



T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**NAİF KRONİK VİRAL HEPATİT B'Lİ HASTALARDA
ANTİVİRAL TEDAVİNİN KARACİĞERDEKİ İNFLAMASYON
VE FİBROZİS SKORLARINA ETKİSİNİN SERUM GALECTİN-3
DÜZEYİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Arş. Gör. Dr. Mahmut Sefa TAŞ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Aşkın GÜNGÜNEŞ

YRD. DANIŞMAN

Doç. Dr. Özlem GÜL

KIRIKKALE

2023

**NAİF KRONİK VİRAL HEPATİT B'Lİ HASTALARDA
ANTİVİRAL TEDAVİNİN KARACİĞERDEKİ
İNFLAMASYON VE FİBROZİS SKORLARINA ETKİSİNİN
SERUM GALECTİN-3 DÜZEYİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Arş. Gör. Dr. Mahmut Sefa TAŞ

**İÇ HASTALIKLARI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Aşkın GÜNGÜNEŞ

YRD. TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Özlem GÜL

KIRIKKALE

2023

TUTANAKTIR

Fakültemiz Dahili Tıp Bilimleri Bölümü İç Hastalıkları Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütölmüş olan Araştırma Görevlisi Dr. Mahmut Sefa TAŞ'ın "Naif Kronik Viral Hepatit B'li Hastalarda Antiviral Tedavinin Karaciğerdeki İnflamasyon ve Fibrozis Skorlarına Etkisinin Serum Galectin-3 Düzeyi İle Değerlendirilmesi" konulu tezi Tıp Ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. Maddesinin 5. Fıkrası “Jüri en geç bir ay içerisinde tezi inceler, uzmanlık öğrencisinin tez savunmasını sözlü olarak yaptırır ve sonucunu yazılı ve gerekçeli olarak uzmanlık öğrencisi ile eğitim sorumlusuna bildirir” hükmü gereğince Araştırma Görevlisi Dr. Mahmut Sefa TAŞ uzmanlık eğitimi tezinde başarılı olmuştur.

Tez Savunma Tarihi: 23/02/2023

ÜYE

Prof. Dr. Arif Alper KIRKPANTUR

Kırıkkale Ü.T.F. Nefroloji B.D.

ÜYE

Doç. Dr. Aşkın GÜNGÜNEŞ

Kırıkkale Ü.T.F. Endokrinoloji ve

Metabolizma B.D.

ÜYE

Doç. Dr. Selim YALÇIN

Kırıkkale Ü.T.F. Tıbbi Onkoloji B.D.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLOLAR DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
SUMMARY	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Hepatit B virüsüne ait genel bilgiler	4
2.1.1. Tarihçe	4
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3. Bulaş yolları	5
2.1.4. Hepatit B virüs enfeksiyonu laboratuvar tanısı	5
2.1.5. İmmünopatogenez	7
2.1.6. Hepatit B Virüsünün Yapısı	8
2.1.7. Viral Replikasyon	10
2.1.8. Genotipler ve Mutasyonlar	11
2.1.9. Hepatit B Enfeksiyonu ve Klinik	12
2.1.10. Tedavi	15
2.2. Karaciğer Fibrozisi	16
2.3. Histopatolojik Değerlendirme	18
2.3.1. Kronik Viral Hepatit B'nin Derecelendirilmesi ve Evrelendirilmesi	18
2.3.2. Karaciğer Fibrozisi Serum Belirteçleri	20
2.4. Galectin	22
2.4.1. Galectin-3	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Hasta seçimi	27
3.2. Yöntemler	28
3.3. Biyokimyasal ölçümler	30

3.3.1. Galectin-3 ölçümü	30
3.4. Karaciğer biyopsisi ve histopatolojik inceleme.....	31
3.5. İstatiksel değerlendirme	31
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ	55
7. KAYNAKLAR	56

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım İç Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki tüm saygıdeğer hocalarıma, gerek asistanlık eğitimim süresince, gerekse tezimin her aşamasında birikim ve desteklerini esirgemeyen, tez danışmanım Doç. Dr. Özlem GÜL ve Doç. Dr. Aşkın GÜNGÜNEŞ'e ; İhtisasım süresince birlikte çalıştığım değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma, servis hemşirelerine ve diğer servis ve poliklinik personellerine;

Hayatım boyunca bana destek veren rahmetli babam Mustafa TAŞ başta olmak üzere ailemin tüm bireylerine, varlığıyla hayatıma anlam katan kızım Ebrar Hüma'ya ve hiçbir zaman desteğini, yardımlarını ve sevgisini benden eksik etmeyen yol arkadaşım sevgili eşim Kübra ÇALIŞKAN TAŞ'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

HBV	: Hepatit B virüsü
ECM	: Ekstrasellüler matriks
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
APRI	: Aspartat aminotransferaz / trombosit oranı indeksi
FIB-4	: Fibrozis-4
Gal-3	: Galectin-3
AUC	: ROC eğrisinin altında kalan alan (Area under ROC curve)
NASH	: Non Alkolik Steato Hepatit
HCC	: Hepatoselüler karsinom
HBsAg	: HBV yüzey antijeni
Anti-HBs	: HBV yüzey antijenine karşı gelişen antikor
USG	: Ultrasonografi
AFP	: Alfa fetoprotein
CCL₄	: Tersinir karbon tetraklorür
HSC	: Hepatik stellat hücreler (hepatic stellate cells)
MMP	: Pro-metalloproteinazları
TIMP	: Metalloproteinaz ailesinin spesifik doku inhibitörleri
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü (platelet derived growth faktör)
EMT	: Epitelyal-mezenkimal geçiş (epithelial-mesenchymal transitions)
HGF	: Hepatosit büyüme faktörün (hepatocyte growth factor)
HBx	: Hepatit B virüsü “X” proteini
HAİ	: Histolojik aktivite indeksi
CRD	: Karbonhidrat tanıma alanı (carbohydrate recognition domains)
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
FH	: Fumarat hidrataz
HCV	: Hepatit C virüsü
WBC	: Lökosit
HA	: Hiyalüronik asit
LN	: Laminin
GGT	: Gama-glutamil transferaz
ALP	: Alkalen fosfataz
INR	: Uluslararası normalleştirilmiş oran
PLT	: Platelet
ULN	: Normalin üst sınırı
GA	: Güven aralığı
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
ROC	: Receiver operating characteristic
IL	: İnterlökin
Th	: T helper
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör-alfa
IFN-γ	: İnterferon-gamma
DC	: Dendritic cell (dendritik hücre)
TGF-β	: Transforming growth factor (dönüştürücü büyüme faktörü)-beta
DNA	: Deoksiribonükleik asit

RNA	: Ribonükleik asit
cccDNA	: Covalently closed circular DNA
KHB	: Kronik hepatit B
HIV	: Human immunodeficiency virus
TGF-γ	: Transforming growth factor (dönüştürücü büyüme faktörü)-gamma
PT	: Protrombin time (protrombin zamanı)
VKİ	: Vücut kitle indeksi
mRNA	: Messenger (mesajcı) RNA



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Doğal seyri sırasında HBV belirteçleri, akut HBV enfeksiyonu (A) ve akut enfeksiyondan kronikleşmeye geçiş (B)	7
Şekil 2. Hepatit B partiküllerinin şematik gösterimi	9
Şekil 3. HBV'nin moleküler yapısı ve organizasyonu	10
Şekil 4. HBV'nin yaşam döngüsü	11
Şekil 5. Galectin ailesinin şematik gösterimi	23
Şekil 6. Galectin-3'ün fibrojenik etkilerini şematik olarak gösterimi	25
Şekil 7. Naif hasta grubunu kontrol grubundan ayırt etme amacıyla oluşturulan ROC eğrisi.....	36
Şekil 8. Tedavi edilen naif hasta grubunu kontrol grubundan ayırt etme amacıyla oluşturulan ROC eğrisi.....	38
Şekil 9. Naif hasta grubunu tedavi sonrası durumlarından ayırt etme amacıyla oluşturulan ROC eğrisi.....	42

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Hepatit B virüsü tanısında kullanılan serolojik ve virolojik belirteçler ...	6
Tablo 2. Hepatit B virüsü genotip ve alt tiplerinin coğrafi dağılımı	12
Tablo 3. Kronik HBV enfeksiyon fazları	14
Tablo 4. Modifiye HAI Skorumlama Sistemi	19
Tablo 5. Karaciğer fibrozisi tanısı için direk serum belirteçleri	21
Tablo 6. Naif ve kontrol grubundaki hastaların özellikleri	33
Tablo 7. Naif hasta grubunun kontrol grubuna göre tahmininde çalışma parametrelerinin ayırt edici performansı.....	35
Tablo 8. Kontrol grubu ile tedavi edilen naif hasta grubunun özelliklerinin karşılaştırılması.....	37
Tablo 9. Tedavi edilen naif hasta grubunun kontrol grubuna göre tahmininde çalışma parametrelerinin ayırt edici performansı.....	388
Tablo 10. Naif hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası özelliklerinin karşılaştırılması	40
Tablo 11. Naif hasta grubunun tedavi sonrası durumlarına göre tahmininde çalışma parametrelerinin ayırt edici performansı.....	41

ÖZET

TAŞ M S, Naif Kronik Viral Hepatit B’li Hastalarda Antiviral Tedavinin Karaciğerdeki İnflamasyon ve Fibrozis Skorlarına Etkisinin Serum Galectin-3 Düzeyi ile Değerlendirilmesi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2023

Amaç: Bu çalışmada, karaciğer biyopsisi sonrası kronik hepatit B tanısı konmuş hastalarda, serum galectin-3 düzeyinin tedavi öncesi ve sonrası serum düzeylerini tespit etmek, tedavi sonrası serum düzeylerindeki olası değişimin fibrozis derecesi ile ilişkili olup olmadığını göstermek, galectin-3’ün karaciğer fibrozisindeki düzelmeyi ve tedavi yanıtını öngörebilecek bir biyolojik belirteç olup olamayacağını araştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmaya Kırıkkale Üniversitesi Gastroenteroloji Bilim Dalı polikliniğine başvuran, biyokimyasal ve histolojik olarak Hepatit B tanısı almış 40 hasta ve bilinen herhangi bir hastalığı olmayan HBsAg negatif, karaciğer fonksiyon testleri normal 30 kişi dahil edilmiştir. Galectin-3 düzeyi ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Fibrozis modelleri ise orijinal makaledeki formüller ile hesaplanmıştır. Fibrozis evresi Ishak skorumaya sistemine göre değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızdaki hastaların tedavi öncesi ve sonrasındaki serum galectin-3 düzeyleri karşılaştırıldığında, tedavi öncesinde hastaların galectin-3 değerlerinin anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. Yapılan ROC-Curve analizinde galectin-3 belirtecinin naif hastaları, tedavi sonrası durumlarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde ayırt edebildiği görülmüştür (AUROC=0,660, p=0,010). Galectin-3 değişkeninin >11,7 düzeyinde duyarlılık %62,5 ve seçicilik %75 ile naif hastalardaki fibrozis durumunu tedavi sonrası fibrozis durumlarından ayırt edebileceği öngörülmüştür. Çalışmamızda naif hastaların APRI ve FIB-4 düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş, bu değerlerin naif hastaların tanısında istatistiksel olarak anlamlı tanı değeri taşıdığı (AUROC 0,773, 0,733) bulunmuştur. Yine bu değerlerin tedavi sonrasında anlamlı şekilde düşüş gösterdiği saptanmıştır.

Sonuç: Bu bulgular, tedavi sonrası fibrozisteki gerileme ile birlikte galectin-3 deęerinin de dūştūęünü; tedavi başarısının galectin-3 dūzeyi ile deęerlendirilebileceęini gōstermektedir. Ancak galectin-3'ün karacięer fibrozisi tanısında kullanılmak üzere fibrozisle iliřkisini deęerlendirmeye yōnelik daha fazla çalıřmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Kronik hepatit B, karaciğer fibrozisi, Galectin-3

SUMMARY

TAŞ M S, Evaluation of the Effect of Antiviral Therapy on Liver Inflammation and Liver Fibrosis Scores by Serum Galectin-3 Levels in Patients with Naive Chronic Viral Hepatitis B, Kırıkkale University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Thesis, Kırıkkale, 2023

Objective: In this study, we examined the relationship between galectin-3 levels before and after treatment and the possible change in serum levels after treatment with the degree of liver fibrosis in patients diagnosed with chronic hepatitis B after liver biopsy. Thus, we aimed to determine whether galectin-3 can be a biomarker that can predict the improvement in liver fibrosis and treatment response.

Materials and Methods: The study was carried out in Kırıkkale University Gastroenterology Department outpatient clinic. Forty patients who applied to the clinic, diagnosed with hepatitis B biochemically and histologically, and 30 patients with no known disease, HBsAg negative, and normal liver function tests were included. Galectin-3 level was measured by ELISA method. Fibrosis models were calculated using the formulas in the original article. Fibrosis stage was evaluated according to the Ishak scoring system.

Findings: The serum galectin-3 levels of the patients in our study were compared before and after the treatment, and it was seen that the galectin-3 values of the patients were significantly higher before the treatment. In the ROC-Curve analysis, it was observed that the galectin-3 marker could significantly distinguish naive patients from their post-treatment status (AUROC=0.660, $p=0.010$). It was predicted that Galectin-3 variable above the level of 11.7 could distinguish fibrosis status in naïve patients from post-treatment fibrosis with 62.5% sensitivity and 75% specificity. In our study, the APRI and FIB-4 levels of naive patients were found to be statistically significantly higher than the control group, and these values were found to have statistically significant diagnostic value (AUROC 0.773, 0.733) in the diagnosis of naive patients. It was also determined that these values decreased significantly after the treatment.

Conclusion: These findings show that galectin-3 level decreases with the regression in fibrosis after treatment and the success of treatment can be evaluated by galectin-3 level. However, more studies are needed to evaluate the relationship between galectin-3 and fibrosis for use in the diagnosis of liver fibrosis.

Keywords: Chronic hepatitis B, liver fibrosis, Galectin-3



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer fibrozu, birçok kronik karaciğer hastalığının sebep olduğu, ekstrasellüler matrikste (ECM) bulunan proteinlerin anormal artışı ve birikimine bağlı gelişen karaciğer hasarıdır. ECM proteinlerinin aşırı birikimi sonucunda karaciğer mimarisi bozulur ve buna bağlı siroz gelişir. Karaciğer fibrozu sinsiz başlangıçlı olup siroz gelişenlerde morbidite ve mortaliteye sebep olabilir (1).

Karaciğer fibrozu, kronik hepatit B (KHB) ve kronik hepatit C (KHC) gibi viral enfeksiyonlara maruziyet, alkol tüketimi, non alkolik steatohepatit (NASH), otoimmün hepatit, kolestatik karaciğer hastalıkları gibi birden fazla sebebe bağlı gelişebilir. Bu gibi altta yatan sebeplerin karaciğerdeki ortak etkisi, kronik inflamasyonla seyreden anormal yara iyileşmesidir. Fibrojeniz, ECM 'nin ana kaynağı olan miyofibroblastların aktive olması ile başlar (2). Aktivasyon ile birlikte proliferasyon, retinoid kaybı, sitokinlerin salınımı, kemotaksis ve matriksin bozulması gibi sürekli değişimler olur. Bu değişimler ise ECM proteinlerinin aşırı salınımına ve birikmesine sebep olur (3). Karaciğer fibrozunun sebebi ortadan kaldırılır ya da tedavi edilir ise fibrozun geri dönüşümü sağlanabileceği ve karaciğer mimarisinin normale dönebileceği bilinmektedir. Fakat ileri derece fibrozun geri dönüşümü genellikle yavaş ve seyrek olarak gelişir (4). Kısacası fibrozis tedavi edilmez ise karaciğerde parankim dokusunda ilerleyici düzeyde skar dokusu oluşumu, siroz ve hepatosellüler karsinom (HCC) gelişimine neden olur (5).

Dünyada kronik viral enfeksiyonlar içerisinde en sık görüleni HBV enfeksiyonudur. Dünya genelinde yaklaşık 2 milyar insanın HBV ile enfekte olduğu ve 350 milyondan fazlasının ise kronik taşıyıcı olduğu düşünülmektedir. HBV enfeksiyonu akut ile kronik hepatit, siroz ve HCC gelişimine neden olabilmektedir. HCC ile ölümlerin yaklaşık yarısının sebebi olarak HBV gösterilmektedir. Bu durum ise HBV enfeksiyonunu dünya üzerinde ciddi bir halk sorunu haline getirmektedir (6).

HBV genellikle prevelansın yüksek olduğu yerlerde yaşamın erken evresinde görülür. HBV enfeksiyonun bulaş yolları öncelikle vücut sıvısı ve kan yoluyla olup, perinatal bulaşın sebep olduğu vertikal bulaşın yanı sıra cinsel yolla bulaş, kan ürün

transfüzyonu ile perkutanöz bulaş, intravenöz madde kullanımı gibi horizontal bulaş şeklidir (7).

Akut HBV enfeksiyonu asemptomatik olabileceği gibi fulminan da seyredebilir. İnkübasyon süresi virüs ile karşılaşmayı takiben 6 hafta ile 6 ay arasında değişkenlik gösterir. Serum hepatit B yüzey antijeninin (HBsAg) 6 ay içerisinde negatifleşmemesi kronikleşme göstergesi olarak kabul edilir. Akut hepatit B geçirenlerin yaklaşık %10 kadarında kronikleşme görülür (8). Kronik hepatit B'li hastaların prognozunu hastalığın şiddetinin yanı sıra, HBV DNA seviyesi, HBV genotipi gibi viral faktörler ile yaş, cinsiyet, genetik yatkınlık, immün yanıtın şiddeti gibi konağa özgü faktörler belirlemektedir (9). Ayrıca karaciğer fibrozisi ile seyreden kronik hepatit B'li hastalarda fibrozis düzeyinin güçlü bir prognoz belirteci olduğu bilinmektedir. Bundan dolayıdır ki tedavi ve hastalık yönetiminin belirlenmesinde fibroz varlığının saptanması önem arz etmektedir (10).

Kronik hepatit B enfeksiyonu olanlarda tedavi planı için fibrozis varlığının ve şiddetinin doğru bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Karaciğer biyopsisi histopatolojik inceleme, altta yatan sebebin belirlenmesine ve nekroinflamatuvar derecenin saptanmasına olanak sağladığından günümüzde halen fibrozis varlığını göstermede altın standart olarak kabul görmektedir. Fakat karaciğer biyopsisi invaziv bir yöntemdir. Bu sebeple işlem sonrası komplikasyonlarla seyredebiliyor olması, örneklendirme ve histolojik inceleme hatalarının görülmesi sebebiyle karaciğer fibrozunun belirlenmesinde karaciğere özgü, güvenilir, invaziv olmayan, basit ve ucuz yöntemlere ihtiyaç vardır (1).

Son yıllarda karaciğer fibrozisini belirlemek için çok sayıda invaziv olmayan, uygulaması kolay ve ucuz metotlar geliştirilmiştir. Bunlar içerisinde Fibroscan, Manyetik Rezonans Elastografi (MRE), PAGE-B indeksi, aspartat aminotransferaz / trombosit oranı indeksi (APRI), aspartat aminotransferaz/ alanin aminotransferaz (AST/ALT) oranı, Fibrosis-4 (FIB-4), Hepascore ve Forns indeksi bulunmaktadır (11,12).

Galectinler, β -galaktozid bağlayıcı lektin ailesine ait en az bir karbonhidrat tanıma alanına sahip proteinlerdir (13). Günümüzde memelilere ait 15 tane galectin tanımlanmış olup, proto tip, tandem tekrarlayan tip ve kimera tip olmak üzere 3

gruba ayrılmıştır. Kimera tipin tek üyesi olan galectin-3, insanlarda 14. kromozomun üzerinde bulunan LGALS3 geni tarafından kodlanmaktadır (14).

Galectin-3, makrofaj, mast hücresi, monosit, eozinofil, dentritik hücre, T ve B hücresi gibi bağışıklık hücrelerinin yanı sıra çok sayıda organ ve dokuya ait epitel ve endotel hücresinden sentezlenir (15). Galectin-3 hem hücre içinde hem de hücre dışında bulunarak, gen transkripsiyonu, inflamasyon, apoptoz, fibrozis oluşumu, anjiyogenez, konak hücre savunması gibi çok sayıda biyolojik aktivite de görev alır (16).

Galectin-3 stabil bir biyobelirteç olup, yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi ve vücudun sirkadiyen ritminden etkilenmez. Bu nedenle galectin-3 çeşitli hastalıkların teşhis, takip ve tanılarında kullanılabileceği düşünülmektedir. Galectin-3'ün ekspresyon seviyelerinde artış ve azalmalar, kalp, böbrek, tiroid ve karaciğer hastalığı gibi birçok sistemik hastalıklarda, kanserlerde, metastazlarda ve enfeksiyonlarda gözlenir (17,18).

Karaciğerde fibrojeniz gelişmesi miyofibroblast aktivasyonu ve proliferasyonu ile başlar (19).

Yapılan bir takım in vitro çalışmalarda, karaciğer fibrozis modeli oluşturulanlarda, dışardan verilen galectin-3'ün miyofibroblast proliferasyonunu artırdığı görülmüştür. Sağlıklı rat karaciğerinde galectin-3 düzeyi minimal düzeyde, tersinir karbon tetraklorür (CCL₄) ile indüklenen ileri karaciğer fibrozunda ise yüksek düzeyde saptanmış ve iyileşme döneminde ise neredeyse saptanamayacak kadar düşük düzeyde ölçülmüştür (20,21).

Bu çalışmalardaki sonuçlara göre her ne kadar karaciğer fibrozis gelişiminde galectin-3'ün önemli bir yeri olduğu düşünülse de kronik karaciğer hastalıklarında prognozu önceden belirlemede ve tedavideki cevabının değerlendirilmesinde yerinin olup olmadığı bilinmemektedir.

