

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**KRONİK VİRAL HEPATİT B HASTALARINDA SERUM
GALEKTİN-3 SEVİYESİ İLE KLİNİK, LABORATUVAR
VE KARACİĞER HİSTOLOJİSİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Yıldız GARİP BİLEN

Tez Danışmanı
Doç.Dr Erdem AKBAL

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

KRONİK VİRAL HEPATİT B HASTALARINDA
SERUM GALEKTİN-3 SEVİYESİ İLE
KLİNİK, LABORATUVAR VE KARACİĞER HİSTOLOJİSİ
ARASINDAKİ İLİŐKI

Dr. Yıldız GARİP BİLEN

İ hastalıkları anabilim dalı

Tezin sunulduğu tarih: 28.08.2015

Tez Danışmanı

Doç.Dr Erdem AKBAL

ÇANAKKALE

Bu tez ÇOMÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı tarafından 547 no'lu proje ile desteklenmiştir.

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimi
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/08/2015

TEZ KONU BAŞLIĞI

"Kronik viral hepatit B hastalarında serum galektin-3 seviyesi ile klinik,laboratuvar ve karaciğer histolojisi arasındaki ilişki"

Tez Danışmanı:Doç.Dr.Erdem AKBAL

Tez Jürisi Üyeleri:

Adı Soyadı

Doç.Dr. Erdem AKBAL

Doç.Dr.Fahri GÜNEŞ

Yrd.Doç.Dr.Ömer AKYÜREK

İmzası



ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim
Kurulunun 16.09.2015 tarih ve 12015/25 sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Dekan

Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU
Dekan

I. ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi, deneyim ve meslek sevgisi ile bana örnek olan İç hastalıkları A.D. öğretim üyeleri hocalarıma teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan, tez çalışmam sırasında sabır, özveri ve bilimsel desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Erdem AKBAL'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin biyokimyasal çalışmaları sırasındaki yardımlarından dolayı Yrd.Doç.Dr. Hakan TÜRKÖN'e teşekkür ederim.

İhtisas sürem boyunca güzel bir uyum içinde çalıştığım tüm araştırma görevlisi, hemşire ve klinik çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi tez aşamasında da bana her türlü sabır ve manevi desteği gösteren sevgili eşim Ogün'e, beni bugünlere getiren saygıdeğer anne ve babama, manevi desteğini esirgemeyen kardeşime ve aile büyüklerime teşekkür eder, sevgilerimi sunarım.

Dr. Yıldız GARİP BİLEN
ÇANAKKALE 2015

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ.....	II
II. İÇİNDEKİLER.....	III
III. ÖZET.....	V
IV. ABSTRACT.....	VII
V. KISALTMALAR.....	IX
VI. TABLO LİSTESİ.....	XI
VII. ŞEKİL LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hepatit B virüsü.....	3
2.1.1.Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. Viroloji.....	4
2.1.2.1. Virüs Genomu.....	4
2.1.2.1.1. S geni.....	5
2.1.2.1.2. C geni.....	6
2.1.2.1.3. P geni.....	6
2.1.2.1.4. X geni.....	6
2.1.2.2. HBV Genotipleri.....	6
2.1.2.3. HBV Mutantları.....	7
2.1.3. Hastalığın Fizyopatolojisi ve Doğal Seyri.....	7
2.1.3.1. İmmün Toleran Faz.....	8
2.1.3.2. İmmün Reaktif Faz(İmmün klirens fazı).....	9
2.1.3.3. İnaktif HBV Taşıyıcılığı.....	10
2.1.3.4. HBeAg-negatif KHB.....	11
2.1.3.5. HBsAg-negatif Faz.....	12
2.1.4. Hastalığın Patogenezi.....	12
2.1.4.1. İmmün Aracılı Karaciğer Hasarı.....	12
2.1.4.2. Direkt Sitotoksik Karaciğer Hasarı.....	13
2.1.5. Hastalığın Karakteristik Histopatolojik Özellikleri.....	14
2.2. Galektinler.....	18
2.2.1. Galektin-3.....	18
2.2.1.1. Galektin-3'ün doku dağılımı.....	19

2.2.1.2. Galektin-3'ün fizyolojik immün yanıtta rolü.....	20
2.2.1.3. Galektin-3'ün fizyolojik rolü.....	20
2.2.1.4. İmmün hücre proliferasyonu ve apoptozun regülasyonu.....	23
2.2.1.5. Galektin-3'ün doğal immünitadaki rolü.....	23
2.2.1.6. Galektin-3 ile fibrozis ilişkisi.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Hasta ve Kontrol Grubu.....	27
3.1.1. HbeAg negatif KHB grubu.....	27
3.1.2. HbsAg taşıyıcı grup.....	27
3.1.3. Kontrol grubu.....	27
3.2. Dışlama kriterleri.....	28
3.3. Çalışmanın dizaynı.....	28
3.4. Biyokimyasal ölçümler.....	29
3.4.1. Galektin-3 çalışma yöntemi.....	29
3.5. Histopatolojik incelemeler.....	30
3.6. İstatistiksel Analiz.....	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. Demografik bulgular.....	31
4.2. HBV DNA değerleri.....	38
4.3. Ultrason (USG) bulguları.....	38
4.4. Karaciğer biyopsi bulguları.....	39
4.5. Galektin-3 düzeyleri.....	40
4.6. HBV DNA ile Galektin-3 düzeyleri arasındaki ilişki.....	45
5. TARTIŞMA	48
6. KAYNAKLAR.....	51

III. ÖZET

Kronik Viral Hepatit B Hastalarında Serum Galektin-3 Seviyesi İle Klinik, Laboratuvar ve Karaciğer Histolojisi Arasındaki İlişki

Dr. Yıldız GARİP BİLEN

Uzmanlık Tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Erdem AKBAL

Ağustos 2015, 61 sayfa

Giriş ve amaç: Kronik hepatit B, kronik karaciğer hastalığının en sık sebebi olup hastalığın patogenezi henüz tam olarak anlaşılammakla birlikte asıl olarak immün sistemdeki değişikliklerin fibrozisle sonuçlandığı bilinmektedir. Galektin-3, inflamasyonda, apoptoziste, fibroziste ve karsinogeneizde etkili olduğu bilinen lektin grubundan bir proteindir. Çalışmamızda, inaktif hepatit B virüsü (HBV) taşıyıcılarında ve HBeAg negatif kronik hepatit B (KHB) hastalarında, serum galektin-3 seviyeleri ile karaciğer hasarının şiddeti arasında ilişkinin olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık.

Materyal-Metod: Çalışmaya 25 sağlıklı kontrol, 25 inaktif HBV taşıyıcısı ve 25 de HBeAg negatif kronik hepatit B (KHB) olmak üzere 75 hasta dahil edildi. Tüm vakalarda galektin-3 seviyeleri ve diğer biyokimyasal değerleri ölçüldü. HBeAg negatif kronik hepatit B (KHB) hastalarına karaciğer biyopsisi yapılarak, tedavinin 1, 3, 6 ve 12. aylarında takipleri yapıldı. HBV DNA ile galektin-3 düzeyleri çalışıldı. Galektin-3 değerlerinin karaciğer histolojisi, laboratuvar ve klinik verilerle olan ilişkisi değerlendirildi. Verilerin analizi SPSS 19.0 programı ile yapıldı.

Bulgular: Hastaların ortalama yaşı HBeAg negatif KHB grubunda $39,7 \pm 12,6$ yıl, inaktif HBV grubunda $44,8 \pm 12,9$ yıl, kontrol grubunda ise $43,1 \pm 14,9$ yıl olarak saptandı. Serum galektin-3, KHB hastalarında [median (min-max) 567(13-2391) U/L] ve inaktif HBV taşıyıcılarında [706(0-1643) U/L] sağlıklı kontrollere [131(0-2864) U/L] göre anlamlı yüksek bulundu. KHB hastalarında galektin-3 seviyesi inaktif HBV taşıyıcılarına göre de daha yüksek bulunmasına karşılık istatistiki olarak anlamlı fark olmadığı saptandı. İnaktif HBV taşıyıcılarında ve aktif KHB hastalarında, serum galektin-3 seviyesi ile ALT, fibrozis, histolojik aktivite indeksi (HAI), HBV DNA arasında bir korelasyon görülmedi. HBeAg

negatif kronik hepatit B (KHB) hastalarının tedaviye başladıktan sonraki 1, 3, 6 ve 12. aylarındaki takiplerinde de galektin-3 seviyeleri açısından anlamlı fark saptanmadı. Fibrozis derecesi ile ALT, AST, ALP, GGT, LDH arasında pozitif korelasyon tespit edildi.

Sonuç: Serum galektin-3 seviyeleri KHB grubunda ve inaktif HBV grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. KHB grubunda inaktif HBV grubuna göre de daha yüksekti fakat istatistiki olarak anlamlı değildi. Hastalar fibrozis skorlarına göre hafif ve orta/ağır olarak ikiye ayrıldığında, orta/ağır fibrozis grubunda ALT, AST, ALP, GGT, LDH istatistiki olarak anlamlı yüksek bulundu. Galektin-3, kronik hepatit B hastalarında karaciğer fibrozisini göstermede erken bir marker olabilir. Bunun daha geniş hasta sayısı ile yapılan kontrollü çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kronik Hepatit B, İnaktif HBV taşıyıcıları, Galektin-3, Karaciğer, Histopatoloji

IV.ABSTRACT

The Relation Between Serum Galectin-3 Level and Clinical Futures, Laboratory Findings and Liver Histology in Chronic Viral Hepatitis B Patients

Dr. Yıldız GARİP BİLEN

Residency Thesis, Department of Internal Medicine

Supervisor: Assist. Professor. Dr. Erdem AKBAL

August 2015, 62 pages

Background and aims: Chronic hepatitis B is the most common cause of chronic liver disease. The pathogenesis of the disease is not yet completely understood. However, it is essentially known that immune system changes result in fibrosis. Galectin-3 is a protein from lectins and effective in inflammation, apoptosis, fibrosis and carcinogenesis. In our study we aimed to evaluate the relation between serum galectin-3 level and the grade of hepatic injury, in inactive hepatitis B virus (HBV) carriers and HBeAg negative chronic hepatitis B (CHB) patients.

Methods: Inactive HBV carriers (n=25, HBeAg negative CHB patients (n=25) and healthy controls (n=25) were enrolled to the study. In all cases, serum galectin-3 levels and other biochemical parameters were measured. HBeAg negative CHB patients were evaluated histopathologically with liver biopsy and they were followed up for 12 months (1, 3, 6 and 12. months) after the start of treatment. The relation between serum galectin-3 levels and liver histology, laboratory findings and clinical features were evaluated. Data analysis was performed with SPSS 19.0 program.

Results: Mean age of the patients in the HBeAg negative CHB group was 39.7 ± 12.6 years, in inactive HBV group was 44.8 ± 12.9 years and the control group was 43.1 ± 14.9 years. Serum galectin-3 level in CHB patients [Median (min-max) 567(13-2391) U/L] and inactive HBV carriers [706(0-1643) U/L] was significantly higher than healthy controls [131(0-2864) U/L]. Serum galectin-3 level in CHB patients was also higher than inactive HBV carriers but there was not statistically significant difference. We were found no significant correlation between serum galectin-3 levels and ALT, fibrosis, histological activity index (HAI) and

HBV DNA. There was no significant difference in the galectin-3 levels after initiation of treatment of 1, 3, 6 and 12 months of follow-up in CHB patients. There was a positive correlation between the degree of fibrosis and serum ALT, AST, ALP, GGT and LDH levels.

Conclusions: Serum galectin-3 level in CHB patients and inactive HBV carriers was significantly higher than healthy controls. Serum galectin-3 level in CHB patients was also higher than inactive HBV carriers but there was not statistically significant difference. Serum ALT, AST, ALP, GGT, LDH levels in moderate / severe fibrosis group were significantly higher than mild fibrosis group. Galectin-3 may be an early marker of liver fibrosis in chronic hepatitis B patients. These results must be supported by the larger randomized controlled studies.

Key Words: Chronic hepatitis B, Inactive hepatitis B virus carriers, galectin-3, Liver Histopathology

V. KISALTMALAR

AD	: Anlamalı Değil
AFP	: Alfa Feto Protein
AKŞ	: Açlık Kan Şekeri
ALP	: Alkalem Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AMA	: Anti Mitokondriyal Antikor
ANA	: Anti Nükleer Antikor
ASMA	: Anti Düz Kas Antikoru
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozin Triphosfat
Au	: Avusturalya
Ccc	: Covalently Closed Circular
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ELİSA	: Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
G	: Grade
Gal-3	: Galektin-3
GGT	: Gama Glutamil Transpeptitaz
HAİ	: Histolojik Aktivite İndeksi
HBcAg	: Hepatitis B core Antigen
HBsAg	: Hepatitis B surface Antigen
HBeAg	: Hepatitis B e Antigen
HBV	: Hepatit B Virüsü
HCC	: Hepatosellüler Karsinom
HCV	: Hepatit C Virüsü
HDV	: Hepatit D Virüsü
HIV	: Human İmmünyetmezlik Virüsü
INR	: International Normalized Ratio
KHB	: Kronik Viral Hepatit B
N	: Normal
NK	: Natural Killer
PT	: Protrombin Zamanı

Pre C	: Prekor
O2	: Oksijen
RC	: Çembersel
RNA	: Ribonükleik Asit
ROC	: Receiver Operating Characteristic
RT	: Revers Transkriptaz
USG	: Ultrasonografi

VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Kontrol grubu, inaktif HBV taşıyıcıları ve HbeAg negatif KHB'lilerin demografik özellikleri	31
Tablo 2. Kontrol grubu, inaktif HBV taşıyıcıları ve HbeAg negatif KHB'lilerin karaciğer testleri dışındaki laboratuvar özellikleri.....	32
Tablo 3. Kontrol grubu, inaktif HBV taşıyıcı ve HbeAg negatif KHB'lilerde karaciğer testlerinin karşılaştırılması.....	33
Tablo 4. HBeAg negatif KHB'li hastaların fibrozis skoruna göre demografik özellikleri	34
Tablo 5. HBeAg negatif KHB'li hastaların fibrozis skoruna göre laboratuvar özellikleri	35
Tablo 6. HBeAg negatif KHB'li hastaların HAİ skoruna göre demografik özellikleri ...	36
Tablo 7. HBeAg negatif KHB'li hastaların HAİ skoruna göre laboratuvar özellikleri	37
Tablo 8. HBeAg negatif KHB ve inaktif HBV taşıyıcı grubunun HBV-DNA düzeyleri açısından karşılaştırılması	38
Tablo 9. Galektin-3 değerlerinin hasta gruplarına göre dağılımı.....	40
Tablo 10. HBeAg negatif KHB hastalarının fibrozis evresi ile galektin-3 seviyelerinin karşılaştırılması	43
Tablo 11. HBeAg negatif KHB hastalarının HAİ evresi ile galektin-3 seviyelerinin karşılaştırılması.....	44
Tablo 12. HBeAg negatif KHB grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası takiplerinde galektin-3 düzeyleri	46

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. HBV genomunun Şematik görünümü.....	5
Şekil 2. Galektin-3'n aracılık ettiği ekstrasellüler fonksiyonlar.....	21
Şekil 3. Galektin-3'n immün sistem hücrelerine olan etkileri	22
Şekil 4. Galektin-3'n fibrozis olayındaki fonksiyonu	26
Şekil 5. Galektin-3 düzeylerinin gruplara göre dağılımının Şematik gösterimi.....	41
Şekil 6. Galektin-3'n her  gruptaki düzeylerinin ortalamasını gösteren Şema...	42
Şekil 7. HBeAg negatif KHB hastalarında fibrozis evresine göre galektin-3 seviyeleri.....	44
Şekil 8. HBeAg negatif KHB hastalarında HAİ evresine göre galektin-3 seviyeleri..	45
Şekil 9. HBeAg negatif KHB grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası takiplerinde galektin-3 düzeyleri.....	47

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik hepatit B enfeksiyonu dünyada ve ülkemizde önemli bir sağlık sorunudur. Tüm dünyada yaklaşık 300 milyon kişide kronik viral hepatit B (KHB) enfeksiyonu olduğu tahmin edilmektedir. Kronik viral hepatit B (KHB), karaciğer sirozuna (KcS) ve hepatosellüler karsinoma (HCC) progresyon göstererek morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (1). Yılda yaklaşık yarım milyon kişi karaciğer dekompanseasyonu ve/veya HCC gibi komplikasyonları nedeniyle ölmektedir (2). Bu nedenle hepatit B'ye bağlı gelişen karaciğer hasarının temelinde yatan nedenlere yönelik araştırmalara ihtiyaç vardır. Kronik HBV enfeksiyonunun klinik seyri dört fazda gerçekleşir ve dinamik bir seyri vardır (3-8,133).

Hepatit B enfeksiyonunun seyri birçok faktöre bağlı olarak değişir. Bu etkenler ise; cinsiyet, kişinin bağışıklık durumu, enfeksiyonun kazanıldığı yaş, koenfeksiyon, süperenfeksiyon bulunması, viral faktörler (HBV replikasyon seviyesi, mutant virüs varlığı, genotip), diabetes mellitus, alkol kullanımı gibi faktörlerdir (5,9-18).

HBV taşıyıcılarının siroz ve/veya hepatosellüler karsinoma progresyon hastalığının herhangi bir evresinde gözlenebilir (9,19-21).

Daha önceden az sayıda inaktif HBV taşıyıcısının siroza ilerlediği düşünülürken yakın dönem çalışmalarda hiç de azımsanmayacak sayıda hastanın siroz progresyonuyla karşı karşıya kaldığı saptanmıştır. Tedavi anlamında ciddi yol katedilmiş olmasına rağmen, inaktif HBV taşıyıcılarındaki siroza ilerleme nedenleri net olarak belirlenememiştir. Örneğin Tayvan'da yapılan iki ayrı çalışma, inaktif HBV hastalarındaki siroz progresyonunu gözler önüne sermektedir. İlk çalışmada yıllık siroz progresyonu % 0.74-0.9 oranında gözlenirken (15,22), diğer bir çalışmada ise 25 yıl izlenen 1965 sayıdaki inaktif HBV taşıyıcısında siroza ilerleme %15 olarak belirlenmiştir (23). Risk oluşturan sebepler; hepatit B reaktivasyonu, ileri yaş, ileri yaşta hepatit B reaktivasyonu olması ve erkek cinsiyet olmaktadır.

Apoptozis, doku ve organ homeostazının devamını sağlayan programlı hücre ölümüdür (25,26). Bazı patofizyolojik olaylar hücre ölümü ve proliferasyonu arasındaki uyumu bozarak apoptozisi tetikleyebilir. Hepatositlerde meydana gelen apoptozisin kronik karaciğer hastalığı gelişiminde ana etken olduğu deneysel çalışmalarla kanıtlanmıştır (26).

Galektinler, bir karbonhidrat sınıfı olan beta-galaktozidazlar ile bağlantı kuran bir protein ailesidir. Monosit, makrofaj ve epitelyal hücreler gibi değişik hücrelerden sentezlenmektedir (27,28). 15 farklı galektin tanımlanmıştır. Galektin-3 kısa amino asit segmentlerinin tekrarlarının oluşturduğu bir N-terminal bölgesi içermekte olup, bir C-terminal

karbonhidrat tanıma bölgesine bağlanmaktadır. Galektin-3, 29-35 kDa ağırlığında orta boyutlu bir proteindir (29-32).

Galektin-3 , intrasellüler ve ekstrasellüler bir lektin olup, intrasellüler glikoproteinler, hücre yüzeyi molekülleri ve ekstrasellüler matriks proteinleri ile etkileşim kurar. Galektin-3, başlangıçta aktive peritoneal makrofajların yüzeyinde eksprese olan Mac-2 antijeni olarak tanımlanmıştır (33,34).

Galektin-3, değişik hücrelerin migrasyonunu uyarmakta olup doğal ve kazanılmış immün cevabın düzenlenmesinde önemli rolü vardır (35,36). T hücresi, monosit, nötrofil ve endotel hücre aktivitelerini etkiler (36-41). Galektin-3, makrofaj ve T hücrelerinin fibroblastlar ile etkileşimine aracılık etmektedir (42). Galektin-3 *knock-out* farelerde, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünün gerçekleşmediği ve karaciğer fibrozunun oluşmadığı gösterilmiştir (43). Galektin-3'ün fibrotik süreçteki rolü, akciğer ve renal fibroz modellerinde de belirlenmiştir. Galektin-3 değişik mekanizmalar ile fibrozisi uyarır.

Galektin 3'ün fibroblastların potansiyel bir aktivatörü olduğu belirlenmiş olup, makrofajların renal miyofibroblastlar ile bağlantı kurması ve miyofibroblastların aktivasyonu sonucu renal fibrozis oluşumunu sağladığı gösterilmiştir (44, 45). Galektin-3 fibroblastları stimüle ederek hücre migrasyonu ve kollajen sentezini artırır (145).

Galektin-3 düzeylerinin kronik hepatit B hastalarında incelendiği bir kaç çalışma vardır. Kronik hepatit B hastaları ile inaktif hepatit B taşıyıcılarının galektin-3 düzeyleri açısından karşılaştırıldığı sadece bir çalışma vardır. Bu çalışma çocuklarda yapılmış olup galektin-3 seviyeleri kronik hepatit B grubunda, inaktif hepatit B taşıyıcısı grup ve kontrol grubuna göre belirgin yüksek saptanmıştır (138) .

Galektin-3 düzeylerinin, kronik karaciğer hastalığının oluşum riskini, doğal seyrini ve prognozunu önceden belirlemede ve tedaviye cevabı değerlendirmede yeterli olup olmayacağı henüz bilinmemektedir. Biz bu çalışmada, inaktif HBV taşıyıcıları ve HbeAg negatif KHB hastalarında galektin-3 düzeylerini karşılaştırmayı ve KHB hastalarında serum galektin-3 düzeyi ile karaciğer histopatolojisi [histolojik aktivite indeksi (HAI) ve fibrozis evresi] arasında ilişkinin olup olmadığını değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Hepatit B virüsü

2.1.1. Epidemiyoloji

Dünyada üç kişiden birinde geçirilmiş HBV veya aktif HBV enfeksiyonu mevcuttur ve 300 milyona yakın insan da kronik HBV enfeksiyonu ile takip edilmektedir. Bilindiği gibi hastalık inaktif taşıyıcılıktan, siroz ve hepatoselüler karsinoma (HCC) progresyon gösterebilir. Günümüzde bu hastalar karaciğer transplantasyonu vakalarının % 5-10'unu oluşturmaktadır (46-49).

