</b><br>Yok<br>1 veya daha az odak (x 100'lik her büyütmede)<br>2-4 odak (x 100'lük her büyütmede)<br>5-10 odak (x100'lük her büyütmede)<br>10'dan fazla odak (x100'lük her büyütmede)   | 0<br>1<br>2<br>3<br>4           |
| <b>D. Portal inflamasyon</b><br>Yok<br>Hafif (bazı veya tüm portal alanlarda)<br>Orta (bazı veya tüm portal alanlarda)<br>Orta/Belirgin (tüm portal alanlarda)<br>Belirgin (tüm portal alanlarda)   | 0<br>1<br>2<br>3<br>4           |
| <b>Modifiye HAİ Evrelendirmesi</b>  |                                 |
| <b>Yapısal Değişiklikler, Fibrozis, Skar</b>  |                                 |
| Fibrozis yok<br>Birkaç portal alanda fibröz genişleme (Kısa fibröz septa var ya da yok)<br>Çoğu portal alanda fibröz genişleme (Kısa fibröz septa var ya da yok)<br>Çoğu portal alanda fibröz genişleme ve nadir portal-portal köprüleşme<br>Portal alanlarda fibröz genişleme ve belirgin köprüleşme<br>Belirgin köprüleşme ile seyrek nodül (inkomplet siroz)<br>Siroz (olası ve kesin) | 0<br>1<br>2<br>3<br>4<br>5<br>6 |

## 2.5. ALFA KLOTHO ( $\alpha$ -KLOTHO)

### 2.5.1. $\alpha$ -Klothonun Yapısı

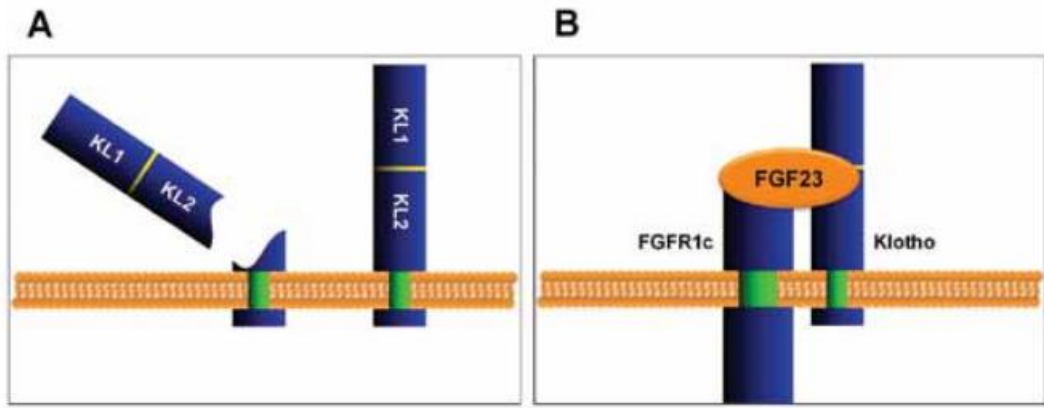
1997 yılında Kuro-o ve arkadaşları tarafından fareler üzerinde yapılan çalışmalarda yaşlanmayı baskılayan özelliklere sahip olan gen tanımlanmış ve klotho olarak isimlendirilmiştir (5). İnsanlarda 13. Kromozomun 12. lokusunda bulunan klotho geni, 5 adet egzon ve 4 adet intron içerir. Bu kromozom üzerinde yaklaşık 50 kilobaz çift'lik bir bölgeyi kapsar. Klotho geni homozigot mutasyonu olan fareler, kısa ömür, infertilite, arteroskleroz, osteoporoz, yaşa bağlı cilt değişiklikleri ve ektopik kalsifikasyonlar gibi erken yaşlanma sendromlu hastalardakine benzeyen çeşitli fenotipler gösterir (68) (Şekil 2.12).



**Şekil 2.12. Klotho geni ve proteini** A. Klotho geni. Klotho geninden sentezlenen mRNA'ların alternatif işlenmesi (*splicing*) sonucunda 2 çeşit RNA transkripti oluşur. Sonrasında membrana bağlı ve solubl formda iki farklı Klotho proteini üretilir. B. Membrana bağlı Klotho proteini 130 kD ağırlığında 1014 amino asitten oluşur. C. Solubl Klotho proteini 549 aminoasitten oluşur ve yaklaşık 70 kD ağırlığındadır. Membrana bağlı Klotho proteini 980 aminoasitlik ekstraselüler ve 21 aminoasitlik intraselüler bölgeden oluşur. Ekstraselüler bölüm KL1 ve KL2 olarak adlandırılan iki

internal tekrar bölgesinden oluşur. Solubl Klotho proteini KL1 internal tekrar bölgesinden oluşur (69).

Solubl klotho üretimi sadece mRNA işlenerek (*splicing*) yapılmaz. Alternatif işlenme (*splicing*) sonucu oluşan solubl Klotho proteinine göre daha büyük bir Klotho proteinine kan ve serebrospinal sıvılarda rastlanmıştır. Bu proteinlerin membran Klotho proteininin ekstraselüler bölgesinin ADAM10 ve ADAM17 metaloproteaz enzimleriyle kesilmesiyle meydana geldiği tespit edilmiştir (70) (Şekil 2.13).



**Şekil 2.13. Solubl Klotho proteininin oluşması** A. Metaloproteaz enzimleriyle membrana bağlı Klotho proteinin ekstraselüler kısmının kesilmesiyle solubl Klotho proteininin oluşması. B. Hücre membranlarında bulunan fibroblast büyüme faktörü reseptörü (FGFR) ile membrana bağlı Klotho proteini kompleks oluşturur, fibroblast büyüme faktörü-23 (FGF23) için kofaktör işlevi yapar (69).

Membrana bağlı ve soluble klotho'nun farklı görevleri vardır. Membrana bağlı Klotho FGFR1c, FGFR3c ve FGFR4 ile kompleksler oluşturarak, FGF23 için kofaktör işlevi görür (5). Solubl Klotho ise hücrelere kalsiyum girişini modüle eder, IGF-1/İnsülin sinyalini zayıflatır, antioksidanların sentezini destekler, tümör gelişimini yavaşlatır, hücre yaşlanmasını geciktirir, nöroprotektiftir ve oligodendrosit olgunlaşmasını ve miyelin sentezini ve kas gençleşmesini destekler, anti-inflamatuvar ve antifibrojenik etkiler gösterir (12). Solubl Klotho *Tümör Growth Faktör* (TGF)- $\beta$ , IFN- $\gamma$  ve IGF-1 gibi büyüme faktörleri ve sitokinlerin işlevlerini azaltır (5). Alfa-Klotho geni bol miktarda böbreklerde, paratiroid bezlerinde, koroid pleksusta, ayrıca serebral korteks, omurilik, serebellum, hipotalamus, hipofiz,

paratiroid bezleri, yumurtalık, testisler, meme epitel hücreleri, plasenta, pankreas, iç kulakta, vasküler düz kas hücreleri veya bağırsakta da eksprese edilir (12).

Alfa Klothonun böbrekteki membrana bağlı formunun ekspresyonunu ölçmek zor olmakla birlikte, solubl formunu ölçmek daha kolaydır ve solubl  $\alpha$ -klotho düzeyleri membrana bağlı form ekspresyonunda olması muhtemel değişiklikleri yansıtabilmektedir. Membrana bağlı formu yerine kanda ve idrarda solubl  $\alpha$ -klotho proteini ölçülebilir (71).

### **2.5.2. $\alpha$ -Klotho ve İnflamasyon**

Solubl  $\alpha$ -Klothonun IGF-1/insülin büyüme faktör yolağını ve IGF-1/insülin büyüme faktörü tarafından uyarılan reseptörleri inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibisyon katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidanları artırır ve hücrelerin oksidatif strese korunmasını sağlar.  $\alpha$ -Klotho'nun anti-ageing etkileri, dokuları iskemi ve inflamasyondan koruyabilmesi bu mekanizmalar sayesinde meydana gelir (72).

Manganaz süperoksit dismutaz hücrelerde mitokondriyal antioksidan savunma mekanizması açısından önemli bir enzimdir, ekspresyonu FOXO3a tarafından düzenlenir. FOXO3a mitokondriyal ROS(serbest radikaller)'un negatif regülasyonunu sağlar. Klotho FOXO3a'nın fosforilasyonunu uyararak oksidatif stresin azalmasını sağlar (73). Çalışmalarda umbilikal ven endotel hücrelerinde Klotho'nun c-AMP yolağının aktivasyonu sayesinde NO üretimini uyardığı gösterilmiştir. c-AMP yolağının aktivasyonu, artan NO üretimiyle manganaz süperoksit dismutaz ekspresyonunu uyarır (74). Anti-inflamatuvar diğer bir etki Klotho'nun TNF-alfa inhibisyonuyla endotel inflamasyonunu azaltmasıyla meydana gelir (9).

Klotho'nun işlevsel olduğu farklı anti-inflamatuvar etki mekanizmaları ise mitokondriyal DNA fragmentasyonun, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin indüklediği apoptozisin,  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesinin, lipid peroksidasyonunun, süperoksit anyon üretiminin ve Bax protein ekspresyonunun azaltılması şeklinde olur (73).

### **2.5.3. $\alpha$ -Klotho ve Fibrozis**

Fibrozis, mezenkimal hücrelerin (miyofibroblastlar) interstisyel boşlukta infiltrasyonu ve proliferasyonu ile karakterize patolojik bir süreçtir. Çalışmalarda, çeşitli nedenlere bağlı meydana gelen böbrek fibrozunun, Solubl Klotho proteininin farelere uygulanmasıyla gerilediği ve Klotho'nun fazla miktarda eksprese edildiği farelerin, kronik glomerülonefritin neden olduğu böbrek fibrozuna dirençli olduğu gösterilmiştir. Miyofibroblastların kaynağı kemik iliğinden göç eden, renal proksimal tübüler hücrelerde bulunan fibroblastlar veya renal interstisyel perisitler olabilir. Kökeni ne olursa olsun, bu hücreler fenotipik bir değişim geçirmeli ve miyofibroblastlar haline gelmek için göç etme ve çoğalma yeteneği kazanmalıdır. Bu hücresel süreç (mezenkimal dönüşüm), doku hasarına bir yanıt olarak kabul edilir; ancak böbrekte ve karaciğer, akciğer ve kalp dahil diğer birçok dokuda patolojik yerleşimler altında fibroz ile sonuçlanabilir. Mezenkimal dönüşümde birçok sitokin ve büyüme faktörünün rol oynamasına rağmen, TGF- $\beta$ 1, çeşitli hücre tiplerinde mezenkimal dönüşümü indükleyebilen en güçlü ve evrensel büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır (10).

Solubl Klotho proteini, doğrudan tip-II TGF- $\beta$  reseptörüne bağlanır ve TGF- $\beta$ 1'in hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasını hızlandırır, böylece TGF- $\beta$ 1 in sinyal göndermesini inhibe eder. TGF- $\beta$ 1 sinyal inhibisyonuna ek olarak, Solubl Klotho'nun EMT (epitel yapıların mezenkimal yapılara dönüşümü)'yi teşvik edebilen Wnt ve IGF-1 sinyal iletimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar, Solubl Klotho'nun aynı anda birden fazla büyüme faktörü sinyal yolunu inhibe ederek endojen bir anti-EMT faktör olarak işlev görebilmesi olasılığını arttırmıştır (10).

Wnt sinyal yolağı hücre döngüsünü G2/M fazında durdurup fibrinojenik sitokinleri artırır. Yapılan çalışmalarda  $\alpha$ -Klothonun; Wnt sinyal yolağını baskıladığı,  $\alpha$ -Klotho uygulanan hücrelerde G2/M fazının atlandığı ve sitokin üretiminin azaldığı gösterilmiştir. Hipoksik durumlarda Klotho endojen Wnt/ $\beta$ -katenin için doğal antagonist olabilir, bu durumda Klotho'nun kaybı böbrek hasarının patogeneğinde etkili olabileceği düşünülmüştür. Kronik böbrek hastalığında fibrozisin azalmasıyla Klotho'nun ilişkisi, renal  $\beta$ -katenin aktivasyonunu azaltması sayesinde olur (73).

IGF-1, Wnt ve TGF-  $\beta$ 1 sinyal yolları, çeşitli doku fibrozu veya kanser türlerinde terapötik müdahalelerin hedefleri olmuştur. Solubl Klotho proteini, bu üç sinyal yolunu aynı anda engelleyebilmesi açısından benzersizdir. Doi ve arkadaşları çalışmalarında, Klotho aşırı ekspresyonun farelerde yaşam süresini uzattığı için Klotho tedavisinin güvenli olacağını, Solubl Klotho proteininin, doku fibrozu ve kanser metastazı için yeni bir terapötik ajan olabileceğini önermişlerdir (10).