Çalışmamızda, Fibrotik evresi ≥ 2 olan kronik viral hepatit B tanılı hastalarda tedavi öncesi ve sonrası galectin-3 düzeyinin fibrozis skorları ile ilişkili olup olmadığı ve galectin-3 düzeyinin fibrozisteki düzelme ile beraber tedavi yanıtını öngörüp öngöremeyeceğini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hepatit B virüsüne ait genel bilgiler

Hepatit B virüsü, akut ve kronik hepatite yol açabilen Hepadnaviridae ailesine üye hepatotropik virüstür. Dünya genelinde virüs ile enfekte olan yaklaşık 350 milyon insan bulunmaktadır. Kronik HBV enfeksiyonu karaciğere immün sistem üzerinden etki göstererek siroz ve HCC gelişimine sebep olabilir (22). Siroz ve HCC sebebiyle dünyada yaklaşık yılda 800.000 kişi hayatını kaybetmektedir. Bu da kronik hepatit B enfeksiyonunu küresel olarak halk sorunu haline getirmektedir (23).

2.1.1. Tarihçe

Hepatit B ile ilgili ilk büyük keşif 1963'te Blumberg ve arkadaşları tarafından Avustralya antijeninin bulunması ile başlamıştır (24). Bu antijenin 1970 yılında HBV ile bağlantılı olduğu ortaya çıkmış ve daha sonrasında ise hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) olarak adlandırılmıştır (25). Araştırmaların devamında enfektif etkisi olduğu bilinen “Dane partikülü” tanımlanmıştır (26). Tayvan'da Beasley ve arkadaşları tarafından bir çalışma sonucunda HBV'nin HCC gelişimine yol açtığı gösterilmiştir (27). 1980'lerin başında ise ilk HBV aşısı keşfedilmiştir (28). Ülkemizde 1998 yılından itibaren profilaksi amacıyla Hepatit B aşısı rutin uygulamaya alınarak önemli bir adım atılmıştır. Son yıllarda virüsün tanı ve tedavisi ile ilgili çok sayıda modern çalışmalar yapılmakta ve yeni gelişmeler izlenmektedir.

2.1.2. Epidemiyoloji

Kronik hepatit B enfeksiyonunun hem dünya geneline hem de ülkemize dağılımı bölgeler arasında değişkenlik göstermektedir. Batı Pasifik ve Afrika'da en yüksek prevalansa sahip olan HBV enfeksiyonu, Güney ve Kuzey Amerika bölgelerinde ise düşük prevalansa sahiptir. Doğu Akdeniz bölgesinde ise yayılım oldukça yüksektir (29). Ülkemizde yaklaşık 3,5 milyon kişi HBV ile enfekte olup, virüs ile temasta Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgesi diğer bölgelere daha yüksek orana sahiptir (30). Gelişmiş ülkelerde aşının kullanımının artması sonucu özellikle Avrupa ülkelerinde kronik hepatit B enfeksiyon prevalansında

ciddi düşmeler görülmüştür (31). HBV'nin endemik olarak yüksek seyrettiği ülkelerden düşük prevalansa sahip ülkelere göçün devam etmesi, siyasi ve askeri çatışmaların getirdiği göç hareketleri, artan deniz ve hava seyahatları sebebiyle HBV'yi kontrol altına almak oldukça güçleşmektedir (32).

2.1.3. Bulaş yolları

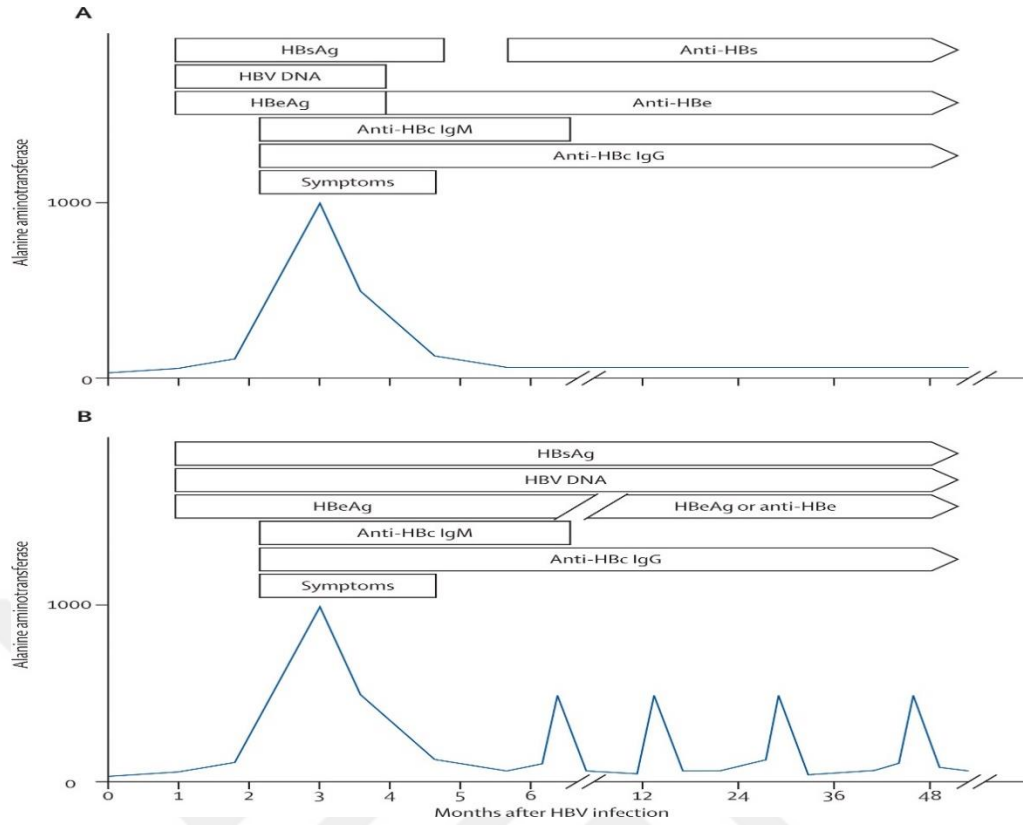
HBV insanlara, enfekte anneden yenidoğana perinatal-vertikal bulaş, cinsel temas yoluyla bulaş, perkütan (parenteral) yolla bulaş ve enfekte kişilerle cinsellik dışı yakın temasa bağlı horizontal bulaş olmak üzere 4 temel yolla bulaşır (33). HBV'nin bulaş şekli prevalansa göre çeşitlilik gösterir. Yüksek endemik bölgelerde bulaş genellikle perinatal yol ile iken, düşük endemik bölgelerde bulaş cinsel yolla ve uyuşturucu kullanımına bağlı perkütan yol ile olur (34)

2.1.4. Hepatit B virüs enfeksiyonu laboratuvar tanısı

HBV enfeksiyonu tanısı klinik, histolojik, biyokimyasal ve serolojik bulguların birleştirilmesi ile konulur. Konakçının serumunda HBV ile karşılaşıldıktan sonra çeşitli viral antijen ve antikörler saptanır. Virüse maruziyet sonrasında serumda görülen ilk belirteç HBsAg'dir (35). HBsAg, maruziyetten bir iki hafta sonra serumda tespit edilebilirken; HBsAg'nin devamlılığı kronikleşmeyi gösterir. HBsAg serumda saptandıktan sonra aminotransferaz yüksiksikleri eşlik edebilir. HBeAg ve HBV DNA replikasyon ve enfektivitenin göstergesidir (36). HBeAg genellikle hastalığın erken evresinde görülür ve enfeksiyonun zirvesinde kandan temizlenir. HBsAg ve HBV DNA ise klinik ve semptomlar geriledikten sonra ancak serumdan temizlenir. HBc antikörleri hastalığın başlangıcından kısa bir süre sonra önce immünoglobulin M (IgM) sınıfında, sonrasında iyileşme sürecinde ise IgG sınıfı şeklinde ortaya çıkar. Anti-HBc testi geçirilmiş hastalığı değerlendirmede en iyi göstergedir (37).

Tablo 1. Hepatit B virüsü tanısında kullanılan serolojik ve virolojik belirteçler (9)

Serolojik Belirteç	Açıklama
HBsAg	Hem akut hem de kronik enfeksiyonda pozitiftir. Temastan sonra serumda görülen ilk belirteçtir. 6 aydan uzun sürede serumda görülmesi kronik enfeksiyon göstergesidir.
HBeAg	HBV replikasyonunu gösterir.
HBV DNA	HBV replikasyonunu gösterir. Tedavi yanıtı için kullanılan asıl virolojik belirteçtir.
Anti-HBc (IgM)	Akut enfeksiyon anında HBsAg kaybolduktan anti-HBsAg pozitifleşmeden önce görülen belirteçtir. Kronik fazda alevlenme esnasında tekrar pozitifleşebilir.
Anti-HBc (IgG)	Kronik ya da iyileşmiş enfeksiyonda görülür.
Anti-HBs	İyileşmiş HBV enfeksiyonunu ya da aşı sonrasında kazanılan bağışıklığı gösterir. Aşı etkinliğini değerlendirmede kullanılabilir.
Anti-HBe	Düşük seviyede HBV replikasyonunu gösterir. Tedaviye yanıt belirteci olarak kullanılabilir.
Anti-HBc (IgG) ve anti-HBs	Geçirilmiş HBV enfeksiyonunu gösterir.
Anti-HBc (IgG) ve HBsAg	Kronik HBV enfeksiyonunu gösterir.
Anti-HBc (IgG) ve/veya anti-HBs ve HBV DNA (PCR)	Latent ya da okkült enfeksiyonu gösterir.



Şekil 1. Doğal seyri sırasında HBV belirteçleri, akut HBV enfeksiyonu (A) ve akut enfeksiyondan kronikleşmeye geçiş (B) (6)

2.1.5. İmmünopatogenez

Günümüzde halen HBV enfeksiyonuna ait immünobiyo­loji ve patogenez tam olarak aydınlatılamamıştır. HBV direk sitopatik etkiye sahip olmayarak diğer hepatotropik ajanlardan bu özelliği ile ayrılır. HBV'ye bağlı gelişen karaciğer hasarı ve viral replikasyon, konakçıya ait immün sistemin vereceği yanıtı bağlıdır. (38). Akut enfeksiyon sonrası serolojisinde iyileşme gözlenenlerin HBV genomlarına karşı güçlü CD⁺ 8 T hücre yanıtları mevcut olup, enfeksiyon tablosunda kronikleşme seyredenlerde ise bu yanıtta ciddi zayıflama görülmüştür. Bu durumda HBV klirensinin CD⁺ 8 T hücrelerine bağlı olduğunu göstermektedir. (39).

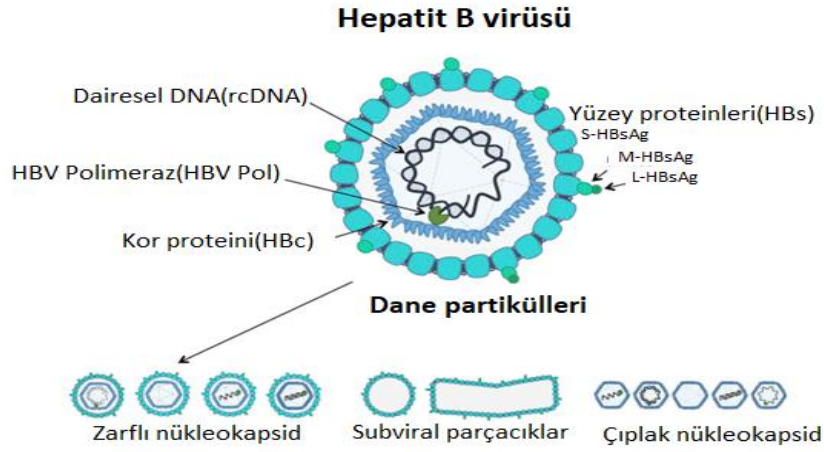
HBV'ye karşı gelişen immün yanıtta T hücrelerinin yanı sıra kupffer ve dentritik hücreleri tarafından sentezi uyarılan, TNF-alfa, IFN-gama, TGF- β ve interlökinler gibi çeşitli sitokinler de görev alır (40). Bu sitokinlerin asıl görevi virüs hücrelerini öldürmek değil, replikasyonu önlemektir. Hepatit kliniğinin ortaya çıkması, T hücrelerinin inflamatuvar yanıtı sonrası serumdaki HBV DNA

düzeylerinin azalması ile başlar. Ayrıca HBV ile enfekte olan karaciğer hücrelerine karşı oluşturulan CD⁺ 8 T hücre yanıtları serum alanin transaminaz (ALT) düzeylerindeki artıştan sorumlu tutulmaktadır (41).

Akut ve kronik enfeksiyonda sırasıyla yardımcı T lenfosit-1 (Th-1) ve yardımcı T lenfosit- 2 (Th-2) yanıtları ön plana çıkar. Akut enfeksiyonda hepatositlerde virüs teması sonrası IFN-alfa ve gama sentezlenir. İnterferon artışından sonra çeşitli kemokinler aracılığıyla virüs CD⁺ 8 T hücrelerine tanıtılır, ardından ise HBV antijenleri CD⁺ 4 T hücrelerine sunulur (42). HBV ile enfekte hücreler CD8⁺ T hücreleri ve sitokinler yardımı ile yok edildikten sonra hücrede T hücre tipi antikorları gelişir. T hücre yanıtında yetersizlik olması halinde kronikleşme görülür. Kronik HBV enfeksiyonunda genel olarak CD⁺ 4 T hücre aşırı duyarlılığı mevcuttur. HBV ile enfekte olmuş Dentritik hücrelerin disfonksiyonuna bağlı olarak IFN- gama, IL- 12, TNF- alfa üretimi azalır bu da T hücre aşırı duyarlılığına sebep olur (43). Kronik HBV enfeksiyonunda özellikle HBeAg pozitif bireylerde TLR2 reseptörlerinin azaldığı da görülmüştür. İlerleyen zamanda portal alanlarda biriken CD⁺ 8 T hücreleri ve sitokinler hepatositlerde nekroza sebep olabilirler. Nihayetinde ise karaciğerde fibroz gelişimi, siroz ve HCC oluşumu gözlenebilir (44).

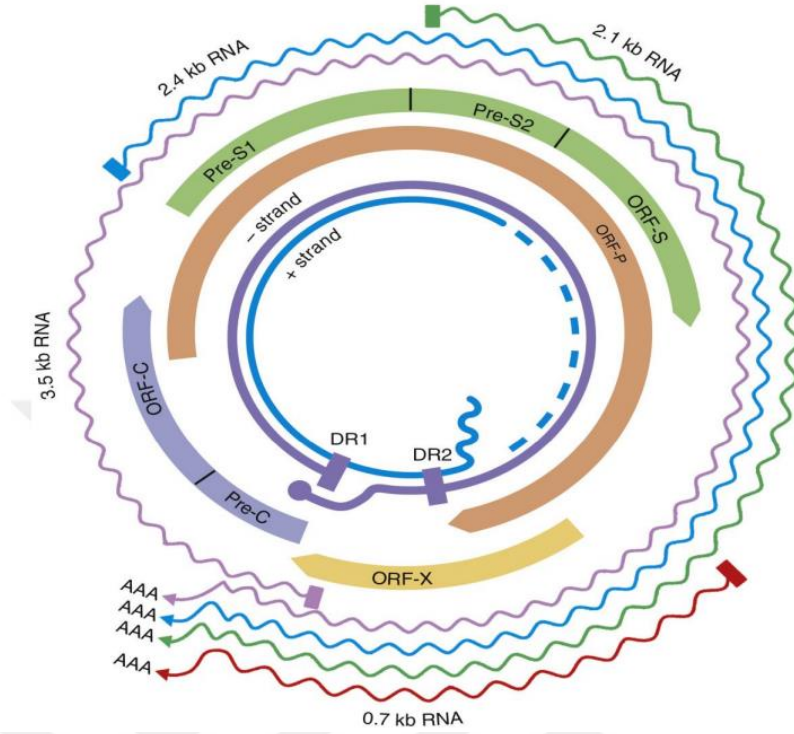
2.1.6. Hepatit B Virüsünün Yapısı

Hepatit B virüsü Hepadnaviridae'nin Orthohepadnavirus cinsine üye yaklaşık 3200 nükleoitidden meydana gelen kısmen çift sarmallı dairesel bir yapıda olan küçük bir DNA virüsüdür (22). Enfekte hastaların serumunda elektron mikroskobu altında en az 3 tip HBV partikülü izlenir. Bu partiküller içerisinde dane partikülleri için 42 nm'lik bir çap ve subviral partiküller için 22 nm'lik küresel ve ipliksi filamentler bulunur. Dane partikülleri, enfeksiyöz virion olan lipid bir membran ile kaplı viral yüzey antijeni (HBs) ile nükleokapsidi çevreleyen hepatit çekirdek proteini (HBc), viral polimeraz (Pol) ve viral genomdan oluşur. HBsAg, boyularına göre büyük (L-HBs), orta (M-HBs) ve küçük (S-HBs) olmak üzere üç çeşittir. Hasta serumunda dane partiküllerine göre daha fazla bulunan 22 nm'lik filamentler ise nükleokapsid içermeyen ve bundan dolayı bulaşıcı olmayan subviral partikülleri içerir.



Şekil 2. Hepatit B partiküllerinin şematik gösterimi (45)

Viral genom, fonksiyonel viral proteinlerin üretildiği üst üste binmiş dört açık okuma çerçevesi (ORF'ler) olan, surface (S), core (C), polimeraz (P) ve X genini kodlayan kompakt bir yapıdadır (45). Surface (S) geni S, Pre-S1 ve Pre-S2 proteinlerini ile HBsAg'yi, Core (C) geni ise HBeAg ve HBcAg' yi kodlar. Polimeraz (P) geni, DNA polimerazın sentezinde görev alan yaklaşık 800 aminoasit içeren büyük bir ORF' ye sahiptir. X geni, transaktivasyon ve transkripsiyondan sorumlu olan ve hepatik karsinogenezde önemli bir yere sahip olan proteinleri kodlar (46).



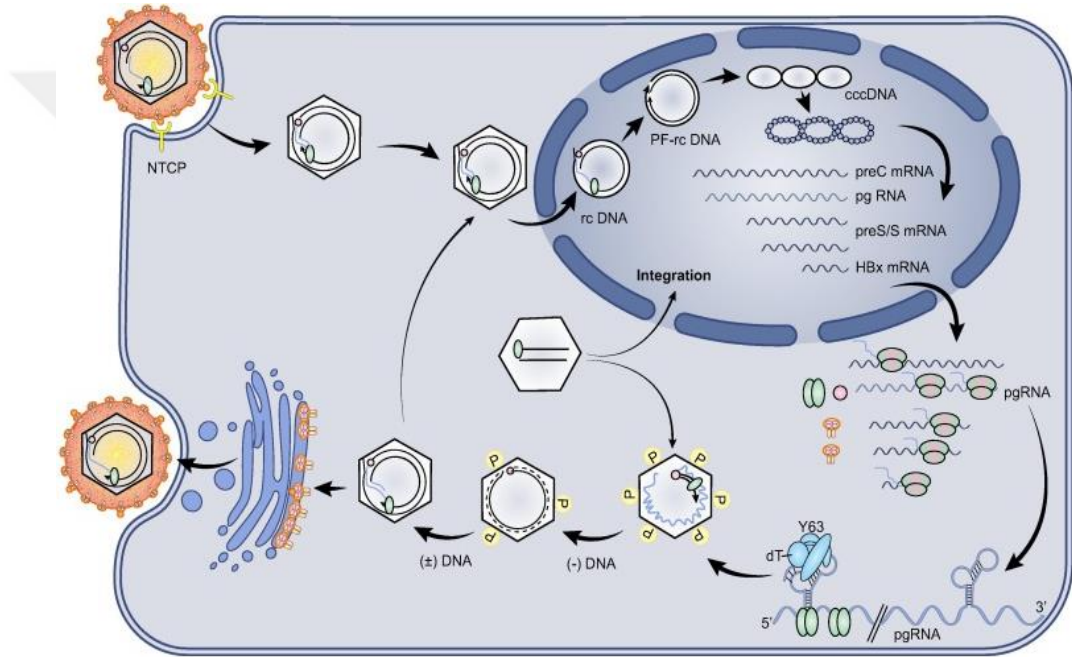
Şekil 3. HBV'nin moleküler yapısı ve organizasyonu (46)

AAA, RNA'nın 3' ucunda poliadenozin kuyruğunu ifade eden dalgalı çizgiler. DR1 ve DR2 viral replikasyon sırasında ipliğe özgü HBV DNA sentezi için gerekli olan baz çiftleridir.

2.1.7. Viral Replikasyon

HBV, hepatositlerin içerisine HBsAg'yi bağlama yeteneği olan NTCP (sodium taurocholate cotransporting polypeptide) isimli bir polipeptit yardımı ile girdikten sonra virüs kapsidinden ayrılır ve genom çekirdek içerisine girer. Ardından dairesel yapıdaki DNA (rcDNA) serbestleşir ve kovalent olarak kapalı yapıda olan sirküler DNA ("covalently closed circular DNA"; cccDNA) molekülüne dönüşür. HBV bir DNA virüsü olmasına rağmen, replikasyon RNA ara ürünü aracılığıyla gerçekleşir. Bunun içinde aktif bir viral reverse transkriptaz/ polimeraz enzimi gerekir. Yüksek stabiliteye sahip olan ve mini kromozom özelliği olan cccDNA, konakçının DNA bağımlı RNA polimerazını kullanan viral mRNA'ların transkripsiyonu için kalıp görevi görür (47). Bu aşamada cccDNA, HBV polimeraz tarafından kapsüllenebilen pregenomik bir RNA'yı (pgRNA) kodlar. Pregenom ve polimeraz olgunlaşan nükleokapsid dahil edilir. Oluşan nükleokapsid endoplazmik

retikulumu giderek tomurcuklanarak zarf kazanır. Oluşan yeni virionlar hücre dışına salınır. Enkapsidasyon sonrasında reverse transkripsiyon gerçekleşir ve reverse transkriptaz enzimi ile RNA'dan pozitif iplikli DNA sentezi olur. Sentezlenen nükleokapsitlerden bir kısmı zarf kazanmayarak kan dolaşımına girmeksizin tekrardan çekirdeğe taşınır. Bu nükleokapsitlerin cccDNA sentezinin devamlılığını sağladığı gösterilmiştir. Bu durum ise antiviral tedaviye rağmen HBsAg' nin neden çok azalmadığının ve tam kür sağlanamamasının sebebi olarak kabul edilir. (46).



