



T.C.

BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA
TİYOL-DİSÜLFİT HOMEOSTAZI VE İSKEMİ MODİFİYE
ALBÜMİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Nuray YILDIR

Uzmanlık Tezi

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Meliha MERİÇ KOÇ

İSTANBUL 2018

T.C.
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA
TİYOL-DİSÜLFİT HOMEOSTAZI VE İSKEMİ MODİFİYE
ALBÜMİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Nuray YILDIR

Uzmanlık Tezi

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Meliha MERİÇ KOÇ

İSTANBUL 2018

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, her konuda ilgi ve desteğini esirgemeyen, kendileriyle çalıŐmaktan büyük onur duyduğum saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Turan ASLAN ve Prof. Dr. Meliha MERİÇ KOÇ'a,

Tezimi oluŐturmamda büyük katkısı olan Prof. Dr. Özcan EREL'e, tez çalıŐmamın istatistik aşamasında öneri ve yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Sibel BOLUKU'ya,

Birlikte çalıŐmaktan büyük mutluluk ve onur duyduğum Doç. Dr. Yasemin AKKOYUNLU, Doç. Dr. İsmail Necati HAKYEMEZ, Dr. Öğr. Üyesi Bülent DURDU, Uzm. Dr. Gülay OKAY ve her biri benim için çok değerli asistan arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan ve desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Giriş-Amaç: Dünyada milyonlarca kişiyi enfekte ettiği bilinen kronik hepatit B enfeksiyonunun patolojisinde, reaktif oksijen türlerinin yol açtığı oksidatif stresin, ilerleyici karaciğer hasarı ve malignite gelişimine katkı sağladığı bilinmektedir. Tiyoller, sülfhidril grubu (-SH) içeren bir organik bileşiklerdir. Oksidatif strese karşı koruyucu olduğu bilinen tiyol bağları reaktif oksijen türleri ile karşılaştığında disülfid (-SS-) bağlarının oluşumuna neden olur, bu oluşum geri dönüşümlüdür ve ölçülebilir. Tiyol-disülfid homeostazının çeşitli kronik hastalıklarda değiştiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. İskemi modifiye albümin (İMA) ise myokard iskemisi sonucu oksidatif stresin neden olduğu ağır metal bağlama özelliğini kaybeden serum albümin formudur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda İMA düzeylerinin diğer kronik hastalıklarda da arttığı gösterilmiştir. Literatür taramalarımızda kronik hepatit B hastalarında tiyol-disülfid homeostazı ve İMA düzeylerinin birlikte değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, kronik hepatit B hastalarında tiyol-disülfid homeostazı ve İMA serum düzeylerinin normal popülasyona göre değişiminin incelenmesi, takip, tedavi kararı ve prognozu öngörmedeki yararları açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal-Metot: Çalışmaya 79 kronik hepatit B hastası ve 51 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 130 hasta alınmıştır. Hastaların demografik verileri ve laboratuvar sonuçları kaydedilmiştir. Hasta ve sağlıklı kontrol grubundan alınan serum örneklerinde, Erel ve Neşelioğlu tarafından tarif edilmiş otomatize spektrofotometrik metotla total tiyol, nativ tiyol, disülfid miktarı ölçülmüş, disülfid/nativ tiyol, disülfid/total tiyol, nativ tiyol/total tiyol oranları da hesaplama yöntemi ile elde edilmiştir. İMA düzeyi albümin kobalt bağlama testi ile ölçülmüştür.

Bulgular: Çalışmaya alınan hastalarda native tiyol ve total tiyol düzeyleri hasta grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur (sırasıyla; $p=0,0001$, $p=0,002$). Hasta ve kontrol grubu arasında disülfid değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,6$). Ayrıca hesaplama ile elde edilen disülfid/nativ tiyol, disülfid/total tiyol, nativ tiyol/total tiyol oranlarında gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Hasta grubunda İMA düzeyi ortalaması kontrol grubuna göre yüksek saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,0001$). İMA ile total tiyol/nativ tiyol arasında negatif yönde kuvvetli korelasyon olduğu görülmüştür. Pearson korelasyon analizlerinde; hasta grubunda yaş,

cinsiyet, HBV DNA, ALT, biyopsi nekroz ve fibroz skorları ile native tiyol, total tiyol, disülfid, İMA değerleri arasında kuvvetli korelasyon saptanmamıştır.

Sonuç: Hasta grubunda total tiyol, nativ tiyol ve İMA değerleri kontrol grubuna göre belirgin azalmış olarak saptanmıştır. Disülfid değerleri için aynı yorum yapılamamıştır. Viral yük, karaciğerin nekroinflamasyon ve fibrozis derecesi ile bu değerler arasında kuvvetli ilişki saptanmamıştır. Sonuç olarak bu çalışma KHB'li hastalarda antioksidan kapasitenin azaldığını ancak hastalığın şiddetini belirlemede bu belirteçlerin yetersiz olduğunu göstermiştir. Bu konuda daha geniş hasta grupları ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Tiyol-disülfid homeostazi, İskemi modifiye albümin, Kronik hepatit B



Evaluation of Thiol-Disulphide Homeostasis and Ischemia Modified Albumin Levels In Chronic Hepatitis B Patients

Introduction: It is known that oxidative stress caused by reactive oxygen species contributes to progressive liver damage and malignancy in the pathogenesis of chronic hepatitis B infection that affects millions of people in the world. Thiols are organic compounds containing a sulfhydryl group (-SH). Thiol bonds, protective against oxidative stress, produce disulfide bonds when react with reactive oxygen species, which can be reversible and measured. Recent studies have shown that thiol-disulfide homeostasis can change in various chronic diseases. Ischemia modified albumin (IMA) is a form of serum albumin reduced binding affinity to heavy metal ions due to oxidative stress after myocardial ischemia. Recent studies have shown that levels of IMA increased in other chronic diseases. In our literature review we did not find a cohort study of thiol-disulfide homeostasis and IMA levels in chronic hepatitis B patients. In this study we aimed to investigate the changes of thiol-disulfide homeostasis and serum IMA levels in patients with chronic hepatitis B infection compared to the normal population and assess the benefits in terms of follow-up the patients, medical treatment decision and prognosis.

Material-Methods: 79 patients diagnosed as chronic HBV infection and 51 healthy controls were included in the study. Demographic data and laboratory results of the patients were recorded. Total thiol, native thiol and disulfide levels were measured by the automated spectrophotometric method described by Erel and Neşelioğlu in serum samples obtained from the patient and healthy control group. SS/SH, SS+SH/SH and SH/SS+SH ratios were calculated from these measured parameters. IMA levels were measured by albumin cobalt binding test.

Results: Native thiol and total thiol levels were significantly lower in the patient group (respectively; $p=0,0001$, $p=0,002$). There was no statistical significance detected between patient and control groups in terms of disulphide levels ($p=0,6$). In addition, no statistical significance was detected between the groups in disulfide/native thiol, disulfide/total thiol, native thiol/total thiol ratio. IMA levels were significantly higher in the patient group compared to control group ($p=0,0001$). Negative significant correlation was detected between IMA and total thiol/native thiol. There was no significant correlation between age, gender,

HBV DNA, ALT, biopsy necrosis, fibrosis scores and native thiol, total thiol, disulfide, IMA levels in the patient group in pearson correlation analysis.

Conclusions: Total thiols, native thiols and IMA levels were significantly lower in the patient group compared to the control group while no significance was detected in terms of disulphide levels. There was no correlation between viral load, liver necroinflammation and fibrosis grade and these values. Results from this study showed that antioxidant capacity decreases in patients with chronic hepatitis B but these markers are insufficient to determine the degrees of disease severity. Further studies with larger samples need to be carried out.

Key words: Thiol-disulfide homeostasis, Ischemia modified albumin, Chronic hepatitis B



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
İNGİLİZCE ÖZET.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	VI
Kısaltmalar	VIII
Tablolar listesi	X
Şekiller listesi.....	XI
1. Giriş ve amaç	1
2. Genel bilgiler	3
2.1. Hepatit B Virüsü	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.1.3. Bulaşma Yolları	4
2.2. Hepatit B Virüsünün Mikrobiyolojik Özellikleri.....	6
2.2.1. Virüsün Yapısı	6
2.2.2. Virüs Genomu	7
2.2.3. Virüsün Replikasyonu	7

2.2.4. Hepatit B Virüs Subtip ve Genotipleri	8
2.2.5. Mutant Virüsler	8
2.3. Patogenez	9
2.4. Hepatit B Virüs Enfeksiyonunda Klinik	10
2.4.1. Akut Hepatit B Virüs Enfeksiyonu	10
2.4.2. Kronik Hepatit B Virüs Enfeksiyonu.....	11
2.5. Tanı	14
2.5.1. Serolojik ve Moleküler Yöntemler	14
2.5.2. Histopatolojik Tanı	16
2.6. Tiyo-Disülfid Homeostazı	19
2.7. İskemi Modifiye Albümin.....	20
3. Gereç Ve Yöntemler	21
4. Bulgular	24
5. Tartışma.....	31
6. Sonuç	37
7. Kaynaklar	38

KISALTMALAR

AASLD	: Amerika Karaciğer Hastalıkları Derneği
AFP	: α -feto protein
ALP	: Alkalen fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
AOPP	: İleri protein oksidasyon ürünleri
APASL	: Asya Pasifik Karaciğer Araştırma Derneği
AST	: Aspartat aminotranferaz
CccDNA	: Kovalent bağlı halkasal DNA
DM	: Diabetes mellitus
DNA	: Deoksirübonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EASL	: Avrupa Karaciğer Araştırma Derneği
GGT	: γ -glutamil transferaz
HAI	: Histolojik Aktivite
HBcAg	: Hepatit B çekirdek antijeni
HBeAg	: Hepatit B enfektivite antijeni
HBsAg	: Hepatit B yüzey antijeni
HBV	: Hepatit B virüsü
HCV	: Hepatit C virüsü
HDV	: Hepatit D virüsü
HSK	: Hepatoselüler karsinom
IFN	: İnterferon
IQR	: Çeyrek değerler genişliği
IU/ml	: İnternational ünite/mililitre
İMA	: İskemi Modifiye Albümin
KAH	: Koroner arter hastalığı
KBH	: Kronik böbrek hastalığı
KHB	: Kronik hepatit B
MR	: Manyetik rezonans
NA	: Nükleot(z)id Analogları
NÜS	: Normalin üst sınırı

OSI	: Oksidatif stabilite İndeksi
PEG IFN	: Pegile interferon
PZ	: Protrombin zamanı
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
TAS	: Total Antioksidan Durum
TOS	: Total Oksidan Durum
TKAD	: Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği
VHSD	: Viral Hepatitle Savaşım Derneği



TABLolar LİSTESİ

- Tablo.1 Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri ve hastaların değerlendirilmesi
- Tablo.2 HBV enfeksiyonunun farklı dönemlerinde serolojik ve moleküler belirteçler
- Tablo.3 Perkütan karaciğer iğne biyopsisi mutlak kontrendikasyonları
- Tablo.4 Perkütan karaciğer iğne biyopsisi göreceli kontrendikasyonları
- Tablo.5 Modifiye histolojik aktivite indeksi
- Tablo.6 Fibroz evreleme
- Tablo.7 Grupların demografik özellikler açısından tek değişkenli analizleri
- Tablo.8 Vaka grubunun özellikleri
- Tablo.9 Grupların oksidatif stres parametreleri açısından tek değişkenli analizleri
- Tablo.10 Bağımsız risk faktörleri ile bağımlı değişkenin backward metodu ile oluşturulan tahmin modeli

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil.1 Dünyada HBV enfeksiyonu prevalansı

Şekil.2 HBV partikül yapıları

Şekil.3 Akut HBV enfeksiyonunun doğal seyri

Şekil.4 Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri

Şekil.5 HBV enfeksiyonunda seroloji

Şekil.6 Vaka ve kontrol grubunun nativ tiyol dengesi

Şekil.7 Vaka ve kontrol grubunun total tiyol dengesi

Şekil.8 Vaka ve kontrol grubunun İMA dengesi

Şekil.9 İMA ile nativ tiyol/total tiyol korelasyonu

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya üzerinde yaklaşık 2 milyar insanda hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu olduğu ve 240 milyonun üzerinde kronik karaciğer hastalığına sebep olduğu bilinmektedir. Hepatit B siroz ve hepatoselüler karsinom ile birlikte yılda bir milyondan fazla insanın ölümüne neden olmaktadır [1, 2].

HBV enfeksiyonu akut dönemde, asemptomatikten fulminan seyre kadar değişken kliniğe sahiptir. Kronik enfeksiyonda inaktif taşıyıcı durumundan siroz, hepatoselüler karsinom gibi son dönem hastalık tablosuna kadar ilerleyebilir. Hastalığın klinik seyri bulaş zamanı, HBV replikasyon hızı ve konağın immün bağışıklık durumuna göre değişmektedir. Geliştirilen antiviral ilaçlar sayesinde HBV'nin yaşam döngüsü konusunda yeterince bilgi sahibi olmamıza rağmen henüz kesin bir tedavisi bulunamamıştır [1].

Hepatit B yüzey anjiten (HbsAg) pozitifliği saptandıktan sonra konak faktörü ve virüs özellikleriyle birlikte HBV DNA düzeyi de hastalığın ilerlemesinde önem taşımaktadır. Viral replikasyonu baskılayarak fibrozisi azaltmak ve hastalık progresyonunu engellemek antiviral tedavinin esas hedefidir. Tedaviye başlama kararında serum karaciğer fonksiyon testleri, HBV DNA düzeyi ve karaciğer histopatolojisi değerlendirilmektedir. Hepatit B enfektivite antijeni (HBeAg) negatif, alanin aminotransferaz (ALT) normalin 1-2 katı kadar yüksek, HBV DNA 2000 IU/ml ve üzerinde ise karaciğerin nekroz-fibroz durumunu belirlemek ve uygun tedaviyi planlamak için karaciğer biyopsisi yapılır [3].

Karaciğer biyopsisi fibrozisi belirlemede altın standarttır. Ancak invaziv bir işlem olması, örnekleme hatası ve değerlendirmeler arasında farklılıklar gibi sorunlarla karşılaşılabilir. Fibrozisi değerlendirmek amacıyla non-invaziv yöntemler geliştirilmiştir. Karaciğer sertliğini ölçen görüntüleme teknikleri (transient elastografi, manyetik rezonans (MR) elastografi) ve biyopsiye alternatif olarak ALT, aspartat aminotransferaz (AST), trombosit sayısı-hacmi, protrombin zamanı, γ -glutamil transferaz (GGT), α 2-makroglobulin, apolipoprotein düzeyleri ve bunların formülasyonu ile oluşan dolaylı biyokimyasal belirteçler mevcuttur. Ancak bu noninvaziv yöntemler biyopsinin yerini almamış olup, sadece tanı koyma aşamasında tamamlayıcı testler olarak kullanılabilir [4].

Viral hepatit patogenezi ile ilgili son yapılan çalışmalarda DNA ve RNA hasarına neden olan oksidatif stresin, ilerleyici karaciğer harabiyeti ve hepatoselüler karsinom gelişiminde önemli bir etkinliğe sahip olduğu ileri sürülmektedir [5, 6].