Hepatit B enfeksiyonunun doğal gidişini ve antiviral tedavi cevabını değiştirebilecek çeşitli faktörler mevcuttur. Bunlar; HBV ve konak ilişkili olabileceği gibi hepatit yapan diğer virüsler, özellikle HIV(insan immün yetmezlik virüsü),HCV(hepatit C virüsü) ve HDV(hepatit D virüsü) ile koenfeksiyon,ayrıca obezite ve aşırı alkol alımı gibi komorbiditelerdir.

Kronik HBV, HBeAg pozitif veya HBeAg negatif HBV enfeksiyonu olarak karşımıza çıkabilir. HBeAg-pozitif kronik HBV, tipik olarak erken dönemde kendini gösterirken, HBeAg-negatif kronik HBV ise, genomun temel core promoter ve/veya precore bölgelerinde oluşan nükleotid değişiklikleriyle ortaya çıkan HBV varyantlarının replikasyonundan kaynaklanır ve kronik HBV enfeksiyonunun daha ilerlemiş bir safhasıdır.Kronik HBV'li toplumun yaşlanmasıyla birlikte HBV ile enfekte hastalarda HBeAg-negatif HBV yaygınlığı son yıllarda artmış ve Avrupa ülkeleri dahil birçok ülkede çoğu hastanın HBeAg-negatif olduğu saptanmıştır (50-52).

Kronik HBV'lilerde mortalite ve morbidite, viral replikasyonun devamına, hastalığın HCC veya siroza progrese olmasına bağlıdır. Tanı sonrası takiplerde HBV hastalarında 5 yıllık surveye bakıldığında; kompanse sirozlularda %80, dekompanse hastalarda %20 ve total siroza dönüşümün %8-20 oranında olduğu görülmüştür (7,48,53-56).Dekompanse sirozlu hastalarda prognoz kötüdür ve 5 yıllık survey %14-35 oranındadır. HCC görülme sıklığı da günden güne artmaktadır. Günümüzde en sık rastlanan beşinci kanser çeşididir ve tüm kanserlerin %5'ini oluşturur. Çoğunlukla HCC olgularının etyolojisinde HBV ve HCV enfeksiyonları mevcuttur. Kronik HBV ilişkili HCC görülme oranı oldukça yüksektir ve siroz gelişimi sonrası da yıllık HCC sıklığı %2- 5 civarında seyretmektedir (56). Bununla beraber,

HBV ilişkili HCC insidansı coğrafi duruma göre değişkenlik teşkil eder ve mevcut karaciğer hastalığının evresiyle de bağlantılıdır.

Hastalığın dünyadaki durumunu takip etmek oldukça güçtür ve bunun için kapsamlı çalışmalar gerekmektedir, çünkü nüfus hareketleri ve göç durumu hastalığın görülme sıklığı ve yaygınlığını değiştirmektedir.

2.1.2. Viroloji

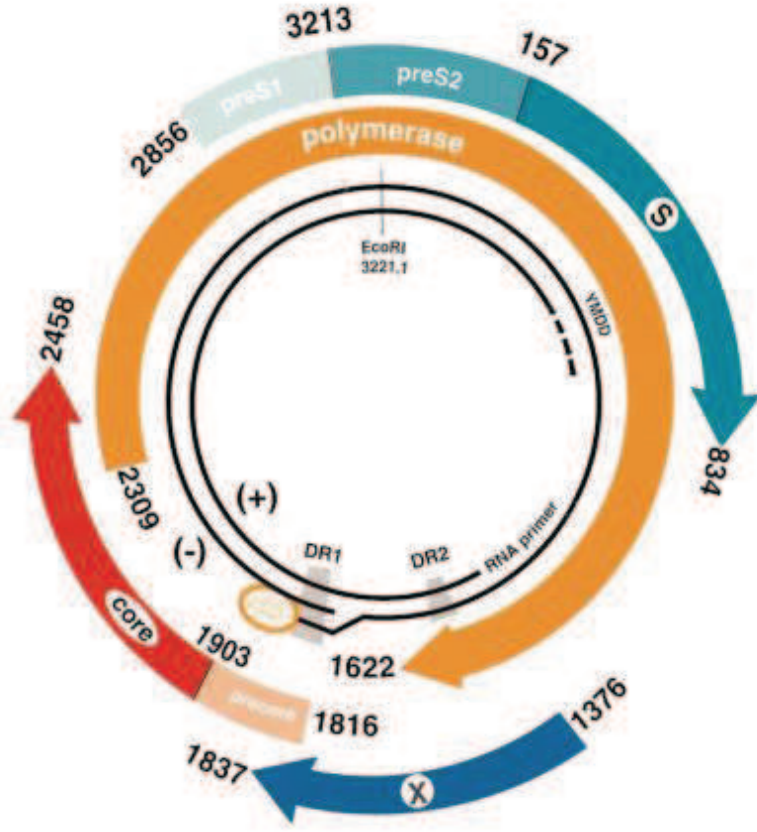
HBV, hepadnaviridae ailesinden, orthohepadnavirus genusunda bulunan, grup VII(dsDNA-RT), kısmen çift sarmallı, primer olarak karaciğerde replike olan hepatotrop virüstür. Lenf bezleri, kemik iliği, kan mononükleer hücreler ve dalak tutulumu olabileceği gibi; sinir sistemi ,vasküler yapılar ,cilt ve böbrek gibi ekstrahepatik organlar da etkilenebilmektedir.

2.1.2.1. Virüs Genomu

Hepatit B virüsü, protein yapıdaki kor partikülü ile üzerine yerleşik proteinlerin olduğu lipid bazlı zarftan oluşmaktadır. Virüs, çift sarmallı DNA şeklindeki viral genomu kapsamaktadır. İngiliz patolog David Maurice Surrey Dane, 1970 yılında HBV enfeksiyonu olan hastaların serumunda Dane partikülünü tanımlamıştır. Tamamlanmış hepatit B virionu Dane partikülü olarak adlandırılmıştır (57).

Hepatit B'nin viral DNA'sı 42 nm'lik sferik bir yapıda sirküle olur. Sferik yapı, HBcAg ve bunu çevreleyen HBsAg'den oluşmaktadır. HBV'nin dört major geni vardır.

(Şekil 1) (58).



Şekil 1 : HBV genomunun şematik görünümü (58).

2.1.2.1.1. S geni

S geni, Pre-S1, pre-S2 ve S bölgelerinden oluşup, virüs yüzey veya zarf antijenini (hepatit B yüzey antijen-HBsAg) kodlar. Diğer adı Avustralya (Au) antijeni olan S proteini, hepatositlerden salınır ve karaciğerdeki hasarda ciddi anlamda rolü vardır. HBsAg'nin a, d, y, w ve r olarak adlandırılan ve aminoasit yapıda olan antijenik parçaları vardır. Bunlardan a antijenik yapısı tüm HBsAg pozitif bireylerde bulunmakta olup buna karşı oluşan anti-HBs antikoru bağışıklığı sağlar. Diğer antijenik yapılar a antijeni ile kombinasyon yaparak HBsAg'nin dört alt tipini oluşturur: adw, ayw, adr, ayr. Bunlarda " a " ortak antijenik yapıdır.

2.1.2.1.2. C geni

C geni nükleokapsid veya kor genidir. Kor partikülü içindeki HBcAg(“hepatit B core antijeni”) 'yi kodlama görevi vardır. HBcAg, yalnızca karaciğer hücresinde saptanabilir. Bu antijenin karboksi terminalinin bir bölümünden HBeAg(“hepatitis B e antigen”) kodlanarak hücre dışına salınır. Bu yapılarda kısa bir prekor (pre C) başlangıç sekansı da bulunmaktadır. Hücrede prekor sekansında translasyon başladığında, HBeAg salınımı başlar. Bu durum, prekor sekansının sinyal sekansı gibi davrandığının göstergesidir. C kodonunda translasyon başladığında, tam uzunluktaki C polipeptidi sentezlenip, hücre içindeki kor partiküllerinde toplanır. HBeAg, ekstraselüler bölgede solubl formda bulunmakta olup bulaştırıcılık ve replikasyonu göstermektedir. HBeAg-negatif prekor mutantlarda ise bu antijen salınmaz, ama replikasyon devam eder.

2.1.2.1.3. P geni

Viral genomun $\frac{3}{4}$ 'lük kısmını polimeraz geni (P proteini) oluşturur. X geninin aminoterminali, S geninin tamamı ve C geninin karboksi ucu ile örtüşmektedir. P proteini RNA bağımlı revers transkriptaz ve DNA bağımlı DNA polimeraz aktivitesindeki temel bir polipeptidi kodlar. DNA polimeraz, pregenomik RNA ile kor partikülünde toplanmasıyla beraber ,pregenomik RNA' nın genomik DNA'ya dönüşümünü başlatır.

2.1.2.1.4. X geni

Küçük bir gen olup, viral replikasyon için gerekli olan iki adet transkripsiyon aktivatörünü kodladığı düşünülmektedir.

2.1.2.2. HBV Genotipleri

HBV'nin sekiz adet genotipi (A-H) bulunmaktadır. Genotipik dağılım coğrafi olarak farklılık teşkil etmektedir. Genotip A; Afrika ,Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'da, Genotip B ve C; Pasifik ve Asya'da, Genotip D; Hindistan ve Akdeniz ülkelerinde, Genotip E; Afrika'da, Genotip F; Güney ve Orta Amerika'da, Genotip G; Tayvan, Fransa ve Kuzey Amerika'da, yoğun olarak görülmektedir. Genotip H'nin coğrafi dağılımı henüz net olarak tespit

edilememiştir. Ülkemizde görülen yaygın genotipin ise Genotip D olduğu yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (59-61).

2.1.2.3. HBV Mutantları

1. Prekor mutasyonunda, defektif prekor stop kodon sebebiyle HBeAg peptidi sekresyonu ve üretimi olmadan replikasyon devam eder ve HBV DNA saptanabilir. Ülkemizde HBeAg-negatif kronik HBV enfeksiyonu, %60, Kuzey Avrupa ve Amerika'da %22, Akdeniz bölgesinde %25, Pasifik ülkeleri ve Asya'da ise %35 civarında bir orana sahiptir.

2. HBsAg'nin "a" antijenik yapısında bulunan Glisin aminoasitinin yerine Arginin aminoasitinin geçmesi ile anti-HBs'nin etki etmediği, koruyuculuğun olmadığı mutantlar gelişir. Bu çeşit mutantların, hepatit B aşısı virüsü uygulanması ile veya uzun süre uygulanan hepatit B hiperimmünglobulini (transplant hastaları gibi) ile karşılaşma nedeniyle gelişebileceği bildirilmektedir.

3. Kronik Hepatit B tedavisi esnasında, lamivudine karşı HBV polimeraz geninde YMDD mutasyonu sonucu ilaca karşı direnç oluşabilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda adefovir dipivoxil direncine (N236T ve A181V) de rastlanmaya başlanmış ve bu suşların büyük bir çoğunluğunda in vitro ve in vivo lamivudin duyarlılıklarının devam ettiği gözlenmiştir (62).

2.1.3. Hastalığın Fizyopatolojisi ve Doğal Seyri

Hepatit B virüsünün ana etkisinin, konak immün sisteminin yaptığı akut karaciğer hasarı ve HBV'nin ileri dönem komplikasyonları olan kronik hepatit B ve siroza progresyon olduğu anlaşılmaktadır. Dolayısıyla HBV'nin, direkt olarak sitopatik etkili olmadığı söylenebilir. HBV replikasyonunun devam etmesi, esas olarak konak immünesinin olgunlaşması ile bağlantılıdır. Karaciğerdeki aktif inflamasyon, gerçekte konak immün sisteminin HBV'den temizlenme çabaları sonucunda meydana gelir.

Hepatosit hasarı, immün hücrelerin etkileri sonucu meydana gelir. Konak immün sistemi hücresel fonksiyonlarıyla HBcAg'yi hedef alarak bu hasarı gerçekleştirir. HBV'nin konak immün sisteminde etkin olarak temizlenebilmesi için HBcAg kaynaklı peptidlerin eksprese olması gerekmektedir. Bu peptidler, CD8 reseptörü taşıyan sitotoksik T hücre

cevabını tetikleyen ve hepatosit membranında bulunan peptidlerdir. HBeAg - negatif pre-kor mutantlarda gelişen enfeksiyon daha gürültülü bir tablo sergileyebilir (54).

Akut HBV enfeksiyonu olan erişkinlerin %5-10'unda hastalık kronikleşir. HBsAg pozitif olan annelerin bebeklerinde HBV klirensi zordur ve yenidoğan döneminde %95'e varan kronikleşme meydana gelir. Altı yaş ve altındaki çocuklarda HBV taşıyıcılığı %30 oranındadır. Genellikle hafif seyirli veya subkliniktir. Ancak ilerleyen dönemlerde karaciğer yetmezliği, siroz ve hepatosellüler karsinoma (HCC) progresyon görülebilir (63).

Kronik hepatit B enfeksiyonu çeşitli evrelerden oluşan dinamik bir süreç olup doğal gidişi beş evre olarak şematize edilmiştir (64).

2.1.3.1. İmmün toleran faz

Organizmanın HBV virüsü ile karşılaşmasına rağmen immün sistemin uyarılmadığı ve immün cevabın görülmediği dönemdir. HBV DNA yüksek düzeyleri (yüksek replikasyon düzeyi), HBeAg pozitifliği, düşük veya normal aminotransferaz düzeyleri, karaciğerde fibrozis ve nekroenflamasyonun hafif veya hiç olmaması ile karakterize KHB evresidir (47,49). Fibrozis nadiren gözlenebilecek hafif ve yavaş seyirli olur. İmmün toleran fazda HBeAg'nin spontan negatifleşmesi genellikle olmaz. Bu evre ortalama 10-30 yıl sürer. Uzak doğu ülkelerinde daha sık gözlenir.

Yenidoğan veya perinatal dönemde enfekte olan hastalarda immün toleran fazın daha sık görüldüğü ve daha uzun sürdüğü (10-40 yıl), bulaştırıcılığın daha yüksek ve serokonversiyonun daha geç olduğu tespit edilmiştir. HBV ,çocukluk döneminde alınmış ise (Afrika, Alaska, Akdeniz ülkeleri gibi) bu faz daha kısa (15 -20 yıl) ve serokonversiyon sıklıkla puberte civarındadır.

Viremi seviyesi yüksek olduğundan bu fazda ciddi oranda bulaştırıcılık mevcuttur. Spontan HBeAg klirensi ve bunun ardından "e" serokonversiyonu nadir gözlenir. Bu durum özellikle ALT'si zaman zaman yükselen bazı hastalarda , yaşla birlikte %2'den %15'e doğru artan oranda görülür. Bu olgular kronik HBV enfeksiyonunda prognozu en iyi olgular olarak değerlendirilebilir. Fakat küçük bir grup hastada tekrar "e" antijen pozitifliği ile seyreden HBeAg pozitif KHB de gelişebilir. Spontan "e" kaybı Asya'lı hastalarda daha düşük oranda gözlenir ve Genotip B'de Genotip C'ye göre daha erken görülmektedir. Sonuçta hastaların çoğunda yıllar sonra bilinmeyen bir mekanizma ile "İmmün Tolerans Dönemi" biter, immün sistem aktifleşir ve hastada "İmmün klirens" dönemi başlar.

2.1.3.2. İmmün reaktif HBeAg pozitif faz

Serum HBV DNA seviyelerinin düşük olması (düşük replikasyon seviyesi), HBeAg'nin pozitif saptanması, yükselmiş veya dalgalı aminotransferaz seviyeleri, orta veya şiddetli karaciğer nekroenflamasyonu veya ilk faza göre daha hızlı fibrozis gelişimi ile karakterizedir (47, 49). Genellikle ani hepatosit lizisine bağlı ALT yüksekliği şeklinde bir alevlenme görülür. Bu alevlenme tek bir sefer olabilir veya dalgalanmalar şeklinde seyreden relapslar gösterebilir. ALT yüksekliği normalin 5 katını aşabilir. Aynı şekilde HBV DNA'da artma ve dalgalanmalar izlenir. Bu arada karaciğerde HAI, orta veya şiddetli derecede aktivite gösterir. İmmün temizlenme haftalar, aylar veya yıllarca sürebilir. HBeAg'nin spontan negatifleşmesi önceki fazla karşılaştırıldığında daha yüksek orandadır. Uzun bir immün toleran faz sonrası ortaya çıkabilir ve yetişkin dönemdeyken enfekte olan hastalarda sıklığı daha fazladır.

İmmün klirens, erkeklerde daha sık görülmekte ve daha çok ataklar şeklinde olmaktadır. İmmünklirens fazı ne kadar kısa sürmüştü ve "e" serokonversiyonu ne kadar çabuk olmuşsa prognoz o kadar iyidir. Bu nedenle erişkinlerde akut HBV yi takiben serokonversiyon kısa sürede olduğu, "e" antijen kaybı ve HBV DNA düzeyi çabuk düştüğü için kronikleşme, karaciğer sirozu ve HCC gelişim oranı düşüktür.

HBeAg serokonversiyonu olmayan hastalar, progresif karaciğer hastalığı açısından daha fazla risk altındadırlar. Bu hastaların %12-20 kadarı, hepatitin süresi ve hepatit atağı sıklığına bağlı olarak, 5 yıl içinde siroz ve komplikasyonları ile sonuçlanan ciddi karaciğer hasarına sahip olurlar. Serokonversiyon olan hastaların bazıları asemptomatik olabilir. Bu hastalar sadece rutin takiplerde (ALT, HBV DNA takibi gibi) anlaşılır.

Hastaların küçük bir bölümünde ağır ekzaserbasyon olur ve akut karaciğer yetmezliği ile prezente olabilir. Çok ciddi olan bu tabloda IFN tedavisi kontrendike olup, karaciğer nakli yararlı olabilir. Bu olgular klinik tablonun gürültülü olması nedeniyle akut HBV enfeksiyonu ile karıştırılabilir. Bunlarda anti HBc IgM ve AFP artışı görülür. Bu sebeple ayırım iyi yapılmalıdır.

Hastaların %67-80'inde HBV DNA düşüşü veya tamamen kaybolması, ALT düzeylerinin normal saptanması ve nekroinflamatuvar aktivitenin düşüklüğü veya yokluğu ile sonuçlanır. Sonuçta aktivite sona erer. Genellikle "e" antijen kaybı, yani "e" serokonversiyonu ve "e" antikor pozitifliği gelişmesi ile birlikte inaktif hastalık dönemi başlamış olur. Yani bu hastaların büyük bir çoğunluğu "İnaktif Taşıyıcılık" dönemine geçer.

İmmünlirens sonucu HBeAg'in her zaman negatifleşmeyebileceği ve HBV DNA'nın kaybolmayabileceği de akılda tutulmalıdır. Bu hastalarda “e” antijen pozitifliği ile giden tekrarlayan ataklar gözlenebilir. Bu hasta gurubu prognozu daha kötü olan, karaciğer sirozu ve HCC riskinin yüksek olduğu hastalardır (12, 65, 66 ,129-131).

2.1.3.3. İnaktif HBV Taşıyıcılığı

İmmün klirens döneminden sonra enfekte hücre kitlesinin ve virüsün replikasyonunun azaldığı, immün cevabın yatışmasıyla transaminazların normalleştiği ve nekroinflamasyonun daha hafif olduğu inaktif taşıyıcılık dönemine girilir. Ancak immün klirens döneminin çok aktif ve uzun sürmesi durumunda hastalar inaktif dönemde bile sirotik olarak karşımıza çıkabilir (67, 68).

HBeAg-negatif ve anti-HBe pozitif, düşük (< 2000 IU/ml) veya tespit edilemeyen HBV DNA düzeyi olan ve ALT değeri normal bulunan hastalar uygun şekilde takip edilmeden tek bir sonuçla inaktif HBV taşıyıcısı olarak adlandırılmamalıdır. Çünkü HBeAg negatif (-) KHB hastaları, geniş ALT dalgalanmaları gösterir ve başvuru sırasında ALT normalliği görülmesine rağmen bu hastaların en az %20-30'unda, histolojik olarak kronik hepatit B mevcuttur (69).

Yapılan uzun dönem takiplerde inaktif HBV taşıyıcılarında %15-24 oranında HBeAg negatif (-) kronik hepatit geliştiği gözlenmiştir. Bu hastaların da %1-17'sinde HBeAg reversiyonu olduğu bildirilmiştir. HBeAg negatif (-) KHB'ye dönüşme oranının yıllık 1-3/100 olduğu tahmin edilmektedir (9, 70). HBeAg'in pozitiften negatife serokonversiyonu çoğu hastada (% 67-80) gerçekleşir. Serokonversiyon sonrası HBeAg-negatif / Anti-HBe pozitif olarak kalır. Serokonversiyon genelde ALT düzeyinin normale gelmesi, HBV DNA'nın çok düşük (< 200 IU/ml) veya tespit edilemeyecek seviyeye gerilemesi, dolayısıyla hepatitin stabilize olması ile karakterizedir. Bu çoğunlukla inaktif taşıyıcılık olarak kabul edilen durumdur (3).

Çoğu inaktif taşıyıcı, enfeksiyonun immünolojik kontrolü ile, siroz ve /veya HCC açısından daha düşük risk taşımaktadır. Takipler sırasında uzun yıllar HBV DNA saptanmaz seviyelerde olduğunda taşıyıcıların yıllık %1-3'ünde HBsAg kaybı ve anti-HBs antikörlerine spontan serokonversiyon gerçekleşebilir (71).

İnaktif HBV taşıyıcıları, ileriki dönemlerde, %30-40 oranında spontan reaktivasyona uğrayabilir. Daha da önemlisi, inaktif HBV taşıyıcıları hayatın herhangi bir döneminde

hepatosellüler karsinom veya siroz tablosu ile prezente olabilirler (9,19-21). Daha önceden az sayıda inaktif HBV taşıyıcısının siroza ilerlediği düşünülürken, yakın dönem çalışmalarda hiç de azımsanmayacak sayıda hastanın siroz progresyonuyla karşı karşıya kaldığı saptanmıştır. Tedavi anlamında ciddi yol katedilmiş olmasına rağmen, HBV taşıyıcılarındaki siroza ilerleme nedenleri net olarak belirlenememiştir. Örneğin Tayvan'da yapılan iki ayrı çalışma, inaktif HBV hastalarındaki siroz progresyonunu gözler önüne sermektedir. İlk çalışmada yıllık siroz progresyonu % 0.74-0.9 oranında gözlenirken (15,22), diğer bir çalışmada ise 25 yıl izlenen 1965 adet inaktif HBV taşıyıcısında siroza ilerleme %15 olarak belirlenmiştir (23). Risk oluşturan sebepler; hepatit B reaktivasyonu, ileri yaş, hepatit B reaktivasyonunun ileri yaşta iken olması ve erkek cinsiyet olmasıdır.

