

**T.C.**  
**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı**

**KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONLU ÇOCUKLARDA KARACİĞER**  
**FİBROZİSİNİN NONİNVAZİV TANI METODLARI İLE**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**( UZMANLIK TEZİ )**

**DR. FERDA DOĞAN BOZYİĞİT**

**TEZ DANIŞMANI**

**DOÇ. DR. ECE ONUR**

**MANİSA 2010**

**T.C.**  
**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı**

**KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONLU ÇOCUKLARDA KARACİĞER**  
**FİBROZİSİNİN NONİNVAZİV TANI METODLARI İLE**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**( UZMANLIK TEZİ )**

**DR. FERDA DOĞAN BOZYİĞİT**

**TEZ DANIŞMANI**

**DOÇ. DR. ECE ONUR**

**MANİSA 2010**

## ÖNSÖZ

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince verdikleri destek ve katkılarından dolayı başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Zeki ARI'ya, tez danışmanım ve bu çalışmamdaki en büyük destekçim Doç. Dr. Ece ONUR'a, değerli hocalarımdan Doç. Dr. Ahmet VAR'a, Doç. Dr. Cevval ULMAN'a, Doç. Dr. Fatma TANELİ'ye,

Yardımlarından dolayı Pediatri Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Prof. Dr. Erhun Kasırğa'ya, Dr. Fatih Ünal'a, Dr. Necat Alataş'a ve Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu çalışanlarına,

Dört yıl boyunca çalışmalarımızı uyumlu bir şekilde yürüttüğümüz, iyi ve kötü zamanlarda birbirimize destek olduğumuz; Yard.Doç.Dr. Yeşim GÜVENÇ'e, Dr. Özlem GÜNAY'a, Dr. Metin DEMİR'e, Dr. Nesrin ÖZLEN'e, Dr. Derya GÜLEÇ'e, Dr. Gürol Şahin ULUTAŞ'a, Dr. Esat KILIÇ'a, Dr. Nurser ARİFOĞLU'na, Dr. Turgut AKTAŞ'a, Dr. Mehmet ÇALKAN'a, Dr. Ferhunde PULULAR'a, Dr. Soner ERDİN'e, Dr. Aysun BİLGİ'ye, Dr. Sezen IRMAK'a, Dr. Sema BİLGE'ye, Dr. Ceyhun GÖZÜKARA'ya,

Berber çalıştığım tüm teknisyen arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme, birlikteliğimiz boyunca desteğini, anlayışını ve sevgisini esirgemeyen sevgili eşime ve yaşam sevincim oğluma, en içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Ferda DOĞAN BOZYİĞİT  
Manisa 2010

## İÇİNDEKİLER

<b>I. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>II. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
<b>II. 1. KARACİĞER HİSTOLOJİSİ</b>	<b>3</b>
<b>II. 2. KARACİĞER FİBROZİSİ</b>	<b>4</b>
<b>II. 2. 1. Kupffer Hücresi ( Karaciğer Makrofaj Hücresi )</b>	<b>6</b>
<b>II. 2. 2. Hepatik Stellat Hücre (HSH)</b>	<b>7</b>
<b>II. 2. 3. Ekstrasellüler Matriks (ESM)</b>	<b>8</b>
<b>II. 2. 4. Ekstrasellüler Matriks Bileşenleri</b>	<b>9</b>
<b>II. 2. 4. 1. Proteinler</b>	<b>9</b>
<b>II. 2. 4. 2. Glikoproteinler</b>	<b>9</b>
<b>II. 2. 4. 3. Proteoglikanlar</b>	<b>10</b>
<b>II. 3. FİBROZİS PATOGENEZİ</b>	<b>10</b>
<b>II. 3. 1. Hepatik Stellat Hücrelerin Aktivasyonu</b>	<b>12</b>
<b>II. 4. HEPATİT B VİRUS ENFEKSİYONU</b>	<b>15</b>
<b>II .5. KARACİĞER FİBROZİSİNDE KULLANILAN TANIMETODLARI</b>	<b>18</b>
<b>II. 5. 1. İnvaziv Tanı Metodları</b>	<b>19</b>
<b>II .5. 1. 1. Karaciğer Biyopsisi</b>	<b>19</b>
<b>II .5 . 2. Noninvaziv Tanı Metodları</b>	<b>22</b>
<b>II. 5. 2. 1. Görüntüleme Yöntemleri</b>	<b>23</b>
<b>II. 5. 2. 2. Matriks Değişim Süreci ile ilişkili Belirteçler</b>	<b>24</b>
<b>II. 5. 2. 2. 1. Matriks Birikimi ile İlgili Belirteçler</b>	<b>24</b>
<b>II. 5. 2. 2. 2. Matriks Yıkımı ile İlgili Belirteçler</b>	<b>26</b>
<b>II. 5. 2. 2. 3. Fibroenez ile İlişkili Sitokinler</b>	<b>28</b>
<b>II. 5. 2. 3. Panel Testler ve Diğer Biyokimyasal Belirteçler</b>	<b>28</b>
<b>III. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>31</b>
<b>III. 1. ARAÇ VE GEREÇ</b>	<b>31</b>
<b>III. 2. YÖNTEM</b>	<b>32</b>
<b>III. 2. 1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması</b>	<b>32</b>
<b>III. 2. 2. Çalışma Düzeni</b>	<b>32</b>
<b>III. 2 .3. Kan Örneklerinin Alınması</b>	<b>32</b>
<b>III. 2. 4. Biyokimyasal Analizler</b>	<b>32</b>
<b>III. 2 .4. 1. Fibrotest - Aktitest Tayini</b>	<b>32</b>
<b>III. 2. 4. 2. Serum YKL-40 Tayini</b>	<b>33</b>

III. 2. 4. 3. MMP-9 Tayini	33
III. 2. 4. 4. Kollagen IV Tayini	34
III. 3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	34
IV. BULGULAR	36
V. TARTIŞMA	67
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
VII. ÖZET	79
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	81
IX. KAYNAKLAR	82

## KISALTMALAR

<b>AT-II:</b>	Angiotensin-II
<b>CTGF:</b>	Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
<b>CINC:</b>	Sitokinle Uyarılan Nötrofil Kemoatraktan Protein
<b>DM:</b>	Diabetes Mellitus
<b>EGF:</b>	Epidermal Büyüme Faktörü
<b>ET-1:</b>	Endotelin-1
<b>ESM:</b>	Ekstrasellüler Matriks
<b>FGF:</b>	Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>HBV:</b>	Hepatit B Virusu
<b>HSH:</b>	Hepatik Stellat Hücreler
<b>IGF-1:</b>	İnsülin Büyüme Faktörü
<b>IL-1:</b>	İnterlökin
<b>IFN-<math>\alpha</math>:</b>	İnterferon- $\alpha$
<b>IFN-<math>\delta</math>:</b>	İnterferon- $\delta$
<b>MCP-1:</b>	Monosit Kemotaktik Protein-1
<b>M-CSF:</b>	Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
<b>MMP-9:</b>	Matriks Metalloproteinaz-9
<b>NO:</b>	Nitrit Oksit
<b>PAF:</b>	Trombosit Aktive Edici Faktör
<b>PDGF:</b>	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
<b>PG:</b>	Prostoglandin
<b>PAI-1:</b>	Plazminojen Aktivatör İnhibitör
<b>PIIINP:</b>	Prokollajen III Aminoterminal Propeptid
<b>ROS:</b>	Reaktif Oksijen Türleri
<b>TGF-<math>\alpha</math>:</b>	Transforme Edici Büyüme Faktörü- $\alpha$
<b>TGF-<math>\beta_1</math>:</b>	Transforme Edici Büyüme Faktörü- $\beta_1$
<b>TIMP:</b>	Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü
<b>tPA:</b>	Doku Plazminojen Aktivatör
<b>VEGF:</b>	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Hepatit B virusu (HBV) enfeksiyonu tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunudur. Dünya’da 400 milyon kadar kişinin kronik HBV enfeksiyonuna sahip olduğu bilinmektedir. Ülkemizde de yaklaşık 3.5 milyon kişi HBV ile enfektedir. Kronik enfeksiyona sahip olan kişiler %15-40 olasılıkla hastalığa bağlı karaciğer komplikasyonlarından kaybedilirler. Etkili aşılamaya rağmen hastalığın gelecek dekatlarda önemini korumaya devam edeceği düşünülmektedir. Hastalığın yaygınlığı, ciddi morbidite ve mortaliteye neden olması ve tedavisindeki sorunlar HBV enfeksiyonunu önemli bir sağlık sorunu haline getirmektedir. Kronik HBV enfeksiyonu gelişen çocukların %25’i erişkin döneme ulaştıklarında kronik karaciğer hastalığı (kronik aktif hepatit veya siroz) nedeniyle kaybedilmektedir. Kronik HBV enfeksiyonunun en önemli komplikasyonları, karaciğer fibrozisi ve sirozdur (1).

Hepatik fibrozis, karaciğer hasarına cevap olarak hemen bütün kronik karaciğer hastalıklarında ortaya çıkan, son zamanlarda reversibl olabileceği öngörülen, progressif bir süreçtir. Etyolojiden bağımsız olarak oluşan bu süreçte rol oynayan ekstrasellüler matriks bileşenleri, üretim, birikim ve yıkımlarındaki dengesizlik sonucu karaciğerde birikirler. Sonuçta hepatic fibrozis portal hipertansiyon ve siroza kadar ilerleyebilir.

Kronik karaciğer hasarı olan hastalarda tedaviyi yönlendirebilmek ve prognozu öngörmek açısından fibrozisin varlığı ve yaygınlığının doğru şekilde tayini büyük önem taşımaktadır. Son yıllara kadar biyopsi, kronik hepatitli hastaların takip ve tedavisinin düzenlenmesinde mutlaka gerekli olan bir işlem olarak uygulanmakta iken, günümüzde karaciğer fibrozisini tanımlamak için biyopsi yerine noninvaziv tanı metodları ile ilgili yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Bunun için rutin karaciğer fonksiyon testleri yanı sıra fibrozis tanısı için yeni serum belirteçleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (2).

Bu çalışmada, hepatit B ’ye bağlı kronik hepatit tanısı alan olgularda karaciğer biyopsisi ile karaciğerde oluşan fibrozis’in göstergesi olabileceği ileri sürülen Fibrotest ve

Aktitest gibi panel testler, MMP-9 (Matriks Metalloproteinaz-9) ve YKL-40' ın (Kondreks) serum düzeylerinin karaciğer fibrozisini yansıtırma derecesi ve karaciğer fonksiyon testleri ile ilişkisinin incelenmesi amaçlandı.



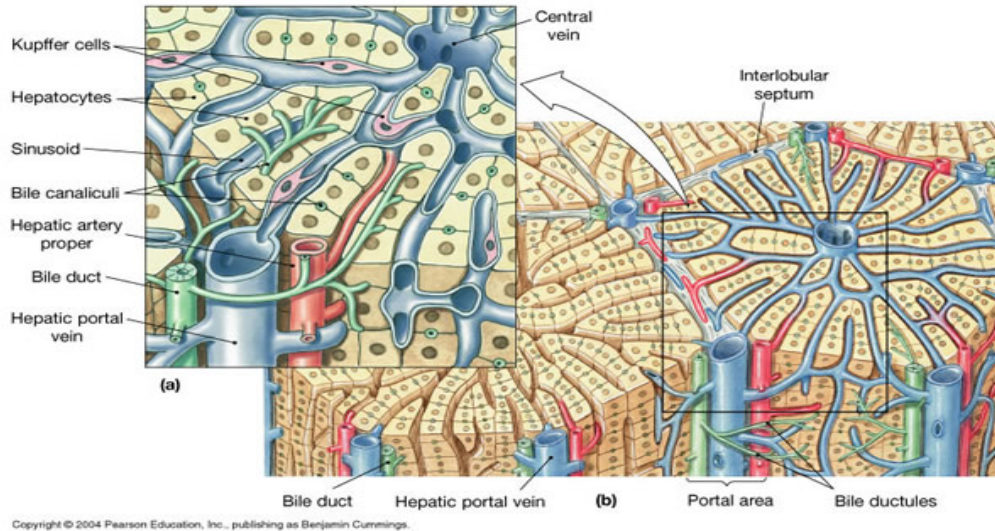
## II. GENEL BİLGİLER

### II. 1. KARACİĞER HİSTOLOJİSİ

Karaciğer vücudun en büyük organıdır ve vücut ağırlığının %2-2,5 'ini oluşturur. Karaciğerdeki hücrelerin % 60'ını hepatositler oluşturur. Geri kalan hücreleri ise (%40); kupffer hücreleri (retikuloendotelial sistemin hücreleri), stellat hücreler (İto veya yağ depolayıcı hücreler), endotelial hücreler, safra kanal hücreleri, kan damarları ve destek yapılar oluşturmaktadır.

En küçük fonksiyonel ünitesi “asinus”lardır. İki portal aralık ile komşu iki santral ven arasında kalan yapı “asinus” olarak adlandırılır. Köşelerde portal alanlar ve ortada santral venin yer aldığı yapı “lobül” olarak isimlendirilir (Şekil 1). Portal alan lobulun periferinde, hepatik arter ve portal ven ile safra kanalı, lenfatikler, bir miktar kollajen ve destek dokusu içerir. Karaciğer’de yaklaşık 50 000 lobul vardır (3).

Hepatositler, biri diğerinin üzerinde olacak şekilde yerleşmesi ile “plate-kordon” denilen duvarlar oluşturarak portal aralıktan santral vene doğru uzanırlar.



Şekil 1. Karaciğer Histolojisi

Hepatosit kordonlarını birbirinden ayıran dar aralık, sinuzoidal aralık olup, portal aralıktan santral vene doğru kan akımı olur. Kan akımının tersine santral venden portal mesafeye ise

safr akmaktadır. Disse aralığı sinuzoidlerin endotelial yüzeyi ve hepatositler arasında bulunur. Hepatositlerin basolateral yüzü disse aralığı ile komşudur. Hepatositin apikal yüzü ise, safr a bileşiklerinin salgılandığı kanaliküler membranları teşkil eder. Bu kanaliküller portal alanları ađ gibi sarar (4).

Karaciğer ekstraselüler matriksi (ESM); sinüzoidleri döşeyen endotel ile hepatosit hücrelerinin arasını dolduran, portal trakt ve santral ven çevresinde bulunan jelatinimsi ađ benzeri destek dokusudur. Bu stratejik yerleşim nedeniyle matriksin yapı ve miktarındaki değişiklikler karaciğerin yapı ve fonksiyonlarını önemli ölçüde etkiler (5, 6).

## II. 2. KARACİĞER FİBROZİSİ

Fibrozis; parankimal organlarda bağ dokusunun aşırı birikimini tanımlamak için kullanılan bir terimdir (7). Özellikle fibriller kollajen başta olmak üzere kollajen ve geniş protein ailesini kapsayan ekstraselüler matriks bileşenlerinin birikimi rol oynar. Normalde ekstraselüler matriks yapımı ve yıkımı dengeliyken fibrozis sürecinde bu denge bozulur (8). Ekstraselüler matriks proteinlerinin aşırı depolanması organda patofizyolojik hasara neden olarak organın mimarisini ve normal fonksiyonlarını değiştirir.

Karaciğer fibrozisi ise karaciğerde hasar oluşturan tekrarlayıcı ve kronik uyarılara sekonder gelişen, bağ dokusunun ilerleyici birikimi ile sonuçlanan “yara iyileşmesi benzeri “ karmaşık ve dinamik bir süreçtir (7). Altta yatan etiyolojik faktörlerden ve hasarı etkileyen mekanizmalardan bağımsız olarak fibrozis süreci içinde ekstraselüler matriks yapımında artış, skleroza dönüşme eğilimi ve bağ dokusunun dejeneratif değişimi sonucunda birçok kronik karaciğer hastalığının son noktası olan karaciğer fonksiyonlarının değişimi ve nodül formasyonu ile karakterize siroza kadar ilerlemektedir (7, 8). Fibrozisin derecesinde ve siroza ilerleyişinin hızını etkileyen bazı faktörler belirtilmiştir. Erkek cinsiyet, enfeksiyona maruz kalma yaşı, obezite, DM (Diabetes Mellitus), günlük alkol alım miktarı, karaciğer demir seviyesi bu faktörler arasındadır (9). Karaciğer fibrozisinin klinik semptomları oldukça değişkendir, asemptomatikten karaciğer yetmezliğine kadar değişen geniş bir yelpazeye sahiptir (8). Çocuklarda karaciğer fibrozisine yol açan etkenler arasında; Pediatrik kolestatik hastalıklar (Ekstrahepatik bilier atrezi, İlaça bağlı kolestaz), Hepatoselüler hastalıklar (viral hepatitler, metabolik hastalıklar, tirozinemi, Tip

IV glikojen depo hastalığı, toksin ve ilaçlar) ve fibropolikistik hastalıklar olarak sınıflandırılabilir (Tablo 1)(3).

**Tablo 1. Çocuklarda Fibrozis ve Sirozun sebepleri**

<b>HEPATOSELLÜLER HASTALIK</b>	<b>PEDİATRİK KOLESTATİK HASTALIK</b>	<b>KRONİK HEPATİK VENÖZ OBSTRUKSİYON</b>
Hepatit B and hepatit C	Ekstrahepatik bilier atrezi	Hepatik ven trombozu
Otoimmün Hepatit	Koledokal kist, tümör, taş	Budd-Chiari Sendromu
İlaçlar / Toksinler	Alagille sendromu, Bilier hipoplazi	Veno-okluziv Hastalık
Genetik/Metabolik Hastalıklar	Progressif familial intrahepatik kolestaz sendromu	Kardiak Skleroz
Karbonhidrat Defektleri	İlaca bağlı kolestaz	
Galaktozemi, Fruktozemi, Glikojen Depo Hastalığı III-IV	TPN ilişkili kolestaz	
Aminoasit defektleri	Kistik Fibrozis	
Tirozinemi, Üre Siklusu Hastalıkları	Sklerozan Kolanjit	
Neonatal hemokromatozis, Wilson Hastalığı	Graft-versus-host Hastalığı	
Lipid Depo Hastalıkları	Histiositozis X	
GaucherHastalığı, Niemann-Pick Tip C		
Yağasidi oksidasyon defektleri,		
Peroksizomal Hastalık		
Zellweger sendromu		
Mitokondrial Hastalık		
Zincir Defektler		

Fibrozis sürecinde birçok hücre tipi ve değişik faktörler rol oynamaktadırlar. Hepatik stellat hücreler (HSH) ve kupffer hücreleri fibroziste rol oynayan esas hücrelerdir (3).

## **II. 2. 1. Kupffer Hücresi ( Karaciğer Makrofaj Hücresi )**

Karaciğerdeki spesifik lökositlerdir. Karaciğer total hücre popülasyonunun %15'ini, retikuloendotelial sistemdeki doku makrofajlarının ise %80-90'ını oluşturur. Kupffer hücreleri %29 santral alanlarda, %28 midzonal alanlarda olmak üzere çoğunlukla, lobulun periportal alanlarında bulunurlar (%43). Toksik ajanların, immunkomplekslerin, endotoksinlerin, dejenere hücrelerin, mikroorganizmaların temizlenmesinde rol oynar. Temel olarak A vitamini, yağ depolanması ve hücreler arası ilişkilerde rol oynar. Kupffer hücresi, uzantıları aracılığı ile sinuzoid içerisinde bulunan tüm hücreler (pit hücreleri, endotel hücreleri) ve endotelde bulunan fenestrasyonlar yolu ile hepatosit ve yağ depolayan hücreler ile temas eden membranlara sahiptir. Kupffer hücreleri ve sinüzoid endotelial hücreler Fc reseptörlerine sahiptir ve immün komplekslerin temizlenmesinde rol oynarlar. Karaciğer hasarı ve hepatoselüler nekrozda salınan sitokinlerin, süperoksid, nitrit oksid, eikanozoid, kemokinler, lizozomal ve proteolitik enzimlerin major kaynağı aktive kupffer hücreleridir (10).

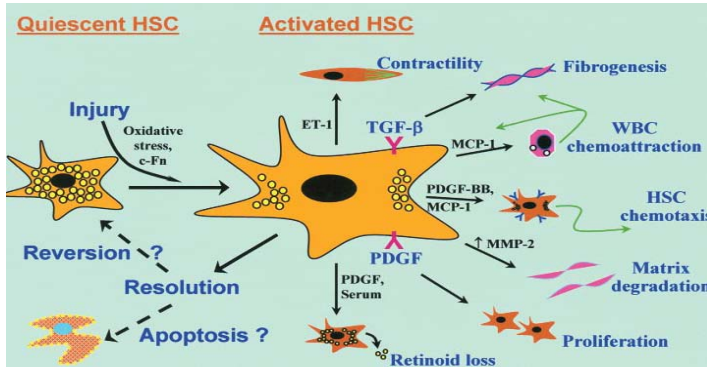
Kupffer hücreleri endotoksinlerden olan lipopolisakkaritlerin temizlenmesi, anafilotoksin olan C5a'ya etkisi ile prostoglandin (PG) ve tromboksan salgılatılması, atrial natriüretik peptidin fagositik aktivitesinin artırılması, tümör hücrelerinin fagositozu gibi etkilere sahiptir (11, 12).

Kupffer hücrelerinin fibrozisteki asıl etkisi ise fibrozis sürecindeki matriks üretiminde etkili uyaran olan Transforme edici büyüme faktörü  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) üretimidir. Aktive kupffer hücrelerinin ürettiği TGF- $\beta_1$ , stellat hücreleri aktive ederek kollajen üreten myofibroblastik hücrelere değişimini sağlar. Ayrıca MMP-9 (Matriks Metalloproteinaz 9) sekresyonu ile latent TGF- $\beta_1$ 'i aktive ederler ve HSH'in kollajen sentezini arttırlar (11, 13). Kupffer hücreleri serbest oksijen radikalleri üretir. Serbest oksijen radikalleri fibrozisin ilerlemesi ve gelişiminde majör rol oynar (14).