Tiyol grubu içeren bileşikler indirgeyici özellikleri ile oksidatif strese karşı savunmada önemli görevi olan organik maddelerdir. Organizmada oluşan reaktif oksijen türleri gibi oksidatif ürünler fazla elektronlarını tiyol içeren bileşiklere aktararak indirgenirken, tiyol gruplarının okside olmasına neden olur. Tiyol gruplarının oksidasyonu sonucu disülfid bağları oluşmaktadır. Disülfid bağlarının oluşumu geri dönüşümlü bir reaksiyondur. Bu bağlar tekrar tiyol gruplarına indirgenebilir. Böylelikle dinamik tiyol-disülfid homeostazı sağlanmış olur. Dinamik tiyol-disülfid homeostazı antioksidan savunma, detoksifikasyon, apoptozis, enzimatik aktivitenin düzenlenmesi ve hücrel sinyal iletiminde kritik rol oynamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu homeostazın bozulmasının kronik böbrek hastalığı (KBH), diyabet, kalp damar hastalıkları, karaciğer hastalıkları, kanser, kronik inflamatuvar eklem hastalıkları ve çeşitli nörodejeneratif hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir [7].

İskemi sırasında ortamda oluşan serbest oksijen radikalleri serum albümin yapısında değişikliklere neden olur ve albüminin ağır metal bağlama kapasitesi azalır. Bu albümine iskemi modifiye albümin (İMA) adı verilmiştir. Yapılan çalışmalarda, İMA'nın miyokardial iskeminin başlangıç dakikaları içinde yükseldiği ve özellikle acil servislerde miyokardial iskemi tanısında kullanılabileceği gösterilmiştir. Son yapılan çalışmalarda İMA'nın travmalarda, son dönem böbrek hastalarında, çeşitli enfeksiyon durumlarında, karaciğer yetmezliğinde, serebrovasküler hastalıklarda ve malignitelerde de yükseldiği kanıtlanmıştır [8-16].

Bu çalışmada KHB hastalarında tiyol-disülfid homeostazı ve İMA düzeylerinin belirlenmesi ve klinik pratikte KHB hastalarının takibinde bu testlerin faydalı olup olmayacağını değerlendirilmesi planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

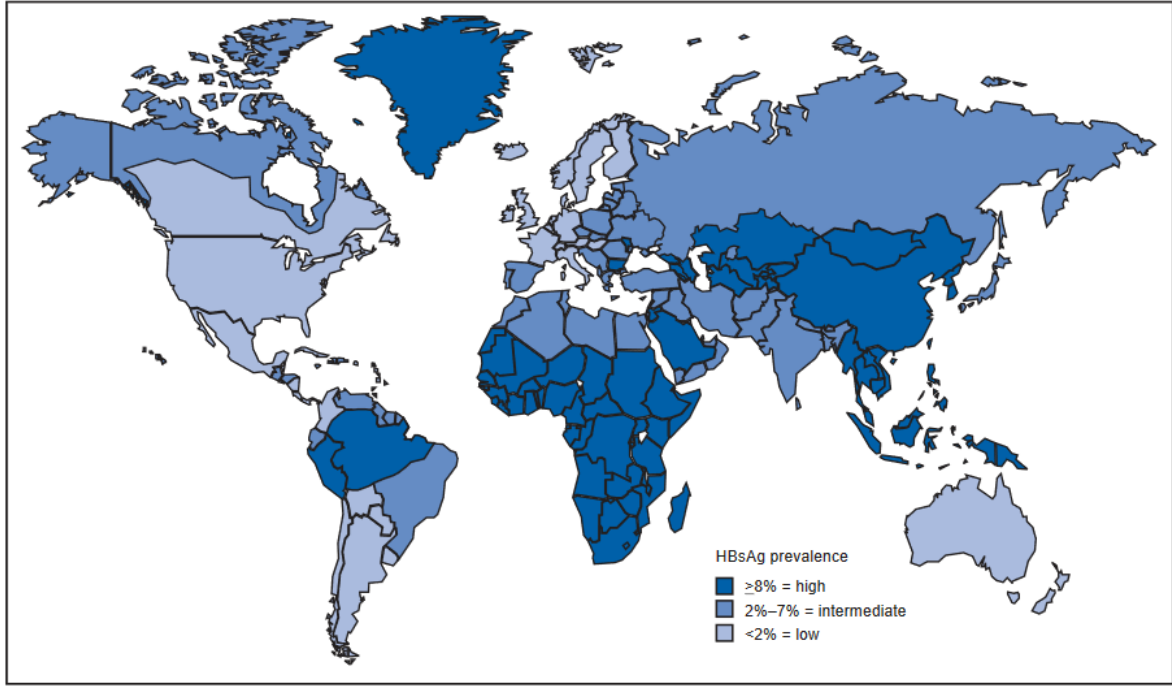
2.1 Hepatit B Virüsü

2.1.1 Tarihçe

Viral hepatit ilk kez Hipokrat tarafından M.Ö. 5. yüzyılda tanımlanmış ve o dönem ciddi kayıplara yol açmıştır. Parenteral yolla bulaşan hepatit etkeni ilk kez 1883 yılında Almanya'da Lurman ve arkadaşları tarafından tersane işçilerinde insan serumu ile üretilen suçiçeği aşılarının kullanımı sonrasında sarılık ortaya çıkmasıyla rapor edilmiştir [17]. 1947 yılında MacCallum 2 tür hepatit etkeni tanımlamıştır. Hepatit A'nın genellikle kontamine yiyecek ve içeceklerle, hepatit B'nin ise vücut sıvılarıyla temas sonrası bulaştığını söylemiştir [18]. HBsAg, 1967 yılında Blumberg ve arkadaşları tarafından ilk kez Avustralyalı bir hastada tespit edilmiş, "Avustralya antijeni" olarak isimlendirilip, konağa ait antijen olarak düşünülmüştür. 1970'de Hepatit B viral parçacıkları elektron mikroskopunda gösterilmiş ve "Dane partikülleri" tanımlanmıştır [19]. HBsAg'nin keşfi ile hepatit B araştırmaları hızlanmış, serolojik testler ve moleküler biyolojik yöntemlerin gelişmesiyle bugünkü durumuna ulaşmıştır. HBsAg'nin keşfinden sonra yapılan çalışmalar sonucunda, HBV'nin tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olduğu ortaya çıkmıştır [4].

2.1.2 Epidemiyoloji

Hepatit B'nin dünya üzerindeki yayılımı coğrafi bölgelere göre değişiklikler göstermektedir [20]. HBsAg pozitifliği >%8 olan ülkeler yüksek, %2-8 arası olan ülkeler orta ve %2 ve altında olan ülkeler düşük endemik bölgeler olarak değerlendirilir [21] (Şekil.1). Türkiye orta endemik bölgede yer almaktadır. Seroprevalans açısından ülke içinde farklı coğrafik bölgelerde çok büyük farklılıklar göstermektedir. Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgesinde %8-14,3 oranında iken, batı bölgelerinde HBV taşıyıcılığı %6 oranında bildirilmiştir [22]. Türkiye'de genelinde yapılan epidemiyolojik bir çalışmada HBsAg prevalansı %4,57 saptanmış, KHB enfeksiyonu olan hasta sayısı yaklaşık olarak 3,3 milyon olarak hesaplanmıştır [23].



Şekil.1 Dünyada HBV enfeksiyonu prevalansı [24]

2.1.3 Bulaşma Yolları

HBV enfekte vücut sıvıları ile temas sonucu sadece insandan insana bulaşır. Bulaş yolları enfeksiyonun o bölgedeki prevalansına göre değişmektedir. Yüksek prevalanslı bölgelerde perinatal bulaş önemlidir. Orta endemik bölgelerde genellikle erken çocuklukta ve horizontal yolla bulaşır. Düşük endemisite görülen bölgelerde ise intravenöz ilaç kullanımı ve korunmasız cinsel ilişki daha yaygındır [25].

Parenteral bulaş

En önemli bulaş yollarından biri olmakla birlikte genellikle virüsle enfekte kan veya vücut sıvıları ile temas yoluyla olmaktadır. Kan ve kan ürünleri transfüzyonu, intravenöz ilaç kullanımı, hemodiyaliz, diş fırçası, traş bıçağı gibi aletlerin ortak kullanılması bu tip bulaş için önemli örneklerdir [26]. Kan donörlerinde HBsAg taranması parenteral bulaşın azalmasını sağlamıştır. Enfekte iğne ucu batması durumlarında HBeAg pozitif materyalde bulaş riski %30 civarında iken, HBeAg negatiflerde %6'dan azdır [27, 28]. Semen, vaginal sıvı, tükürük, ter, gözyaşı, sinoviyal sıvılar, beyin omurilik sıvısı, anne sütü, nazofarinks, sekresyonu ve kordon kanında da virüs saptanmıştır.

Vertikal bulaş

HBV'nin yüksek endemik olduğu bölgelerde en sık görülen bulaş şeklidir. Transplental, perinatal ve postnatal olarak bulaşabilir. Vertikal geçiş en sık enfekte kan ve vücut sıvıları ile temas nedeniyle doğum sırasında gelişir. Uterus içinde HBV geçişi nadirdir (%5-10). HBsAg pozitif anneden perinatal dönemde bebeğe geçiş riski %15-40 oranındadır. HBeAg pozitif anneden bulaş oranı %70-90 iken, HBeAg negatif anneden doğan bebeklerde bu oran %5-20'dir [29]. HBeAg pozitif anneden bebeğe bulaş durumunda bebekte kronikleşme riski %90'dır. Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tüm gebelere HBsAg taraması yapılmasını ve pozitiflik saptanan annelerin bebeklerine doğumdan hemen sonra HBIG ile birlikte HBV aşısının uygulanmasını önermektedir. Anne sütünde HBsAg saptanmış olduğundan anne sütü teorik anlamda bulaştırıcı olabilir ancak anne sütünün kesilmesi zorunlu değildir. Yapılan çalışmalarda immünprofilaksi ve aşılama ile korunan bebeklerde emzirme ile bulaş saptanmamıştır. Meme ucunda çatlak olan annelerde emzirmeden kaçınılması önerilmektedir [30].

Horizontal bulaş

Ülkemizde en yaygın bulaşma şeklidir. Özellikle aynı ev içinde yaşayanlarda horizontal bulaş riski mevcuttur. Sosyoekonomik düzeyin düşük olması, ortamdaki hijyen şartlarının kötü olması, toplu halde yaşamak horizontal bulaşı arttırmaktadır. Bunun sebebi havlu, jilet, makas gibi kişisel malzemelerinin yeterli şekilde dezenfekte edilmeden kullanılması olarak düşünülmektedir. HBV çevre yüzeylerinde 7 gün ve üzerinde canlı kalabilmektedir. Sonuç olarak HBV enfeksiyonu olan kişiler, cinsel temas haricinde de ailenin diğer bireylerine HBV enfeksiyonunu bulaştırabilir [31].

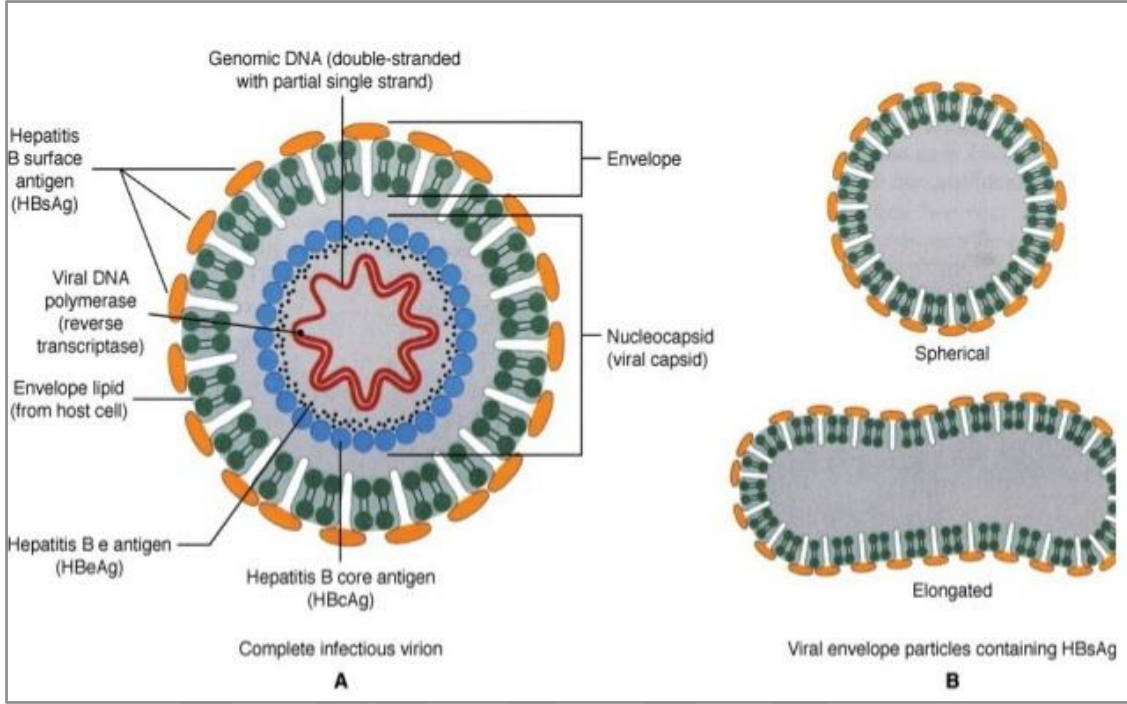
Cinsel bulaş

Gelişmiş ülkelerde en sık görülen bulaş yoludur. Genital sekresyonlarda virüs miktarı azdır ancak mukoza bütünlüğünün bozulması durumunda kolaylıkla bulaş olmaktadır. HBV için en riskli bulaşma yolu homoseksüel ilişkidir. Birden fazla heteroseksüel partneri olanlar ve seks işçileri de bu yolla bulaşmada riskli grubu oluştururlar [32].

2.2 Hepatit B Virüsünün Mikrobiyolojik Özellikleri

2.2.1 Virüsün yapısı

HBV, *hepadnaviridae* ailesinde yer alan *orthohepadnavirus* cinsine ait, zarflı ve çift sarmallı DNA virüsüdür. *Hepadnaviridae* ailesinden insanlarda enfeksiyon oluşturan tek türdür. 3200 nükleotidden oluşur, bilinen en küçük DNA virüsüdür. Elektron mikroskopisiyle üç farklı viral partikül tanımlanmıştır; dane partikülü (42nm), küresel (20nm) ve tübüler (filamentöz, 22nm) partiküller (Şekil.2). Her üç partikülde de HbsAg yüzey antijeni mevcuttur. Dane partikülü 7 nm kalınlığında lipid zarf yapısına sahip olması nedeniyle çift katmanlı görünür ve enfeksiyondan sorumludur. Küresel ve tübüler partiküller, genom içermeyen kapsid yapılarıdır ve enfeksiyöz özellikleri yoktur. HBV, hepatosit içindeki pre-S1 bölgesinden, hücreye tutunmadan sorumlu olduğu düşünülen epitoplara aracılığı ile hücreye girer. Tutunmadan sonra virüs zarfı ile hücre membranı arasında füzyon oluşur ve nükleokapsid sitoplazmaya bırakılır. Nükleokapsid parçalandıktan sonra viral genomik DNA ve polimeraz çekirdeğe taşınır. Genom yapısı çekirdek içine girdikten sonra replikasyon başlamış olur. Replikasyon öncesinde kısmî olan çift sarmallı yapı, tam çift sarmallı DNA haline dönüşür ve bu işlem sonucunda kovalent bağlı halkasal DNA (cccDNA) meydana gelir. CccDNA, HBV'nin hepatosit içinde kalıcı olmasını sağlar ve HBV'nin reaktivasyonlarından sorumludur. Hücresel RNA polimeraz aktivitesi sonrası kısmi çift iplikli DNA molekülü meydana gelir. Bu molekülü içeren nükleokapsidler endoplasmik retikulumuna salınır. Zarf proteinlerinin her üçünü de içeren virion yapısı endoplasmik retikulumdan golgi kompleksine taşınır. Bu basamaklar esnasında zarf proteinlerinin glikozilasyonu da tamamlanır ve olgunlaşmasını tamamlamış olan virion kan dolaşımına salınır [19].