HBeAg negatif kronik hepatit B hastaları ile inaktif HBV taşıyıcılarını ayırt etmek çoğu zaman ciddi bir problem teşkil etmektedir. Son zamanlarda bu sebeple HBV DNA ve ALT gibi non invaziv ve çoğu zaman yeterli sonuç vermeyen testlerin yanı sıra karaciğer biyopsisi gibi invaziv girişimlere başvurulmaktadır (24). Bu sebeple, spesifite ve sensitivitesi yüksek olan, kronik hepatit fazlarını uygun şekilde değerlendirebilen, karaciğer histolojisini yansıtan ve aynı zamanda hastalık takibinde de kullanılabilir non-invaziv testlere gerek duyulmaktadır.

2.1.3.4. HBeAg negatif (-) KHB

HBeAg'den anti-HBe antikorlarına serokonversiyon , immün reaktif faz esnasında da görülebilir ve kronik HBV enfeksiyonu'nun doğal seyirinde daha ileri bir evreyi temsil eder. İnaktif KBH'li hastaların % 10-30 kadarı spontan veya immünsupresif tedavi sonucu reaktif olarak HBeAg negatif (-) kronik HBV olarak karşımıza çıkabilir. Bu dönemde serum HBV DNA ve aminotransferaz düzeyleri dalgalanmalar gösterir. Böylece hasta ,aktif hepatit tablosu ile karşımıza gelir. HBeAg-negatif bu hastalar bazal core ve/veya precore promoter bölgelerindeki nükleotid substitüsyonlu HBV varyantlarını içerirler.

Spontan remisyon fazlarının görülebildiği aktif HBeAg negatif (-) kronik HBV'li hastalarla, gerçek inaktif HBV taşıyıcılarını ayırt etmek bazen zor olsa da bu ayrımı yapmak önemlidir. İlk gruptaki hastaların aktif karaciğer hastalığı vardır ve ilerleyen zamanlarda hepatik fibroz, siroz, dekompanse siroz ve HCC gibi komplikasyonların gelişme riski mevcuttur. Hastanın bir yıl süreyle, üç ayda bir serum aminotransferaz ve altı ayda bir HBV DNA düzeylerinin takibi sonucu genelde aktif HBeAg negatif (-) kronik HBV'li hastalarda

dalgalı aktivite gözlenebilir. Diğer gruptaki hastaların (inaktif HBV taşıyıcıları) ise prognozları iyi ve komplikasyon riskleri de oldukça düşüktür.

HBeAg (-) KHB, erkeklerde ve ileri yaşlarda (40 yaş üstü) daha sık görülen ilerleyici bir hastalıktır. Karaciğer hastalığının şiddeti daha fazla, spontan remisyon oranı daha düşük ve anti viral tedaviye cevap daha azdır. HBeAg (-) KHB'nin insidansı, HBV ile enfekte toplumun yaşlanmasıyla da etkisiyle son 10 yılda artmıştır. Bu tip enfeksiyon özellikle Güney Avrupa'da daha fazla olmak üzere Avrupa'da birçok bölgede aktif kronik hepatit B hastalarının %60'ından fazlasını oluşturur. Bu olgularda prognoz kötüdür. Fibrozisin ilerlemesi, karaciğer sirozu ve HCC riski artmış olup remisyon oranı düşüktür.

Küçük bir kısım hastada (< %2) ise tekrar "e" antijen pozitifleşmesi sonucu HBeAg pozitif KHB gelişimi gözlenebilir. Bu hastalarda da prognoz kötü, hastalığın seyri hızlıdır (72).

2.1.3.5. HBsAg-negatif faz

Karaciğerde saptanabilir düzeydeki HBV DNA, düşük HBV replikasyonu ile beraber görülebilir (73). Genellikle anti-HBc antikorları saptanabilir düzeydeyken, HBV DNA 'yı saptamak mümkün olmaz. HBsAg kaybı, siroz, HCC ve karaciğer dekompanseasyon riskinin azaldığını gösterir. Klinik olarak gizli HBV enfeksiyonunun ortaya çıkarılması yani kanda HBV DNA seviyesi 200 (IU)/ml'nin altında iken karaciğerde HBV DNA saptanabilir olması oldukça zordur. Bu hastaların bir nedenle immünsüpresyonu hastalığı reaktif edebilir (74,75).

2.1.4. Patogenez

Hepatit B virüsü, karaciğerde fazla miktarda devamlı çoğalmasına rağmen, pekçok inaktif HBV taşıyıcısı ve immüntoleran hastada, karaciğerde harabiyet olmaması veya minimum karaciğer harabiyeti görülmesi HBV'nin etkisinin ön planda sitopatik olmadığını destekler niteliktedir. Fakat bazen HBV, direkt olarak sitotoksik hasar da yapabilir.

2.1.4.1. İmmün Aracılı Karaciğer Hasarı

Sitotoksik T hücreleri, enfekte hepatositleri lizise uğratarak karaciğerde harabiyete yol açmaktadır. Fulminan HBV'li hastalarda belirgin konak yanıtıyla karaciğerde viral klirens meydana gelir ve hemen ardından ciddi karaciğer hasarı ortaya çıkar. Fakat yenidoğanlarda

immün sistem yeterli düzeyde gelişmediğinden, HBV bulaşması sonrasında karaciğerde minimum düzeyde akut harabiyet gelişmesine rağmen, enfeksiyon %90 gibi yüksek bir oranda kronikleşmektedir. Oysa immünsupresif tedavi veya kanser kemoterapisi verilen hafif veya orta seviyede karaciğer harabiyeti bulunan HBV taşıyıcılarında ciddi alevlenmeler görülebilmektedir.

Yapılan çalışmalarda, akut HBV enfeksiyonunun kuluçka dönemindeki natural killer hücre (doğal öldürücü) aktivasyonunun, HBV'ye özgü T hücre cevabından önce gerçekleştiği tespit edilmiştir. Kuluçka döneminde görülen HBV'ye spesifik CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin, karaciğer hasarının başlatılmasında ve enfeksiyonun kontrolünde önemli rolü olduğu anlaşılmaktadır. Virüs kontrolünde sitolitik ve sitolitik olmayan mekanizmalar beraber rol oynamaktadır. Serum aminotransferaz düzeylerinin pik yapmadan önce, serum HBV DNA'nın oldukça düşük seviyelere inmesi bu durumu destekler niteliktedir.

2.1.4.2. Direkt Sitotoksik Karaciğer Hasarı

Hepatit B virüsünün sitopatik etkisinin fazla olmadığı bilinmektedir. Kronik HBV enfeksiyonunun şiddeti ile viral yük genellikle korele değildir. Bu durum özellikle enfeksiyonun erken döneminde yüksek HBV DNA düzeyleri ve normal aminotransferaz düzeyleri olan yenidoğanlarda geçerlidir. Karaciğer nakli uygulanan hastaların bazılarında ise tekrarlayan hepatit B atakları sonucu, fibrozisin eşlik ettiği kolestatik hepatit tablosunun gelişiminde sitopatik karaciğer hasarı patogeneizde etkilidir.

Önceleri akut HBV enfeksiyonu geçirip iyileşen kişilerde HBV'nin karaciğerden tamamiyle temizlendiği düşünülürken, son çalışmalar neticesinde akut HBV enfeksiyonu sonrası virüsün vücuttan tamamen eradike edilemediği anlaşılmıştır. Spesifik sitotoksik T hücreleri, viral antikor ve antijenlerin kaybolmasına rağmen, sensitivitesi yüksek HBV DNA ölçüm tekniklerinin geliştirilmesiyle akut HBV'nin klinik iyileşmesinden 10 yıl sonra bile karaciğer veya serumda HBV genom izlerine rastlanmıştır. Akut hepatit B enfeksiyonu geçirip tamamen düzelmiş, sonrasında ise hayatının herhangi bir döneminde immünsupresif tedavi veya kanser tedavisi almış olan pek çok hastada HBV reaktivasyonu saptanmıştır.

HBV virionlarının, iki çeşit DNA'sı mevcuttur. Bu DNA'lardan biri kısmen tamamlanmış olan pozitif iplikçikli çembersel DNA (rcDNA) genomu, diğeri ise daha baskın olan negatif iplikçikli genomdur. Virion içinde az miktarda lineer DNA da bulunabilir. Genom replikasyonun başlaması ile birlikte bu iki tip DNA, "covalently closed circular"

DNA(cccDNA)'ya dönüşür. Hepatositte meydana gelen bu olay, virüs inokülasyonundan 24 saat sonra gerçekleşmektedir. Replikasyonunun ana aşaması budur.

Negatif DNA iplikçığıne kovalent bağlanan revers transkriptaz yerinden ayrılarak pozitif iplikçik tamamlanmakta ve bu iki zincirin ligasyonu ile cccDNA oluşmaktadır. Bu aşamalarda viral revers transkriptaz enzimi ile hücresel DNA tamir enzimlerinin birlikte rol aldığına, aynı zamanda virüs öz yapısının çekirdeğe taşınmasında, revers transkriptaz ve öz yapı (cor) proteinlerinin etkili olduğunu gösteren veriler mevcuttur.

HBV'nin hepatositlerde devamlı kalmasında etkin olan molekül "cccDNA"dır ve antiviral tedavi sonrası görülen viral reaktivasyonlardan da sorumludur. Dolayısıyla çekirdekte bulunan cccDNA, replikasyon kaynağıdır ve cccDNA'nın temizlenme mekanizması da net bilinmemektedir. Karaciğerdeki cccDNA düzeyinin, HBeAg-pozitif grupta, HBeAg-negatif gruba göre 100 kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Adefovir ile 48 hafta boyunca tedavi edilen hastalarda, cccDNA'da 1 log'dan daha az bir düşüş olduğu gözlenmiştir. Bu durum günümüzde kullanılan antiviral tedavilerin, cccDNA supresyonu için yetersiz kaldığını göstermektedir. İntrahepatik cccDNA eradikasyonu için ortalama 15 yıl gerektiği bildirilmiştir (76).

2.1.5. Hastalığın Karakteristik Histopatolojik Özellikleri

Kronik hepatit B'nin karakteristik bulguları; hematoksilen-eozin kesitlerinde görülen kumsu nükleus ve buzlu cam tarzında sitoplazmadır. Nükleusta masif HBcAg toplanmasına bağlı özgün bulgu kumsu nükleustur. HBcAg'nin immünohistokimyasal ekspresyonu, bu görüntüye sahip nükleuslarda ve kumsu nükleus görüntüsünün olmadığı nükleuslarda da saptanabilmektedir.

Bir diğer özgün bulgu, buzlu cam tarzında eozinofilik, soluk granüler sitoplazmadır. Sitoplazmanın bu özelliği, sitoplazmanın tamamında veya bir kısmında görülür. Bazen HBsAg içeren endoplazmik retikulum varlığı nedeniyle sitoplazma çevresinde halo oluşur. Buzlu cam tarzında sitoplazma Kronik hepatit B için patognomonik bir bulgu değildir. Başka patolojilerde de izlenebilir. Fakat bu görüntüye sahip sitoplazmada immünohistokimyasal olarak HBsAg saptanması , kronik HBV için patognomoniktir.

Kronik hepatit B karaciğer morfolojisi, hastalığın seyrinde değişik histopatolojik görünüme sahiptir. Hastalığın ilk evresi olan immüntoleran faz ve erken viral replikasyon fazında karaciğer biyopsisinde hepatoselüler hasar ve enflamasyon ya yoktur ve ya çok az

düzeydedir. Viral replikatif fazda immünohistokimyasal olarak, HBcAg sitoplazmik ve nükleer lokalizasyondadır. HBsAg, predominant olarak hücre membranında ve nadir olarak hücre sitoplazmasında bulunur. Hastalığın ikinci evresi olan, immün klirens fazı ve düşük viral replikasyon fazında HBeAg'nin HBe antikoru serokonversiyonu gerçekleşir. Bu dönem hastaların yapılan karaciğer biyopsilerinde oldukça belirgin nekroinflamasyon görülür. İmmünohistokimyasal incelemelerde HbsAg ekspresyonu membranöz ve sitoplazmik, HBcAg ekspresyonu ise sitoplazmik ve nükleerdir.

Viral replikasyonun olduğu hepatositlerin bir bölümü immün eliminasyondan kaçar ve viral enfeksiyon persiste olur. Böylece viral DNA'nın konak genomuna integrasyon gerçekleşir. Bu, karaciğer biyopsisinin tamamen normal veya farklı seviyelerde fibrozis hatta siroz görülebilen bir dönemdir. İntegrasyon fazında hepatositler immünohistokimyasal olarak incelendiğinde hepatosit sitoplazmasında yaygın HBsAg pozitifliği gözlenir. Aktif viral replikasyon sona erdiğinde, integre HBV genomu içeren hepatositler tarafından HBsAg üretilmesiyle inaktif taşıyıcılık meydana gelebilir.

HBsAg, inaktif taşıyıcılarda hepatosit sitoplazmasında birikir ve buzlu cam şeklinde sitoplazma görünümü oluşur. Bu dönemde hepatositlerde HBcAg ekspresyonu görülmezken, HBsAg ekspresyonu saptanmaktadır (77).

Kronik B Hepatit'li vakalarda histopatolojik değerlendirme farklı birçok skorlama sistemi ile yapılmaktadır. Bu amaçla günümüzde yaygın olarak kullanılan sistem; Ishak'ın modifiye histolojik aktivite indeksi derecelendirme ve evrelendirme sistemidir. Biz de çalışmamızda bu sistemi kullanmış bulunmaktayız (78). Bu skorlama sisteminin özellikleri aşağıda gösterilmiştir.

MODİFİYE HİSTOLOJİK AKTİVİTE İNDEKSİ	
Modifiye HAI derecelendirmesi:	
Nekroinflamatuvar skorlar	
Değişiklik	Skor
A. Periportal veya periseptal interface hepatiti (“piecemeal” nekroz)	
Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alanda)	1
Hafif/Orta (fokal, portal alanların çoğunda)	2
Orta (trakt ya da septaların %50’ den azında, çevresinde devamlılık gösteren)	3
Şiddetli (trakt ya da septaların %50’ den fazlasında, çevresinde devamlılık gösteren)	4
B. Konfluent nekroz	
Yok	0
Fokal konfluent nekroz	1
Zon 3 nekroz (bazı alanlarda)	2
Zon 3 nekroz (çoğu alanda)	3
Zon 3 nekroz + seyrek portal-santral (P-C) köprüleşme	4
Zon 3 nekroz + çok sayıda portal-santral (P-C) köprüleşme	5
Panasiner veya multiasiner nekroz	6
C. Fokal (“spotty”) litik nekroz, apopitozis ve fokal inflamasyon	
Yok	0
1 veya daha az odak (x100’ lük her büyütmede)	1
2-4 odak (x100’ lük her büyütmede)	2
5-10 odak (x100’ lük her büyütmede)	3
10’ dan fazla odak (x100’ lük her büyütmede)	4
D. Portal inflamasyon	
Yok	0
Hafif (bazı veya tüm portal alanlarda)	1
Orta (bazı veya tüm portal alanlarda)	2
Orta/Belirgin (tüm portal alanlarda)	3
Belirgin (tüm portal alanlarda)	4

Modifiye HAI evrelendirmesi:	
Yapısal değişiklikler, fibrozis ve siroz	
Değişiklik	Skor
Fibrozis yok	0
Birkaç portal alanda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	1
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	2
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve seyrek portal-portal (P-P) köprüleşme	3
Portal alanlarda fibröz genişleme ve belirgin köprüleşme [Portal-portal (P-P) yanısıra portal-santral (P-C)]	4
Belirgin köprüleşme (P-P ve/veya P-C) ile seyrek nodül (inkomplet siroz)	5
Siroz (olası veya kesin)	6

2.2. Galektinler

Galektinler, homolog karbonhidrat tanıma alanı (CRD) içeren, β -galaktozidleri bağlayan, oligosakkaritlere karşı afinitesi olan, hayvan memeli lektinleridir (31, 79). Birçok değişik immün hücre tipi ve birçok canlıda (balıklar, nematodlar, süngerler, memeliler, kuşlar) bulunurlar (31,132). Monosit, makrofaj ve epitelyal hücreler gibi değişik hücrelerden sentezlenmektedir (27,28). 15 farklı tipte galektin tespit edilmiştir. Galektinlerin bazıları monomer ve bazıları da dimer şeklinde bulunur.

Galektin-3, genellikle anti-apoptotik aktivitesi olan bir C-terminal CRD bölgesi ve N-terminal nonlektin bölge içerir. Beta galaktozid bağlayıcı proteinler reseptör kümeleşmesi yoluyla sinyal iletimini tetiklerler ve bunu da hücre yüzeyinde multivalent galektin glikoprotein kafesleri meydana getirerek yaparlar (79).

Galektinlerin apoptozis, kemotaksis, embriyogenez, bakteriyel kolonizasyon, hücre proliferasyonu, hücre adezyonu, onkogenез, diferansiasyon gibi bir takım ekstraselüler etkileri bulunmaktadır. İntraselüler etkileri çok açık değildir fakat etkilerinin karbonhidratları bağlama aktivitelerine bağımlı olduğu düşünülmektedir (79).

Galektinlerin metabolizmadaki görevlerinin anlaşılması, fibrozisle giden kronik hastalıklar, kanserler, tümör yayılımı, inflamasyon, otoimmün hastalıklar, alerjik olaylar, diyabetes mellitus ve hipertansiyona bağlı gelişen vasküler komplikasyonların tanısına ve tedavisine yeni alternatifler getirebileceği düşünülmektedir.

2.2.1. Galektin-3

Galektin-3, β -galaktozid bağlayan immüno-regülatuar lektinler içindeki galektin ailesine ait bir proteindir (31,80). Galektin-3 hücre yüzeyi, sitoplazma ve nükleusta bulunmakta olup 29-35 kDa (yaklaşık 30 kDa) ağırlığındadır (81). Aktif B ve T hücrelerinden (82-87), karaciğer, kalp, böbrekler ve eklemler gibi çeşitli dokulardan (43,45,88,89), monosit ve epitelyal hücrelerden (27,28) ve timik stromal hücreler (90,91) gibi değişik bir çok hücreden sentezlenebilmektedir.

Galektin-3, B hücrelerinin canlılığının sürdürülmesinde ve farklılaşmasında önemli bir role sahiptir (85). Galektin-3'ün deneysel olarak yok edilmesi, plazma hücre farklılaşmasını kolaylaştırmakta ve immünglobülin seviyelerini artırmaktadır (85). Sitoplazma membranı ve

ekstraselüler ortamda bulunan galektin-3, hücre-hücre ve hücre-matriks arasındaki ilişkilerde görev almaktadır (92-94).

Değişik hücrelerin migrasyonunun uyarılmasında da galektin-3 rol almaktadır (35,36). Galektin-3, immün yanıtın düzenlenmesine önemli etkiler yapmakta olup T hücre, monosit, nötrofil ve endotel hücre aktivitelerini etkilemektedir (36-41). Galektin-3, daha önce antijenle karşılaşmamış T lenfositler ve dendritik hücreler arasındaki etkileşimde de rol alır (95). Galektin-3, T hücresi ve makrofajların, fibroblastlar ile etkileşimini sağlamaktadır (42). Monositlerden makrofajlara dönüşüm olduğunda galektin-3 seviyesi artar (96), makrofajlar dendritik hücrelere dönüştüğünde ise azalır (95). Ayrıca galektin-3 fibroblastlar için kuvvetli bir mitojendir (39).

SLE, RA, ve Behçet hastalığında galektin-3 düzeyinin artmış olduğu bildirilmiştir (97,98).

2.2.1.1. Galektin-3'ün Doku Dağılımı

Farelerle yapılan çalışmalarda, farenin embriyogenezi süresince galektin-3 ekspresyonunun doku ve zaman bağımlı olduğu gözlenmiştir. Farelerde gestasyonun dördüncü gününde blastokistin trofoektoderm hücrelerinde galektin-3 ekspresyonu ortaya çıkmasıyla başlar (99). Gestasyonun 8,5 ve 11,5 günleri arasında notokord hücrelerinde galektin-3 belirgin bir şekilde eksprese edilmektedir (100). Fare gelişiminin daha ileri safhalarında, galektin-3 lokalizasyonu kaburga, vertebra ve yüz kemiklerinin kıkırdaklarında, larenks, mesane ve özofagusun endodermal tabakalarında, epidermisin suprabazal tabakasında izlenir. Akciğer ve karaciğer gibi organlar ile kemiklerin mineralize kısımları gibi yerlerde gözlenen punktat ekspresyon ise osteoklast ve/veya makrofajlar gibi hücre tipleriyle ilişkilidir.

İnsanda ise galektin-3'ün ekspresyonu embriyogenezin ilk trimesterinde sindirim sistemi, solunum sistemi ve cildin epitelyal tabakaları, böbreğin boşaltıcı tübülleri ve üriner epitel, periferik ve ossifikasyon öncesi dönemdeki hipertrofik kondrositler, myokard hücreleri, karaciğer ve notokord gibi bölgelerle sınırlıdır (101). Galektin-3, erişkinlerde normal dokuların çoğunda bulunsa da ağırlıklı olarak embriyogenez sürecindeki ekspresyonuna benzer şekilde, epitelyal hücreler ve myeloid hücrelerle ilişkilidir (102).

Galektin-3 çoğu hücrede sitoplazma, nükleus ve mitokondri, fagozom ve eksozom gibi kısımlarda bulunur. Hücre dışında da galektin-3, hücre yüzeyi ve ekstraselüler matriksteki birçok farklı moleküle bağlanmaktadır (29-32).

Tümörlerin birçoğunda da galektin-3 eksprese edilir (103,104). Galektin-3 ekspresyonunun kanser agresifliği ve metastazlarla korelasyon gösterdiğini ortaya çıkaran bazı çalışmalar bulunmaktadır (105,106).

2.2.1.2. Galektin-3'ün fizyolojik immün yanıtta rolü

Nötrofillerin, laminin ve endotel hücrelerine adezyonunda galektin-3'ün rolü vardır (37,92). Galektin-3 ekspresyonunun fazla olduğu hücrelerde fibronektin, vitronektin ve laminine adezyonda belirgin artış gözlenmiş ve galektin-3'ün immün hücrelerin migrasyonunun düzenlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (92,93). Galektin-3'ün makrofaj fagositoz fonksiyonlarında önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (37). Galektin-3'ün ortama eklenmesinin adezyonu artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca galektin-3'ün makrofaj ve monositler için güçlü kemoatraktan olduğu ve rekombinant insan galektin-3'ünün monosit kemotaksisini artırıcı etki yaptığı bilinmektedir. Nötrofillerin aktive edilmesinde ve degranülasyonunda da galektin-3'ün rol oynadığı belirlenmiştir (35).