## II. 2. 2. Hepatik Stellat Hücre (HSH)

Hepatik stellat hücre, perisünisoidal, subendotelyal bölgede bulunur (3). Hepatositlerin üzerinde yer alan yıldızimsı uzantıları olan mezenkimal kökenli bir hücredir. Tüm karaciğer hücrelerinin %15'ini oluştururlar. Bu hücreler “A vitamini depolayan hücre, liposit ve İTO hücreleri” olarak da bilinir. Normalde vücuttaki vitamin A'nın % 80 kadarını depolarlar. Fonksiyonları arasında; ekstrasellüler matriks (ESM) komponentlerinin sentezi, bunların yıkımında rol alan MMP' ların ve inhibitörlerinin sentezi ve ESM'in yapılanması, çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinlerin sentezi, sinüzoid lümenin kontraksiyon ve dilatasyonu ile kan akımı ve portal basıncın düzenlenmesi, karaciğer rejenerasyonu ve yara iyileşme cevabında fibröz matriksin oluşması bulunur (15,16). Stellat hücreler herhangi bir uyarın ile aktive olmadan önce (sessiz formu), sitoplazmik yağ damlacıkları, retinoid depoları içeren uzun sitoplazmik çıkıntıları ile sinüzoidleri saran, bazal membran tipi matriks sentezi yapan hücrelerdir. Proliferasyon ve fibrojenik kapasitesi düşüktür. Aktive olduğunda ise kontraktilite, proliferasyon, fibröz matriks üretimi, normal matriks yıkımı, diğer hücrelerin kemotaksisi gibi özellikler kazanan myofibroblastlara dönüşür. Sitoplazmik uzantılarını, vitamin A ve yağ depolayıcı özelliklerini kaybederler (Şekil 2). Hepatik stellat hücre aktivasyonunun başlangıcında zedelenmiş hepatosit, endotel, kupffer hücreleri, trombosit ve enflamatuvar hücrelerden gelen parakrin büyüme faktörleri, sonrasında otokrin faktörler rol oynar (15, 16).

Hepatik stellat hücre; kollajen Tip I ve III ile kollajen Tip VI, fibronektin, laminin, tenaskin, undulin, hyalüronat, proteoglikanlar ve otokrin olarak TGF- $\beta_1$  salgılar (17, 18). Ayrıca “ monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) ” salgılayarak diğer monosit, makrofaj, lenfosit ve aktive HSH'leri enflamasyon bölgesine çeker (17,19).



Şekil 2. Hepatik Stellat Hücreler

### II. 2. 3. Ekstrasellüler Matriks (ESM)

Sinüzoidleri döşeyen endotel ile hepatosit hücrelerinin arasını dolduran, portal alan ve santral ven çevresinde bulunan jelatin yapısında bir destek dokusudur (18). Sinüzoidlerin çevresindeki ESM, kan akımı ve parankim arasındaki öncül bölgedir. Bu nedenle ESM'de oluşan değişiklikler karaciğerin yapı ve fonksiyonlarını önemli ölçüde etkiler (20). Sinüzoidlerle ilişkisi olan tüm hücreler matriksin yapımına katkıda bulunurlar. Karaciğerdeki her hücre, hücre dışı matriks üretebilse de stellat hücre, sinüzoid endotelial hücreler ve safra kanalikülü epitel hücreleri matriksin öncül hücreleri olarak tanımlanmıştır. Fakat en çok stellat hücreler matriks sentezlerler. Mekanik olarak destek dışında ESM hücresel biyolojik fonksiyonların düzenlenmesine katkıda bulunur. Hücre proliferasyonu, migrasyonu, farklılaşması, madde transportu, çeşitli mediyatörlerin depolanması, özelleşmiş hepatoselüler fonksiyonların örneğin gen ekspresyonu ve sinüsoidlerin fenestrasyonlarının oluşmasını ESM sinyalleri düzenler. Karaciğer dejenerasyonunda ESM önemli rol oynar (5, 6).

Ekstrasellüler matriks yapımı ve yıkımı denge halindedir. Matriks metalloproteinazlar matriks yıkımından sorumludur. Dokuda bulunan matriks metalloproteinaz inhibitörleri (Matriks metalloproteinazların doku inhibitörü: TIMP) ise oluşan matriksin yıkımının engellenmesini sağlarlar. Matriks metalloproteinazlar ve TIMP, matriksin yapım ve yıkımını sürekli denge halinde tutarlar. Matriks metalloproteinazlar;

1. İnterstisyel kollajenazlar (MMP-1, 8, 13)
2. Jelatinazlar (MMP-2,9= Tip IV kollajenaz)
3. Stromelizin
4. Membran tipi
5. Metalloelastaz olmak üzere subtiplere ayrılır (21).

Ekstrasellüler matriks; kollajenler, glikokonjugatlar (glikoproteinler, proteoglikanlar) ve glikozaminoglikan (hyalüronat) gibi makromoleküllerden oluşur.

## II. 2. 4. Ekstrasellüler Matriks Bileşenleri

### II. 2. 4. 1. Proteinler:

Kollajen: Bağ dokunun esas bileşeni olan kollajen 5 tiptir. En fazla kollajen, disse aralığındaki subendotelial boşluğu dolduran ESM yapısında bulunur. Sinüzoidlerin çevresinde düşük yoğunluklu, bazal membran tipi tip IV kollajen varken, portal alan ve büyük damarların çevresinde fibriler kollajen (Tip I,III, V kollajen) bulunur. Tip I kollajen portal alan ve fibröz septalarda görülen skar dokusunun en yaygın kollajenidir. Portal mesafede ikinci sıklıkla rastlanan kollajen ise Tip III kollajendir (20). Hasarı takiben kollajen Tip III artmakta ancak daha sonra sirotik karaciğerdeki kollajenlerin %60-70'ini oluşturacak olan kollajen Tip I, Tip III'ün yerini almaktadırlar. Ayrıca Tip IV ve Tip VI kollajen, laminin, fibronektin ve undulinde de artış mevcuttur (18). Hücre kültürü çalışmalarında, Tip I ve Tip III kollajenler, “prokollajen” denen üçlü helikal yapıli ön moleküller olarak sentezlenir. Bu ön moleküller, aminoterminal (N-terminal) ve karboksit terminal (C-terminal) uçlarında kollajen olmayan peptid uzantılar içermektedirler. Bu nedendir ki, fibrozis süreci içinde prokollajen III aminoterminal peptid (PIIINP) düzeyleri belirgin yüksek bulunmaktadır.

Elastin: Kan damarlarının duvarlarında ve karaciğer kapsülünde bulunur. Karaciğer fibrozisinde elastin düzeyi artar (22).

### II. 2. 4. 2. Glikoproteinler:

Fibronektin: İki polipeptit zincirden oluşur. Hücrelere kollajen, fibrin ve heparinin bağlanmasını sağlayan mediatördür. Bu nedenle trombüsün organizasyonunda ve hücrelere kollajen, fibrin ve heparinin tutunmasını içeren yara iyileşmesinde rol oynar (23).

Nidojen (Entaktin): Bazal membranların önemli bir bileşenidir ve laminin, Tip IV kollajen, perlekan ve fibulinler ile kompleks oluşturma yeteneğinden dolayı bazal membranların şekillenmesinde önemli bir rol oynar. Lamininin kolaylaştırıcısıdır (24).

Vitronektin: Hepatositler tarafından üretilen multifonksiyonel bir plazma glikoproteinidir (25). İşlev açısından fibronektine benzerdir. Plazma ve ESM yapısında bulunan bir glikoproteindir (26). Vitronektin, hücre tutunması, yayılması, çoğalması ve birçok normal ve neoplastik hücrelerin farklılaşmasında işlev gören aracı bir glikoproteindir.

Laminin: Tip IV kollajen ile birlikte yer alan glikoproteindir. Serumda ölçülebilir ve fibrozisin derecesiyle ilişkilidir. Perisinüzoidal fibroziste düzeyleri artar (23). Bazal membranda depo edilmektedir. Epitel hücrelerinin bazal laminaya bağlanmasını sağlar (12,20). 3 polipeptid zincirinden oluşur. Laminin ve pepsine dirençli laminin fragmanın serum seviyeleri, perisinüzoidal fibrozisi yansıtacak şekilde alkolik ve viral hepatitlere bağlı kronik KC hastalığında yüksek bulunur (27).

Tenaskin: Ekstrasellüler adeziv glikoproteinlerden birisidir ama fibronektin kadar geniş bir dağılım göstermez. Değişik dokularda genellikle MMP ile birlikte sentezlenmektedir. Çeşitli hücrelerin migrasyonu ve proliferasyonunda, ayrıca angiogenezde rol oynar. Tenaskin, 6 disülfid bağlı kompleks polipeptid zincir ağından oluşmuştur (28).

Undulin (Kollajen XIV): Portal alanlarda bulunur. Tip I ve Tip II kollajenle birlikte olan üç zincirli polipeptittir (23).

### **II. 2. 4. 3. Proteoglikanlar:**

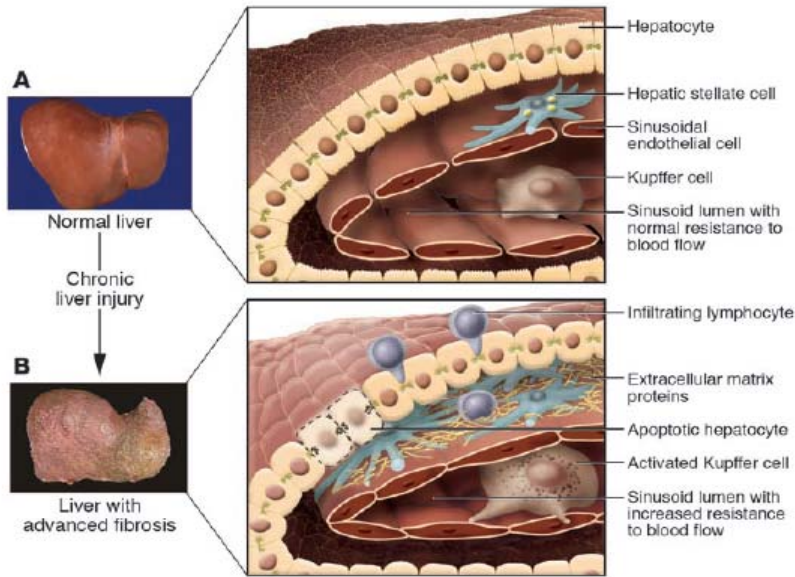
Karbonhidrat içeriği protein içeriğinden fazla olan ve daima bir sülfat grubu içeren heteropolisakkarit yapılarıdır. Çeşitli tipleri vardır. Bunlar; heparan sülfat, heparin, kondroitin sülfat, keratan sülfat, dermatan sülfat, perlekan, endoglin, sindekan, dekordin, biglikan'dır. Karaciğerde en çok heparan sülfat bulunur. Hücre yüzey reseptörleri ve büyüme faktörleri, kollajenler, fibronektin ve laminin gibi makro moleküller arasındaki iletişimi sağlar (29). Dermatın ve kondroitin sülfatta fibrozis sürecinde artış gözlenirken, heparin ve heparan sülfatta azalma ortaya çıkmaktadır (18). Sülfatsız olan hyalüronik asitin diğerlerinden farkı, protein molekülüne bağlanmamasıdır. Hyalüronik asit, hepatik stellat hücreler tarafından sentez edilip, karaciğer sinüzoid hücreleri tarafından yıkılırlar. Karaciğer fibrozisinde kondroitin sülfat ve dermatın sülfat ile birlikte miktarı artar (30).

## **II. 3. FİBROZİS PATOGENEZİ**

Fibrozis karaciğerdeki hasara karşı olan iyileşme cevabının sonucu ESM'in miktar olarak artması ve gözenekli bazal membran tipi kollajen yerine, fibriler intertisyel tip kollajenin birikmesi olarak tanımlanır. Karaciğerde etken ne olursa olsun oluşan



inflamasyon ve nekroz sonucu ortak bir yara iyileşme cevabı ve sonucunda fibrozis gelişir (31). Akut karaciğer hasarından sonra parankim hücrelerinin yerini apoptotik ve nekrotik hücreler alır. Karaciğer fibrozisinde, hem ekstrasellüler matriksin kendisi, hem de aktive olmuş hücrelerin salgıladığı sitokinler aracılığı ile meydana gelen bir dizi olay, ekstrasellüler matriks yapımında artış ve içeriğinde değişime yol açar. Bu değişim sonucunda kollajen birikimi gözlenir. Hasarın ilerleyen evrelerinde kollajen de dahil, ESM içeriğindeki elastin, laminin, undulin, proteoglikanlar, hyalüronik asit, fibronektin seviyelerinin yaklaşık altı kez artmış olduğu görülmüştür (32). HSH, ESM birikiminin esas uyarandır. Kronik karaciğer hasarını takiben HSH'ler aktive olarak ve değişikliğe uğrayarak fibrogenik özellikte proinflamatuvar myofibroblastlara dönüşerek kollajen ve kollajen olmayan ESM bileşenlerini, büyüme faktörlerini ve çeşitli sitokinleri sentezlerler. Disse aralığında erken dönemde kollajen tip III ve V, fibronektin, kronik süreçte ise kollajen tip I ve IV, undulin, elastin, laminin ve hyalüronik asit artar. Ayrıca dermatan sülfat, kondroitin sülfat ve heparan sülfat gibi proteoglikanlar da artar (Şekil 3).



**Şekil 3. A. Normal karaciğer dokusunda perisinüsoidal yerleşimli hepato stellat hücre, fenestrasyon gösteren endotel hücresi B. Karaciğer zedelenmesi sonrası aktive hepato stellat hücre fibrozis matriks üretir, sinüsoidlerde fenestralar kaybolarak kapillerize olur, hepatositlerde mikrovillus kaybı gözlenir.**

### II. 3. 1. Hepatik Stellat Hücrelerin Aktivasyonu

HSH, karaciğer fibrozisi boyunca aşırı kollajen sentezinden sorumlu primer hücredir. Karaciğer hasarından sonra HSH'ler vitamin A depolayan sessiz hücre formundan bir dizi aktivasyon sonucunda miyofibroblast benzeri hücreye dönüşür. Kaba endoplazmik retikulum görüntüsünde artış, metabolik olarak ise DNA sentezinde ve hücresel proliferasyonda artış meydana gelir (8). HSH aktivasyon süreci, başlangıç evresi ve ilerleme evresi olarak ikiye ayrılabilir. Hepatik stellat hücre aktivasyonunun başlangıç veya preinflamatuvar döneminde parakrin, sonraki dönemlerde otokrin faktörler rol oynamaktadır. Başlangıç döneminde zedelenmiş hepatosit, endotel, Kupffer hücreleri ve trombositler tarafından oluşturulan parakrin uyarılar sonucunda HSH gen ekspresyon değişiklikleri olur ve çeşitli uyarılara karşı duyarlı hale gelir. Hepatik stellat hücreler, transforme edici büyüme faktörü (TGF- $\beta$ ), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), Angiotensin-II (AT-II), leptin, İnterlökin-1 (IL-1) ve tümör nekrozis faktör TNF- $\alpha$ ) gibi çeşitli sitokinler ile aktive olurlar (33). Endotel hücreleri hem fibronektin hem TGF- $\beta$ , endotelin-1 (ET-1) sentezi ile HSH aktivasyonunda rol alırlar (Tablo 2). Kupffer hücreleri ise makrofajlar tarafından uyarılarak çeşitli enflamatuar ve antiinflamatuvar sitokinler üretirler. TGF- $\beta$  ve MMP-9, Hepatik stellat hücrelerin uyarılmasını ve matriks sentezinin artışı, TGF- $\alpha$  ise proliferasyonunu sağlar. Çevre hücrelerden gelen parakrin uyarılar ile aktivasyon sürecinin başlangıcına giren HSH, daha sonra sentezlediği büyüme faktörleri ve sitokinlerle otokrin olarak kendi kendini uyararak hücreleri, oksidatif stres sonucu oluşan reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır. Oluşan metabolitler HSH'ni aktive ederler ve kollajen sentezini uyarırlar (31, 33).

**Tablo 2.** Hepatik stellat hücre aktivatörleri

<b>HEPATİK STELLAT HÜCRE AKTİVATÖRLERİ</b>	
Endotel Hücreleri * Fibronektin * TGF- $\beta$ * ET-1	Kupffer hücresi * SOR * MMP-9 * TGF- $\beta$
PAF	TGF- $\alpha$
	TGF- $\beta$
IL-1	LEPTİN
Trombositler * PDGF * TGF- $\beta$ * EGF	Nötrofiller * ROS

**EGF:** Epidermal büyüme faktörü, **PAF:** Trombosit aktive edici faktor, **ET:** Endotelin, **ROS:** Reaktif oksijen türleri, **MMP:** Matriks metalloproteinaz, **TGF- $\alpha$ ,**  **$\beta$ :** Transforme edici büyüme faktörü alfa 1, beta 1, **PDGF:** Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, **IL-1:** İnterlökin-1.

Tüm bu parakrin uyarılarla aktive olan HSH'ler proliferasyon, kontraktilite, matriks üretimi, matriks yıkımı, kemotaksis gibi fonksiyonlar ve kendini otokrin olarak uyarabilme yeteneği kazanır. HSC aktivasyonu ile ilişkili olarak hücrelerin fibrojenik cevabını meydana getiren iki temel olay meydana gelir. 1. ESM üretimi ve depolanmasında dramatik bir artış. 2. Karaciğerde fibrojenik hücrelerin sayısında artış (33).

**Proliferasyon;** Proliferasyon pek çok mitojenik faktörün etkisi sonucunda oluşur. HSH proliferasyonunu en çok trombositlerden salınan PDGF sağlar (34). PDGF iki polipeptid zincirden oluşmuş bir dimerdir. PDGF reseptörleri tirozin kinaz ailesine mensuptur. Bağlanma sonrası internal tirozin rezidülerinin fosforulasyonu ile HSH migrasyonu ve proliferasyonu indüklenir. Proliferasyonu uyaran diğer faktörler ise; vaskular endotelial büyüme faktör (VEGF), ET-1, EGF (Epidermal büyüme faktörü), IGF-1 (İnsülin büyüme faktörü) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF)' dür. Trombin, arginin-vazopressin, AT-II gibi vazokonstriktörler HSH'ler üzerine mitojenik etki gösterirken,

vazodilatörlerden prostaglandin E2 ve NO (Nitrit Oksit) antimitojenik etki oluşturur (35).

**Kontraktilite;** HSH'lerin kontraktil özellikler kazanması, içerisinde aktin ve myoflamanların artması ile olur. ET-1 kontraktiliteyi uyaran en önemli faktördür (36). NO, ET-1'in fizyolojik antagonisti olup, fibrozis sürecinde ET-1 artarak, NO azalarak kontraksiyon uyarılır (8).

**Fibrogenesis;** Fibroz matriks üretiminin en etkili uyarımı TGF- $\beta$ 'dir (30). Başlangıçta kupffer hücreleri ve trombositlerden parakrin olarak salgılanan TGF- $\beta$  fibrozis sürecinin ilerlemesi ile birlikte HSH'lerden de otkrin olarak salgılanmaya devam eder. TGF- $\beta$ , hepatik stellat hücrelerden Tip I ve Tip III kollajen, fibronektin, laminin sentezini uyarır. Ayrıca HSH' de bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) sentezini uyararak fibroz matriks sentezini uyarır.

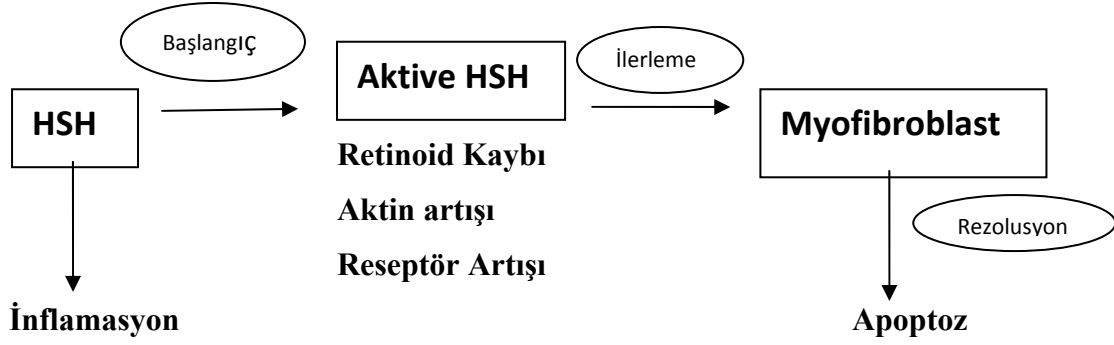
TGF- $\beta$  ayrıca TIMP ve MMP sentezini uyararak matriks bileşimini değiştirir. Fibrogenesis sırasında hepatosit ve diğer epitelyum hücrelerinin apoptozisini arttırarak karaciğer dejenerasyonunu önler (37-38).

**Kemotaksis ve Hücre Yüzey Reseptörlerinin Modülasyonu;** Büyüme faktörleri ve sitokinlerin yanı sıra ESM komponentleri de direk HSH aktivasyonunu etkilerler. Hepatik stellat hücreler ise "sitokinle uyarılan nötrofil kemoatraktan protein (CINC)", MCP-1 ve M-CSF gibi kemoatraktanlar salgılayarak monosit, makrofaj ve lenfositleri enflamasyon bölgesine çekerler (39, 40).