Şekil 4. HBV'nin yaşam döngüsü (47)

2.1.8. Genotipler ve Mutasyonlar

Hepatit B virüsünün farklı coğrafi dağılımlara sahip olan 10 genotipi (A-J) tanımlanmıştır. Genotip tayini, sadece karaciğer hastalığının ilerlemesini öngörmekle kalmayıp, aynı zamanda antiviral tedaviye yanıt açısından da bilgi vermektedir. Genotip sınıflandırmaları, DNA dizi analizleri sayesinde, dizinin tamamında %8 veya daha fazla fark olması halinde kategorilere ayrılır. . “ayr”, “ayw1”, “ayw2”, “ayw3”, “adr”, “adw2” ve “adw4” olmak üzere yedi ana serolojik alt tip bulunur. Türkiye’de genotip D türü hakim olup serolojik alt tipi “ayw” dir.

Tablo 2. Hepatit B virüsü genotip ve alt tiplerinin coğrafi dağılımı (48)

Genotip	Serotip	Coğrafi konum
A	adw	Sahra Altı Afrika, Hindistan, Kuzey Avrupa, Batı Afrika
B	adw, ayw	Japonya, Tayvan, Çin, Endonezya, Vietnam, Filipinler, Alaska, Kuzey Kanada ve Grönland
C	adw,ayr,adr	Tayvan, Çin, Kore, Güneydoğu Asya, Avustralya
D	ayw	Türkiye, Afrika, Avrupa, Akdeniz ülkeleri, Hindistan ve Endonezya
E	ayw	Batı Afrika ile sınırlı
F	adw	Orta ve Güney Amerika
G	adw	Fransa, Almanya ve Amerika Birleşik Devletleri
H	adw	Orta Amerika
I	adw	Vietnam ve Laos
J		Japonya

HBV genotipine özgü klinik sonuçlar heterojenlik göstermektedir. Örneğin HBV'nin C ve D genotipleri, A ve B genotiplerine göre daha sık oranla promotor ve pre-S mutasyonlara sebep olur. Promotor ve pre-S mutasyonlarının doğal sonucu olarak siroz ve HCC gelişim riski C ve D genotipinde daha sık oranda görülür. Spontan HBeAg serokonversiyonu ise A ve B genotipinde, C ve D genotipine göre daha erken ve daha yüksek oranda görülür. Genotip A ve B hastaları interferon bazlı tedaviye genotip C ve D hastalarına göre daha iyi yanıt verir iken nükleozid ve nükleotit bazlı tedavilerin genotipler arasındaki etki ve direnci arasındaki ilişki net olarak ayırt edilememiştir (48).

2.1.9. Hepatit B Enfeksiyonu ve Klinik

2.1.9.1. Akut HBV enfeksiyonu

Akut hepatit B enfeksiyonunda semptom ve bulgularının ortaya çıkmasında en önemli belirleyici faktör enfeksiyona maruz kalma yaşıdır. Akut enfeksiyon bebek ve çocuklarda genellikle asemptomatik seyreliyor iken, yetişkinlerin yaklaşık %70'i kadarında subklinik veya anikterik hepatit, % 30'nda ise ikterik hepatit görülür. Yetişkinlerin yaklaşık % 1' i kadarında ise yüksek oranda ölümcül

seyreden, karaciğer yetmezliğine ve karaciğer nakil ihtiyacına sebep olan fulminan hepatit görülür (49).

Akut enfeksiyonda görülen başlıca semptom ve bulgular arasında iştahsızlık, halsizlik, mide bulantısı, sarılık, karın ağrısı, koyu renkli idrar, kil rengi dışkılama, sağ üst kadranda şişkinlik hissi bulunmaktadır. İştahsızlık ve halsizlik şikayetleri sarılık gelişmeden yaklaşık 2 hafta önce başlar. Semptom ve bulgular birkaç hafta ile ay arasında gerilemeye başlar. Sekelsiz iyileşme bebeklerin yaklaşık %95’inde, yetişkinlerin ise yaklaşık %85-90’ında görülür. Akut hepatit B enfeksiyonunda tedavi destek tedavisi şeklinde olup antiviral tedavi sadece bağışıklığı yetersiz, hastalığı şiddetli geçirenlere endikedir (50).

2.1.9.2. Kronik HBV enfeksiyonu

Akut enfeksiyon sonrası serumda saptanan HBsAg düzeyinin konakçı serumunda 6 aydan uzun süre pozitif olarak kalması kronik hepatit B enfeksiyonu olarak tanımlanır. Kronik HBV enfeksiyonunda süreç dinamik ve değişkendir. Kronik HBV enfeksiyonunun prognozu hastalığın şiddeti ile doğru orantılıdır. Hastaların çoğu asemptomatik veya halsizlik, yorgunluk ve sağ üst kadranda ağrısı gibi spesifik olmayan semptomlara sahiptir. Şiddetli hastalığı ya da sirozu olanlarda ise sarılık, spider anjioma, palmar eritem, jinekomasti, splenomegali, asit, periferik ödem ve siroz komplikasyon bulguları (hepatik ensefalopati, varis kanama gibi) görülebilir. Şiddetli kronik hepatit ve sirozu olanlarda 5 yıllık sağkalım oranı yaklaşık % 50’dir. Kronik hepatit B’li hastaların yaklaşık üçte birinde siroz, son dönem karaciğer hastalığı ve HCC gelişeceği tahmin edilmektedir (51).

Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri, HBV DNA seviyeleri, ALT değerleri, HBeAg’nin varlığı ile hepatit göstergeleri dikkate alınarak beş faza ayrılmıştır.

Tablo 3. Kronik HBV enfeksiyon fazları (52)

HBeAg (35)			HBeAg (-)	
	Enfeksiyon	Hepatit	Enfeksiyon	Hepatit
HBsAg	+	+	+	+
HBeAg	+	+	-	-
HBV DNA	>10 ⁷ IU/mL	10 ⁴ -10 ⁷ IU/mL	<2000 IU/mL	>2000 IU/mL
ALT	Normal	Yüksek	Normal	Dalgalı ya da devamlı yüksek
Karaciğer Hasarı	Yok / minimal	Orta / ağır	Yok	Orta / ağır
Eski sınıflama	İmmuntoleran	İmmunklirens	İnaktif taşıyıcı	Reaktivasyon

Faz 1. HBeAg-pozitif kronik HBV enfeksiyonu (immün tolerans): HBsAg pozitifliği, çok yüksek HBV DNA düzeylerinin varlığı ($\geq 10^7$ IU/mL) ve normal seviyede ALT seviyeleri ile karakterize olup, karaciğerde nekroinflamasyon ya da fibrozis minimal seviyede görülebilir (53). Bu fazda spontan HBeAg kaybı nadiren görülür. HBV DNA yüksekliği olması sebebiyle bu evrede bulaş ihtimali yüksektir. Perinatal yol ile bulaş olanlarda bu evre daha uzun seyredir (52).

Faz 2. HBeAg-pozitif kronik hepatit B (immün klirens): İlk fazdan birkaç yıl sonra ortaya çıkabilen, yetişkinlik döneminde enfekte olanlarda daha sık görülen orta veya şiddetli karaciğer nekroinflamasyonu ve fibrozisin olduğu evredir. HBeAg pozitifliği, yüksek düzeyde HBV DNA varlığı ve yüksek ALT seviyeleri ile karakterizedir (53).

Faz 3. HBeAg-negatif kronik HBV enfeksiyonu (inaktif taşıyıcı durum): HBeAg' ye karşı anti-HBeAg antikorlarının oluştuğu, Saptanamayan veya düşük (<2.000 IU/ml) HBV DNA düzeyleri ve normal ALT seviyeleri ile karakterizedir. Bazı hastalarda minimal düzeyde karaciğer nekroinflamasyonu ve fibrozisi görülebilir. Bu fazda hastalarda siroza veya HCC'ye ilerleme riski çok düşüktür (53).

Faz 4. HBeAg-negatif kronik hepatit B (reaktivasyon): Anti-HBeAg pozitif, HBeAg negatif, orta veya yüksek düzeyde dalgalı seyreden HBV DNA seviyeleri ve ALT seviyelerinde artışın görüldüğü fazdır (53).

Faz 5. HBsAg-negatif faz: Anti- HBsAg pozitifliği olsun ya da olmasın HBsAg negatifliği ve anti-HBc varlığı ile karakterizedir. ALT seviyeleri normal, HBV

DNA düzeyleri ise saptanamayacak kadar düşük veya yoktur. Karaciğerde HBV DNA(ccc DNA) saptanabilir düzeyde olduğu için immünsüpresyon durumunda hastalık tekrar aktif hale gelebilir (52).

2.1.10. Tedavi

Akut HBV enfeksiyonu yüksek oranda kendi kendini sınırladığından dolayı, bu aşamada öncelikle hidrasyon ve istirahat gibi destek tedavisine önem verilir. Ancak fulminan veya uzun süren şiddetli akut enfeksiyonda antiviral tedaviler düşünülebilir (50).

Kronik HBV enfeksiyonunda, hastalığın ilerlemesini engellemek, sağkalımı ve yaşam kalitesini iyileştirmek tedavinin temel amacıdır. Bu hedeflere ulaşmada tedavinin başarısı, tedavinin doğru zamanlanması, tedaviye başlandığında hastanın yaşına ve hastalığın evresine bağlıdır. Antiviral tedavi ile viral replikasyonun azaldığı, hastaların büyük çoğunluğunun karaciğerindeki nekroinflamatuvar aktivitenin ve fibrozisinde iyileşmeye sebep olduğu ve HCC riskini azalttığı çalışmalarda gösterilmiştir (52). Tedavinin temel hedefleri, serumda HBV DNA'nın ölçülemeyecek düzeye gelmesi, HBeAg ve HBsAg'nin kaybolması, anti-HBsAg ve anti-HBeAg serokonversiyonunun gelişmesi ve ALT seviyesinin normal saptanması şeklindedir. HBsAg kaybı optimal tedavinin son noktası olarak kabul edilirken mevcut antiviral tedavilerle nadiren görülür (54). Antiviral tedavi ile ayrıca anneden bebeğe geçişi, kemoterapi ve immünsüpresif tedaviler ile HBV reaktivasyonunu ve ekstrahepatik belirtilerin önlenmesi amaçlanır (52).

Kronik enfeksiyonda hastaya tedavi kararı verilirken, hastanın serum HBV DNA düzeyi, ALT seviyesi ve karaciğerdeki hastalığın evresi dikkate alınır. Karaciğer sirozu olmayan bir hastada ALT düzeyi >40 IU/ml, HBV DNA düzeyi >2.000 IU/ml ve karaciğer biyopsisi ile orta düzeyde nekroinflamasyon ve/veya orta düzeyde fibrozis varlığı tedavi endikasyonu oluşturur. Kompanse veya dekompanse sirozu olan hastalar ise ölçülebilir herhangi bir HBV DNA düzeyi ile ALT düzeyine bakılmaksızın tedavi edilmelidir (53).

Günümüzde antiviral tedavi olarak, immünmodülatör ajanlardan alfa ve pegile interferon ile nükleozid (entekavir, telbivudin, lamivudin) ve nükleotid (tenofovir

dipivoksil fumarat, tenofovir adefovir dipivoksil) analoglarından oluşan viral polimeraz inhibitörleri kullanılmaktadır (55).

2.2. Karaciğer Fibrozisi

Karaciğer fibrozu, viral hepatit B ve C, otoimmün hepatit, kolestatik hastalıklar, alkol tüketimi gibi birçok sebebe sekonder oluşan kronik karaciğer hasarına bağlı gelişen ve tedavi edilmez ise siroza, karaciğer yetmezliğine ve HCC'ye ilerleme potansiyeli olan yara iyileştirici yanıt olarak tanımlanır. Karaciğerin kendi içerisindeki mimarisi hepatosit kaybına bağlı olarak değişir ve yeniden şekillenir. Karaciğerin normal işleyişi, gelişen fibröz skar varlığı sonucu bozulur ve sonucunda karaciğer yetmezliği gelişir. Fibrotik yanıtı neden olan ajanın ortadan kaldırılması, karaciğer sirozu ya da yetmezliği gelişmediği sürece fibrozisin gerilemesine yardımcı olur (2). Karaciğer hasarı devam ettiği süre boyunca karaciğer rejenerasyonu başarısız olur ve hepatositler bol miktarda ECM hücreleri ile yer değiştirir. Kolestatik karaciğer hastalıklarında ve kronik viral hepatitlerde fibrotik doku portal yol çevresinde birikir iken, alkole bağlı karaciğer hastalıklarında fibrotik doku perisantral ve perisinüzoidal bölgelerde birikir. Fibrotik karaciğer hastalığı ilerledikçe, kollajen bantlardan köprüleşme nekrozuna geçiş gerçekleşir ve bunun sonucunda siroz gelişir (1).

İleri evrede fibrotik karaciğerde, çeşitli kollajenler(I, III ve IV) elastin, proteoglikanlar, laminin, hyaluronan ve undulin dahil olmak üzere yaklaşık 6 kat fazla ECM hücre birikimi olur. ECM birikimi hem artan sentezden hem de azalan yıkıma bağlı gelişir. ECM yıkımından sorumlu pro-metalloproteinazlar (MMP)'ın azalan aktivitesi, metalloproteinaz tip 1 (TIMP-1) doku inhibitöründeki aşırı ekspresyondan kaynaklıdır (56).

Hepatik stellat hücreler (HSC), ECM üreten ana hücrelerdir. Normal karaciğer dokusunda HSC'ler disse aralığında bulunur ve A vitamini depolarlar. Kronik karaciğer hasarı sonrası HSC'ler aktive olur ve kontraktil, fibrojenik ve pro-inflamatuar özellikteki miyofibroblast hücrelere dönüşürler. Kupffer hücrelerinden üretilen PDGF, aktive olmuş HSC'ler için esas baskın mitojenlerdir (1). Portal damarlar tarafından üretilen miyofibroblastik hücreler, primer biliyer siroz ve primer sklerozan kolanjit gibi kolestatik hastalıkların sebep olduğu karaciğer

fibrozunda kollajen birikimine sebep olur. Bu durum da HSC'ler dışındaki diğer hepatik hücrelerin de fibroenez yapabilme yeteneğinin olduğunu göstermektedir (57). Hepatositler, hepatit virüsleri, alkol ve safra asidi gibi birçok toksik ajanın hedefi halindedir. Hedefe maruz kalan hasarlı hepatosit hücreleri apoptoza uğrayarak miyofibroblastların fibrojenik etkilerini indükler. Birçok inflamatuvar hücre ise kollajen sentezini artırmak için HSC'leri uyarır. Aktive olmuş HSC'ler ise CCR5, CCR1, CXCL4, CXCL9, CXCR3 gibi inflamatuvar kemokinlerin salgılanmasına, lenfositlerin aktif hale getirilmesine ve hücre adezyon moleküllerinin eksprese edilmesine aracılık eder (1,2). Bunun sonucunda da inflamatuvar hücreler ile fibrojenik hücreler arasında birbirinin uyarıldığı kısır döngü başlar. Monosit kemotaktik protein tip 1 ve RANTES fibrozisi indükler iken IFN- γ ve IL-10 ise fibrozis üzerinde zıt etki yapar. TGF- β 1 ise HSC'ler üzerinde önemli bir yere sahiptir. TGF- β 1, miyofibroblast hücre aktivasyonunda görev alarak ECM birikiminde ve sentezinde önemli bir yere sahiptir. Bundan dolayı günümüzde TGF- β 1 sentezini inhibe etmeyi amaçlayan tedavi yöntemleri üzerinde durulmaktadır. Böylelikle fibrozisin azalması ve geriye dönüşümü sağlanması amaçlanmaktadır (58). Nitrik oksit ve relaksin gibi vazodilatör maddeler antifibrotik etki gösterirken, norepinefrin ve anjiyotensin II gibi güçlü vazokonstriktör maddeler ise fibrozisi uyarır. Anjiyotensin II, aktif HSC'ler üzerinde sitokin salgılanması, hücre göçü ve kollajen sentezi gibi etkilere sahip olarak hepatik fibrozisin indüklenmesinde görev alır. Karaciğer fibrozisini düzenleyen asıl sitokinler ise yağ dokusundan üretilen adipokinlerdir. Leptin, HSC aktivasyonu için gerekli olup fibrozis gelişiminde görev alır. Görüldüğü üzere karaciğerdeki birçok hücre fibroenezde görev almaktadır. Hepatik stellat hücre(HSC) ise ECM birikimine en çok katkı veren hücreler olması sebebiyle fibroenezde en önemli role sahip hücrelerdir (1,59).

Hepatit virüsleri ise çeşitli mekanizmalar ile HSC'nin aktivasyonuna sebep olur. Özellikle natural killer(NK) hücrelerinin, hepatit B virüsünün sebep olduğu fibrozis üzerinde önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Hepatositlerde hepatit B virüsü "X" proteini (HBx) ekspresyonunun parakrin aktivasyonuna ve HSC'nin çoğalmasına yol açtığı gösterilmiştir (60).

2.3. Histopatolojik Değerlendirme

2.3.1. Kronik Viral Hepatit B'nin Derecelendirilmesi ve Evrelendirilmesi

Karaciğer hastalığının tanısında, evrelendirilmesinde ve tedavi planında karaciğer biyopsisi önemli bir yere sahiptir. En sık transtorasik(perkütan) olmak üzere transjuguler, laparoskopik veya operasyon sırasında da uygulanabilen karaciğer biyopsisi halen karaciğerin histopatolojik değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul görmektedir. Fakat günümüzde karaciğer fibroz düzeyinin saptanmasında en iyi yöntemin ne olduğuna dair görüş ayrılıkları devam etmektedir. Karaciğer biyopsisi invaziv bir yöntem olması sebebiyle işlem sonrasında kanama, ağrı gibi komplikasyonlar görülebilmektedir. Ayrıca örnekleme hataları ve patolojik yorumlamadaki farklılıkların olması da karaciğer biyopsisinin bir diğer dezavantajlarıdır. Karaciğer biyopsisi, karaciğer hastalıklarında tanı anında sık kullanılmasına rağmen, tedavi sonrası değerlendirmede rutin pratikte tercih edilmez. Karaciğer biyopsisinde alınan materyalde en az 5 portal alan, yeterli olması için de 11' den fazla portal alan bulunmalıdır (61).

Kronik hepatit B'nin ciddiyeti ve prognozu hakkında görüş belirleyebilmek amacıyla histopatolojik özelliklerin dikkate alınarak oluşturulduğu çeşitli skorlama sistemleri günümüzde kullanılmaktadır. Derecelendirmede dikkate alınan histolojik aktivite indeksinde periportal nekroz, parankim hasarı, portal inflamasyon, fibrozis parametreleri değerlendirilerek 0-18 arasında puanlama yapılır. Fibrozis ise 6 evrede değerlendirilir. Evre 0 yok, evre 1-2 hafif, evre 3-4 orta, evre 5-6 ağır/siroz olarak sınıflandırılır (51). Histolojik aktivite indeksinden 6 ve üstü puan alan ya da fibrozis düzeyinde evre 2 ve ileri evredeki hastalar tedavi için değerlendirilmelidir. Tedavideki temel amaç, hastalığın ilerlemesini durdurarak siroz, karaciğer yetmezliği ve HCC gelişimini önlemektir (62).

Tablo 4. Modifiye HAI Skorlama Sistemi (51)

Modifiye HAI derecelendirmesi Nekroinflamatuvar skorlar	Skor
A. Periportal veya periseptal interface hepatit(piecemeal nekroz) Yok Hafif (fokal, birkaç portal alanda) Hafif/orta (fokal, portal alanların çoğunda) Orta (trakt veya septaların %50'sinden azında, çevresinde devamlılık gösteren) Şiddetli (trakt veya septaların %50'sinin fazlasında, çevresinde devamlılık gösteren)	0 1 2 3 4
B. Konfluent nekroz Yok Fokal konfluent nekroz Zon 3 nekroz (bazı alanlarda) Zon 3 nekroz (çoğu alanlarda) Zon 3 nekroz + seyrek portal-santral köprüleşme Zon 3 nekroz + çok sayıda portal-santral köprüleşme Panasiner veya multiasiner nekroz	0 1 2 3 4 5 6
C. Fokal (spotty) litik lezyon, apoptozis ve fokal inflamasyon Yok 1 veya daha az odak (x100'lük her büyütmede) 2-4 odak (x100'lük her büyütmede) 5-10 odak (x100'lük her büyütmede) 10'dan fazla odak (x100'lük her büyütmede)	0 1 2 3 4
D. Portal inflamasyon Yok Hafif (bazı ve tüm portal alanlarda) Orta (bazı ve tüm portal alanlarda) Orta / belirgin (tüm portal alanlarda) Belirgin (tüm portal alanlarda)	0 1 2 3 4
Modifiye HAI Evrelendirmesi Yapısal Değişiklikler, Fibrozis, Skar	
Fibrozis yok Biraz portal alanda fibröz genişleme (Kısa fibröz septa var ya da yok) Çoğu portal alanda fibröz genişleme (Kısa fibröz septa var ya da yok) Çoğu portal alanda fibröz genişleme ve nadir portal-portal köprüleşme Portal alanlarda fibröz genişleme ve belirgin köprüleşme Belirgin köprüleşme ile seyrek nodül (inkomplet siroz) Siroz (olası ve kesin)	0 1 2 3 4 5 6

2.3.2. Karaciğer Fibrozisi Serum Belirteçleri

Karaciğer fibrozisinde kullanılacak ideal serum belirteçlerinin özellikleri, karaciğere özgü, uygulaması kolay, tekrarlanabilir, hem fibrozisi hem de fibrozis düzeyini gösterebilen, metabolik koşullardan etkilenmeyen, sonuçları geçerli ve güvenilir olmalıdır. Günümüzde kullanılan belirteçlerden bazıları veya kombinasyonları klinik kullanımımıza yerleşmiş olup direk ve indirekt belirteçler olarak ikiye ayrılmıştır. Direk belirteçler fibrojen ve fibrinolitik sırasında üretilen moleküller olup, karaciğerdeki ECM yapım ve yıkım dengesini doğrudan yansıtırken, indirekt belirteçler fibrozisle beraber ortaya çıkan hepatik fonksiyonlardaki değişime dayanır ve ECM metabolizması ile ilgili değildir (63).