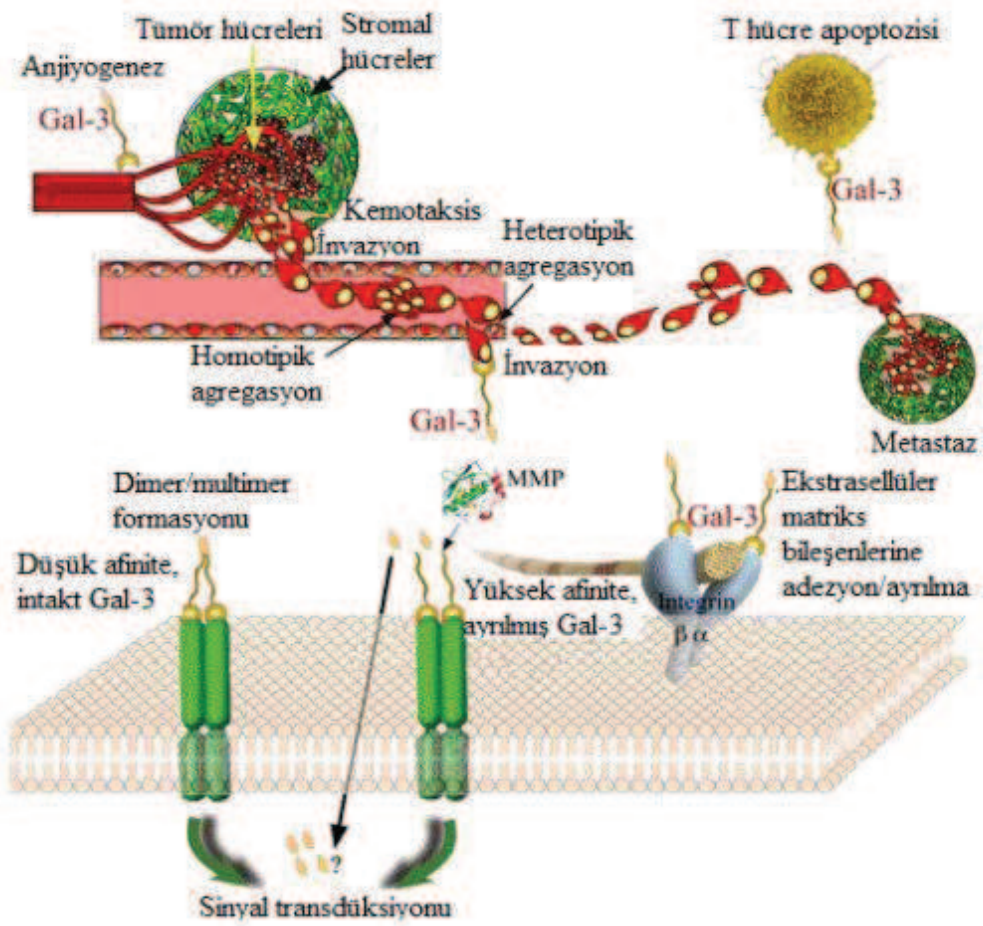
2.2.1.3. Galektin-3'ün fizyolojik rolü

Galektin-3, hücre aktivasyonu, hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri yoluyla hücre siklusunun düzenlenmesi, periferik monositlerin migrasyonlarını düzenleme gibi birtakım fonksiyonlara sahiptir (33,34,107). Galektin-3 hücrelerden sekrete de edilebilmektedir. Sekrete galektin-3, N-glikanlar ve kor-2 O-glikanlar (80,108) şeklinde iki tipi olan beta-galaktozid içeren oligosakkaritlere bağlanarak hücre yüzeyi ile bağlantıyı koruyabilmektedir. Sekrete edilen galektin-3 N-terminal bölgelerinden, birbirleriyle etkileşmeleri sonucunda multimerler oluşturabilir ve C-terminal karbonhidrat tanıma bölgelerinin (CRD) glikoprotein reseptörlerine multivalent bir şekilde bağlanmasını sağlayabilirler. Oluşan kompleksler galektin-glikoprotein kafesleri olarak isimlendirilirler (80,109-111).Galektin-glikoprotein kafesleri hücre içi sinyal yollarını düzenler ve proliferasyon (80,111), migrasyon (80,112) ve apoptozis (80,113) gibi olayların düzenlenmesinde etkili olurlar .

Galektin-3, TTF-1 (tiroid transkripsiyon faktörü 1), müsin 2 ve siklin D1 gibi kanser ilişkili genleri de içeren bazı genleri düzenlediği de gözlenmiştir (114).

Ekstrasellüler galektin-3, hücre-hücre ve hücre-matriks bağlanmasını, kemoinvazyon, kemotaksis, angiogenez, immün sistem hücrelerinin apoptozu ve metastaz olaylarında yer alır.

Şekil 2'de galektin-3'ün aracılık ettiği ekstrasellüler fonksiyonlar görülmektedir. Sekrete edilen galektin-3, kemotaksis, migrasyon ve endotelial hücrelerin morfogenezine katkıda bulunup anjiogenezi artırır (115).

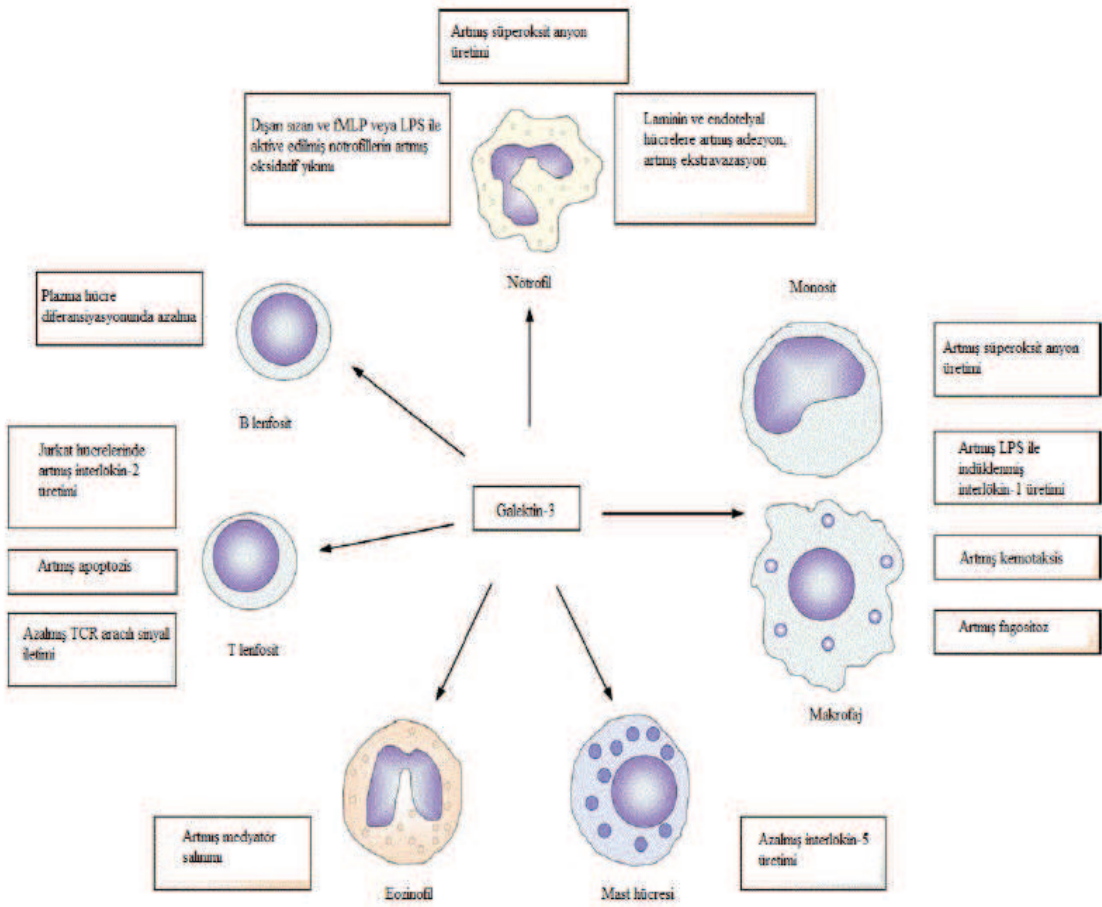


Şekil 2: Galektin 3'ün aracılık ettiği ekstrasellüler fonksiyonlar

Galektin-3, T hücre apoptozisini de tetikler. Ekstrasellüler galektin-3, hücrenin yüzeyinde bulunan glikol konjugatlarıyla çapraz bağlantı yapıp dimer ve multimerler oluşturarak hücre içine sinyal iletir. Matrikste bulunan metalloproteinaz enziminin bir parçası, galektin-3'ü parçalara böler ve bölünmüş galektin-3 daha etkili şekilde glikan reseptörlerine bağlanır. Bölünmeye dirençli galektin-3 proteinini içeren hücreler, bölünmeye duyarlı galektin-3 ile karşılaştırıldığında daha az tümör büyüme hızı, azalmış anjiogenez ve apoptoze azalmış direnç gösterirler. Hücre yüzey proteinlerinin çapraz bağlantı kurması,

sinyal transdüksiyon kaskatlarını tetikleyerek hücre içindeki birçok biyokimyasal reaksiyonu indükler. Glikozile membran reseptörlerinin glikanları ve galektin-3'ün bağlanması ile bu reseptörler çapraz bağlantı kurarlar. Bu nedenle özellikle immünite ile ilişkili çeşitli hücre tiplerinin aktivasyonunda galektin-3'ün rol aldığına dair pek çok kanıt söz konusudur.

Şekil 3'te galektin-3'ün immün sistem hücrelerine etkileri görülmektedir (102).



Şekil 3: Galektin-3'ün immün sistem hücrelerine olan etkileri (fMLP: N-formil-metiyonil-lösil fenilalanin, LPS: Lipopolisakkarid, TCR: T hücre reseptörü) (102).

2.2.1.4. İmmün hücre proliferasyonu ve apoptozun regülasyon

İmmün sistem hücreleri yaşam evreleri boyunca birçok kez “hücre ölüm kontrol noktaları”ndan geçerler. Bu şekilde hücrelerin büyümesi, homeostaz ve hastalıklardan koruyuculuk sağlanabilir. İmmün hücre ölümünü düzenleyen protein ailelerinden birinin galektinler olduğu son yıllarda anlaşılmıştır.

Galektin-3, hücre içi etkileşimlerle hücrede apoptoza neden olabilen veya hücreyi apoptozdan koruyabilen dual etkili bir proteindir (116). Hücre büyümesi ve apoptozda galektin-3’ün oynadığı rol, değişik deneysel çalışmalarla çeşitli hücre tiplerinde gözlemlenmiştir. Galektin-3, hücreleri apoptozdan korur ve T hücre proliferasyonu için gereklidir (79,82). Galektin-3 bu antiapoptotik etkisi ile insan T hücre kökenli lösemi hücrelerini fas-ligand aracılı apoptozdan korur (117). Galektin-3’ün, antiapoptotik supresör bcl-2 proteiniyle dimer oluşturarak apoptozu önleyici etki oluşturduğu düşünülmektedir. Ayrıca galektin-3, insan meme kanser hücrelerinde apoptozu önlemektedir (118).

Ekstraselüler galektin-3, hücre yüzeyine bağlandıktan sonra sitokrom-c serbestleşmesi ve ‘caspase-3’ aktivasyonu yaparak lenfoid hücre ve aktive fare T seri hücre apoptozunu tetikler ki ,bu da galektin-3’ün apoptotik etkisine örnektir (119).

Galektin-3, immün sistemin çeşitli hücrelerinin farklılaşma ve gelişimlerini etkiler. Nötrofiller ve T hücrelerinde apoptozisi uyarmasının yanında, nötrofiller, mast hücreleri, monositler ve T hücreleri de dahil birçok myeloid ve lenfoid hücreyi aktive edip mediyatör salınımı, süperoksit ve sitokin üretimini tetikler (120-122).

2.2.1.5. Galektin-3’ün doğal immünitadaki rolü

Galektinlerin akut inflamasyon sürecinin ve doğal bağışıklığın yönetilmesinde etkin olduğu bulunmuştur (88,123). Galektin-3 *knock-out* farelerle, *wild-type* (WT) farelerin karşılaştırıldığı bir çalışmada tiyoglikolat intraperitoneal olarak uygulandığında inflamasyon sırasında *knock-out* fare granüositlerinde belirgin azalma olduğu gözlemlenmiştir (88). Bir çalışmada juvenil romatoid artrit (JRA) hastalarının sinovyal dokularında, normal sinovyal dokuya göre daha yüksek galektin-3 düzeyi olduğu bulunmuştur (88). Ayrıca bu hastalarda, sinovyal dokuda mononükleer hücre apoptozunda azalma gözlenmektedir. RA hastalarında da benzer şekilde sinovyal sıvı ve serumda galektin-3 seviyesinin arttığı görülmüştür (97).

2.2.1.6. Galektin-3 ile fibrozis ilişkisi

Kronik doku hasarının ortak sonucu fibrozistir. Birçok hastalığın patogeneğinde skar dokusu oluşumu, doku mimarisinde kayıp ve organ yetmezliği ile birliktelik gösteren kronik inflamasyon rol oynamaktadır. Galektin-3'ün fibrotik süreçteki rolü karaciğer, akciğer ve renal fibroz modellerinde gösterilmiştir (44,45,124,125). Galektin-3 ekspresyonunun doku fibrozu durumunda arttığı gözlenmiştir (123,124).

İnterstisyel pulmoner fibroz (İPF) olan hastaların bronkoalveolar lavaj sıvılarında galektin-3 seviyesinin arttığı bildirilmiştir. İmmünfloresan mikroskopla yapılan bir çalışmada İPF'li hastaların alveolar makrofajlarından eksprese edilen galektin-3 seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Galektin-3 üretimi yapmayan monositler, TNF- α ile uyarıldığında 24 saat içinde galektin-3 ekspresyonunu arttırdıkları ve dolayısı ile galektin-3'ün indüklenebilir olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca galektin-3 polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile makrofajları uyarıp TNF- α ve IL-8 üretimini artırmaktadır (44).

Galektin-3'ün akciğer fibrozuna yol açma mekanizmasının anjiyogenezi indükleyerek olduğu iddia edilmiştir. Bir çalışmada galektin-3 artışının *in vitro* olarak doğrudan kapiller tüp oluşumunu uyardığı ve *in vivo* olarak da anjiyogenezi indüklediği gösterilmiştir (36). Galektin-3, İPF'de damar yeniden yapılanmasına direkt endotel hücrelerine etkiyerek veya indirekt olarak anjiyogenik IL-8 sentezi yoluyla katılmaktadır. *In vitro* çalışmalarda galektin-3, hücre göçünü ve fibroblastlarda kollajen yapımını indüklemiştir. Bu nedenle galektin-3'ün, fibrogenezi doğrudan doğruya etkilediği düşünülmektedir (44).

Karaciğerde oluşan fibroziste, organ skarlaşmasının başlaması ve devam ettirilmesinde kilit hücreler fibroblastlar ve miyofibroblastlardır (126). *In vitro* çalışmalarda, karaciğer fibrozis modelinde, dışardan verilen galektin-3 miyofibroblast proliferasyonunu artırmıştır. Miyofibroblast aktivasyonunun *in vivo* ve *in vitro* bir belirteci olarak kabul edilen düz kas aktini (SMA) ekspresyonu, herhangi bir sebeple meydana gelen doku hasarı sonrasında hepatik stellat hücrelerinde (HSC) artmaktadır (123,126).

Galektin-3 yapımı, fibrozla ilişkili bulunmuştur. Galektin-3 normal rat karaciğerinde minimal düzeyde, ileri fibrozda ise maksimum düzeyde saptanmış ve iyileşme döneminde (24 hafta sonra) saptanamamıştır. Bu çalışmadaki sonuçlara göre fibrozis gelişiminin galektin-3 tarafından düzenlendiği düşünülmektedir (43).

Hayvanlarla yapılan bir çalışmayla karaciğer fibrozisi araştırılmıştır. Bu çalışmada

karbon tetraklorür (CCl₄) uygulanması sonrasında, galektin-3 *knock-out* farelerde, *WT* farelere göre daha az kollajen birikimi ve daha az prokollajen mRNA saptanmıştır. Ayrıca galektin-3 *knock-out* grupta *WT* gruba göre α -SMA seviyesi belirgin olarak daha az olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre hasar süresince galektin-3'ün arttığı anlaşılmıştır (43).

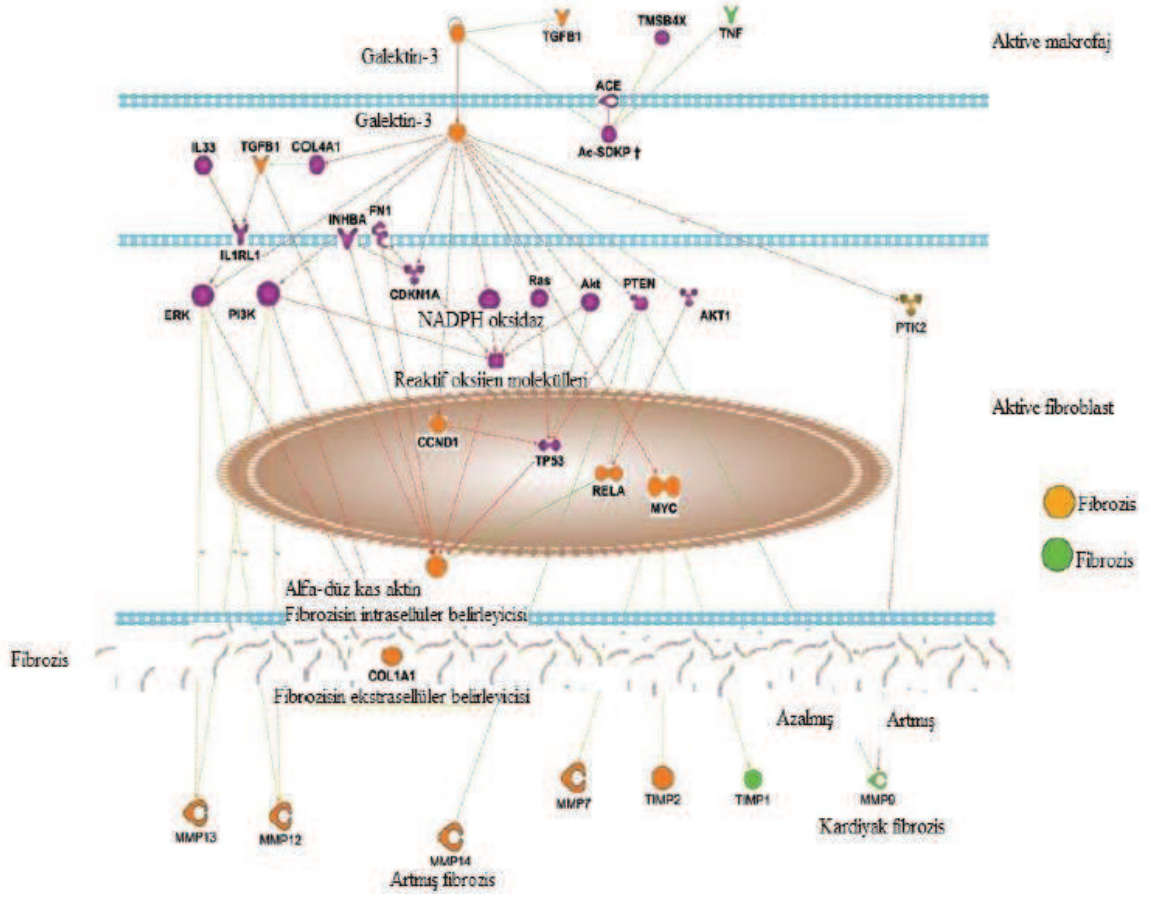
Rekombinant galektin-3'ün HSC'lere eksojen olarak eklenmesi, α -SMA yapımında artışa sebep olmuştur. Bununla birlikte *in vitro* doku kültüründe *WT* HSC'lerin, galektin-3 *knock-out* HSC'lere göre daha hızlı çoğaldığı gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre galektin-3 yapımının baskılanması α -SMA ve prokollajende belirgin bir azalmaya ve PCR ile ölçülen mRNA seviyesinde de azalmaya neden olmuştur (43).

İnsanda karaciğer fibrozisi durumunda galektin-3 ekspresyonunda artış gözlenir. İnsanda karaciğer fibrozisinde etyolojik neden ne olursa olsun sirotik nodüllerde galektin-3 seviyesinin belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir. CCl₄ uygulanması sonrası 8. haftada karaciğer fibrozisinin gözlemlendiği periportal alanlar ve '*köprüleşme fibrozisi*' bulunan alanlarda galektin-3 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (44).

Galektin-3'ün renal fibrozis patogeneziindeki rolünü değerlendirmek için tek taraflı üreter tıkanıklığı ile ilerleyici renal fibrozis geliştirilen deneysel fare modeli oluşturulmuştur. Üreter tıkanıklığı oluşturulması sonrası böbrek dokusunda, galektin-3 seviyesinin arttığı anlaşılmıştır. Bununla birlikte galektin-3'ün inhibe edilmesi renal miyofibroblast göçünü ve aktivasyonunu engellemekte ve sonuçta fibrozise karşı koruyucu etki göstermektedir.

Knock-out fareler *WT* fareler ile karşılaştırılmış ve tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası renal dokudaki galektin-3 düzeyi ve kollajen birikimi, *knock-out* farelerde belirgin olarak azaldığı anlaşılmıştır. Galektin-3 *knock-out* farelere, *WT* makrofajların transfer edilmesi sonrasında α -SMA ekspresyonu, interstisyel miyofibroblastların toplanması, aktivasyonu ve kollajen ekspresyonu belirgin artmıştır. Galektin-3 *knock-out* farelerde, *WT* farelere göre α -SMA seviyesi (aktive myofibroblastların göstergesi) belirgin olarak azalmıştır (45).

Özet olarak galektin-3, fibrozis olayındaki rolü ile ilgi çekmektedir. Fibrozis doku yapımı veya skar oluşumu, hücre hasarı ve inflamasyonun doğal sonuçlarından biridir. Galektin-3, fibroblastların aktive edilmesinden ve dolayısı ile fibrojenizasyon sorumluudur. Galektin-3'ün, inflamasyon ile fibrozis arasındaki bağlantıya olan etkilerinin sonucu olarak tanı ve tedavide kullanılmaları konusu gündeme gelmiştir. Hasar bölgesinde ekstrasellüler boşluğa sekrete olan galektin-3'ün etkisiyle, dinlenme halindeki fibroblastlar, matriks üreten fibroblastlar olacak şekilde aktive edilmektedir. (Şekil 4) (124, 127,128).