**Retinoid Kaybı;** Normalde vitamin A, karaciğerde, retinil esterleri olarak HSH' de depo edilir. Aktivasyonu ile HSH' ler sitoplazmik vitamin A depolarını kaybederler (8). Retinoidlerin kaybı serum bağımlıdır ve ekstraselüler aralığa retinoidlerin salınımıyla sonuçlanır (8).

**Matriks Yıkımı ve Yeniden Yapılanma;** Kronik hasarlanmada TIMP düzeyi artarak, yıkımdan sorumlu MMP sentezi azalmaktadır. TIMP/MMP oranındaki bu artış fibrozisin ilerlemesine katkıda bulunur. Fibrozis gelişiminde; MMP-2,9 ve TIMP-1 düzeyi artarken, MMP-1 azalmaktadır. MMP-1 fibrozis kollajen yıkımından sorumludur. Sonuçta bazal membran tipi kollajen yıkılmakta, fibröz matriks yıkımı azalmaktadır (41).

**Sitokin Salınımı;** İnterlökinler (IL-4, IL-6, IL-8, IL-6 ilişkili sitokin), prostaglandinler (PG D<sub>2</sub>, PG E<sub>2</sub>), TNF- $\alpha$ , TGF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$ , İnterferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), interferon- $\delta$  (IFN- $\delta$ ), PDGF, M-CSF, MCP-1, PAF ve FGF enflamasyon ve fibrozis sürecinde rol oynayan sitokinlerdir (42, 43). Plazmin antifibrotik bir sitokin olup, HSH'ler PAI-1 (plazminojen aktivatör inhibitör) yoluyla fibrozis gelişimine katkıda bulunurlar (Şekil 4).



**Şekil 4. Hepatik Stellat Hücrelerin Aktivasyonu**

## II. 4. HEPATİT B VİRÜS ENFEKSİYONU

Akut viral hepatitler (AVH), tüm dünyada yaygın olan, karaciğerin en sık rastlanılan hastalığıdır ve toplum sağlığı açısından önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Hastalık karaciğerin nekro-inflamatuvar yanıtla karakterize, kendini sınırlayan bir hastalığıdır. Hepatit B virüsüne (HBV) bağlı enfeksiyon dünyadaki en yaygın sağlık sorunlarından biri olarak kabul edilmekte ve kronikleşen viral enfeksiyonların başında gelmektedir (90). Dünya üzerinde yaklaşık 2 milyar insan virüsle karşılaşmış ve bugün 350 milyon insan virüsü taşımaktadır. Enfekte hastaların yaklaşık olarak %15-40'ında siroz, karaciğer yetmezliği ve hepatoselüler karsinom gelişir. En sık ölüm nedenleri içinde 10. sıradadır. Her yıl 500.000 – 1.2 milyon kişi viral hepatit, siroz, hepatosellüler karsinom yüzünden ölmektedir. Batı ülkelerinde bu hastalık nadirdir ve erişkin yaşta ortaya çıkmaktadır. Asya ve birçok Afrika ülkesinde yaygındır ancak daha çok doğum ve çocukluk yaşlarda ortaya çıkmaktadır (91).

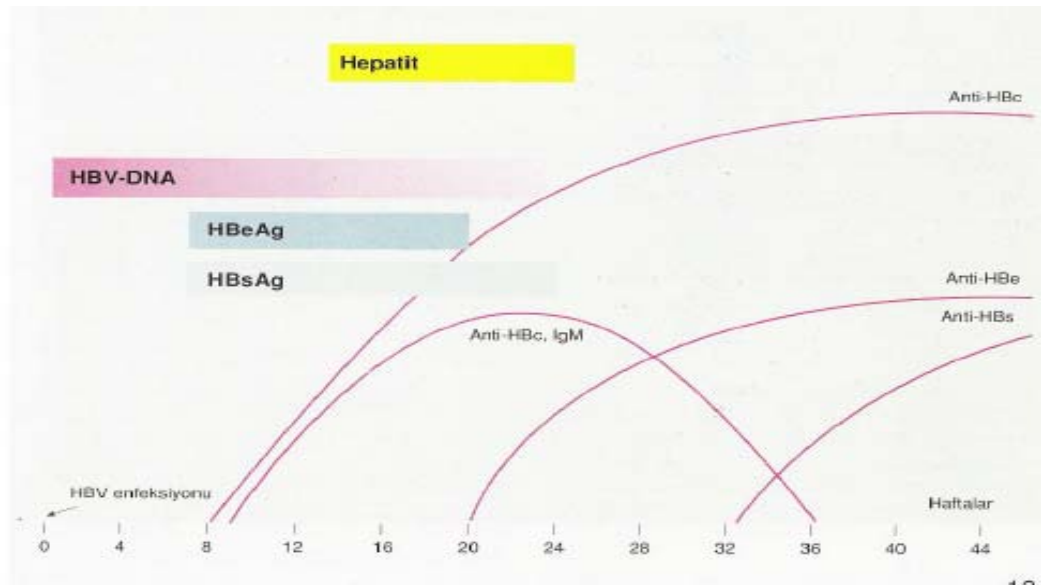
Dünya Sağlık Örgütü'nün 1991 yılında başlattığı aşılama programıyla akut HBV enfeksiyonunun insidansı pek çok ülkede dramatik olarak azalsa da halen önemli bir sorundur. HBV'ne bağlı enfeksiyon da asemptomatik enfeksiyondan fulminan hepatite kadar değişen farklı klinik tablolara neden olabilmektedir. Virüs ülkemizde akut fulminan karaciğer yetmezliğinin ve sirozun %50'sinden fazlasından sorumludur (90). Ülkelerin

sosyoekonomik ve coğrafi özelliklerine göre prevalansları değişiklik göstermektedir. HBV tüm dünya’da olduğu gibi ülkemizde de en yaygın kronik hepatit nedenidir. HBV’nun alınma yaşı ve kişinin immun durumu virusun persistansını ve klirensini belirler. Çoğunlukla primer enfeksiyon erken çocukluk döneminde görülmektedir (96). Bilindiği gibi yeni doğan döneminden itibaren yaş arttıkça persistansı azalmakta, buna karşın immun supresyon arttıkça kalıcılığı artmaktadır (93). HBV’ ü, virüsle enfekte kişilerin serumu dışında semen, tükürük, idrar, feçes, ter, gözyaşı, vajinal salgılar, sinovyal sıvılar, beyin omurilik sıvısı ve kordon kanında da saptanmıştır. HBV enfeksiyonunun dünyadaki dağılımı coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar nedeniyle dünya düşük, orta ve yüksek endemisite bölgelerine ayrılmıştır. Sınıflandırmanın oluşturulmasında, bölgedeki HBsAg ve anti-HBs pozitifliği oranları, enfeksiyonun alınma yaşı ve virüsün en sık hangi bulaşma yoluyla alındığı gibi kriterler göz önüne alınmıştır (94). Akut hepatit B enfeksiyonunun inkübasyon dönemi 45-160 gün arası olup, ortalama 120 gündür. HBsAg, akut HBV enfeksiyonunda ilk saptanan serolojik belirteçtir. (95). HBsAg, HBV ile temastan 1-12 hafta sonra ya da semptomların başlamasından 2-8 hafta önce, inkübasyon periyodu boyunca serumda saptanabilir ve 3 ay sonra kaybolur (94). Anti-HBs, HBsAg kaybolduktan sonra ve genellikle hastalığın başlangıcından 3 ay sonra ortaya çıkar, iyileşmeyi ve gelişen immüniteyi gösterir. Anti-HBs çoğu kaside hayat boyu kalıcıdır. HBcAg’ne karşı antikor HBV ile temas etmiş hemen hemen tüm kişilerde tespit edilir (95). Anti-HBs ile birlikte anti-HBc IgG pozitifliği doğal immüniteyi, yani HBV ile karşılaşma sonucu gelişen immüniteyi, tek başına anti-HBs pozitifliği aşılama ya bağlı immüniteyi gösterir. Diğer bir deyişle, anti-HBs immüniteyi gösterirken, anti-HBc HBV ile karşılaşıldığını göstermektedir. HBcAg’ne karşı ilk oluşan Ig M tipindeki ilk antikor HBsAg’serumda saptanmasından kısa süre sonra, hepatitin başlamasından bir hafta veya daha sonra görülür. Akut enfeksiyonla ilişkilidir. IgM tipindeki antikorlar genellikle akut enfeksiyondan sonraki 4-8 ay içerisinde kaybolur. HBcAg’ne karşı oluşan antikorlar koruyucu değildir (95). HBsAg’nin serumdan kaybolup anti-HBs gelişinceye kadar geçen pencere döneminde anti-HBc IgM’in varlığı akut enfeksiyonu gösteren en önemli belirteçtir (96, 97). Tipik olarak HBsAg’nin serumdan kayboluşunu anti-HBs takip etmektedir (anti-HBc ile birlikte veya tek olarak) Sağlıklı yetişkinlerde akut enfeksiyondan sonra kronikleşme oranı % 5 civarındadır ve daha çok immun yetmezliği olan hastalarda görülmektedir. Kronik HBV, HBsAg ve vireminin persistansı ile karakterizedir ve siroz ve hepatosellüler karsinoma ile ilgilidir (98). Kronik HBV taşıyıcılığı, HBsAg’nin altı aydan uzun süre dolaşımında bulunması durumudur (95). Kronik enfeksiyonlu hastaların çoğu

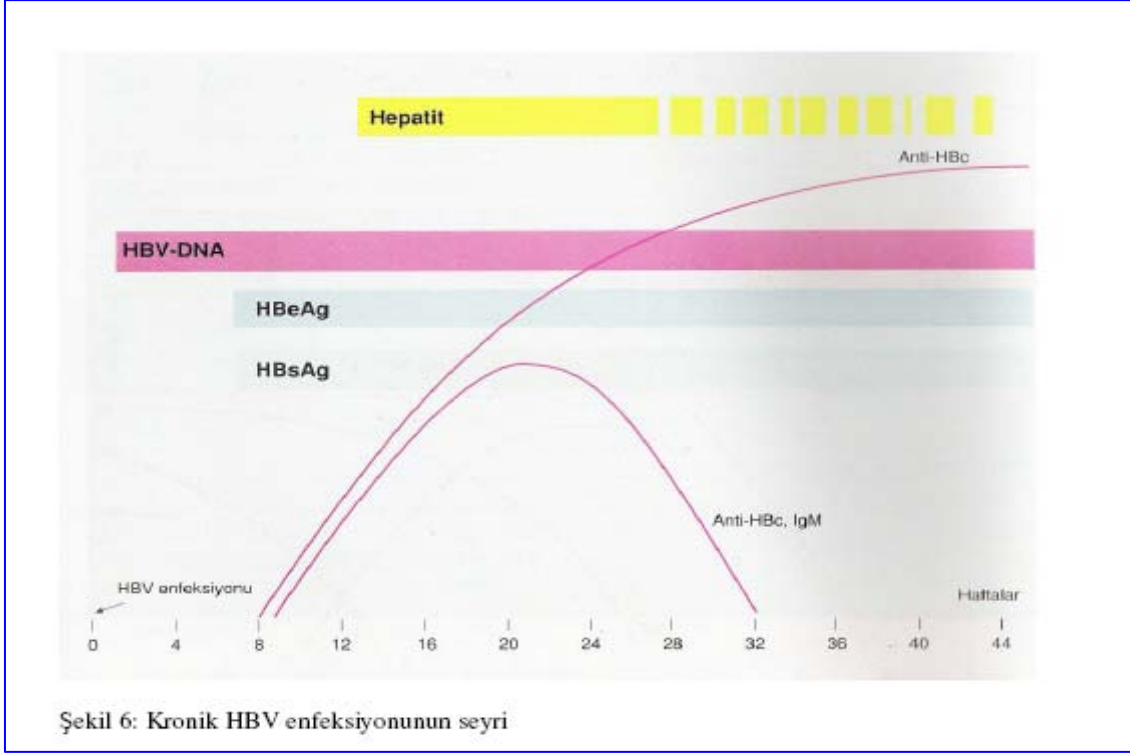
karaciğer enzimleri normal, semptomu olmayan, karaciğer histolojisi normal veya normale yakındır. Bunlar “sağlıklı taşıyıcı”lardır ve prognozları da çok iyidir. Taşıyıcılık durumunda serumda HBsAg ve HBV-DNA'nın yanında anti-HBc'de tespit edilebilmektedir. HBsAg yetiskinlerin %95'inde kaybolurken, % 5'inde taşıyıcılık gelişmektedir. HBsAg taşıyıcılığı yenidoğanlarda % 90 (immün sistemleri immatür olduğundan asemptomatik kronik HBV taşıyıcısı), bebeklerde % 50 ve çocuklarda % 20 oranında gerçekleşmektedir. Anti-HBc IgM'in sürekli pozitif olması, enfeksiyonun kronikleşeceğinin (71). HBsAg taşıyıcılarında Anti-HBc IgG yüksek titrede bulunur. Anti-HBs olmadan yüksek titrede anti-HBc IgG olması viral enfeksiyonun devam ettiğini gösterir. Anti-HBs ile birlikte Anti-HBc IgG'nin düşük titrelerde bulunması hepatit B enfeksiyonunun çok eskiden geçirildiğini gösterir (97).

HBeAg, genellikle HBsAg'nin görülmesinden birkaç gün veya birkaç hafta sonra saptanır, aktif HBV replikasyonunun göstergesidir (Şekil 5). 10 haftadan daha uzun süre devam etmesi kronikleşeceğinin belirtisidir (95). HBeAg kaybolduğunda HBV replikasyonu sona erer ve HBsAg taşıyıcıları enfeksiyonun nonreplikatif dönemine geçerler. Anti-HBe nisbeten düşük etkinitenin ve hastalığın tamamen iyileşeceğinin güçlü bir göstergesidir ve genellikle akut enfeksiyondan yıllar sonra kaybolur (97).

Viral replikasyonun en sensitif göstergesi HBV-DNA'dır. HBeAg pozitif olgularda % 80, anti-HBs pozitif olgularda % 20 oranında HBV-DNA gösterilmiş olduğu için, HBsAg varlığında viremi düzeyini ortaya koyan en iyi göstergenin PCR ile serumda HBV-DNA tespiti olduğu kabul edilmektedir (Şekil 6) (97).



Şekil 5: Akut HBV enfeksiyonunun seyri



## II. 5. KARACİĞER FİBROZİSİNDE KULLANILAN TANI METODLARI

Hepatik fibrozis, karaciğer hasarına cevap olarak hemen bütün kronik karaciğer hastalıklarında ortaya çıkan, son zamanlarda reversibl olabileceği ileri sürülen, progressif bir süreçtir. Etiyolojiden bağımsız olarak oluşan bu cevapta rol oynayan ekstraselüler matris bileşenleri, üretim, birikim ve yıkımlarındaki dengesizlik sonucunda karaciğerde birikirler. Bu yaygın süreç, neticede portal hipertansiyon ve karaciğer fonksiyon bozukluğunun komplikasyonları ile seyreden siroza kadar ilerleyebilir.

Kronik karaciğer hasarı olan hastalarda tedaviyi yönlendirebilmek ve prognozu öngörmek açısından fibrozisin varlığı ve yaygınlığının en doğru şekilde tayini büyük önem taşımaktadır (2).

Karaciğer fibrozisinin tanı metodları;

- 1- İnvaziv Tanı Metodları (Karaciğer iğne biyopsisi)
- 2- Noninvaziv Tanı Metodları (Biyokimyasal yöntemler ve görüntüleme yöntemleri)



## II . 5. 1. İnvaziv Tanı Metodları

### II .5.1.1. Karaciğer Biyopsisi

Kronik hepatitlerin belirlenmesi ve tariflendirilmesinde, öncelikle fibrozisin derecesi ve nekroenflamatuvar aktivitenin, sonra da progresyonun tayini önemlidir. Karaciğer fibrozis derecesini belirlemede günümüzde altın standart olan yöntem, karaciğer biyopsi materyalinin histolojik olarak değerlendirilmesidir (2). Karaciğerden perkütan, laparoskopik, transjuguler ve alınan doku örneğinin histopatolojik incelenmesiyle; çoğu zaman karaciğer patolojisine yol açan etiyolojik faktör ve hasarın derecesi belirlenebilmektedir. Tekrarlanan biyopsiler ise tedaviye yanıtın değerlendirilmesi de oldukça önemlidir. Karaciğer biyopsisinin avantajları olduğu gibi istenmeyen yönleri ve sonuçları da mevcuttur. Standart bir karaciğer biyopsisi, karaciğerin 1/50.000'ini göstermektedir. Tam ve doğru değerlendirebilmek için en az 15-25 mm uzunluğunda ve en az 5-11 portal alan içeren doku örneğine ihtiyaç vardır (44).

Tek biyopsi örneğinin olması ve subkapsüler bölge, sağ ve sol lobta fibrozis miktarı heterojenite gösterdiğinden %10-30 olguda değerlendirme hatasına yol açmaktadır. Bunun yanı sıra patologlar arasında değerlendirme farklılığı da yaklaşık %20 olarak bildirilmekte ve ortak morfolojik ölçüm yöntemlerinin geliştirilmesine çalışılmaktadır (45).

Perkütan karaciğer biyopsisinin mortalite oranı 1:10,000–1:12,000 olup, biyopsi sonrası da bazı minör ve major komplikasyonlar gelişebilmektedir. Gelişen komplikasyonların yaklaşık %60'ı ilk iki saat, %96'sı ise ilk 24 saat içinde gerçekleşmektedir (46). Bu komplikasyonlar arasında; sıklıkla ağrı (1:10-1:20), kanama (1:100), geçici hipotansiyon, safra kesesi perforasyonu, hemobili, pnömotoraks, pnömoperitoneum, pnömoskrotum, septik şok, subfrenik apse, intrahepatik arteriovenöz fistül, karsinoid kriz sayılabilir. Vakaların yaklaşık dörtte birinde biyopsi sonrası soluk alma ile artan, orta şiddette, kısa süreli, künt bir sağ üst kadran veya sağ omuz bölgesinde ağrı oluşmaktadır (46-47). Ayrıca en az 6-12 saat hastane gözetimi gerektirmesi ve maliyetinin yüksek olması dezavantaj oluşturmaktadır (1). %20-30 oranında karşımıza çıkan örnekleme hatası (44), karaciğer biyopsisinin diğer bir dezavantajıdır (48). Karaciğer biyopsi örneklerinde ekstraselüler matriksi değerlendirmek için birçok morfolojik ölçüm yöntemi tarif edilmiştir. Halen en yaygın olarak kullanılan yöntemler KNODELL, ISHAK ve METAVİR evrelendirmesidir (Tablo 3-4)(49). KNODELL ve arkadaşları tarafından önerilen histolojik aktivite indeksi (HAI) kronik hepatit

değerlendirmesinde yaygın olarak kullanılan ilk skorlama sistemidir. Modifiye HAİ (Histolojik Aktivite İndeksi), orijinal Knodell sisteminin bir devamı olup, kullanımda ortaya çıkan bazı sorunların aşılmasını amaçlayan bir seri değişiklik içermektedir. Bu sistem günümüzde kronik hepatit olgularının histopatolojik değerlendirmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İdeal bir skorlama sistemi, tedavi planlaması ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde güvenle kullanılabilir olmalıdır. Bu güvenilirliğin sağlanmasındaki öncelik, yöntemin uygulanabilir olmasıdır (18).

**Tablo 3. Çalışmada kullanılan Fibrotest ve Histopatolojik ISHAK fibrozis düzeyleri arasındaki uyum skalası**

ISHAK fibrozis aşamaları		Fibrotest
Fibrozis yok	F0	0.00- 0.21
Portal alanda çoğunda fibroz genişleme +/- kısa fibroz septa	F1	0.22- 0.27
Portal alanda çoğunda fibroz genişleme +/- kısa fibroz septa	F2	0.28- 0.31
Portal alanda çoğunda fibroz genişleme ve seyrek portal-portal köprüleşme	F3	0.32- 0.53
Portal alanlarda fibroz genişleme ve belirgin köprüleşme Portal-portal (P-P) yanı sıra Portal-santral (P-C)	F4	0.59- 0.72
Belirgin köprüleşme (P-P / P-C) ile seyrek nodül (inkomplet siroz)	F5	0.73- 0.74
Siroz (Olası / Kesin)	F6	0.75- 1.00

Nekroenflamatuvar aktivite ise, portal inflamasyon, güve yeniği nekrozu, fokal lobüler nekroz ve köprüleşme nekrozu düzeylerine göre, aşağıdaki şekilde derecelendirilmektedir.