Şekil.2 HBV partikül yapıları [33]

2.2.2 Virüs genomu

DNA sarmalı 4 adet nükleik asit dizisi içerir;

C (core veya nükleokapsid) geni: C geni iki farklı protein sentezletir. 21 kD büyüklüğündeki nükleokapsid polipeptidlerini kodlar. Bu polipeptidler birleşir ve çekirdek proteini diğer ismiyle “c” antijeni (HBcAg) meydana gelir. Bu protein karboksi ucundan kırılır ve 16 kD büyüklüğündeki proteinler oluşur. Bunlar da “e” antijenini (HBeAg) kodlamaktadır.

S (surface=yüzey, zarf) geni: pre-S1, pre-S2 ve S gen bölgeleri içerir. HBV’nin yüzey antijenini (HBsAg) kodlar. Enfekte hastaların hepatosit ve serumlarında saptanan eksik viral partikülleri de S geni kodlar.

P (polimeraz) geni: Viral genomun büyük kısmını oluşturur. Viral polimerazı kodlar. Viral polimeraz; revers transkriptaz, DNA polimeraz ve RNaz aktivitesine sahiptir.

X geni: X proteinini kodlar. X proteininin transkripsiyon ve transaktivasyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir. [19].

2.2.3 Virüs replikasyonu

HBV replikasyon kapasitesi yüksek ve bulunduğu hücrede sitopatik etki yapmayan bir virüstür. Plazma yarılanma ömrü 4 saattir ve her gün %50’si yeniden oluşur [34].

HBV'nin replikasyonu retrovirüsler gibi RNA üzerinden gerçekleşir. Hepatosite preS1 proteini ile tutunan virüs, membran füzyonu ile hücre içine girdikten sonra çekirdeğe taşınır. Viral polimeraz enzimi ile pozitif iplikçik tamamlanır. Çift iplikli viral genom uçlarından birbirine bağlanır ve cccDNA oluşur. Hepatosit çekirdeğindeki cccDNA, HBV DNA'nın antiviral tedaviye ve konağın immün mekanizmalarına en dirençli formudur [35]. Çekirdekte cccDNA'lardan hücrel RNA polimeraz II enzimi ile sentezlenen mRNA'lar mevcuttur. Bunlardan en büyüğü pregenomik RNA (pgRNA)'dır. PgRNA hem viral kapsid oluşumunu başlatır hem de revers transkriptaz enzimine kalıp olarak viral DNA sentezinde rol alır. İçinde DNA sentezi devam eden kapsid endoplazmik retikuluma giderek yüzey proteinlerini taşıyan zarfla kaplanır. Yüzey proteinlerinin üçünü birlikte içeren zarflı virüsler golgi kompleksine taşınır. Taşınma esnasında zarfta bulunan proteinlerin glikozilasyonu tamamlanır ve olgunlaşmış virüsler veziküler transport ile hücre yüzeyine taşınarak kan dolaşımına salınır [19].

2.2.4 HBV subtip ve genotipleri

HBV, HBsAg antijenik determinantlarına göre subtiplere ayrılır. Şimdiye kadar 9 adet subtip bulunmuştur. Bunlar; ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrq+, adrq- subtipleridir. Subtipler monoklonal antikörlerle serolojik olarak ayırt edilir ve enfeksiyonun kaynağının belirlenmesi açısından önemlidir. Genom düzeyinde bakıldığında ise A'dan J'ye 10 genotip varlığı saptanmıştır. Subtipler ve genotipler arasında ilişki bulunamamıştır.

Virüsün coğrafi dağılımını tespit etmede genotipler daha faydalıdır. Ülkemizde en fazla genotip D bulunur. HBV enfeksiyonlarının büyük kısmı Asya ülkelerinde görülür, buna bağlı olarak en sık görülen genotipler B ve C'dir. Genotipler coğrafi dağılımın yanı sıra klinik seyir açısından da farklılık gösterirler. Örneğin; genotip A'nın interferon tedavisine daha iyi yanıt vermesi, genotip C'de ilerleyici karaciğer hasarının ve HSK sıklığının daha fazla olması, antiHBe serokonversiyonunun gecikmesi gibi [36].

2.2.5 Mutant virüsler

HBV'de enfeksiyon yaşı ilerledikçe mutant virüslerin ortaya çıktığı saptanmıştır. Revers transkriptaz enziminin onarıcı sisteminin olmaması ve virüs replikasyon hızının yüksek olması mutasyon hızının yüksek olmasına neden olur. Antiviral tedavi sonrasında mutant virüsler seçilmiş olmaktadır [37].

Precore/core geni mutasyonları: HBeAg üretimi baskılanır. ‘e’ negatif olarak adlandırılan bu mutant virüsler Güney Avrupa ve Asya’da aktif viremi ve ağır karaciğer hastalarında görülmüştür [19].

S geni mutasyonları: Virüs, HBsAg’nin üç boyutlu yapısındaki değişiklik sonucu antikorun nötralizan etkisinden kurtulur ve replikasyonu devam eder. Aşılandığı veya pasif immünizasyon yapıldığı halde bazı kişilerin HBV ile enfekte olmasına neden olur [38].

P geni mutasyonları: HBV polimeraz geninde YMDD motif mutasyonu nedeniyle, vahşi tipe göre Lamivudin’e 20-200 kat daha dirençlidir. Entekavir direnci genellikle lamivudin direnci ile birlikte görülür [19].

X geni mutasyonları: Atipik serolojik profillerin ortaya çıkmasına neden olabilir. Bunun nedeni p53 geninin baskılayıcı etkisini ortadan kaldırmasıdır. HSK oluşumunu kolaylaştırır.

2.3 Patogenez

HBV’nin direk etkili hepatotoksik bir virüs olmaması nedeniyle karaciğer hasarının gelişmesinde viral faktörlerden daha çok konağın immün yanıtının etkisi vardır HBV enfeksiyonunun patogenezinde hücrel ve humoral immün cevap birlikte oluşur ve enfeksiyonun sınırlandırılmasında bu durum önemli rol oynar. Ekstrahepatik semptomların ortaya çıkmasında karaciğer disfonksiyonundan ziyade antijen-antikor kompleksi birikiminin sorumlu olduğu bilinmektedir. Akut enfeksiyonunda CD4 ve CD8 T helper hücre yanıtı gelişir. Viral proteinlere karşı CD4 T helper hücre yanıtı görülmektedir. Virüsle enfekte hepatosit miktarına göre sitotoksik hücrelerin sayısı oldukça azdır. TNF-alfa ve IFN-gamma gibi inflamatuvar sitokinler virüsün temizlenmesinde daha etkilidir [39]. Virüse karşı geliştirilen immün yanıtı göre iki farklı sonuç gelişebilir. İmmün yanıt yeterli olur ise virüs inaktivasyonu sağlanır ve vücuttan temizlenir. İmmün yanıtın yetersiz olması halinde inflamasyon kronik hale gelir. Nekroz, rejenerasyon ve fibrozisin uyarılması sonucu kronik hepatit gelişir, siroz ve hepatosellüler karsinoma gibi komplikasyonlar oluşur [40]. CD8 T helper hücrelerinin aktivasyonu sonucu enfekte hepatositlerin yıkımı nedeniyle serum aspartat aminotransferaz (AST) ve ALT düzeylerinin yüksekliği görülebilir. Akut yanıtta yetersizlik olunca enfeksiyon kronikleşmektedir [41]. Karaciğer dokusunda köprüleşme nekrozu, periportal-portal inflamasyon ve lobüler inflamasyon göre nekroinflamatuvar aktivite

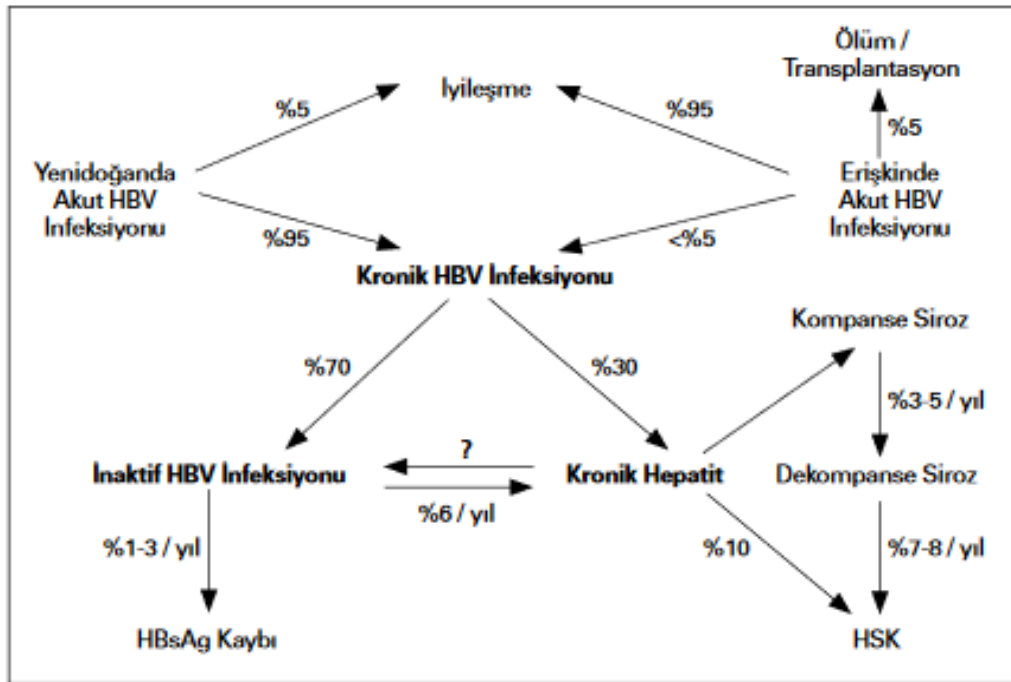
değerlendirilmektedir. Fibrozis farklı bir özellik olarak incelenir. Nekroinflamasyon hastalığın aktivite seviyesini gösterirken, fibrozis skoru evresini gösterir ve prognostik değer taşımaktadır [42].

2.4 HBV Enfeksiyonunda Klinik

2.4.1 Akut HBV enfeksiyonu

HBV'nin inkübasyon periyodu alınan virüs miktarına ve kişinin immün sistem durumuna bağlı olarak virüs ile karşılaşma sonrasında 45 ile 180 gün arasındadır [19]. Virüsün genetik yapısı, konağın yaşı ve immün sistemi gibi değişkenlerden dolayı, hafif tablodan şiddetli hastalığa kadar çok çeşitli klinik tablolar görülebilir. Akut hepatit B enfeksiyonunu diğer viral hepatit etkenlerinden ayıran özellikli bir bulgu yoktur.

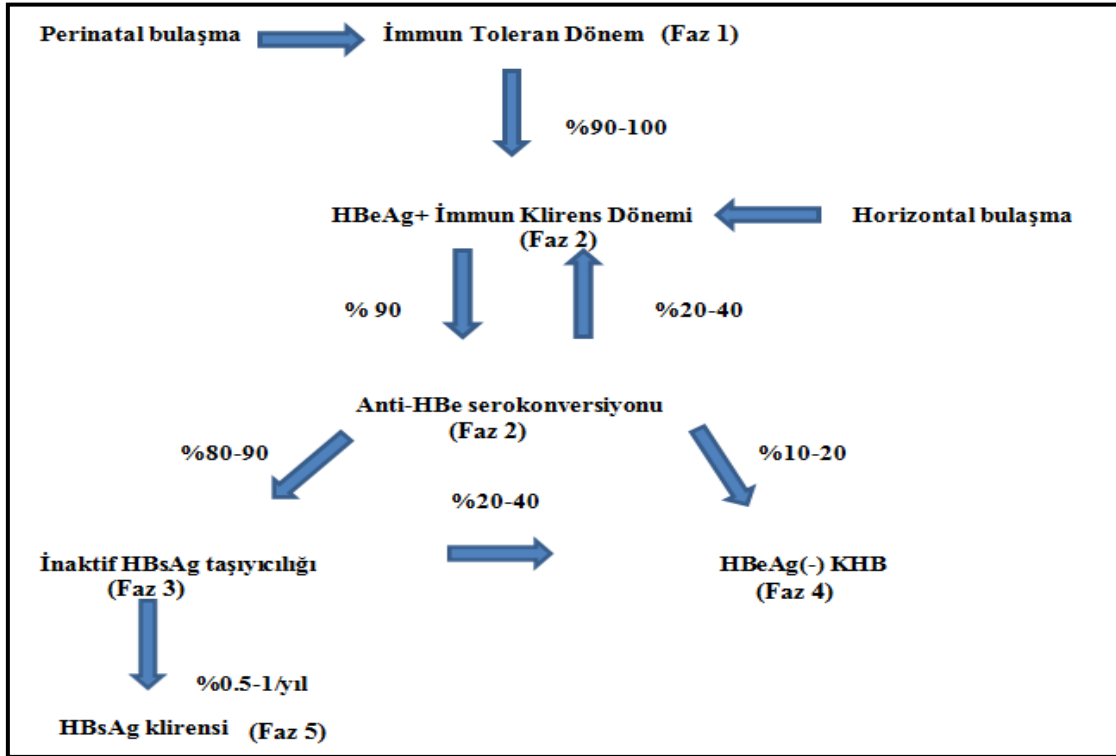
HBV ile enfekte olan erişkinlerin sadece %5-20'inde akut hepatit kliniği görülür. Çocukluk çağında %90 asemptomatik seyreder (Şekil.3). Prodromal dönemde serum hastalığına benzer bir tablo (ateş, döküntü, artrit, artralji vb) görülebilmektedir. Hastalar genellikle halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma, ciltte sararma, karın ağrısı, idrar renginde koyulaşma ve dışkı renginde açılma ile başvururlar. Sarılık genellikle 1-3 hafta devam eder [43].



Şekil.3 Akut HBV enfeksiyonunun doğal seyri [43]

2.4.2 Kronik HBV enfeksiyonu

Akut HBV enfeksiyonu sonrası 6. ayda HbsAg kaybolup, anti-Hbs pozitifleşmezse hastalık kronikleşmiş olarak kabul edilir [44] (Şekil.4). Kronikleşme etkenin alındığı yaş ve bulaş yoluna göre değişmektedir. Akut HBV enfeksiyonunu takiben kronikleşme oranı yenidoğan ve infantlarda % 90, ilk 6 yaş içerisinde % 30, erişkin dönemde ise %4,6'dır.



Şekil.4 Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri [45]

Kronik HBV genellikle asemptomatiktir [46]. Hastaların birçoğu yakınmasızdır ve biyokimyasal testleri normal sınırlardadır. 2017 de yayınlanan Avrupa Karaciğer Çalışma Grubu (EASL) hepatit B rehberinde KHB fazları birden beşe kadar numaralandırılmış ve okült hepatit faz 5 olarak isimlendirilmiştir [47]. KHB enfeksiyonunun doğal seyri daha önceleri virüs-konakçı etkileşimine göre; immün toleran, immün reaktif, inaktif HBsAg taşıyıcılığı, reaktivasyon ve iyileşme dönemi olarak ele alınıyordu (Tablo.1).