Şekil 4: Galectin-3'ün fibrozis olayındaki fonksiyonu (128).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Haziran 2014- Mayıs 2015 arasında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi İç Hastalıkları Gastroenteroloji Bilim Dalı Polikliniğine başvuran ve HBeAg negatif kronik hepatit B (KHB) tanısı alan kişiler arasından rastgele randomizasyon yapılarak seçilen grup (n=25), inaktif HBV taşıyıcıları (n=25) ve kontrol grubu (n=25) olmak üzere toplam 75 kişi seçildi. Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın 24.12.2014 tarih ve 2014-25 no'lu kararı ile etik kurul onayı alınarak yapıldı.

3.1. Hasta ve kontrol grubu

3.1.1. HBeAg negatif KHB grubu: Kronik viral hepatit B tanısı en az 6 aydır bilinen HBsAg pozitifliği bulunan, HBeAg negatif, HBV DNA değerleri 2000 IU/ mL fazla olan ve transaminaz değerlerinde geçici ya da sürekli yüksekliği bulunan hastalar ve karaciğer biyopsisi yapılan hastalar arasından seçildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların daha önce tedavi almamış olması ve diğer kronik karaciğer hastalıklarının olmaması arandı. Antiviral tedavi planlanan hastalardan tedavi öncesi, tedavinin birinci, üçüncü, altıncı ve onikinci ayında poliklinikte görülerek açlık venöz kan örnekleri alındı. Ek olarak hastalar 6 ayda bir USG ile tarandı. Bu çalışma nedeniyle hastaların tedavilerinde herhangi bir değişiklik yapılmadı.

3.1.2. İnaktif HBV taşıyıcı grup: En az 6 aydır HBsAg pozitifliği olduğu bilinen, HBeAg negatif, transaminazları normal ve HBV DNA değerleri 2000 IU/ml'den küçük olan kişiler inaktif HBV taşıyıcısı olarak kabul edildi. İnaktif HBV taşıyıcı gruba karaciğer biyopsisi yapılmadı, 6 ayda bir transaminaz,HBV DNA ve USG kontrolü açısından takiplere çağırıldı. Çalışmaya dahil edilen hastaların daha önce tedavi almamış olması ve diğer kronik karaciğer hastalıklarının olmaması arandı.

3.1.3. Kontrol grubu: HBeAg negatif KHB grubu ve inaktif HBV taşıyıcı grupla benzer yaş ve cinsiyette, bilinen hiçbir kronik hastalığı olmayan, HBsAg negatif, Anti HBc Ig M negatif, Anti HBc Ig G negatif ve transaminaz düzeyleri normal sağlıklı gönüllülerden seçildi.

3.2. Dışlama kriterleri

Geçmişte antiviral tedavi alanlar, son 12 ay içerisinde immunomodülatör tedavi alanlar, dekompanse karaciğer sirozu olanlar, HCC veya başka herhangi bir malignitesi olanlar, biyopsisi yetersiz olan hastalar, genel durum bozukluğu, konjestif kalp yetmezliği, gebelik durumu, 18 yaş altı kişiler, kronik böbrek yetmezliği, idiopatik pulmoner fibrozis, inflamatuvar barsak hastalığı olanlar, ve kontrollere gelemeyeceğini belirtme gibi durumu olan, kontrollere gelmeyen veya kontroller sırasında çalışmadan ayrılmak isteyen hastalar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca erkeklerde 20 gr/gün, kadınlarda 10 gr/gün ve üzeri alkol kullanımı olanlar, Wilson hastalığı, hemokromatozis, otoimmün hepatit, primer biliyer siroz tanısı alanlar, anti-HDV, Anti-HCV, anti-HIV, ANA, ASMA ve AMA pozitif olanlar çalışma dışı bırakıldı.

3.3. Çalışmanın dizaynı

HbeAg negatif kronik hepatit B'li 25 hasta, inaktif HBV taşıyıcısı 25 hasta ve kontrol grubu olarak 25 kişi çalışmaya alındı. Çalışma 12 ay sürdürüldü ve bu sürede çalışmaya dahil edilen tüm kişilerin aydınlatılmış onamları alındı. Her üç gruptaki kişiler ile gastroenteroloji polikliniğinde görüşüldü. Genel bilgileri, şikayetleri, ek hastalıkları, kullandığı ilaçlar, biyopsi öyküleri sorgulanıp fizik muayeneleri yapıldı, Vücut kitle indeksleri (VKİ) hesaplandı. Tüm gruplardaki kişilerde tam kan sayımı, serumda karaciğer testleri [ALT, AST, ALP, GGT, total bilirubin, direkt bilirubin, albumin, INR (international normalized ratio)], açlık kan şekeri (AKŞ), total kolesterol, trigliserit, üre, kreatinin, HBsAg, Anti-HBs, HBeAg, Anti HBe, AntiHBc IgG, Anti-HCV, Anti-HIV, AFP, Galektin-3 çalışıldı. KHB ve HbsAg taşıyıcı grupta ek olarak Anti-Delta ve HBV DNA çalışıldı. KHB, inaktif HBV taşıyıcısı ve kontrol grubu ayırımı HBsAg, HBeAg, Anti HBe, HBV DNA , transaminaz sonuçları ve karaciğer biyopsisi ile yapıldı.

HbeAg negatif Kronik Hepatit B tanılı hastalar tedavi başladıktan sonra tedavinin birinci, üçüncü, altıncı ve on ikinci aylarında kontrole çağrıldı. Her kontrolde hastayla gastroenteroloji polikliniğinde görüşüldü. Şikayetleri ek sıkıntıları, ilaç yan etkileri sorgulanıp fizik muayeneleri yapıldı, Tam kan sayımı, serumda karaciğer testleri (ALT, AST, ALP, GGT, total bilirubin, direkt bilirubin, albumin, INR) , AKŞ, total kolesterol, trigliserit, üre, kreatinin, HBsAg, Anti-HBs, HBeAg, Anti HBe, HBV DNA, AFP, Galektin-3 çalışıldı.

Kan örnekleri biyokimya ve seroloji laboratuvarında çalışıldı. İnaktif HBV taşıyıcılar ve KHB hastalarına batın USG radyoloji uzmanı tarafından yapıldı. HbeAg negatif Kronik Hepatit B hastalarının karaciğer biyopsileri girişimsel radyoloji tarafından yapıldı. HbeAg negatif kronik hepatit B hastalarının karaciğer biyopsi örneklerinde histopatolojik inceleme patoloji laboratuvarında çalışıldı.

3.4. Biyokimyasal ölçümler

Çalışmamızda incelenecek tüm testler için 12 saatlik açlık sonrasında sabah saat 08-09 arasında kan örnekleri alındı. Glukoz, üre, kreatinin, Na (sodyum), K (potasyum), Ca (kalsiyum), P (fosfor), ürik asit, total kolesterol, trigliserit, LDL, HDL, AST (aspartat aminotransferaz), ALT (alanin aminotransferaz), ALP (alkalen fosfataz), GGT (gama glutamil transferaz), albumin, total protein, total bilirubin, direk bilirubin için vakumlu jelli tüplere, hemogram testleri (Hb, Htc, PLT, WBC, MCV, MPV) için K3EDTA'lı tüplere kan alındı. Koagülasyon (PT, INR, aPTT) için sodyum sitratlı tüplere kan alındı. Jelli tüplere alınan örnekler oda ısısında 30 dakika bekletildikten sonra, K3EDTA'lı tüplere alınan örnekler hemen 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Glukoz, üre, kreatinin, ALT, AST, ALP, GGT, total kolesterol, trigliserid, LDL, HDL enzimatik yöntemle, albumin, total protein, total bilirubin ve direkt bilirubin kolorimetrik yöntemle, Na, K, Cl iyon selektif elektrot(İSE) yöntemi ile, hemogram testleri Beckman Coulter LH-780 (Beckman Coulter Ireland Inc Mervue, Galway, Ireland) kan sayım cihazı ile, koagülasyon testleri STA Compact koagülasyon analizöründe (Diagnostica Stago Inc., Asnieres, France) Diagnostica Stago test kitleri kullanılarak aynı gün çalışıldı. INR, $INR = (PT/Mean\ normal\ PT)^{ISI}$ formülü kullanılarak hesaplandı.

HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HDV, anti-HCV, anti-HIV testleri, ELISA yöntemiyle çalışılırken, HBV DNA , kantitatif PCR yöntemiyle Cobas Taqman 48 (Roche) sistemi ile çalışılmıştır. Testin lineer aralığı 6- 110 000000 IU/ml'dir. 1 IU/ml= 5,82 HBV DNA kopya/ml.olarak belirlenmiştir.

3.4.1. Galektin-3 çalışma yöntemi

Hastaların kan örnekleri vakumlu jelli tüplere alınıp 30-60 dakika süre ile oda sıcaklığında bekletilip 3000-5000 devirde 10-15 dakika santrifüje edildikten sonra elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplerine konularak daha sonra Galektin-3 çalışılmak üzere –

40°C’da derin dondurucuda saklandı. Yaklaşık 12 ay sonra bu saklanmış örnekler derin dondurucudan çıkarıldı ve biyokimya laboratuvarında Boster marka kitler kullanılarak ELİSA yöntemiyle serumda çalışıldı.

3.5. Histopatolojik incelemeler

Karaciğer biyopsisi örnekleri patoloji laboratuvarında çalışıldı. Histopatolojik incelemeler Modifiye Ishak skorlama sistemine göre yapıldı. HAİ <6 ve fibrozisi <2 olanların hafif histolojik lezyon, HAİ ≥ 6 ve/veya fibrozisi > 2 olanların orta/ağır histolojik lezyon olarak kabul edildi. Ayrıca hepatik steatozun; yok, hafif (<%33), orta (%33-66), ağır (>%66) olarak derecelendirilmesi öngörüldü.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS 19.0 bilgisayar paket istatistik programı (SPSS Inc. Software Chicago, IL, USA) kullanıldı. Çalışmada, elde edilen veriler ortalama±standart sapma olarak gösterildi. Galektin-3 düzeylerinin iki farklı grup açısından karşılaştırılmasında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi (student t testi), normal dağılıma sahip olmayan değişkenler için Mann Whitney U testi, ikiden fazla grup açısından karşılaştırılmasında çok yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanıldı. Galektin-3 ile diğer parametreler arasındaki ilişkiyi belirlemek için Spearman’s rho analizinden yararlanıldı. Galektin-3’ den faydalanılarak HBeAg negatif KHB hastalarında tanının doğru koyulması için ROC curve analizi ile cut off (kesim) değeri belirlendi. Sonuçlar değerlendirilirken bulunan P değerinin 0.05'in üzerinde olması istatistiksel açıdan anlamlı değil (AD) şeklinde kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik bulgular

Çalışmaya alınan 75 olgunun demografik bilgileri değerlendirildi. Öncelikle olgular HBeAg (-) KHB grubu (n=25), inaktif HBV taşıyıcıları (n=25) ve kontrol grubu (n=25) olarak üç gruba ayrıldı. HBeAg (-) KHB grubunda 13 kadın 14 erkek bulunmakta olup grubun ortalama yaşı 39.7 ± 12.6 yıl idi. HBsAg taşıyıcıları grubunda 12 kadın 13 erkek bulunmakta olup grubun ortalama yaşı 44.8 ± 12.9 yıl idi. Kontrol grubunda ise 13 kadın 12 erkek bulunmakta olup grubun ortalama yaşı 43.1 ± 14.9 yıl idi. Her üç grup arasında, yaş ve cinsiyet açısından anlamlı farklılık saptanmadı. VKİ, beyaz küre, hemoglobin, hematokrit, trombosit, ALP, GGT, AKŞ, üre ve kreatinin, total kolesterol, trigliserit, değerleri açısından anlamlı fark yoktu.

Her üç gruptaki 75 bireyin demografik ve karaciğer testleri dışındaki laboratuvar özellikleri Tablo 1 ve 2’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Kontrol grubu, inaktif HBV taşıyıcıları ve HbeAg negatif KHB'lilerin demografik özellikleri

Hasta özellikleri	Sağlıklı kontrol grubu	İnaktif HBV taşıyıcı grup	HBeAg negatif KHB grup
Yaş, (yıl)	43.1 ± 14.9	44.8 ± 12.9	39.7 ± 12.6
Cinsiyet, kadın n (%)	13 (52)	12 (54)	13 (46,4)
VKİ (kg/m^2)	$26.5 \pm 4,6$	27.1 ± 3.3	26.9 ± 4.8
Bel çevresi, (cm)	$90.2 \pm 14,7$	94.1 ± 9.0	93.8 ± 12.8
Sigara kullanan, n (%)	7 (28)	7 (31.8)	9 (32.1)

(VKİ: vücut kitle indeksi)

Tablo 2: Kontrol grubu, inaktif HBV taşıyıcıları ve HbeAg negatif KHB'lilerin karaciğer testleri dışındaki laboratuvar özellikleri

Hasta özellikleri	Sağlıklı kontrol grubu (n:25)	İnaktif HBV taşıyıcı grup (n:25)	HBeAg negatif KHB grup (n:25)
Kan şekeri (mg/dL)	95.7± 9.9	110.5±53.5	108.2±42.3
Üre (mg/dL)	25.8 ±9.7	28.8±8.6	27.7±7.4
Kreatinin (mg/dL)	0.63 ±0.2	0.6±0.2	0.6±0.2
Total protein (g/dL)	6.2±2.4	6.7±1.9	6.9±1.8
Total kolesterol (mg/dL)	207.7±37.7	189.0±36.4	174.5±31.5
Trigliserid (mg/dL)	120.7±68.8	122.7±67.0	91.1±34.6
Hemoglobin (g/dL)	13.2±2.7	13.3±2.9	13.0±3.7
Hematokrit (%)	38.2±10.9	39.4±12.1	40.4±11.2
Trombosit (k/mm ³)	235200.0±40947.1	222227.2±46435.7	208321.4±50098.4
WBC (k/mm ³)	7128.0±1742.0	6895.4±1224.5	7353.5±2072.3
MPV (fL)	8.1±1.8	7.9±2.3	8.5±1.9
MCV (fL)	70.7±31.8	84.5±17.3	81.7±21.5
RDW (%)	13.3±3,1	11.2±4.8	13.8±2.9

(ALP: alkalen fosfataz, GGT: gamma glutamil transferaz, WBC: White blood cell, MCV: Mean corpuscular volume, MPV:Mean Platelet Volume, RDW:Red Cell Distribution Width, fL: femtolitre)

Her grubun karaciğer testleri karşılaştırıldı. ALT değeri, HBeAg (-) KHB grubunda inaktif HBV taşıyıcıları grubuna göre, inaktif HBV taşıyıcıları grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0.001$). AST, değeri, HBeAg (-) KHB grubunda inaktif HBV taşıyıcıları grubuna göre, inaktif HBV taşıyıcıları grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0.001$). Total bilirubin, direkt bilirubin, albumin ve INR değerlerinde her üç grup arasında istatistikî anlamlı fark saptanmadı. AFP değeri HBeAg (-) KHB grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek iken inaktif HBV taşıyıcıları grubunda ise fark yoktu.

Her üç gruptaki hastaların karaciğer testlerinin karşılaştırılması tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3: Kontrol grubu, inaktif HBV taşıyıcı ve HbeAg negatif KHB'lilerde karaciğer testlerinin karşılaştırılması

Değişken	Sağlıklı kontrol grubu (n:25)	İnaktif HBV taşıyıcı grup (n:25)	HBeAg negatif KHB grup (n:25)
ALT (U/L)	15.8±5.5	22.1±13.1	173.5±350.2
AST (U/L)	17.0±4.4	21.0±9.9	119.7 ±259.6
Total bilirubin (mg/dL)	0.3±0.2	0.5±0.3	0.5±0.4
Direk bilirubin (mg/dL)	0.1±0.1	0.1±0.1	0.2±0.2
ALP (U/L)	70.7±20.7	69.8±19.2	89.6±32.0
GGT (U/L)	25.3±23.8	20.7±12.3	59.1±62.5
Albumin(g/dL)	4.8±1.1	4.2±1.2	3.9±1.3
INR	0.8±0.2	0.5±0.4	0.7±0.7
aPTT (saniye)	21.5±8	27.2±5.7	28.8±6.6
AFP (IU/mL)	14.0±7.9	25.3±20.8	32.5±30.6

(ALT: alanine transaminase, AST: aspartat transaminase, INR:international normalized ratio, aPTT: activated partial thromboplastin time, AFP: alfa fetoprotein.)

HBeAg negatif kronik viral hepatit B (KHB)'li hastalar histopatolojik incelemede fibrozis evresine göre iki gruba ayrıldı. Hafif fibrozisi (<2/6) olan hastalarla, orta-ağır fibrozisi ($\geq 2/6$) olan hastalar karşılaştırıldı. Her iki grup arasında, yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, beyaz küre, hemoglobin, hematokrit, trombosit total bilirubin, direkt bilirubin, albumin, INR, AKŞ, total kolesterol, trigliserit, üre, kreatinin ve AFP değerleri açısından fark yoktu. ALT, AST, ALP , GGT ve LDH orta-ağır fibrozisi olan KHB hastalarında hafif fibrozisi olan KHB hastalarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. (sırasıyla p değerleri 0.014, 0.035, 0.008, 0.002, 0.01). KHB'li hastaların fibrozis skoruna göre demografik ve laboratuvar özellikleri Tablo 4 ve 5'te gösterilmiştir.

Tablo 4: HBeAg negatif KHB'li hastaların fibrozis skoruna göre demografik özellikleri

Hasta özellikleri	Hastalığın histopatolojik evresi (Fibrozis skoru)		P değeri
	Hafif (n=6)	Orta/ağır(n=19)	
Yaş (yıl)	43.5±8.40	33.68±13.52	0.390
VKİ (kg/m ²)	29.16±5.70	26.31±4.60	0.900
Bel çevresi (cm)	99.00±16.93	92.50±11.65	0.474

(VKİ:vücut kitle indeksi)

Tablo 5: HBeAg negatif KHB'li hastaların fibrozis skoruna göre laboratuvar özellikleri

Hasta özellikleri	Hastalığın histopatolojik evresi (Fibrozis skoru)		P değeri
	Hafif (n=6)	Orta/ağır(n=19)	
Kan şekeri (mg/dL)	109.16±33.40	108.00±45.13	0.360
Üre (mg/dL)	28.33±5.68	27.54±7.95	0.630
Kreatinin (mg/dL)	0.75±0.83	0.67±0.23	0.640
Total protein	7.31±7.57	6.87±2.03	0.410
Total kolesterol	189.83±35.44	170.31±29.96	0.400
Trigliserid	78.66±32.50	94.54±35.14	0.090
ALT (U/L)	139.00±10.52	183.00±39.32	0.014
AST (U/L)	66.50±44.64	134.22±29.18	0.035
ALP (U/L)	83.50±24.37	91.31±34.08	0.008
GGT (U/L)	55.00±22.46	60.27±70.00	0.002
Total bilirubin (mg/dL)	0.48±0.31	0.62±0.50	0.115
Direk bilirubin (mg/dL)	0.26±0.18	0.24±0.24	0.233
Albumin(g/dL)	4.48±2.78	3.84±1.44	0.699
LDH	206.00±40.13	234.63±105.92	0.010
INR	0.60±0.54	0.75±0.75	0.892
AFP (IU/mL)	2.31±1.77	3.51±3.31	0.472
HBV-DNA (IU/mL)	30161458,33± 46447503,72	20878257,1± 36665086,50	0.299

HBeAg negatif kronik viral hepatit B (KHB)'li hastalar histopatolojik incelemede HAİ skoruna göre iki gruba ayrıldı. Hafif HAİ (<6/18) olan hastalarla, orta-ağır HAİ (≥6/18) olan hastalar karşılaştırıldı. Her iki grup arasında, yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, beyaz küre, hemoglobin, hematokrit, trombosit total bilirubin, direkt bilirubin, albumin, ALT, AST, ALP GGT, LDH, INR, AKŞ, total kolesterol, trigliserit, üre, kreatinin ve AFP değerleri açısından fark yoktu. KHB'li hastaların HAİ skoruna göre demografik ve laboratuvar özellikleri Tablo 6 ve 7'de gösterilmiştir.

Tablo 6: HBeAg negatif KHB'li hastaların HAİ skoruna göre demografik özellikleri

Hasta özellikleri	Hastalığın histopatolojik evresi (HAİ skoru)		P değeri
	Hafif (n=7)	Orta/ağır(n=18)	
Yaş (yıl)	38.20±11.76	41.46±13.82	0.620
VKI (kg/m ²)	26.80±5.34	27.07±4.51	0.525
Bel çevresi (cm)	91.06±13.13	97.15±12.28	0.984

(VKİ:vücut kitle indeksi)

Tablo 7: HBeAg negatif KHB'li hastaların HAİ skoruna göre laboratuvar özellikleri

Hasta özellikleri	Hastalığın histopatolojik evresi (HAİ skoru)		P değeri
	Hafif (n=7)	Orta/ağır(n=18)	
Kan şekeri (mg/dL)	111.53±54.40	104.46±23.41	0.134
Üre (mg/dL)	26.80±8.56	28.76±6.05	0.523
Kreatinin (mg/dL)	0.65±0.19	0.73±0.22	0.969
Total protein	7.44±0.64	6.41±2.54	0.015
Total kolesterol	179.33±29.48	168.92±34.16	0.477
Trigliserid	92.06±26.71	90.07±43.19	0.248
ALT (U/L)	95.53±98.47	263.61±498.32	0.100
AST (U/L)	73.06±80.29	173.53±371.85	0.106
ALP (U/L)	86.00±32.12	93.84±32.62	0.464
GGT (U/L)	51.93±63.51	67.46±62.86	0.956
Total bilirubin (mg/dL)	0.52±0.52	0.66±0.41	0.938
Direk bilirubin (mg/dL)	0.22±0.18	0.27±0.26	0.868
Albumin(g/dL)	3.84±1.44	4.14±1.18	0.458
LDH	206.80±56.90	253.53±124.82	0.051
INR	0.64±0.53	0.80±0.88	0.326
AFP (IU/mL)	3.26±3.23	3.25±2.98	0.962
HBV-DNA (IU/mL)	23052044.26± 39126789.04	22654595.61± 38719333.05	0.925

4.2. HBV DNA değerleri: HBV DNA düzeyleri HBeAg negatif KHB hastalarında, inaktif HBV taşıyıcı gruptakilere göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0.001).