**Tablo 4. Histopatolojik incelemede kullanılan ISHAK skorlama sistemine göre aktivite düzeyleri**

**Periportal ve periseptal interface hepatit (piecemeal nekroz)**

Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alanda)	1
Hafif/orta (fokal, portal alanların çoğunda)	2
Orta (Trakt yada septaların %50'sinden azında, çevresinde devamlılık gösteren)	3
Orta (Trakt yada septaların %50'sinden fazlasında, çevresinde devamlılık gösteren)	4

**Periportal ve periseptal interface hepatit (piecemeal nekroz)**

Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alanda)	1
Hafif/orta (fokal, portal alanların çoğunda)	2
Orta (Trakt yada septaların %50'sinden azında, çevresinde devamlılık gösteren)	3
Orta (Trakt yada septaların %50'sinden fazlasında, çevresinde devamlılık gösteren)	4

**Konfluent Nekroz**

Yok	0
Fokal Konfluent Nekroz	1
Zone 3 Nekroz (bazı alanlarda)	2
Zone 3 Nekroz (çoğu alanda)	3
Zone 3 Nekroz + seyrek portal-santral(P-C) köprüleşme	4

**Fokal (spotty) litik nekroz, apoptozis ve fokal inflamasyon**

Yok	0
Bir veya daha az odak (x100'lük her büyütmede)	1
2-3 odak (x100'lük her büyütmede)	2
5-10 odak (x100'lük her büyütmede)	3
10'dan fazla odak (x100'lük her büyütmede)	4

## Portal inflamasyon

Yok	0
Hafif (Bazı ve tüm portal alanlarda)	1
Orta (Bazı ve tüm portal alanlarda)	2
Orta/Belirgin (Tüm portal alanlarda)	3
Belirgin (Tüm portal alanlarda)	4

**Tablo 5. Çalışmamızda kullanılan Aktitest Skalası**

A0	0.00-0.17
A0-A1	0.18-0.29
A1	0.3-0.36
A1-A2	0.37-0.52
A2	0.53-0.6
A3	0.61-0.62
A4	0.63-1.00

## II. 5. 2. Noninvaziv Metodlar

Kronik karaciğer hastalığı ve fibrozisin değerlendirilmesinde kullanılan noninvaziv metodlar; Transient elastografi, Ultrasonografi (USG), bilgisayarlı batın tomografisi (BBT), manyetik rezonans (MR) gibi görüntüleme yöntemleri ve biyokimyasal yöntemler bulunmaktadır. Biyokimyasal yöntemler fibrozisin derecesini direkt veya indirekt olarak yansıtmaktadır.

- Direkt Belirteçler; Matriks sentezi, ayrışması veya matriks sentezi ile ilgili ilişkili enzimlerin test edilmesidir.
- İndirekt Belirteçler; ALT, AST, protrombin zamanı, Total Bilirubin, Apolipoprotein A,  $\alpha$ 2 makroglobulin, GGT gibi tek biyokimyasal belirteçler

- İndirekt ve direkt belirteçlerin kombinasyonları; Panel testlerden en çok kullanılanlar PGA (Platelet, GGT, Apo A1 in kombine ölçümü), PGAA (Platelet, GGT, Apo A1, alfa-2 makroglobulin), APRI indeksi (AST / Trombosit oranı), Bonacini indeksi, Forns indeksi, Fibrotest, Aktitest, HCV Fibrosure, Fibrospect II dir ve karaciğer biyopsisine alternatif olarak fibrozisin evresini gösterebilirler (3).

## II. 5. 2. 1. Görüntüleme Yöntemleri

Görüntüleme yöntemleri non-invaziv metodlardır ve temel olarak, karaciğerde oluşan yapısal değişikliği gösterirler. Kronik karaciğer hastalıklarının tanısı ve takibinde görüntüleme yöntemleri uzun zamandır kullanılmasına karşın, erken fibrotik değişikliklerin belirlenmesinde pek etkili bulunmamıştır. İleri evre fibrotik karaciğerde meydana gelen anatomik değişikliklerden (kaudat lob hipertrofisi, yüzey nodüleritesi) tanıda yararlanılabilmektedir. Siroz tanısında ultrasonografinin, diğer görüntüleme yöntemlerine göre daha anlamlı olduğu kabul edilmektedir Ultrasonografinin ileri evre sirozu göstermedeki duyarlılığı %90'nın üzerindedir (50).

Fibrozis sürecindeki karaciğer dokusunun artmış portal vasküler direnç ve hiperdinamik splanknik dolaşım nedeniyle portal volüm azalmaktadır. Doppler ultrasonografi ile kronik hepatit C' li 80 hastada yapılan bir çalışmada arterio/portal akım oranının >3.5 olmasının platelet sayısının düşüklüğü ile birlikte siroz gelişimini yansıttığı gösterilmiştir (51).

Son yıllarda 'transient elastografi (FibroScan)' olarak bilinen metod, ultrasonografik olarak karaciğer doku elastisitesini ölçer. Bu metotta, karaciğer parankimine gönderilen titreşimin oluşturduğu dalganın hızı ölçülerek, karaciğer parankiminde birikerek sertliğe yol açan ESM miktarı ölçülmektedir. Kolay uygulanabilir olması, biyopsi ile karşılaştırıldığında yaklaşık 100 kat daha fazla karaciğer parankimini taraması, komplikasyonsuz olması ve uygulayan kişiler arasında farklılığın az olması yöntemin avantajlarını oluştururken, orta derece fibrozisi ayırt etmede sensitivite ve spesifitesinin tam bilinmemesi, obez hastalarda uygulanmasının zor olması, fibrozis ve steatozu tam olarak ayıramaması dezavantajlarını oluşturmaktadır (52). Transient elastografi, APRI skoru ve Fibrotest ile karşılaştırıldığında ileri evre fibrozisi göstermedeki duyarlılığı açısından eşdeğer sonuçlar alınmıştır (50). Ghany MG ve ark'nın yaptığı bir çalışmada ise HCV'li hastalarda fibrozisi öngörmedeki duyarlılığı yüksek bulunmuştur

(53). Lu LG. ve ark' nın yaptığı kronik karaciğer hastalığı olan 200 hastanın değerlendirildiği çok merkezli bir çalışmada ileri evre fibrozisi olan olgularda USG 'de karaciğer kapsül kalınlığı, sağ lob maksimum oblik çapı, ana portal ven ile sağ ve sol dalların çapı, safra kesesi duvar kalınlığı, dalak büyüklüğü, splenik ven çapı, portal ven kan akım hızı ve safra kesesi şekli fibrozis derecesi ile ilişkili bulunmuştur. MR ve KT ile karşılaştırıldığında MR ve KT'de sadece dalak volümü fibrozis derecesi ile uyumlu bulunmuştur (54).

Karaciğer yüzey nodüleritesi, kaudat lob hipertrofisi ve hepatik ven kan akımının değerlendirildiği diğer bir araştırmada, yalnızca ciddi fibrozis veya sirozlu hastalarda karaciğer yüzey nodüleritesinin diagnostik değeri olduğu bildirilmiştir (55).

## **II. 5. 2. 2. Matriks Değişim Süreçleriyle İlişkili Belirteçler**

### **II. 5. 2. 2. 1-Matriks Birikimiyle İlgili Belirteçler**

#### **- Kollajen Tip I ve Tip IV:**

Tip I kollajen seviyeleri her türlü karaciğer fibrozisinde yükselmektedir. Aktive hepatik stellat hücrelerde Tip I kollajenin mRNA seviyeleri 60-70 kat artmaktadır (56). Fibrozisi göstermedeki duyarlılığı hyalüronik asite benzemekle birlikte PIIIN' den daha iyi olduğu belirtilmektedir( 57).

#### **-Prokollajen–I Karboksi Terminal Propeptid (PICP), Prokollajen-III Aminoterminal Propeptid (PIIINP):**

Kollajen, prokollajen olarak bilinen bir prekürsör formda sentezlenir. Prokollajen molekülünün iki farklı enzim tarafından (prokollajen C proteinaz, prokollajen N-proteinaz) karboksil ve amino-terminal uçlarından enzimatik yıkılımı, kollajen molekülünün ortaya çıkmasına yol açar (58).İleri evre sirotik hastalarda prokollajen düzeyleri artmış olarak bulunmaktadır.

PICP düzeyinin fibrozisi göstermekteki duyarlılığı PIIINP kadar yüksek olmadığından PIIINP daha yaygın kullanılmaktadır ve hepatik fibrozisin en yaygın çalışılan belirteçidir. Serum düzeyleri akut ve kronik karaciğer hastalıklarında yüksek bulunmaktadır. Yüksek serum düzeyleri kronik karaciğer hastalarında bilirubin, akut

karaciğer hastalarında aminotransferaz düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur(2). Kronik viral hepatitli hastalarda yapılan çalışmalarda fibrozis evresi ile korelasyonu iyi olmayıp, daha çok nekroenflamatuvar aktivite ile ilişkili bulunmuştur (10). Serum PIIINP seviyeleri alkolik karaciğer hastalığı, viral hepatitler, ve primer bilier sirozlu hastalardaki hepatik fibrozisin histolojik evresini yansıtmaktadır (59, 60). Alkolü kalıcı olarak bırakanlarda (39, 61) ve immunsupresif tedaviye başarıyla cevap veren otoimmün hepatitli hastalarda PIIINP seviyelerinde gerileme veya tamamen düzelme gözlenmiştir (40).

#### **- Laminin:**

HSH tarafından sentez edilip karaciğerin bazal membramında depo edilen, kollajen olmayan bir glikoproteindir. Kronik karaciğer hasarında, bazal membran bileşenleri, özellikle de laminin, damarların çevresinde, perisinüzoidal boşluklarda ve portal alanlarda birikmektedir (27, 62). Lamininin serum seviyeleri fibrozis ve hepatitin şiddeti, Child-Pugh skoru, hepatik ven portal gradiyenti ve sirozun komplikasyonları ile ilişkili bulunmuştur (63). Laminin, kronik viral hepatitlerdeki fibrotik evreyi öngörmeye PIIINP' ye üstün olmasına karşılık, kollajen Tip IV kadar iyi değildir (53). Kronik Hepatit B'li hastalarda, lamininin fibrozis evresi ile korele olmadığı bulunmuştur (64).

#### **- Hyalüronik asit:**

HSH'ler tarafından sentez edilip karaciğer sinüzoidal hücreleri tarafından yıkılan bir glikozaminoglikandır. Yüksek molekül ağırlıklı bir mukopolisakkariddir. Vücudun hemen hemen tüm dokularındaki ESM'in temel bileşenidir (45). Karaciğer hastalıklarında özellikle de sirozu olanlardaki yüksek seviyeleri, endotelyal sinüzoidal hücrelerin fonksiyon bozukluğuna bağlanmış olup artan fibrogenezin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (65, 66). Kronik Hepatit B ve C'li hastalarda hyalüronik asit seviyeleri hepatik fibrozis ile korele olup nekroinflamasyonun histopatolojik indeksleri ile ilişkili bulunmamıştır (55).

#### **- Kondrex (YKL-40):**

“Human cartilage glycoprotein-39” (HC gp-39) veya “kondreks” olarak da bilinir (67). Çeşitli solid tümörlerden salınan ve artritli hastalarda arttığı gösterilen “mammalian Chitinase-like proteins” olarak adlandırılan bir glikoproteindir (68). Kondrositler, sinoviyal hücreler, aktive makrofajlar, nötrofil ve osteosarkomlar tarafından üretilmektedir (69). Biyolojik fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemektedir. Kondrositler, fibroblastlar,

sinoviyal hücreler için büyüme faktörü aktivitesi rapor edilmiştir (67). Vasküler endotelial hücrelerin reorganizasyonu ve migrasyonunu stimüle etmek yanında anjiogeneziste de rol oynamaktadır. Kolorektal kanserler, akciğer kanseri, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, streptokokkal bakterial pnömoni, pürülan menenjit ve artirit hastalarında kullanılan önemli bir belirteçtir (67). Karaciğer fibrogenezisinde temel rol oynayan hepatik stellat hücrelerden de salınmaktadır. Bu nedenle karaciğer fibrozisinin belirteci olarak görülmelidir (69).

Fibrotik karaciğer dokusunda immunohistokimyasal olarak ve fibrozis derecesi ile uyumlu olarak, serumda düzeyleri PIIINP ve hyalüronik asitle uyumlu olarak artmaktadır (70). Özellikle alkolik hepatitli olgularda anlamlı olarak yüksek serum düzeyleri tespit edilmiştir.

## **II. 5. 2. 2. Matriks Yıkımıyla İlgili Belirteçler**

### **-TIMP-1 ve TIMP-2 (Metalloproteinazların Doku İnhibitörü):**

Hepatositler, hepatik stellat hücreler, kupffer hücreleri tarafından üretilir, matriks yıkımında görev alan MMP'lerin inhibisyonunda rol oynarlar (57). TIMP'ler bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel olan proteinlerdir. Pek çok dokuda ve vücut sıvılarında bulunurlar. MMP'lere irreversible ve non-kovalent biçimde bağlanarak latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini de inhibe ederler. Böylece TIMP'ler, MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini sıkı kontrol altında tutarlar. Bugüne kadar dört farklı TIMP tanımlanmış olup, bunların içinde en geniş dağılım gösteren TIMP-1'dir (21).

TIMP-1 ve TIMP-2 bazı hücre grupları için büyüme faktörü olarak rol oynar (71). Kronik HCV'li hastalarda TIMP-1 ve TIMP-2 serum düzeyleri histolojik aktivite indeksi ve fibrozis derecesi ile uyumlu olarak yüksek bulunmuştur (72). Nekroenflamasyonda daha az artmakla birlikte, fibrozis derecesinin artışıyla karaciğer dokusunda ve serumda düzeyleri artmaktadır (73). Murawaki ve ark., sağlıklı kişilerde kronik hepatit C'nin son evrelerine doğru serum TIMP-1 seviyelerinde artış olduğunu göstermişlerdir. Walsh ve ark. kronik hepatit C'de serumda MMP-2 ve TIMP-1 konsantrasyonlarının arttığını, ancak MMP-2 konsantrasyonları ile histopatoloji arasında korelasyon olmadığını bildirmişlerdir (74).



### **-MMP (Matrix Metalloproteinaz):**

Matriks yıkılımı, öncelikle matriks metaloproteinazları diye bilinen bir enzim ailesinin aktivitesinin sonucu olarak ortaya çıkar. MMP'ler ESM bileşenlerini yıkıma uğratan  $Zn^{++}$  ve  $Ca^{++}$ 'a bağımlı nötral endopeptidaz ailesi olarak bilinirler. Türlerine göre endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri, T lenfositler, trombositler, kondrositler, keratinositler, epitelyum hücreleri, mezaşimal hücreler, nötrofiller, trofoblastlar, osteoblastlar gibi oldukça çeşitli hücre tipi tarafından eksprese edilirler. Bu enzimler intraselüler olarak sentez edilirler ve fonksiyonel bir aktivite olarak hücre yüzeyi mekanizmaları tarafından, yıkılımı gerektiren bir proenzim formunda sekrete edilirler. MMP'lar protein zincirlerinin peptid bağlarını kırarak etki gösterir. Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile onların spesifik endojen doku inhibitörleri (TIMP'ler) arasında sürekli bir denge söz konusudur. MMP'ler ve TIMP'ler normal dokularda düşük düzeyde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında kemiğin yeniden modellenmesi, yara iyileşmesi, anjiyogenez, inflamasyon, apoptozis, immün cevap gelişimi, embriyonik gelişim, blastosit implantasyonu, organ morfogenez, sinir hücre gelişimi, ovülasyon, servikal dilatasyon, postpartum uterin involüsyonu, endometriyal siklus ve saç folikülü siklusu sayılabilir. MMP ekspresyonu, gen transkripsiyonunu etkileyen faktörlerin etkisi altındaki çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullarda gelişen doku yeniden modellenmesi sırasında artar. Bu sırada MMP'lerin üretimi TIMP'lerin üretimini aşabilir. Böylece MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki denge bozulur. Dengenin MMP aktivitesi yönüne kayması matriksin kontrolsüz olarak yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşumuna zemin hazırlar. MMP'lerin rol oynadığı patolojik olaylar arasında kanser ve ateroskleroz basta olmak üzere artrit, nefrit, gastrointestinal ülser, peridontal hastalık, kornea ülseri, deri ülseri, multipl skleroz, nörolojik hastalık, Alzheimer hastalığı, karaciğer fibrozu, fibrotik akciğer hastalığı, amfizem, kan beyin bariyerinin yıkılmasını sayılabilir.  $\alpha$ -2 makroglobulin, heparin, tetrasiklinler ve sentetik inhibitörler de aktif MMP inhibitörleri arasında yer alırlar.

Yeni üyelerin katılımı ile sürekli genişleyen bu enzim ailesinin bugüne dek klonlanmış ve sekanslanmış 66'dan fazla üyesi bulunmaktadır (74). Bunlardan MMP-2 (jelatinaz A), MMP-3 (stromelisin) ve MMP-9 (jelatinaz B) karaciğer hasarında önemli rol oynamaktadırlar. Özellikle MMP-2 ve 9, kollajen tip 4 ve diğer matriks proteinlerini parçalayarak bazal membran yıkımında önemli yer almaktadır. Karaciğer hastalıklarında

MMP-2 düzeyleri artmış olarak bulunurken, MMP-9' un HCC dışında kronik karaciğer hastalıklarında düzeyinin değişmediği görülmüştür (75).

### **II. 5. 2. 2. 3. Fibrojeniz İle İlişkili Sitokinler ve Kemokinler**

#### **- TGF- $\beta$ (Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta):**

Hepatik stellat hücreler tarafından ekstraselüler matriks yapımı için etkin bir uyarıcıdır. TGF'nin hepatik mRNA seviyeleri Tip-I kollajenin mRNA seviyelerindeki artışla birlikte kronik karaciğer hastalığında yükselmektedir (76).

#### **- TGF- $\alpha$ (Transforme Edici Büyüme Faktör-Alfa):**

Normal ve neoplastik hepatositlerin mitozisi için güçlü bir uyarıcıdır. Hepatokarsinogenezişte rolü vardır.(77).

#### **- Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF):**

Karaciğer fibrojenizinde TNF- $\alpha$ , TGF- $\alpha$  ve  $\beta$  gibi fibrojenetik mediyatördür (78).

### **II. 5. 2. 3. Panel Testler ve Diğer Biyokimyasal Parametreler**

Portal hipertansiyonun bir göstergesi olan trombosit düzeyi tek başına veya panel testlerde sirozun bir belirteci olarak da değerlendirilmektedir (79). Protrombin zamanı, GGT, albumin, albumin/globulin, total bilirubin, kolesterol, alfa fetoprotein (AFP), alkalin fosfat (ALP), immunglobulinler (IgA, IgG ve total Ig), alfa 2 makroglobulin ile yapılan çalışmalarda fibrozis derecesi ve nekroenflamasyon ile korelasyon gösterilmişse de hiçbirisi tek başına matriks testleri ve panel testleri kadar başarılı sonuçlar vermemiştir (79, 80). Serum aminotransferazların ise tek başlarına anlamlı olmadığı, ancak AST/ALT oranının >1 olması durumunun fibrozisi ve sirozu göstermede anlamlı olduğu bulunmuştur. 150.000'in altında trombosit sayısı ve AST/ALT >1 olması kronik HCV'li hastalarda fibrozisi öngörebilmektedir (81). Serum kaspaz aktivitesinin fibrozis belirteci olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (82). Kronik HCV'li hastalarda serum immunglobulinlerin (IgA, IgG ve total immunglobulin) hepatik fibrozisin bağımsız prediktörü olduğu

bulunmuştur (83). Ayrıca karaciğer fonksiyonlarının göstergesi olarak ve perfüzyon testleri (sorbitol klirensi, indosiyanın yeşili klirensi), metabolik testler (aminopirin nefes testi, galaktoz eliminasyon kapasitesi) de fibrozisin göstergesi olarak çalışılmış ve şiddetli fibrozis varlığında azalmış olarak bulunmuşlardır (84).

Karaciğer biyopsisine alternatif olarak fibrozisin evresini göstermede biyokimyasal parametrelerin tek başına yeterli olmamasından dolayı serumda indirekt ve direkt yöntemlerin kombinasyonlarıyla oluşan panel testlerin kullanımını gündeme getirmiştir.

Günümüzde en fazla kullanılan panel testlerin başında Apo A1, protrombin indeksi, GGT'nin birlikte kullanıldığı PGA skoru ve Alfa-2 makroglobulin, protrombin zamanı, GGT ile elde edilen PGAA skoru gelmektedir. Alfa-2 makroglobulin, hepatosit aktive stellat hücreler tarafından sentezlenen bir proteinaz inhibitörü olup, ESM proteinlerinin yıkımını engellemekte ve fibroze katkıda bulunmaktadır. Apolipoprotein A1 ise hepatositler tarafından yapılan ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) yapısında bulunan major apoproteindir. Alkolik karaciğer hastalarında karaciğer fibrozu ile ilişkili bulunmuştur. Hepatik fibrozis gelişimde lipoprotein sentezinin azalmasına bağlı olarak serumda düzeyi azalmaktadır. Alkole bağlı steatozda fibrozis gelişmeyen olgularda ise serum düzeyi artmış olarak bulunmaktadır (85). Alfa 2 makroglobulin, haptoglobin, GGT, total bilirubin, Apo A sonuçlarının hastanın yaşı ve cinsiyeti kullanılarak hesaplanan "Fibrotest skoru" ve bu belirteçlere ALT ilavesiyle kullanılan "Aktitest" ile, Aktitest ve Fibrotest kombinasyonu ile elde edilen "FibroSure", viral hepatitli hastalarda ciddi fibrozisin ve nekroenflamasyonun belirlenmesinde kullanımı yaygınlaşmaktadır (86, 87). Haptoglobin düzeylerinde düşüşe, nonkonjuge bilirubinde yükselişe neden olan akut hemoliz durumlarında, Gilbert hastalığı (indirekt bilirubinde artma), ilaç kullanımı, viral (HAV, HBV, EBV ile süper enfeksiyon) ya nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında, akut inflamasyon (alfa 2 makroglobulinde izole artma), ekstrahepatik kolestaz (total bilirubin ve GGT'de artış) durumlarında hatalı sonuçlar verebilmektedir (88). Ayrıca kullanımı zor ve pahalı olduğundan henüz kullanımı yaygınlaşmamıştır. Tablo 6'da bazı panel testler özetlenmiştir.