İndirekt serum belirteçlerin çoğu günlük rutin laboratuvar testlerinde ölçülen karaciğer hastalıklarının tanısında ve takibinde kullanılan testlerden oluşur. Bu belirteçlerin birçoğu tek başına kullanılmaz iken son zamanlarda kombinasyonlarının kullanımı pratikte artmıştır. Bu grupta, ALT, AST, GGT, ALP, bilirubinler, albümin, seruloplazmin, haptoglobulin, apolipoprotein A1, hepsidin, α 2-makroglobulin, protrombin zamanı (PT/INR), platelet sayısı, ferritin ve α 1-antitripsin gibi serum belirteçleri yer alır (64).

Tablo 5. Karaciğer fibrozisi tanısı için direk serum belirteçleri (64)

Biyobelirteç	Karaciğer fibrozisi ile korelasyon düzeyi	Açıklama
Hiyalüronik asit	Pozitif korelasyon	Fibroz durumunda ve karaciğer hücrelerindeki inflamasyon düzeyini yansıtır. Akut hepatit durumunda hafif düzeyde artış meydana gelir iken, kronik hepatit de orta düzeyde, siroz da ise daha yüksek düzeylerde artış görülür.
N-terminal propeptid	Pozitif korelasyon	Karaciğer fibrozisinde erken dönemde fikir verir. Spesifik değildir.
Tip IV kollajen	Pozitif korelasyon	Erken dönem karaciğer fibrozu ve kronik karaciğer hastalığı teşhisinde kullanılır.
Laminin	Pozitif korelasyon	Karaciğer fibrozu hakkında bilgi verir. Yüksek laminin (LN) içeriği tümör invazyonu ve metastazı ile ilişkilidir.

2.3.2.1. Aspartat Aminotransferaz-Trombosit Oranı İndeksi (APRI)

İnterferon bazlı tedavi döneminde tedavi planı ve takibinde kullanılan fibrozis gelişimini ön görmek için geliştirilen iki klinik değişkene dayalı basit bir formüldür.

Aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$APRI = [(AST \text{ seviyesi} / \text{Normalin üst sınırı}) / \text{Trombosit sayısı } (10^9 / L)] \times 100$$

(10)

2.3.2.2. Dört Faktöre Dayalı Fibrozis İndeksi (FIB-4)

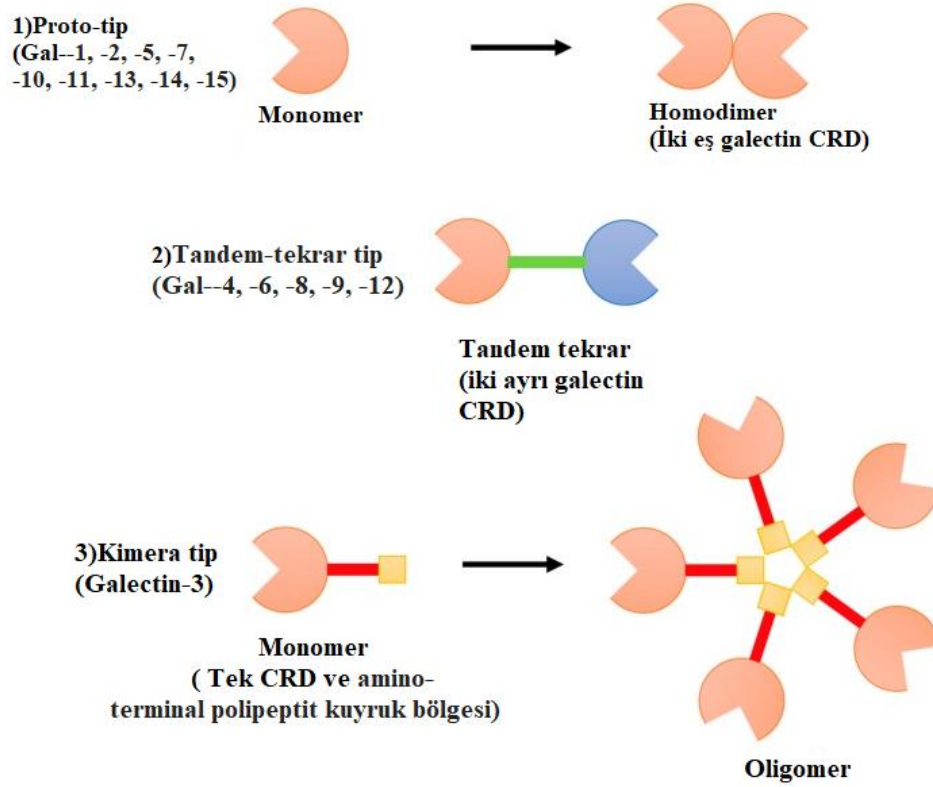
Trombosit sayısı, yaş, AST ve ALT'nin bulunduğu 4 farklı değişkenle hesaplanan ileri fibrozisi göstermede kullanılabilen basit bir formüldür.

Aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$FIB-4 = [\text{yaş} \times \text{AST (IU/L)}] / [\text{trombosit sayısı } (10^9 / L) \times \text{ALT (IU/L)}] \quad (10)$$

2.4. Galectin

Galectin, organizmalarda “ hücreden hücreye” ve “hücreden matrikse” etkileşimleri düzenleyen, epitel hücresi, makrofaj ve monosit gibi birçok hücreden sentezlenen β -galaktositleri bağlayıcı özelliği olan lektin ailesine ait proteinlerdir (65). Memelilerde bulunan galectinler, glikosile edilmiş ligandları çapraz bağlamak için kompleksler oluşturan β -galaktozit kalıntılarını tanıyan bir veya iki yüksek oranda korunmuş karbonhidrat tanıma alanına (“carbohydrate recognition domains”, CRD) sahiptir (66). Galectinler sitoplazmada sentezlenir ve klasik ekzositik yol olan endoplazmik retikulum / golgi salgılama yolu ile değil, eksozom aracılı salgılama yolu ile hücre yüzeyindeki glikanlarla etkileşime girerler (67). Galectinler, galectin-1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14 ve -15'den oluşan kovalent olmayan homodimerler oluşturan tek bir CRD'ye sahip proto-tip galectin, galectin-4, -6, -8, -9 ve -12 den oluşan bir peptit bağlayıcı ile bağlanmış iki CRD'si bulunan tandem-tekrar galectin ve galectin-3 ten oluşan tek bir CRD ve bir amino-terminal polipeptit kuyruk bölgesine sahip kimera tip galectin olmak üzere CRD sayılarına ve işlevlerine göre üç alt gruba ayrılmıştır. Galectin ailesine ait üyeler buluş sırasına göre numaralandırılmıştır (68,69).



Şekil 5. Galectin ailesinin şematik gösterimi (69)

Galectinlerin, karbonhidrat bağlama yeteneklerine bağlı olarak çok sayıda intrasellüler etkileri ile apoptozis, hücre adezyonu, kemotaksis, onkogeneze, embriyogeneze ve hücre proliferasyonu gibi birçok ekstrasellüler etkileri bulunmaktadır. Ayrıca galectinler, inflammatuar yanıtların ve bağışıklık sisteminin önemli düzenleyicileri olup çeşitli pro-inflammatuar ve anti-inflammatuar hücre sentezini uyarır (70).

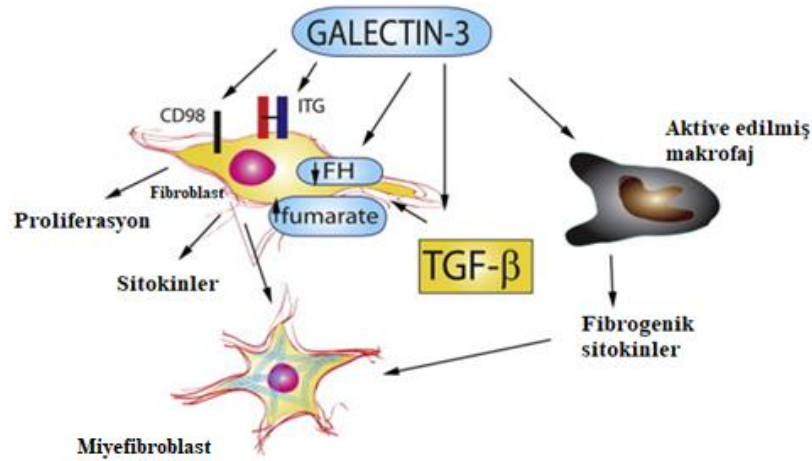
2.4.1. Galectin-3

Galectin-3(Gal-3), bir C-terminal karbonhidrat tanıma alanı (CRD) ve bir N-terminal peptidi içeren memeli kimera tipi galectin grubunun tek üyesidir. Gal-3, insan genomunda LGALS3 geni tarafından kodlanır ve makrofaj, nötrofil, monosit, dentritik hücre, langerhans hücresi ve mast hücreleri gibi immün yanıtta yer alan hücrelerin sitoplazmalarında sentezlenir. Ardından çekirdeğe ve diğer organellere taşınabilmesinin yanı sıra hücre boşluğuna salgılanma özelliği de vardır. Gal-3, kalp, timüs, karaciğer, tiroid bezi, beyin, deri, böbrek, barsak ve çeşitli kanser hücreleri gibi birçok doku ve organ hücrelerinde saptanmıştır (71). Gal-3, insanlarda embriyogenez ve gelişim çağında, yetişkin çağına göre daha fazla bulunurken en çok epitel, kondrosit, karaciğer ve böbrekte bulunur (72). Sitoplazmada bulunan Gal-3, bcl-2 ve aktive edilmiş guanozin-5'-trifosfat (GTP) -bağlı K-ras dahil olmak üzere hücrelerin hayatta kalmasına katkıda bulunan proteinlerle etkileşimlere girerek hücre yaşamında önemli yere sahiptir. Çekirdekte bulunan Gal-3, pre-mRNA eklenmesi ve transkripsiyonu düzenlerken hücre dışında bulunan Gal-3 ise hücre-hücre etkileşimlerinden sorumludur. Böylece galectin-3, hücre savunması, apoptoz, anjiyogenez, fibrojeniz, inflamasyon ve hücreler arası etkileşim gibi birçok biyolojik aktivitede görev alır (14). Son yıllarda artan çalışmalar ve araştırmalar sonucunda çeşitli otoimmün ve fibrozis ile ilerleyen kronik hastalıklar, çeşitli kanserler ile enfeksiyonların patogeneizlerinde yer aldığı görülmüştür. Ayrıca galectin-3'ün, yaş, cinsiyet ve vücut kütle indeksinden etkilenmeyen stabil bir biyobelirteç olup, sirkadiyen ritm göstermemesi, egzersizten 1-3 saat sonrasında normale dönmesi gibi avantajları olması sebebiyle çeşitli hastalıkların tanısında, prognoz tayininde ve tedavi planlamasında potansiyel biyomarker olabileceği düşünülmektedir. (73).

2.4.1.1. Galectin-3 ve fibrozis

Galectin- 3 ekspresyonu, zarar görmüş ve yeniden şekillenen(remodeling) dokularda belirgin olarak artar. Özellikle aktive edilmiş makrofajlar tarafından ekspresyon artışı sağlanırken, fibroblast ve vasküler hücreler gibi çeşitli hücreler ile ekstraselüler matriks de Gal-3 sentezine katkıda bulunur (74). Yapılan çalışmalarda Gal-3'ün fibrozis üzerindeki etkisinin makrofaj ve fibroblastlar aracılığı olduğu

düşünülmektedir. Galectin-3, CD98'e bağlanarak ve integrinleri birleştirerek makrofajları aktive ederek onları uyarır. Galectin-3'ün alternatif makrofaj aktivasyonunu IL-4 ve IL-13 aracılığı ile uyardığı bilinmektedir (75). Aktive olan makrofajlar tarafından ise fibrojenik sitokinler salınarak miyofibroblast dönüşümü sağlanır (76). Bazı in vitro çalışmalar Gal-3'ün fibroblastlar üzerinde doğrudan etkisi olduğunu ön görse de in vivo çalışmalar bu tezi desteklememektedir. Galectin-3, fibroblast proliferasyonunu hücre yüzeyi glikokonjugatları ile etkileşime girerek güçlü bir şekilde uyarır. Ayrıca Gal-3'ün, TGF- β fonksiyonlarını düzenleyerek miyofibroblastları aktive ettiği öne sürülmüştür (77). Galectin-3 bu etkilerini hücre yüzey glikoproteinlerine bağlanarak, kinaz kaskad sistemini ya da integrin bağımlı sinyal yolağı aktive ederek göstermektedir. Galectin-3, ekstraselüler matriks bileşenlerine ve hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan ve sinyal yanıtlarını modüle eden matris hücreli bir protein olarak kabul edilmektedir. Galectin-3, fumarat hidrataz(FH) sentezini azaltarak fibroblast aktivasyonu sağlar ve fumarat birikimine neden olur. Fumarat birikimi sonrası ise oksidatif stres açığa çıkar (74).



Şekil 6. Galectin-3'ün fibrojenik etkilerini şematik olarak gösterimi (74)

2.4.1.2. Galectin-3 ve karaciğer

Çeşitli etiyojilerin sebep olduğu tekrarlayan kronik karaciğer hasarı sonrası dokularda fibroz gelişir. Fibroz gelişimine, çeşitli kemokinler, pro-inflamatuar sitokinler, ekstraselüler matriks bileşenleri salgılama özelliği olan ve

miyofibroblastlara dönüşebilen hepatik stellat hücreleri (HSC) sebep olur. Karaciğer fibroz gelişiminden sorumlu ana hücreler olarak fibroblast ve miyofibroblast hücreleri bilinir. Herhangi bir sebepten ötürü karaciğer hasarı sonrası HSC'ler aktive hale gelerek proliferatif, fibrojenik ve kontraktıl miyofibroblastlara dönüşürler. Miyofibroblast aktivasyonunun in vivo ve in vitro belirteci olarak kabul gören düz kas aktin (α -SMA) düzeyi de HSC aktivasyonu sonrası artar (1). Galectin-3, kollajen sentezini stimüle eden, inflamasyon, anjiyogenez, apoptoz, hücre yüzey reseptörleri ile etkileşime girme yeteneği gibi işlevleri olan pro-fibrotik bir protein olup karaciğer fibrozisi ile ilişkili olduğu, yapılan çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir. İn vitro çalışmalar ile oluşturulan karaciğer fibrozisinde, galectin 3 verilenlerde miyofibroblast hücre proliferasyonunun arttığı görülmüştür. Yapılan bir takım hayvan çalışmalarında da karaciğer fibrozisi üzerinde galectin-3 'ün yeri araştırılmıştır. Karbon tetraklorür (CCL₄) uygulanarak karaciğer fibroz modeli oluşturulan bir çalışmada 8 haftalık CCL₄ uygulamasından sonra, karaciğerin periportal ve köprüleşme fibrozisi görülen alanlarında kontrol grubuna göre galectin-3 düzeyinde ve mRNA ile protein ekspresyonunda belirgin olarak artış izlenmiştir. Ayrıca aynı çalışmada galectin-3 düzeyi knock-out farelerde, WT farelerin olduğu gruba göre α -SMA seviyesi belirgin olarak daha düşük olarak tespit edilmiştir (78).

Etyolojiden bağımsız gelişen insan karaciğer sirotik nodüllerinde galectin-3 düzeyinin belirgin arttığı, yapılan deneylerde, normal rat karaciğerinde Gal-3 düzeyi minimal, ileri fibrotik dokularda ise maksimum düzeyde izlenmiştir. Ayrıca tedavi sonrasında ise Gal-3 düzeyinin belirgin azaldığı görülmüştür (79). Yapılan çalışmalar sonucunda galectin-3'ün karaciğer fibrozunda görevli ana hücreler olan fibroblast ve miyofibroblastların aktivasyonunda önemli bir yere sahip olduğu düşünülmektedir. Galectin-3'ün özellikle inflamasyon ve fibrozis üzerindeki yeri ve etkisi dikkate alındığında karaciğer fibroz tanı ve tedavi planlamasında kullanılmaları gündeme gelmiştir (80).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, T.C. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiş olup, serum fibrozis belirteçlerinin ELISA ölçümleri T.C. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, patolojik incelemeler ise T.C. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya katılmaya kabul eden her bir hastadan bilgilendirilmiş onam formu alınmış olup, çalışmanın yürütülebilmesi için T.C. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Uygulamalar Etik Kurulu'ndan 29/09/2022 tarihli 08/04 karar numarası ile onay alınmıştır.

3.1. Hasta seçimi

Çalışmamıza Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dalı polikliniğine başvuran, yapılan tetkikler sonucu biyokimyasal ve histopatolojik olarak kronik hepatit B tanısı almış 40 hasta ve İç Hastalıkları Bilim Dalı polikliniğine rutin tetkik amacıyla başvuran bilinen herhangi bir hastalığı olmayan HBsAg negatif, karaciğer fonksiyon testleri normal 30 kişi dahil edildi.

Hasta grubunda çalışmaya alınma kriterleri:

1. 18-65 yaş arasında olan,
2. Kronik hepatit B tanısı olup, tedavi başlanmamış olan,
3. Tanı anında ve tedavi sonrasında polikliniğimizce takibi devam edilen,
4. Bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu kabul eden ve imzalayan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Kontrol sağlıklı grubunda çalışmaya alınma kriterleri:

1. 18-65 yaş arasında olan,
2. Bilinen herhangi bir hastalığı olmayan,
3. HBsAg negatif olan,
4. Karaciğer fonksiyon testleri normal olan,
5. Bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu kabul eden ve imzalayan gönüllüler çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmadan dışlanma kriterleri:

1. 18 yaş altında veya 65 yaş üzerinde olan,
2. Çalışmaya katılmayı istemeyen,
3. Malignite, kalp yetmezliği, diyabetes mellitus, kollajen doku hastalığı, kronik böbrek hastalığı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) olan ,
4. HBV+HCV koenfeksiyonu olan,
5. Anti HDV ve/veya anti HIV pozitif olan,
6. Alkol tüketimi olan,
7. Hepatotoksik ilaç(fenitoin, klorpromazin, statin, kortikosteroid vb.) kullanım öyküsü olan,
8. Gebelik ya da laktasyon durumu olan
9. Karaciğer yağlanması ve/veya obezitesi (vücut kitle indeksi, VKI > 27.5 kg / m²) olan hastalar çalışmadan dışlandı

3.2. Yöntemler

Çalışmaya katılan tüm hastalardan karaciğer biyopsisi öncesinde, anamnez bilgileri, cinsiyet, yaş, hastalık süresi, boy, kilo, vücut kitle indeksi, hemoglobin, kan lökosit (WBC) ve trombosit (PLT) düzeyleri, alfa-feto protein(AFP), HBsAg, Anti-HBsAg, HBV-DNA, karaciğer fonksiyon testleri ile beraber galectin-3 düzeyleri kayıt altına alındı. Ayrıca kontrol grubunda bulunan sağlıklı bireylerden,

cinsiyet, yaş, boy, kilo, vücut kitle indeksi , hemoglobin, PLT ve WBC düzeyleri karaciğer fonksiyon testleri ile beraber galectin-3 düzeyleri de kaydedildi. Tüm laboratuvar parametreleri kan numuneleri ile eş zamanlı olarak alındı.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan Gastroenteroloji kliniğinde 2020-2022 tarihleri arasında endikasyon dahilinde karaciğer biyopsisi yapılan ve biyopsi öncesi tanı amaçlı alınan kanlardan artan serum örnekleri, hastalardan onam alınarak -80 °C’de temiz ve kuru eppendorf tüplerinde saklanarak tedavi öncesi Galectin-3 düzeylerini belirlemek için kullanıldı. Bu hastalardan endikasyon dahilinde herhangi bir nükleotid/ nükleozid analogu antiviral ajan başlanan ve halen tedavisi devam edip takibimizde olanlar etik kurul onayı alındıktan itibaren 01.11.2022 tarihine kadar kontrole geldiklerinde rutin takip testleri için alınan kan örneklerinden artan serumlar onam formu alınarak tedavi sonrası Galectin-3 düzeyine bakılmak için kullanıldı. Kontrol grubu için ise İç Hastalıkları Polikliniğine başvuran çalışmamıza dahil edilme kriterlerini karşılayan hastalardan rutin testler için alınan kan örneklerinden artan serumlar da bu çalışma için -80 °C’de temiz ve kuru eppendorf tüplerinde saklanıp Galectin-3 düzeylerini belirlemek için kullanıldı.

Çalışmamıza dahil olan tüm hastalardan en az 12 saatlik açlığı takiben, rutin tetkikler için alınan kanlardan 5 ml kan örneği tüplere(13x100'lük 5 mL Vacutainer jelli plastik tüp) alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devirde 20 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serum örneği steril eppendorf tüplerine aktarıldı. Elde edilen serum örnekleri -80°C derin dondurucuda saklandı. Çalışmanın yapılacağı günde 80°C derin dondurucuda saklanan örnekler oda sıcaklığında bekletilerek çözüldü ve vorteksenerek homojenize edildi. Ardından ELISA çalışmasında kullanıldı.

Kronik hepatit B tanılı hastaların tedavi başlanma anında ve en az iki yıllık antiviral tedavi sonrasında fibrozis değerlendirilmesi APRI ve FIB-4 fibrozis modelleri kullanılarak yapıldı.

$APRI = [(AST \text{ seviyesi} / \text{Normalin üst sınırı}) / \text{Trombosit sayısı} (10^9 / L)] \times 100$,
 $FIB-4 = [\text{yaş} \times AST (IU/L)] / [\text{trombosit sayısı} (10^9 / L) \times ALT (IU/L)]$ formülleri kullanılarak hesaplandı.

Fibrozis için cut off değerleri APRI’de 1,00 ve 2,00, FIB-4’de ise 1,45 ve 3,25 olarak belirlendi. APRI değeri için 1,00 ve üzeri değerler fibrozis için anlamlı

kabul edilirken, 1,45 ve altındaki FIB-4 değeri ileri evre fibrozisi dışlamada, 3,25 ve üzeri değer ise ileri fibrozis için anlamlı kabul edildi.