#### **2.5.4. $\alpha$ -Klotho ve Karaciğer**

Mitokondri tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) yaşlanmaya neden olduğu yolak, p38 mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) bağımlıdır. Hsieh ve arkadaşları tarafından solubl Klothonun karaciğer özütlerinde bu yolağı inhibe edici ve antioksidan etkisi gösterilmiştir (8).

Solubl Klotho endotel hücreleri tarafından TNF- $\alpha$ 'nın neden olduğu IL-6 salgılanmasını azaltır. Solubl Klotho, bu molekülün işlevini etkileyerek, TGF- $\beta$  tip II reseptörlerine doğrudan bağlanır. Bu sadece endotel hücrelerinde değil, aynı zamanda karaciğer fibrogenezinde ve kanser ilerlemesinde de önemli olabileceği düşünülmektedir (10).

Dounousi ve arkadaşlarının sepsisteki hastalarda yapılan gözlemsel bir çalışmada, solubl Klothonun enfeksiyonun zirvesinde en yüksek olduğu, enfeksiyon azaldığında normal değerlere döndüğü bildirilmiştir (75). Abdelmalik ve arkadaşlarının septik şoklu 104 hasta üzerinde yaptığı çalışmada, solubl Klotho ile ilişkili varsayılan uzun süreli sağ kalımla keskin bir tezat oluşturarak artmış solubl Klotho seviyeleri ve mortalite arasında doğrudan bir ilişki olduğu bildirildi (76). Benzer şekilde Prystupa ve arkadaşlarının, alkolik sirozlu hastalarda yaptığı çalışmalarda daha kötü karaciğer fonksiyonu olan hastalarda (Child-Pugh B veya C) daha hafif sirozu olan hastalara göre solubl Klotho düzeyi daha yüksek olarak tespit edilmiştir (77). González-Reimers ve arkadaşları sirozlu hastalarda yaptıkları çalışmada, Child-Pugh C hastalarda daha yüksek solubl Klotho değeri tespit ederek, karaciğer fonksiyon bozukluğuyla doğrudan ilişkili ve anlamlı olarak daha yüksek soluble Klotho değerleri bulmuşlardır (11). Hem sepsis hem de alkolik sirozdaki bu durum: “İnflamatuvar medyatörler muhtemelen bir anti-inflamatuvar ajan görevi

gören solubl Klotho sekresyonunu destekler. TNF- $\alpha$ 'nın Klotho mRNA transkripsiyonunu baskılayabildiği, ancak TNF- $\alpha$ 'nın ADAM 10 ekspresyonunu da arttırdığı gösterilmiştir. Bu durum, membrana bağlı Klotho'nun bölünmesini artırabilir, bu da septik hastalar veya sirotikler arasında yüksek solubl Klotho değerlerini açıklayabilecek bir mekanizma olan artmış solubl Klotho seviyelerine yol açar. Alkolizme bağlı kronik karaciğer hastalığında, portal hipertansiyon ortaya çıktığında artan bir durum olan artmış bakteriyel translokasyona yanıt olarak, artmış inflamatuvar sitokin seviyeleri (özellikle TNF- $\alpha$ ) de tespit edilmiştir (12)''.

Karaciğer sirozunda artan ROS (serbest radikal) üretimi, NFKB (Nükleer Faktör Kappa B)'yi aktive edebilir; Klothonun antioksidan etkisi sayesinde TNF- $\alpha$  sentezi azaltılabilir. Sirozlu hastalarda, artmış Klotho, bilinen bir fibrojenik promoter olan TGF- $\beta$ 'nin profibrojenik etkisine karşı koyabilir (12).

Literatürde kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda karaciğerdeki fibrozisle alfa klotho düzeyi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu konuda yapılacak kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

## **2.6. KARACİĞER FİBROZİS BELİRTEÇLERİ**

### **2.6.1. Aspartat Aminotransferaz-Trombosit Oranı İndeksi (APRI)**

AST ve trombosit sayımının kullanıldığı 2 klinik değişkene dayalı basit bir formüldür. İnterferon bazlı tedavi döneminde tedavi kararlarına yardımcı olmak için önemli fibrozis veya sirozu tahmin etmek için geliştirilmiştir (78).

$$\text{APRI} = [\text{AST X (Normalin Üst Değeri)} / \text{PLT}(*109 /\text{L})] \times 100 \text{ (78)}.$$

### **2.6.2. Dört Faktöre Dayalı Fibrozis İndeksi (FIB-4)**

FIB-4 indeksi, adından da anlaşılacağı gibi 4 değişkene (trombosit sayısı, yaş, AST ve ALT) dayanan klinik puanlama sistemidir (78). FIB-4 indeksi ileri fibrozis için hassas bir araçtır (79).

$$\text{FIB-4} = [\text{AST(IU/mL)} \times \text{Yaş}] / [\text{PLT}(*109 /\text{L}) \times \text{ALT(IU/mL)}^{1/2}] \text{ (78)}$$

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. ÇALIŞMA DİZAYNI VE HASTA SEÇİMİ

Bu çalışmaya, Temmuz 2020 ve Ocak 2021 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Konya Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Enfeksiyon Hastalıkları, Gastroenteroloji ve İç Hastalıkları Polikliniklerine başvuran, 18 yaşından büyük, kronik hepatit B tanısı ile biyopsi yapılması planlanmış, kadın ve erkeklerden oluşan, 90 hasta vaka grubu olarak dahil edildi. Başka nedenler ile hastanemizin İç Hastalıkları Polikliniği'nde tetkik edilen ve laboratuvar parametreleri istenmiş olan 83 gönüllü kişi, kontrol grubu olarak dahil edildi. Çalışmamız, kesitsel ve vaka-kontrol çalışması olarak tasarlandı.

Çalışmamız için gebelik, 18 yaşında küçük olmak, akut hepatit ve diğer etiyojilere bağlı kronik hepatit varlığı, dekompanse karaciğer sirozu varlığı, fibrozise neden olan kronik hastalığın olması (kollajen doku hastalığı vb.), diabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı, koroner arter hastalığı, osteoporoz, inflamatuvar barsak hastalığı, herhangi bir malign hastalığın olması, nörodejeneratif hastalık varlığı dışlama kriterleri olarak belirlendi. Kontrol grubunda ise bu kriterlere, herhangi bir etiyojolojiye sekonder kronik hepatit varlığı, eklendi.

Kronik hepatit B tanılı olup biyopsi planlanan hastalara yapılacak çalışma hakkında bilgi verildi, çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastalara aydınlatılmış gönüllü onay formu imzalatıldı. Hastalardan, yaklaşık 12 saat açlık sonrasında sabah saat 08:00-12:00 saatleri arasında olacak şekilde biyopsi öncesi rutin tetkikler için kan alınırken, rutin biyokimya tüplerine (sitratl, jelli, vakumlu) 5 ml venöz kan örneği alındı. Alınan venöz kan numunesi 3000 g'de 5 dakika santrifüj edildi, serumları ayrıldı ve serumlar -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Aynı metodoloji ile çalışmaya katılmayı kabul eden sağlıklı kontrol grubunun kan örnekleri de alındı ve serumları saklandı. Bu çalışma için örnekler toplandıktan sonra, alfa-klotho düzeylerinin incelenmesi amacıyla serumlar çözülerek tüm örneklerden aynı gün alfa-klotho düzeyi ELISA yöntemi ile çalışıldı [Human-Soluble Alpha (S- $\alpha$ -Klotho) ELISA kiti (Cat.No:E4142Hu , Intra-Assay CV:<8%, Inter-Assay CV: <10 %, Bioassay Technology Laboratory, 1008 Junjiang Inter. Bldg 228

Ningguo Rd, Yangpu Dist Shanghai, China) kullanılarak, UT-6100 Auto Microplate Reader cihazı ile ölçüldü]. Hastalardan ve kontrol grubundan yeni kan alınmadı, rutin tetkiklerle aynı anda alınmış ve -80°C'de saklanmakta olan serumlar kullanıldı. Hastalara biyopsi öncesi rutin olarak uygulanan tetkiklerden, hemogram, böbrek ve karaciğer fonksiyon testlerinin ve HBV ilişkili laboratuvar parametrelerin sonuçları kayıt altına alındı. Bu parametreler kullanılarak APRI ve FIB-4 skorları hesaplandı. Sonuç olarak; hem hasta hem de kontrol grubu için, alfa-klotho düzeyini tespit etmek dışında, ayrıca serum ya da kan tahlili örneği istenmemiştir ve alınmamıştır.

Hastanemizde, karaciğer biyopsi materyalleri patoloji uzmanları tarafından ‘‘Modifiye İshak Skoru, 1995’’ kullanılarak, HAI skoru ve fibrozis evresi açısından değerlendirilmektedir. Hastaların biyopsi raporları takip edildi ve HAI skoru ile fibrozis evresi kayıt altına alındı. Çalışmamıza, gastroenteroloji ve enfeksiyon hastalıkları klinikleri tarafından biyopsi yapılması planlanmış hastalar alındı, çalışmamız için hiçbir hastaya biyopsi yapılması planlanmadı.

### **3.2. ETİK KURUL ONAYI VE BÜTÇE**

Çalışmamıza, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 20/287 kayıt numarası ile 17.07.2020 tarihinde onay alındıktan sonra başlanmıştır. Çalışmanın bütçesi 4320 TL'dir ve bu tutar Konya Şehir Hastanesi Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu (04.02.2021 tarih ve 02-14 no'lu karar gereği) tarafından karşılanmıştır.

### **3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Bağımsız iki grubun (hepatit B tanılı hastalar ile sağlıklı kontrol grubu) ortalamalarının (klotho) karşılaştırılması planlanan çalışmamızda; yeterli örneklem büyüklüğünü saptamak için G\*Power (versiyon 3.1.2) programı kullanılarak; alfa 0,05, güç  $p=0,90$ , orta etki büyüklüğü  $d=0,5$ ;  $N2/N1:1$ , iki yönlü varsayımları baz alınarak yapılan analiz sonucunda toplamda 172 vakanın çalışmaya dahil edilmesi planlandı.

İstatistiksel analizler IBM SPSS programı (21.0 versiyon) aracılığı ile yapıldı. Öncelikle, sayısal parametrelerin normal dağılım sergileyip sergilemedikleri

Kolmogorov-Smirnov testi, histogram ve varyasyon katsayısı kullanılarak incelendi. Normal dağılım sergilemeyen sayısal parametreler ortanca(minimum ve maksimum), normal dağılım gösteren sayısal parametreler ise ortalama  $\pm$  standart sapma ile gösterildi. Kategorik değişkenler sayı ve yüzdeler ile ifade edildi ve kategorik değişkenler arasındaki analizler Kikare veya Fischer Exact testleri ile incelendi. Normal dağılım sergileyen sayısal parametrelerin karşılaştırılmasında iki bağımsız grup arasında Student t testi kullanılırken, normal dağılmayan sayısal parametreler için iki bağımsız grup arasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Alfa-kloho düzeyi ile diğer sayısal parametreler arasında korelasyon analizleri normal dağılım durumunda Pearson testi, normal dağılım olmayan durumlarda Spearman testi kullanılarak yapıldı. P değeri  $<0,05$  istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