Tablo.1 Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyri ve hastaların değerlendirilmesi [47]

	HBeAg pozitif		HBeAg negatif	
	Kronik Enfeksiyon	Kronik Hepatit	Kronik Enfeksiyon	Kronik Hepatit
Eski Terminoloji	İmmün toleran	İmmün reaktif	İnaktif taşıyıcı	HBeAg negatif kronik hepatit
HBsAg	Yüksek	Yüksek/Orta	Düşük	Orta
HBeAg	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif
HBV DNA (IU/ML)	$> 10^7$	10^4-10^7	<2000	>2000
ALT	Normal	Yüksek	Normal	Yüksek
Karaciğer hastalığı	Yok/Minimal	Orta/Ağır	Yok	Orta/Ağır

Faz 1

Eski terminoloji ile immün toleran dönemde, HBeAg pozitifliği ve fazla miktarda viral replikasyona bağlı olarak HBV DNA düzeylerinin yüksekliği tipiktir. Çoğunlukla perinatal veya erken çocuklukta bulaş sonrası görülür ancak geç çocukluk ve erişkin dönemde de görülebilmektedir. Perinatal enfeksiyonda bu faz uzun yıllar devam edebilir ancak çocukluk veya erişkinlik döneminde edinilmiş HBV enfeksiyonunda kısa sürer veya hiç görülmeyebilir [48]. HBV replikasyonu yüksek, aminotransferazlar normal seviyededir [49]. Karaciğerde nekroinflamasyon hiç yoktur veya hafif düzeydedir. Fibrozise gidiş yavaştır. Viremi ve bulaştırıcılık yüksek düzeydedir [43].

Faz 2

Eski adıyla immün reaktif dönem, immünolojik yanıt ve viral replikasyonu kontrol etme dönemidir. Konağın bağışıklık sistemi olgunlaşır ve hepatositlerde hasar ortaya çıkar. Viral replikasyon devam etmesine rağmen enfekte hücrelerin parçalanması sonucu serum HBV DNA düzeyleri düşer. HBeAg pozitifliği devam edebilir. Biyopsi yapıldığında nekroinflamatuvar aktivite belirgindir [50]. Sıklıkla asemptomatik seyreder. Bu dönemin

sonunda HBeAg serokonversiyonu gerçekleşir. Yıllık %10-20 oranında spontan klirens olur. Ancak bazı hastalarda HBeAg kaybı olmaz ve akut hepatit benzeri alevlenmelere neden olur. Bu hastalarda bu dönem ne kadar uzun sürerse siroz ve HSK riski o kadar yüksektir ve prognozun en kötü olduğu hasta grubudur [51].

Faz 3

Enfekte hücrelerin ölümü, viral replikasyonun azalması sonrası immün cevabın gerilemesi ile girilen dönemdir. HBV ile enfekte hastaların en geniş grubunu oluşturur. HBeAg negatiftir ve HBV DNA düzeyi düşüktür. Eski adıyla inaktif taşıyıcı fazdır. Transaminazlar normaldir. Biyopside nekroinflamasyon yoktur veya minimal düzeydedir [39]. Bu olgularda nadiren spontan HBsAg kaybı ve anti-HBs pozitifleşmesi görülebilir [52]. İnaktif taşıyıcılığın prognozu iyidir ancak siroz ve HSK gelişimi normal popülasyona göre yüksek olduğundan periyodik olarak HBV DNA ve ALT takibi yapılmalıdır.

Faz 4

Anti-HBe pozitif olgularda viral replikasyonun uyarılmasıyla başlar. HBV DNA düzeyi yüksektir. Karaciğerde devam eden inflamasyon nedeniyle ALT yüksek seyreder [53]. HBV genomundaki çeşitli mutasyonlar nedeniyle HBeAg çoğunlukla negatif saptanır [54]. HBV DNA düzeyleri HBeAg pozitif olanlara göre daha düşüktür. HBeAg negatif kronik hepatit ilerleyici karaciğer hastalığı ve siroz açısından yüksek riskli bir tablodur [39]. Bu hastalarda alevlenmeler açısından periyodik ALT ve HBV DNA takibi yapılmalıdır. Spontan remisyon oranları düşüktür [47].

Faz 5

HBsAg'nin negatifleşmesinden sonra, HBV replikasyonunun düşük düzeyde devam etmesi ve karaciğer dokusunda HBV DNA saptanması ile karakterize dönemdir. Genellikle anti-HBs ile birlikte veya izole anti-HBc pozitifliği ile saptanır. Bu faz okült HBV enfeksiyonu olarak da isimlendirilir. HBsAg negatifliği nedeniyle siroz, dekompanseasyon veya HSK riski düşüktür. İmmünsupresyon durumlarında, bu hastalarda fulminan hepatite kadar ilerleyen reaktivasyon görülebilir [55] (Şekil.4)

2.5 Tanı

Kronik HBV enfeksiyonu olan kişiler ilk başvuruda ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Risk faktörleri, alkol kullanımı, aile öyküsü, aşılama durumu sorgulanmalıdır. Tanıda serolojik testler, moleküler yöntemler ve histopatolojik inceleme kullanılmaktadır.

2.5.1 Serolojik ve moleküler yöntemler

HBsAg: Yüzey antijenidir. Genellikle ilk saptanan viral belirteçtir. Temas sonrası 1-2 hafta içinde kanda saptanabilir. HBsAg tespitinden yaklaşık 4 hafta (1-7 hafta) sonra akut hepatitin klinik belirtileri ortaya çıkar. Nadiren hepatit D virüs (HDV) veya hepatit C virüs (HCV) koenfeksiyonlarında HBsAg saptanmayabilir.

Anti-HBs: HBsAg'ye karşı oluşan antikordur. Koruyucu ve nötralizan özelliğindedir. Akut enfeksiyonda üretilmeye başlar ancak immün kompleksler nedeniyle tespit edilemez. Genellikle HBsAg kaybından sonra antiHBs pozitifliği saptanır. Bu aradaki sürece pencere dönemi denir. Pencere döneminde sadece antiHBc-IgM pozitifliği görülür. AntiHBs titresi akut enfeksiyondan itibaren bir yıla kadar artabilir ve yıllarca pozitiflik devam eder [19]. Aşılama ve HBIG uygulaması sonrası tek başına anti-HBs pozitifliği olur.

Anti-HBc Total: Akut hepatit B kliniği ile birlikte saptanabilir ve ömür boyu pozitif kalır. Geçirilmiş veya devam eden HBV enfeksiyonunun işaretidir.

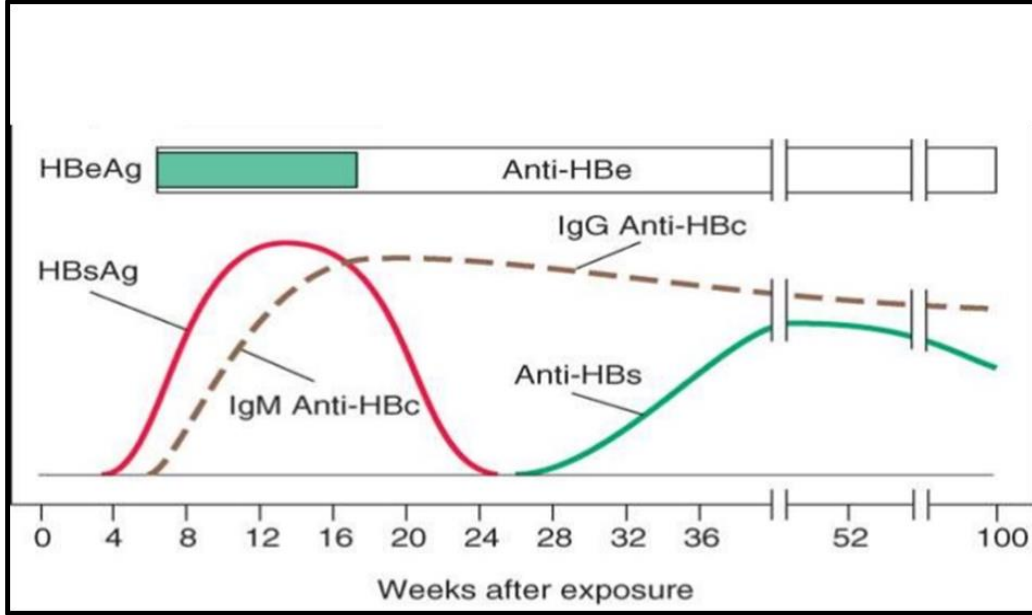
Anti-HBc IgM: Yakın zamanda geçirilmiş enfeksiyonun göstergesidir. Akut enfeksiyonda ilk oluşan antikordur. HBsAg'nin saptanamadığı akut hepatit vakalarında tanıya yardımcıdır. Kronik enfeksiyon alevlenmelerinde veya HBeAg serokonversiyonunda da pozitifleşebilir.

HBeAg: Akut ve kronik hepatitlerde viral replikasyonun ve HBV DNA'nın yüksek olduğunu gösterir. Akut hepatit B enfeksiyonunda HBsAg ile birlikte pozitifleşir.

Anti-HBe: HBeAg kaybolduktan sonra anti-HBe antikoru ortaya çıkar. Anti-HBe pozitifliği viral replikasyonun baskılandığını ve prognozun iyiye gittiğini göstermektedir. Anti-HBe pozitif saptanan taşıyıcıların bulaş riski düşüktür (Şekil.5).

HBV-DNA: Virüs replikasyonunun en iyi göstergesidir. Serumda PCR testi ile bakılır. Aktif replikasyonun ve viral yükün belirlenmesini sağlar. Tanı aşamasında, tedavi takibinde ve olağan dışı serolojik profilleri değerlendirmede (okült HBV enfeksiyonu ya da mutant HBV enfeksiyonları) yararlıdır [56]. HBsAg'den 3 hafta önce serumda saptanabilir [4]. HBV

enfeksiyonunun farklı dönemlerinde serolojik ve moleküler belirteçler tablo.2 de verildiği gibidir.



Şekil.5 HBV enfeksiyonunda seroloji [57]

Tablo.2 HBV enfeksiyonunun farklı dönemlerinde serolojik ve moleküler belirteçler [19]

HBV enfeksiyon evreleri	HBsAg	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBc	HBV-DNA
Akut enfeksiyon erken dönem	+	-	+	-	IgM	+
Akut enfeksiyon pencere dönemi	-	-	-	-	IgM	+/-
Akut enfeksiyon düzelme dönemi	-	+	-	+	IgG	+/-
Replikasyon dönemi	+	-	+	-	IgM/IgG	+++
İnaktif taşıyıcılık	+	-	-	+	IgG	+
Reaktivasyon	+	-	+/-	-	IgM	+++
Okült hepatit B	-	+/-	-		IgG +/-	+
Mutant hepatit B	+	+		+	IgG	++

2.5.2 Histopatolojik tanı

Karaciğer yapısının yaklaşık % 70'ini hepatositler, %30'unu ise parankim dışı hücreler oluşturur. Parankim dışı hücreler; endotelyal hücreler (%70), Kupffer hücreleri (%20) ve hepatik stellat hücreler (HSH-%10)'dir. Hepatositler ile endotel hücrelerinin arasını dolduran ağ benzeri jelatinimsi yapıya ekstrasellüler matriks (ESM) denir. ESM'in başlıca üretim yeri HSH'dir [58].

Hepatosellüler hasar sonrası hepatosit ve Kupffer hücrelerinden salgılanan faktörler ile aktive olan hepatik stellat hücreler kontraktilite, proliferasyon ve fibröz matriks üretimi yapabilen myofibroblastlara dönüşür. Tüm kronik karaciğer hastalıkları ve sirozun temelinde karaciğer parankiminde aşırı ESM üretimi, perisinüzoidal bölgede kollajenler (I, III ve IV), fibronektin, laminin, hyalüronik asit, proteoglikan birikimi ve sonuç olarak skar dokusunun gelişmesi vardır [59].

Fibrozis esas olarak karaciğerdeki inflamasyonu sınırlandırmak için başlar. Hepatosellüler hasarın devamı halinde aşırı fibröz bağ dokusu oluşur. Buna bağlı olarak parankim yapısı ve karaciğer fonksiyonları bozulabilir. Karaciğer fibrozisine septa ve nodül oluşumu eklenebilir. Bu durum siroz gelişmesine ve portal kan akımını bozarak portal hipertansiyona neden olur. Hepatosellüler rejenerasyonun sürekli indüklenmesi sonucu hepatosellüler karsinom (HCC) gelişebilir. Fibrozis ve siroz erken dönemde tespit edilebilirse tedavi ile geri dönüşüm sağlanabilir [60].

KHB'de karaciğer hasarının incelenmesinde biyopsi altın standarttır. Ülkemiz şartlarında tedavi öncesinde karaciğer biyopsisi zorunludur. İnvaziv bir işlem olması, yetersiz örnekleme, yanlış değerlendirme, yüksek maliyet gibi problemleri bulunmaktadır. Alınan parça karaciğerin çok küçük bir alanını yansıtmaktadır. Karaciğeri bölgesel olarak invaze eden hastalıklarda yanlış yönlendirmeye neden olabilir [61]. Perkütan karaciğer iğne biyopsisi mutlak ve göreceli kontrendikasyonları tablo.3 ve tablo.4'te verilmiştir.

Günümüzde kronik HBV enfeksiyonunun histopatolojik değerlendirmesinde "Modifiye Knodell sistemi" olarak bilinen skorlama sistemi kullanılmaktadır (Tablo.5). Sınır hepatiti, birleşik nekrozlar, periportal ve lobular inflamasyon durumları değerlendirilerek verilen sayısal skorlar toplanır ve "histolojik aktivite indeksi" belirlenir. Maksimum puan

18'dir. Fibrozis ise 0'dan 6'ya kadar skor verilerek değerlendirilir (Tablo.6). Siroz demek için fibrozisin ≥ 5 olması gerekmektedir. Fibrozis skoru prognoz açısından önemlidir [62]. Skorlama subjektif değerlendirmelere dayandığı için kişiler arasında farklılıklar görülebilir.