Tablo 8: HBeAg negatif KHB ve inaktif HBV taşıyıcı grubunun HBV-DNA düzeyleri açısından karşılaştırılması

Değişken	İnaktif HBV taşıyıcı grup	HBeAg negatif KHB grup	P değeri
HBV-DNA mean (IU/mL)	723.9±1076.0	22867514.5±38211894.5	0.004
Median (min-max)	422 (6-1993)	6680000 (3753- 110000000)	

(HBV DNA: Hepatitis b virus deoxyribonucleic acid)

4.3. USG bulguları:

HBeAg negatif kronik viral hepatit B (KHB) grubu, inaktif HBV taşıyıcı grubu ve kontrol grubundaki hastalara tüm batın USG yapıldı. HBeAg negatif kronik viral hepatit B (KHB) grubundaki 25 hastanın 8'inde karaciğer parankiminde granüler ekopatern, 17'sinde normal ekopatern gözlemlendi. Hastaların 12'sinde steatoz varken 13'ünde ise steatoz yoktu ve bu gruptaki hiçbir hastada karaciğerde nodüler oluşum gözlenmedi. İnaktif HBV taşıyıcı grubundaki 25 hastanın 2'sinde karaciğer parankiminde granüler ekopatern varken 23 hastada parankimi sonografik olarak normal gözlemlendi. Bu gruptaki hastaların hiçbirinde nodül saptanmadı, 15 hastada steatoz gözlenirken 10 hastada steatoz yoktu. Kontrol grubundaki 25 hastanın hiçbirinde granüler ekopatern ve nodüler oluşum yoktu. 11 hastada steatoz saptanırken 14 hastada steatoz yoktu. Her üç grup arasında batın USG' de steatoz varlığı ve derecesi, parankim ekopaterni ve karaciğer boyutları açısından istatistiki anlamlı fark yoktu.

4.4. Karaciğer biyopsi bulguları

HBeAg negatif kronik viral hepatit B (KHB) grubundaki tüm hastalara (n=25) tedavi öncesi karaciğer biyopsisi yapıldı. Bu gruptaki hastaların 18'inde (hastaların % 72'si) histolojik aktivite indeksi (HAİ) orta-ağır derecede ($\geq 6/18$) bulundu. 7 hastada (hastaların % 28'i) ise HAİ skoru hafif ($< 6/18$) bulundu. Bu gruptaki 25 hastanın 19'unda (hastaların % 76'sı) orta/ağır fibrozis ($\geq 2/6$) saptandı. 6 hastada (hastaların % 24'ü) ise fibrozis skoru hafif ($< 2/6$) olarak saptandı. Takip edilenler arasında hem HAİ skoru orta-ağır ($\geq 6/18$) olup, hem de fibrozis skoru orta/ağır ($\geq 2/6$) olan toplam 13 hasta mevcut idi.(hastaların % 52'si).

Karaciğer biyopsisi sonrası HAİ skoru orta-ağır ($\geq 6/18$) ve/veya fibrozis skoru orta/ağır ($\geq 2/6$) olarak saptanan hastalardan 14 hastaya Tenofovir, 9 hastaya Lamivudin ve 2 hastaya Entekavir tedavisi başlandı.

Hastalar tedavide kullanılan antiviral ajanların tipi ile komplikasyon gelişmesi, takiplerindeki laboratuvar bulgularının değişimi açısından incelendiğinde 0, 1, 3, 6 ve 12. aylarda anlamlı fark saptanmadı.

HBeAg negatif KHB hastaları ve inaktif HBV taşıyıcılarda 0.ayda bakılan HBV-DNA düzeyleri ile galektin-3 seviyeleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı($p=0,373$). Aynı zamanda başlangıçtaki HBV-DNA düzeyine göre hastalar HBV-DNA'sı 10^5 'in altında ve üstünde olmak üzere ikiye ayrılarak incelendiğinde galektin-3 düzeyleri açısından anlamlı fark olmadığı saptandı ($p=0,184$).

0.ayda KHB'li hastalarda HAİ skoru ile galektin-3 düzeyleri arasında korelasyon olmadığı saptandı ($p=0,449$) Aynı şekilde 0. ayda KHB'li hastalardaki fibrozis skoru ile galektin-3 düzeyleri arasında korelasyon olmadığı saptandı($p=0,591$)

4.5. Galektin düzeyleri

Serum galektin-3 düzeyi, inaktif HBV taşıyıcılarında ve KHB hastalarında sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. KHB hastalarında galektin-3 seviyeleri inaktif HBV taşıyıcılarına göre yüksek bulunsada istatistikî anlamlı fark olmadığı saptandı. (Tablo 9).

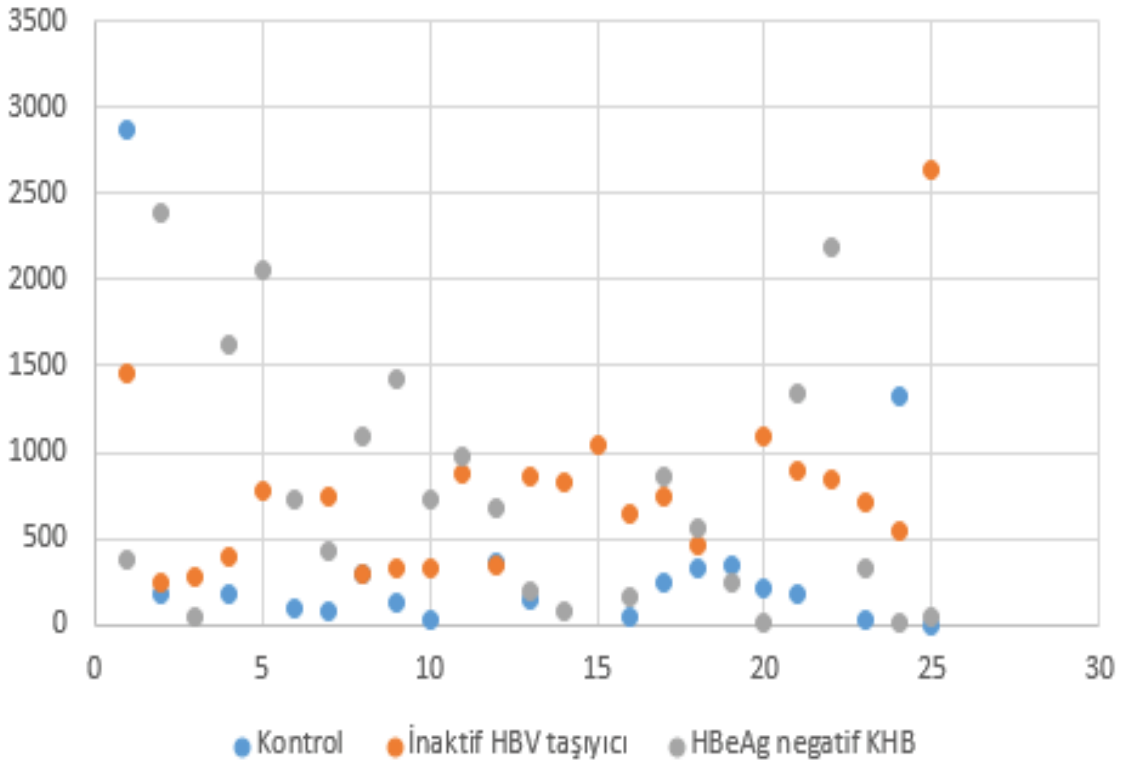
Tablo 9: Galektin-3 (U/L) değerlerinin hasta gruplarına göre dağılımı

Hasta grubu	Median	Min-Max	Mean ± SD	P değerleri
Sağlıklı kontrol grubu	131	0.00 – 2864.00	281.44±600.60	(¥) (€) (£)
İnaktif HBV taşıyıcı grup	706	0.00-2643.00	727.50±556.69	
HBeAg negatif KHB grup	567	13.00- 2391.00	740.66±695.05	

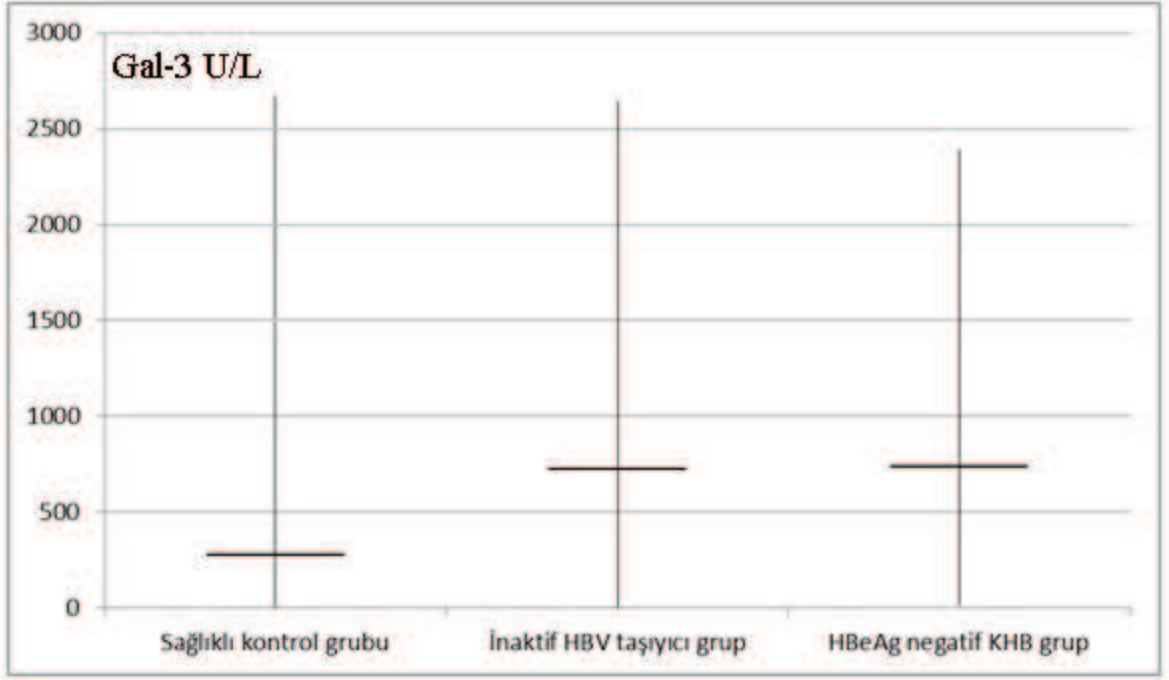
(¥): P<0.001 (İnaktif HBV taşıyıcısı grup ile kontrol grubunun karşılaştırılması)

(€): P<0.001 (KHB grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılması)

(£): P=0.08 (KHB grubu ile inaktif HBV taşıyıcısı grubun karşılaştırılması)



Şekil 5: Galektin-3 düzeylerinin gruplara göre dağılımının şematik gösterimi

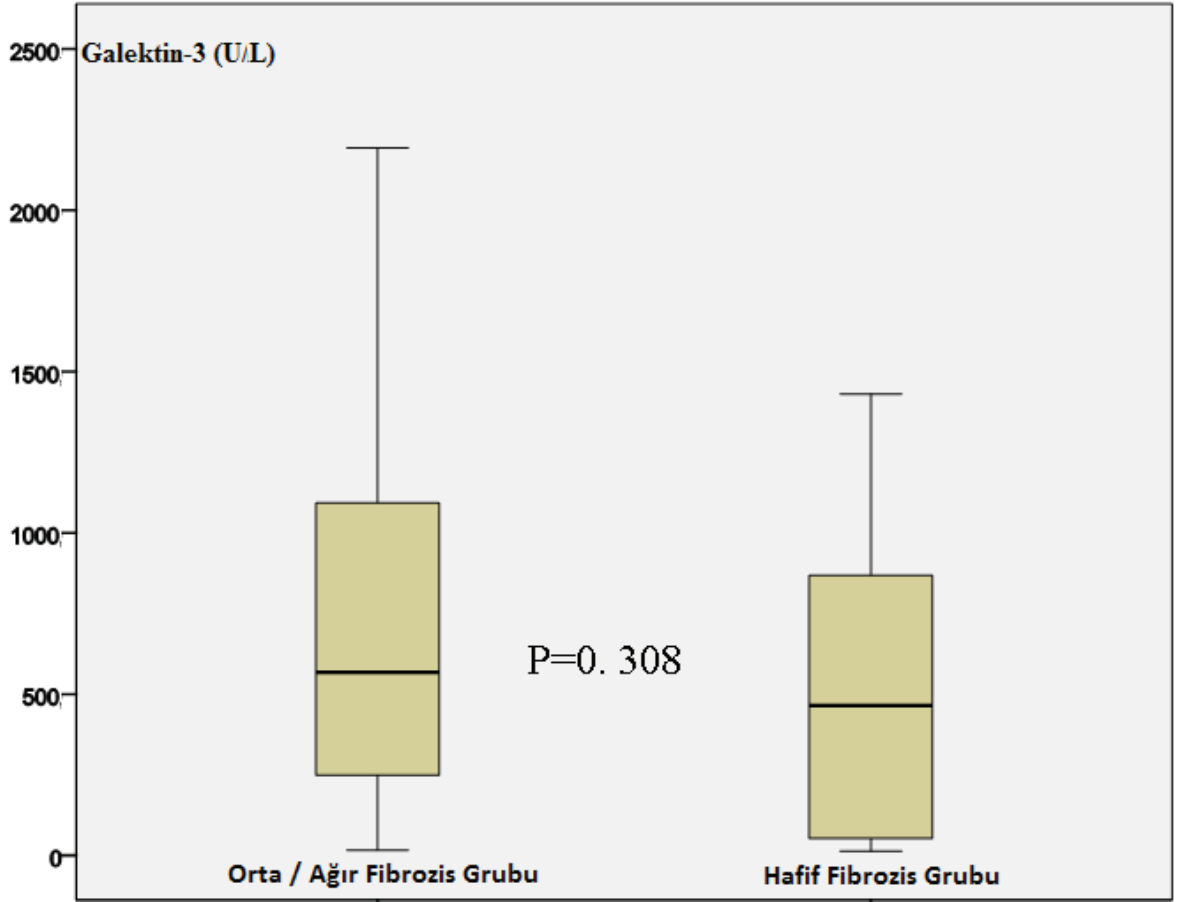


Şekil 6: Galektin-3'ün her üç gruptaki düzeylerini gösteren şema

Hastalar fibrozis skoru hafif (<2) ve orta-ağır(2-6) olarak iki gruba ayrıldığında iki grup arasında galektin-3 seviyeleri açısından anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 10 ve Şekil 7)

Tablo 10: HBeAg negatif KHB hastalarının fibrozis evresi ile galektin-3 seviyelerinin karşılaştırılması

Hasta özellikleri	Hastalığın histopatolojik evresi (Fibrozis skoru)		P değeri
	Hafif (n=6)	Orta/ağır(n=19)	
Galektin-3 (U/L)			
Mean	548.50±551.51	822.95±741.27	0.308
Median (min-max)	288.5 (16-734)	723 (0-2391)	

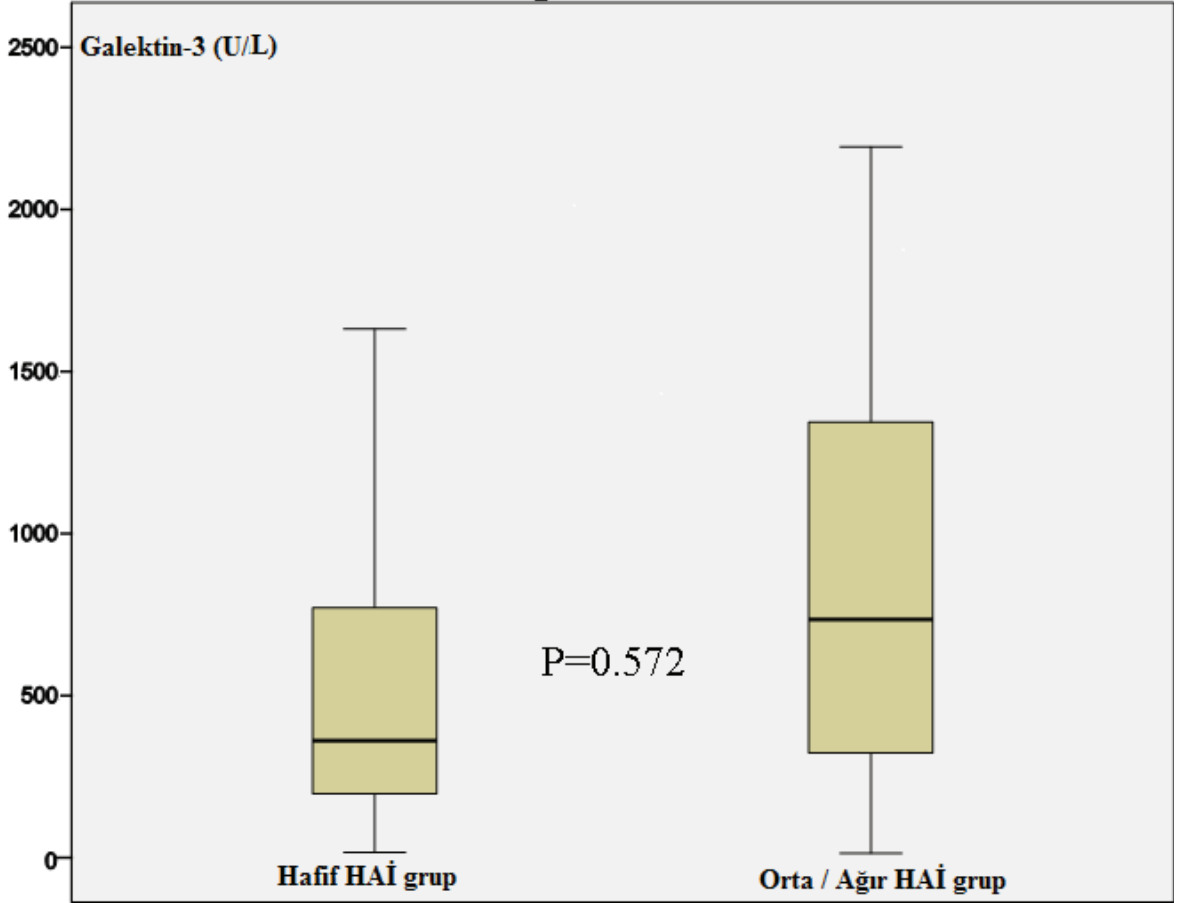


Şekil 7: HBeAg negatif KHB hastalarında fibrozis evresine göre galektin-3 seviyeleri

Hastalar HAİ'ye göre hafif (<6) ve orta-ağır(6-18) olarak iki gruba ayrıldığında iki grup arasında galektin-3 seviyeleri açısından anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 11 ve Şekil 8)

Tablo 11: HBeAg negatif KHB hastalarının HAİ evresi ile galektin-3 seviyelerinin karşılaştırılması

Hasta özellikleri	Hastalığın histopatolojik evresi (HAİ skoru)		P değeri
	Hafif (n=7)	Orta/ağır(n=18)	
Galektin-3 (mean)	522.53±510.13	798.76±701.14	0.572



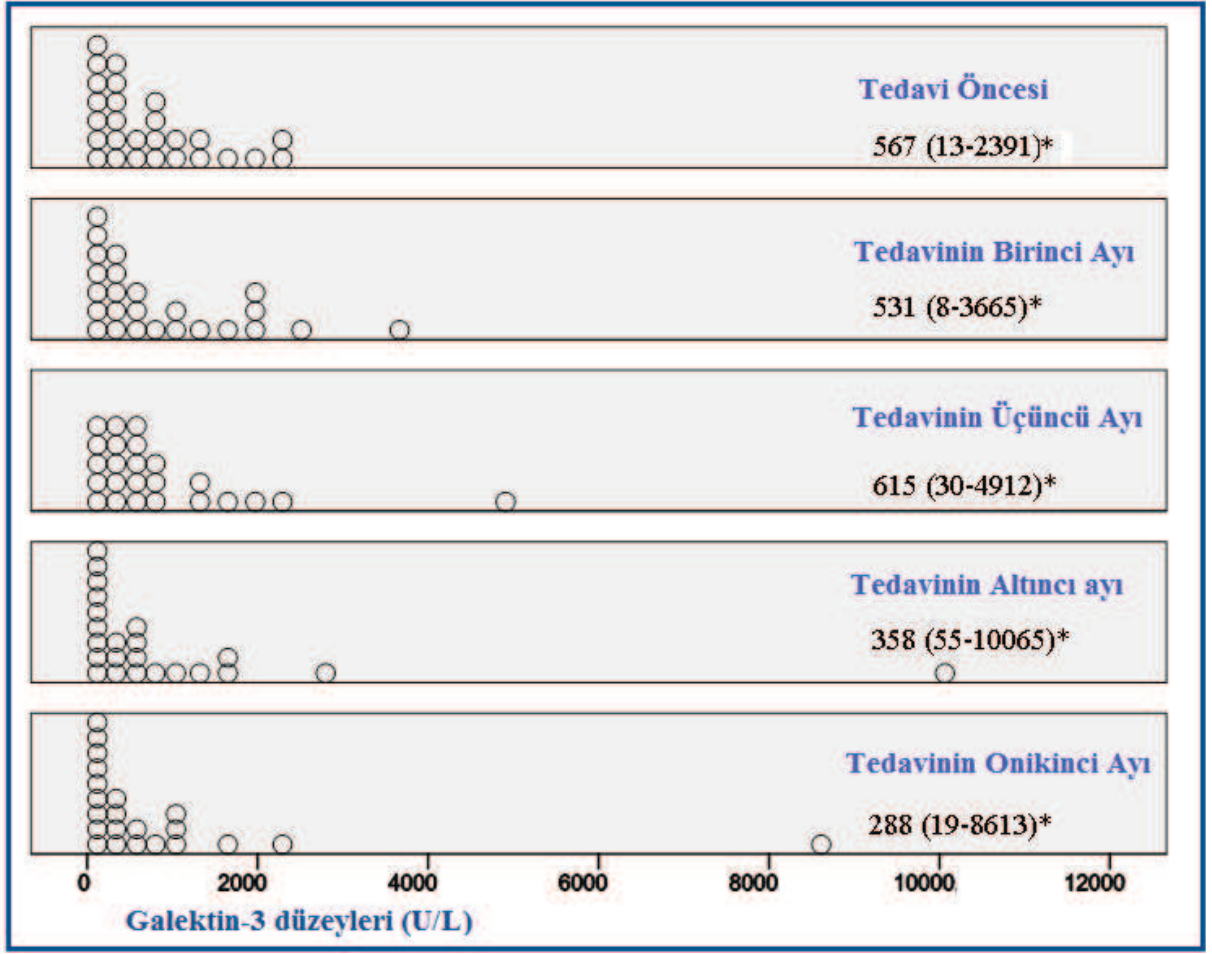
Şekil 8: HBeAg negatif KHB hastalarında HAİ evresine göre galektin-3 seviyeleri

4.6. HBV DNA ile Galektin-3 düzeyleri arasındaki ilişki

HBeAg negatif KHB'li 25 hastanın 11'inde tedavinin 1. ayında ,17'sinde 3 ve 6. aylarda, HBV-DNA negatifliği sağlandı.12 ayın sonunda 25 hastadan toplam 22'sinde HBV-DNA negatifliği sağlanmış oldu. HBV-DNA negatifleşen grupta 0. ve 1. aylardaki galektin-3 düzeyleri incelendiğinde galektin-3 düzeylerinde artış olmasına rağmen istatistiki olarak fark saptanmadı ($p=0,512$ ve $p=0,362$). Benzer şekilde 3. 6. ve 12. aylarda HBV-DNA düzeyi negatifleşen ve negatifleşmeyen hastaların galektin-3 düzeyleri incelendiğinde anlamlı fark olmadığı saptandı. Hastaların takiplerindeki galektin-3 düzeyleri tablo 12 ve Şekil 9'de gösterilmiştir.