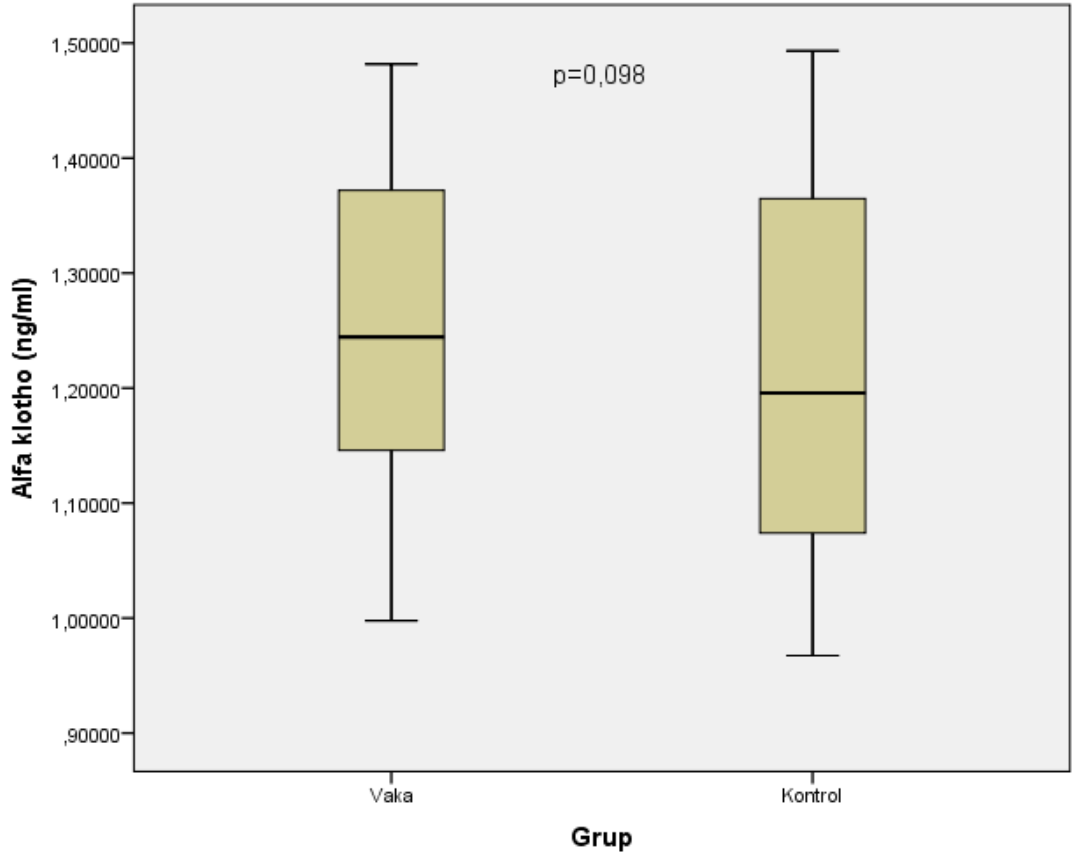
### 4.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ VE ALFA KLOTHO DÜZEYİ

Çalışmaya 90'ı kronik hepatit B hastası, 83'ü sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 173 kişi dahil edildi. Hasta grubunun 42'si (%46,7) kadın, 48'i (%53,3) erkekti ve yaş ortanca değeri 40 yıl (20-77) olarak hesaplandı. Kontrol grubunun ise 46'sı (%55,4) kadın, 37'si (%44,6) erkekti ve yaş ortanca değeri 41 yıl (18-85) olarak hesaplandı. İki grup arasında cinsiyet dağılımı ve yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla;  $p=0,250$  ve  $p=0,560$ ) (Tablo 4.1).

Hasta grubunun serum alfa klotho düzeyi 1,24 (1,00-1,48) ng/ml, kontrol grubunun ise 1,20 (0,97-1,49) ng/ml olarak hesaplandı. Kronik hepatit B hastalarının serum alfa-klotho düzeyi kontrol grubundan daha yüksek saptanmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,098$ ) (Tablo 4.1 ve Şekil 4.1).

**Tablo 4.1. Çalışma grubunun demografik özellikleri ve alfa klotho düzeyi**

|  | <b>Toplam<br/>(n=173)</b> | <b>Hasta<br/>(n=90)</b> | <b>Kontrol<br/>(n=83)</b> | <b>p</b> |
|--|---------------------------|-------------------------|---------------------------|----------|
| <b>Cinsiyet, n (%)</b>                                     |                           |                         |                           |          |
| • <b>Erkek</b>   | 85 (%49,1)                | 48 (%53,3)              | 37 (%44,6)                | 0,250    |
| • <b>Kadın</b>   | 88 (%50,9)                | 42 (%46,7)              | 46 (%55,4)                |          |
| <b>Yaş (yıl),<br/>ortanca (min-<br/>max)</b>               | 41 (18-85)                | 40 (20-77)              | 41 (18-85)                | 0,560    |
| <b>Alfa klotho<br/>(ng/ml),<br/>ortanca (min-<br/>max)</b> | 1,23 (0,97-1,49)          | 1,24 (1,00-1,48)        | 1,20 (0,97-1,49)          | 0,098    |



Şekil 4.1. Vaka ve kontrol grubunun alfa klotho düzeylerinin karşılaştırılması

#### 4.2. KRONİK HEPATİT B HASTALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Kronik hepatit B hastalarının 8'inde (%8,9) HBeAg pozitifliği ve ortanca HBV DNA değeri 15360 (1943-445\*10<sup>6</sup>) IU/ml olarak tespit edildi. Hastaların ortanca APRI değeri 0,3 (0,1-4,6) ve FIB-4 skoru ise 0,8 (0,2-7,2) olarak hesaplandı. Hasta grubunun demografik verileri ve hepatit B ilişkili bulguları tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Hasta grubunun demografik ve hepatit B ilişkili bulguları

| Parametreler    | n=90       |
|-----------------|------------|
| <b>Cinsiyet</b> |            |
| • Kadın, n (%)  | 42 (%46,7) |
| • Erkek, n (%)  | 48 (%53,3) |

|                         |                                   |
|-------------------------|-----------------------------------|
| <b>Yaş (yıl)</b>        | 41,7±14,6                         |
| <b>HBsAg (s/co)</b>     | 4838 (729-7175)                   |
| <b>HBeAg (+), n (%)</b> | 8 (%8,9)                          |
| <b>HBV DNA (IU/ml)</b>  | 15360 (1943-445*10 <sup>6</sup> ) |
| <b>AFP (µg/l)</b>       | 2,8 (0-67)                        |
| <b>APRI</b>             | 0,3 (0,1-4,6)                     |
| <b>FIB-4</b>            | 0,8 (0,2-7,2)                     |

\*Normal dağılan sayısal parametreler ortalama ± standart sapma, normal dağılmayanlar ortanca (minimum-maksimum) şeklinde sunulmuştur.

Hasta grubunun laboratuvar bulguları incelendiğinde, tam kan sayımı parametrelerinin ortalama ve/veya ortanca değerleri normal laboratuvar limitleri aralığındaydı. Biyokimyasal parametrelerden, ortanca serum glukoz düzeyi 96 (71-222) mg/dl, kreatinin değeri 0,8 (0,4-1,2) mg/dl, albümin değeri 4,4 (2,3-5) g/dl ve total bilirubin değeri 0,6 (0,1-3) mg/dl olarak hesaplandı. Hastaların ortalama serum alfa klotho düzeyi ise 1,25±0,12 ng/ml olarak ölçüldü. Hastaların değerlendirilen laboratuvar parametreleri tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Hastaların otomasyon sisteminde kayıtlı olan hepatobiliyer USG raporları incelendiğinde; 57 (%63,3) hastanın karaciğer, 49 (%54,4) hastanın ise dalak ile ilgili bulgularına ulaşılabildi. Yirmi yedi (%47,4) hastanın karaciğeri normal iken, 25 (%43,9) hastada hepatosteatoz ve 8 (%16,3) hastada splenomegali (>12 cm) tespit edildi (Tablo 4.4).

**Tablo 4.3. Hasta grubunun laboratuvar bulguları**

|                                      |               |
|--------------------------------------|---------------|
| <b>Parametreler</b>                  |               |
| <b>Hgb (g/dl)</b>                    | 14 (9,6-18)   |
| <b>WBC (10<sup>3</sup>/µl)</b>       | 7142,7±1601,9 |
| <b>Nötrofil (10<sup>3</sup>/µl)</b>  | 4115,1±1283,3 |
| <b>Lenfosit (10<sup>3</sup>/µl)</b>  | 2284,3±569,2  |
| <b>Trombosit (10<sup>3</sup>/µl)</b> | 248,2±66,1    |
| <b>MCV (fl)</b>                      | 84 (61-93)    |
| <b>MPV(fl)</b>                       | 10 (8,6-13)   |

|  |               |
|--|---------------|
| <b>RDW (%)</b>                         | 40 (12-97)    |
| <b>Glukoz (mg/dl)</b>                  | 96 (71-222)   |
| <b>Kreatinin (mg/dl)</b>               | 0,8 (0,4-1,2) |
| <b>eGFR (ml/dk/1,73 m<sup>2</sup>)</b> | 99,3±17,5     |
| <b>ALT (ıU/l)</b>                      | 27 (10-416)   |
| <b>AST (ıU/l)</b>                      | 28 (14-379)   |
| <b>ALP (ıU/l)</b>                      | 82,1±32,1     |
| <b>GGT (ıU/l)</b>                      | 24,5 (10-309) |
| <b>T. bilirubin (mg/dl)</b>            | 0,6 (0,1-3)   |
| <b>D. bilirubin (mg/dl)</b>            | 0,1 (0,1-1,4) |
| <b>Albümin (g/dl)</b>                  | 4,4 (2,3-5)   |
| <b>LDL (mg/dl)</b>                     | 123,2±41,7    |
| <b>HDL (mg/dl)</b>                     | 45,5 (38-86)  |
| <b>Trigliserid (mg/dl)</b>             | 124,2±59,7    |
| <b>Alfa klotho (ng/ml)</b>             | 1,25±0,12     |

\*Normal dağılan sayısal parametreler ortalama ± standart sapma, normal dağılmayanlar ortanca (minimum-maksimum) şeklinde sunulmuştur

**Tablo 4.4. Hastaların ultrasonografi sonuçları**

| <b>Organ</b>               | <b>Bulgu</b>              | <b>n (%)</b> |
|----------------------------|---------------------------|--------------|
| <b>Karaciğer (n=57)</b>    | <i>Normal</i>             | 27 (%47,4)   |
|                            | <i>Steatoz</i>            | 25 (%43,9)   |
|                            | <i>Heterojen parankim</i> | 4 (%7)       |
|                            | <i>Siroz</i>              | 1 (%1,8)     |
| <b>Dalak boyutu (n=49)</b> | <i>Normal</i>             | 41 (%83,7)   |
|                            | <i>Artmış</i>             | 8 (%16,3)    |

Hastaların karaciğer biyopsi raporları incelendiğinde; 59 (%65,6) hastanın fibrozis düzeyi evre 0-1 aralığında, 31 (%34,4) hastanın ise evre 2 ve üzeri olduğu tespit edildi ve ortanca fibrozis düzeyi 1 (0-4) olarak hesaplandı. Hastaların HAI

skorları incelendiğinde 31'nin (%34,4) 6'dan küçük, 59'unun (%65,6) ise 6 ve üzeri olduğu tespit edildi ve ortanca HAI skoru 6 (1-13) olarak hesaplandı (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5. Hasta grubunun biyopsi sonuçları**

| Parametre       |   | n (%)      |
|-----------------|---|------------|
| <b>Fibrozis</b> | <i>Evre 0</i>                               | 4 (%4,4)   |
|                 | <i>Evre 1</i>                               | 55 (%61,1) |
|                 | <i>Evre 2</i>                               | 17 (%18,9) |
|                 | <i>Evre 3</i>                               | 9 (%10)    |
|                 | <i>Evre 4</i>                               | 5 (%5,6)   |
|                 | <i>Fibrozis evresi, ortanca (min.-max.)</i> | 1 (0-4)    |
| <b>HAI</b>      | <i>&lt;6</i>                                | 31 (%34,4) |
|                 | <i>≥6</i>                                   | 59 (%65,6) |
|                 | <i>HAI, ortanca (min.-max.)</i>             | 6 (1-13)   |

### 4.3. KRONİK HEPATİT B HASTALARININ KARACİĞER BİYOPSİ BULGULARINA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI

Hasta grubu, karaciğer biyopsi sonuçlarına göre fibrozis (evre 0-1 ve evre  $\geq 2$ ) ve HAI skorları ( $<6$  ve  $\geq 6$ ) kullanılarak ikişerli gruplara ayrıldı ve grupların demografik, hepatit B ilişkili bulguları ve laboratuvar parametreleri karşılaştırıldı.

Hastalar fibrozis evresi gruplarına göre karşılaştırıldığında; fibrozis evresi  $\geq 2$  olan grupta fibrozis evresi 0-1 aralığında olan gruba göre kadın hasta oranı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük (%25,8'e karşın %57,6,  $p=0,004$ ) ve yaş ortalaması anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu ( $45,9\pm 16,2$ 'ye karşın  $39,5\pm 13,3$ ,  $p=0,048$ ). İki grup arasında hepatit B ilişkili laboratuvar parametreleri açısından anlamlı fark izlenmedi. Fibrozis evresi  $\geq 2$  olan grupta APRI, FIB-4 ve HAI skorları istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu (sırasıyla;  $p=0,002$ ,  $p=0,001$  ve  $p<0,001$ ) (Tablo 4.6).