3.3. Biyokimyasal ölçümler

Alanin transaminaz (Cobas Integra ALTL 500 tests kiti ile UV absorbans yöntemiyle), aspartat transaminaz (Cobas Integra ASTL 500 tests kiti ile UV absorbans yöntemiyle), gama-glutamil transferaz (Cobas Integra GGT 500 tests kiti ile UV absorbans yöntemiyle), alkalen fosfataz (Cobas Integra ALP 500 tests kiti ile UV absorbans yöntemiyle), total bilirubin, direk bilirubin (Cobas Integra tests kiti ile kolorimetrik yöntemle), albumin (Cobas Integra ALB Gen.2 300 tests kiti ile kolorimetrik yöntemle), kreatinin (CREAJ Gen.2, 700 tests, Cobas C, Integra kitiyle fotometrik yöntemle) değerleri bir analizör cihaz (Cobas® c501, Roche) kullanılarak elde edilmiştir. Hemogram parametreleri (hemoglobin, platelet, beyaz küre, lenfosit, nötrofil, MPV, PDW) otomatik tam kan sayımı cihazında (Mindray BC 6800, Shenzhen, China) akım sitometrik impedans yöntemi ile çalışılmıştır. Serum AFP düzeyleri kemoluminesans yöntemi ile cobas® e601 marka cihaz ve orijinal roche diagnostik kitleri kullanılarak çalışılmıştır. INR, Acl Top marka cihazda diagnostik kitler kullanılarak optik koagülometrik yöntemle çalışılmıştır. HBs Ag, Anti-HBs Vitros Eciq immünoyagnostik cihazında kemoluminesans yöntemiyle çalışılmıştır. HBV-DNA saptanmasında gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (real-time PCR) platformu olan kitler Qiagen Qiasymphony Rotor Gene Q cihazında çalışılmıştır.

3.3.1. Galectin-3 ölçümü

Çalışmada bulunan tüm serum örneklerinden galectin-3 düzeyleri, Human Galectin-3 ELISA kiti [Bioassay Technology Laboratory marka (Shanghai, China, katalog no:E1951Hu)] ile ELISA yöntemi kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar pg/ml olarak verildi. Kullanılan ticari kit için üretici firma tarafından sensitivite 2,49 pg/ml, intra assay: CV: <8% ve inter assay CV: < 10% olarak bildirildi.

3.4. Karaciğer biyopsisi ve histopatolojik inceleme

Kronik hepatit B tanısı olan ve hiç tedavi almamış hastalara 16 G iğne kullanılarak perkütan yol ile alanında uzman gastroenteroloji hekimleri tarafından karaciğer biyopsisi yapıldı. Biyopsi materyalleri %10 tamponlu formalin ile fikse edilerek hastanemiz patoloji anabilim dalına gönderildi. Histopatolojik değerlendirme olarak İshak skorlama sistemi kullanıldı. Nekroinflamatuvar aktivite 0-18 arasında, fibrozis ise 6 evrede değerlendirildi. İshak skoruna göre nekroinflamatuvar aktivitesi 0 (yok), 1-4 (minimal), 5-8 (hafif), 9-12 (orta) ve 13-18 (şiddetli) olmak üzere beş gruba ayrıldı. Fibrozis skoruna göre ise Evre 0 yok, evre 1-2 hafif, evre 3-4 orta, evre 5-6 ağır fibrozis olarak sınıflandırıldı.

3.5. İstatiksel değerlendirme

Çalışmada yer alan kategorik değişkenler frekans (n) ve yüzde (%) ile sunuldu ve Pearson ki-kare ve Fisher's Exact test ile analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama, standart sapma (SS) medyan ve çeyrekler arası aralık (IQR: 25-75. persentil) değerler ile ifade edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile kontrol edildi. İki bağımsız grubun sürekli değişkenleri arasındaki farkın analizinde normal dağılıma uymadığı durumda Mann-Whitney U test, uyduğu durumda Independent t-test kullanıldı. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası sürekli değişkenlerindeki değişim Wilcoxon Signed Ranks test ve Paired t-test, kategorik değişkenlerindeki değişim McNemar-Bowker test ile incelendi. Naif hasta grubunu kontrol grubuna ve tedavi edilen durumlarına göre ve tedavi edilen naif hastaları kontrol grubuna göre ayırt etmede çalışma parametrelerinin tanısal performanslarını ve kesim noktasını belirlemek için ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi yapıldı. Elde edilen bulgular, Eğri Altında Kalan Alan (AUC), kesim (cut-off) noktaları, duyarlılık ve seçicilik değerleri ve %95 güven aralıkları ile sunuldu. Parametrelerin optimal kesim noktası Youden indeks ile hesaplandı. Delong ve arkadaşlarının çalışmasında (Ref) sunulan yöntem kullanılarak parametrelerin AUC değerleri karşılaştırıldı. Verilerin analizi IBM SPSS 23.0 paket programı (IBM Corp., Armonk, NY) ile yapıldı. 0,05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Tablo 6’de kontrol ve naif hasta gruplarındaki hastaların genel özelliklerine ait tanımlayıcı istatistikler sunulmuş ve bu özellikler iki grup arasında karşılaştırılmıştır. İki grubun yaş ($p=0,768$), VKİ ($p=0,337$) ve cinsiyet ($p=0,999$) dağılımları istatistiksel açıdan benzer bulundu. Naif hasta grubunun medyan AFP değeri 3,95 (IQR: 2,49-6,6) ve HAI değeri 7 (IQR: 6-9) bulundu. Medyan Gal3 değeri naif hasta grubunda daha yüksek izlendi (12,05 [IQR: 10,7-14,8] ve 2,54 [IQR: 1,92-4,62]; $p<0,001$). Naif hasta grubunun INR ($p=0,002$), ALT ($p<0,001$), AST ($p=0,001$), HBSAG ($p<0,001$), HBVDNA ($p<0,001$), FIB4 ($p=0,001$) ve APRI ($p<0,001$) değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksekti. Albümin ($p=0,022$), direkt bilirubin ($p=0,008$) ve PLT ($p=0,007$) değerleri naif hasta grubunda anlamlı düzeyde daha düşük saptandı. Naif hasta grubunun %20’si F1, %45’i F2, %27,5’i F3 ve %7,5 F4 olarak belirlendi. Kontrol grubunda FIB4 skoru $<1,45$ olan hasta oranı daha yüksek izlenirken (%100 ve %65), naif hasta grubunda FIB4 skoru 1,45 ile 3,25 arasında olan (%27,5 ve %0) ve $>3,25$ olan (%0 ve %7,5) hasta oranının daha yüksek olduğu görüldü ($p<0,001$). APRI skoru <1 olan hasta oranı kontrol grubunda daha yüksek olup (%100 ve %80), APRI skoru 1 ile 2 arasında olan (%12,5 ve %0) ve >2 olan (%0 ve %7,5) hasta oranı naif grupta daha yüksek bulundu ($p=0,030$).

Tablo 6. Naif ve kontrol grubundaki hastaların özellikleri

Değişkenler	Kontrol (n=30)	Naif (n=40)	Test değeri	p
Yaş (yıl)	45,4±6,77	46,1±12,75	t=-0,296	0,768
Cinsiyet				
Kadın	15(%50)	20(%50)	χ ² =0,001	0,999
Erkek	15(%50)	20(%50)		
VKİ	23,27±1,88	23,73±2,06	t=-0,968	0,337
Gal_3	2,54(1,92-4,62)	12,05(10,7-14,8)	z=7,122	<0,001
AFP	-	3,95(2,49-6,6)	-	-
INR	1,01(0,99-1,03)	1,08(1-1,13)	z=3,025	0,002
ALT	18(14,3-21)	36,5(18,29-69,11)	z=3,562	<0,001
AST	19,5(16-21,5)	29,95(18,3-54,34)	z=3,386	0,001
Albümin	4,7(4,6-4,96)	4,56(4,37-4,78)	z=-2,296	0,022
Direkt bilirubin	0,27(0,19-0,4)	0,19(0,12-0,26)	z=-2,666	0,008
Total bilirubin	0,4(0,2-0,7)	0,52(0,39-0,74)	z=1,674	0,094
HG	14,26±2,09	14,45±1,93	t=-0,392	0,696
PLT	262500(213000-302000)	203500(181500-258000)	z=-2,694	0,007
HBSAG	0,14(0,1-0,16)	6615(4125-9235)	z=7,125	<0,001
HBVDNA	0(0-0)	479100(27685-16610000)	z=7,418	<0,001
HAİ	-	7(6-9)	-	-
FE				
F1	-	8(%20)	-	-
F2	-	18(%45)		
F3	-	11(%27,5)		
F4	-	3(%7,5)		
FIB4	0,73(0,61-0,96)	1,15(0,73-1,6)	z=3,311	0,001
<1,45	30(%100)	26(%65)	-	<0,001^a
1,45-3,25	0(%0)	11(%27,5)		
>3,25	0(%0)	3(%7,5)		
APRI	0,25(0,17-0,29)	0,45(0,26-0,88)	z=3,887	<0,001
<1	30(%100)	32(%80)	-	0,030^a
1-2	0(%0)	5(%12,5)		
>2	0(%0)	3(%7,5)		

Bulgular ort±SS, medyan(IQR) veya n(%) ile verilmiştir. t:Independent t-test, z:Mann-Whitney U test, χ²:Pearson ki-kare test. ^aFisher's Exact test.

Tablo 7’de naif hastaları kontrol grubuna göre ayırt etmede Gal_3, INR, ALT, AST, albümin, direkt bilirubin, PLT, HBSAG, HBVDNA, FIB4 ve APRI değişkenleri için yapılan ROC analizi sonuçları verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda, Gal_3 için eğri altında kalan alan (AUC) 1 (95%GA: 0,949-1; $p<0,001$), INR için AUC değeri 0,712 (95%GA: 0,591-0,814; $p=0,001$), ALT için 0,750 (95%GA: 0,632-0,846; $p<0,001$), AST için 0,738 (95%GA: 0,619-0,835; $p<0,001$), albümin için 0,661 (95%GA: 0,538-0,770; $p=0,018$), direkt bilirubin için 0,687 (95%GA: 0,565-0,793; $p=0,004$), PLT için 0,689 (95%GA: 0,667-0,794; $p=0,004$), HBSAG için 1 (95%GA: 0,949-1; $p<0,001$), HBVDNA için 1 (95%GA: 0,949-1; $p<0,001$), FIB4 için 0,733 (95%GA: 0,613-0,831; $p<0,001$) ve APRI için 0,773 (95%GA: 0,657-0,865; $p<0,001$) olarak hesaplandı.

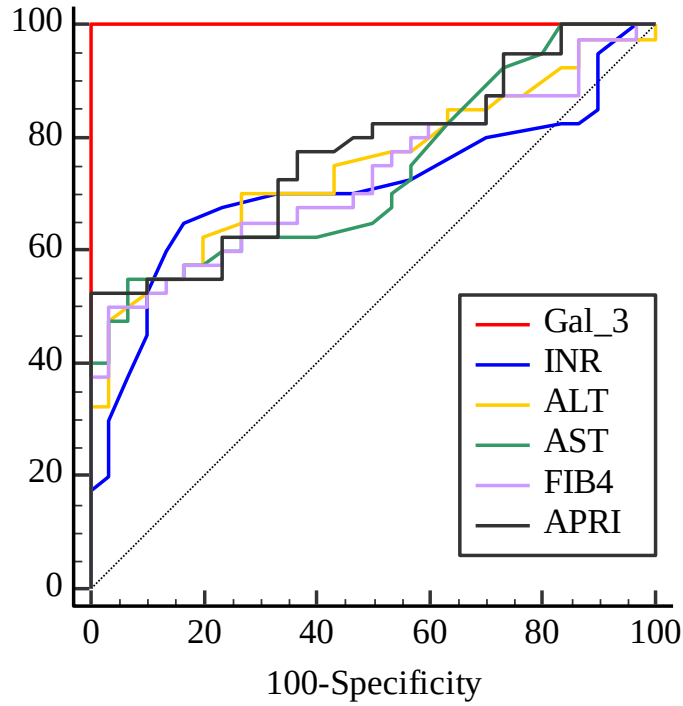
Youden indeks ile belirlenen optimal kesim noktası Gal_3 için $>8,23$ (Duyarlılık: %100 ve Seçicilik: %100), INR için $>1,04$ (Duyarlılık: %65 ve Seçicilik: %83,33), ALT için $>31,43$ (Duyarlılık: %55 ve Seçicilik: %90), AST için >26 (Duyarlılık: %55 ve Seçicilik: %93,33), albümin için $\leq 4,59$ (Duyarlılık: %60 ve Seçicilik: %76,67), direkt bilirubin için $\leq 0,27$ (Duyarlılık: %82,5 ve Seçicilik: %50), PLT için ≤ 200000 (Duyarlılık: %50 ve Seçicilik: %86,67), HBSAG için $>0,25$ (Duyarlılık: %100 ve Seçicilik: %100), HBVDNA için >0 (Duyarlılık: %100 ve Seçicilik: %100), FIB4 için $>1,165$ (Duyarlılık: %50 ve Seçicilik: %96,67) ve APRI için $>0,421$ (Duyarlılık: %52,5 ve Seçicilik: %100) olarak saptandı.

Tablo 7. Naif hasta grubunun kontrol grubuna göre tahmininde çalışma parametrelerinin ayırt edici performansı

Değişkenler	AUC(%95 GA)	p	Cut-off value	Duyarlılık (%)	Seçicilik (%)
Gal_3	1(0,949-1)	<0,001	>8,23	100	100
INR	0,712(0,591-0,814)	0,001	>1,04	65	83,33
ALT	0,750(0,632-0,846)	<0,001	>31,43	55	90
AST	0,738(0,619-0,835)	<0,001	>26	55	93,33
Albümin	0,661(0,538-0,770)	0,018	≤4,59	60	76,67
Direkt bilirubin	0,687(0,565-0,793)	0,004	≤0,27	82,5	50
PLT	0,689(0,567-0,794)	0,004	≤200000	50	86,67
HBSAG	1(0,949-1)	<0,001	>0,25	100	100
HBVDNA	1(0,949-1)	<0,001	>0	100	100
FIB4	0,733(0,613-0,831)	<0,001	>1,165	50	96,67
APRI	0,773(0,657-0,865)	<0,001	>0,421	52,5	100

AUC:area under curve, GA:güven aralığı.

Naif hastaları kontrol grubuna göre ayırt etmede Gal_3, INR, ALT, AST, FIB4 ve APRI parametreleri için oluşturulan ROC eğrisi Şekil 7’de gösterilmiştir. Gal_3’ün naif hastaların belirlenmesinde ayırt edici performansının INR, ALT, AST, FIB4 ve APRI parametrelerine göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p<0,001$). Diğer parametrelerin naif hastaların ayırt edilmesindeki performansları istatistiksel açıdan benzerdi ($p>0,05$).



Şekil 7. Naif hasta grubunu kontrol grubundan ayırt etme amacıyla oluşturulan ROC eğrisi

Tablo 8’te kontrol ve tedavi edilen naif hasta grubunun genel özelliklerine ait tanımlayıcı istatistikler sunulmuş ve bu özellikler iki grup arasında karşılaştırılmıştır. Grupların yaş ($p=0,260$), VKİ ($p=0,136$) ve cinsiyet ($p=0,999$) dağılımları açısından anlamlı farklılık gözlenmedi. Tedavi edilen naif hasta grubunun tedavi sonrası medyan AFP değeri 2,65 (IQR: 1,93-3,95) bulundu. Medyan Gal_3 değerinin tedavi edilen naif hasta grubunda 10,9 (IQR: 10,3-12,25) ve kontrol grubunda 2,54 (IQR: 1,92-4,62) olduğu ve tedavi edilen hasta grubunun Gal_3 değerlerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Direkt bilirubin medyan değeri tedavi edilen naif hastalarda daha düşük ($p=0,008$), HBSAG ($p<0,001$) ve HBVDNA ($p=0,002$) değerleri tedavi edilen naif hasta grubunda anlamlı düzeyde daha yüksekti. INR ($p=0,114$), ALT ($p=0,051$), AST ($p=0,081$), albümin ($p=0,155$), total bilirubin ($p=0,200$), HG ($p=0,799$), PLT ($p=0,172$), FIB4 ($p=0,065$) ve APRI ($p=0,126$) değerleri bakımından iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 8. Kontrol grubu ile tedavi edilen naif hasta grubunun özelliklerinin karşılaştırılması

Değişkenler	Kontrol (n=30)	Tedavi sonrası (n=40)	Test değeri	p
Yaş (yıl)	45,4±6,77	48,1±12,82	t=-1,138	0,260
Cinsiyet				
Kadın	15(%50)	20(%50)	χ ² =0,001	0,999
Erkek	15(%50)	20(%50)		
VKİ	23,27±1,88	23,92±1,73	t=-1,508	0,136
Gal_3	2,54(1,92-4,62)	10,9(10,3-12,25)	z=7,124	<0,001
AFP	-	2,65(1,93-3,95)	-	-
INR	1,01(0,99-1,03)	1,04(1-1,08)	z=1,582	0,114
ALT	18(14,3-21)	22,5(16,5-29,5)	z=1,947	0,051
AST	19,5(16-21,5)	21,5(17-27)	z=1,746	0,081
Albümin	4,7(4,6-4,96)	4,6(4,5-4,8)	z=-1,423	0,155
Direkt bilirubin	0,27(0,19-0,4)	0,18(0,14-0,25)	z=-2,672	0,008
Total bilirubin	0,4(0,2-0,7)	0,49(0,32-0,71)	z=1,282	0,200
HG	14,26±2,09	14,39±1,99	t=-0,255	0,799
PLT	262500(213000-302000)	230000(194000-295000)	z=-1,365	0,172
HBSAG	0,14(0,1-0,16)	5810(3222-8270)	z=7,125	<0,001
HBVDNA	0(0-0)	0(0-15)	z=3,091	0,002
FIB4	0,73(0,61-0,96)	0,89(0,7-1,13)	z=1,845	0,065
<1,45	30(%100)	34(%85)	-	0,066 ^a
1,45-3,25	0(%0)	5(%12,5)		
>3,25	0(%0)	1(%2,5)		
APRI	0,25(0,17-0,29)	0,28(0,2-0,34)	z=1,531	0,126
<1	30(%100)	39(%97,5)	-	0,999 ^a
>2	0(%0)	1(%2,5)		

Bulgular ort±SS, medyan(IQR) veya n(%) ile verilmiştir. t:Independent t-test, z:Mann-Whitney U test, χ²:Pearson ki-kare test. ^aFisher's Exact test.

Tablo 9'da tedavi edilen naif hastaları kontrol grubuna göre ayırt etmede Gal_3, direkt bilirubin, HBSAG ve HBVDNA değişkenleri için yapılan ROC analizi sonuçları belirtilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, Gal_3 (AUC=1; 95%GA: 0,949-1; p<0,001), direkt bilirubin (AUC=0,688; 95%GA: 0,566-0,793; p=0,005), HBSAG (AUC=1; 95%GA: 0,949-1; p<0,001) ve HBVDNA (AUC=0,637; 95%GA: 0,514-0,749; p=0,001) parametrelerinin tedavi edilen naif hastaları kontrol grubuna göre ayırt edebildiği saptandı

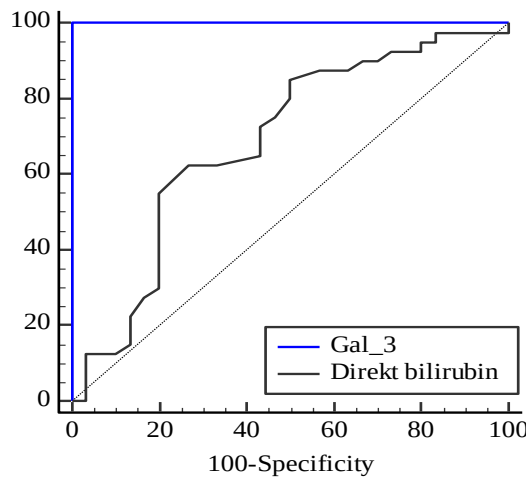
Youden indeks ile belirlenen optimal kesim noktası Gal_3 için $>8,23$ (Duyarlılık: %100 ve Seçicilik: %100), direkt bilirubin için $\leq 0,19$ (Duyarlılık: %62,5 ve Seçicilik: %73,33), HBSAG için $>0,25$ (Duyarlılık: %100 ve Seçicilik: %100) ve HBVDNA için >0 (Duyarlılık: %27,5 ve Seçicilik: %100) bulundu.

Tablo 9. Tedavi edilen naif hasta grubunun kontrol grubuna göre tahmininde çalışma parametrelerinin ayırt edici performansı

Değişkenler	AUC(%95 GA)	p	Cut-off value	Duyarlılık (%)	Seçicilik (%)
Gal_3	1(0,949-1)	<0,001	$>8,23$	100	100
Direkt bilirubin	0,688(0,566-0,793)	0,005	$\leq 0,19$	62,5	73,33
HBSAG	1(0,949-1)	<0,001	$>0,25$	100	100
HBVDNA	0,637(0,514-0,749)	0,001	>0	27,5	100

AUC:area under curve, GA:güven aralığı.

Şekil 8’de tedavi edilen naif hastaları kontrol grubuna göre ayırt etmede Gal_3 ve direkt bilirubin parametreleri için oluşturulan ROC eğrisi verilmiştir. Gal_3’ün tedavi edilen naif hastaların belirlenmesinde ayırt edici performansının direkt bilirubine göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p<0,001$).



Şekil 8. Tedavi edilen naif hasta grubunu kontrol grubundan ayırt etme amacıyla oluşturulan ROC eğrisi

Naif hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası özelliklerindeki değişim Tablo 10'da incelenmiştir. Hastaların tedavi sonrası VKİ ($p=0,155$), albümin ($p=0,209$), direkt bilirubin ($p=0,816$), total bilirubin ($p=0,059$), HG ($p=0,717$) ve HBSAG ($p=0,149$) değerlerinde tedavi öncesine göre anlamlı bir değişim izlenmedi. Tedavi sonrası Gal_3 ($p<0,001$), AFP ($p=0,001$), INR ($p=0,008$), ALT ($p<0,001$), AST ($p<0,001$), HBVDNA ($p<0,001$), FIB4 ($p<0,001$) ve APRI ($p<0,001$) değerlerinin tedavi öncesi değerlere göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu ve tedavi sonrası PLT değerlerinde ise anlamlı bir artış olduğu ($p=0,006$) tespit edildi. FIB4 skoru $<1,45$ olan hasta oranının tedavi sonrasında arttığı (%65 ve %85), 1,45 ile 3,25 arasında olan hasta oranının tedavi sonrasında azaldığı (%27,5 ve %12,5) görüldü ($p=0,007$). APRI skoru <1 olan hasta oranı tedavi sonrasında artarken (%80 ve %97,5), APRI skoru 1 ile 2 arasında olan (%12,5 ve %0) ve >2 olan (%7,5 ve %2,5) hasta oranının azaldığı görülmüş olup bu fark istatistiksel açıdan değerlendirilemedi.