Tablo.3 Perkütan karaciğer iğne biyopsisi mutlak kontrendikasyonları

Uyumsuz hasta
Açıklanamayan kanama öyküsü
Kanama eğilimi
Protrombin zamanının normalden 4sn uzun olması
Trombosit sayısının $60.000/mm^3$ altında olması
Kanama zamanının 10 dakikadan uzun olması
Son 7-10 gün içinde non-steroid antiinflamatuar ilaç kullanımı
Kan transfüzyonu imkanı olmayışı
Hemanjiyom veya damar kökenli tümör varlığı
Perküsyon veya ultrasonografi ile uygun biyopsi bölgesi saptanamaması
Karaciğer kist hidatiği

Tablo.4 Perkütan karaciğer iğne biyopsisi göreceli kontrendikasyonları

Aşırı şişmanlık
Peritoneal mayi
Hemofili
Sağ plevral bölgede enfeksiyon varlığı
Sağ diyafram altında enfeksiyon varlığı

Tablo.5 Modifiye histolojik aktivite indeksi[63]

A. Periportal veya periseptal interface hepatit (piecemeal nekrozu)	Skor
Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alanda)	1
Hafif/orta (fokal/portal alanların çoğunda)	2
Orta (portal alan çevresinin %50'sinden az ve devamlı)	3
Şiddetli (portal alan çevresinin %50'sinden fazla ve devamlı)	4
B. Konfluent (Birleşik) Nekroz	
Yok	0
Fokal	1
Bazı alanlarda zon 3 nekroz	2
Çoğu alanda zon 3 nekroz	3
Zon 3 nekroz ve nadir portosantral köprüleşme nekrozu	4
Çok sayıda zon 3 nekroz ve portosantral köprüleşme nekrozu	5
Panasiner veya multiasiner nekroz	6
C. Fokal Litik Nekroz, Apoptoz ve Fokal İnflamasyon	
Yok	0
Bir odak veya her 10x objektif büyütmesinde birden az	1
Her 10x objektif büyütmesinde 2- 4 odak	2
Her 10x objektif büyütmesinde 5-10 odak	3
Her 10x objektif büyütmesinde 10'dan fazla odak	4
D. Portal İnflamasyon	
Yok	0
Hafif, portal alanların tümü veya bazıları	1
Orta derecede, portal alanların tümü veya bazıları	2
Orta derecede veya şiddetli, portal alanların tümü	3
Şiddetli, tüm portal alanlar	4

Tablo.6 Fibroz evreleme [62]

Fibrozis	Skor
Fibrozis yok	0
Bazı portal alanlarda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	1
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	2
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve seyrek porto-portal köprüleşme	3
Portal alanlarda fibröz genişleme ve belirgin köprüleşme	4
Belirgin köprüleşmeler ve seyrek nodül formasyonu	5
Siroz	6

2.6 Tiyol-Disülfid Homeostazı

Civaya bağlanma özellikleri nedeniyle merkaptanlar olarak da bilinen tiyoller, bir sülfür atomu ve karbon atomuna bağlı bir hidrojen atomundan oluşan sülfhidril grubu (-SH) içeren bir organik bileşik sınıfıdır. Plazma tiyol havuzu esas olarak albümin tiyolleri, protein tiyolleri, sistein, sisteinilglisin, glutatyon, homosistein ve γ -glutamilsistein gibi düşük molekül ağırlıklı tiyollerden oluşur. Tiyoller, oksidanlar vasıtasıyla oksidasyon reaksiyonuna girerek disülfid bağlarına dönüşürler. Oksidatif stres koşulları altında, sistein kalıntılarının oksidasyonu, protein tiyol grupları ve düşük molekül ağırlıklı tiyoller arasında disülfidlerin geri dönüşümlü oluşumuna neden olabilir. Oluşan disülfid bağları yeniden tiyol gruplarına indirgenebilir, böylece dinamik tiyol-disülfid homeostazı korunmuş olur [7, 64].

Tiyol ve disülfidlerin; protein yapıların stabilizasyonunda, proteinlerin ve enzim fonksiyonlarının regülasyonunda, reseptörlerde, taşıyıcılarda, Na-K kanalında ve transkripsiyonda rolleri vardır. Geliştirilen yeni yöntemler hızlı, güvenilir, duyarlı, ucuz ve tekrarlanabilirliğe sahiptir. Hem manuel hem de tam otomatik olarak çalışılabilen ve geniş kullanım alanına sahip bu yeni yöntemler nativ tiyol, total tiyol [(-SH)+(-SS-)] ve disülfid düzeylerinin saptanmasında ve tiyol-disülfid homeostazının değerlendirilmesinde kullanılabilir [7]. Tiyol-disülfid homeostazı ölçümünde, çift taraflı dengenin 1979 yılından beri ancak tek tarafı ölçülebilirken, Erel ve Neşelioğlu'nun [7] geliştirdiği yeni yöntemle her iki değişken düzeyi de ayrı ayrı ve toplamsal olarak ölçülebilmekte, hem bireysel hem de bütünsel olarak değerlendirilebilmektedir.

Dinamik tiyol-disülfit homeostazi antioksidan korunma, detoksifikasyon, sinyal iletimi, apoptozis, hücrel sinyal mekanizmaları, enzimatik aktivite ve transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Dinamik tiyol-disülfit homeostazının diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, romatoid artrit, kanser, KBH, Parkinson hastalığı ve karaciğer hastalıkları gibi bazı kronik hastalıkların patogeneğinde yer aldığıyla ilgili kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır [65-70]. Bu nedenle dinamik tiyol-disülfit homeostazının belirlenmesi, çeşitli kronik hastalıklarla ilgili anormal biyokimyasal süreçler hakkında bilgi verebilir [7].

2.7 İskemi Modifiye Albümin

Albüminin insan vücudundaki esas görevleri, onkotik basıncı sağlamak, hormon, vitamin ve bir takım zararlı metabolitlerin kanda taşınmasını sağlamaktır. Karaciğerde üretilir ve kanda en fazla bulunan proteindir. İskemi durumunda serbest radikallerin etkisi ile N-terminal bölgesi bir takım biyokimyasal değişimlere uğramakta ve albüminin kobalt, nikel gibi bazı ağır metalleri bağlama kapasitesi azalmaktadır. Yapısında değişiklik meydana gelmiş bu yeni albümin İMA olarak isimlendirilir ve bu değişim ölçülebilir [71]. İMA oluşabilmesi için reaktif oksijen türlerinin oluşması gereklidir. İskemi sırasında henüz hücre ölümü gerçekleşmeden ortamda serbest oksijen radikalleri bulunur. İMA oluşmasında daha çok serbest radikallerin etkisi olduğu tahmin edilmektedir [15]. Yapılan çalışmalarda, İMA'nın miyokardial iskeminin başlangıç dakikaları içinde yükseldiği ve acil servislerde miyokardial iskemide kullanılabileceği gösterilmiştir[72]. İMA son dönem böbrek hastalarında, karaciğer yetmezliğinde, merkezi sinir sistemi vasküler hastalıklarında, travmalarda, kanserlerde ve enfeksiyonlarda da yükselmektedir [8-10, 14, 73, 74].

İMA'nın serbest metalleri bağlama kapasitesi normal albümine göre çok düşüktür. Serum örneğine kobalt (Co) eklenerek, ortamda bulunan albüminlerin Co bağlama kapasitesi ölçülür. Serbest Co, dithiothreitol (DTT) isimli proteinle boyanarak spektrofotometrik olarak ölçülür. Ortamdaki serbest Co miktarı İMA değeri olarak belirlenir. DTT albümine bağlanmış Co ile reaksiyona giremez. Albümine Co iyonlarını bağlayarak kullanılan test ve metot, dolaylı olarak kolorimetriye bağlıdır. Serumda Co solüsyonu eklendiği zaman, Co albümine bağlanır ve serbest Co konsantrasyonu azalır [75]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Şekli

Bu çalışma, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra (07.06.2017 tarihinde 12/19 no.lu karar) Bezmialem Vakıf Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirildi. 15 Haziran 2017 ile 30 Eylül 2017 tarihleri arasında Enfeksiyon Hastalıkları ve Gastroenteroloji polikliniğine başvuran kronik hepatit B hastaları çalışmaya alındı. Çalışmaya 80 kronik hepatit B tanılı hasta ve 51 sağlıklı erişkin çalışma hakkında bilgilendirildikten sonra "Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu" onayı alınarak dahil edildi. Çalışma grubunda bir hastada gebelik saptanması üzerine çalışmadan çıkarıldı. Çalışmada kronik hepatit B saptanan hastaların tam kan sayımı, AST, ALT, GGT, alkalen fosfataz (ALP), total billirubin, direk billirubin, protrombin zamanı (PT), INR, albümin, HBV DNA, HBeAg, Anti-HBe sonuçları ve perkütan karaciğer iğne biyopsisi yapıma endikasyonu olan hastalarda histolojik aktivite indeksi, fibroz skorları kayıt altında alındı. Tiyol-disülfid homeostaz parametreleri ve İMA düzeyleri değerlendirildi. Bu değerler sağlıklı erişkin değerleri ile karşılaştırıldı.

Olgu Seçimi

- Çalışmaya kabul edilme kriterleri;
 - ✓ 18 yaş ve üzeri çalışmaya dahil olmayı kabul eden
 - ✓ HBsAg pozitifliği ile birlikte HBV DNA pozitif olanlar

- Çalışmaya kabul edilmeme kriterleri;
 - ✓ Herhangi bir kronik hastalık öyküsü
 - ✓ Gebelik
 - ✓ Alkol kullanım öyküsü
 - ✓ Hepatit B ye yönelik tedavi öyküsü
 - ✓ Kontrol grubunda, ek olarak AntiHbc IgG/total pozitifliği, olarak belirlendi.

Çalışma Prosedürü

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara hepatit B serolojisi, HBV DNA PCR, ALT, AST, ALP, GGT, total billirubin, direk billirubin, protrombin zamanı (PT), AFP, rutin biyokimya ve tam kan testleri uygulandı. Hastalardan, steril şartlarda venöz sistemden alınan tam kan örnekleri EDTA'lı, seroloji ve biyokimya için alınan örnekler ise vakumlu jelli biyokimya tüplerine alındı. Ek olarak hem hasta hem kontrol grubundan tiyol-disülfid homeostaz parametreleri ve İMA ölçümü amacıyla vakumlu jelli biyokimya tüpüne alınan örnekler 3000 rpm hızında 10 dakika santrifüje edilerek serumu tamamen ayrıldı, Ependorf tüpüne koyularak çalışma yapılana kadar -80 derecede saklandı. HBV DNA Abbott m2000 (Abbott;ABD) cihazında real-time PCR ve hepatit serolojisi Architect i1000SR (Abbott;ABD) cihazında immunoassay yöntemiyle bakıldı. Tam kan sayımı için EDTA'lı tüpe alınan kan örnekleri Abbott Cell Dyn 3700 (Abbott;ABD) cihazında laser/empedance yöntemiyle, diğer biyokimyasal parametreler, vakumlu jelli biyokimya tüplerine alınan örneklerden Abbott Architect C16000 (Abbott;Japonya) cihazı ile fotometrik yöntem ile çalışıldı.

Tiyol-disülfid homeostaz düzeyi Erel ve Neşelioğlu tarafından tarif edilmiş otomatize spektrofotometrik metotla ölçüldü [7]. Bu metod ile oksidasyon sonucu oluşan disülfid bağları sodyum borohidrat ile serbest fonksiyonel tiyol gruplarına redüklendi. Sodyum borohidratın fazlası formaldehidle bağlanarak deaktive edildi. Nativ tiyol miktarı ve disülfid bağlarının redüklenmesi ile oluşan total tiyol miktarı DTNB (5,50-dithiobis-(2 nitrobenzoic acid) kromojeni ile 412 nm'de ölçüldü. Total tiyol ile nativ tiyol arasındaki farkın yarısı alınarak dinamik disülfid miktarı hesaplandı. Disülfid/nativ tiyol, disülfid/total tiyol, nativ tiyol/total tiyol oranları da hesaplama yöntemi ile elde edildi.

Serum İMA düzeyi, albümin kobalt bağlama testi ile ölçüldü. Hasta serumu, kobalt klorid ile karıştırılıp 5 dakika süreyle inkübe edildi. Bu süreçte kobaltın albümine bağlanması sağlandı. İnkübasyondan sonra ditiyotreitöl (DTT) eklenerek karıştırılıp ve DTT'nin albümine bağlanmamış kobalt ile renkli bir kompleks oluşturması sağlandı. Oluşan renkli kompleks 500 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü.

İstatiksel incelemeler

İstatistiksel analiz için Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)-17 (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. İstatistiksel olarak önemlilik için p değerinin $\leq 0,05$ olması dikkate alındı. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak, sürekli değişkenler normal dağılıma uygunluklarına göre ortalama \pm SS ve median (IQR) olarak belirtildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Sürekli değişkenlerin ortalamaların karşılaştırılmasında normal dağılıma uygun olup olmaması dikkate alınarak Student's t-test ve Mann-Whitney U-test kullanıldı. Sürekli değişkenler arasındaki korelasyon Pearson ve Spearman korelasyon testleri ile yapıldı. Çok değişkenli lineer regresyon ("backward"metod) analizi ile çok değişkenli analiz yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya. 79'u hasta, 51'i kontrol olmak üzere toplam 130 kişi dahil edildi. Tüm kişilerin % 59,2'si erkek, %40,8'i kadındı. Yaşların ortalaması $35,1 \pm 10,4$ idi. Vaka ve kontrol grubundaki hastaların demografik özellikleri tablo.7'de verildiği gibidir.

Tablo.7 Vaka ve kontrol gruplarının demografik özellikler açısından tek değişkenli analizleri

Değişken	Vaka grubu n=79	Kontrol grubu n=51
Cinsiyet n (%)		
Erkek	51(%39,2)	26(%20)
Kadın	28(%21,6)	24(%19,2)
Yaş median (IQR)	38(29-44)	29(25-36)

*p<0,05, ^α Mann-Whitney U, ^π Student-T Test

Vaka grubunda 70 olguda HBeAg negatif, antiHBe pozitif, 8 olguda HBeAg pozitif, antiHBe negatifti. Bir olguda hem HBeAg hem de anti-HBe saptandı. HBV DNA median değeri 4097 IU/mL (IQR, 1247-22046) idi. Olguların %43'ünün HBV-DNA değeri 2000-20.000 IU/mL, %25,4'ünün ise HBV-DNA'sı >20.000 IU/mL idi. Vaka grubunda olgulardan 21'ine karaciğer biyopsisi yapıldı. İSHAK skorlamasına göre bunlardan 16'sının fibroz oranı bir, 5'inin sıfırdı. Histolojik aktivite indeksi 7'sinde ≥ 6 , 14'ünde < 6 idi (Tablo.8).

Tablo.8 Vaka grubunun özellikleri

Değişken	
HBV DNA IU/mL median(IQR)	4097(1247-22046)
HBeAg n(%)	9(11,4)
Anti-HBe n(%)	71(89,9)
HBV DNA IU/mL n(%) <2000 2000-20.000 >20.000	25(31,6) 34(43) 20(25,4)
Fibroz n (ISHAK) 0 1	5 16
AST U/L median(IQR)	20(17,5-23,5)
ALT U/L median(IQR)	21(17-35)
ALP U/L ortalama±SS	68,8±20,7
GGT U/L median(IQR)	17(14-24)
Lökosit 10 ³ /µL ortalama±SS	7100±1700
Trombosit 10 ³ /µL ortalama±SS	217000±52000
Total bilirubin mg/dl median(IQR)	0,54(0,42-0,73)
Direkt bilirubin mg/dl median(IQR)	0,21(0,14-0,27)
Protrombin zamanı sn median(IQR)	14(13,2-14,3)
INR median(IQR)	1,02(1-1,1)

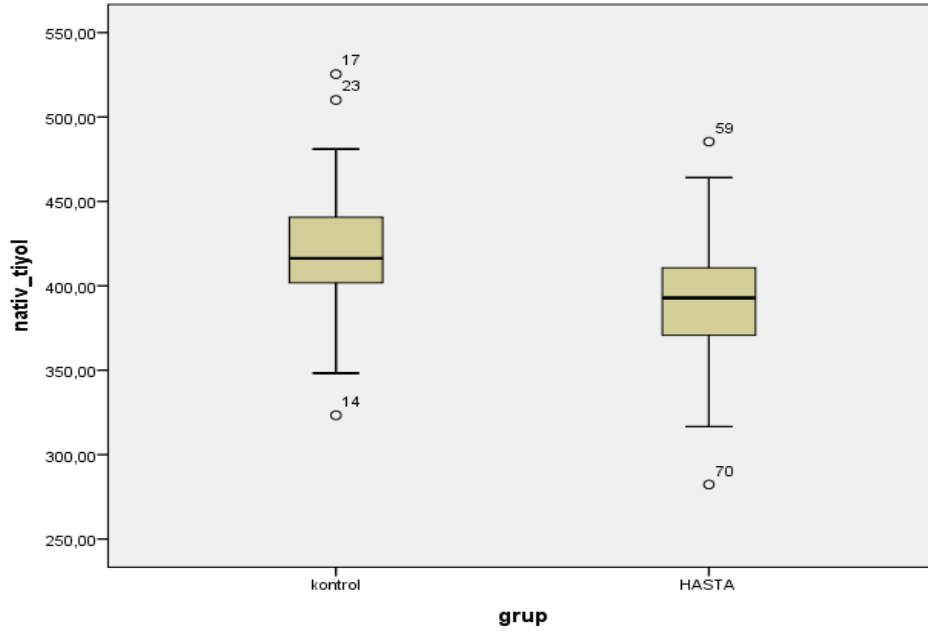
Vaka ve kontrol gruplarının oksidatif stres parametreleri açısından tek değişkenli analiz sonuçları tablo.9’da verilmiştir.