**Tablo 4.6. Hasta grubunun fibrozis evresine göre demografik ve hepatit B ilişkili bulgularının karşılaştırılması**

| Parametreler                     | Toplam (n=90)                        | Fibrozis                             |                                       | p                |
|----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------|
|                                  |                                      | Evre 0-1 (n=59)                      | Evre $\geq 2$ (n=31)                  |                  |
| <b>Cinsiyet</b>                  |                                      |                                      |                                       |                  |
| • Kadın, n (%)                   | 42 (%46,7)                           | 34 (%57,6)                           | 8 (%25,8)                             | <b>0,004</b>     |
| • Erkek, n (%)                   | 48 (%53,3)                           | 25 (%42,4)                           | 23 (%74,2)                            |                  |
| <b>Yaş (yıl)</b>                 | 41,7 $\pm$ 14,6                      | 39,5 $\pm$ 13,3                      | 45,9 $\pm$ 16,2                       | <b>0,048</b>     |
| <b>HBsAg (s/co)</b>              | 4838 (729-7175)                      | 5363 (1014-7101)                     | 4480 (729-7175)                       | 0,321            |
| <b>HBeAg (+), n (%)</b>          | 8 (%8,9)                             | 3 (%5,1)                             | 5 (%16,1)                             | 0,118            |
| <b>HBV DNA (IU/ml)</b>           | 15360<br>(1943-445*10 <sup>6</sup> ) | 14440<br>(1943-417*10 <sup>6</sup> ) | 32840<br>(2133- 445*10 <sup>6</sup> ) | 0,086            |
| <b>AFP (<math>\mu</math>g/l)</b> | 2,8 (0-67)                           | 2,5 (0-22,5)                         | 3,6 (0-67)                            | 0,136            |
| <b>APRI</b>                      | 0,3 (0,1-4,6)                        | 0,2 (0,1-3)                          | 0,4 (0,1-4,6)                         | <b>0,002</b>     |
| <b>FIB-4</b>                     | 0,8 (0,2-7,2)                        | 0,7 (0,2-2,7)                        | 1,1 (0,4-7,2)                         | <b>0,001</b>     |
| <b>HAI</b>                       | 6 (1-13)                             | 6 (1-10)                             | 8 (5-13)                              | <b>&lt;0,001</b> |

\*Normal dağılan sayısal parametreler ortalama  $\pm$  standart sapma, normal dağılmayanlar ortanca (minimum-maksimum) şeklinde sunulmuştur

Hastaların fibrozis gruplarına göre laboratuvar parametreleri karşılaştırıldığında, fibrozis evresi  $\geq 2$  olan grupta Hgb (p=0,018), kreatinin (p=0,024), ALT (p=0,023), AST (p=0,001), GGT (p=0,005) ve total bilirubin (p=0,015) değerleri anlamlı düzeyde daha yüksek, trombosit (p=0,003) değeri ise anlamlı düzeyde daha düşük saptandı. Gruplar arasında serum alfa klotho düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,425) (Tablo 4.7).

**Tablo 4.7. Hasta grubunun fibrozis evresine göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması**

| Parametreler                      | Toplam<br>(n=90) | Fibrozis           |                   | P            |
|-----------------------------------|------------------|--------------------|-------------------|--------------|
|                                   |                  | Evre 0-1<br>(n=59) | Evre ≥2<br>(n=31) |              |
| Hgb (g/dl)                        | 14 (9,6-18,6)    | 14 (9,6-18,6)      | 15 (10-17,7)      | <b>0,018</b> |
| WBC (10 <sup>3</sup> /µl)         | 7142,7±1601,9    | 7142±1662          | 7144±1506,8       | 0,995        |
| Nötrofil (10 <sup>3</sup> /µl)    | 4115,1±1283,3    | 4069,3±1270,2      | 4202,2±1324,7     | 0,643        |
| Lenfosit (10 <sup>3</sup> /µl)    | 2284,3±569,2     | 2344,5±532,6       | 2169,6±626,2      | 0,167        |
| Trombosit (10 <sup>3</sup> /µl)   | 248,2±66,1       | 262,8±63,8         | 220,4±62,4        | <b>0,003</b> |
| MCV (fl)                          | 84 (61-93)       | 83 (61-93)         | 85 (67-92)        | 0,107        |
| MPV(fl)                           | 10 (8,6-13)      | 10 (8,6-13)        | 10 (9-13)         | 0,062        |
| RDW (%)                           | 40 (12-97)       | 40 (12-97)         | 40 (13-57)        | 0,785        |
| Glukoz (mg/dl)                    | 96 (71-222)      | 97,5 (71-146)      | 86 (74-222)       | 0,711        |
| Kreatinin (mg/dl)                 | 0,8 (0,4-1,2)    | 0,7 (0,4-1,2)      | 0,9 (0,7-1)       | <b>0,024</b> |
| eGFR (ml/dk/1,73 m <sup>2</sup> ) | 99,3±17,5        | 101,8±18,6         | 94,7±14,6         | 0,090        |
| ALT (iU/l)                        | 27 (10-416)      | 25 (10-309)        | 42 (11-416)       | <b>0,023</b> |
| AST (iU/l)                        | 28 (14-379)      | 25 (14-213)        | 36 (17-379)       | <b>0,001</b> |
| ALP (iU/l)                        | 82,1±32,1        | 82,3±34,4          | 81,9±29,6         | 0,973        |
| GGT (iU/l)                        | 24,5 (10-309)    | 22 (10-100)        | 34 (10-309)       | <b>0,005</b> |
| Total bilirubin (mg/dl)           | 0,6 (0,1-3)      | 0,6 (0,2-3)        | 0,7 0,1(-2,4)     | <b>0,012</b> |
| Direkt bilirubin (mg/dl)          | 0,1 (0,1-1,4)    | 0,1 (0,1-1,4)      | 0,1 (0,1-0,9)     | 0,611        |
| Albümin (g/dl)                    | 4,4 (2,3-5)      | 4,1 (2,3-5)        | 4,1 (2,7-4,4)     | 0,383        |
| LDL (mg/dl)                       | 123,2±41,7       | 124±43,1           | 121±43,8          | 0,907        |
| HDL (mg/dl)                       | 45,5 (38-86)     | 45,5 (38-86)       | 44 (41-51)        | 0,429        |
| Trigliserid (mg/dl)               | 124,2±59,7       | 123±65,6           | 128±42,5          | 0,821        |
| Alfa klotho (ng/ml)               | 1,25±0,12        | 1,26±0,12          | 1,23±0,12         | 0,425        |

\*Normal dağılan sayısal parametreler ortalama ± standart sapma, normal dağılmayanlar ortanca (minimum-maksimum) şeklinde sunulmuştur

Hastalar karaciğer biyopsisi HAI skorlarına (<6 ve ≥6) göre karşılaştırıldığında; gruplar arasında cinsiyet dağılımı ve yaş ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla; p=0,260 ve p=0,312). HAI skoru ≥6 olan grupta HBsAg düzeyi (p=0,015) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük, HBV DNA (p=0,039), APRI (p<0,001), FIB-4 (p=0,002) ve fibrozis evresi (p<0,001) düzeyleri ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek saptandı (Tablo 4.8).

**Tablo 4.8. Hasta grubunun HAI skoruna göre demografik ve hepatit B ilişkili bulgularının karşılaştırılması**

| Parametreler            | Toplam (n=90)                        | HAI                                  |                                      | p                |
|-------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------|
|                         |                                      | <6 (n=31)                            | ≥6 (n=59)                            |                  |
| <b>Cinsiyet</b>         |                                      |                                      |                                      |                  |
| • Kadın, n (%)          | 42 (%46,7)                           | 17 (%54,8)                           | 25 (%42,4)                           | 0,260            |
| • Erkek, n (%)          | 48 (%53,3)                           | 14 (%45,2)                           | 34 (%57,6)                           |                  |
| <b>Yaş (yıl)</b>        | 41,7±14,6                            | 39,5±13,5                            | 42,8±15,1                            | 0,312            |
| <b>HBsAg (s/co)</b>     | 4838 (729-7175)                      | 6245 (1014-7010)                     | 4328 (729-7175)                      | <b>0,015</b>     |
| <b>HBeAg (+), n (%)</b> | 8 (%8,9)                             | 2 (%6,5)                             | 6 (%10,2)                            | 0,710            |
| <b>HBV DNA (IU/ml)</b>  | 15360<br>(1943-445*10 <sup>6</sup> ) | 8831<br>(1943-47,9*10 <sup>6</sup> ) | 30150<br>(2150-445*10 <sup>6</sup> ) | <b>0,039</b>     |
| <b>AFP (µg/l)</b>       | 2,8 (0-67)                           | 2,2 (0-15)                           | 3,2 (0-67)                           | 0,053            |
| <b>APRI</b>             | 0,3 (0,1-4,6)                        | 0,2 (0,1-0,6)                        | 0,4 (0,1-4,6)                        | <b>&lt;0,001</b> |
| <b>FIB-4</b>            | 0,8 (0,2-7,2)                        | 0,6 (0,3-1,8)                        | 0,9 (0,2-7,2)                        | <b>0,002</b>     |
| <b>Fibrozis evre</b>    | 1 (0-4)                              | 1 (0-3)                              | 1 (1-4)                              | <b>&lt;0,001</b> |

\*Normal dağılan sayısal parametreler ortalama ± standart sapma, normal dağılmayanlar ortanca (minimum-maksimum) şeklinde sunulmuştur

Grupların laboratuvar parametreleri karşılaştırıldığında, HAI skoru  $\geq 6$  olan grupta trombosit düzeyi ( $p=0,040$ ) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük, ALT ( $p=0,016$ ), AST ( $p=0,001$ ) ve GGT ( $p=0,025$ ) düzeyleri ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek saptandı. Değerlendirilen diğer laboratuvar parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.9).



**Tablo 4.9. Hasta grubunun HAI skoruna göre laboratuvar bulgularının karşılaştırılması**

| Parametreler                      | Toplam<br>(n=90) | HAI           |               | P            |
|-----------------------------------|------------------|---------------|---------------|--------------|
|                                   |                  | <6 (n=31)     | ≥6 (n=59)     |              |
| Hgb (g/dl)                        | 14 (9,6-18)      | 14 (10-18)    | 14 (9,6-17,7) | 0,227        |
| WBC (10 <sup>3</sup> /μl)         | 7142,7±1601,9    | 7179,3±1744   | 7123,5±1537   | 0,876        |
| Nötrofil (10 <sup>3</sup> /μl)    | 4115,1±1283,3    | 4216,7±1295,2 | 4061,6±1284,9 | 0,589        |
| Lenfosit (10 <sup>3</sup> /μl)    | 2284,3±569,2     | 2262,5±534,9  | 2295,7±590,6  | 0,794        |
| Trombosit (10 <sup>3</sup> /μl)   | 248,2±66,1       | 267,9±57,6    | 237,8±68,4    | <b>0,040</b> |
| MCV (fl)                          | 84 (61-93)       | 83 (63-93)    | 85 (61-92)    | 0,069        |
| MPV(fl)                           | 10 (8,6-13)      | 10 (8,6-12)   | 10 (8,8-13)   | 0,184        |
| RDW (%)                           | 40 (12-97)       | 39 (12-52)    | 40 (35-97)    | 0,085        |
| Glukoz (mg/dl)                    | 96 (71-222)      | 100 (75-114)  | 91 (71-222)   | 0,605        |
| Kreatinin (mg/dl)                 | 0,8 (0,4-1,2)    | 0,8 (0,6-1,1) | 0,8 (0,4-1,2) | 0,868        |
| eGFR (ml/dk/1,73 m <sup>2</sup> ) | 99,3±17,5        | 97,4±18,6     | 100,1±17,2    | 0,539        |
| ALT (iU/l)                        | 27 (10-416)      | 22 (11-88)    | 34 (10-416)   | <b>0,016</b> |
| AST (iU/l)                        | 28 (14-379)      | 24 (14-50)    | 33 (15-379)   | <b>0,001</b> |
| ALP (iU/l)                        | 82,1±32,1        | 69,1±13,1     | 85±34,4       | 0,242        |
| GGT (iU/l)                        | 24,5 (10-309)    | 20 (10-50)    | 30 (10-309)   | <b>0,025</b> |
| Total bilirubin (mg/dl)           | 0,6 (0,1-3)      | 0,6 (0,2-1,2) | 0,7 (0,1-3)   | 0,099        |
| Direkt bilirubin (mg/dl)          | 0,1 (0,1-1,4)    | 0,1 (0,1-0,3) | 0,1 (0,1-1,4) | 0,541        |
| Albümin (g/dl)                    | 4,4 (2,3-5)      | 4,2 (3,7-4,8) | 4,1 (2,3-5)   | 0,151        |
| LDL (mg/dl)                       | 123,2±41,7       | 156±45,2      | 115±38,4      | 0,132        |
| HDL (mg/dl)                       | 45,5 (38-86)     | 53 (42-73)    | 44 (38-86)    | 0,301        |
| Trigliserid (mg/dl)               | 124,2±59,7       | 132±64,9      | 118±56,8      | 0,555        |
| Alfa klotho (ng/ml)               | 1,25±0,12        | 1,22±0,12     | 1,26±0,12     | 0,119        |

\*Normal dağılan sayısal parametreler ortalama ± standart sapma, normal dağılmayanlar ortanca (minimum-maksimum) şeklinde sunulmuştur

#### 4.4 KORELASYON ANALİZİ

Kronik hepatit B hastalarında serum alfa klotho düzeyi ile yaş, HBV ilişkili parametreler ve laboratuvar bulguları arasında korelasyon analizi uygulandı. Alfa klotho düzeyi ile değerlendirilen sayısal parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde korelasyon saptanmadı (Tablo 4.10).