Tablo 10. Naif hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası özelliklerinin karşılaştırılması

Değişkenler	Tedavi öncesi (n=40)	Tedavi sonrası (n=40)	Test değeri	p
VKİ	23,73±2,06	23,92±1,73	t=-1,448	0,155
Gal_3	12,05(10,7-14,8)	10,9(10,3-12,25)	z=-4,712	<0,001
AFP	3,95(2,49-6,6)	2,65(1,93-3,95)	z=-3,461	0,001
INR	1,08(1-1,13)	1,04(1-1,08)	z=-2,643	0,008
ALT	36,5(18,29-69,11)	22,5(16,5-29,5)	z=-4,248	<0,001
AST	29,95(18,3-54,34)	21,5(17-27)	z=-4,463	<0,001
Albümin	4,56(4,37-4,78)	4,6(4,5-4,8)	z=-1,255	0,209
Direkt bilirubin	0,19(0,12-0,26)	0,18(0,14-0,25)	z=-0,232	0,816
Total bilirubin	0,52(0,39-0,74)	0,49(0,32-0,71)	z=-1,891	0,059
HG	14,45±1,93	14,39±1,99	t=-0,365	0,717
PLT	203500(181500-258000)	230000(194000-295000)	z=-2,729	0,006
HBSAG	6615(4125-9235)	5810(3222-8270)	z=-1,444	0,149
HBVDNA	479100(27685-16610000)	0(0-15)	z=-5,511	<0,001
FIB4	1,15(0,73-1,6)	0,89(0,7-1,13)	z=-4,449	<0,001
<1,45	26(%65)	34(%85)	-	0,007 ^a
1,45-3,25	11(%27,5)	5(%12,5)		
>3,25	3(%7,5)	1(%2,5)		
APRI	0,45(0,26-0,88)	0,28(0,2-0,34)	z=-4,987	<0,001
<1	32(%80)	39(%97,5)	-	-
1-2	5(%12,5)	-		
>2	3(%7,5)	1(%2,5)		

Bulgular ort±SS, medyan(IQR) veya n(%) ile verilmiştir. t:Paired t-test, z:Wilcoxon Signed Ranks test. ^aMcNemar-Bowker test.

Naif hasta grubunu tedavi sonrası durumlarına göre ayırt etmede Gal_3, AFP, INR, ALT, AST, PLT, HBVDNA, FIB4 ve APRI değişkenleri için yapılan ROC analizi sonuçları Tablo 11’de belirtilmiştir. Buna göre, Gal_3 (AUC=0,660 [%95 GA: 0,545-0,762]; p=0,010), AFP (AUC=0,642 [%95 GA: 0,527-0,746]; p=0,023), INR (AUC=0,617 [%95 GA: 0,501-0,723]; p=0,001), ALT (AUC=0,654 [%95 GA: 0,539-0,757]; p=0,015), AST (AUC=0,659 [%95 GA: 0,545-0,762]; p=0,011), HBVDNA (AUC=0,962 [%95 GA: 0,893-0,992]; p<0,001) ve APRI (AUC=0,659 [%95 GA: 0,545-0,762]; p=0,010) değişkenleri naif hastaları tedavi sonrası durumlarına göre öngörmede ayırt edici faktör olarak belirlendi.

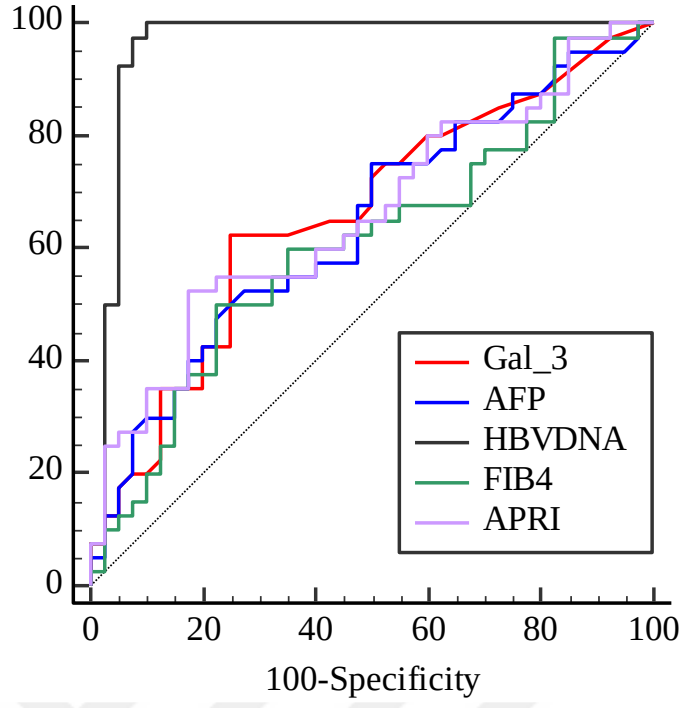
Değişkenlerin optimal kesim noktaları Youden indeks ile hesaplandı. Gal_3 >11,7 kesim noktası için duyarlılık %62,5 ve seçicilik %75, AFP >2,5 için duyarlılık %75 ve seçicilik % 50, INR >1,09 için duyarlılık %45 ve seçicilik %85, ALT >32 için duyarlılık %55 ve seçicilik %82,5, AST >29 için duyarlılık %52,5 ve seçicilik %87,5, PLT $\leq$ 222000 için duyarlılık %65 ve seçicilik %65, HBVDNA >146 için duyarlılık %100 ve seçicilik %90, FIB4 >1,134 için duyarlılık %50 ve seçicilik %77,5 ve APRI >0,41 için duyarlılık %52,5 ve seçicilik %82,5 olarak belirlendi.

Tablo 11. Naif hasta grubunun tedavi sonrası durumlarına göre tahmininde çalışma parametrelerinin ayırt edici performansı

Değişkenler	AUC(%95 GA)	p	Cut-off value	Duyarlılık (%)	Seçicilik (%)
Gal_3	0,660(0,545-0,762)	0,010	>11,7	62,5	75
AFP	0,642(0,527-0,746)	0,023	>2,5	75	50
INR	0,617(0,501-0,723)	0,001	>1,09	45	85
ALT	0,654(0,539-0,757)	0,015	>32	55	82,5
AST	0,659(0,545-0,762)	0,011	>29	52,5	87,5
PLT	0,609(0,494-0,717)	0,088	$\leq$ 222000	65	65
HBVDNA	0,962(0,893-0,992)	<0,001	>146	100	90
FIB4	0,610(0,494-0,717)	0,086	>1,134	50	77,5
APRI	0,659(0,545-0,762)	0,010	>0,41	52,5	82,5

AUC:area under curve, GA:güven aralığı.

Naif hastaları tedavi edilen durumlarına göre ayırt etmede Gal_3, AFP, HBVDNA, FIB4 ve APRI parametreleri için oluşturulan ROC eğrisi Şekil 9'da sunulmuştur. HBVDNA parametresinin naif hastaların tedavi edilen durumlarına göre belirlenmesinde ayırt edici performansı Gal_3, AFP, FIB4 ve APRI parametrelerine göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,001$). Diğer parametrelerin naif hastaların ayırt edilmesindeki performansları istatistiksel açıdan benzerdi ($p>0,05$).



Şekil 9. Naif hasta grubunu tedavi sonrası durumlarından ayırt etme amacıyla oluşturulan ROC eğrisi

5. TARTIŞMA

Dünya genelinde yaklaşık 2 milyar kişinin HBV ile enfekte olduğu ve bunların 400 milyonunun ise kronik taşıyıcı olduğu tahmin edilmektedir. Her yıl kronik hepatit B enfeksiyonuna veya komplikasyonlarına bağlı olarak dünya genelinde ortalama 600.000 kişi hayatını kaybetmektedir. HCC ile ilişkili ölümlerin yaklaşık % 60'ı ile siroz ile ilişkili ölümlerin %30'u HBV kaynaklıdır. Ülkemizde ise erişkinlerde kronik hepatit B enfeksiyonunun prevalansı %5 olup, sirozu olanlarda bu oran %50'ye kadar yükselmektedir. Yaygınlığı ve ölümcül sonuçlarından dolayı HBV enfeksiyonu hem ülkemizde hem de dünya genelinde ciddi bir halk sorunu olmaya devam etmektedir (30).

Antiviral tedavinin temel amacı, viral replikasyonu ve karaciğerdeki inflamasyonu baskılayarak fibrozis oluşumunu engellemektir. Bundan dolayıdır ki antiviral tedavinin doğru zamanda başlanması, kronik karaciğer hastalığı, siroz ve HCC oluşumunun ve bunlara bağlı gelişebilecek komplikasyonların engellenmesi açısından önem arz etmektedir (6). Karaciğerde HBV'ye bağlı gelişen fibrozun evresinin saptanması ve inflamasyon düzeyinin belirlenmesi; tedavi başlangıcında, prognoz tayininde ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde en önemli faktörlerdir. Günümüzde halen karaciğer biyopsisi, fibrozis ve nekroinflamasyon düzeyinin belirlenmesinde altın standart olarak kullanılmaktadır. Fakat karaciğer biyopsisinin, invaziv olması, işlem anında ve sonrasında oluşabilecek komplikasyon riski varlığı, tekrarlanma olanağının kısıtlılığı gibi olumsuz yönleri mevcuttur. Bundan dolayı günümüzde araştırmacılar fibroz ve nekroinflamatuvar aktivitenin belirlenmesi için non-invaziv olan, ulaşılması kolay, güvenilir, tekrarlanabilir ve ucuz yöntemler geliştirme amacıyla birçok çalışma yapmışlardır. (12).

Non-invaziv yöntemler direk ve indirekt belirteçler olmak üzere kendi arasında ikiye ayrılmıştır. Karaciğer fibroz gelişimindeki ana sebep, ECM sentezinin artışı ve atılımındaki defekt sonucu hepatositlerde ECM birikmesidir. Non-invaziv yöntemler içerisindeki direk belirteçler bu aşamada oluşan ana ECM bileşenlerini kapsamaktadır. Birçok çalışma, bu ECM bileşenlerinin karaciğer fibrozis hızını ve anti viral tedaviye yanıtı değerlendirmede faydalı bulmuştur. Fakat bu belirteçlerin, fibrozun kendisinden ziyade, fibrojenezi yansıttığından, fibroz oluşumunda ve

hafif düzey fibrozda etkinlikleri tartışmalıdır (81). İndirekt belirteçler ise fibroenez sırasında hepatik fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak ortaya çıkan, direk fibrozisi yansıtmayan, karaciğer hastalık tanısında ve takibinde kullanılan parametrelerden oluşur. Son zamanlarda klinisyenler tarafından direkt ve indirekt belirteçlerin kombine kullanımı, tek başına kullanımlarına kıyasla tercih edilmektedir (64).

Biz de bu çalışmamızda; tedavi almamış biyopsi tanısı olan kronik hepatit B hastalarında; serum galektin-3 düzeyinin tedavi sonrası serumdaki değişiminin, fibrosis skorları ile ilişkili olup olmadığı ve galektin-3 düzeylerindeki değişimin fibrozisteki düzelmeyi ön görüp göremeyeceğini araştırdık.

Trombositopeni kronik karaciğer hastalığı olanlarda sık görülen hematolojik bozukluklardan biridir. Yapılan çalışmalar dahilinde karaciğerde ileri derece fibrosis gelişenlerde komplikasyon olarak ortaya çıkan hipersplenizm ve portal hipertansiyon sonucunda dalakta trombosit yıkımının ve sekestrasyonun arttığı belirtilmiştir. Trombositopeni gelişimine bir diğer sebep olarak da trombosit sentezinde önemli bir yere sahip olan ve başlıca karaciğerde üretilen trombopoietin (TPO) üretiminin fibroz sonucunda azalması olarak gösterilmiştir. Kronik karaciğer hastalığı olanlarda trombosit yüzey antijenlerine karşı gelişen otoantikörlerin, trombositlerin dalak ve hepatik retiküloendotelial sistem tarafından uzaklaştırılmasının hızlandırılmasına katkıda bulunması da üçüncü bir neden olarak kabul görmektedir (82,83). Karaciğer fibroz evresi ile trombosit sayısı arasında negatif korelasyon varlığı, yapılan birçok çalışmada da gösterilmiştir (84,85).

Seven ve arkadaşlarının 83 KHB ve 33 kronik hepatit D hastası ile yaptıkları çalışmada trombositopenin, fibrozisin yanı sıra nekroinflamatuvar aktivite düzeyi üzerinde de tanısal değer taşıdığı gösterilmiştir (86). Cheng ve arkadaşlarının 115 KHB hastası ile yaptıkları bir çalışmada hastalar nekroinflamatuvar aktivite ve fibrosis seviyelerine göre gruplara ayrılmış ve nekroinflamatuvar aktivite düzeyi yüksek olanlar ile belirgin fibrozisi olanlarda trombosit sayıları daha düşük saptanmıştır ($p<0,016$, $p= 0.001$) (87). Ming Kee ve arkadaşlarının 135 kronik hepatit C'li hastadan oluşan çalışmasında hastaların tedavi öncesi ve sonrasındaki trombosit düzeyleri ile fibrosis evresi arasındaki korelasyona bakılmış ve fibrosis evresi ile trombosit sayısı arasında negatif korelasyon saptanmış olup ($p<0,006$)

tedavi sonrasında gerileyen fibrozis düzeyi ile beraber trombosit sayısında artış meydana gelmiştir($p<0.012$) (88)

Bizim çalışmamızda da literatürle benzer şekilde naif KHB'li ve sağlıklı kontrol gruplarının trombosit sayıları karşılaştırıldığında, aralarında anlamlı istatistiksel fark görülmüştür. Çalışmamızda naif hasta grubunun trombosit sayısı, sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük ($p=0.007$) bulunmuş olup, naif hastaların tedavi sonrasında trombosit değerlerinde ise anlamlı bir artış olduğu ($p=0,006$) tespit edilmiştir.

Serum transaminaz (AST ve ALT) ölçümleri non-invaziv, ucuz, tekrarlanabilir ve güvenilir testler olup, yükseklikleri karaciğer hasarı ve nekroinflamatuvar aktiviteyi gösterir. Birçok çalışmada AST ve ALT düzeyleri karaciğer fibrozis düzeyi ile ilişkili bulunmuştur. Demir ve arkadaşlarının 456 KHB hastası ile yaptıkları bir çalışmada, hastaları fibrozis skorlarına göre düşük ve yüksek evre olarak sınıflandırarak yaptıkları karşılaştırmada, fibrozis evresi yüksek olan grup ile AST, ALT düzeyleri ($p=0,001$, $p= 0,001$) arasında pozitif, trombosit sayısı ($p=0,001$) arasında negatif korelasyon saptanmıştır (89). Wang ve arkadaşlarının yapmış olduğu 567 hastanın dahil olduğu bir çalışmada ALT yüksekliği yüksek fibrozis skoru ile ilişkilendirilmiştir (90). Jin-Lin Hou ve arkadaşlarının yapmış olduğu 57 KHB hastanın dahil edildiği bir çalışmada anti viral tedavi ile beraber fibrozisteki gerilemeyi ön görmek amaçlanmıştır. Hastalara hem tedavi başlamadan önce hem de tedaviden 5 yıl sonrasında karaciğer biyopsisi yapılmış ve hastaların % 98'nde fibroziste iyileşme görülmüştür. İyileşme ile beraber hastaların % 82'nde transaminaz düzeylerinde normalleşme saptanmıştır (91).

Bizim çalışmamızda da literatür ile benzer şekilde naif hasta grubunun, sağlıklı kontrol grubuna göre AST ve ALT düzeyleri ($p=0,001$, $p<0,001$) yüksek saptanmış iken tedavi sonrası AST ve ALT değerlerinin ($p<0,001$, $p<0,001$) tedavi öncesi değerlere göre istatistiksel olarak düştüğü tespit edilmiştir.

Karaciğer, koagülasyon kaskadında kullanılan faktörlerin neredeyse tamamının üretildiği bir organdır. Kronik karaciğer hastalıklarında hemostatik mekanizmalarda bozulmalar ve faktör üretiminde azalmalar meydana gelir. Bu bozuklukların bir kısmını laboratuvar testleri ile izlemek mümkündür. Yosry ve arkadaşları 182 kronik hepatit C (KHC) tanısı bulunan hastalarda yapmış oldukları

bir çalışmada ileri evre fibrozis ile INR yüksekliğinin ilişkili olduğu görülmüştür. Ayrıca bu çalışmada ALT, AST yüksekliği ile trombosit düşüklüğü de ileri evre fibrozis ile bağlantılı görülmüştür (92). Marcellin ve arkadaşlarının 202 KHB'li hastayı kapsayan çok merkezli çalışmasında ileri evre fibrozis ile INR yüksekliğinin ilişkili olduğu görülmüş olup, ayrıca nekroinflamatuvar aktivite skoru yüksek olanlarda da pozitif korelasyon izlenmiştir ($p<0,004$) (93).

Bizim çalışmamızda naif hasta grubunun INR değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksekti($p=0,002$). Ayrıca tedavi sonrası INR değerlerinin, tedavi öncesi değerlere göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu($p=0,008$) görüldü. Bu durum fibrozisteki iyileşmeyle ilişkilendirilmiştir.

Serum albümini, karaciğerde sentezlenen , vücutta birçok endojen ve eksojen maddenin transportunda görev almanın yanı sıra plazma onkotik basıncını düzenleyen başlıca proteindir. Kronik karaciğer hastalıklarında, hepatosit hasarına bağlı olarak albümin sentezinde azalma, sodyum ve su retansiyonun artmasına bağlı serum albümin düzeyinin dilüsyonuna yol açması ve transkapiller geçiş hızının artması da hipoalbüminemiye yol açabilir.

Birçok çalışmada serum albümin düzeyinin karaciğer fibrozisi sonrasında azaldığı gösterilmiştir (94). Tahata ve arkadaşlarının HCV ile ilişkili kronik karaciğer hastalığı olan 190 hasta ile yaptıkları çok merkezli bir çalışmada hastalar Child-Pugh sınıflandırmasına göre erken ve ileri evre karaciğer hastalığı olanlar şeklinde iki grubu ayrılmış ve tedavi öncesi ile tedavi sonrası albümin seviyesi ile fibrozis evresi arasındaki korelasyon incelenmiştir. Çalışma sonucunda anti viral tedavi ile albümin seviyelerinde anlamlı yükselme ($p<0,001$) ve hastaların fibrozis evrelerinde gerileme saptanmıştır. Fakat bu iyileşme oranı fibrozisi ileri evre olanlarda, erken evre olanlara kıyasla (%27 - % 50) daha düşük izlenmiştir (95). İnkaya ve arkadaşlarının yapmış oldukları kesitsel vaka-kontrol çalışmasına 189 KHB tanılı hasta dahil edilmiş olup hastalar erken evre fibrozis(evre 1-3) ve ileri evre fibrozis(evre 4-5) olarak ikiye ayrılmıştır. Çalışmada fibrozis evreleri ile ALT arasında pozitif ($p<0,001$) , albümin ve trombosit sayıları arasındaki ise negatif ($p<0,001$, $p<0,001$) korelasyon bulunmuştur (96).

Bizim çalışmamızda naif hasta grubunun albümin değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük saptandı ($p<0,022$). Ayrıca tedavi sonrası

albümin değerleri, tedavi sonrasına göre artmış fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,209$).

Günümüzde karaciğer biyopsisi nekro-inflamatuar aktivite ve karaciğer fibrozisinin varlığı ve şiddeti hakkında bilgiler sağladığı için altın standart yöntem olarak kabul edilir. Fakat karaciğer biyopsisinin pratikte birçok sınırlamaları olması sebebiyle, hastalarda karaciğer biyopsisi ihtiyacını azaltmak için çok sayıda non invaziv karaciğer fibrozisi değerlendirme yöntemleri geliştirilmiştir (12). Wai ve arkadaşları 2003 yılında ilk kez APRI skorunu (AST'nin trombosit oranı) geliştirdikleri çalışmaya 192 KHC'li hastayı dahil etmiştir. Bu çalışma sonucunda APRI skoru ile fibrozisi olan hastaların %51'i, belirgin fibrozisi(siroz) olanların ise %81'i doğru bir şekilde tahmin edilmiştir. Bu çalışma iki farklı modelde incelenmiş olup, ilk model şiddetli fibrozisi olanları yani sirozlu hastayı belirlemeyi amaçlamıştır. Bu modelde şiddetli fibrozis göstergesi olarak APRI skoru >2.00 cut off değeri iken; düşük evre fibrozisi saptamada ise APRI skoru <1.00 cut off değeri kullanılmıştır. İkinci modelde ise önemli fibrozisi tahmin etmek için APRI skoru >1.50 cut off değeri kullanılmış iken; APRI skoru < 0.50 ise önemli olmayan fibrozisi belirlemede kullanılmıştır. Bu çalışmada şiddetli fibrozisi ve önemli fibrozisi belirlemede APRI skorlarının AUC'leri sırasıyla 0.89 ve 0.80 olarak gösterilmiştir (85). Lin ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir meta-analize toplam 8739 HCV tanılı hasta dahil edilmiş ve bu hastaların APRI skoru ile fibrozis düzeyini tahmin etmedeki doğruluğu araştırılmıştır. Hafif fibrozis, şiddetli fibrozis ve siroz tanılarında APRI skorlarının AUC değerleri sıra ile 0.77, 0.80 ve 0.83 olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda APRI skorunun hepatit C ile ilişkili fibrozu orta derece hassasiyet ve doğrulukla tanımlayabildiği gösterilmiştir (97).

Sterling ve arkadaşları 2006 yılında yapmış oldukları kohort çalışmasında, HIV/HCV koenfeksiyonu olan 832 hastada karaciğer fibrozunu tahmin etmek için AST, ALT trombosit ve yaşın dahil olduğu 4 farklı değişkenden oluşan FIB-4 indeksini geliştirmişlerdir. Bu çalışmada FIB-4 için <1.45 ve >3.25 eşik değerleri kullanıldığında FIB-4 <1.45 olan hastaların % 90'nda negatif prediktif değer, FIB-4 >3.25 olan hastalarda ise % 97 özgüllük ve %65 pozitif prediktif değer görülmüştür (98).