**Tablo 6. Panel testler**

<b>PANEL ADI</b>	<b>KOMPONENTLERİ</b>
Forms test	Trombosit, GGT, kolesterol
APRI	AST, trombosit
PGA İndeksi	Trombosit, GGT, Apo- A1
PGAA indeksi	PGA ve $\alpha$ 2-makroglobulin),
Fibrotest	GGT, haptoglobulin, bilirubin, Apo-A, alfa-2 makroglobulin
Aktitest	Fibrotest değerlerine ALT eklenir
Fibrospect	Hyalüronik asit, DMPİ, alfa-2 makrogloblin
FPI	AST, kolesterol, HOMA-IR
ELF	Çok sayıda ESM proteinleri ve proteinazlar
Bonacini indeksi	Trombosit sayısı, ALT/AST oranı, protrombin zamanı ve INR

Proteomiks alanındaki gelişmeler göstermiştir ki; kandaki protein kompozisyonunun parmak izleri, karaciğerin fibrojenik aktivitesini daha doğru şekilde yansıtabilir (89).

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

#### III. 1. ARAÇ VE GEREÇ

<b>Santrifüj</b>	Hettich Rotina 35 R/Soğutmalı (Almanya)
<b>Otomatik pipetler</b>	Biohit (Finlandiya)- İsolab (Almanya)
<b>Derin dondurucu</b>	Nuaire Ultralow Freezer (-80°C) (ABD)
<b>Elisa okuyucu</b>	BioRead, Spectra II (Avusturya)
<b>Otoanalizör</b>	Dade Behring BN 100 nefelometrik analizörde Cobas İntegra 800 Beckman Coulter DXC 800 otoanalizörü (ABD) Beckman Coulter DXI 800 otoanalizörü (ABD) Immulite 2000 analizörü (DPC IMMULİTE 2000 Los Angeles, CA, ABD)

## **III. 2. YÖNTEM**

### **III. 2. 1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması**

**Hasta Grubu (Grup 1);** Biyokimyasal, virolojik, histopatolojik olarak daha önceden karaciğer fibrozisi tanısı konmuş kronik hepatit B' li 2-18 yaş arası çocuklar (n=35).

**Kontrol Grubu (Grup 2);** Sağlıklı 2-18 yaş arası çocuklar (n=15).

### **III. 2. 2. Çalışma Düzeni**

Bu çalışma, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı ve Pediatri Anabilim Dalı Pediatrik Gastroenteroloji Bilim Dalı ile birlikte yürütülmüştür. Hasta grubumuz biyokimyasal virolojik, histopatolojik olarak daha önceden karaciğer fibrozisi tanısı konmuş 2-18 yaş grubundaki Kronik Hepatit B'li 35 hastadan oluşmaktadır. 15 kişilik kontrol grubumuz ise kontrol amacı ile gelen, herhangi bir semptomu bulunmayan sağlıklı gruptan oluşmaktadır.

### **III. 2. 3. Kan Örneklerinin Alınması**

Tüm hasta grupları ve kontrol grubundan çalışma başlangıcında bir kez olmak üzere bir adet antikoagülan içermeyen tüpe 5 cc venöz kan örneği alındı. Düz kan tüpleri 5 dakika 3500 rpm' santrifüj edildi ve ayrılan serum örnekleri toplu olarak analizi yapılmak üzere porsiyonlara ayrılarak ependorf tüplerine ayrıldı, 80°C' de, karanlıkta saklandı.

### **III. 2. 4. Biyokimyasal Analizler**

#### **III. 2. 4. 1. Fibrotest-Aktitest Tayini**

Serumda bakılan 6 farklı biyokimyasal test, yaş ve cinsiyet faktörlerini kullanarak patentli bir yapay zeka algoritması ile karaciğer fibrozu derecesini (Fibrotest) ve süregelen nekroinflamatuvar aktivite düzeyini (Aktitest ) belirleyen testlerin çalışılması için Referans

Laboratuvarına gönderildi. Gönderilen örnekler, Dade Behring BN 100 nefelometrik analizörde, Cobas İntegra 800 otoanalizöründe çalışıldı.

Fibrotest = 4.467 x Log [alfa 2-makroglobulin (g/l)]-1. 357 x Log [Haptoglobin (g/l)] + 1.017 x Log [GGT (IU/l)] + 0.0281 x [yaş ] +1.737 x Log [Bilirubin (pmol/l)]-1. 184 x [Apolipoprotein A1 (g/l)] + 0.301 x cinsiyet (kız=0, erkek=1)-5. 540 formülüyle hesaplandı.

### **III. 2. 4. 2. Serum YKL-40 Tayini**

YKL-40 düzeyleri serumda ELISA yöntemi ile hazır ticari kit kullanılarak ölçüldü (METRA YKL-40 ELİSA KİT- Quidel Corporation, San Diego, USA). Standartlar, kontroller ve örnekler kuyucuklara pipetlendi. Daha sonra kitin içinde bulunan antikorlar (detection antibody) tüm kuyucuklara pipetlendi. 1 saat oda ısısında inkübe edildi. Bağlı olmayan antikor-enzim reaktifini uzaklaştırmak için 4 kez yıkama işlemi yapıldı. Enzim solüsyonu kitte belirtilen ölçülerde kuyucuklara pipetlenerek 1 saat oda ısısında inkübasyona bırakıldı. Yıkama işleminin ardından tüm kuyucuklara substrat solüsyonu eklendi. 1 saat oda ısısında inkübasyonun ardından stop solüsyonu eklendi. ELİSA okuyucuda 405 nm'de standart ve örneklerin absorbansları okutuldu. Çalışmamızda 0, 20, 50, 100, 200, 300 ng/ml'lik standart solüsyonları ile örneklerin konsantrasyonları hesaplandı. Gün içi varyasyon katsayısı (CV) değeri 51.8 ng/ml için %6,6, 177,8 ng/ml için %5.6 ve 262,9 ng/mL için %5,8 idi. Günler arası varyasyon katsayısı (CV) değeri 51.8 ng/ml için %6,8, 177,8 ng/ml için %7,0 ve 262,9 ng/mL için %6,0 idi.

### **III. 2. 4. 3. MMP-9 Tayini**

MMP-9 düzeyleri serumda ELISA yöntemi ile hazır ticari kit kullanılarak ölçüldü (R&D Systems Quantikine, Inc USA& Kanada). Tüm kuyucuklara Assay Dilüent ve ardından standartlar, kontroller ve örnekler pipetlendi. Oda ısısında shakerda 500±50 rpm'de 2 saat inkübe edildi. 4 kez yıkama işlemi yapılarak kitin içinde bulunan antikorlar tüm kuyucuklara pipetlendi. 4 kez Yıkama işleminin ardından tüm kuyucuklara substrat

solüsyonu eklendi. 30 dakika oda ısınsa güneşten korunarak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından tüm kuyucuklara stop solüsyonu eklendi. ELİSA okuyucuda 450 nm’de standart ve örneklerin absorbanları okutuldu. Ölçüm değerlerinin hesaplanmasında kitin içinde bulunan 20 ng/ml’ lik stok standart solüsyonu kullanıldı. Çalışmamızda stok standart solüsyonun dilüsyonuyla 10, 5.0, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 ng/ml’lik standart solüsyonları hazırlanarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı. Kitin Analitik sensitivitesi 0,156 ng/ml; Gün içi varyasyon katsayısı (CV) değeri 0,833 ng/ml için %2,0, 2,04 ng/ml için %1,9 ve 11 ng/mL için %2,9 idi. Günler arası varyasyon katsayısı (CV) değeri 0,972 ng/ml için %7,9, 2,35 ng/ml için %7,8 ve 12,2 ng/mL için %6,9 idi.

#### **III. 2. 4. 4. Kollagen IV Tayini**

Kollagen IV düzeyleri için serumda ELISA yöntemi ile hazır ticari kit çalışıldı. (Collagen IV ELISA Kit Echelon Biosciences Inc.Salt Lake City, UT). Gerek standartlarda gerekse örneklerde herhangi bir renklenmenin olmadığı, ELISA okuyucusunda hiçbir sayısal değer okunmadığı ve kitin çalışmadığı gözlemlendi. Kitin satın alındığı ticari firma ile irtibata geçilip aynı firmaya ait ikinci kit ile de yapılan çalışmada başarısızlıkla sonuçlanmış olup, kollagen IV’ e ait bir sonuç elde edilememiştir.

#### **III. 3. İstatistiksel Analiz**

Çalışmada yer alan sürekli değişkenler; yaş, AST, ALT, ALP, GGT, Total Protein, Albumin, Amilaz, Total Bilirubin, Direkt Bilirubin, İndirekt Bilirubin, Hemoglobin, Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı (APTZ), Protrombin Zamanı (PZ), Trombosit, Beyaz küre sayısı (BK), Hepatit DNA yükü, Fibrotest paneli içerisindeki Alfa-2 Makroglobulin, Haptoglobulin, Apolipoprotein A1, Metalloproteinaz-9 (MMP-9), YKL-40 ve AST/ALT oranıdır. Karaciğer biyopsi sonuçlarına göre kabul edilen kesikli değişkenler ise, Histopatolojik Nekroenflamatuvar aktivite derecesi (NEA 1-5 ve 6-11 olanlar), Histopatolojik fibrozis (saptananlar ve saptanmayanlar) değerleridir. Fibrotest (Fibrozis



saptanan ve saptanmayan), Aktitest (NEA'si olanlar ve olmayanlar) değişkenleri ise diğer kesikli değişkenlerdendir.

Sürekli değişkenlerin minimum, maksimum, ortalama ve  $\pm$  standart sapma değerleri hesaplandı. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş, AST, ALT, GGT, Total Protein, Albumin, Amilaz, Total Bilirubin, Direkt Bilirubin, İndirekt Bilirubin, Hemoglobin, Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı (APTZ), Protrombin Zamanı (PZ), Trombosit, beyaz küre sayısı (BK), Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP-9), YKL-40 değişkenleri karşılaştırıldı. Normal dağılım gösteren değişkenler “student t testi” ile, normal dağılım göstermeyenler Mann Whitney-U testi ile karşılaştırıldı. Biyokimyasal ve hematolojik testlerin kendi aralarında negatif ve pozitif yöndeki korelasyonunu belirlemek için Pearson Korelasyon Analizi kullanıldı. Hasta kanlarından elde edilen Fibrotest (fibrozis düzeyleri) ve Aktitest (aktivite düzeyleri) sonuçları ile histopatolojik değerlendirme sonucu elde edilen fibrozis ve aktivite düzeyleri Fisher kıkare testleri kullanılarak karşılaştırıldı. Tanı testlerinin güvenilirliğinin saptanması için sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer oranları saptandı. Çalışmaya alınan olgularda, noninvaziv kan ve invaziv biyopsi bulgularına göre belirlenen fibrozis ve nekroenflamatuvar aktivite düzeyleri ile biyokimyasal ve hematolojik belirteçler arasındaki ilişkiyi araştırmak için normal dağılım gösteren değişkenlere “student t testi”, normal dağılım göstermeyen değişkenlere ise Mann Whitney - U testi uygulandı. Hastalar viral DNA yüklerine göre 3 gruba ayrıldı. Biyokimyasal ve hematolojik testler ile viral DNA yükleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için “ANOVA” testi, ikili alt gruplar arasındaki farkın değerlendirilmesi için Tukey HSD testi uygulandı. Normal dağılıma uymayan parametrelerde nonparametrik test – Kruskal Wallis testi ve ikili alt gruplar arasındaki farkın değerlendirilmesi için Mann Whitney- U testi kullanıldı.

#### IV. BULGULAR

Bu çalışmaya biyokimyasal, virolojik, histopatolojik olarak daha önceden karaciğer fibrozisi tanısı konmuş 2-18 yaş grubundaki Kronik Hepatit B'li 35 hasta grubu ve rutin kontrol amacı ile gelen 15 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubu dahil edildi.

İki grubun cinsiyet ve yaş ortalamaları değerlendirildiğinde; çalışmaya katılan hasta grubundaki (Grup 1) 35 olgunun yaş ortalaması  $11.9 \pm 4.3$  ( 2-19 yıl), kontrol grubundaki (Grup 2) 15 olgunun yaş ortalaması ise  $13.9 \pm 2.0$  (11-17 yıl) bulundu . Çalışmaya alınan hasta grubundaki 35 olgunun 24'ü (%69) erkek, 11'i (%31) kız idi. Kontrol grubunda ise 15 olgunun 10'u (%67) erkek, 5'i (%33) kız idi (Tablo 7).

**Tablo 7. Hasta ve Kontrol grubunun demografik verileri**

	<b>Hasta Grubu (Grup 1) n=35</b>	<b>Kontrol Grubu (Grup 2) n=15</b>	<b>Gruplar arası farklılık (p)*</b>
<b>Yaş (yıl) (min-maks)</b>	$11.9 \pm 4.2$ (2-19)	$13.9 \pm 2.0$ (11-17)	0.147
<b>Cinsiyet</b>			1,00
<b>Kız (%)</b>	11 (%31)	5 (%33)	
<b>Cinsiyet</b>			
<b>Erkek (%)</b>	24 (%69)	10 (%67)	

\*p<0.05

Hasta grubunun (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) yaş ortalamaları karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0.147) (Tablo 7).

Hasta grubunun (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) cinsiyetleri karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( p=1,00) (Tablo 7).

## **BİYOKİMYASAL VE HEMATOLOJİK**

### **TESTLERİN GRUPLAR ARASINDA KARŞILAŞTIRILMASI**

**Tablo 8. Hasta grubunun (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) biyokimyasal testler yönünden karşılaştırılması**

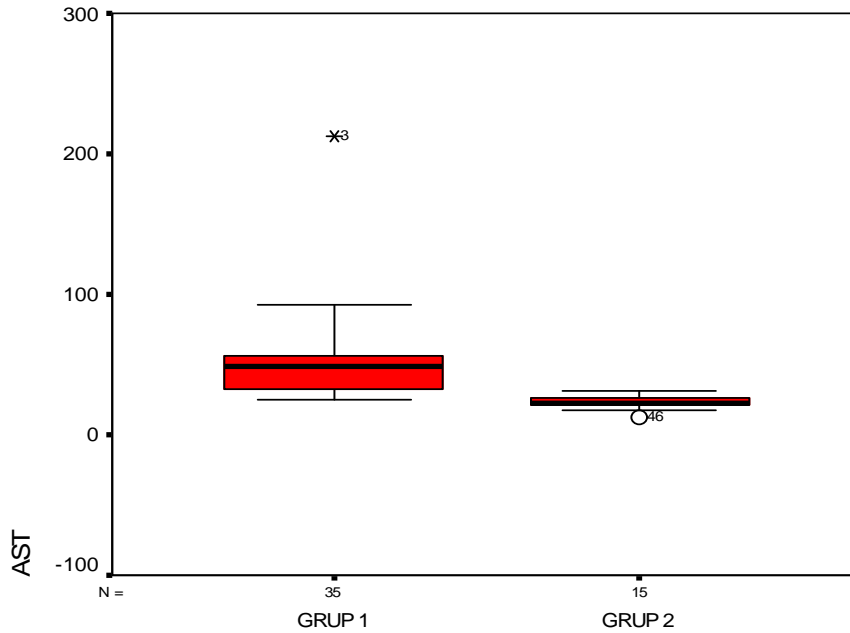
<b>Biyokimyasal testler (Min-Maks)**</b>	<b>Hasta Grubu (Grup 1)</b>	<b>Kontrol Grubu (Grup 2)</b>	<b>Gruplar arası farklılık (p)*</b>
<b>AST (U/L)</b>	53.1 ± 32.3 (25-213)	23.2 ± 4.9 (13-31)	<b>0.01*</b>
<b>ALT (U/L)</b>	58.5 ± 29.9 (15-142)	14.0 ± 2.8 (9-20)	<b>0.01*</b>
<b>GGT (U/L)</b>	30.1 ± 19.7 (10-75)	12.33 ± 5.63 (5-29)	<b>0.01*</b>
<b>Total Protein (gr/dl)</b>	6.7 ± 0.59 (5.3-8)	7.3 ± 0.39 (6.8-7.9)	<b>0.02*</b>
<b>Albumin (gr/dl)</b>	4.1 ± 0.64 (2.7-6.5)	4.3 ± 0.33 (3.6-4.7)	0.34

<b>Amilaz (U/L)</b>	76.3 ± 43.1 (30-181)	63.7 ± 17.8 (37-102)	0.87
<b>Total Bilirubin(mg/dl)</b>	0.89 ± 0.43 (0.20-1.70)	0.59 ± 0.25 (0.14-1.2)	<b>0.03*</b>
<b>Direkt Bilirubin(mg/dl)</b>	0.16 ± 0.1 (0.01-0.36)	0.10 ± 0.08 (0.02-0.30)	0.12
<b>İndirekt Bilirubin(mg/dl)</b>	0.71 ± 0.34 (0.15-1.50)	0.49 ± 0.22 (0.1-1.03)	0.22

\*p<0.05

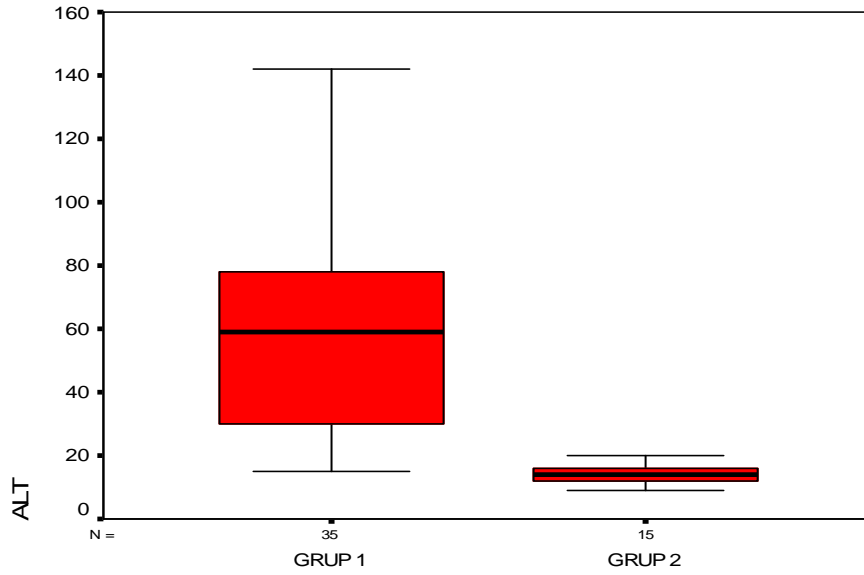
\*\* Biyokimyasal testlerin Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) içinde tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.

**AST (U/L):** AST düzeyleri Hasta grubunda (Grup 1) Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0.01) (Şekil 7).



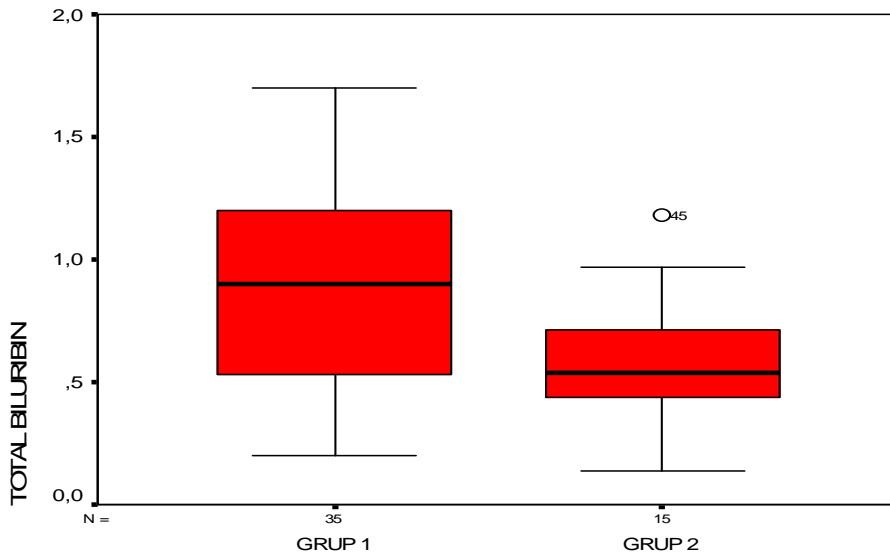
**Şekil 7. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında AST düzeyleri**

**ALT (U/L):** ALT düzeyleri Hasta grubunda (Grup 1) Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0.01$ )(Şekil 8).



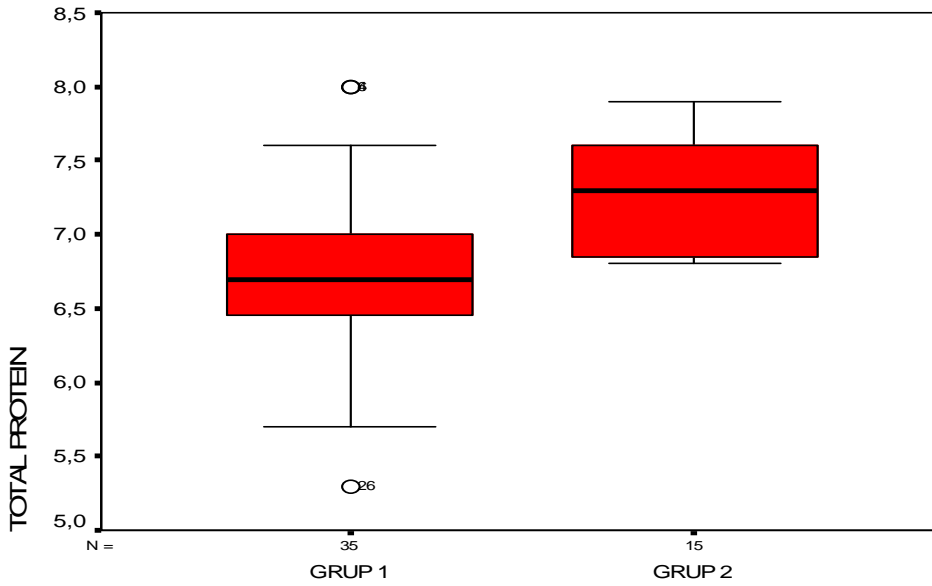
**Şekil 8. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında ALT düzeyleri**

**Total Bilirubin (mg/dl):** Total Bilirubin düzeyleri Hasta grubunda (Grup 1) Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0.03$ )(Şekil 9).