**Tablo 4.10. Alfa klotho düzeyi ile diğer sayısal parametreler arasındaki korelasyon analizi sonuçları**

| Parametre                         | Korelasyon katsayısı (r) | p değeri |
|-----------------------------------|--------------------------|----------|
| Yaş (yıl)                         | 0,056                    | 0,601    |
| HBsAg (s/co)                      | 0,064                    | 0,573    |
| HBV DNA (IU/ml)                   | -0,098                   | 0,359    |
| Fibrozis evresi                   | -0,027                   | 0,798    |
| HAI skoru                         | 0,104                    | 0,329    |
| APRI                              | 0,072                    | 0,500    |
| FIB-4                             | 0,056                    | 0,602    |
| AFP (µg/l)                        | -0,146                   | 0,222    |
| Hgb (g/dl)                        | 0,054                    | 0,616    |
| WBC (10 <sup>3</sup> /µl)         | 0,046                    | 0,665    |
| Nötrofil (10 <sup>3</sup> /µl)    | 0,069                    | 0,518    |
| Lenfosit (10 <sup>3</sup> /µl)    | -0,093                   | 0,385    |
| Trombosit (10 <sup>3</sup> /µl)   | -0,006                   | 0,952    |
| MCV (fl)                          | 0,032                    | 0,762    |
| MPV(fl)                           | 0,008                    | 0,943    |
| RDW (%)                           | 0,085                    | 0,428    |
| Glukoz (mg/dl)                    | -0,016                   | 0,909    |
| Kreatinin (mg/dl)                 | 0,034                    | 0,764    |
| eGFR (ml/dk/1,73 m <sup>2</sup> ) | -0,011                   | 0,924    |
| ALT (iU/l)                        | 0,046                    | 0,665    |
| AST (iU/l)                        | 0,087                    | 0,416    |
| ALP (iU/l)                        | -0,092                   | 0,578    |
| GGT (iU/l)                        | -0,134                   | 0,209    |
| Total bilirubin (mg/dl)           | 0,101                    | 0,345    |
| Direkt bilirubin (mg/dl)          | 0,028                    | 0,790    |
| Albümin (g/dl)                    | 0,103                    | 0,532    |
| LDL (mg/dl)                       | -0,120                   | 0,671    |
| HDL (mg/dl)                       | 0,092                    | 0,736    |
| Trigliserid (mg/dl)               | -0,090                   | 0,654    |

## 5. TARTIŞMA

Kronik hepatit B hastalarında serum alfa klotho düzeyi ile karaciğerde fibrozis varlığı ve fibrozis evresi arasındaki ilişkiyi araştırdığımız bu çalışmada, iki değişken arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Serum alfa klotho düzeyi, KHB hastalarında kontrol grubundan daha yüksek bulunmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bilgilerimize göre bu çalışma, KHB hastalarında serum alfa klotho düzeyinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Sonuçlarımız, ileride bu konuda yapılacak çalışmalara yön göstermesi açısından önemlidir.

Karaciğer hastalıklarında alfa klotho proteini ile gerçekleştirilen az sayıda çalışma bulunmakta ve çelişkili sonuçlar yer almaktadır. Prystupa ve arkadaşlarının 54 alkolik karaciğer sirozu ve 18 sağlıklı kontrol ile bildirdikleri bir çalışmada, hasta ve kontrol grubunun alfa klotho düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Siroz hastaları CHILD sınıflamasına göre üç gruba ayrılıp değerlendirildiğinde de grupların alfa klotho düzeyleri benzer bulunmuştur. Ancak, serum CRP düzeyi ile alfa klotho düzeyi arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır. Yazarlar, alfa klotho ölçümünün alkolik karaciğer siroz varlığını ve şiddetini tespit etmede iyi bir belirteç olmadığını ifade etmişlerdir. Serum CRP düzeylerinin artması ile alfa klotho düzeylerinin düşmesini (negatif korelasyonu) ise alfa klotho proteinin anti-inflamatuvar özellikleri ile açıklamaya çalışmışlardır. Alkolik karaciğer sirozunun kronik inflamatuvar bir hastalık olduğu ve bu durumun bozulmuş alfa klotho ekspresyonu ile ilişkili olabileceği yorumunu yapmışlardır. Bu yorumlarını Navarro-Gonzalez ve arkadaşlarının koroner arter hastalığı olan hastalarda bildirdikleri çalışma ile desteklemeye çalışmışlardır (77). Bu çalışmada, ciddi koroner arter hastalığı olanlarda serum alfa klotho düzeyinin ve damar duvarında alfa klotho gen ekspresyonunun daha düşük olduğu tespit edilmiştir (80).

Gonzalez-Reimers ve arkadaşlarının bildirdikleri çalışmada, 131 alkol bağımlısı hasta (54'ü sirotik) ve 41 sağlıklı kontrolün serum alfa klotho ve FGF-23 düzeyleri ile bilgisayarlı tomografi üzerinden beyin atrofi durumları değerlendirilmiştir. Hasta grubunda beyin atrofisi daha belirgin, FGF-23 düzeyleri daha yüksek ve alfa klotho düzeyleri daha düşük bulunmuştur. Hasta grubu kendi

içinde değerlendirildiğinde, sirotik olanlarda alfa klotho düzeyi daha yüksek ölçülmüştür. Alfa klotho düzeyi ile beyin atrofisi arasında negatif korelasyon saptanmıştır (ventriküler indeks ile  $r=-0,23$ ,  $p=0,008$ ). Alfa klotho ile TNF-alfa arasında pozitif ( $r=0,22$ ,  $p=0,002$ ), TGF-beta arasında negatif ( $r=-0,34$ ,  $p=0,002$ ) korelasyon tespit edilirken, CRP ve malondialdehid düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ek olarak, alfa klotho düzeyi ve bozulmuş karaciğer fonksiyonları arasında ilişki tespit edilmiştir (albümin,  $r=-0,30$ ,  $<0,001$ ; protrombin aktivitesi,  $r=-0,38$ ,  $p<0,001$ ; bilirubin  $r=0,35$ ,  $p<0,001$ ). Yazarlar, alfa klothonun hücre koruyucu, yaşlanma karşıtı, anti-oksidan ve anti-fibrotik gibi pozitif özellikleri olmasına rağmen; bu çalışmada beklenenin aksine sirotik olanlarda daha yüksek, beyin atrofisi ve karaciğer fonksiyonlarında bozulma ile ilişkili tespit edilmesini, hücreleri stres faktörlerinden korumak adına alfa klotho düzeylerinde kompensatuar bir artışın gerçekleşmiş olabileceği hipotezi ile açıklamaya çalışmışlardır. Yazarlar yorumlarını Dounousi ve arkadaşlarının sepsis hastalarında alfa klothonun seyrini araştırdıkları çalışma ile desteklemeye çalışmışlardır (11). Bu çalışmada, alfa klotho düzeyinin enfeksiyonun pik döneminde arttığı ve enfeksiyon bittikten sonra normal seviyelere döndüğü bildirilmiştir (75).

Quintero-Platt ve arkadaşlarının bildirdikleri bir çalışmada, 97 alkol bağımlısı (40'ı sirotik) ve 20 sağlıklı kontrolün serum alfa klotho ve FGF-23 düzeyleri incelenmiştir. Sirotik olan hastalarda, olmayanlara ve kontrol grubuna göre alfa klotho düzeyi daha yüksek bulunmuş, ancak sirotik olmayan hastalar ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Alfa klotho düzeyi ile albümin ve protrombin arasında negatif, bilirubin ve CHLD skoru arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Yazarlar, alfa klotho düzeyinin sirotik olmayan hastalar ve kontrol grubu arasında benzer olması ve sirotik hastalarda bu iki gruptan daha yüksek olmasını, alfa klotho ekspresyonu için daha ciddi bir karaciğer fonksiyon bozukluğunun gerektiği şeklinde yorumlamışlardır (81).

Chen ve arkadaşlarının bildirdiği çalışmada, klinik takipli 52 hepatoma hastasının tümör biyopsilerinin immünohistokimyasal olarak klotho ile boyanma düzeyleri araştırılmıştır. Boyanma düzeyi ile karaciğer sirotik, tümör çoğalması ve venöz invazyon arasında ilişki tespit edilmiştir. Yüksek klotho ekspresyonu gösteren hepatoma hastalarının genel sağ kalımı daha düşük bulunmuştur. Ek olarak,

klothonun fazla ekspresyonu hücrelerin migrasyonunu, bağımsız büyümesini ve apoptoza direncini artırmıştır. Yazarlar bulgularını klothonun hepatokarsinogenezde onkojenik fonksiyona sahip olduğunu yönünde yorumlamışlardır (82).

Çalışmamızda, serum alfa klotho düzeyini KHB hastalarında kontrol grubundan daha yüksek bulmamıza rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0.098$ ). Kronik hepatit B hastalarında, alfa klotho düzeyi ile fibrozis derecesi ve histolojik değişiklikler arasındaki ilişkiyi biyopsilerde elde edilen fibrozis evresi ve HAI skoru üzerinden değerlendirdik. Hastaları fibrozis evreleri ve HAI skorlarına göre gruplara ayırıp, alfa klotho düzeylerini karşılaştırdığımızda, gruplar arasında anlamlı fark bulamadık. Korelasyon analizinde, serum alfa klotho düzeyi ile fibrozis evresi, HAI skoru ve başta HBV ilişkili laboratuvar bulguları ve karaciğer fonksiyon testleri olmak üzere biyokimyasal ve hematolojik parametreler arasında ilişki bulamadık. Sonuç olarak, serumda alfa klotho ölçümünün KHB hastalarında fibrozis derecesinin bir göstergesi olmadığı ve biyopsiye alternatif olarak kullanılamayacağı sonucuna vardık. Karaciğer hastalıklarından, sirotik ve non-sirotik alkoliklerde ve HCC hastalarında bildirilen serumda ve dokuda alfa klotho çalışmalarını yukarıda özetledik. Ancak, bilgilerimize göre literatürde daha önce KHB hastalarında serum alfa klotho düzeyi ile ilgili bir çalışma bildirilmediği için, sonuçlarımızı literatür ile doğrudan karşılaştıramadık.

Kronik hepatit B enfeksiyonu prevalansı erkeklerde bir miktar daha yüksek bildirilmesine rağmen, genel olarak her iki cinsiyet arasında tespit edilme oranı açısından önemli bir fark yoktur. Ott ve arkadaşlarının bildirdikleri meta-analizde, dünya genelinde hepatit B epidemiyolojisini ortaya koymak için 396 makale incelenmiş ve HBsAg pozitifliği erkeklerde %3,9 kadınlarda ise %3,5 olarak saptanmıştır (83). Ülkemizden Tözün ve arkadaşları tarafından bildirilen bir prevalans çalışmasında, 5460 kişi taranmış ve 218 (%4) kişide HBsAg tahlili pozitif bulunmuştur. Pozitif bulunanlarda yaş ortalaması  $42,8 \pm 13,8$  yıl, erkek cinsiyet oranı ise %59 olarak bildirilmiştir (84). Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde, KHB hastaları arasında erkek oranı bir miktar daha yüksek bulunmuş (%53'e karşın % 47) ve yaş ortalaması  $41,7 \pm 14,6$  olarak hesaplanmıştır.