Pichard ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada 842 KHC tanılı hastanın FIB-4 indeksi ile eş zamanlı karaciğer biyopsi sonuçları ile, 592 KHC tanılı hastanın FIB-4 indeksi 780 FibroTest ile karşılaştırılmış. FIB-4 indeksinin tanısal değeri şiddetli fibroziste istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca FIB-4<1.45 olan hastalarda %94.7'lik negatif prediktif değer saptanmıştır (99). Yue ve arkadaşlarının Çin'de 2014 KHB tanılı hasta ile yaptıkları bir çalışmada, APRI ve FIB-4 indeksinin erken evre fibrozis ve siroz gelişimini ön görmedeki belirleyiciliğini FibroScan ile kıyaslaması yapılmıştır. Hem APRI skorunun hem de FIB-4 indeksinin erken evre fibrozis ve siroz gelişiminde anlamlı istatistiksel bulgulara (AUC=0,83, AUC= 0,74) sahip olduğu çalışmada APRI' nin ileri evre fibrozisi yani sirozu saptamada FIB-4'e göre daha belirleyici olduğu görülmüştür (AUC=0.90, AUC=0,84) (100). Dynysiewicz ve arkadaşlarının 138 KHC tanılı hasta ile yaptıkları bir çalışmada APRI ve FIB-4 indeksinin karaciğer fibrozisini göstermede istatistiksel olarak anlamlı sonuç verdiği ($p<0,001$, $p<0,001$) gösterilmiş. Ayrıca bu çalışmada fibrozis evresi arttıkça APRI ve FIB-4 indeks değerlerinin de yükseldiği ifade edilmiş olup tedavi sonrası grupta APRI ve FIB-4 indeksinde tedavi öncesi gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır ($p<0,05$, $p<0,003$) (101). Li ve arkadaşlarının 303 KHB tanılı hasta ile yaptıkları bir çalışmada, hastaların antiviral tedavi ile beraber fibrozis düzeyindeki değişiklikleri APRI ve FIB-4 indeksi ile 5 yıl boyunca takip edilmiştir. Çalışma sonucunda APRI ve FIB-4 indeks değerlerinde antiviral tedavi sonrası anlamlı düşüş saptanmış olup, şiddetli fibrozisi olanlarda bu düşüş daha uzun sürede gerçekleşmiştir ($p<0,05$, $p<0,05$) (102).

Bu çalışmalardan anlaşıldığı üzere, APRI ve FIB-4 indeks skorlarının karaciğer fibrozis düzeyini belirlemede tanısal değerinin olduğu ve fibrozis evresinin artışı ile birlikte bu belirteçlerin düzeylerinin arttığı, tedavi ile de azaldığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda da literatür sonuçlarıyla paralel olarak APRI ve FIB-4 indeks değerleri naif KHB hastalarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek saptanmıştır ($p <0,001$, $p=0,001$). Hastaların tedavi sonrası APRI ve FIB-4 değerleri, tedavi sonrası değerlerine göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu tespit edilmiş ve literatür ile benzer sonuçlar görülmüştür ($p<0,001$, $p<0,001$).

Çalışmamızda naif hastaları kontrol grubuna göre ayırt etmede APRI ve FIB-4 için yapılan ROC analizinde AUC sırasıyla 0,773 ve 0,733 belirlenmiştir. FIB-4 skoru <1,45 olan hasta oranının tedavi sonrasında arttığı, 1,45 ile 3,25 arasında olan hasta oranının ise tedavi sonrasında azaldığı görüldü ($p=0,007$). APRI skoru <1 olan hasta oranı tedavi sonrasında artarken, APRI skoru 1 ile 2 arasında olan ve >2 olan hasta oranının azaldığı görülmüş olup bu fark istatistiksel anlamda değerlendirilemedi. Naif hasta grubunu tedavi sonrası durumlarına göre ayırt etmede APRI ve FIB-4 için yapılan ROC analizinde AUC sırasıyla 0,659 ve 0,610 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızdaki sonuçlar dikkate alındığında APRI ve FIB-4 değerlerinin naif KHB hastaları için fibrozisi belirlemede tanısal değer taşıdığı, tedavi alan hastalarda ise fibrozisteki gerilemeyi ön görmeye faydalı olabileceği gösterilmiştir.

Alfa-feto protein(AFP) , karaciğerde üretilen fetal bir protein olup günlük pratikte HCC için tümör markırı olarak kullanılmaktadır. Özellikle kronik viral hepatitlerde olmak üzere kronik karaciğer hastalıklarında ve gastrointestinal sistem kökenli malignitelerde de AFP artabilir. Liu ve arkadaşlarının 619 KHB tanılı hasta ile yaptıkları bir çalışmada AFP ile karaciğer fibrozis evresi arasında ilişki araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda AFP ile karaciğer fibrozis düzeyi arasında pozitif korelasyon izlenmiş olup AFP'nin karaciğer fibrozisini göstermedeki klinik öneme dikkat çekilmiştir (103). Fouad ve arkadaşlarının 456 KHC tanılı hastayı dahil ettikleri bir çalışmada, antiviral tedavi sonrası AFP düzeyi ile karaciğer fibrozisini gösteren APRI ve FIB-4 düzeyi arasındaki ilişki incelenmiştir. Bu çalışmada antiviral tedavi sonrası, karaciğer fibrozisini gösteren non invaziv belirteçler ile AFP düzeyinde aralarında korelasyon gösteren anlamlı düşüş görülmüştür (104).

Bizim çalışmamızda da hastaların tedavi sonrası AFP değerlerinin, tedavi öncesi değerlere göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu gösterilerek karaciğer fibrozisi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir($p=0,001$). Naif hasta grubunu tedavi sonrası durumuna göre ayırt etmede AFP değişkeni için yapılan ROC analizinde AUC=0,642 olarak belirlendi.

Kronik HBV enfeksiyonu, karaciğer sirozu ve HCC gelişimine sebebiyet veren karaciğer fibrozu için önemli bir risk faktörüdür. Kronik HBV tedavisi,

karaciğer fibrozunu kontrol altına alma, hepatik dekompanseasyon ve hepatoselüler karsinom gelişmesini engellemeyi amaçlar. Kronik hepatit B' ye bağlı gelişen hepatik fibrozun anti viral tedavilerle gerilediğine dair birçok çalışma ve veri bulunmaktadır. Uygun ve etkin anti viral tedavi sonrasında inflamasyon gerileyerek fibrozda iyileşme meydana gelir.

Dienstag ve arkadaşlarının 67 KHB'li hasta ile yaptıkları çalışmada, hastalara 3.5 yıl anti viral tedavi verildikten sonra yapılan karaciğer biyopsisi sonucunda hastalarda(siroz hastaları dahil) fibrozis düzeyinde gerileme saptandığı görülmüştür (105). Marcellin ve arkadaşlarının anti viral tedavi başlanan 71'i siroz toplam 641 hastayı dahil ettikleri bir çalışmada, 5 yıl devam eden tedavi sonunda yapılan biyopsi sonucunda hastaların nekroinflamatuvar ve fibrozis düzeylerinde belirgin iyileşme saptandığı gösterilmiştir ($p<0,001$) (106).

Chang ve arkadaşlarının 57 naif HBV tanılı hasta ile yaptıkları çalışmada, 48 hafta boyunca anti viral tedavi alan hastalarda belirgin histolojik iyileşme, fibroziste gerileme, HBV DNA düzeyinde baskılanma görülmüştür (107). Chon ve arkadaşlarının ileri düzeyde fibrozisi ve yüksek viral yüke sahip olan 120 naif HBV tanılı hasta ile yaptıkları bir çalışmada, antiviral başlandıktan 5 yıl sonra yapılan fibrozis evrelemesinde ve HBV DNA düzeyinde anlamlı düşüş izlenmiştir (108).

Çalışmamızda , anti viral tedavi sonrasında hastalarımızın tamamında HBV DNA değerlerinde gerileme saptanmıştır. Ayrıca naif hasta grubunu tedavi sonrası durumlarına göre ayırt etmede HBV DNA değişkeni için yapılan ROC analizi sonucunda AUC 0,962 bulunmuştur.

Galectin-3(Gal-3), beyin, kalp, karaciğer ve böbrek gibi birçok organ ile dokuda bulunan hücre savunması, anjiyogenezis, inflamasyon ve fibrojeniz gibi birçok biyolojik görevi tanımlanmış bir proteindir.. Son zamanlarda Gal-3'ün çeşitli enfeksiyon, otoimmün hastalıklar, fibrozis ile seyreden kronik hastalıklar ve kanserlerin patogeneğinde yer aldığı tespit edilmiştir. Bundan dolayıdır ki galectin-3'ün fibrojeniz ve inflamasyon ile seyreden hastalıkların tanı ve takibinde biyobelirteç olarak kullanılması gündeme gelmiş olup bu konu ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Galectinler, mikrogliya aktivasyonu, Tau protein ve amiloid sentezi, nöronların fagositozu, santral sinir sisteminde sitokin salınımı gibi birçok inflamatuvar süreçte görev aldığından dolayı son zamanlarda serobrovasküler hastalıklar üzerinde fibrozisi göstermedeki tanısal gücü sıkça çalışmalara konu olmuştur.

Martinez ve arkadaşlarının 905 nörodejeneratif bozukluğu olan (alzheimer, parkinson, amiotrofik lateral skleroz ve multipl skloroz) hastaları dahil ettikleri bir meta analizde; hastaların sağlıklı bireylere göre daha yüksek galectin seviyelerine sahip olduğu gösterilmiştir. Galectin tipine göre yapılan alt grup analizinde ise sadece galektin-3 için hasta ve sağlıklı bireyler arasında anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,001$) (109). Siew ve arkadaşlarının 26'sı semptomatik toplam 30 Huntington hastası ile yaptığı bir çalışmada hastaların, sağlıklı bireylere oranla plazma galectin düzeyleri yüksek çıkmış olup, gal-3 ekspresyonunun hastalığın klinik belirtileri ile de pozitif korelasyon gösterdiği izlenmiştir. Bu durum galectin-3'ün mikrogliya inflamasyonu ve fibrojenizde görev almasına bağlanmıştır (110). Benzer şekilde Lanescence ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel hayvan çalışmasında iskemik beyin hasarı olanlarda gal-3 seviyesinin arttığı ($p < 0,001$) mikrogliya aktivasyonu ve proliferasyonu için ise gal-3' e ihtiyaç duyulduğu tespit edilmiştir (111).

Galectin-3, inflamasyon durumunda çok sayıda sitokin ve kemokinin sentezini artırarak miyeloid hücre aktivasyonuna sebep olur. Bu durum da Gal-3'ün, inflamasyonla seyreden otoimmün hastalıkların patofizyolojisinde görev aldığına göstergesi olarak düşünülmektedir. Bu sebeple otoimmün hastalıklarda Gal-3 düzeyinin tanı ve tedavi takibindeki yeri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (112).

Cao ve arkadaşlarının 112 Ankilozan spondilit (AS) tanılı hasta ile yaptıkları bir çalışmada; AS tanılı hastalarda, serum Gal-3 düzeyleri ile Ankilozan Spondilit Hastalık Aktivitesi (ASDAS) indeksi arasındaki korelasyon değerlendirilmiştir. Bu çalışmada AS tanılı hastaların sağlıklı kontrol grubuna göre Gal-3 seviyeleri anlamlı yüksek görülmüştür ($p < 0,001$). Ayrıca Gal-3 düzeyi ile ASDAS, eritrosit sedimentasyon hızı ve c-reaktif protein ile arasında pozitif korelasyon izlenmiştir ($p < 0,001$, $p = 0,011$, $p < 0,001$) (113). Issa ve arkadaşlarının

yeni tanı almış 160 Romatoid artritli (RA) hasta ile yaptıkları bir çalışmada, hastaların 6. hafta, 3.ay ve 12.aydaki klinik, MRG ve serolojik verileri kayıt altına alınmıştır. Yapılan istatistiksel analiz sonrasında hastaların klinik ve MRG yöntemi ile tespit edilen hastalık aktivasyonu Gal-3 ile pozitif korelasyon göstermiştir($p<0,001$). Ayrıca tanı anında anti- CCP pozitif olanlarda, negatif olanlara göre Gal-3 düzeyi daha yüksek düzeyde ölçülmüştür (114). Chen ve arkadaşlarının 42 aktif erişkin başlangıçlı Still hastalığı tanısı alan hasta ile yaptıkları bir çalışmada aktif erişkin Still hastalığı ile Gal-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur($p<0,001$). Bu çalışmada Gal-3 değerleri hastalık aktivite skorları ile inflamatuvar parametre değerleri arasında pozitif korelasyon saptanmış olup 6 aylık tedavi sonrası Gal-3 değerleri, hastalık aktivite skorları ve inflamatuvar parametre belirteçlerindeki düşüşlere paralel olarak gerilemiştir($p<0,001$) (115).

Galectin-3, miyokardiyal hasar sonucu, aktive kardiyak makrofajlar tarafından salınarak TGF-beta ve matriks sentezini uyarır. Bu durumda miyokardda fibroblast proliferasyonunu ve tip 1 kollejen sentezini artırarak kalpte fibrozis gelişimine neden olur (116). Galectin-3 'ün kalp yetmezliğinde tanı ve prognoz tayininde kullanılabilecek yeni bir markır olabileceğine dair birçok çalışma yapılmıştır.

Chen ve arkadaşlarının 7057 akut kalp yetmezliği tanısı alan hasta ile yapmış oldukları bir meta analizde yüksek Gal-3 serum düzeyinin kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir ($p<0,001$) (117). Benzer şekilde Huang ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir meta analizde, kalp yetmezliğinde tanısal gücü olabilecek 6 yeni biyobelirteç (Galectin-3, copeptin, hs-cTnT, MR-proANP, MR-proADM ve ST2) incelenmiş ve Gal-3'ün bu 6 belirteç arasında en yüksek tanısal değeri taşıdığı görülmüştür (118). Boer ve arkadaşları 592 kalp yetmezliği olan hasta ile yaptıkları bir çalışmada Gal-3 ile kalp yetmezliği arasında güçlü bir ilişki bulunmuş ve ejeksiyon fraksiyonu düşük olanlarda, ejeksiyon fraksiyonu korunmuş olanlara göre Gal-3 düzeyi yüksek saptanmıştır ($p<0,001$) (119). Felker ve arkadaşlarının sol kalp yetmezliği olan 895 hasta ile yaptıkları bir çalışmada, hastalarda Gal-3 düzeyi ile NT-proBNP arasındaki pozitif korelasyon izlenmiş olup, Gal-3 ve NT-proBNP yüksekliğinin mortaliteyi olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (120)

Çang ve arkadaşlarının 5226 kronik böbrek hastalığı(KBH) olan hasta ile yaptıkları bir meta analizde KBH hastalarında kardiyovasküler olay geçirme riski ve tüm nedenlere bağlı mortalite riskindeki artış Gal-3 düzeylerindeki yükseklik ile ilişkili bulunmuştur. Galectin-3 düzeyindeki her % 1’lik artış mortalite üzerindeki ölüm riskinde % 37 artışa sebep olduğu gösterilmiştir. Fakat Gal-3 düzeyi ile hemodiyaliz hastaları arasında risk hesaplaması yapılamamıştır (121). Benzer şekilde Salib ve arkadaşlarının 2773 hemodiyaliz hastası ile çok merkezli yürütülen bir çalışmada, Gal-3 yüksekliği ile hemodiyaliz hastalarındaki kardiyovasküler olay ve tüm nedenlere bağlı mortalite üzerindeki pozitif korelasyon görülmüş. Bu duruma, Gal-3’ün renal ekstrasvasküler matriks bileşenlerinin sentezini artırmasına ve hem glomerülde hem de tübüllerde fibrozise neden olması gösterilmiştir (122).

Galectin-3, kollajen sentezini stimüle etme, inflamasyon, çapraz apoptoz bağları oluşturma ve pro-fibrotik bir protein olma gibi işlevlerinden dolayı karaciğer fibrozisi ile ilişkili olduğu, yapılan çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir.

İn vitro çalışmalar ile oluşturulan karaciğer fibrozisinde, galectin-3 artışı ile beraber miyofibroblast hücre proliferasyonunun arttığı görülmüştür. Karbon tetraklorür (CCL₄) uygulanarak karaciğer fibroz modeli oluşturulan bir çalışmada 8 haftalık CCL₄ uygulamasından sonra, karaciğerin periportal ve köprüleşme fibrozisi görülen alanlarında, kontrol grubuna göre Gal-3 düzeyinde ve mRNA ile protein ekspresyonunda belirgin olarak artış izlenmiştir. Ayrıca aynı çalışmada galectin-3 düzeyi knock-out farelerde, WT farelerin olduğu gruba göre miyofibroblast aktivasyon belirteci olarak bilinen α -SMA seviyesi belirgin daha düşük olarak tespit edilmiştir (78). Oliveira ve ark.larının yakın tarihli yaptıkları bir çalışmada, deneysel karaciğer sirozu oluşturulan farelerde, bu durum artan Gal-3 ekspresyonuna bağlanmış ve tedavi sonrası 12. ayda ise sirotik farelerin karaciğer fibrozisinde, inflamatuvar hücre miktarında ve Gal-3 düzeylerinde gerileme saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda bu molekülün fibroz gelişiminde rol oynadığını ve anti-fibrotik tedaviler için yeni bir hedef olabileceği belirtilmiştir (123).

Kronik HBV’ ye bağlı gelişen karaciğer fibrozu ile galectin-3 arasındaki ilişkiyi araştıran literatürde az sayıda çalışma mevcuttur. Uluca ve arkadaşlarının 32 kronik HBV, 30 inaktif HBV taşıyıcısı ve 30 sağlıklı hastadan oluşan çalışmasında, Gal-3 düzeyi, inaktif taşıyıcı ve kontrol grubuna göre kronik HBV

tanısı olanlarda anlamlı yüksek ölçülmüştür($p<0,001$). Fakat inaktif taşıyıcılarla sağlıklı kontrol grubu arasında Gal-3 seviyeleri arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). Bu sonuçlarla serum Gal-3 düzeyinin yüksekliği, HBV' nin kronikleşmesinde önemli bir role sahip olduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir (124). An ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir meta analizde serum Gal-3 seviyesinin yüksek saptanmasının, kronik HBV' li hastalarda karaciğer sirozu ve HCC gelişimi açısından risk faktörü olarak gösterilmiştir (125). Ulu ve arkadaşlarının kronik HBV ve kronik HCV tanısı olan hastalarla; sirozlu ve HCC' li hastaları dahil ettikleri bir çalışmada, kronik hepatitli hastalara göre siroz ve HCC' li hastaların serum Gal-3 seviyeleri anlamlı yüksek çıkmıştır($p<0,001$, $p=0,002$). Fakat sirozlu ve HCC' li hastalar arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir. Bu çalışma sonucunda HBV ve HCV' li hastaların serum Gal-3 düzeyinin, siroz veya HCC' ye ilerlemesi ve hastalığın prognozu hakkında bilgi verebileceğine dair görüş belirtilmiştir (126).

Bizim çalışmamızda, literatürle benzer şekilde, kronik hepatit B tanılı naif hasta grubu ile tedavi edilen hasta grubunun Gal-3 değerleri, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek hesaplanmıştır($p<0,001$, $p<0,001$). Anti viral tedavi sonrası Gal-3 değerlerinin fibrozis belirteçlerindeki gerileme ile birlikte, tedavi öncesi değerlere göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir($p<0,001$). Galectin-3' ün fibrozisteki gerilemeyi göstermedeki tanısal değeri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($AUC=0,660$). Bu sonuçlar ile Gal-3' ün; kronik HBV tanılı hastalarda fibrozisi belirlemede bir belirteç olarak kullanılabileceğinin yanı sıra, anti viral tedavi sonrasında tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde de bizlere fayda sağlayabileceğini göstermektedir.

6. SONUÇ

Biz bu yapmış olduğumuz çalışmamızda, naif kronik hepatit B’li hastalarda fibrozisle ilişkili olduğu düşünülen serum galectin-3 düzeyinin, tedavileri başlandıktan sonra plazmadaki değişiminin fibrozis skorları ile ilişkili olup olmadığını araştırdık. Ayrıca galectin-3 düzeyinin fibrozisteki düzelme ile beraber tedavi yanıtını da değerlendirdik.

Çalışmamız, kronik hepatit B tanılı hastalardaki galectin-3 düzeylerinin, anti viral tedavi sonrasındaki değişimini değerlendiren bildiğimiz kadarıyla literatürdeki tek çalışmadır.

40 naif KHB hastası ve 30 sağlıklı gönüllüden oluşan iki grup üzerinden yaptığımız çalışmamızda, naif hastalarda ve tedavi sonrasında ölçülen serum galectin-3 düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek çıkmıştır. Tedavi sonrası ölçülen galectin-3 düzeylerinin, tedavi öncesi değerlere göre kıyaslandığında istatistiksel olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca hastalarımızın tedavi sonrasında; ALT, AST, AFP, HBV DNA, APRI ve FIB-4 değerlerinde naif durumlarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma, trombosit ve albümin değerlerinde ise artış saptanmıştır.

Bu sonuçlar dikkate alındığında galectin-3’ün; naif veya tedavi alan KHB tanılı hastaların, sağlıklı bireylerden ayırt etmede tanısal amaçlı kullanılabileceği gibi anti viral tedavi başlanan hastaların naif durumlarına göre fibrozis düzeyini tahmin etmede de kullanılabileceği gösterilmiştir.