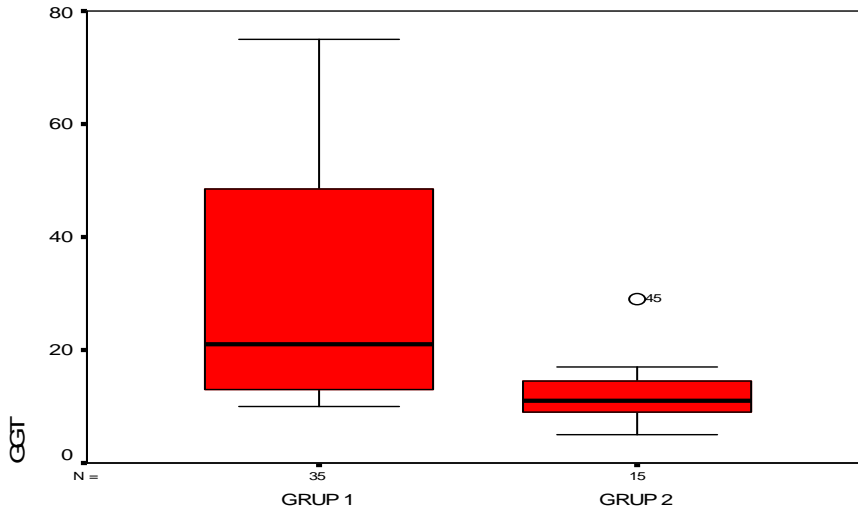
**Şekil 9. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında Total Bilirubin düzeyleri**

**Total protein (gr/dl):** Total Protein düzeyleri Hasta grubunda (Grup 1) Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ( $p=0.02$ ).



**Şekil 10. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında Total Protein düzeyleri.**

**GGT (U/L):** GGT düzeyleri Hasta grubunda (Grup 1) Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0.01$ )(Şekil 11).



**Şekil 11. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında GGT düzeyleri.**

Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol (Grup 2) grubu arasında direkt bilirubin, indirekt bilirubin, albumin, amilaz düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla p=0.12, p=0.22, p=0.34, p=0.87).

**Tablo 9. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) hematolojik testler yönünden karşılaştırılması**

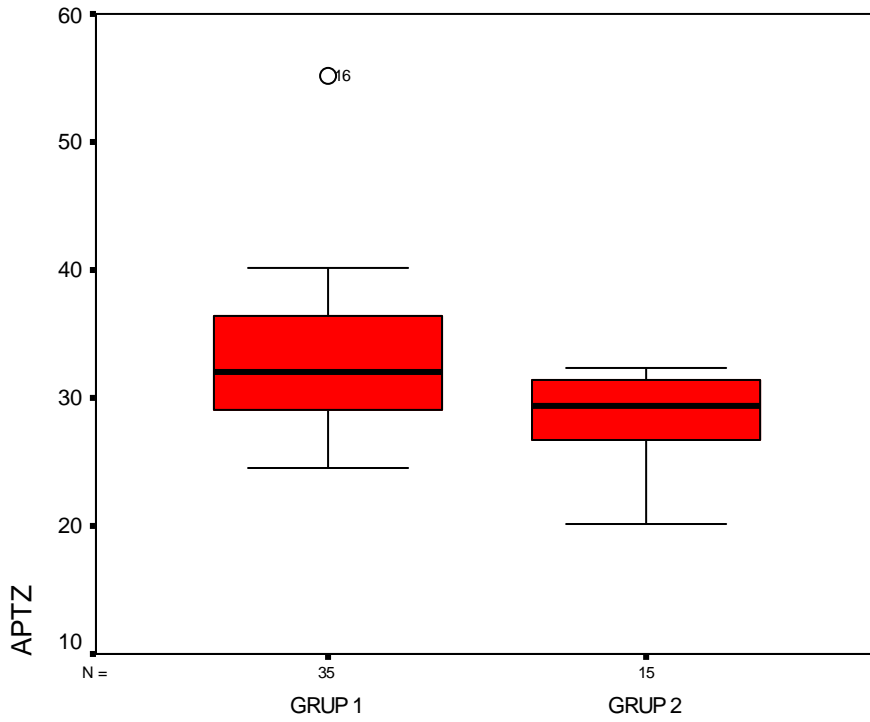
<b>Hematolojik testler (Min-Maks)**</b>	<b>Hasta grubu (Grup 1)</b>	<b>Kontrol Grubu (Grup 2)</b>	<b>Gruplar arası farklılık (p)*</b>
<b>Hemoglobin (gr/dl)</b>	12.7 ± 1.13 (10.3-16)	13.12 ± 1.86 (11.3-17.3)	0.816
<b>PZ (sn)</b>	13.5 ± 1.55 (10.8-19.3)	13.19 ± 1.13 (11-15.8)	0.457
<b>APTZ (sn)</b>	32.99 ± 5.68 (24.5-55.2)	28.6 ± 3.3 (20.1-32.4)	<b>0.007*</b>
<b>BK (10<sup>3</sup>/µl)</b>	6.34 ± 1.82 (3.400-13.900)	6.460 ± 1.29 (4.600-9.900)	0.814
<b>Trombosit (10<sup>3</sup>/µl)</b>	263114 ± 83283 (124000-426000)	309266.7 ± 99920.3 (163000-480000)	0.097

\*p <0.05

\*\* Hematolojik testlerin Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) içinde tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.

Hasta (Grup 1) grupları ve Kontrol (Grup 2) grupları arasında hemoglobin, protrombin zamanı, beyaz küre sayısı ve trombosit düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı (sırasıyla  $p=0.816$ ,  $p=0.457$ ,  $p=0.814$ ,  $p=0.097$ )(Tablo 9).

**Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı (APTZ) (sn):** APTZ düzeyleri Hasta grubunda (Grup 1) Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0.007$ )(Şekil 12).



**Şekil 12. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında APTZ düzeyleri.**



**YKL-40 VE MMP-9 DÜZEYLERİNİN GRUPLAR ARASINDA**  
**KARŞILAŞTIRILMASI**

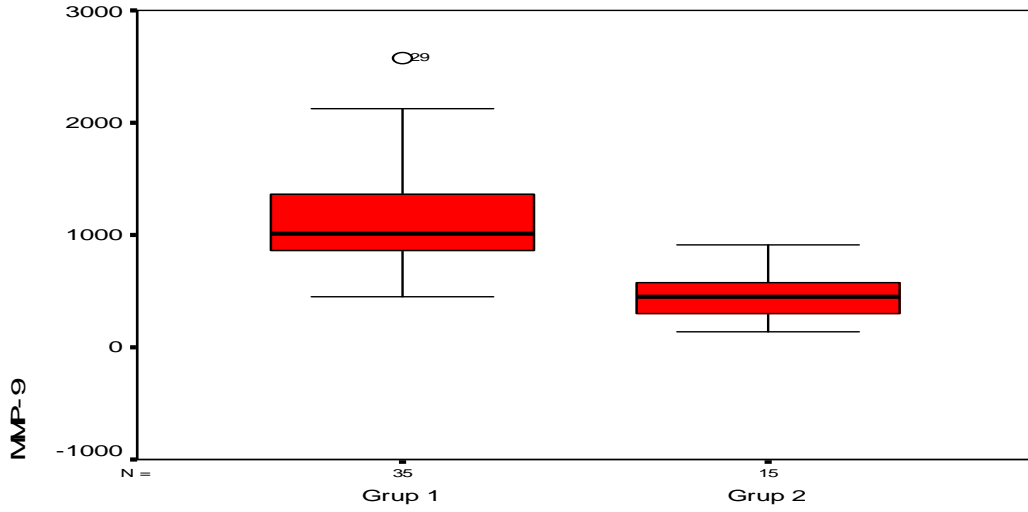
Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubunda (Grup 2) tayin edilen YKL-40 ve MMP-9 düzeyi ile ilgili veriler Tablo 10'da özetlenmiştir.

**Tablo 10. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında serum MMP-9 ve YKL-40 sonuçları**

	<b>Hasta Grubu n=35</b>	<b>Kontrol Grubu n=15</b>	<b>Gruplar arası farklılık (p)*</b>
<b>MMP-9 (ng/ml)</b>	1194.14 ± 514.91	452.53 ± 204.16	<b>0.01*</b>
<b>Min- Maks</b>	(451-2580)	(142-914)	
<b>YKL-40 (ng/ ml)</b>	37.9 ± 12.3	29.5 ± 9.7	<b>0.02*</b>
<b>Min- Maks</b>	(30-79)	(17.11-47.79)	

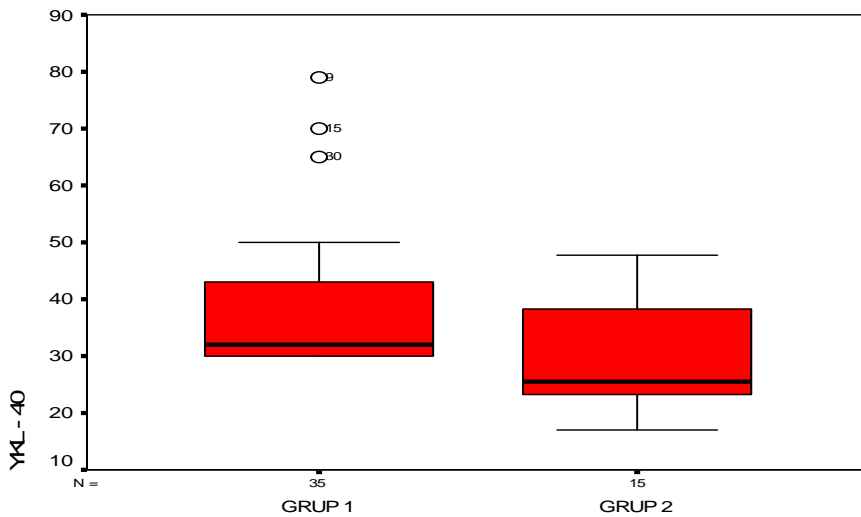
\*p<0.05

**MMP-9 (ng/ ml):** Hasta grubunda (Grup 1) Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla MMP-9 düzeyi anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p=0.01$ )(Şekil 13).



**Şekil 13. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında MMP-9 düzeyleri.**

**YKL-40 (ng/ml):** Hasta grubunda (Grup 1), Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla YKL-40 düzeyi anlamlı derecede yüksekti ( $p=0.02$ )(Şekil 14).



**Şekil 14. Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubu (Grup 2) arasında YKL-40 düzeyleri.**

**HASTA GRUBUNDA (GRUP 1) FİBROTEST VE AKTİTEST PANELİ**  
**SONUÇLARI**

**Tablo 11. Hasta (Grup1) grubunun Fibrotest paneli içindeki test sonuçları**

<b>Panelde yer alan testler</b> <b>Min-Maks**</b>	<b>Hasta Grubu</b> <b>(Grup1)</b>	<b>FİBROTEST</b> <b>Paneli</b>
<b>Alfa-2 Makroglobulin (g/L)</b>	35	2.84 ± 0.36 (2.13-3.96)
<b>Haptoglobulin (mg/dl)</b>	35	71.17 ± 37.9 (9.68-149.36)
<b>Apolipoprotein-A1 (g/L)</b>	35	1.46 ± 0.2 (1.14-1.92)
<b>GGT(U/L)</b>	35	30.1 ± 19.7 (10-75)
<b>Total Protein (gr/dl)</b>	35	6.7 ± 0.59 (5.3-8)

\*\*Panel içindeki testlerin Hasta grubu (Grup 1) içinde tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.

**Tablo12. Hasta (Grup1) grubunun Aktitest paneli içindeki test sonuçları**

<b>Panellerde yer alan testler</b> <b>Min-Maks**</b>	<b>Hasta Grubu</b> <b>(Grup1)</b>	<b>Aktitest Paneli</b>
<b>Alfa-2 Makroglobulin (g/L)</b>	35	2.84 ± 0.36 (2.13-3.96)
<b>Haptoglobulin (mg/dl)</b>	35	71.17 ± 37.9 (9.68-149.36)
<b>Apolipoprotein-A1 (g/L)</b>	35	1.46 ± 0.2 (1.14-1.92)
<b>GGT(U/L)</b>	35	30.1 ± 19.7 (10-75)
<b>Total Protein (gr/dl)</b>	35	6.7 ± 0.59 (5.3-8)
<b>ALT</b>	35	58.5 ± 29.9 (15 -142)

\*\* Panel içindeki testlerin Hasta grubu (Grup 1) içinde tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.

**BİYOKİMYASAL VE HEMATOLOJİK TESTLERİN BİRBİRLERİ İLE**  
**KORELASYONLARI**

**Tablo 13. Birbirleri ile anlamlı korelasyona sahip olan biyokimyasal ve hematolojik testler**

	(r)	(p)*
ALT – AST	0.455	0.06
ALT – GGT	0.500	0.002
ALP - Amilaz	0.462	0.005
GGT- Amilaz	-0.421	0.012
GGT- Total Bilirubin	0.405	0.016
GGT- Direkt Bilirubin	0.701	0.001
GGT- Trombosit	-0.471	0.004
Amilaz -İndirekt Bilirubin	-0.352	0.038
Amilaz- PZ	0.386	0.022
Amilaz- BK	0.414	0.013
Total Protein- MMP-9	0.500	0.002
Total Bilirubin- İndirekt Bilirubin	0.915	0.001
Total Bilirubin- Trombosit	-0.439	0.008
İndirekt Bilirubin- Trombosit	-0.405	0.016
İndirekt Bilirubin -BK	-0.333	0.051

Hemoglobin - ALP	0.398	0.01
BK – ALT	-0.324	0.05
BK - YKL-40	0.329	0.054
Trombosit – Direkt Bilirubin	-0.362	0.03
Trombosit - BK	-0.487	0.003
MMP 9 -Total Bilirubin	0.361	0.03
MMP 9 - GGT	0.420	0.01
PZ – ALP	0.369	0.02
APTZ - Direkt Bilirubin	0.414	0.01
APTZ – BK	0.481	0.003

\*p<0.05

ALT arttıkça GGT düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.500, p= 0.002).

ALT arttıkça AST düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.455, p= 0.006).

ALP arttıkça amilaz düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.462, p=0.005).

GGT arttıkça amilaz düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.421, p= 0.012).

GGT arttıkça Total Bilirubin anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.405, p= 0.016).

GGT arttıkça Direkt Bilirubin anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.701, p= 0.001).

GGT arttıkça Trombosit sayısı anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.471, p= 0.004).

Amilaz arttıkça İndirekt Bilirubin düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır (r= -0.352, p= 0.038).

Amilaz arttıkça PZ düzeyi anlamlı olarak artmaktadır (r= 0.386, p= 0.022).

Amilaz arttıkça Beyaz küre sayısı anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.414$ ,  $p= 0.013$ ).

Total Protein arttıkça MMP-9 düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.500$ ,  $p= 0.002$ ).

Total Bilirubin arttıkça İndirekt Bilirubin düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.915$ ,  $p= 0.001$ ).

Total Bilirubin arttıkça Trombosit sayısı anlamlı olarak azalmaktadır ( $r= -0.439$ ,  $p= 0.008$ ).

İndirekt Bilirubin arttıkça Trombosit sayısı anlamlı olarak azalmaktadır ( $r= -0.405$ ,  $p= 0.016$ ).

İndirekt Bilirubin arttıkça beyaz küre sayısı anlamlı olarak azalmaktadır ( $r= -0.333$ ,  $p= 0.051$ ).

MMP-9 düzeyi arttıkça Total Bilirubin düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.361$ ,  $p= 0.03$ ).

MMP-9 düzeyi arttıkça GGT düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.420$ ,  $p=0.01$ ).

Hemoglobin düzeyi arttıkça ALP düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.398$ ,  $p=0.01$ ).

Beyaz Küre Sayısı arttıkça ALT düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır ( $r= -0.324$ ,  $p=0.05$ ).

Beyaz Küre Sayısı arttıkça YKL-40 düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.329$ ,  $p=0.054$ ).

Trombosit sayısı arttıkça Direkt Bilirubin düzeyi anlamlı olarak azalmaktadır ( $r= -0.382$ ,  $p=0.03$ ).

Trombosit sayısı arttıkça beyaz küre sayısı anlamlı olarak azalmaktadır ( $r= -0.487$ ,  $p= 0.003$ ).

PZ düzeyi arttıkça ALP düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.369$ ,  $p= 0.02$ ).

APTZ arttıkça beyaz küre sayısı anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.481$ ,  $p= 0.003$ ).

APTZ düzeyi arttıkça Direkt Bilirubin düzeyi anlamlı olarak artmaktadır ( $r= 0.414$ ,  $p= 0.03$ ).

### **NONİNVAZİV VE HİSTOPATOLOJİK FİBROZİS GÖSTERGELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Hasta kanlarından noninvaziv olarak biyokimyasal belirleyicilerle elde edilen, Fibrotest (fibrozis düzeyleri) ve Aktitest (aktivite düzeyleri) sonuçları ile histopatolojik değerlendirme sonucu elde edilen fibrozis ve aktivite düzeyleri karşılaştırıldı. Ayrıca histopatolojik inceleme ile elde edilen biyopsi sonuçları altın standart kabul edilerek Sensitivite, Spesifite, Pozitif ve Negatif Prediktivite değerleri hesaplandı.

**Tablo 14. Hasta grubunun (Grup 1) histopatolojik ISHAK evrelemesine göre gruplandırılması.**

<b>Histopatolojik değerlendirme</b>	<b>ISHAK skorlaması Hasta Sayısı (n) ve yüzdesi (%)</b>
Fibrozis var (Evre 2,3,4,5,6)	14 (%40)
Fibrozis yok (Evre 0,1)	21 (%60)



Hasta grubu (Grup 1) Histopatolojik ISHAK evrelemesine göre Evre 2,3,4,5,6; fibrozis saptananlar ve ISHAK Evre 0,1; fibrozis saptanmayanlar olarak iki gruba ayrıldı. Buna göre 14 (%40) hastada fibrozis saptanırken, 21 (%60) hastada fibrozis saptanmadı (Tablo 14).

**Tablo 15. Hasta grubunun (Grup 1) Fibrotest sınıflamasına göre gruplandırılması**

<b>FİBROTEST'e göre gruplandırma</b>	<b>FİBROTEST sınıflamasına göre Hasta Sayısı (n) ve yüzdesi (%)</b>
Fibrotest F1-F6 ; Fibrozis var	9 (%26)
Fibrotest F0; Fibrozis yok	26 (%74)

Hasta grubu (Grup 1) Fibrotest sınıflamasına göre F1-F6 (fibrozis saptananlar) ve Fibrotest F0 (fibrozis saptanmayanlar) olarak iki gruba ayrıldı. Buna göre 9 (%26) hastada fibrozis saptanırken, 26 (%74) hastada fibrozis saptanmadı (Tablo 15).

**Tablo 16. Serum Fibrotest fibrozis düzeyleri (noninvaziv) ile histopatolojik (invaziv) değerlendirme sonucu elde edilen fibrozis düzeylerinin karşılaştırılması**

Histopatoloji (ISHAK)	Fibrotest		Toplam	Gruplar arası farklılık (p)	$\chi^2$
	Fibrozis var	Fibrozis yok			
Fibrozis var	5	9	14	0.432	1.222
Fibrozis yok	4	17	21		
<b>Toplam</b>	9	26			

ISHAK' a göre histopatolojik değerlendirme sonucunda toplam 14 hastada fibrozis pozitif, 21 hastada ise fibrozis negatif saptanmıştır. Fibrotest sonuçlarına göre toplam 9 hastada fibrozis pozitif, 26 hastada ise fibrozis negatif saptanmıştır. ISHAK'a göre Fibrozis pozitif olan 14 hastanın 5'inde Fibrotest sonucu da pozitif bulunmuştur. Fibrotest sonucuna göre pozitif olan 9 hastanın 4'ünde histopatolojik değerlendirme sonucunda fibrozis saptanmamıştır. ISHAK' a göre Histopatolojik değerlendirme sonucunda fibrozis saptanmayan 21 hastanın 17'sinde Fibrotest sonucuna göre de fibrozis saptanmamıştır (Tablo 16).

Hepatit B'li hasta grubunda fibrozis derecelerini değerlendirme amacı ile uygulanan Fibrotest'in belirlediği fibrozis düzeyleri ile histopatolojik inceleme sonucu elde edilen fibrozis düzeylerinin uyumu bakımından yapılan karşılaştırmada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Fisher's Exact test  $p= 0.432$ ,  $\chi^2 =1.222$ ). Biyopsi ve Fibrotest sonuçlarının fibrozis varlığını ortaya koymaktan ziyade fibrozis

olmadığını göstermek açısından daha fazla uyuma sahip olduğu da görülmüştür. Biyopsinin nekroenflamatuar aktiviteyi ayırmadaki tanısal değerliliğini belirlemek üzere; Nekroenflamatuar aktivite; portal inflamasyon, güve yeniği nekrozu, fokal lobüler nekroz ve köprüleşme nekrozu düzeylerine göre derecelendirilmektedir. Histopatolojik ISHAK evrelemesine göre nekroenflamatuar aktivite düzeyi 6-11 olanlar nekroenflamatuar aktivite var ve nekroenflamatuar aktivite düzeyi olanlar 1-5 nekroenflamatuar aktivite yok olarak değerlendirildi.