Kronik hepatit B hastalarında hepatik fibrozisin yaygınlığını ve nekro-inflamatuvar aktivitenin şiddetini doğru tespit etmek, tedavi stratejisini belirlemek için anahtar role sahiptir. Kronik hepatit B hastalarında karaciğer fonksiyon ve hasar testleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla yaygın olarak ölçülen aminotransferaz düzeyleri zaman içerisinde dalgalanma gösterebilir ve tekli ölçümler hastalık şiddetini yansıtmayabilir (85). Örneğin, Chao ve arkadaşlarının bildirdiği meta-analizde, ALT düzeyi normal (<40 IU/L) olan hastaların %20,7'sinin biyopsisinde ileri seviyede fibrozis olduğu tespit edilmiştir (86). Genellikle ALT düzeyi AST'den yüksek seyrederek, ancak siroza progresyonda bu oran tersine dönebilir. Serum albümin düzeyinde düşme, bilirubin düzeyinde artma ve protrombin zamanında uzama dekompanse siroz gelişiminin göstergeleridir. Karaciğer biyopsisi, histolojik değerlendirme için referans standart yöntemdir. Ancak, hastalığın karaciğerde düzensiz dağılım gösterdiğini ve biyopsi ile karaciğerin yaklaşık 1/50.000'inin değerlendirilebildiğini unutmamak gerekir. Karaciğer biyopsisi genel olarak güvenli bir işlem olarak kabul edilir. Ancak, invaziv olması ve hemoraji, pnömotoraks ve işlem ilişkili mortalite gibi nadir ama önemli komplikasyonları vardır. Bu nedenle karaciğer hasarını tespit etmek için non-invaziv, doğru ve tekrarlanabilir testlere ihtiyaç vardır. Bu amaçla çalışmamızda, serum alfa klotho ölçümü ile fibrozis düzeyi arasında ilişki olup olmadığını araştırdık, ancak bu iki parametre arasında anlamlı bir ilişki bulamadık. Ek olarak, karaciğer fibrozisini öngörmek için yaygın olarak kullanılan ve biyokimyasal parametreler üzerinden elde edilen non-invaziv yöntemlerden APRI ve FIB-4 skorlarını değerlendirdik. APRI skoru AST değerinin trombosit sayısına oranlanması ile elde edilir. FIB-4 indeksinin hesaplanmasında ise trombosit sayısı, yaş, AST ve ALT değerleri kullanılır. Her iki yöntem de basit, kolay ulaşılabilen, ucuz ve yorumu kolay testlerdir (85). Kronik hepatit B hastalarında bu testlerin performansının araştırıldığı bir meta-analizde, belirgin fibrozisi (evre  $\geq 2$ ) tespit etmede APRI için düşük (0,5) ve yüksek (1,5) eşik değerler belirlenmiştir. Düşük eşik değer için sensitivite %70, spesifite %60; yüksek eşik değer için ise sensitivite %36,9, spesifite %92,5 olarak bildirilmiştir. FIB-4 indeksi için ise 1,45 ve 3,25 eşik değerleri belirlenmiş ve düşük eşik değer için sensitivite %65,4, spesifite %73,6; yüksek eşik değer için ise sensitivite %16,2, spesifite %95,2 olarak bildirilmiştir. Sonuç olarak yazarlar, HBV ilişkili fibrozisi

göstermede APRI ve FIB-4 ölçümünün orta düzeyde sensitivite ve doğruluğa sahip olduğu yorumunu yapmışlardır (87). Bizim hastalarımızın ortanca APRI değeri 0,3 ve FIB-4 skoru 0,8 olarak bulundu. Çalışmaya dekompanse siroz hastalarının dahil edilmemiş olması nedeniyle skorlarımızın düşük bulunduğunu düşünmekteyiz. Literatür ile uyumlu olacak şekilde, fibrozis evresi ve HAI skoru yüksek olan gruplarda APRI ve FIB-4 skorları anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

Kronik hepatit B hastalarında karaciğer sirozu gelişimini değerlendirmek için tıbbi öykü, fizik muayene, laboratuvar çalışmaları ve USG yaygın olarak birlikte kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasından USG, HCC taramasında da kullanılmaktadır ve klinik pratikte karaciğer biyopsisi planlanan hastalarda olası yer kaplayan lezyonları (hemanjiom, tümör vb.) dışlamak için sıklıkla uygulanmaktadır. Splenomegali, parankim ekusunun kabalaşması, karaciğer yüzeyinde nodülarite ve künt kenarlar, asit ve portal vende trombüs karaciğer sirozu ile ilişkili bulgulardır (88). Bizim çalışmamızda, biyopsi yapılan hastaların %63,3'ünün hastane otomasyon sisteminde USG raporu mevcuttu. Diğer hastalar, muhtemelen farklı merkezlerden hastanemize sevk edildiği için USG raporlarına ulaşamadı. Değerlendirilen USG raporlarının yaklaşık yarısı normal iken, hastaların %43,9'unda hepatosteatoz tespit edildi. Son yıllarda, global olarak hepatosteatoz prevalansı artmaktadır. Bununla ilişkili olarak, KHB hastalarında hepatosteatoz sıklığı ve önemi hakkında yayınlar bildirilmektedir (89, 90). Zheng ve arkadaşlarının bildirdiği güncel bir meta-analizde, 54 çalışma değerlendirilmiş ve KHB hastalarında hepatosteatoz prevalansı %32,8 bulunmuştur. Hepatosteatozu olan ve olmayan hastalar arasında belirgin fibrozis (evre  $\geq 2$  veya  $\geq 3$ ) prevalansı benzer bulunmuş ve hepatosteatoz ile fibrozis arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiş (OR:0,87) (90). Mak ve arkadaşlarının bildirdikleri çalışmada, tedavi naif, ALT düzeyi normal ve düşük viral yüke sahip (serum HBV DNA <2.000 IU/ml) 330 KHB hastası üç yıl takip edilmiş. Başlangıçta hastaların %48,8'inde hepatosteatoz tespit edilmiş ve bu hastalarda %4,2 oranında tespit edilen evre 3/4 fibrozis sıklığı üç yılın sonunda %8,7'ye yükselmiş, ancak paradoksik olarak, HBsAg seroklirensi bu grupta 3 kat daha fazla bulunmuştur (91). Sonuç olarak, çalışmamızda tespit edilen hepatosteatoz oranı literatür ile uyumludur. Ancak, etnik köken, yaş, obezite, yaşam tarzı ve başta diyabet olmak üzere ko-morbid hastalıkların hepatosteatoz sıklığını etkileyebileceğini akılda tutmak gerekir.

Dolayısıyla, sonuçlarımızı literatür ile doğrudan kıyaslamak yanıltıcı olabilir. Bununla birlikte, genel olarak karaciğer fonksiyonlarını bozduğu bilinen ve fibrozis gelişmesine sebep olabilen hepatosteatoz varlığının, diyet ve yaşam tarzı değişikliği önerileriyle takip edilmesi gereken bir klinik durum olarak değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Kronik hepatit B hastalarında; viral faktörler, cinsiyet, yaş, obezite, yüksek ALT düzeyleri, sigara ve alkol kullanımı karaciğer hastalığının şiddeti ile ilişkili faktörler olarak tanımlanmıştır (92-94). Bunlar arasından kadın cinsiyetin, özellikle pre-menapozal dönemde koruyucu bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Xiong ve arkadaşlarının bildirdiği çalışmada 716 kadın ve yaş uyumlu 716 erkek KHB hastasının karaciğer fibrozis bulguları değerlendirilmiş. Post-menapozal kadınlarda (OR:5,3,  $p<0,001$ ) ve yaş uyumlu erkek hastalarda (OR:2,2,  $p<0,05$ ), pre-menapozal kadınlara göre ileri derecede fibrozis riski anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş. Yazarlar bu sonuçları, KHB hastalarında kadın olmanın muhtemelen östrojen etkisiyle koruyucu bir faktör olduğu yönünde yorumlamışlardır (92). Benzer şekilde, Wang ve arkadaşlarının 305 KHB hastası ile bildirdikleri biyopsi çalışmasında, erkek cinsiyet ileri düzeyde karaciğer fibrozisi açısından risk faktörü olarak saptanmıştır ( $p=0,007$ ) (95). Ülkemizden Demir ve arkadaşlarının 456 KHB hastası ile bildirdikleri bir çalışmada, fibrozis skorları erkeklerde anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p=0,01$ ). Hastaları fibrozis skoruna göre düşük (evre 0-2) ve yüksek (evre 3-5) şeklinde iki gruba ayırıp karşılaştırma yaptıklarında; yüksek olan grupta yaş, AST, ALT, HBV-DNA düzeylerini daha yüksek, trombosit sayısını ise daha düşük saptamışlardır. Regresyon analizinde, erkek cinsiyette fibrozis riski 4,6 kat fazla bildirilmiştir (96). Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olacak şekilde, ileri düzeyde fibrozisi olan grupta erkek hasta oranı (%74,2'e karşın %25,8,  $p=0,004$ ) ve yaş ortalaması anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur ( $45,9\pm 16,2$ 'ye karşın  $39,5\pm 13,3$ ,  $p=0,048$ ).

Serum ALT düzeyi ölçümü; ucuz, non-invaziv, kolay ulaşılabilen ve tekrarlanabilen bir biyokimyasal yöntemdir ve ALT düzeylerindeki artış karaciğer hasarının duyarlı bir göstergesidir. Ancak, KHB hastalarında, özellikle HBeAg negatif olanlarda ALT düzeyleri dalgalanma gösterebilir ve vücut kitle indeksi, ilaçlar ve metabolik bozukluklardan etkilenebilir. Bununla birlikte birçok

çalışmada, yüksek ALT düzeyi karaciğer fibrozis düzeyi ile ilişkili bulunmuştur (95-97). Örneğin; Wang ve arkadaşlarının 305 KHB hastası ile bildirdikleri biyopsi çalışmasında, yüksek ALT düzeyleri ileri düzeyde karaciğer fibrozisi varlığının bağımsız bir göstergesi olarak bulunmuştur (OR:2,3, p=0,029) (95). Sonuçlarımızda, literatür ile benzer şekilde, fibrozis evresi yüksek olan hastalarda serum ALT düzeyde anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Cheng ve arkadaşlarının 115 KHB hastası ile bildirdikleri bir çalışmada, hastalar biyopsi bulgularına göre belirgin nekro-inflamasyon (HAI>6) ve fibrozis (evre>2) olanlar ve olmayanlar şeklinde gruplara ayrılmış ve hastaların laboratuvar bulguları karşılaştırılmıştır. Belirgin nekro-inflamasyonu olan grupta ALT (p=0,001) ve AST (p=0,004) düzeyleri daha yüksek, trombosit sayısı (p=0,016) ise daha düşük hesaplanmıştır. Belirgin fibrozisi olan grupta ise AST (p=0,012) ve GGT (p=<0,001) düzeyleri daha yüksek, trombosit sayısı (p=0,001) ise daha düşük saptanmıştır (98). Bizim çalışmamızda da, literatür ile uyumlu olacak şekilde, HAI skoru yüksek ( $\geq 6$ ) olan grupta ALT ve AST düzeyleri daha yüksek ve trombosit sayısı daha düşük bulunmuştur. Benzer şekilde, belirgin fibrozisi olan grupta AST ve GGT düzeyleri daha yüksek, trombosit değeri ise daha düşük saptanmıştır.

Karagöz ve arkadaşlarının 229 KHB hastası ile bildirdikleri bir çalışmada, hastalar biyopsi bulgularına göre fibrozis düzeyi düşük (<2) ve yüksek ( $\geq 3$ ) şeklinde gruplara ayrılmış ve hastaların biyokimyasal parametreleri karşılaştırılmış. Fibrozis düzeyi  $\geq 3$  olan grupta; serum total bilirubin (p=0,002) ve AST (p=0,001) seviyeleri daha yüksek bulunmuşken, trombosit (p=0,001) ve albümin (p<0,001) seviyeleri daha düşük bildirilmiştir (99). Çalışmamızda da, literatüre benzer şekilde fibrozisi skoru yüksek olan grupta ( $\geq 2$ ), serum total bilirubin düzeyi anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Kronik hepatit B hastalığı ile böbrek fonksiyon bozukluğu arasındaki ilişkiyi araştıran yayınlar bildirilmiştir, ancak bu yayınların sonuçları çelişkilidir. Fabrizi ve arkadaşlarının bildirdiği bir meta-analizde, 394.664 hastayı içeren 16 çalışmanın verileri incelenmiş ve HBV seropozitifliği ile KBH hastalığı veya proteinüri sıklığı arasında bir ilişki saptanmamıştır (100). Nguyen ve arkadaşlarının bildirdiği geniş kapsamlı bir popülasyon çalışmasında KHB hastalarında komorbiditelerin sıklığının