Galectin-3’ün, kronik HBV’li hastalarda tedaviye yanıtını ve fibrozis düzeyini belirlemede biyobelirteç olarak kullanılabirliği konusunda çalışmamızdaki sonuçları destekleyebilecek daha fazla hastanın yer aldığı yeni deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. BATALLER, Ramón, et al. Liver fibrosis. *The Journal of clinical investigation*, 2005, 115.2: 209-218.
2. Aydın MM, Akçalı KC. Liver fibrosis. *Turk J Gastroenterol*. 2018 Jan, 29391303, 29(1):14-21. doi: 10.5152/tjg.2018.17330. PMID: ve PMC6322608., PMCID:.
3. Krizhanovsky V, Yon M, Dickins RA, Hearn S, Simon J, Miething C, Yee H, Zender L, Lowe SW. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell*. 2008 Aug 22, 18724938, 134(4):657-67. doi: 10.1016/j.cell.2008.06.049. PMID: ve PMC3073300., PMCID:.
4. Roehlen N, Crouchet E, Baumert TF. Liver Fibrosis: Mechanistic Concepts and Therapeutic Perspectives. *Cells*. 2020 Apr 3, 32260126, 9(4):875. doi: 10.3390/cells9040875. PMID: ve PMC7226751., PMCID:.
5. Parola M, Pinzani M. Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical.
6. Trépo C, Chan HL, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2014 Dec 6 ve 24954675., 384(9959):2053-63. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60220-8. Epub 2014 Jun 18. PMID:.
7. Nelson NP, Easterbrook PJ, McMahon BJ. Epidemiology of Hepatitis B Virus.
8. the, McMahon BJ. The influence of hepatitis B virus genotype and subgenotype on.
9. May, Liang TJ. Hepatitis B: the virus and disease. *Hepatology*. 2009, 19399811, 49(5 Suppl):S13-21. doi: 10.1002/hep.22881. PMID: ve PMC2809016., PMCID:.
10. Lai M, Afdhal NH. Liver Fibrosis Determination. *Gastroenterol Clin North Am*. 2019 Jun ve 31046975., 48(2):281-289. doi: 10.1016/j.gtc.2019.02.002. Epub 2019 Apr 1. PMID:.
11. XIAO, Huanming, et al. Comparison of diagnostic accuracy of magnetic resonance elastography and Fibroscan for detecting liver fibrosis in chronic hepatitis B patients: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 2017, 12.11: e0186660.
12. MANNING, Diarmuid S. ve AFDHAL, Nezam H. Diagnosis and quantitation of fibrosis. *Gastroenterology*, 2008, 134.6: 1670-1681.
13. ARGÜESO, Pablo ve PANJWANI, Noorjahan. Focus on molecules: galectin-3. *Experimental eye research*, 2011, 92.1: 2.
14. NEWLACZYL, Anna U. ve YU, Lu-Gang. Galectin-3—a jack-of-all-trades in cancer. *Cancer letters*, 2011, 313.2: 123-128.

15. PAULEY, Kaleb M., CHA, Seunghye ve CHAN, Edward KL. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. *Journal of autoimmunity*, 2009, 32.3-4: 189-194.
16. CHEN, Szu-Chia ve KUO, Po-Lin. The role of galectin-3 in the kidneys. *International journal of molecular sciences*, 2016, 17.4: 565.
17. Meeusen JW, Johnson JN, Gray A, Wendt P, Jefferies JL, Jaffe AS, Donato LJ and Saenger AK: Soluble ST2 and galectin-3 in pediatric patients without heart failure. *Clin Biochem*. 48:1337–1340. 2015.
18. Schindler EI, Szymanski JJ, Hock KG, Geltman EM and Scott MG: Short- and long-term biologic variability of galectin-3 and other cardiac biomarkers in patients with Stable heart failure and healthy adults. *Clin Chem*. 62:360–366. 2016.
19. KISSELEVA, Tatiana ve BRENNER, David A. Mechanisms of fibrogenesis. *Experimental biology and medicine*, 2008, 233.2: 109-122.
20. ISSA, Razao, et al. Spontaneous recovery from micronodular cirrhosis: evidence for incomplete resolution associated with matrix cross-linking. *Gastroenterology*, 2004, 126.7: 1795-1808.
21. IREDALE, J. P., et al. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *The Journal of clinical investigation*, 1998, 102.3: 538-549.
22. KARAYIANNIS, P. Hepatitis B virus: virology, molecular biology, life cycle and intrahepatic spread. *Hepatology international*, 2017, 11.6: 500-508.
23. 2012, El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* ve 142:1264–1273.
24. Bayer ME, Blumberg BS, Werner B. Particles associated with Australia antigen in the sera of patients with leukaemia. Down's Syndrome and hepatitis. *Nature* 1968 ve 218:1057–1059.
25. 1970, Prince AM. Detection of serum hepatitis virus carriers by testing for the SH (Australia) antigen. A review of current methodology. *Vox Sang* ve 19:417–424.
26. Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet* 1970 ve 1:695–698.
27. Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet* 1981 ve 2:1129–1133.
28. Szmunes W, Stevens CE, Zang EA, Harley EJ, Kellner A. A controlled clinical trial of the efficacy of the hepatitis B vaccine (Heptavax B): a final report. *Hepatology* 1981 ve 1:377–385.

29. Schweitzer, A., Horn, J., Mikolajczyk, R. T., Krause, G. & Ott, J. J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet* 386, 1546–1555 (2015).
30. Akhan S, Aynioğlu A, Çağatay A, Gönen İ, Günel Ö, Kaynar T, et al. Kronik hepatit B virüsü.
31. European Association for the Study of the Liver. EASL-HEPAHEALTH Project Report: Risk Factors and the Burden of Liver Disease in Europe and Selected Central Asian Countries (EASL, Geneva, 2018).
32. Sharma, S., Carballo, M., Feld, J. J. & Janssen, H. L. A. Immigration and viral hepatitis. *J. Hepatol.* 63, 515–522 (2015).
33. Dergisi., Akçam FZ. Hepatit B Virüsü Enfeksiyonu. Sürekli Tıp Eğitimi.
34. Bennett BJE, Dolin R, Blaser MJ. mandell douglas and bennett's principles.
35. Krugman S, Overby LR, Mushahwar IK, Ling CM, Frosner GG, Deinhardt F. Viral hepatitis, type B. Studies on natural history and prevention re-examined. *N Engl J Med* 1979 ve 106., 300: 101–.
36. Liang TJ, Ghany M. Hepatitis B e antigen–the dangerous endgame of hepatitis B. *N Engl J Med* 2002 ve 210., 347: 208–.
37. Tabor E, Hoofnagle JH, Barker LF, Pineda-Tamondong G, Nath N, Smallwood LA, et al. Antibody to hepatitis B core antigen in blood donors with a history of hepatitis. *Transfusion* 1981 ve 371., 21: 366–.
38. BERTOLETTI, Antonio ve FERRARI, Carlo. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Gut*, 2012, 61.12: 1754-1764.
39. YANG, Priscilla L., et al. Immune effectors required for hepatitis B virus clearance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107.2: 798-802.
40. Chang JJ, Lewin SR. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Immunol.*
41. Webster, G. J., Reignat, S., Maini, M. K., Whalley, S. A., Ogg, G. S., King, A., ... & Bertoletti, A. (2000). Incubation phase of acute hepatitis B in man: dynamic of cellular immune mechanisms. *Hepatology*, 32(5), 1117-1124.
42. Tütüncü E. KÖ, A D, editors:.. Hepatit B'den D'ye Hep Güncel. *Viral Hepatitle.*
43. Beckebaum, S., Cicinnati, V. R., Zhang, X., Ferencik, S., Frilling, A., Grosse-Wilde, H., ... & Gerken, G. (2003). Hepatitis B virus-induced defect of monocyte-derived dendritic cells leads to impaired T helper type 1 response in vitro: mechanisms for vir.

44. Riordan SM, Skinner N, Kurtovic J, Locarnini S, Visvanathan K. Reduced expression of toll-like receptor 2 on peripheral monocytes in patients with chronic hepatitis B. *Clin Vaccine Immunol* 2006 ve 974., 13: 972–.
45. Tsukuda S, Watashi K. Hepatitis B virus biology and life cycle. *Antiviral Res.* 2020 Oct ve 32866519., 182:104925. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104925. Epub 2020 Aug 28. PMID:.
46. Janssen HLA, Fung S. hepatitis B. 11. ed. Feldman BM, Friedman LS, Brandt.
47. TONG, Shuping ve REVILL, Peter. Overview of hepatitis B viral replication and genetic variability. *Journal of hepatology*, 2016, 64.1: S4-S16.
48. Lin CL, Kao JH. Hepatitis B virus genotypes and variants. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015 May 1, 25934462, 5(5):a021436. doi: 10.1101/cshperspect.a021436. PMID: ve PMC4448583., PMCID:.
49. HUI, Chee-Kin, et al. Natural history and disease progression in Chinese chronic hepatitis B patients in immune-tolerant phase. *Hepatology*, 2007, 46.2: 395-401.
50. Cheema R, Blumberg DA. Hepatitis B Infection. 2. ed. Jong E, Stevens D,.
51. LIANG, T. Jake. Hepatitis B: the virus and disease. *Hepatology*, 2009, 49.S5: S13-S21.
52. EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER, et al. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *Journal of hepatology*, 2017, 67.2: 370-398.
53. EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER, et al. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of hepatology*, 2012, 57.1: 167-185.
54. KIM, Gi-Ae, et al. HBsAg seroclearance after nucleoside analogue therapy in patients with chronic hepatitis B: clinical outcomes and durability. *Gut*, 2014, 63.8: 1325-1332.
55. Scaglione SJ, Lok AS. Effectiveness of hepatitis B treatment in clinical practice.
56. ARTHUR, Michael JP. Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2000, 279.2: G245-G249.
57. SINGH, Siddharth, et al. American Gastroenterological Association Institute technical review on the role of elastography in chronic liver diseases. *Gastroenterology*, 2017, 152.6: 1544-1577.
58. SHI, Zengdun, WAKIL, Adil E. ve ROCKEY, Don C. Strain-specific differences in mouse hepatic wound healing are mediated by divergent T helper cytokine responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, 94.20: 10663-10668.

59. MARRA, Fabio. Leptin and liver fibrosis: a matter of fat. *Gastroenterology*, 2002, 122.5: 1529-1532.
60. An, Elpek G. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis:.
61. Oshima K. *Liver Histopathology*. 5. ed. McNally PR, editor 2015. 250 p.
62. BERNSTEIN, Christine, 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. e14.
63. Dergisi.4(2):54-8, .Güçlü E. Hepatit B enfeksiyonu ve korunma. *Konuralp Tıp*.
64. NASSEF, Yasser E., et al. Performance of diagnostic biomarkers in predicting liver fibrosis among hepatitis C virus-infected Egyptian children. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2013, 108: 887-893.
65. LIU, Fu-Tong, PATTERSON, Ronald J. ve WANG, John L. Intracellular functions of galectins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2002, 1572.2-3: 263-273.
66. NABI, Ivan R., SHANKAR, Jay ve DENNIS, James W. The galectin lattice at a glance. *Journal of cell science*, 2015, 128.13: 2213-2219.
67. HUGHES, R. Colin. Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate-binding proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1999, 1473.1: 172-185.
68. YANG, Ri-Yao, RABINOVICH, Gabriel A. ve LIU, Fu-Tong. Galectins: structure, function and therapeutic potential. *Expert reviews in molecular medicine*, 2008, 10.
69. HARA, Akira, et al. Galectin-3 as a next-generation biomarker for detecting early stage of various diseases. *Biomolecules*, 2020, 10.3: 389.
70. RABINOVICH, Gabriel A., et al. Galectins and their ligands: amplifiers, silencers or tuners of the inflammatory response?. *Trends in immunology*, 2002, 23.6: 313-320.
71. GAO, Ziyu, et al. Galectin-3 is a potential mediator for atherosclerosis. *Journal of Immunology Research*, 2020, 2020.
72. DUMIC, Jerka, DABELIC, Sanja ve FLÖGEL, Mirna. Galectin-3: an open-ended story. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2006, 1760.4: 616-635.
73. DONG, Rui, et al. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy. *International journal of molecular medicine*, 2018, 41.2: 599-614.

74. FRANGOIANNIS, Nikolaos G. Galectin-3 in the fibrotic response: Cellular targets and molecular mechanisms. *International journal of cardiology*, 2018, 258: 226-227.
75. LIU, Tianju, et al. Regulation of found in inflammatory zone 1 expression in bleomycin-induced lung fibrosis: role of IL-4/IL-13 and mediation via STAT-6. *The Journal of Immunology*, 2004, 173.5: 3425-3431.
76. MACKINNON, Alison C., et al. Regulation of alternative macrophage activation by galectin-3. *The Journal of Immunology*, 2008, 180.4: 2650-2658.
77. MACKINNON, Alison C., et al. Regulation of transforming growth factor- β 1-driven lung fibrosis by galectin-3. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2012, 185.5: 537-546.
78. HENDERSON, Neil C., et al. Galectin-3 regulates myofibroblast activation and hepatic fibrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103.13: 5060-5065.
79. KASPER, MICHAEL ve HUGHES, R. COLIN. Immunocytochemical evidence for a modulation of galectin 3 (Mac-2), a carbohydrate binding protein, in pulmonary fibrosis. *The Journal of pathology*, 1996, 179.3: 309-316.
80. HSU, Daniel K., et al. Galectin-3 expression is induced in cirrhotic liver and hepatocellular carcinoma. *International journal of cancer*, 1999, 81.4: 519-526.
81. Zhou K, Lu LG. Assessment of fibrosis in chronic liver diseases. *J Dig Dis*. 2009 ve 10(1):7-14.
82. NILLES, Kathy M. ve FLAMM, Steven L. Thrombocytopenia in chronic liver disease: new management strategies. *Clinics in liver disease*, 2020, 24.3: 437-451.
83. PECK-RADOSAVLJEVIC, Markus. Thrombocytopenia in chronic liver disease. *Liver International*, 2017, 37.6: 778-793.
84. Lackner C, Struber G, Liegl B, Leibl S, Ofner P, Bankuti C, et al. Comparison and validation.
85. WAI, Chun-Tao, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2003, 38.2: 518-526.
86. SEVEN, GÜLSEREN, et al. Serum connective tissue markers as predictors of advanced fibrosis in patients with chronic hepatitis B and D. *Turk J Gastroenterol*, 2011, 22.3: 305-14.
87. CHENG, Jin-Lin, et al. Non-ALT biomarkers for markedly abnormal liver histology among Chinese persistently normal alanine aminotransferase-chronic hepatitis B patients. *World journal of gastroenterology*, 2017, 23.15: 2802.
88. KEE, Kwong-Ming, et al. Improvement of thrombocytopenia in hepatitis C-related advanced fibrosis patients after sustained virological response. *Digestive diseases and sciences*, 2013, 58.2: 556-561.

89. DEMIR, Nazlim Aktug, et al. Evaluation of the relation between hepatic fibrosis and basic laboratory parameters in patients with chronic hepatitis B fibrosis and basic laboratory parameters. *Hepatitis Monthly*, 2014, 14.4.
90. WANG, Jian, et al. Plateletcrit as a potential index for predicting liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Journal of Viral Hepatitis*, 2020, 27.6: 602-609.
91. HOU, Jin-Lin, et al. Long-term telbivudine treatment results in resolution of liver inflammation and fibrosis in patients with chronic hepatitis B. *Advances in therapy*, 2015, 32.8: 727-741.
92. YOSRY, Ayman, et al. FibroScan, APRI, FIB4, and GUCI: Role in prediction of fibrosis and response to therapy in Egyptian patients with HCV infection. *Arab Journal of Gastroenterology*, 2016, 17.2: 78-83.
93. MARCELLIN, Patrick, et al. Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement in patients with chronic hepatitis B. *Liver international*, 2009, 29.2: 242-247.
94. BERNARDI, Mauro, MAGGIOLI, Caterina ve ZACCHERINI, Giacomo. Human albumin in the management of complications of liver cirrhosis. *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine* 2012, 2012, 421-430.
95. TAHATA, Yuki, et al. Sofosbuvir plus velpatasvir treatment for hepatitis C virus in patients with decompensated cirrhosis: a Japanese real-world multicenter study. *Journal of Gastroenterology*, 2021, 56.1: 67-77.
96. INKAYA, Ahmet Cagkan, et al. Is serum high-mobility group box 1 (HMGB-1) level correlated with liver fibrosis in chronic hepatitis B?. *Medicine*, 2017, 96.36.
97. LIN, Zhong-Hua, et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology*, 2011, 53.3: 726-736.
98. STERLING, Richard K., et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*, 2006, 43.6: 1317-1325.
99. VALLET-PICHARD, Anaïs, 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.
100. YUE, Wei, et al. Aspartate aminotransferase to platelet ratio can reduce the need for transient elastography in Chinese patients with chronic hepatitis B. *Medicine*, 2019, 98.49.
101. GORKA-DYNYSIEWICZ, Joanna, PAZGAN-SIMON, Monika ve ZUWALA-JAGIELLO, Jolanta. Pentraxin 3 detects clinically significant fibrosis in patients with chronic viral hepatitis C. *BioMed research international*, 2019, 2019.

102. LIU, Ruyu, et al. Changes in APRI and FIB-4 in HBeAg-negative treatment-naïve chronic hepatitis B patients with significant liver histological lesions receiving 5-year entecavir therapy. *Clinical and experimental medicine*, 2019, 19.3: 309-320.
103. LIU, Yu-rui, et al. Alpha-fetoprotein level as a biomarker of liver fibrosis status: a cross-sectional study of 619 consecutive patients with chronic hepatitis B. *BMC gastroenterology*, 2014, 14.1: 1-8.
104. FOUAD, Rabab, et al. Clinical impact of serum α -fetoprotein and its relation on changes in liver fibrosis in hepatitis C virus patients receiving direct-acting antivirals. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 31.9: 1129-1134.
105. DIENSTAG, Jules L., et al. Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology*, 2003, 124.1: 105-117.
106. MARCELLIN, Patrick, et al. Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: a 5-year open-label follow-up study. *The Lancet*, 2013, 381.9865: 468-475.
107. Chang TT, Liaw YF, Wu SS, Schiff E, Han KH, Lai CL, et al. Long-term entecavir therapy.
108. CHON, Young Eun, et al. Improvement of liver fibrosis after long-term antiviral therapy assessed by fibroscan in chronic hepatitis B patients with advanced fibrosis. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*, 2017, 112.6: 882-891.
109. RAMOS-MARTÍNEZ, Edgar, et al. Association between Galectin Levels and Neurodegenerative Diseases: Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomolecules*, 2022, 12.8: 1062.
110. SIEW, Jian Jing, et al. Galectin-3 is required for the microglia-mediated brain inflammation in a model of Huntington's disease. *Nature communications*, 2019, 10.1: 1-18.
111. Lalancette-Hébert M, Swarup V, Beaulieu JM, Bohacek I, Abdelhamid E, Weng YC, et al. Galectin-3 is required for resident microglia activation and proliferation in response to ischemic injury. *J Neurosci* 2012 ve 10383-10395, 32:.
112. Almkvist J, Karlsson A. Galectins as inflammatory mediators. *Glycoconj J*.
113. Cao MY, Wang J, Gao XL, Hu YB. Serum galectin-3 concentrations in patients.
114. ISSA, Saida Farah, et al. Galectin-3 is Persistently Increased in Early Rheumatoid Arthritis (RA) and Associates with Anti-CCP Seropositivity and MRI Bone Lesions, While Early Fibrosis Markers Correlate with Disease Activity. *Scandinavian Journal of Immun.*

115. CHEN, Po-Ku, et al. Elevated plasma galectin-3 levels and their correlation with disease activity in adult-onset Still's disease. *Clinical Rheumatology*, 2020, 39.6: 1945-1952.
116. KOTBY, Alyaa Amal, et al. Galectin-3 in children with chronic heart failure with normal and reduced ejection fraction: relationship to disease severity. *Pediatric cardiology*, 2017, 38.1: 95-102.
117. CHEN, Hongsen, et al. Circulating galectin-3 on admission and prognosis in acute heart failure patients: a meta-analysis. *Heart Failure Reviews*, 2020, 25.2: 331-341.
118. HUANG, Z., et al. Diagnostic value of novel biomarkers for heart failure. *Herz*, 2020, 45.1: 65-78.
119. DE BOER, Rudolf A., et al. Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction. *Annals of medicine*, 2011, 43.1: 60-68.
120. G. Michael Felker, Galectin-3 in Ambulatory Patients With Heart Failure Results.
121. ZHANG, Tao, et al. Prognostic impact of galectin-3 in chronic kidney disease patients: a systematic review and meta-analysis. *International Urology and Nephrology*, 2019, 51: 1005-1011.
122. SALIB, Madonna, et al. Serum markers of fibrosis, cardiovascular and all-cause mortality in hemodialysis patients: the AURORA trial. *Clinical Research in Cardiology*, 2022, 111.6: 614-626.
123. DE OLIVEIRA, Sheilla Andrade, et al. Reduction of galectin-3 expression and liver fibrosis after cell therapy in a mouse model of cirrhosis. *Cytotherapy*, 2012, 14.3: 339-349.
124. ULUCA, Ünal, et al. Serum galectin-3 levels in children with chronic hepatitis B infection and inactive hepatitis B carriers. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2015, 21: 1376.
125. AN, Yang, et al. Role of galectins in the liver diseases: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Medicine*, 2021, 8: 744518.
126. ULU, Mehmet, et al. Prognostic significance of serum galectin-3 levels in patients with hepatocellular cancer and chronic viral hepatitis. *Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association*, 2015, 21.1: 47.
127. ADINOLFI, Luigi Elio, et al. Hepatic fibrosis plays a central role in the pathogenesis of thrombocytopenia in patients with chronic viral hepatitis. *British journal of haematology*, 2001, 113.3: 590-595.

128. WANG, Chengyan, et al. Galectin-3 may serve as a marker for poor prognosis in colorectal cancer: A meta-analysis. *Pathology-Research and Practice*, 2019, 215.10: 152612.
129. HONG, Yanyan, et al. Prognostic value of serum aquaporin-1, aquaporin-3 and galectin-3 for young patients with colon cancer. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2020, 57.6: 404-411.
130. XIE, Ling, et al. The expressions and clinical significances of tissue and serum galectin-3 in pancreatic carcinoma. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 2012, 138: 1035-1043.
131. YILMAZ, Erdem, et al. Serum Galectin-3: diagnostic value for papillary thyroid carcinoma. *Turkish Journal of Surgery/Ulusal cerrahi dergisi*, 2015, 31.4: 192.
132. BING, Zhanyong, et al. Role of carbonic anhydrase IX, α -methylacyl coenzyme a racemase, cytokeratin 7, and galectin-3 in the evaluation of renal neoplasms: a tissue microarray immunohistochemical study. *Annals of diagnostic pathology*, 2013, 17.1: 58-62.
133. HENDERSON, Neil C., et al. Galectin-3 regulates myofibroblast activation and hepatic fibrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103.13: 5060-5065.