Tablo.9 Grupların oksidadif stres parametreleri açısından tek değişkenli analizleri

Değişken	Vaka grubu n=79 (%60,8)	Kontrol grubu n=51 (%39,2)	P*
Nativ tiyol ortalama±SS	392,3±35,6	419,5±37,8	0,0001 *.π
Total tiyol ortalama±SS	434,2±48,8	461,5±45,3	0,002 *.π
Disülfit median (IQR)	18,5(9,05-30,5)	22,5(14,2-27,9)	0,6
Disülfit/Nativ tiyol median (IQR)	4,8(2,25-7,54)	5,2(3,5-6,4)	0,92
Disülfit/Total tiyol median (IQR)	4,4(2,1-6,5)	4,8(3,3-5,7)	0,92
Nativ/Total tiyol median (IQR)	91,2(86,8-95,6)	90,4(88,5-93,4)	0,92
İMA ortalama±SS	1,03±0,3	0,7±0,29	0,0001 *.π

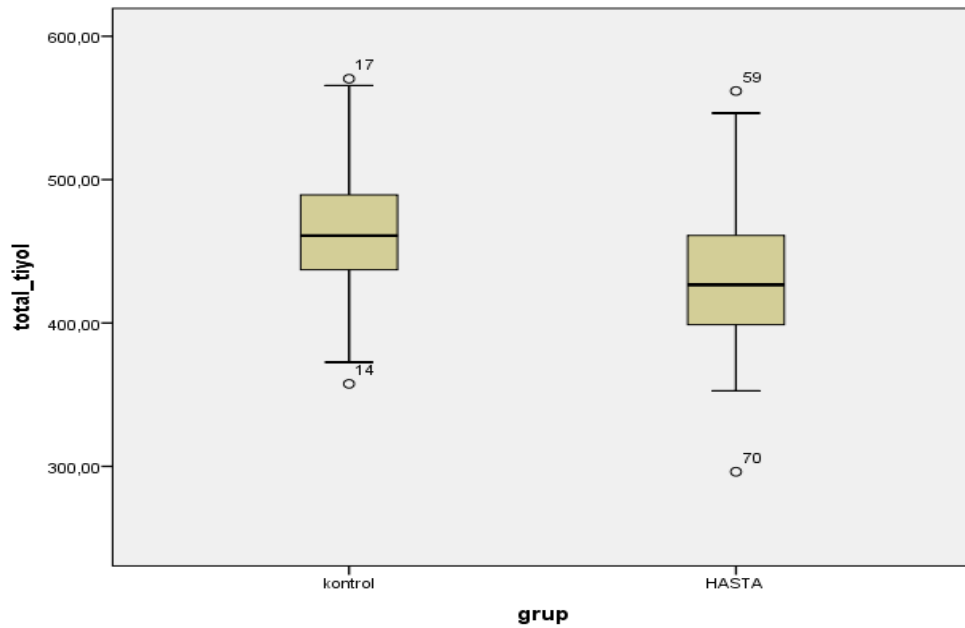
*p<0,05, ^α Mann-Whitney U, ^π Student-T Test

Native tiyol düzeyi ortalaması hasta grubunda 392,3±35,6 kontrol grubunda 419,5±37,8 saptandı. Kontrol grubunda native tiyol düzeyi ortalaması hasta grubuna göre yüksek saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında native tiyol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,0001) (Şekil.6).



Şekil.6 Vaka ve kontrol grubunun nativ tiyol dengesi

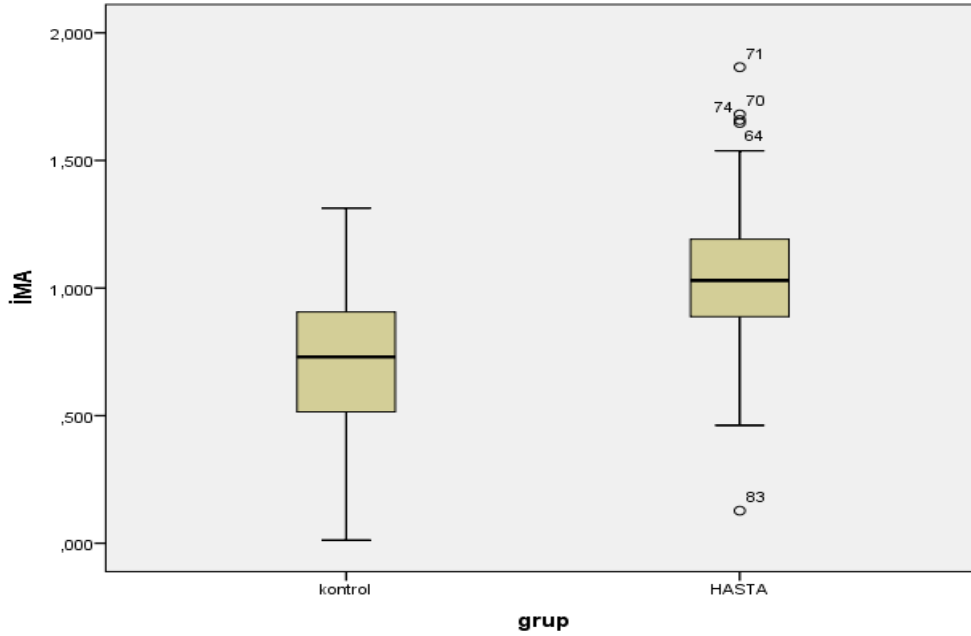
Total tiyol düzeyi ortalaması hasta grubunda $434,2 \pm 48,8$ kontrol grubunda $461,5 \pm 45,3$ saptandı. Kontrol grubunda total tiyol düzeyi ortalaması hasta grubuna göre yüksek saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında total tiyol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,002$) (Şekil.7).



Şekil.7 Vaka ve kontrol grubunun total tiyol dengesi

Disülfit ortalaması hasta grubunda 18,5, kontrol grubunda 22,5 saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında disülfit değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,6$). Ayrıca hesaplama ile elde edilen disülfit/nativ tiyol, disülfit/total tiyol, nativ tiyol/total tiyol oranlarında gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

İMA düzeyi ortalaması hasta grubunda $1,03\pm 0,3$ kontrol grubunda $0,7\pm 0,29$ saptandı. Hasta grubunda İMA düzeyi ortalaması kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında İMA düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,0001$) (Şekil.8). Yaş, cinsiyet, HBV DNA, ALT, AST düzeyleri ve biyopsi skorları ile İMA arasında kuvvetli korelasyon saptanmadı.

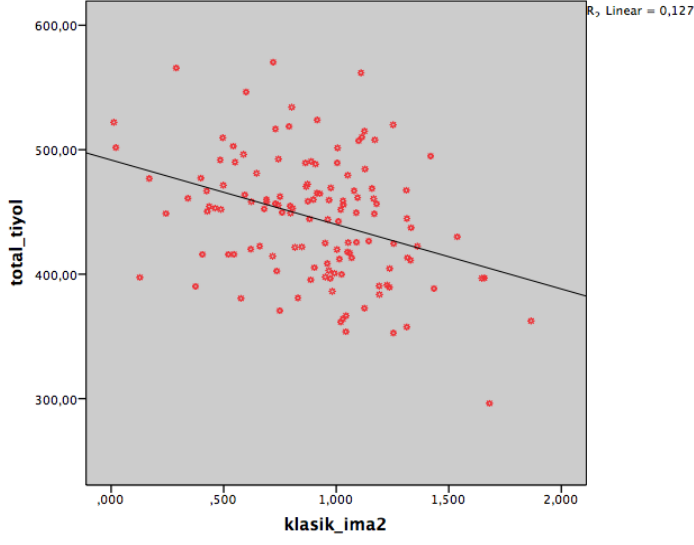


Şekil.8 Vaka ve kontrol grubunun İMA dengesi

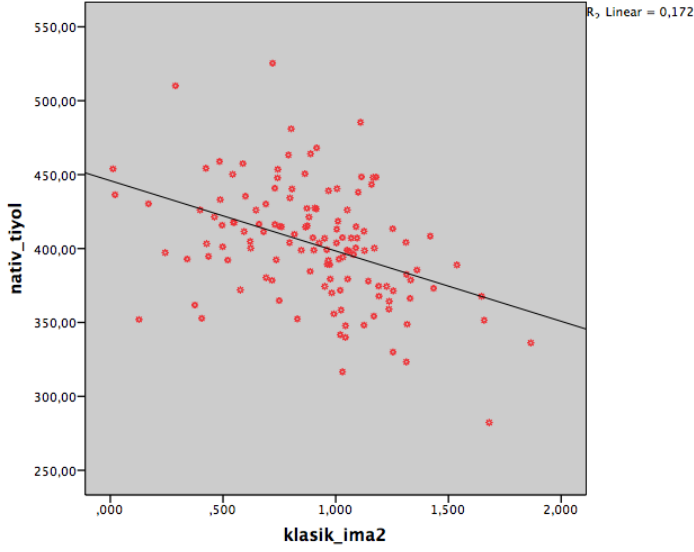
Viral yük, karaciğerin nekroinflamasyonu, fibrozis ile tiyol-disülfit homeostazı arasında kuvvetli korelasyonlar saptanmadı. Bununla birlikte yaş, cinsiyet, ALT, AST düzeyleri ile native tiyol, total tiyol, disülfit ölçümleri arasında korelasyonlar olmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirilmedi.

Çalışmamızda ayrıca, İMA düzeyleri ile total tiyol ve native tiyol arasında negatif yönde kuvvetli korelasyonlar saptanmıştır. Bu sonuç, KHB hastalarında oksidatif stres ile birlikte İMA düzeyleri artarken, tiyol miktarının azaldığını kanıtlamıştır (Şekil.9).

a.



b.



Şekil.9 İMA ile nativ tiyol/total tiyol korelasyonu

- a. İMA ile total tiyol arasında negatif yönde kuvvetli korelasyon
- b. İMA ile nativ tiyol arasında negatif yönde kuvvetli korelasyon

İMA düzeylerini etkileyen faktörleri tahmin etmek için oluşturulan lineer regresyon modeli: $2,26 + (-0,415 * 0,004)$ idi. Bu modele göre native tiyol değerindeki bir birimlik artışın İMA değerinde 0,004 kadar azalmaya neden olduğu görüldü (Tablo.10).

Tablo.10 Bağımsız risk faktörleri ile bağımlı değişkenin backward metodu ile oluşturulan tahmin modeli

	B	SH	β	%95 GA
				Düşük_Yüksek
Sabit	2,36	0,28		1,8_2,9
Nativ-Tiyol	-0,004	0,001	-0,415*	-0,005_-0,002

R²=0,17 (p<0,001). *p<0,001

Modelde yer alan bağımlı değişken: İMA, bağımsız değişken: yaş, nativ tiyol, total tiyol, disülfid, % disülfid/nativ tiyol, % disülfid/total tiyol, % nativ tiyol/total tiyol



5. TARTIŞMA

HBV dünyada en sık görülen kronik hepatit etkenidir. Hepatit B aşısı ilk olarak 1982 yılında uygulamaya girmiştir [76]. Ülkemizde 1998 yılından bu yana ulusal aşı programı kapsamında olmasına rağmen önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Ülkemiz orta endemik bölgeler arasındadır ancak Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgesinde prevalansı %8-14,3'e kadar çıkmaktadır [23].

HBV karaciğerde kronik hepatit ve fibroze neden olur. Tedavi öncesinde nekroz derecesini ve fibrozu belirlemek amacıyla karaciğer biyopsisi yapılmaktadır. Ülkemizde KHB hastalarında tedavi öncesinde bazı kontrendikasyon durumları hariç biyopsi zorunludur. Uyumsuz hasta, kanama eğilimi, protrombin zamanının normalden 4 saniye uzun olması, trombosit sayısının $60.000/mm^3$ 'ün altında olması, hemanjiyom varlığı gibi durumlar kontrendikasyonlar arasında sayılabilir. Hepatit tanısında altın standart bir uygulama olmasına rağmen invaziv olması, yetersiz örnekleme, yanlış değerlendirme, yüksek maliyet gibi sorunlar teşkil etmektedir. Bu nedenlerden dolayı karaciğerin nekroinflamasyon ve fibroz durumunu göstermede biyopsi dışında kullanılacak non-invaziv belirteçler konusunda çok çeşitli çalışmalar mevcuttur ve günümüzde de hala devam etmektedir [77, 78].

Oksidatif stres birçok karaciğer hastalığında önemli rol oynamaktadır. Redoks durumu inflamatuvar, proliferatif ve metabolik karaciğer hastalıklarının prognozuna katkıda bulunmaktadır. Bu hastalıkların patogenezi açıklayabilmek, karaciğer harabiyetinin derecesini ortaya koymak ve tedavi yanıtını izlemek için oksidatif stresin durumu araştırılabilir [79]. Kronik hepatitlerde karaciğer hasarı oluşumunda oksidatif stresin etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [5, 80-83].

Tiyol terimi -SH grubu içeren bileşikleri gösterir. Plazma tiyoller, fizyolojik olaylar üzerinde prooksidan veya antioksidan etkilere sahiptir. Genel olarak antioksidan olarak kabul edilirler. Tiyollerin anti- veya prooksidan etki gösterip göstermeyeceği oksidan stres, fizyolojik koşullar ve sülfür içeren aminoasitlerin ortamdaki konsantrasyon düzeyi tarafından belirlenir. Plazma tiyoller arasında en çok sistein bulunur, homosistein ve glutatyon onu takip eder. Tiyoller oksidatif stres koşulları altında reaksiyona girerek disülfid bağlarına dönüşürler.

Oluşan disülfid bağları tekrar tiyol gruplarına indirgenebilir, böylece dinamik tiyol-disülfid homeostazı korunur [7].

İMA normal şartlarda kobalt, bakır ve nikel gibi metalleri bağlama özelliği bulunan albüminin N terminal ucunun, iskemi, hipoksi ve asidoz gibi durumlarda değişikliğe uğrayarak bu metalleri bağlama yeteneğini kaybetmesi sonrasında oluşan formudur. Albüminin bu formunun kronik kalp hastalıkları, KBH, diyabet, neoplastik hastalıklar ve enfeksiyon durumlarında yükseldiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Kronik karaciğer hastalıklarıyla ilgili birkaç adet çalışma mevcuttur [74, 84].