Tablo 12: HBeAg negatif KHB grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası takiplerinde galektin-3 düzeyleri

Ay	Median	Galektin-3 min	Galektin-3 max	Galektin-3 mean	Galektin-3 SD
0	567	13.00	2391.00	740.66	695.05
1	531	8.00	3665.00	884.60	937.17
3	615	30.00	4912.00	861.45	1043.58
6	358	55.00	10065.00	1035.39	2078.33
12	288	19.00	8613.00	908.72	1809.20



Şekil 9: HBeAg negatif KHB grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası takiplerinde galektin-3 düzeyleri

(*): Median (Min – Max) Gal-3 düzeyleri U/L

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada HBeAg negatif kronik viral hepatit B (KHB) hastaları ve inaktif HBV taşıyıcılarında galektin-3 düzeylerini karşılaştırdık ve karaciğerdeki histopatolojik hasarın düzeyi ile galektin-3 arasında ilişki olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Yaptığımız analiz sonucunda galektin-3 düzeyleri KHB hastalarında, inaktif HBV taşıyıcılarına göre anlamlı olarak daha yüksek saptandı. İnaktif HBV taşıyıcılarında ise kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu fakat istatistiki anlamlı farkın olmadığı tespit edildi. Antiviral tedavinin 1, 3, 6 ve 12. aylarındaki takiplerinde hastalarda galektin-3 açısından anlamlı fark olmadığı gözlemlendi. Hastalara başlanan antiviral tedavinin tipi ile galektin-3 düzeylerinin ilişkili olmadığı saptandı. Ayrıca galektin-3 düzeyleri ile karaciğer biyopsisindeki HAI skoru ve fibrozis skorunun derecesi arasında da anlamlı istatistiki fark saptanmadı. Ancak ALT, AST, ALP, GGT değerlerinin fibrozis skoru yüksek olan KHB'li hastalarda düşük fibrozis skoru olanlara göre anlamlı yüksek olduğu saptandı.

Bilindiği gibi uzun dönem antiviral tedavi sonunda KHB'de fibrosiste düzelme ve sirozda gerileme olabilmektedir. Yakın zamanda bu konudaki çalışmaların derlendiği bir 'review'da 1 yıllık tedavi sonucunda hastalara tekrar biyopsi yapıldığında fibrozis skorunda anlamlı bir düzelme olmadığı, 5 yıl sürekli antiviral tedavi sonrasında fibrozis skorunda anlamlı oranlarda gerilme saptanmıştır (144). Çalışmamızda 1 yılın sonunda 25 KHB'li hastanın 22'sinde HBV DNA negatifliği sağlandı ve hastaların karaciğer testleri normale geldi. Fakat 1 yılın sonunda galektin-3 düzeylerinde anlamlı düşüş olmadığı saptandı. Galektin-3'ün fibrozisi gösterdiği ve tedavinin birinci yılı sonunda fibroziste zaten anlamlı bir gerileme beklenmediği bilgisi birlikte değerlendirildiğinde bu zaten beklenen bir sonuçtu.

Kronik hepatitlerdeki inflamasyonda galektin-3'ün rolü olabileceği düşünüldüğünde, karaciğer inflamasyonunu ve fibrozisi göstermede galektin-3'ün kullanılması gündeme gelebilir. Literatürde kronik hepatit B ve C hastaları, HCC'li ve karaciğer sirozlu hastaların galektin-3 açısından karşılaştırıldığı birkaç çalışma olsa da, bizim çalışmamızdaki gibi HCC, siroz ve hepatit C hastalığı olmayan kronik hepatit B'li yetişkinlerde galektin-3 düzeylerinin araştırıldığı başka bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca bizim çalışmamızda KHB'li hastalar tedavi başladıktan sonra da galektin-3 düzeyleri açısından takip edilmiş olup tedavinin 1, 3, 6 ve 12. aylarında hastalar değerlendirilmiştir. Hastaların galektin-3 seviyelerinin tedavi ile nasıl değiştiği gözlemlenmiştir. Literatürde viral hepatitlerde galektin-3 seviyelerinin incelendiği bu şekilde bir takip çalışması bulunmamaktadır.

B-galaktozidazlara yüksek afinitesi olan galektin-3, fibrozis gelişmesi, kanserin ilerlemesi ve doku remodellinginde etkilidir (141). Galektin-3 *knock out* farelerde kollajen depolanmasının daha az olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, galektin-3'ün inflamatuvar hastalıklarda tedavi için bir hedef olabileceği düşünülmektedir (43, 142).

Bilindiği gibi IL-10, T helper tip 2 (Th-2) hücreleri tarafından yapılan ve inflamasyonu inhibe eden bir sitokindir (139). Galektin 3'ün, IL-10 yapımını azalttığı gösterilmiştir.

Galektin-3 (Gal-3) ile ilgili, *knock-out* ve *wild type*(WT) fareler ile yapılan deneysel bir çalışmada; Gal-3 *knock-out* farelerde pro-inflamatuvar sitokinlerin daha az, inhibitör sitokinlerin ise daha fazla olduğu gösterilmiştir (140). IL-10, T-helper tip 2 hücreleri tarafından yapılan bir sitokin olup pro-inflamatuvar sitokinlerin yapımını baskılayarak inflamasyonu sonlandırır ve humoral immüneyi düzenler. Galektin-3'ün IL-10 yapımını azaltması sonucu, HBV replikasyonu artıp kronik hepatit b enfeksiyonu başlar ve ayrıca IL-17 ve IFN-gama salınımı artarak fibrojenze yol açar. Galektin-3, IL-10'u azaltmak suretiyle hepatit B enfeksiyonunun kronikleşmesine katkıda bulunabilir (138).

Kronik viral hepatitler ile galektin 3 ilişkisini inceleyen çalışmalar birkaç düşük olgu sayılı çalışma ile sınırlıdır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda karaciğer hastalıklarında galektin-3 seviyelerinin araştırılması daha çok HCC odaklı olmuştur. 1999 yılında Daniel K. HSU ve arkadaşlarının insan karaciğer dokusunda yaptığı bir çalışmada, normal hepatositlerde galektin-3 ekspresyonunun olmadığı, özellikle HCC'li hastalarda ise bu lektinin ekspresyonunun artmış olarak gözlemlendiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada sirotik nodüllerde de galektin-3 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (124). Aynı şekilde 2011 yılında yapılan başka bir çalışmada ise 46 HCC'li hastanın karaciğeri incelenmiş ve HCC'li dokuda galektin-3 ekspresyonu, parakanseröz dokulara göre dramatik olarak yüksek bulunmuştur. Özellikle kötü differansiye olan dokularda daha yüksek galektin-3 ekspresyonu gözlenmiştir (134).

2012 yılında yapılan bir çalışmada wild type (WT) farelerle, galektin-3 *knock out* fareler hepatit yapıcı bir ajanla (concanavalin A) oluşturulan akut hepatit durumunda hepatositlerdeki inflamatuvar cevap açısından karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda galektin-3'ün hepatitte proinflamatuvar rolü olduğu, apoptozu indüklediği ve bu şekilde ciddi karaciğer hasarını tetiklediği gösterilmiştir (135). Yakın zamanlarda yapılan bir hayvan çalışmasında ise non alkolik steatohepatit (NASH) ile galektin-3'ün ilişkili olabileceği gösterilmiştir (136).

Ocak 2015'te yapılan bir çalışmada HCC, karaciğer sirozu ve viral hepatit (B veya C)

olan üç grup hastada galektin-3 seviyeleri incelenmiştir. Bu çalışmaya 19 HCC, 22 siroz , 24 adet de kronik viral hepatit B ve/veya C'li hasta alınmıştır. HCC'li hastalarla sirozlu hastaların galektin-3 seviyeleri arasında istatistiki anlamlı fark bulunamamıştır. Fakat HCC grubu ve karaciğer sirozu grubundaki hastalarda kronik viral hepatit grubuna göre galektin-3 anlamlı yüksek saptanmıştır. Ayrıca HCV'ye bağlı HCC ve/veya sirozu olan hastalarda, HBV'ye bağlı HCC ve/veya sirozu olan hastalara göre galektin-3 seviyelerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır (137).

Mayıs 2015'te yayınlanan bir çalışmada ise kronik hepatit B enfeksiyonu olan çocuklarla inaktif hepatit B taşıyıcısı olan çocuklar galektin-3 seviyeleri açısından karşılaştırılmıştır. Her gruptan yaklaşık 30 kişi çalışmaya alınmış olup çalışmanın sonucunda galektin-3 seviyeleri kronik hepatit B grubunda, inaktif hepatit B taşıyıcısı grup ve kontrol grubuna göre belirgin yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). İnaktif hepatit B taşıyıcısı grup ile kontrol grubu arasında ise galektin-3 seviyeleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Bu çalışmada ayrıca kronik hepatit B enfeksiyonu olanlarda serum galektin-3 seviyeleri ile ALT düzeylerinin korele olduğu saptanmıştır. Fakat bu çalışmada hastaların karaciğer biyopsileri olmadığından galektin-3 seviyeleri ile karaciğer histopatolojisi karşılaştırılamamıştır. Ayrıca bu çalışmada KHB grubundaki hastaların tedavi sonrası takiplerinde galektin-3 seviyeleri bakılmadığından tedavi ile galektin-3'ün değişip değişmediği incelenmemiştir (138) .

Kronik HBV enfeksiyonunun patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır (143). Galektin-3'ün, kronik HBV enfeksiyonunun patogenezi anlamamıza katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda her ne kadar istatistiki anlamlı fark bulunamamışsa da KHB' li hastalarda, inaktif HBV taşıyıcıları ve kontrol grubuna göre galektin-3 düzeylerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak; bu konudaki diğer çalışmalarla birlikte düşünüldüğünde, galektin 3'ün kronik hepatit B hastalarında fibrozisi göstermede erken bir marker olabileceği söylenebilir. Özellikle çok sayıda hayvan deneyinin, galektin-3'ün proinflamatuvar etkileri olduğunu göstermesi, bizim çalışmamızda galektin-3 düzeylerinin KHB'lilerde inaktif HBV taşıyıcıları ve kontrol grubuna göre yüksek bulunması (istatistiki anlamlı olmasa da) ve diğer çalışmalarda da benzer bulguların olması umut vericidir. Bu konuda yüksek hasta sayılı, tedavi sonrası takiplerin de olduğu kontrollü çalışmalar ile gelecekte galektin-3'ün bir tedavi hedefi olması gündeme gelebilecektir.

6. KAYNAKLAR

1. Busch K1, Thimme R., 2015 Feb Natural History Of Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Med_Microbiol_Immunol.* ;204(1):5-10. Doi: 10.1007/S00430-014-0369-7.
2. Maddrey Wc. Hepatitis B: An Important Public Health Issue. *J Med Virol.* 2000;61:362–366.
3. Lok As, Heathcote Ej, Hoofnagle Jh. Management Of Hepatitis B: 2000-Summary Of A Workshop. *Gastroenterology.* 2001;120:1828-1853.
4. Lok Asf, McMahon Bj. Chronic Hepatitis B. *Hepatology.* 2001;34:1225-1241
5. Fattovich G, Brollo L, Giustina G. Natural History And Prognostic Factors For Chronic Hepatitis Type B. *Gut.* 1991;32:294-298.
6. Chu C, Liaw Yf. Natural History Of Chronic Hepatitis B Virus Infection: An Immunopathological Study. *J Gastroenterol Hepatol.* 1997;12:218-222.
7. Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural History Of Chronic Hepatitis B: Special Emphasis On Disease Progression And Prognostic Factors. *Journal Of Hepatology.* 2008;48:335-352.
8. Sharma Sk, Saini N, Chwla Y. Hepatitis B Virus: Inactive Carriers. *Virology Journal* 2005;2:82
9. Hsu Ys, Chien Rn, Yeh Ct, Sheen Is, Chiou Hy, Chu Cm, Et Al. Long-Term Outcome After Spontaneous Hbeag Seroconversion In Patients With Chronic Hepatitis B. *Hepatology.* 2002;35:1522-1527.
10. Huo T, Wu Jc, Hwang Sj, Lai Cr, Lee Pc, Tsay Sh, Et Al. Factors Predictive Of Liver Cirrhosis In Patients With Chronic Hepatitis B: A Multivariate Analysis In A Longitudinal Study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000;12:687-693.
11. Lin Sm, Sheen Is, Chien Rn, Chu Cm, Liaw Yf. Long-Term Beneficial Effect Of Interferon Therapy In Patients With Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Hepatology.* 1999;29:971-975.
12. Liaw Yf, Tai Dı, Chu Cm, Chen Tj. The Development Of Cirrhosis In Patients With Chronic Type B Hepatitis: A Prospective Study. *Hepatology.* 1988;8:493-496.
13. Tamura I, Kurimura O, Koda T, Ichimura H, Katayama S, Kurimura T, Et Al. Risk Of Liver Cirrhosis And Hepatocellular Carcinoma In Subjects With Hepatitis B And Delta Virus Infection: A Study From Kure, Japan. *J Gastroenterol Hepatol.* 1993;8:433-436.

14. Realdi G, Fattovich G, Hadziyannis S, Schalm Sw, Almasio P, Tapias J, Et Al. Survival And Prognostic Factors In 366 Patients With Compensated Cirrhosis Type B: A Multicenter Study. *J Hepatol.* 1994;21:656-666.
15. Iloeje Uh, Yang Hi, Su J, Jen Cl, You Sl, Chen Cj. Predicting Cirrhosis Risk Based On The Level Of Circulating Hepatitis B Viral Load. *Gastroenterology.* 2006;130:678-686.
16. Fattovich G, Pantalena M, Zagni I, Realdi G, Schalm Sw, Christensen E. Effect Of Hepatitis B And C Virus Infections On The Natural History Of Compensated Cirrhosis: A Cohort Study Of 297 Patients. *Am J Gastroenterol.* 2002;97:2886-2895.
17. Fattovich G, Giustina G, Schalm Sw, Hadziyannis S, Sanchez-Tapias J, Almasio P, Et Al. Occurrence Of Hepatocellular Carcinoma And Decompensation In Western European Patients With Cirrhosis Type B. *Hepatology.* 1995;21:77-82.
18. De Jongh Fe, Janssen Hl, De Man Ra, Hop Wc, Schalm Sw, Van Blankenstein M. Survival And Prognostic Indicators In Hepatitis B Surface Antigen-Positive Cirrhosis Of The Liver. *Gastroenterology.* 1992;103:1630-1635
19. De Franchis R, Meucci G, Vecchi M, Et Al. The Natural History Of Asymptomatic Hepatitis B Surface Antigen Carriers. *Ann Intern Med.* 1993;118:191-194.
20. Bellentani S, Dal Molin G, Miglioli L, Et Al. Natural History Of Hbv Infection: A 9 Years Follow-Up Of The Dionysos Cohort. *J Hepatol.* 2002;36:228.
21. Fattovich G, Giustina G, Realdi G, Corrocher R, Schalm Sw. Longterm Outcome Of Hepatitis B E Antigen Positive Patients With Compensated Cirrhosis Treated With Interferon Alfa. *Hepatology.* 1997;26:1338-1342.
22. Yu Mw, Hsu Fc, Sheen Is, Chu Cm, Lin Dy, Chen Cj, Et Al. Prospective Study Of Hepatocellular Carcinoma And Liver Cirrhosis In Asymptomatic Chronic Hepatitis B Virus Carriers. *Am J Epidemiol.* 1997;145:1039-1047
23. Chu Cm, Liaw Yf. Incidence And Risk Factors Of Progression To Cirrhosis In Inactive Carriers Of Hepatitis B Virus. *Am J Gastroenterol.* 2009;104:1693-9.
24. Papatheodoridis Gv, Hadziyannis E, Tsochatzis E, Chrysanthos N, Georgiou A, Et Al. Serum Apoptotic Caspase Activity As A Marker Of Severity In Hbeag-Negative Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Gut.* 2008;57:500-506.
25. Guicciardi Me, Gores Gj. Apoptosis: A Mechanism Of Acute And Chronic Liver Injury. *Gut.* 2005;54:1024-33.
26. Najimi M, Smets F, Sokal E. Hepatocyte Apoptosis. *Methods Mol Biol.* 2009;481:
27. Sato S, Hughes Rc. Regulation Of Secretion And Surface Expression Of Mac-2, A Galactoside-Binding Protein Of Macrophages. *J Biol Chem* 1994; 269: 4424-4430.

28. Sato S, Burdett I, Hughes Rc. Secretion Of The Baby Hamster Kidney 30-Kda Galactose-Binding Lectin From Polarized And Nonpolarized Cells: A Pathway Independent Of The Endoplasmic Reticulum-Golgi Complex. *Exp Cell Res* 1993; 207: 8-18.
29. Almkvist J, Karlsson A. Galectins As Inflammatory Mediators. *Glycoconj J* 2004; 19: 575-81.
30. Barondes Sh, Castronovo V, Cooper Dn, Cummings Rd, Drickamer K, Feizi T, Gitt Ma, Hirabayashi J, Hughes C, Kasai K, Leffler H, Liu Ft, Lotan R, Mercurio Am, Monsigny M, Pillai S, Poirer F, Raz A, Rigby Pwj, Rini Jm, Wang Jl. Galectins: A Family Of Animal Beta-Galactoside-Binding Lectins. *Cell* 1994; 76: 597-8.
31. Cooper Dn. Galectinomics: Finding Themes In Complexity. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1572: 209-231.
32. Yang Ry, Rabinovich Ga, Liu Ft. Galectins: Structure, Function And Therapeutic Potential. *Expert Rev Molmed* 2008; 13: E17-E39.
33. Wijesundera Kk, Juniantito V, Golbar Hm, Fujisawa K, Tanaka M, Ichikawa C, Izawa T, Kuwamura M, Yamate J. Expressions Of Iba1 And Galectin-3 (Gal-3) In Thioacetamide (TAA)-induced Acute Rat Liver Lesions. *Exp. Toxicol Pathol* 2012; 65: 799-808.
34. Sano H, Hsu Dk, Yu L, Apgar Jr, Kuwabara I, Yamanaka T, Hirashima M, Liu Ft. Human Galectin-3 Is A Novel Chemoattractant For Monocytes And Macrophages. *Journal Of Immunology* 2000; 165: 2156-64.
35. Sano H, Hsu Dk, Yu L, Apgar Jr, Kuwabara I, Yamanaka T, Et Al. Human Galectin-3 Is A Novel Chemoattractant For Monocytes And Macrophages. *J Immunol* 2000; 165: 2156-2164.
36. Nangia-Makker P, Honjo Y, Sarvis R, Akahani S, Hogan V, Pienta Kj, Et Al. Galectin-3 Induces Endothelial Cell Morphogenesis And Angiogenesis. *Am. J Pathol* 2000; 156: 899-909.
37. Sato S, Ouellet N, Pelletier I, Simard M, Rancourt A, Bergeron Mg. Role Of Galectin-3 As An Adhesion Molecule For Neutrophil Extravasation During Streptococcal Pneumonia. *J Immunol* 2002; 168: 1813-1822.
38. Karlsson A, Follin P, Leffler H, Dahlgren C. Galectin-3 Activates The Nadphoxidase In Exudated But Not Peripheral Blood Neutrophils. *Blood* 1998; 91: 3430- 3438.

39. Fernández Gc, Ilarregui Jm, Rubel Cj, Toscano Ma, Gómez Sa, Beigier Bompadre M, Et Al. Galectin-3 And Soluble Fibrinogen Act In Concert To Modulate Neutrophil Activation And Survival: Involvement Of Alternative Mapk Pathways. *Glycobiology* 2005; 15: 519-527.35
40. Jeng Kc, Frigeri Lg, Liu Ft. An Endogenous Lectin, Galectin-3 (epsilon Bp/Mac-2), Potentiates Il-1 Production By Human Monocytes. *Immunol Lett* 1994; 42: 113-116.
41. Demetriou M, Granovsky M, Quaggin S, Dennis Jw. Negative Regulation Of Tcell Activation And Autoimmunity By Mgat5 N-Glycosylation. *Nature* 2001; 409: 733-739.
42. Wang L, Fries H, Zhu Z, Frigeri L, Zimmermann A, Korc M, Et Al. Galectin-1 And Galectin-3 In Chronic Pancreatitis. *Lab Invest* 2000; 80: 1233-1241.
43. Henderson Nc, Mackinnon Ac, Farnworth Sl, Poirier F, Russo Fp, Iredale Jp, Et Al. Galectin-3 Regulates Myofibroblast Activation And Hepatic Fibrosis. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103: 5060-5065.
44. Kasper M, Hughes Rc. Immunocytochemical Evidence For A Modulation Of Galectin 3 (Mac-2), A Carbohydrate Binding Protein, In Pulmonary Fibrosis. *J Pathol* 1996; 179: 309-336.
45. Henderson Nc, Mackinnon Ac, Farnworth Sl, Kipari T, Haslett C, Iredale Jp, Et Al. Galectin-3 Expression And Secretion Links Macrophages To The Promotion Of Renal Fibrosis. *Am J Pathol* 2008; 172: 288-298.
46. Ganem D, Prince Am. Hepatitis B Virus Infection – Natural History And Clinical Consequences. *N Engl J Med.* 2004;350:1118-1129.
47. Hoofnagle Jh, Doo E, Liang Tj, Fleischer R, Lok As. Management Of Hepatitis B: Summary Of A Clinical Research Workshop. *Hepatology.* 2007;45:1056-1075.
48. Liaw Yf. Prevention And Surveillance Of Hepatitis B Virus-Related Hepatocellular Carcinoma. *Semin Liver Dis.* 2005;25:40-47.
- 49 Lok As, McMahon Bj. Chronic Hepatitis B. *Hepatology.* 2007;45:507-539.
50. Rizzetto M. Viral Hepatitis In The Third Millennium. *Res Virol.* 1998;149:251-256.
51. Rizzetto M, Ciancio A. Chronic Hbv-Related Liver Disease. *Mol Aspects Med.* 2008;29:72-84.
52. Zarski Jp, Marcellin P, Leroy V, Trepo C, Samuel D, Ganne-Carrie N, Et Al. Characteristics Of Patients With Chronic Hepatitis B In France: Predominant Frequency Of Hbe Antigen Negative Cases. *J Hepatol.* 2006;45:355-360.