**Tablo 17. Histopatolojik ISHAK sonuçlarına göre Nekroenflamatuar aktivite düzeyleri**

<b>Histopatolojik Değerlendirme</b>	<b>ISHAK evrelemesi Hasta Sayısı (n) ve yüzdesi (%)</b>
Nekroenflamatuar aktivite düzeyi (NEA) 6-11	13 (%37)
Nekroenflamatuar aktivite düzeyi (NEA) 1-5	22 (%63)

Hasta grubu (Grup 1) Histopatolojik ISHAK evrelemesine göre nekroenflamatuar aktivite düzeyi 6-11 olanlar (nekroenflamatuar aktivite var) ve nekroenflamatuar aktivite düzeyi olanlar 1-5 olarak (nekroenflamatuar aktivite yok) iki gruba ayrıldı. Buna göre 13 (%37) hastada nekroenflamatuar aktivite 6-11, 22 (%63) hastada ise nekroenflamatuar aktivite 1-5 olarak bulundu (Tablo 17).

**Tablo 18. Hasta grubunun (Grup 1) Aktitest sınıflamasına göre gruplandırılması**

<b>Aktitest' e göre gruplandırma</b>	<b>Aktitest sınıflamasına göre Hasta Sayısı (n) ve yüzdesi (%)</b>
Aktitest A1-A6; Aktivite var	8 (%23)
Aktitest A0; Aktivite yok	27 (%77)

Hasta grubu (Grup 1) Aktitest; A1-A6 sınıflamasına göre nekroenflamatuar aktivite saptananlar ve Aktitest A0; nekroenflamatuar aktivite saptanmayanlar olarak iki gruba ayrıldı. Buna göre 8 (%23) hastada aktivite saptanırken, 27 (%77) hastada aktivite saptanmadı (Tablo 18).

**Tablo 19. Serum Aktitest düzeyleri (noninvaziv) ile histopatolojik inceleme(invaziv) sonucu elde edilen nekroenflamatuar aktivite düzeylerinin karşılaştırılması.**

<b>Histopatoloji (ISHAK)</b>	<b>Aktitest</b>		<b>Toplam</b>	<b>Gruplar arası farklılık (p)</b>	<b><math>\chi^2</math></b>
	<b>Aktivite var</b>	<b>Aktivite yok</b>			
<b>Aktivite var (NEA 6-11)</b>	4	9	13	1.000	0.030
<b>Aktivite yok (NEA 1-5)</b>	4	18	22		
<b>Toplam</b>	8	27			

ISHAK'a göre histopatolojik değerlendirme sonucunda NEA saptanan 13 hastanın 4'ünde Aktitest sonucuna göre de aktivite saptanırken 9'unda saptanamamıştır. ISHAK'a göre NEA saptanamayan 22 hastanın 18'inde Aktitest sonucuna göre de aktivite saptanmazken 4'ünde aktivite saptanmıştır. Aktitest'e göre aktivite saptanan 8 hastanın 4'ünde ISHAK'a göre de NEA saptanırken, 4'ünde saptanamamıştır. Aktitest'e göre aktivite saptanmayan 27 hastanın 18'inde ISHAK'a göre de NEA saptanamışken 9'unda NEA saptanmıştır (Tablo 19).

Hepatit B'li hasta grubunda (Grup 1) aktivite düzeylerini değerlendirme amacı ile uygulanan Aktitest'in belirlediği aktivite düzeyleri ile histopatolojik inceleme sonucu elde edilen aktivite düzeylerinin uyumu bakımından yapılan karşılaştırmada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. (Fisher's Exact test  $p= 1.000$ ,  $\kappa^2=0.030$ ). Biyopsi ve Aktitest sonuçlarının nekroenflamatuar aktivite varlığını ortaya koymaktan ziyade olmadığını göstermek açısından daha fazla uyuma sahip olduğu da görülmüştür.

**BİYOKİMYASAL VE HEMATOLOJİK TESTLER ile HİSTOPATOLOJİK**  
**NEKROENFLAMATUAR (NEA) AKTİVİTE EVRELERİNİN**  
**KARŞILAŞTIRILMASI**

**Tablo 20. Biyokimyasal ve Hematolojik testler ile histopatolojik nekroenflamatuar (NEA) aktivite evrelerinin karşılaştırılması**

<b>Biyokimyasal ve Hematolojik testler (Min-Maks)**</b>	<b>NEA 6-11</b>	<b>NEA 1-5</b>	<b>Gruplar arası farklılık(p)*</b>
<b>AST (U/L)</b>	64.2 ± 46.4	46.5 ± 18.4	0.119

	(28-213)	(25-92)	
<b>ALT (U/L)</b>	65.7 ± 23.7 (29-118)	54.23 ± 32.76 (15-142)	0.279
<b>AST/ALT</b>	1.04 ± 0.78 (0.64-3.55)	1.01 ± 0.37 (0.48-2.13)	0.872
<b>ALP (U/L)</b>	180.7 ± 70.6 (114-330)	215.86 ± 109.95 (99-523)	0.310
<b>GGT (U/L)</b>	28.85 ± 18.83 (10-59)	31.18 ± 20.62 (10-75)	0.740
<b>Total protein (gr/dl)</b>	6.52 ± 0.743 (5.30-8.0)	6.83 ± 0.468 (5.7-8.0)	0.145
<b>Albumin (gr/dl)</b>	4.02 ± 0.60 (3.50-5.70)	4.15 ± 0.669 (2.70-6.50)	0.579
<b>Amilaz (U/L)</b>	72.46 ± 38.24 (32-172)	78.5 ± 46.44 (30-181)	0.693
<b>Total Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.81 ± 0.39 (0.20-1.40)	0.94 ± 0.45 (0.37-1.70)	0.394
<b>Direkt Bilirubin(mgr/dl)</b>	0.13 ± 0.09 (0.01-0.30)	0.17 ± 0.09 (0.04-0.036)	0.279
<b>Indirekt Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.68 ± 0.33 (0.15-1.16)	0.73 ± 0.35 (0.22-1.50)	0.675

<b>Hemoglobin(gr/dl)</b>	12.3 ± 1.0 (10.6-13.6)	12.9 ± 1.16 (10.3-16)	0.129
<b>PZ (sn)</b>	13.4 ± 1.12 (11.8-15.20)	13.6 ± 1.78 (10.8-19.3)	0.832
<b>APTZ (sn)</b>	32.7 ± 3.6 (28-40)	33.2 ± 6.68 (24.5-55.2)	0.811
<b>Trombosit (10<sup>3</sup>/µl)</b>	247000.00±64943.57 (167000-389000)	272636.4 ± 92542.16 (124000-426000)	0.387
<b>BK (10<sup>3</sup>/µl)</b>	6.11 ± 1.22 (4.20-8.40)	6.47 ± 2.1 (3.40-13.9)	0.574

\*p<0.05

\*\* Biyokimyasal ve Hematolojik testlerin Hasta grubu (Grup 1) içinde histopatolojik nekroenflamatuar (NEA) aktivite evrelerine göre tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri

Hasta grubunda (Grup 1) Histopatolojik ISHAK evrelemesine göre nekroenflamatuar aktivite derecesi 6-11 olan ve nekroenflamatuar aktivite derecesi 1-5 olan grup arasında biyokimyasal ve hematolojik serum değerleri karşılaştırıldı. Biyokimyasal ve hematolojik testler açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p>0.05)(Tablo 20).

**BİYOKİMYASAL VE HEMATOLOJİK TESTLER ile HİSTOPATOLOJİK**  
**FİBROZİS DERESESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Tablo 21. Biyokimyasal ve Hematolojik testler ile histopatolojik fibrozis derecesinin karşılaştırılması**

<b>Biyokimyasal ve Hematolojik testler (Min-Maks)**</b>	<b>Fibrozis var (Evre 2,3,4,5,6)</b>	<b>Fibrozis yok (Evre 0,1)</b>	<b>Gruplar arası farklılık (p)*</b>
<b>AST(U/L)</b>	54.95 ± 40.45 (25-213)	50.3 ± 14.17 (26-76)	0.687
<b>ALT (U/L)</b>	57.76 ± 33.46 (15-142)	59.57 ± 24.7 (21-97)	0.864
<b>AST/ALT</b>	0.93 ± 0.3 (0.48-1.69)	1.08 ± 0.65 (0.62-3.55)	0.446
<b>ALP (U/L)</b>	200.28 ± 63.60 (99-330)	206.57 ± 136.61 (114-523)	0.855
<b>GGT (U/L)</b>	25.43 ± 18.19 (10-60)	37.64 ± 20.28 (10-75)	0.072
<b>Total Protein (gr/dl)</b>	6.67 ± 0.43 (5.70-7.40)	6.78 ± 0.79 (5.30-8)	0.778
<b>Amilaz (U/L)</b>	81.7 ± 43.4	68.07 ± 42.91	0.365



	(30-172)	(32-181)	
<b>Total Bilirubin(mgr/dl)</b>	0.81 ± 0.44 (0.20-1.70)	1.01 ± 0.38 (0.33-1.69)	0.180
<b>Direkt Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.15 ± 0.009 (0.04-0.030)	0.17 ± 0.11 (0.1-0.36)	0.500
<b>İndirekt Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.66 ± 0.38 (0.15-1.50)	0.78 ± 0.27 (0.26-1.16)	0.349
<b>Hemoglobin (gr/dl)</b>	12.6 ± 0.94 (10.30-14.40)	12.7 ± 1.4 (10.6-16.00)	0.793
<b>PZ (sn)</b>	13.7 ± 1.69 (11.80-19.30)	13.2 ± 1.3 (10.80-16.30)	0.349
<b>APTZ (sn)</b>	33.2 ± 6.59 (24.5-55.20)	32.7 ± 4.14 (25.7-40.10)	0.828
<b>Trombosit (10<sup>3</sup>/μ)</b>	2846666.7± 89145.7 (127000-426000)	230785.7± 63550.32 (124000-340000)	0.06
<b>BK (10<sup>3</sup>/μ)</b>	6.43 ± 2.25 (3.40-13.90)	6.19 ± 0.9 (4.80-8.40)	0.707

\*p<0.05

\*\* Biyokimyasal ve Hematolojik testlerin Hasta grubu (Grup 1) içinde histopatolojik fibrozis evrelerine göre tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.

Hasta grubunda (Grup 1) Histopatolojik ISHAK evrelemesine göre fibrozis evre 2,3,4,5,6 ve fibrozis evre 0,1 grupları arasında biyokimyasal ve hematolojik serum değerleri karşılaştırıldı. Biyokimyasal ve hematolojik testler açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p>0.05)(Tablo 21).

**BİYOKİMYASAL VE HEMATOLOJİK TESTLER İLE FİBROTEST- FİBROZİS**  
**DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Tablo 22. Biyokimyasal ve Hematolojik testler ile noninvaziv Fibrotest-fibrozis düzeylerinin karşılaştırılması**

<b>Biyokimyasal ve Hematolojik testler (Min-Maks)**</b>	<b>Fibrotest F1-F6; Fibrozis var</b>	<b>Fibrotest F0; Fibrozis yok</b>	<b>Gruplar arası farklılık (p)*</b>
<b>AST(U/L)</b>	55.5 ± 20.3 (25-92)	52.1 ± 36.4 (26-213)	0.787
<b>ALT (U/L)</b>	65.3 ± 36 (20-142)	55.7 ± 27.4 (15-118)	0.402
<b>AST/ALT</b>	1.04 ± 0.61 0.48-3.55	0.96 ± 0.31 (0.65-1.69)	0.669
<b>ALP (U/L)</b>	197 ± 119.64 (121-523)	205.12 ± 90 (99-513)	0.828
<b>GGT (U/L)</b>	42.8 ± 21.12 (13-75)	25.32 ± 17.11 (10-60)	<b>0.015*</b>
<b>Total Protein (gr/dl)</b>	6.54 ± 0.63 (5.3-7.3)	6.78 ± 0.57 (5.7-8.00)	0.278
<b>Albumin (gr/dl)</b>	3.95 ± 0.57 (2.70-4.70)	4.16 ± 0.67 (3.40-6.50)	0.379
<b>Amilaz (U/L)</b>	66.4 ± 45.6 (30-181)	80.24 ± 42.34 (32-172)	0.399

<b>Total Bilirubin (mgr/dl)</b>	1.08 ± 0.34 (0.56-1.67)	0.81 ± 0.43 (0.20-1.70)	0.092
<b>Direkt Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.21 ± 0.09 (0.04-0.36)	0.13 ± 0.09 (0.01-0.30)	<b>0.022*</b>
<b>İndirekt Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.88 ± 0.29 (0.43-1.42)	0.64 ± 0.34 (0.15-1.50)	0.061
<b>Hemoglobin(gr/dl)</b>	12.8 ± 0.63 (11.7-14.00)	12.6 ± 1.28 (10.30-16.00)	0.613
<b>PZ (sn)</b>	14 ± 2.26 (12.40-19.30)	13.3 ± 1.16 (10.80-15.20)	0.760
<b>APTZ (sn)</b>	34.12 ± 3.13 (28.40-37.30)	32.54 ± 6.42 (24.50-55.20)	0.467
<b>Trombosit (10<sup>3</sup>/μ)</b>	242700 ± 87056.88 (124000-371000)	271280 ± 82103.35 (127000-426000)	0.367
<b>BK (10<sup>3</sup>/μ)</b>	6.3 ± 1.22 (4.50-8.80)	6.35 ± 2.03 (3.40-13.90)	0.940

\*p<0.05

\*\* Biyokimyasal ve Hematolojik testlerin Hasta grubu (Grup 1) içinde Fibrotest- fibrozis düzeylerinin göre tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.

Hasta Grubunda (Grup 1) Fibrotest sınıflamasına göre fibrozis saptanan; F1-F6 ve fibrozis saptanmayan; F0 grup arasında biyokimyasal ve hematolojik testlerin serum değerleri karşılaştırıldı. Fibrozis saptanan grupta Direkt Bilirubin ve GGT düzeyleri yüksek bulundu (p=0.022, p=0.015)(Tablo 22).

**BIYOKİMYASAL VE HEMATOLOJİK TESTLER İLE AKTİTEST -**  
**NEKROENFLAMATUAR AKTİVİTE DERECELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Tablo 23. Biyokimyasal ve Hematolojik testler ile noninvaziv Aktitest-  
nekroenflamatuar aktivite derecelerinin karşılaştırılması**

<b>Biyokimyasal ve Hematolojik testler (Min-Maks)**</b>	<b>Aktitest A1-A6; Nekroenflamatuar aktivite var</b>	<b>Aktitest A0; Nekroenflamatuar aktivite yok</b>	<b>Gruplar arası farklılık (p)*</b>
<b>AST (U/L)</b>	55.4 ± 9.8 (47-75)	52.5 ± 35.95 (25-213)	0.836
<b>ALT (U/L)</b>	71.7 ± 27.5 (35-118)	55.2 ± 29.99 (15-142)	0.195
<b>AST/ALT</b>	1.06 ± 0.57 (0.62-3.55)	0.87 ± 0.38 (0.48-1.69)	0.420
<b>ALP (U/L)</b>	324.43 ± 155.45 (114-523)	172.39 ± 42.78 (99-266)	<b>0.017*</b>
<b>GGT (U/L)</b>	27.85 ± 19.15 (13-59)	30.93 ± 20.16 (10-75)	0.121
<b>Total Bilirubin (gr/dl)</b>	6.47 ± 0.83 (5.7-8.0)	6.77 ± 0.52 (5.3-8.0)	0.232
<b>Albumin (gr/dl)</b>	4.08 ± 0.95 (2.70-5.70)	4.10 ± 0.56 ( 3.4-6.50)	0.885

<b>Amilaz (U/L)</b>	99 ± 43.27 (47-181)	70.6 ± 41.9 (30-172)	0.12
<b>Total Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.86 ± 0.47 (0.37-1.69)	0.89 ± 0.42 (0.20-1.70)	0.821
<b>Direkt Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.14 ± 0.13 (0.01-0.36)	0.16 ± 0.09 (0.04-0.30)	0.607
<b>İndirekt Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.58 ± 0.19 (0.33-0.90)	0.74 ± 0.36 (0.15-1.50)	0.289
<b>Hemoglobin (gr/dl)</b>	13.14 ± 1.32 (12-16)	12.58 ± 1.07 (10.30-14.30)	0.246
<b>PZ (sn)</b>	13.7 ± 1.55 (12.10-16.30)	13.5 ± 1.58 (10.80-10.59)	0.757
<b>APTZ (sn)</b>	30.54 ± 4.15 (24.50-37.50)	33.6 ± 5.89 (25.50-55.20)	0.205
<b>Trombosit (10<sup>3</sup>/μ)</b>	227142.9 ± 66706.89 (124000-332000)	272107.14 ± 85593.07 (127000-426000)	0.206
<b>BK (10<sup>3</sup>/μ)</b>	5.41 ± 0.77 (4.20-6.50)	6.56 ± 1.94 (3.40-13.90)	0.135

\*p<0.05

\*\* Biyokimyasal ve Hematolojik testlerin Hasta grubu (Grup 1) içinde Aktitest-nekroenflamatuar aktivite düzeylerine göre tayin edilen en düşük ve en yüksek düzeyleri.

Hasta grubunda (Grup 1) Aktitest sınıflamasına göre nekroenflamatuar aktivite saptanan; A1-A6 ve nekroenflamatuar aktivite saptanmayan; A0 grup arasında biyokimyasal ve hematolojik testlerin serum değerleri karşılaştırıldı. Nekroenflamatuar

aktivite saptanan grupta ALP düzeyleri nekroenflamatuvar aktivite saptanmayan gruba göre yüksek bulundu (p=0.017)(Tablo 23).

Hasta grubu (Grup 1) HBV DNA viral yüklerine göre incelendiğinde;

- 9 hastanın (%25.7) viral yükü; 1000- 2000 arası
- 9 hastanın (%25.7) viral yükü; 2000- 20 000 arası
- 17 hastanın (%48.6) viral yükü; 20 000'nin üzeri olarak gruplandırılmıştır.

**Tablo 24. Hasta grubu (Grup 1) HBV DNA viral yüklerine göre gruplandırılması**

<b>Biyokimyasal ve Hematolojik testler (Min-Maks)**</b>	<b>Viral yükü; 1000- 2000 n=9</b>	<b>Viral yükü; 2000- 20 000 n=9</b>	<b>Viral yükü; 20 000'nin üzeri n=17</b>	<b>Gruplar arası farklılık (p)*</b>
<b>AST (U/L)</b>	38.6 ± 13.07 (25-59)	64.4 ± 57.85 (26-213)	54.8 ± 16.33 (32-92)	0.071
<b>ALT (U/L)</b>	36.7 ± 14.95 (20-68)	53.4 ± 30.96 (15-118)	72.7 ± 28.44 (25-142)	<b>0.008*</b>
<b>ALP (U/L)</b>	230.4 ± 117.35 (132-523)	223.2 ± 78.84 (114-330)	177.35 ± 94.31 (99-513)	0.331
<b>GGT (U/L)</b>	21 ± 12.75 (11-48)	15 ± 7.14 (10-33)	43.35 ± 18.92 (10-75)	<b>0.001*</b>
<b>Total protein (gr/dl)</b>	6.82 ± 0.69 (5.7-8.0)	6.82 ± 0.64 (5.8-8.0)	6.60 ± 0.53 (5.3-7.3)	0.556

<b>Albumin ( gr/dl)</b>	3.94 ± 0.52 (2.70-4.40)	3.99 ± 0.36 (3.5-4.6)	4.25 ± 0.79 (3.4-6.5)	0.440
<b>Amilaz (U/L)</b>	79 ± 45 (30-181)	111.78 ± 46.9 (47-172)	56.06 ± 26.09 (32-119)	<b>0.004*</b>
<b>Total Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.73 ± 0.40 (0.33-1.67)	0.59 ± 0.43 (0.20-1.70)	1.13 ± 0.3 (0.43-1.69)	<b>0.003*</b>
<b>Direkt Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.13 ± 0.11 (0.04-0.36)	0.08 ± 0.07 (0.01-0.20)	0.21 ± 0.08 (0.06-0.30)	<b>0.006*</b>
<b>İndirekt Bilirubin (mgr/dl)</b>	0.61 ± 0.34 (0.26-1.42)	0.51 ± 0.39 (0.15-1.5)	0.87 ± 0.24 (0.34-1.20)	<b>0.018*</b>
<b>Hemoglobin (gr/dl)</b>	12.87 ± 0.68 (11.70-14.00)	12.57 ± 1.14 (10.60-14.40)	12.67 ± 1.34 (10.30-16.00)	0.855
<b>PZ (sn)</b>	14.25 ± 2.58 (10.80-19.30)	13.6 ± 1.24 (12.10-15.20)	13.7 ± 0.71 (12.40-15.20)	0.442
<b>APTZ (sn)</b>	29.7 ± 2.67 (25.7-33.5)	33.1 ± 9.41 (24.5-55.2)	34.67 ± 3.39 (28-39.90)	<b>0.008 *</b>
<b>Trombosit (10<sup>3</sup>/μ)</b>	299977.8 ± 88001 124000-398000)	280333.3 ±95621 (127000-426000)	234588.2 ±67140 (134000- 359000)	0.126
<b>BK (10<sup>3</sup>/μ)</b>	6.63 ± 1.31 (4.90-8.80)	6.90 ± 2.84 (4.80-13.90)	5.88 ± 1.29 (3.40-8.70)	0.329