yıllar içerisinde değişimi araştırılmıştır. Toplam 44.206 KHB hastasının verileri 121.568 kontrol ile karşılaştırılmıştır. Kronik hepatit B hastalarında, KBH prevalansı 2006 yılında 36,1/1.000 iken, 2015 yılında 97,6/1.000'e yükselmiştir. Kontrol grubunda ise bu oran 10,2'den 38,8'e yükselmiştir ( $p<0,05$ ). Yazarlar, KHB hastalarında KBH sıklığının daha fazla olduğu ve bu durumun DM ve HT varlığında daha belirgin hale geldiği yorumunu yapmışlardır. Ancak, özellikle kullanılan anti-viral tedaviler gibi diğer faktörlerin bu duruma katkısının incelenmemiş olmasını bir kısıtlılık olarak bildirmişlerdir (101). Bizim çalışmamızda ise ileri düzeyde fibrozisi olan grupta serum kreatinin düzeyi yüksek bulunmuş, ancak eGFR düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Kronik hepatit B hastalarında, yüksek HBV DNA düzeyi karaciğer hasarı için bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir ve bununla ilişkili olarak, Avrupa kılavuzunda biyopsi ve tedavi açısından bir kriter olarak kabul edilmektedir. Ancak, hastalık seyrinde serum HBV DNA düzeyinde dalgalanmalar izlenebileceği için tek bir ölçüm ile karar verilmemesi, tekrarlayan ölçümler yapılması önerilmektedir (51). Ülkemizden Örmeci ve arkadaşlarının bildirdiği bir çalışmada, 120 KHB hastasının biyopsi sonuçlarına göre ( $HAI<6$  ve  $\geq 6$ , fibrozis evre  $<2$  ve  $\geq 2$ ) HBV DNA düzeyleri karşılaştırılmıştır. Hem HAI hem de fibrozis açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (102). Çin'den bildirilen bir çalışmada ise 550 KHB hastasının biyopsi sonuçlarında nekro-inflamasyon varlığı ( $HAI\geq 4$ ) ile ilişkili faktörler araştırılmıştır. Nekro-inflamasyon olan grupta; yaş, HBV DNA, AST, ALT ve GGT düzeyleri daha yüksek, albümin ve trombosit düzeyleri ise daha düşük bildirilmiştir (103). Bizim çalışmamızda, HBV DNA düzeyi açısından fibrozis grupları arasında anlamlı fark izlenmezken, HAI yüksek grupta HBV DNA düzeyi daha yüksek bulundu. Ancak, çalışmalarda HAI için farklı eşik değerlerin kullanılmış olması nedeniyle sonuçlarımızı doğrudan literatür ile kıyaslamak yanıltıcı bilgiler verebilir. Ek olarak, HBV DNA düzeylerinin dalgalı seyri dikkate alındığında, tek bir ölçüm ile yorum yapmak hatalı olabilir.

Çalışmamız için birtakım kısıtlılıklar mevcuttur ve bunlar üzerinden ileride bu konuda yapılacak çalışmalara öneriler sunulabilir. Öncelikle, çalışma tasarımı kesitsel özellikte ve vaka kontrol olarak düzenlenmiştir. Sebep sonuç ilişkisinin kuvvetli kurulabilmesi için, prospektif gözlemsel kohort çalışmalar daha güvenilir

bilgiler sunmaktadır. İkinci olarak, çalışmamıza üçüncü bir grup olarak KHB'ye sekonder siroz hastalarının dahil edilmemiş olması sayılabilir. Böylelikle hastalık şiddeti ile alfa klotho düzeyi arasında daha geniş yelpazede bir ilişki araştırma imkanı olabilirdi. Diğer bir öneri ise KHB için anti-viral tedavi altında olan ve HBV-DNA düzeyi sıfırlanmış bir grubun daha dahil edilmesi veya tedavi naif hastaların tedaviden belirli bir süre sonra (örn; viral klirens kadar) tekrar değerlendirilmesidir. Bunlar neticesinde, alfa klotho proteinin KHB hastalığı seyrinde tedavi ile değişimi hakkında bilgilere ulaşılabilir. Diğer önemli bir nokta ise kronik böbrek hastalığı, arterioskleroz, kardiyak hipertrofi, diyabet, obezite ve farklı kanser tipleri gibi insanlarda nadir izlenmeyen hastalıklarda alfa klothonun patofizyolojiye potansiyel olarak katkıda bulunduğu bildirilmiş olmasıdır (5). Başka bir ifade ile bu hastalıkların varlığında alfa klotho düzeyleri etkilenebilmektedir. Her ne kadar bu hastalıkların önemli bir kısmı çalışmamız için dışlama kriteri olarak belirlenmiş olsa da hastalık tanıları temel olarak öykü ve tıbbi kayıtlar üzerinden değerlendirilmiştir. Örneğin, arteriosklerozu veya kardiyak hipertrofisi olan bir hastaya detaylı kardiyolojik muayene ve tetkikler uygulanmaz ise bu tanılara ulaşmak mümkün olmayabilir. Bu kısıtlılığın önüne geçebilmek için, serbest (çözünür/soluble) alfa klotho ölçümünün yanı sıra, karaciğer biyopsilerinde doku düzeyinde alfa klotho ekspresyonu çalışmanın faydalı olacağını düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

- Serum alfa klotho düzeyi, KHB hastalarında yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.
- Kronik hepatit B hastalarında, karaciğer biyopsisinde ileri düzeyde fibrozis olanlar (evre $\geq$ 2) ve olmayanlar arasında serum alfa klotho düzeyi açısından anlamlı fark bulunmadı.
- Kronik hepatit B hastalarında, karaciğer biyopsisinde belirgin histolojik aktivite tespit edilenler (HAI $\geq$ 6) ve edilmeyenler arasında serum alfa klotho düzeyi açısından anlamlı fark bulunmadı.
- Kronik hepatit B hastalarında serum alfa klotho düzeyi ile yaş, HBV ilişkili parametreler, laboratuvar bulguları, biyopside fibrozis ve HAI skorları arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.
- Kronik hepatit B seyrinde, alfa klotho proteinin öneminin daha net ortaya konabilmesi için fazla sayıda hasta ile doku düzeyinde incelemeler başta olmak üzere, daha kapsamlı ve uzun süreli gözlem çalışmalarına ihtiyaç vardır.

## 7.KAYNAKLAR

1. Organization WH. Hepatitis B 2020. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>(erişim tarihi mayıs 2021).
2. McMahon BJ. Natural history of chronic hepatitis B - clinical implications. *Medscape J Med.* 2008;10(4):91.
3. Leblebicioglu H, Eroglu C. Acute hepatitis B virus infection in Turkey: epidemiology and genotype distribution. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(6):537-541.
4. Servoss JC, Friedman LS. Serologic and molecular diagnosis of hepatitis B virus. *Infect Dis Clin North Am.* 2006;20(1):47-61.
5. Kuro OM. The Klotho proteins in health and disease. *Nat Rev Nephrol.* 2019;15(1):27-44.
6. Cararo-Lopes MM, Mazucanti CHY, Scavone C, Kawamoto EM, Berwick DC. The relevance of  $\alpha$ -KLOTHO to the central nervous system: Some key questions. *Ageing Res Rev.* 2017;36:137-148.
7. Wang HJ, Zakhari S, Jung MK. Alcohol, inflammation, and gut-liver-brain interactions in tissue damage and disease development. *World J Gastroenterol.* 2010;16(11):1304-1313.
8. Hsieh CC, Kuro-o M, Rosenblatt KP, Brobey R, Papaconstantinou J. The ASK1-Signalosome regulates p38 MAPK activity in response to levels of endogenous oxidative stress in the Klotho mouse models of aging. *Aging (Albany NY).* 2010;2(9):597-611.
9. Maekawa Y, Ishikawa K, Yasuda O, Oguro R, Hanasaki H, Kida I, et al. Klotho suppresses TNF-alpha-induced expression of adhesion molecules in the endothelium and attenuates NF-kappaB activation. *Endocrine.* 2009;35(3):341-346.
10. Doi S, Zou Y, Togao O, Pastor JV, John GB, Wang L, et al. Klotho inhibits transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice. *J Biol Chem.* 2011;286(10):8655-8665.
11. González-Reimers E, Romero-Acevedo L, Espelosín-Ortega E, Martín-González MC, Quintero-Platt G, Abreu-González P, et al. Soluble Klotho and Brain Atrophy in Alcoholism. *Alcohol Alcohol.* 2018;53(5):503-510.
12. Martín-González C, González-Reimers E, Quintero-Platt G, Martínez-Riera A, Santolaria-Fernández F. Soluble  $\alpha$ -Klotho in Liver Cirrhosis and Alcoholism. *Alcohol Alcohol.* 2019;54(3):204-208.
13. Organization WH. Hepatitis 2019. Available from: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/hepatitis>(erişim tarihi mayıs 2021).
14. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL. *Harrison's Principles Of Internal Medicine* Türkçe. 17. ed2013. 1955 p.

15. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL. Harrison's Principles Of Internal Medicine Türkçe. 17. ed2013. 1932 p.
16. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9. ed2020. 1549 p.
17. Suh A, Brosius J, Schmitz J, Kriegs JO. The genome of a Mesozoic paleovirus reveals the evolution of hepatitis B viruses. *Nat Commun.* 2013;4:1791.
18. Aslan N, Bozdayı M. Hepatit b virusunun moleküler biyolojisi. *Turkiye Klinikleri Journal Gastroenterohepatol.* 2001;12(2):49-53.
19. Landers TA, Greenberg HB, Robinson WS. Structure of Hepatitis B Dane Particle DNA and Nature of the Endogenous DNA Polymerase Reaction. *Journal of Virology.* 1977;23(2):368-376.
20. Bennett BJE, Dolin R, Blaser MJ. mandell douglas and bennett's principles and practice of infectious diseases. 9. ed2020.
21. Gerin JL, Alexander H, Shih JW, Purcell RH, Dapolito G, Engle R, et al. Chemically synthesized peptides of hepatitis B surface antigen duplicate the d/y specificities and induce subtype-specific antibodies in chimpanzees. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1983;80(8):2365-2369.
22. Rydell GE, Prakash K, Norder H, Lindh M. Hepatitis B surface antigen on subviral particles reduces the neutralizing effect of anti-HBs antibodies on hepatitis B viral particles in vitro. *Virology.* 2017;509:67-70.
23. Janssen HLA, Fung S. hepatitis B. 11. ed. Feldman BM, Friedman LS, Brandt LJ, editors2020. 1216-1242 p.
24. Yan H, Zhong G, Xu G, He W, Jing Z, Gao Z, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife.* 2012;1:e00049.
25. Leblebicioglu H, Eroglu C, Group HS. Acute hepatitis B virus infection in Turkey: epidemiology and genotype distribution. *Clinical microbiology and infection.* 2004;10(6):537-541.
26. Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT, Krause G, Ott JJ. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet.* 2015;386(10003):1546-1555.
27. Radun D. Epidemiology of Hepatitis B in Germany. Available from: [https://www.vhpb.org/files/html/Meetings\\_and\\_publications/Presentations/S34Radunberlin03.pdf](https://www.vhpb.org/files/html/Meetings_and_publications/Presentations/S34Radunberlin03.pdf)(erişim tarihi mayıs 2021).
28. van Houdt R, Bruisten SM, Speksnijder AG, Prins M. Unexpectedly high proportion of drug users and men having sex with men who develop chronic hepatitis B infection. *J Hepatol.* 2012;57(3):529-533.
29. McMahon BJ, Alward WLM, Hall DB, Heyward WL, Bender TR, Francis DP, et al. Acute Hepatitis B Virus Infection: Relation of Age to the Clinical

Expression of Disease and Subsequent Development of the Carrier State. *The Journal of Infectious Diseases*. 1985;151(4):599-603.

30. Prevention ECfD, Control. Hepatitis B and C in the EU neighbourhood: prevalence, burden of disease and screening policies. ECDC. 2010.
31. Gerberding JL. Incidence And Prevalence Of Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus, And Cytomegalovirus Among Health Care Personnel At Risk For Blood Exposure: Final Report From A Longitudinal Study. *The Journal of Infectious Diseases*. 1994;170(6):1410-1417.
32. Prevention CfDca. Hepatitis B Questions and Answers for Health Professionals 2020. Available from: <https://www.cdc.gov/hepatitis/hbv/hbvfaq.htm>(erişim tarihi mayıs 2021).
33. Akçam FZ. Hepatit B Virüsü Enfeksiyonu. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*. 2003;10(12):240.
34. Maini MK, Gehring AJ. The role of innate immunity in the immunopathology and treatment of HBV infection. *J Hepatol*. 2016;64(1 Suppl):S60-s70.
35. Rehermann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nat Med*. 2013;19(7):859-868.
36. Bowen DG, Zen M, Holz L, Davis T, McCaughan GW, Bertolino P. The site of primary T cell activation is a determinant of the balance between intrahepatic tolerance and immunity. *J Clin Invest*. 2004;114(5):701-712.
37. Wieland S, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(17):6669-6674.
38. Guidotti LG, Chisari FV. Noncytolytic control of viral infections by the innate and adaptive immuneresponse. *Annual review of immunology*. 2001;19(1):65-91.
39. Ferrari C, Missale G, Boni C, Urbani S. Immunopathogenesis of hepatitis B. *J Hepatol*. 2003;39 Suppl 1:S36-42.
40. Curry MP, Koziel M. The dynamics of the immune response in acute hepatitis B: new lessons using new techniques. *Hepatology*. 2000;32(5):1177-1179.
41. Thimme R, Wieland S, Steiger C, Ghayeb J, Reimann KA, Purcell RH, et al. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol*. 2003;77(1):68-76.
42. Maini MK, Boni C, Lee CK, Larrubia JR, Reignat S, Ogg GS, et al. The role of virus-specific CD8(+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection. *J Exp Med*. 2000;191(8):1269-1280.
43. Kakimi K, Lane TE, Wieland S, Asensio VC, Campbell IL, Chisari FV, et al. Blocking chemokine responsive to gamma-2/interferon (IFN)-gamma inducible protein and monokine induced by IFN-gamma activity in vivo reduces the

pathogenetic but not the antiviral potential of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med.* 2001;194(12):1755-1766.