Literatür taramalarımız dahilinde KHB enfeksiyonunda tiyol-disülfid homeostazı ve İMA düzeylerinin birlikte değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır (Pubmed veri tabanında, 1 Mayıs 2017 tarihine kadar). Bu çalışmada; KHB hastaları ile kontrol grubunda tiyol-disülfid homeostazı ve İMA düzeyleri karşılaştırılmış, bu belirteçlerin KHB hastalığının tanısı, tedavi kararı ve takibinde yararı olup olmadığını araştırmak amacıyla yapılmıştır. Hasta grubunda HBV DNA, ALT ve biyopsi sonuçları ile tiyol-disülfid homeostazı ve İMA sonuçları arasında ilişki olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız Erel yöntemi [7] tiyol-disülfid homeostazını belirlemede kullanılan, total tiyol, nativ tiyol ve disülfid miktarını ölçen bir yöntemdir. Tiyol-disülfid homeostazında daha önceleri sadece tek taraflı olarak tiyol miktarı ölçülebilirken, Erel ve Neşelioğlu'nun [7] 2014 yılında geliştirdiği otomatize spektrofotometrik yöntemle her iki değişken düzeyi de ölçülebilir hale gelmiştir. Çalışma sonucunda KHB hastalarında total tiyol ve nativ tiyol değerlerinin belirgin olarak azaldığı, disülfid düzeylerinde anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Disülfid/ nativ tiyol, disülfid/total tiyol ve nativ tiyol/total tiyol oranlarında iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Duygu ve arkadaşları [80] TOS (total oksidan durum) ve OSI (oksidatif stabilite indeksi) değerlerini, KHB'li hastalarda inaktif taşıyıcılar ve sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulmuştur ($p<0.001$). Aynı çalışmada TAS (total antioksidan durum) ve seruloplazmin seviyeleri ise KHB grubunda en düşük düzeyde saptanmıştır (kontrol grubuna göre, $p<0.001$). Çiftçi ve arkadaşlarının [85] 25 KHB hastası ile yaptığı çalışmada, serum AOPP düzeyleri ile karaciğer transaminazları, viral yük, karaciğer histolojik aktivite indeksi, fibrozis skoru ve trombosit sayısı arasında istatistiksel olarak

anlamli iliŒki saptanmamıŒ, hasta grubunun kısıtlı olması nedeniyle korelasyon analizlerinde anlamli sonuç elde edilemediği dŒnlmŒtr. Bizim alıŒmamızda oksidatif stres parametreleri açısından kronik hepatit ve inaktif taŒıyıcılar arasında istatistiksel olarak anlamli fark saptanmamıŒtır. Ancak HbsAg pozitif olan grupta sağlıklı kontrol grubuna göre oksidatif stres parametreleri belirgin olarak yüksek bulunmuŒtur. Bu sonuç inaktif taŒıyıcı olarak kabul edilen grupta da oksidatif stres sürecinin devam edebileceğini gstermiŒtir.

KHB'de oksidatif stres parametreleri açısından eritrosit MDA düzeylerinin lldğ birçok alıŒma mevcuttur. MDA, oksidatif stres kaynaklı lipid hasarının son ürünüdür [86]. Acar ve arkadaŒları [87] akut ve kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda oluŒan karaciğer hasarında oksidatif stresin rolünü araŒtırmıŒ, eritrosit malonildialdehid (MDA) seviyesini tüm hasta gruplarında kontrol grubuna göre yüksek bulmuŒtur. Eritrosit MDA seviyeleri ile serum ALT seviyeleri arasında korelasyonun olması, oksidatif stresin HBV enfeksiyonunun patogenezinde yer aldığı ve karaciğerdeki inflamasyonun derecesi ile iliŒkili olduğu hipotezini desteklemektedir yorumu yapılmıŒtır. Dede ve arkadaŒları [88] kronik viral hepatitli hastalar ile sağlıklı kontrol grubunun serum MDA değerlerini karŒılaŒtırmıŒ, iki grup arasında anlamli fark tespit etmiŒtir. zenirler ve ark. [89] kronik hepatit C hastalarında, AOPP ve serum MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamli derecede daha yüksek bulmuŒtur. Ayrıca antioksidan parametreleri sağlıklı kontrollere göre anlamli derecede dŒk bulunmuŒtur. Sonuç olarak kronik hepatit C hastalarında oksidatif stresin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz olduğu yorumu yapılmıŒtır. Kaçmaz ve arkadaŒları [90] akut ve kronik hepatit B'li hastalarda oksidasyona direnci araŒtırmıŒ, kontrol grubuna göre tüm hasta gruplarında anlamli yüksek MDA düzeyleri tespit edilmiŒtir. Akut HBV'li hastaların oksidasyona direnci, diğer gruplara göre anlamli olarak dŒk bulunmuŒ ve elde edilen bulgulara göre, serbest oksijen radikalleri ve antioksidan sistemin viral hepatit patogenezinde rol aldığı vurgusu yapılmıŒtır. Benzer olarak Kılıç ve arkadaŒları [91] KHB'li grupta MDA düzeylerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamli düzeyde yüksek bulmuŒ, ancak bu parametreler ile viral yük, karaciğerin nekroinflamasyonu ve fibrozis arasında korelasyon gzlenmemiŒtir. Kaya ve arkadaŒları [92] HBV ile enfekte hastalarda bazı antioksidan enzim aktivitelerinde dŒme ile MDA seviyelerinde bir artıŒ olduğunu gstermiŒ ancak bu deđiŒikliklerin hastalardaki viral yük ile iliŒkili olmadığını saptamıŒlardır.

Oksidatif stres sonucu etkilenen birçok molekül ve bu moleküllerin üstlendiği görevler olduğu bilinmektedir. Tiyol-disülfid homeostazı protein yapıların stabilizasyonuna ek olarak reseptör, taşıyıcı, Na-K kanalı, transkripsiyon, protein ve enzim fonksiyonlarının regülasyonu gibi hücre düzeyinde birçok görevi vardır. Bu açıdan bakıldığında tiyol-disülfid homeostazının hangi yöne kaydığına tespiti ile oksidatif stres durumu hakkında güçlü bir bilgi elde edilebileceği düşünülmüştür [7]. Çalışmamız, KHB hastalarında tiyol-disülfid homeostazı ve İMA düzeylerini birlikte değerlendiren ilk çalışma olmuş, bu hastalarda total tiyol ve nativ tiyol düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuş, disülfid bağlarının tiyol bağlarına geri dönüşümünde sorunlar olduğu kanıtlanmıştır. Ancak tiyol-disülfid homeostaz parametreleri ile karaciğerin nekroinflamasyonu ve fibrozis arasında korelasyon saptanmamıştır. Ayrıca HBV DNA ile tiyol-disülfid homeostazı arasında pozitif veya negatif yönde korelasyon saptanmamıştır. Bu durumun immüntolerans özelliği gösteren hastalarda HBV DNA değerlerinin yüksek olmasına rağmen karaciğerde nekroinflamasyonun yok denecek kadar az olmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Oksidatif stres parametreleri ile HBV DNA, ALT ve biyopsi sonuçları arasında korelasyon açısından değerlendirme yapmak için daha geniş çaplı, büyük hasta grupları ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Coşkun ve arkadaşları [93] diyabetik ve diyabetik olmayan KBH'nda tiyol-disülfid homeostazı ve ileri protein oksidasyon ürünlerini (AOPP) değerlendirmiş, total tiyol ve serbest tiyol düzeyleri KBH'nda anlamlı derecede düşük bulmuştur. Disülfid değerlerinde ise iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Ateş ve arkadaşları [94] kronik böbrek hastalarında ortalama serum tiyol ($p<0.001$), total tiyol ($p<0.001$) ve disülfid miktarını ($p<0.001$) kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha düşük bulmuştur. Kronik böbrek hastaları ve kontrol grubu arasında disülfid/tiyol, disülfid/total tiyol ve nativ tiyol/total tiyol oranları açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Altıparmak ve arkadaşları [95] koroner arter hastalığının (KAH) ciddiyeti ile tiyol-disülfid homeostazı arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Native tiyol, total tiyol ve disülfid değerleri kontrol grubunda daha yüksek izlenmiş, disülfid/tiyol, disülfid/total tiyol ve nativ tiyol/total tiyol oranlarında anlamlı fark saptanmamıştır. Sonuç olarak tiyollerin azalmasının KAH gelişmesinde önemli bir faktör olabileceği yorumu yapılmıştır. İhsan ve arkadaşlarının [96] yaptığı primer hipertansiyonda tiyol-disülfid dengesini araştıran bir çalışmada, hasta grubunda disülfid/nativ tiyol ve disülfid/total tiyol düzeyleri, kontrol grubunda ise native tiyol ve total tiyol düzeyleri anlamlı

olarak yüksek bulunmuştur. Hasta grubu ile kontrol grubu disülfid düzeyleri arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Bizim çalışmamızda da hasta grubunda total tiyol ve nativ tiyol oranları anlamlı olarak azalmış, disülfid ölçümlerinde anlamlı değişiklik saptanmamıştır. Bu durum, KHB’de serum tiyol düşüklüğünün sadece tiyol gruplarının disülfite çevrimine değil, vücuttaki total tiyol rezervinin de azalmasına bağlı olduğunu kanıtlamıştır. Sonuç olarak KHB’de dengenin disülfid yönüne kaymasından ziyade total antioksidan kapasitenin azaldığı gösterilmiştir.

İMA oksidatif stresle ilişkili olduğu kanıtlanmış yeni bir akut koroner sendrom belirteçidir. İMA oluşabilmesi için reaktif oksijen türlerinin ortamda bulunması gereklidir [15]. Jalan ve arkadaşları [97] alkolik siroz hastalarında mortalite ile İMA düzeylerini inceleyen bir çalışma yapmış, İMA düzeyi ölen hastalarda yaşayan hastalardan daha yüksek bulunmuştur. İMA değerlerinin hastalık şiddeti ile ilişkili olduğu ve akut-kronik karaciğer yetmezliğinde prognostik öneme sahip olabileceği yorumu yapılmıştır. Zuwala-Jagiello ve arkadaşları [98] kronik hepatit C hastalarında oksidatif stres ve diyabet ilişkisini araştırmış, kronik HCV hastalarında İMA ve AOPP düzeylerinde anlamlı bir artış olduğunu kanıtlamıştır. Ek olarak, İMA’in inflamasyon belirteçleri ve diyabet prevalansı ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Bu gözlem, diyabeti olan kronik hepatit C hastalarında İMA ve inflamasyon arasında bir ilişki olduğunu ve bu popülasyonda hızlı ilerleyen aterosklerozda yer alan mekanizmalardan birini temsil edebileceği yorumu yapılmıştır.

Yavuz ve arkadaşları [99] KHB’li hastalarda serum İMA düzeyleri ile fibrozis ilişkisini araştırmış, İMA düzeyi KHB’li hastalarda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Fibrozis evresine göre gruplara ayrılan hastalarda, fibrozis derecesi arttıkça İMA’in da artışı istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Chen ve arkadaşları [74] kronik hepatit, siroz ve üremik hastalarda İMA düzeylerini sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmış, kronik hepatit ve siroz grubundan İMA düzeyleri belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Çakır ve arkadaşları [84] kronik karaciğer hastalığı olan çocuklarda İMA düzeylerinin sağlıklı çocuklara göre anlamlı olarak arttığını saptamıştır.

Çalışmamızda İMA değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulunmuş ($p=0,0001$), KHB hastalarında serbest oksijen radikal düzeyinin sağlıklı kişilere göre daha fazla olduğunu göstermiştir. Ayrıca total tiyol ve nativ tiyol ile İMA

arasında negatif yönde kuvvetli korelasyon saptanmıştır. Native tiyol değerindeki bir birimlik artış, İMA değerinde 0,004 kadar azalmaya karşılık gelmiştir. Gelecekte tiyol-disülfid homeostazı ile İMA arasındaki ilişkiyi ele alan geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Hasta grubumuzun sadece KHB'ye bağlı kronik hepatit hastalarından oluşması, tiyol-disülfid homeostazı ve İMA düzeylerini etkileyebilecek diğer kronik hastalıkların dışlanmış olması çalışmanın avantajları olarak değerlendirilmiştir. Dezavantajlar olarak; HBV DNA >2000 IU/ml olup karaciğer enzimlerinin normal sınırlarda olduğu hastaların sayıca fazla olması, buna bağlı olarak hasta grubunda biyopsi yapılanların az olması, kontrol grubunun yaş ortalaması olarak daha genç olması ve süre kısıtlılığı nedeniyle özellikle tedavi başlanan hastalarda seri ölçümlerin yapılamaması sayılabilir. Bulduğumuz sonuçları doğrulaması için daha geniş hasta grubu ile eşleştirilmiş kontrollü çalışmalara gereksinim vardır.

6. SONUÇ

Çalışmamızda KHB'li hastalarda, son zamanlarda oksidatif stres parametreleri arasında önemli bir yer edinen tiyol-disülfid homeostazı ve İMA düzeyleri değerlendirildi. Hasta grubunda total tiyol, nativ tiyol ve İMA değerleri kontrol grubuna göre belirgin azalmış görüldü. Viral yük, karaciğerin nekroinflamasyon ve fibrozis derecesi ile bu değerler arasında kuvvetli ilişki saptanmadı. İMA ile total tiyol/nativ tiyol arasında negatif yönde kuvvetli korelasyon saptandı.

Serum İMA, total tiyol ve nativ tiyol değerleri gelecekte KHB'li hastaların takibinde, tedavi kararı aşamasında ve prognozu değerlendirmede kullanılabileceği düşünüldü. Disülfid değerleri için aynı yorum yapılamadı. Elde edilen sonuçların, KHB hastalarında total antioksidan kapasitenin azalmış olduğu düşünüldü.

Yapılan bu araştırmanın KHB'de tiyol-disülfid homeostazı ve İMA düzeylerini birlikte değerlendiren ilk çalışma olması ve çalışma grubunun kısıtlı olması nedeniyle, hasta grubunun sayıca daha fazla olduğu ve çeşitlilik içerdiği çalışmalara yol gösterici olacağı kanısındayız.

7. KAYNAKLAR

1. Thomas D, Zoulim F. New challenges in viral hepatitis. *Gut*. 2012;61(Suppl 1): i1-i5.
2. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *Journal of Viral Hepatitis*. 2004;11(2): 97-107.
3. Yapali S, Talaat N, Lok AS. Management of hepatitis B: 2000 summary of a workshop. *Gastroenterology*. 2001;120(7): 1828-1853.
4. Akhan S, Aynoğlu A, Çağatay A, et al. Kronik hepatit B virusu infeksiyonunun yonetiimi: Turk Klinik Mikrobiyoloji ve Infeksiyon Hastaliklari Derneği Viral Hepatit Calisma Grubu Uzlasti Raporu. *Klimik derg*. 2014;27(suppl 1): 2-18.
5. Bolukbas C, Bolukbas FF, Horoz M, et al. Increased oxidative stress sssociated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis b virus infection. *Bmc Infectious Diseases*. 2005;5(1): 95.
6. Dikici İ, Mehmetoglu I, Dikici N, et al. İntestigation of oxidative stress and some antioxidants in patients with acute and chronic viral hepatitis b and the effect of interferon- α treatment. *Clinical Biochemistry*. 2005;38(12): 1141-1144.
7. Erel O and Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clinical Biochemistry*. 2014;47(18): 326-332.
8. Reddy CB, Cyriac C and Desle HB. Role of "ischemia modified albumin"(ima) in acute coronary syndromes. *Indian Heart Journal*. 2014;66(6): 656-662.
9. Topaloglu N, Yildirim S, Tekin M, et al. Mean platelet volume and ischemia modified albumin levels in cord blood of infants of diabetic mothers. *Pediatrics & Neonatology*. 2014;55(6): 455-458.
10. Sharma R, Gaze DC, Pellerin D, et al. Ischemia-modified albumin predicts mortality in esrd. *American Journal of Kidney Diseases*. 2006;47(3): 493-502.
11. Aydin O, Ellidag HY, Eren E, et al. Ischemia modified albumin is an indicator of oxidative stress in multiple sclerosis. *Biochemia Medica*. 2014;24(3): 383-389.
12. Prashanth A and Anand U. Clinical significance of ischemia modified albumin in critically ill patients with sepsis. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2015;30(2): 194-197.