53. Chu Cm, Liaw Yf. Hepatitis B Virus-Related Cirrhosis: Natural History And Treatment. *Semin Liver Dis.* 2006;26:142-152.
54. Fattovich G. Natural History And Prognosis Of Hepatitis B. *Semin Liver Dis.* 2003;23: 47-58.
55. Fattovich G, Olivari N, Pasino M, D'onofrio M, Martone E, Donato F. Long-Term Outcome Of Chronic Hepatitis B In Caucasian Patients: Mortality After 25 Years. *Gut.*2008;57:84-90.
56. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular Carcinoma In Cirrhosis: Incidence And Risk Factors. *Gastroenterology.* 2004;127:35-50.
57. Dane Ds, Cameron Ch, Briggs M. Virus-Like Particles In Serum Of Patients With Australia-Antigen-Associated Hepatitis. *Lancet.* 1970;1:695-8.
58. Hunt Et Al. Clinical Relevance Of Hepatitis B Viral Mutations. *Hepatology.* 31:1037-1044.
59. Kato H, Orito E, Gish Rg, Sugauchi F, Suzuki S, Ueda R, Et Al. Characteristics Of Hepatitis B Virus Isolates Of Genotype G And Their Phylogenetic Differences From The Other Six Genotypes (A Through F). *J Virol.* 2002;76:6131-7.
60. Suwannakarn K, Tangkijvanich P, Theamboonlers A, Abe K, Poovorawan Y. A Novel Recombinant Of Hepatitis B Virus Genotypes G And C Isolated From A Thai Patient With Hepatocellular Carcinoma. *J Gen Virol.* 2005;86:3027-30.
61. Leblebicioglu H, Eroglu C. Acute Hepatitis B Virus Infection In Turkey:Epidemiology And Genotype Distribution. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10:537-41.
62. Easl International Consensus Conference On Hepatitis B. 13-14 September, 2002: Geneva, Switzerland. Consensus Statement (short Version). *J Hepatol.* 2003;38:533-40.
63. Lavanchy D. Hepatitis B Virus Epidemiology, Disease Burden, Treatment, And Current And Emerging Prevention And Control Measures. *J Viral Hepat.* 2004;11:97-107.
64. Easl Clinical Practice Guidelines: Management Of Chronic Hepatitis B. *J Hepatol.*2009;50:227-42.
65. Liaw Yf, Lin Dy, Chen Tj, Chu Cm. Natural Course After The Development Of Cirrhosis In Patients With Chronic Type B Hepatitis: A Prospective Study. *Liver.* 1989;9:235- 241.
66. Chu Cm, Liaw Yf. Hepatitis B Virus-Related Cirrhosis: Natural History And Treatment. *Semin Liver Dis.* 2006 May;26(2):142-52
67. Huang Ma, Lok As. Natural History Of Hepatitis B And Outcomes After Liver Transplantation. *Clin Liver Dis.* 2003;7:521-36.

68. Brunetto Mr, Oliveri F, Coco B, Leandro G, Colombatto P, Gorin Jm, Et Al. Outcome Of Anti-Hbe Positive Chronic Hepatitis B In Alpha-Interferon Treated And Untreated Patients: A Long Term Cohort Study. *J Hepatol.* 2002;36:263-70.
69. Hadziyannis Sj, Papatheodoridis Gv. Hepatitis B E Antigen-Negative Chronic Hepatitis B: Natural History And Treatment. *Semin Liver Dis.* 2006;26:130-41.
70. Chu Cm, Hung Sj, Lin J, Tai D1, Liaw Yf. Natural History Of Hepatitis B E Antigen To Antibody Seroconversion In Patients With Normal Serum Aminotransferase Levels. *Am J Med.* 2004;116:829-34
71. Martinot-Peignoux M, Boyer N, Colombat M, Akremi R, Pham Bn, Ollivier S, Et Al. Serum Hepatitis B Virus Dna Levels And Liver Histology In Inactive Hbsag Carriers. *J Hepatol.* 2002;36:543-546.
72. Hadziyannis Sj, Vassilopoulos D. Hepatitis B E Antigen-Negative Chronic Hepatitis B. *Hepatology.* 2001;34:617-624.).
73. Raimondo G, Allain Jp, Brunetto Mr, Buendia Ma, Chen Ds, Colombo M, Et Al. Statements From The Taormina Expert Meeting On Occult Hepatitis B Virus Infection. *J Hepatol.* 2008;49:652-657.
74. Knoll A, Pietrzyk M, Loss M, Goetz Wa, Jilg W. Solid-Organ Transplantation In Hbsag-Negative Patients With Antibodies To Hbv Core Antigen: Low Risk Of Hbv Reactivation. *Transplantation.* 2005;79:1631-1633.
75. Marcellin P, Giostra E, Martinot-Peignoux M, Lorient Ma, Jaegle Ml, Wolf P, Et Al. Redevelopment Of Hepatitis-B Surface Antigen After Renal Transplantation. *Gastroenterology.* 1991;100:1432-1434.
76. Block Tm, Guo H, Guo Jt. Molecular Virology Of Hepatitis B Virus For Clinicians. *Clin Liver Dis.* 2007;11:685-706.
77. *Gastrointestinal And Liver Pathology.* Philadelphia, Donahue Cai, Montgomery Ea, 2005.
78. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Et Al. Histological Grading And Staging Of Chronic Hepatitis. *J Hepatol.* 1995;22:696-699.
79. Rabinovich Ga, Baum Lg, Tinari N, Paganelli R, Natoli C, Liu Ft, Iacobelli S. Galectins And Their Ligands: Amplifiers, Silencers Or Tuners Of The Inflammatory Response. *Trends Immunol* 200; 23: 313–320.
80. Clark Ms, Pang M, Hsu Dk, Liu Ft, Vos S, Gascoyne Rd, Said J, Baum Lg. Galectin-3 Binds To Cd45 On Diffuse Large B-Cell Lymphoma Cells To Regulate Susceptibility To Cell Death. *Blood* 2012; 120: 4635-44.

81. Ahmed H, Du Sj, O'leary N, Vasta Gr. Biochemical And Molecular Characterization Of Galectins From Zebrafish (Danio Rerio): Notochord-Specific Expression A Prototype Galectin During Early Embryogenesis. *Glycobiol* 2004; 14: 219–232.
82. Blaser C, Kaufmann M, Muller C, Zimmermann C, Wells V, Mallucci L Et Al. Beta-Galactoside Binding Protein Secreted By Activated T Cells Inhibits Antigeninduced Proliferation Of T Cells. *Eur J Immunol* 1998; 28: 2311–2319.
83. Joo Hg, Goedegebuure Ps, Sadanaga N, Nagoshi M, Von Bernstorff M, Eberlein Tj, Et Al. Expression And Function Of Galectin-3, A Betagalactosidebinding Protein In Activated T Lymphocytes. *J Leukoc Biol* 2001; 69: 555–564.
84. Zu'N'iga Ei, Rabinovich Ga, Iglesias Mm, Gruppi A. Regulated Expression Of Galectin-1 During B Cell Activation And Implications For T-Cell Apoptosis. *J Leukoc Biol* 2001; 70: 73–79.
85. Acosta-Rodri'Guez Ev, Montes Cl, Motran Cc Zuniga Ei, Liu Ft, Rabinovich Ga, Gruppi A. Galectin-3 Mediates Interleukin-4-Induced Survival And Differentiation Of B Cells. Functional Cross-Talk And Implications During Trypanosoma Cruzi Infection. *J Immunol* 2004; 172: 493–502
86. Rabinovich Ga, Castagna Lf, Landa Ca, Riera Cm, Sotomayor Ce. Regulated Expression Of A 16 Kda Galectin-Like Protein In Activated Rat Macrophages. *J Leukoc Biol* 1996; 59: 363–370.
87. Liu Ft, Hsu Dk, Zuberi Rl, Kuwabara I, Chi Ey, Henderson Wr Jr:Expression And Function Of Galectin-3, A Beta-Galactoside-Binding Lectin, In Human Monocytes And Macrophages. *Am J Pathol* 1995; 147: 1016- 1028.
88. Colnot C, Ripoche Ma, Milon G, Montagutelli X, Crocker Pr, Poirier F. Maintenance Of Granulocyte Numbers During Acute Peritonitis Is Defective In Galectin-3-Null Mutant Mice. *Immunology* 1998; 94: 290–296.
89. Bombardier C, Gladman Dd, Urowitz Mb, Caron D, Chang Ch. Derivation Of The Sledai: A Disease Activity Index For Lupus Patients. The Committee On Prognosis Studies In Sle. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 630-640.
90. Baum Lg, Pang M, Perillo Nl, Wu T, Delegeane A, Uittenbogaart Ch Et Al. Human Thymic Epithelial Cells Express An Endogenous Lectin, Galectin-1, Which Binds To Core 2 Oglycans On Thymocytes And T Lymphoblastoid Cells. *J Exp Med* 1995; 181: 877–887.

91. Villa-Verde Dm, Silva-Monteiro E, Jasiulionis Mg, Farias-De-Oliveira Da, Brentani Rr Et Al. Galectin-3 Modulates Carbohydrate Dependent Thymocyte Interactions With The Thymic Microenvironment. *Eur J Immunol* 2002; 32: 1434–1444.
92. Kuwabara I, Liu Ft. Galectin-3 Promotes Adhesion Of Human Neutrophils To Laminin. *J Immunol* 1996; 156: 3939-3944
93. Inohara H, Akahani S, Koths K, Raz A. Interactions Between Galectin-3 And Mac-2-Binding Protein Mediate Cell To Cell Adhesion. *Cancer Res* 1996; 56:4530-4534.
94. Sato S, Hughes Rc. Binding Specificity Of A Baby Hamster Kidney Lectin For H Type I And Ii Chains, Polylactosamine Glycans, And Appropriately Glycosylated Forms Of Laminin And Fibronectin. *J Biol Chem* 1992; 267: 6983-6990.
95. Dietz Ab, Bulur Pa, Knutson Gj, Matasic R, Vuk-Pavlovic S: Maturation Of Human Monocyte-Derived Dendritic Cells Studied By Microarray Hybridization. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275: 731–738.
96. Ho Mk, Springer Ta: Mac-2, A Novel 32,000 Mr Mouse Macrophage Subpopulation-Specific Antigen Defined By Monoclonal Antibodies. *J Immunol* 1982; 128: 1221–1228.
97. Ohshima S, Kuchen S, Seemayer Ca, Kyburz D, Hirt A, Klinzing S, Et Al. Galectin 3 And Its Binding Protein In Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48: 2788-2795.
98. Lee Yj, Kang Sw, Song Jk, Park Jj, Bae Yd, Lee Ey, Et Al. Serum Galectin-3 And Galectin-3 Binding Protein Levels In Behçet's Disease And Their Association With Disease Activity. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25: 41-45.
99. Poirier F, Robertson Ej. Normal Development Of Mice Carrying A Null Mutation In The Gene Encoding The L14 S-Type Lectin. *Development* 1993; 119: 1229–36.
100. Fowlis D, Colnot C, Ripoche Ma, Poirier F. Galectin-3 Is Expressed In The Notochord, Developing Bones, And Skin Of The Postimplantation Mouse Embryo. *Dev Dyn* 1995; 203: 241–51.
101. Van Den Brûle Fa, Fernandez Pl, Buicu C, Liu Ft, Jackers P, Lambotte R, Castronovo V. Differential Expression Of Galectin-1 And Galectin-3 During First Trimester Human Embryogenesis. *Dev Dyn* 1997; 209: 399–405.
102. Dumic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: An Open-Ended Story. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1760: 616-35.
103. Van Den Brûle F, Califice S, Castronovo V. Expression Of Galectins In Cancer: A Critical Review. *Glycoconj J* 2004; 19: 537–42.

104. Danguy A, Camby I, Kiss R. Galectins And Cancer. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1572: 285–93.
105. Gallegos Ib, Campos Ep, Martinez M, Mayoral Ma, Perez L, Aguilar S, Zenteno E, Pina Ms, Hernandez P. Expression Of Antigen Tf And Galectin-3 In Fibroadenoma. *Bmc Research Notes* 2012; 5: 694.
106. Takenaka Y, Fukumori T, Raz A: Galectin-3 And Metastasis. *Glycoconj J* 2004, 19: 543–8.
107. Broders Ac. The Microscopic Grading Of Cancer. *Surg Clin North Am* 1941; 21: 947–62.
108. Clark Mc, Baum Lg. T Cells Modulate Glycans On Cd43 And Cd45 During Development And Activation, Signal Regulation, And Survival. *Ann NY Acad Sci* 2012; 1253: 58-67.
109. Ahmad N, Gabius Hj, Andre' S, Kaltner H, Sabesan S, Roy R, Liub, Macaluso F, Brewer Cf. Galectin-3 Precipitates As A Pentamer With Synthetic Multivalent Carbohydrates And Forms Heterogeneous Cross-Linked Complexes. *J Biol Chem* 2004; 279: 10841-7.
110. Demotte N, Wieërs G, Van Der Smissen P, Moser M, Schmidt C, Thielemans K, Squifflet JI, Weynand B, Carrasco J, Lurquin C, Courtoy Pj, Van Der Bruggen P. A Galectin-3 Ligand Corrects The Impaired Function Of Human Cd4 And Cd8 Tumor-Infiltrating Lymphocytes And Favors Tumor Rejection In Mice. *Cancer Res* 2010; 70: 7476-88.
111. Demetriou M, Granovsky M, Quaggin S, Dennis Jw. Negative Regulation Of T-Cell Activation And Autoimmunity By Mgat5 N-Glycosylation. *Nature* 2001; 409: 733-9.
112. Bi S, Hong Pw, Lee B, Baum Lg. Galectin-9 Binding To Cell Surface Protein Disulfide Isomerase Regulates The Redox Environment To Enhance T-Cell Migration And Hiv Entry. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 10650-5.
113. Earl La, Bi S, Baum Lg. N-And O-Glycans Modulate Galectin-1 Binding, Cd45 Signaling, And T Cell Death. *J Biol Chem* 2010; 285: 2232-44.
114. Nakahara S, Raz, A. Regulation Of Cancer-Related Gene Expression By Galectin-3 And The Molecular Mechanism Of Its Nuclear Import Pathway. *Cancer Metastasis Rev* 2007; 26: 605-10.
115. Nangia-Makker P, Balan V, Raz A. Regulation Of Tumor Progression By Extracellular Galectin-3. *Cancer Microenviron* 2008; 1: 43–51.

116. Matarrese P, Fusco O, Tinari N, Natoli C, Liu Ft, Semeraro MI, Et Al. Galectin- 3 Overexpression Protects From Apoptosis By Improving Cell Adhesion Properties. *Int J Cancer* 2000; 85: 545–554.
117. Yang Ry, Hsu Dk, Liu Ft. Expression Of Galectin-3 Modulates T-Cell Growth And Apoptosis. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93: 6737-6742.
118. Akahani S, Nangia-Makker P, Inohara H, Kim Hr, Raz A. Galectin-3: A Novel Antiapoptotic Molecule With A Functional Bh1 (NWGR) Domain Of Bcl-2 Family. *Cancer Res* 1997; 57: 5272-5276.
119. Fukumori T, Takenaka Y, Yoshii , Kim Hr, Hogan V, Inohara Ht, Et Al. Cd29 And Cd7 Mediate Galectin-3-Induced Type Ii T-Cell Apoptosis. *Cancer Res* 2003; 63: 8302–8311.
120. Rabinovich G.A. Liu Ft, Hirashima M, Anderson A. An Emerging Role For Galectins In Tuning The Immune Response: Lessons From Experimental Models Of Inflammatory Disease, Autoimmunity And Cancer. *Scand J Immunol* 2007; 6: 143-58.
121. Liu F.T. Regulatory Roles Of Galectins In The Immune Response. *Int Arch Allergy Immunol* 2005; 136:385-400.
122. Cortegano I, Del Pozo V, Cárđaba B, De Andrés B, Gallardo S, Del Amo A, Arrieta I, Jurado A, Palomino P, Liu Ft, Lahoz C. Galectin-3 Downregulates Il-5 Gene Expression On Different Cell Types. *J Immunol* 1998; 161: 385-9.
123. Harjacek M, Diaz-Cano S, De Miguel M, Wolfe H, Maldonado C, Rabinovich Ga. Expression Of Galectins-1 And -3 Correlates With Defective Mononuclear Cell Apoptosis In Patients With Juvenile Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 2001; 28:1914–1922.
124. Hsu Dk, Dowling Ca, Jeng Kc, Chen Jt, Yang Ry, Liu Ft. Galectin-3 Expression Is Induced In Cirrhotic Liver And Hepatocellular Carcinoma. *Int J Cancer* 1999; 81: 519–526.
125. Friedman Sl. Molecular Regulation Of Hepatic Fibrosis, An Integrated Cellular Response To Tissue Injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247–2250.
126. Bataller R. & Brenner Da. Liver Fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218.
127. Henderson Nc, Sethi T. The Regulation Of Inflammation By Galectin-3. *Immunol Rev* 2009; 230: 160-71.
128. De Boer Ra, Voors Aa, Muntendam P, Van Gilst Wh, Van Veldhuisen Dj. Galectin-3: A Novel Mediator Of Heart Failure Development And Progression. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 811-7.

129. McMahon Bj, Holck P, Bulkow L, Snowball M. Serologic And Clinical Outcomes Of 1536 Alaska Natives Chronically Infected With Hepatitis B Virus. *Ann Intern Med* 2001;135:759-768
130. Fattovich G, Brollo L, Giustina G, Et Al. Natural History And Prognostic Factors For Chronic Hepatitis Type B. *Gut*. 1991;32:294-298.
131. Fattovich G, Giustina G, Schalm Sw, Et Al. Occurrence Of Hepatocellular Carcinoma And Decompensation In Western European Patients With Cirrhosis Type B: The Eurohep Study Group On Hepatitis B Virus And Cirrhosis. *Hepatology*. 1995;21:77-82.
132. Moutsatsos Ik, Wade M, Schindler M, Wang JI: Endogenous Lectins From Cultured Cells: Nuclear Localization Of Carbohydrate-Binding Protein 35 In Proliferating 3t3 Fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84: 6452–6456.
133. European Association For The Study Of The Liver. Easl Clinical Practice Guidelines: Management Of Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Journal Of Hepatology* 2012 Vol. 57 J 167–185
134. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi. 2011 Jul;19(7):527-31. *Cma.J.* İssn.1007-3418.2011.07.014. Serum And Tissue Expressions Of Galectin-3 In Hepatocellular Carcinoma And The Clinical Significances, Fang Qq(1), Ni Rz, Xiao Mb, Jiang F, Lu Ch.
135. Galectin-3 Deficiency Prevents Concanavalin A–Induced Hepatitis In Mice, Vladislav Volarevic, Marija Milovanovic, Biljana Ljubic, Nada Pejnovic, Nebojsa Arsenijevic, Ulf Nilsson, Hakon Leffler, And Miodrag L. Lukic *Hepatology*, Vol. 55, No. 6, 2012 1954-1964
136. Endogenous Annexin A1 Is A Novel Protective Determinant In Nonalcoholic Steatohepatitis In Mice, Irene Locatelli, Salvatore Sutti, Aastha Jindal, Marco Vacchiano, Cristina Bozzola, Chris Reutelingsperger, Dennis Kusters, Stefania Bena, Maurizio Parola, Claudia Paternostro, Elisabetta Bugianesi, Simon Mcarthur, Emanuele Albano, And Mauro Perretti³. *Hepatology* August 2014 531-544. Doi 10.1002/Hep.27141.
137. Prognostic Significance Of Serum Galectin-3 Levels In Patients With Hepatocellular Cancer And Chronic Viral Hepatitis Mehmet Ulu, Ahmet Alacacioglu, Esmay Yuksel, Baris O. Pamukk, Giray Bozkaya, Alpay Ari, Arif Yuksel, Gulden Sop, Inci Alacacioglu. *Saudi J Gastroenterol* 2015;21:47-50
138. Serum Galectin-3 Levels In Children With Chronic Hepatitis B Infection And Inactive Hepatitis B Carriers. Ünal Uluca, Velat Şen, Aydın Ece, İlhan Tan, Duran Karabel, Fesih Aktar, Müsemma Karabel, Hasan Balık, Ali Güneş. *Med Sci Monit*, 2015; 21: 1376-1380. Doi: 10.12659/Msm.894035

139. Li X, Liu X, Tian L, Chen Y: Cytokine-Mediated Immunopathogenesis Of Hepatitis B Virus Infections. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2014
140. Jiang Hr, Al Rasebi Z, Mensah-Brown E Et Al: Galectin-3 Deficiency Reduces The Severity Of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Immunol*, 2009; 182: 1167–73
141. De Boer Ra, Van Veldhuisen Dj, Gansevoort Rt Et Al: The Fibrosis Marker Galectin-3 And Outcome In The General Population. *J Intern Med*, 2012; 272: 55–64
142. Liu Ft, Rabinovich Ga: Galectins: Regulators Of Acute And Chronic Inflammation. *Ann Ny Acad Sci*, 2010; 1183: 158–82
143. Shi Yy, Dai Mj, Wu Gp Et Al: Levels Of Interleukin-35 And Its Relationship With Regulatory T-Cells In Chronic Hepatitis B Patients. *Viral Immunol*, 2015; 28: 93–100
144. Vincenza Calvaruso and Antonio Crax. 2014 Feb. Regression of fibrosis after HBV antiviral therapy. Is cirrhosis reversible? *Liver International*, 34 Suppl 1: 85-90
145. Andrew R. Cullinane, Caroline Yeager, Heidi Dorward, Carmelo Carmona-Rivera, Hai Ping Wu, Joel Moss, Kevin J. O'Brien, Steven D. Nathan, Keith C. Meyer, Ivan O. Rosas, Amanda Helip-Wooley, Marjan Huizing, William A. Gahl, and Bernadette R. Gochuico. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014 Mar; 50(3): 605–613.