44. Bertoletti A, Ferrari C, Fiaccadori F, Penna A, Margolskee R, Schlicht HJ, et al. HLA class I-restricted human cytotoxic T cells recognize endogenously synthesized hepatitis B virus nucleocapsid antigen. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1991;88(23):10445-10449.

45. Kamatani Y, Wattanapokayakit S, Ochi H, Kawaguchi T, Takahashi A, Hosono N, et al. A genome-wide association study identifies variants in the HLA-DP locus associated with chronic hepatitis B in Asians. *Nat Genet.* 2009;41(5):591-595.

46. Tütüncü E. Hepatit B Enfeksiyonu İmmünpatogenez. Kandemir Ö, Danalıoğlu A, editors: *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*; 2015. 28-40 p.

47. Cheema R, Blumberg DA. *Hepatitis B Infection.* 2. ed. Jong E, Stevens D, editors 2021. 65-69 p.

48. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med.* 1996;2(10):1104-1108.

49. Al-Taie OH, Mörk H, Gassel AM, Wilhelm M, Weissbrich B, Scheurlen M. Prevention of hepatitis B flare-up during chemotherapy using lamivudine: case report and review of the literature. *Ann Hematol.* 1999;78(5):247-249.

50. Chu CM, Liaw YF. Hepatitis B virus-related cirrhosis: natural history and treatment. *Semin Liver Dis.* 2006;26(2):142-152.

51. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 2017;67(2):370-398.

52. Lok AS, Zoulim F, Dusheiko G, Ghany MG. Hepatitis B cure: From discovery to regulatory approval. *Hepatology.* 2017;66(4):1296-1313.

53. Mast EE, Margolis HS, Fiore AE, Brink EW, Goldstein ST, Wang SA, et al. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children, and adolescents. *MMWR Recomm Rep.* 2005;54(Rr-16):1-31.

54. Lai M, Hyatt BJ, Nasser I, Curry M, Afdhal NH. The clinical significance of persistently normal ALT in chronic hepatitis B infection. *J Hepatol.* 2007;47(6):760-767.

55. Iloeje UH, Yang HI, Chen CJ. Natural history of chronic hepatitis B: what exactly has REVEAL revealed? *Liver Int.* 2012;32(9):1333-1341.

56. Derneği TKA, Derneği VHS. *Kronik Viral Hepatit B Tanı Ve Tedavi Rehberi* 2017.

57. Puche J, Saiman Y, Friedman S. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Comprehensive Physiology.* 2013;3 4:1473-1492.

58. Yang L, Kwon J, Popov Y, Gajdos GB, Ordog T, Brekken RA, et al. Vascular endothelial growth factor promotes fibrosis resolution and repair in mice. *Gastroenterology*. 2014;146(5):1339-1350.e1331.
59. Rajakannu M, Cherqui D, Ciaccio O, Golse N, Pittau G, Allard MA, et al. Liver stiffness measurement by transient elastography predicts late posthepatectomy outcomes in patients undergoing resection for hepatocellular carcinoma. *Surgery*. 2017;162(4):766-774.
60. Singh S, Muir AJ, Dieterich DT, Falck-Ytter YT. American Gastroenterological Association Institute Technical Review on the Role of Elastography in Chronic Liver Diseases. *Gastroenterology*. 2017;152(6):1544-1577.
61. Kamath PS, Shah VH. Overview of Cirrhosis. 11. ed. Feldman BM, Friedman LS, Brandt LJ, editors 2020. 1164-1171 p.
62. Dionigi E, Garcovich M, Borzio M, Leandro G, Majumdar A, Tsami A, et al. Bacterial Infections Change Natural History of Cirrhosis Irrespective of Liver Disease Severity. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*. 2017;112(4):588-596.
63. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med*. 2001;344(7):495-500.
64. Oshima K. *Liver Histopathology*. 5. ed. McNally PR, editor 2015. 250 p.
65. Macdonald S, Andreola F, Bachtiger P, Amoros A, Pavesi M, Mookerjee R, et al. Cell death markers in patients with cirrhosis and acute decompensation. *Hepatology*. 2018;67(3):989-1002.
66. Bernsmeier C, Pop OT, Singanayagam A, Triantafyllou E, Patel VC, Weston CJ, et al. Patients with acute-on-chronic liver failure have increased numbers of regulatory immune cells expressing the receptor tyrosine kinase MERTK. *Gastroenterology*. 2015;148(3):603-615.e614.
67. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995;22(6):696-699.
68. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997;390(6655):45-51.
69. Çağlayan E, Turan K. *Klotho* geni, yaşlanma ve DNA metilasyonu. *Clinical and Experimental Health Sciences*. 2014;4(3):182-192.
70. Wang Y, Sun Z. Current understanding of *klotho*. *Ageing Res Rev*. 2009;8(1):43-51.
71. Donate-Correa J, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernández C, Navarro-González JF. FGF23/*Klotho* axis: phosphorus, mineral metabolism and beyond. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2012;23(1-2):37-46.
72. Kuro-o M. *Klotho* and aging. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1790(10):1049-1058.

73. Xu Y, Sun Z. Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging. *Endocr Rev.* 2015;36(2):174-193.
74. Rakugi H, Matsukawa N, Ishikawa K, Yang J, Imai M, Ikushima M, et al. Anti-oxidative effect of Klotho on endothelial cells through cAMP activation. *Endocrine.* 2007;31(1):82-87.
75. Dounousi E, Torino C, Pizzini P, Cutrupi S, Panuccio V, D'Arrigo G, et al. Intact FGF23 and  $\alpha$ -Klotho during acute inflammation/sepsis in CKD patients. *Eur J Clin Invest.* 2016;46(3):234-241.
76. Abdelmalik PA, Stevens RD, Singh S, Skinner J, Carhuapoma JR, Noel S, et al. Anti-aging factor, serum alpha-Klotho, as a marker of acute physiological stress, and a predictor of ICU mortality, in patients with septic shock. *J Crit Care.* 2018;44:323-330.
77. Prystupa A, Dąbrowska A, Sak JJ, Tarach J, Toruń-Jurkowska A, Lachowska-Kotowska P, et al. Concentrations of fetuin-A, osteoprotegerin and  $\alpha$ -Klotho in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Exp Ther Med.* 2016;12(5):3464-3470.
78. Lai M, Afdhal NH. Liver Fibrosis Determination. *Gastroenterol Clin North Am.* 2019;48(2):281-289.
79. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology.* 2007;46(1):32-36.
80. Navarro-González JF, Donate-Correa J, Muros de Fuentes M, Pérez-Hernández H, Martínez-Sanz R, Mora-Fernández C. Reduced Klotho is associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Heart.* 2014;100(1):34-40.
81. Quintero-Platt G, González-Reimers E, Rodríguez-Gaspar M, Martín-González C, Pérez-Hernández O, Romero-Acevedo L, et al. Alpha Klotho and Fibroblast Growth Factor-23 Among Alcoholics. *Alcohol Alcohol.* 2017;52(5):542-549.
82. Chen L, Liu H, Liu J, Zhu Y, Xu L, He H, et al. Klotho endows hepatoma cells with resistance to anoikis via VEGFR2/PAK1 activation in hepatocellular carcinoma. *PLoS One.* 2013;8(3):e58413.
83. Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine.* 2012;30(12):2212-2219.
84. Tozun N, Ozdogan O, Cakaloglu Y, Idilman R, Karasu Z, Akarca U, et al. Seroprevalence of hepatitis B and C virus infections and risk factors in Turkey: a fieldwork TURHEP study. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(11):1020-1026.
85. Sarin SK, Kumar M, Lau GK, Abbas Z, Chan HL, Chen CJ, et al. Asian-Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatitis B: a 2015 update. *Hepatol Int.* 2016;10(1):1-98.

86. Chao DT, Lim JK, Ayoub WS, Nguyen LH, Nguyen MH. Systematic review with meta-analysis: the proportion of chronic hepatitis B patients with normal alanine transaminase  $\leq 40$  IU/L and significant hepatic fibrosis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(4):349-358.
87. Xiao G, Yang J, Yan L. Comparison of diagnostic accuracy of aspartate aminotransferase to platelet ratio index and fibrosis-4 index for detecting liver fibrosis in adult patients with chronic hepatitis B virus infection: a systemic review and meta-analysis. *Hepatology.* 2015;61(1):292-302.
88. Lee S, Kim DY. Non-invasive diagnosis of hepatitis B virus-related cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2014;20(2):445-459.
89. Garcia-Saenz-de-Sicilia M, Duarte-Rojo A. Hepatic Steatosis and its Effects on Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16(4):491-494.
90. Zheng Q, Zou B, Wu Y, Yeo Y, Wu H, Stave CD, et al. Systematic review with meta-analysis: prevalence of hepatic steatosis, fibrosis and associated factors in chronic hepatitis B. 2021;54(9):1100-1109.
91. Mak LY, Hui RW, Fung J, Liu F, Wong DK, Cheung KS, et al. Diverse effects of hepatic steatosis on fibrosis progression and functional cure in virologically quiescent chronic hepatitis B. *J Hepatol.* 2020;73(4):800-806.
92. Xiong M, Li J, Yang S, Zeng F, Ji Y, Liu J, et al. Influence of Gender and Reproductive Factors on Liver Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis B Infection. *Clin Transl Gastroenterol.* 2019;10(10):e00085.
93. Wong GL, Wong VW, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, et al. Metabolic syndrome increases the risk of liver cirrhosis in chronic hepatitis B. *Gut.* 2009;58(1):111-117.
94. Wong GL. Prediction of fibrosis progression in chronic viral hepatitis. *Clin Mol Hepatol.* 2014;20(3):228-236.
95. Wang D, Zhang P, Zhang M. Predictors for advanced liver fibrosis in chronic hepatitis B virus infection with persistently normal or mildly elevated alanine aminotransferase. *Exp Ther Med.* 2017;14(6):5363-5370.
96. Aktug Demir N, Kolgelier S, Ozcimen S, Gungor G, Sumer S, Saltuk Demir L, et al. Evaluation of the relation between hepatic fibrosis and basic laboratory parameters in patients with chronic hepatitis B fibrosis and basic laboratory parameters. *Hepat Mon.* 2014;14(4):e16975.
97. Nguyen LH, Chao D, Lim JK, Ayoub W, Nguyen MH. Histologic changes in liver tissue from patients with chronic hepatitis B and minimal increases in levels of alanine aminotransferase: a meta-analysis and systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014;12(8):1262-1266.
98. Cheng JL, Wang XL, Yang SG, Zhao H, Wu JJ, Li LJ. Non-ALT biomarkers for markedly abnormal liver histology among Chinese persistently normal alanine

aminotransferase-chronic hepatitis B patients. *World J Gastroenterol.* 2017;23(15):2802-2810.

99. Karagoz E, Ulcay A, Tanoglu A, Kara M, Turhan V, Erdem H, et al. Clinical usefulness of mean platelet volume and red blood cell distribution width to platelet ratio for predicting the severity of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B virus patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2014;26(12):1320-1324.

100. Fabrizi F, Donato FM, Messa P. Association between hepatitis B virus and chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Ann Hepatol.* 2017;16(1):21-47.

101. Nguyen MH, Lim JK, Burak Ozbay A, Fraysse J, Liou I, Meyer N, et al. Advancing Age and Comorbidity in a US Insured Population-Based Cohort of Patients With Chronic Hepatitis B. *Hepatology.* 2019;69(3):959-973.

102. Ormeci A, Aydın Y, Sumnu A, Baran B, Soyer OM, Pınarbasi B, et al. Predictors of treatment requirement in HBeAg-negative chronic hepatitis B patients with persistently normal alanine aminotransferase and high serum HBV DNA levels. *Int J Infect Dis.* 2016;52:68-73.

103. Xie Y, Yi W, Zhang L, Lu Y, Hao HX, Gao YJ, et al. Evaluation of a logistic regression model for predicting liver necroinflammation in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients with normal and minimally increased alanine aminotransferase levels. *J Viral Hepat.* 2019;26 Suppl 1:42-49.