13. Gurumurthy P, Borra SK, Yeruva RK, et al. Estimation of ischemia modified albumin (ima) levels in patients with acute coronary syndrome. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2014;29(3): 367-371.
14. Rossi A, Bortolotti N, Vescovo S, et al. Ischemia-modified albumin in pregnancy. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and reproductive Biology*. 2013;170(2): 348-351.
15. Bar-or D, Lau E and Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report. *The Journal of Emergency Medicine*. 2000;19(4): 311-315.
16. Altunoglu E, Guntas G, Erdenen F, et al. Ischemia-modified albumin and advanced oxidation protein products as potential biomarkers of protein oxidation in Alzheimer's disease. *Geriatrics & Gerontology International*. 2015;15(7): 872-880.
17. Koziel MH, Thio CL. Hepatitis b virüs and hepatitis d virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th ed, 2010: 2059-2086.
18. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis b virus infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12(2): 351-366.
19. Özacar T. Hepatit b virüsü. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 2008. Nobel tıp kitapçevleri.
20. Valsamakis A. Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis b. *Clinical Microbiology Reviews*. 2007;20(3): 426-439.
21. McMahan BJ. Natural history of chronic hepatitis b—clinical implications. *The Medscape Journal of Medicine*. 2008;10(4): 91.
22. Leblebicioglu H and Eroglu C. Acute hepatitis b virus infection in turkey: epidemiology and genotype distribution. *Clinical Microbiology and Infection*. 2004;10(6): 537-541.
23. Toy M, Önder FO, Wörmann T, et al. Age-and region-specific hepatitis b prevalence in turkey estimated using generalized linear mixed models: a systematic review. *Bmc Infectious Diseases*. 2011;11(1): 337.
24. Weinbaum CM, Mast EE, Ward JW, et al. Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis b virus infection. *Mmwr Recomm Rep*. 2008;57(rr-8): 1-20.

25. Kim W. Epidemiology of hepatitis b in the united states. *Hepatology*. 2009;49(s5).
26. Güçlü E. Hepatit b enfeksiyonu ve korunma. *Konuralp Tıp Dergisi*. 2012;4(2): 54-58.
27. Beltrami EM, Williams IT, Shapiro CN, et al. Risk and management of blood-borne infections in health care workers. *Clinical Microbiology Reviews*. 2000;13(3): 385-407.
28. Werner BG and Grady GF. Accidental hepatitis-b-surface-antigen-positive inoculations: use of e antigen to estimate infectivity. *Annals of Internal Medicine*. 1982;97(3): 367-369.
29. Ni YH. Natural history of hepatitis b virus infection: pediatric perspective. *Journal of Gastroenterology*. 2011;46(1): 1-8.
30. Saveci E. Gebelerde hepatit b seroprevalansı. 2006, Taksim eğitim ve araştırma hastanesi.
31. Kıyan M. Hepatit B virusu. In: Tekeli E, Balık İ (ed). *Viral Hepatit 2003*. 1.Baskı, İstanbul: Viral Hepatitle Savasım Derneği, 2003: 86-120.
32. Alter MJ. Epidemiology and prevention of hepatitis b. *Semin liver dis*. 2003;23(1): 39-46
33. Nester EW. *Microbiology: a human perspective*. 6 ed. 2009.
34. Murray JM, Purcell RH and Wieland SF. The half-life of hepatitis b virions. *Hepatology*. 2006;44(5): 1117-1121.
35. Le Mire MF, Miller DS, Foster WK, et al. Covalently closed circular dna is the predominant form of duck hepatitis b virus dna that persists following transient infection. *Journal of Virology*. 2005;79(19): 12242-12252.
36. Kao JH. Role of viral factors in the natural course and therapy of chronic hepatitis b. *Hepatology International*. 2007;1(4): 415-430.
37. Schaefer S. Hepatitis b virus taxonomy and hepatitis b virus genotypes. *World Journal of Gastroenterology*. 2007;13(1): 14.
38. Hawkins AE, Gilson RJ, Gilbert N, et al. Hepatitis b virus surface mutations associated with infection after liver transplantation. *Journal of Hepatology*. 1996;24(1): 8-14.
39. Dienstag JL and Isselbacher K. Acute viral hepatitis. *Harrisons Principles of Internal Medicine*. 1998: 1677-1691.

40. Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H, et al. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for hbeag-positive chronic hepatitis b: a randomised trial. *The Lancet*. 2005;365(9454): 123-129.
41. Guidotti LG and Chisari FV. Cytokine-mediated control of viral infections. *Virology*. 2000;273(2): 221-227.
42. Ganem D and Prince AM. Hepatitis b virus infection—natural history and clinical consequences. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(11): 1118-1129.
43. Değertekin B. Hepatit b patogenezi, doğal seyri ve kliniği. *Turkiye Klinikleri Journal of Gastroenterohepatology Special Topics*. 2010;3(1): 45-52.
44. Yapali S, Talaat N and Lok AS. Management of hepatitis b: our practice and how it relates to the guidelines. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2014;12(1): 16-26.
45. Easl clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis b virus infection. *Journal of Hepatology*. 2012;57(1): 167-185.
46. Easl international consensus conference on hepatitis b. *Journal of Hepatology*. 2003;39: 3-25.
47. Easl 2017 clinical practice guidelines on the management of hepatitis b virus infection. *Journal of Hepatology*, 2017.
48. Liaw YF and ChU CM. Hepatitis b virus infection. *The Lancet*. 2009;373(9663): 582-592.
49. Sede M, Lopez-Ledesma M, Frider B, et al. Hepatitis b virus depicts a high degree of conservation during the immune-tolerant phase in familiarly transmitted chronic hepatitis b infection: deep-sequencing and phylogenetic analysis. *Journal of Viral Hepatitis*. 2014;21(9): 650-661.
50. Akçam FZ. Hepatit b virüsü enfeksiyonu. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*. 2003;10(12): 240.
51. Mauss S, Berg T, Rockstroh J, et al. *Hepatology-a clinical textbook*. 2014.
52. Martinot-Peignoux M, Boyer N, Colombat M, et al. Serum hepatitis b virus dna levels and liver histology in inactive hbsag carriers. *Journal of Hepatology*. 2002;36(4): 543-546.
53. Hadziyannis SJ and Vassilopoulos D. Hepatitis b e antigen—negative chronic hepatitis b. *Hepatology*. 2001;34(4): 617-624.

54. Lok A, Akarca U and Greene S. Mutations in the pre-core region of hepatitis b virus serve to enhance the stability of the secondary structure of the pre-genome encapsidation signal. *Proceedings of The National Academy of Sciences*. 1994;91(9): 4077-4081.
55. Krajden M, McNabb G and Petric M. The laboratory diagnosis of hepatitis b virus. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2005;16(2): 65-72.
56. Özdemir D, Cesur S, Çiftçi A, et al. Kronik hepatit b'li hastalarda hbv dna'nin önemi. *Viral Hepatit Dergisi*. 2001;7: 279.
57. Fauci AS. *Harrison's principles of internal medicine*. vol. 2. 2008
58. Mccuskey R. Anatomy of the liver. *Zakim and Boyer's Hepatology: a textbook of liver disease*, 2012;3-19.
59. Bataller R and Brenner DA. Liver fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*. 2005;115(2): 209.
60. Chang TT, Liaw YF, Wu SS, et al. Long-term entecavir therapy results in the reversal of fibrosis/cirrhosis and continued histological improvement in patients with chronic hepatitis b. *Hepatology*. 2010;52(3): 886-893.
61. Grant A and Neuberger J. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. *Gut*. 1999;45(suppl 4): iv1-iv11.
62. Brunt EM. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: the knodell histology activity index and beyond. *Hepatology*. 2000;31(1): 241-246.
63. Bedossa P and Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis c. *Hepatology*. 1996;24(2): 289-293.
64. Jones DP, and Liang Y. Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*. 2009;47(10): 1329-1338.
65. Kundi H, Ates I, Kiziltunc E, et al. A novel oxidative stress marker in acute myocardial infarction; thiol/disulphide homeostasis. *The American Journal of Emergency Medicine*. 2015;33(11): 1567-1571.
66. Ates I, Kaplan M, Yuksel M, et al. Determination of thiol/disulphide homeostasis in type 1 diabetes mellitus and the factors associated with thiol oxidation. *Endocrine*. 2016;51(1): 47-51.

67. Ozler S, Erel O, Oztas E, et al. Serum thiol/disulphide homeostasis in preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy*. 2015;34(4): 474-485.
68. Ates I, Ozkayar N, Inan B, et al. Dynamic thiol/disulphide homeostasis in patients with newly diagnosed primary hypertension. *Journal of The American Society of Hypertension*. 2016;10(2): 159-166.
69. Yuksel M, Ates I, Kaplan M, et al. The dynamic thiol/disulphide homeostasis in inflammatory bowel disease and its relation with disease activity and pathogenesis. *International Journal of Colorectal Disease*. 2016;31(6): 1229-1231.
70. Dogru A, Balkarli A, Cetin GY, et al. Thiol/disulfide homeostasis in patients with ankylosing spondylitis. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 2016;16(3): 187.
71. Lippi G, Montagnana M and Guidi GC. Albumin cobalt binding and ischemia modified albumin generation: an endogenous response to ischemia? *International Journal of Cardiology*. 2006;108(3): 410-411.
72. Bhagavan NV, Lai EM, Rios PA, et al. Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. *Clinical Chemistry* 2003;49(4): 581-585.
73. Özdemir F. Yeni tanı almış hipotiroid ve hipertiroid hastalarında iskemi-modifiye albümin düzeylerinin araştırılması. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2011.
74. Chen CY, Tsai WL, Lin PJ, et al. The value of serum ischemia-modified albumin for assessing liver function in patients with chronic liver disease. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2011;49(11): 1817-1821.
75. Kosem A, Hakligor A and Yucel D. Effects of calcium (ii), magnesium (ii), copper (ii) and iron (ii) ions on ischemia modified albumin. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2008;33(1): 31-34.
76. Shepard CW, Simard EP, Finelli L, et al. Hepatitis b virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiologic Reviews*. 2006;28(1): 112-125.
77. Marcellin P, Ziol M, Bedossa P, et al. Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement in patients with chronic hepatitis b. *Liver International*. 2009;29(2): 242-247.
78. Castera L. Noninvasive methods to assess liver disease in patients with hepatitis b or c. *Gastroenterology*. 2012;142(6): 1293-1302.

79. Cichoż-lach H and Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(25): 8082.
80. Duygu F, Karsen H, Aksoy N, et al. Relationship of oxidative stress in hepatitis b infection activity with hbv dna and fibrosis. *Annals of Laboratory Medicine*. 2012;32(2): 113-118.
81. Guler SA, Tolun FI, Ucmak H, et al. Relationship between antioxidant capacity and oxidative stress in patients with chronic hepatitis b. *Advance Laboratory Med Int*. 2014;4(1): 17-25.
82. Swietek K and Juszczak K. Reduced glutathione concentration in erythrocytes of patients with acute and chronic viral hepatitis. *Journal of Viral Hepatitis*. 1997;4(2): 139-141.
83. Demirdag K, Yilmaz S, Ozdarendeli A, et al. Levels of plasma malondialdehyde and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with chronic hepatitis b. *Hepatogastroenterology*. 2003;50(51): 766-770.
84. Cakir M, Karahan SC, Mentese A, et al. Ischemia-modified albumin levels in children with chronic liver disease. *Gut and Liver*. 2012;6(1): 92.
85. Çifci A, Barut HŞ, Cesur S, et al. The investigation of the relationship between serum advanced oxidation protein product (aopp) levels and laboratory findings in patients with chronic hepatitis b. *Ortadogu Medical journal/Ortadogu Tıp Dergisi*. 2015;7(4).
86. Eken A. Rat kan ve doku örneklerinde oksidatif stres parametreleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. 2010.
87. Acar A, Gorenek L, Aydın A, et al. Investigation of oxidative stress and antioxidant defense in patients with hepatitis b virus infection and the effect of interferon-alpha plus lamivudine combination therapy on oxidative stress. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 2009;43(3): 411-423.
88. Dede F, Köş M, Bukan N, et al. The evaluation of oxidative stress parameters in chronic viral hepatitis/Kronik viral hepatitli hastalarda oksidatif stres parametrelerinin değerlendirilmesi. *Istanbul Medical Journal*. 2011;12(4): 175-181.
89. Özenirler S, Erkan G, Gülbahar O, et al. Serum levels of advanced oxidation protein products, malonyldialdehyde, and total radical trapping antioxidant parameter in patients with chronic hepatitis c. *Turkish Journal of Gastroenterology*. 2011;22(1): 47-53.

90. Kaçmaz B, Ögüş E, Paşaoğlu H, et al. Akut ve kronik viral hepatitli hastalarda lipid peroksidasyonu ve oksidasyona direncin incelenmesi. *Viral Hepatit Dergisi*. 2001;7: 374-8.
91. Kılıç N, Kalkan A, Özden M, et al. Hbeag pozitif kronik hepatit b olgularında serum malondiyaldehit düzeyinin karaciğer histopatolojisi ve interferon tedavisi ile ilişkisi. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*. 2005;19(1): 5-9.
92. Kaya S, Sütçü R, Çetin ES, et al. Hepatit b virusü ile enfekte hastalarda viral yük ile lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimler arasındaki ilişki. *Türk Klinik Biyokimya Derg*. 2006;4(2): 77-82
93. Coşkun C, Emre HÖ, Gümüş A, et al. Diyabetik ve diyabetik olmayan kronik böbrek yetmezliğinde dinamik tiyol disülfid homeostazı ve ileri protein oksidasyon ürünleri (aopps). *Deneysel Tıp Dergisi*. 2016;6(12).
94. Ateş I, Özkayara N, Yılmaz FM, et al. Oxidative stress level in patients with chronic kidney disease. *Ortadoğu Medical Journal/Ortadoğu Tıp Dergisi*. 2017.
95. Altıparmak İH, Erkus MH, Sezen H, et al. The relation of serum thiol levels and thiol/disulphide homeostasis with the severity of coronary artery disease. *Kardiologia Polska (Polish Heart Journal)*. 2016;74(11): 1346-1353.
96. Ateş İ, Özkayar N, İnan B, Yılmaz FM, et al. Yeni tanı hipertansiyon hastalarında tiyol disülfid dengesi. 17. Ulusal Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Kongresi sözel bildiri. 2015(5).
97. Jalan R, Schnurr K, Mookerjee RP, et al. Alterations in the functional capacity of albumin in patients with decompensated cirrhosis is associated with increased mortality. *Hepatology*. 2009;50(2): 555-564.
98. Zuwała-Jagiełło J, Warwas M, and Pazgan-Simon M. Ischemia-modified albumin (ima) is increased in patients with chronic hepatitis c infection and related to markers of oxidative stress and inflammation. *Acta Biochimica Polonica*. 2012;59(4).
99. Yavuz F, Biyik M, Asil M, et al. Serum ischemic modified albumin (ima) concentration and ima/albumin ratio in patients with hepatitis b-related chronic liver diseases. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 2017;47(3): 947-953.