**Tablo 25. Fibrotest ve Aktitest'in fibrozis ve nekroenflamatuar aktivite düzeylerini göstermedeki duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer (PPD), negatif prediktif değer (NPD) oranları**

	<b>Sensitivite</b> <b>(%)</b>	<b>Spesifite</b> <b>(%)</b>	<b>PPD</b> <b>(%)</b>	<b>NPD</b> <b>(%)</b>
<b>FİBROTEST</b>	36	81	56	36
<b>AKTİTEST</b>	31	68	31	32



## V. TARTIŞMA

Karaciğer fibrozisi; hepatit virüsleri, alkol, steatohepatit, otoimmün, kardiyak hastalıklar, genetik ve metabolik karaciğer hastalıkları sonucu meydana gelir ve kronik karaciğer hasarı oluşumunun en iyi göstergesidir (29,12,99). Akut veya kronik Hepatit B ve C enfeksiyonlarına bağlı hepatitler, hatta erken evrede karaciğer sirozu klinikte çok az semptomla seyretmekte ve çoğu kez fark edilmeden geçirilmektedir. Ancak siroz dekompanse olduktan sonra karaciğer transplantasyonuna kadar giden ölümcül komplikasyonlar ortaya çıkmakta, ayrıca önemli psikolojik ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Akut hepatit döneminde tanı konabilen olgularda transaminaz enzimlerinin yüksekliğinin 6 aydan uzun sürmesi ve 6-12 ayda bağışıklığın tam olarak oluşmaması durumu hastalığın kronikleştiğini düşündürmektedir (100). Kronik hepatit yaygın, progresif ve bazı olgularda fatal seyredebilen bir hastalıktır. Hepatik fibrozisin tanısı ve evrelendirilmesi için altın standart olarak kabul edilen karaciğer biyopsisi, hem uygulayıcı hem de hasta açısından bazı zorluklara yol açmaktadır. Biyopsinin invaziv bir girişim olması nedeniyle ağrı, enfeksiyon, kanama gibi komplikasyonların ortaya çıkması, en az 6-12 saat hastane gözetimi gerektirmesi, maliyetinin yüksek olması, ancak 2-5 yılda bir tekrarlanabilmesi, örnekleme hatası, alınan biyopsi materyalinin yetersizliği ve tekrarlanma gerekliliği, histopatolojik değişikliklerin parankim içindeki heterojen dağılımı ve gözlemci farklılığı gibi pek çok dezavantajının olması yeni arayışları gündeme getirmiştir (1,44). Son yirmi yılda fibrozis tanısında öncelikle karaciğer biyopsisi yerine kullanılabilecek noninvaziv kriterler geliştirilmesi görüşü öne çıkmış, kronik hepatitin siroz ve hepatosellüler kansere ilerleyişini öngörmek ve değişik tedavi yöntemlerinin etkinlik ve sonuçlarını değerlendirmek amacı ile noninvaziv tanı yöntemlerinin geliştirilmesine önem verilmiştir (18). Karaciğer fibrozisini tanımlayacak ideal bir belirteç, hastalığın tanısı ve progresyonu hakkında bilgi verebilmesi için yüksek sensitivitesi ve spesifitesiye sahip olmalı, düzeyleri organ fonksiyon değişikliklerinden etkilenmemeli, evrelendirme, matriks

yıkımı ve yapımından biri hakkında bilgi verebilmeli ve özellikle çocuk hastalar için çok daha önemli olan kolay uygulanabilir ve tekrarlanabilir olmalıdır (101).

Bu çalışmada kronik hepatit B'li hastalarda karaciğer fibrozis derecesinin belirlenmesi amacıyla serumda tayin edilebilen noninvaziv testlerin tanısal değerliliğini, günümüzde hâlâ altın standart olarak kabul edilen karaciğer biyopsisi ile karşılaştırmayı amaçladık. Çalışmamızda biyopsi örneği alınmasına bağlı olarak ortaya çıkabilecek hatalara yol açmadan karaciğerin durumunu yansıtabilmeye olanak tanıyan, noninvaziv ve ağrısız olan, daha az maliyet, daha az komplikasyona yol açan, kolay tekrarlanabilirliği ileri sürülen serum fibrozis belirteçlerinin özellikle kronik hepatit B'li çocuk hastalarda tayin edilmiş olması ayrı bir önem taşımaktadır. Karaciğer biyopsisi kronik hepatit B enfeksiyonunun ciddiyeti, tedavi planlanması, rezolusyonun gösterilmesi ve evrelendirilmesinde, tedaviye aday olan hastaların seçiminde ve bazen de tedaviye yanıtın izlenmesinde gereklidir. Fakat diğer invaziv girişimlerde olduğu gibi çocuklarda uygulanması çok daha zor ve sıkıntılı olmaktadır. Yapılan literatür taramalarında, özellikle kronik hepatit B enfeksiyonu olan çocuklarda bu konunun yeterince aydınlatılmadığı saptanmıştır. Çalışmamızda öncelikle Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) demografik özellikleri (yaş, cinsiyet) karşılaştırıldığında gruplar arasında farklılık olmadığı saptandı (Tablo.7). Ayrıca karaciğer fibrozisinde düzey değişiklikleri önem kazanan birçok biyokimyasal ve hematolojik testler çalışmamızda ayrıntılı olarak incelendi. Çalışmamızda kronik HBV'li hastalarda fibrozis derecesinin belirlenmesinde karaciğer biyopsisi ile Fibrotest, Aktitest fibrozis düzeylerinin tanısal değerliliği karşılaştırıldı.

Kronik hepatit B'li hastalarda karaciğer parankimindeki hasar nedeniyle transaminazların serum düzeyinde çeşitli miktarlarda artış olabileceği (102) konusuna açıklık getirmek amacı ile demografik açıdan homojen olan 1. ve 2. grupta serumda fibrozis derecesini ve karaciğer rezervini kabaca yansıtan AST, ALT, ALP, GGT, albumin ve trombosit sayısı, protrombin zamanı değerleri tayin edildi. Ayrıca hasta grubu olan 1. grupta Fibrotest ve Aktitest paneli içindeki alfa-2 makroglobulin, haptoglobin, apolipoprotein A1 düzeyleri de tayin edildi. Bizim çalışmamızda, AST ve ALT düzeyleri hasta grubunda (Grup 1) kontrol grubuna (Grup 2) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p=0.01$ ,  $p=0.01$ ). Karakteristik olarak akut komplike olmayan viral hepatitlerde sitoplazmik bir enzim olan ALT düzeyleri AST düzeylerinden daha fazla yükselmektedir. Bu durum ALT 'nin sitoplazma hasarı sonucu fazla salınmasına bağlanmaktadır. AST düzeyleri ALT seviyesinden fazla olduğunda, mitokondri hasarına bağlı olarak aşırı AST salındığını, yani ciddi bir hepatosellüler hasarın geliştiğini

göstermektedir (102). Transaminaz enzimleri akut ve kronik karaciğer hastalıklarında nekroinflamatuvar aktivitenin önemli belirteçleri arasında olmasına rağmen (3), siroz geliştikten sonra şiddetli nekroinflamasyon varlığında dahi, hepatosit kitlesinin azalmasına bağlı olarak transaminaz değerlerinde artış meydana gelmemektedir. Genel olarak akut hepatit ataklarında nekroinflamasyonun ne oranda fibrozisle sonuçlanabileceği net olarak bilinemediğinden sadece transaminaz değerleri ile fibrozis düzeylerinin değerlendirilmemesi önerilmektedir (44). Wong ve ark.'nın, 130 HCV'li hastada yaptıkları çalışmada tayin edilen ALT ve AST düzeyleri, nekroinflamatuvar aktivite ve fibrozis skoru ile uyumlu bulunmamış iken (103), Park ve ark.'ları, Kore'li 62 kronik hepatit B'li olgunun sürekli transaminaz yüksekliğinin siroz gelişimini hızlandırdığını belirtmişlerdir (104). Bu konudaki sonuçların farklılıkları, hasta takip sürelerinin farklı olması ve ALT ve AST klirensinin farklılığı ile açıklanabilir. Bizim çalışmamızda AST ve ALT düzeyleri, invaziv olarak histopatolojik nekroinflamatuvar aktivitesi NEA 6-11 olan hastalarda, NEA 1-5 saptananlara göre yükselmiş bulunurken fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Histopatolojik olarak fibrozis saptanan grupta ise sadece AST düzeyinde saptanan yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 20, Tablo 21).

Son yıllarda AST/ALT oranının siroz gelişimini yansıtmada yararlı olabileceğine dair yayınlar mevcuttur (10). Pehlivan ve ark.'ları kronik hepatit B ve C hastalarında AST/ALT oranının 1'den küçük, siroz gelişmiş olgularda ise oranın 1'in üstünde olduğunu göstermişlerdir (102). Fibrozis ya da siroz gelişimini göstermede tek başına ya da başka bir testle kombine kullanıldığında AST/ALT oranının değerli olup olmadığını araştıran çalışmalardan birinde Trombosit sayısı, protrombin zamanı ve AST/ALT oranından oluşan Üçlü Biyokimyasal Fibrozis İndeks'inin ciddi fibrozis ve siroz varlığını saptamada %98 spesifite, %46 sensitiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (105, 106) .

Dennis ve arkadaşlarının 77 kronik hepatit C'li olguda yaptıkları çalışmada AST/ALT  $\geq 1$  saptanmış ve bu değer siroz varlığını göstermede % 44 sensitif , % 54 spesifite ve % 77 pozitif prediktif değere sahip olduğu gösterilmiştir (31). Kronik hepatit ve sirozda gözlenen en önemli bulgular arasında düşük trombosit sayısı yer almaktadır (76,80). Giannini ve ark.'nın, 252 HCV'li hastada yaptıkları retrospektif bir çalışmada AST/ALT oranının ilerlemiş fibrozisi göstermede %78 sensitivite ve %97 spesifiteye sahip olduğu, ayrıca AST/ALT oranı trombositopeni ( $<130000/\text{mm}^3$ ) ile birlikte değerlendirildiğinde, testin tanısal doğruluğunun arttığı, pozitif prediktif değer %97'ye, negatif prediktif değer %86'ya yükseldiği bildirilmiştir (108). Aydın ve ark.'nın, 140 viral hepatitli kronik karaciğer hastalarında yaptıkları çalışmada trombosit sayısının düşük

ve AST/ALT  $\geq 1$  olmasının ileri derecede fibrozisle uyumlu olduğu ileri sürülmüştür (85). Bizim çalışmamızda AST ve ALT değerleri birlikte yükselmiş olduğundan, fibrozis ve nekroinflamatuvar aktivitesi açısından grupları birbirinden ayırmada AST/ALT oranında istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmamıştır.

Aydın ve ark.'nın, 140 viral hepatitli kronik karaciğer hastalarında yaptıkları çalışmada trombosit sayısının düşük ve AST/ALT  $\geq 1$  olmasının ileri derecede fibrozisle uyumlu olduğu ileri sürülmüştür (85). Wai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise APRI değerinin (AST/ trombosit sayısı) ciddi fibrozis ve siroz varlığını göstermede %91 sensitivite, %47 spesifite oranlarıyla en basit ve en doğru test olduğu, noninvaziv test panellerinin AST ve ALT değerlerine ek olarak trombosit sayısı ile birlikte değerlendirildiğinde tanısal değerliliğinin arttığı ileri sürülmüştür (109).

Klasik olarak kronik hepatitlilerde protrombin aktivitesinin azaldığı, protrombin zamanının uzadığı, INR'nin arttığı ve gamma-globulin düzeylerinin yükseldiği bilinmektedir. Siroz gelişiminden sonra (ileri evre fibrozis) bu patolojik laboratuvar bulgularının yanı sıra nekroinflamasyon ve fibroze bağlı olarak albumin düzeyi azalmakta, hipoalbuminemi ortaya çıkmaktadır (110, 111).

Bu konuda farklı görüşlerin ileri sürüldüğü birçok çalışmanın yanı sıra Myers ve arkadaşlarının 323 hepatit C'li hastada yaptıkları çalışmada, Fibrotest'in gibi panel testlerin tanısal değerinin, protrombin zamanı, trombosit sayısı, yaş-trombosit sayı indeksinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada ciddi fibrozisin gösterilmesinde Fibrotest'in oldukça değerli olduğu, bu belirtece başka bir testin eklenmesinin etkinliği arttırmadığı belirlenmiştir (112).

Bizim çalışmamızda ise hematolojik testler arasında sadece APTZ süresi hasta grubunda (Grup 1), kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla daha uzun bulunmuştur (p=0.007). Hasta grubu (Grup 1) ve kontrol grubu (grup 2) arasında, ayrıca hasta grupları içerisinde noninvaziv serum ve invaziv histopatolojik sonuçlarına göre fibrozisi olan ve olmayan ile nekroinflamatuvar aktivitesi 6-11 ve 1-5 olan grupları birbirinden ayırmada hematolojik testler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamasının ise olguların takip süreleri, henüz portal hipertansiyonun ve klinik olarak dekompanseasyonun gelişmemiş olması ile ilişkili olabileceği, ayrıca fibrozisin karaciğer içinde dağılık yerleşmesinin de sonuçları olumsuz etkilediği düşünülmüştür.

Çalışmamızda hasta grubu (Grup 1) ve kontrol grubu (Grup 2) içerisinde biyokimyasal testlerden GGT ve total bilirubin düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek iken, total protein değeri ise düşük saptanmıştır (sırasıyla p=0.01,

p=0.03, p=0.02). Serum albumini karaciğer sentez kapasitesinin bir ölçütüdür. Kronik karaciğer hastalıklı bireylerde serum albumin konsantrasyonu azalmaktadır. Bizim çalışmamızda ise hasta grubunda kontrol grubuna göre serum albumin değeri azalmıştır ancak fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Ayrıca hasta grupları içerisinde GGT ve direkt bilirubin değerleri, noninvaziv serum belirteçlerinden Fibrotest'e göre Fibrozis saptanan grupta, fibrozis saptanmayanlara göre daha yüksek iken, ALP seviyesi ise Aktitest'e göre ise nekroenflamatuvar aktive saptananlarda saptanmayanlara göre daha yüksekti (p= 0.015, p=0.022, p=0.017). Genelde akut ve kronik hepatitte bilirubin yüksekliğinin hastalığın prognozu ile ilişkili olmadığı bilinmektedir. İleri evre sirozda ise hiperbilirubinemi kötü prognozu düşündürülebilir. Nekroenflamasyonla bilirubin düzeyi arasındaki ilişki de net olarak açıklanamamaktadır (79). Hui ve ark.'nın 235 kronik hepatit B'li olgularda yaptığı retrospektif bir çalışmada hiperbilirubinemi yüksekliği, hipoalbuminemi ve trombositopenin artmış fibrozis ile ilişkili bulunduğu gösterilmiştir (79). ALP'nin klasik olarak, safra yolu hastalıklarında anlamlı, kronik karaciğer hastalıklarında ise nonspesifik arttığı bilinmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda ALP yüksekliğinin karaciğerdeki nekroinflamasyon ve fibrozisle ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (54). Klinik olarak ALP yükseklikleri hepatobilier sistem veya kemik kaynaklıdır. İzoenzim tayini yapılarak ayırım yapılması karaciğer hastalıkları için yol gösterici olacaktır. Ayrıca çalışmamızda ALP yüksekliğinin çalışma grubumuzun çocuk hastalardan oluşmasına bağlanabileceğini düşünmekteyiz.

Morali ve ark.'ları kronik hepatit C'li 81 hastada noninvaziv testler olan Fibrotest ve Aktitest ile invaziv olan biyopsi sonuçları arasındaki uyumu değerlendirdikleri çalışmalarında 10 hastanın 6' sında, Fibrotest sonucunun biyopsi sonuçlarına göre daha yüksek evrede, diğer 4 olguda ise daha düşük evrede fibrozis evreleri saptadığını göstermişler ve bu farklılığın, alınan biyopsi boyutlarının yetersiz olmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (113).

Poynard T ve ark.'nın Kronik Hepatit C'li hastalarda histolojik aktivite ile fibrozisin varlığını ve derecesini belirlemede karaciğer biyopsisi ve biyokimyasal belirteçlerin (Fibrotest- Aktitest) arasındaki uyumsuz sonuçların oranını ve bu uyumsuzluğun muhtemel nedenlerini belirlemek için yaptıkları bir diğer çalışmada; 537 hastanın 154'ünde (%29) sonuçlar arasında uyumsuzluk gösterilmiştir. Biyopsi ile nekroenflamatuvar aktivite derecelendirme için yapılan Aktitest sonuçları arasında %17, biyopsi ile fibrozis evrelemesi için yapılan Fibrotest sonuçları arasında ise %16 oranında uyumsuzluk olduğu gösterilmiştir. 13 (%2,4) hastadaki uyumsuzluk biyokimyasal testlere

bağlanırken, 97 (%18) hastada uyumsuzluk ise biyopsiye bağlanmıştır. 44 (%8,2) hastada ise uyumsuzluk nedeni bulunamadığı yayınlanmıştır. Biyopsiden kaynaklanan yetersizliğin biyokimyasal testlerden kaynaklanan yetersizlikten 7 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Uyumsuzluğun biyopsi boyutu, renal yetmezlik (sadece nekroenflamatuvar aktiviteyi) yağlanma ve inflamatuvar profilden (sadece fibrotik aktiviteyi), hastaların yaşının ileri ve erkek olması (her iki uyumsuzlukla ilişkili) ile ilgili olabileceği belirtildi. Araştırmacılar tarafından bu sonuca dayanarak, kronik HCV'li hastalarda Fibrotest-Aktitest kombinasyonu sonuçlarının birbiriyle tutarlı olması durumunda, karaciğer iğne biyopsisinin gerekli olmadığını ve Fibrotest-Aktitest sonuçlarına göre fibrozis ve aktiviteyi belirleyerek tedavi şemasının oluşturulabilir şeklinde yorum yapılmıştır (88). Gebo ve ark'ları Fibrotest sonuçlarının minimal veya ilerlemiş fibrozis ile sirozun tanısında orta düzeydeki fibrozisin saptanmasına oranla daha başarılı sonuçlar verdiğini göstermişlerdir (105). Buna karşın Rossi ve arkadaşlarının Avusturalya'lı 125 Hepatit C'li hastada antiviral tedaviden önce yaptıkları çalışmada ise karaciğer fibrozisinin histopatolojik değerlendirmesi ile fibrotest skorunun karşılaştırmasında Fibrotest skorunun daha çok histopatolojik olarak orta derecede fibrozis derecesiyle uyumlu olduğu gösterilmiştir. Rossi ve arkadaşlarının çalışmasında Fibrotest'in ilerlemiş karaciğer fibrozisi tanısında yeterli doğrulukta olmadığı ileri sürülmüştür (86).

Bizim çalışmamızda, ISHAK ile fibrozis saptanan 14 hastadan sadece 5 hastada Fibrotest ile fibrozis saptanmıştır. Bu 5 hasta karaciğer fibrozis derecesi olarak orta derecede fibrozise sahip hastalardır. Kalan 9 hasta ise başlangıç ya da çok ileri derecedeki fibrozisli hastalardır. Böylece biz de çalışmamızda Rossi ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer sonuçlar elde ettik. Bu sonuç doğrultusunda Fibrotest'in orta derecede fibrozisi saptamada daha başarılı olduğu sonucunu ileri sürmekteyiz.

Ledinghen ve arkadaşları kronik karaciğer hastalığı olan 116 çocukta, noninvaziv karaciğer fibrozis panel testlerinden APRI, Fibroscan, Fibrotest skorlamasını uygulamışlardır. 33 çocuğa uygulanan biyopsi sonucu elde edilen METAVİR fibrozis skorlamasıyla, APRI, Fibroscan, Fibrotest sonuçları korele olarak bulunmuştur (9). Testlerin bir panel olarak çalışılması ile ilgili Bismut F ve arkadaşlarının (2001) yaptığı bir çalışmada alfa-2 makroglobulin, haptoglobulin, GGT, total bilirubin, apolipoprotein A1'in en faydalı testler olduğu, bunların kombinasyon halinde kullanılmasının fibrozis tanısında tek tek kullanımlarından daha etkin olduğu belirlenmiş, Fibrotest'in sensitivitesini %75, spesifitesini ise %85 bulmuşlardır (114). Bizim çalışmamızda Fibrotest'in sensitivitesi %36, spesifitesi ise %81 bulunmuştur.

Alfa-2 makroglobulin, aktive hepatik stellat hücrelerden salınan bir proteaz inhibitörü olduğundan, artan sentezi, ekstraselüler matriks proteinlerinin katabolizmasını inhibe ederek fibrozisi arttırdığı gösterilmiştir. Bismut ve ark.'nın yaptığı çalışmada Alkolik karaciğer hastalarında ve kronik hepatit B ve C olgularında tayin edilen alfa-2 makroglobulin düzeyleri ile fibrozis derecesi arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir (114).

Bizim çalışmamızda karaciğer iğne biyopsisi yapılan 35 kronik hepatitli olguda ve kontrol grubunda, rutin biyokimyasal testlerin yanı sıra, karaciğer fibrozisini yansıttığı ileri sürülen ve matriks bozukluğunu gösteren YKL-40 ve MMP-9 testleri de karşılaştırıldı. Özellikle son yıllarda ilk kez romatoid artritlilerde eklem sıvısında tanımlanan YKL-40 (Condrex)'in enflamasyon ve fibrozisi gösteren bir belirteç olarak değeri son yıllarda oldukça sık araştırma konusu olmaktadır. Esas olarak romatoid artrit'in yanı sıra birçok tümörde ve kronik karaciğer parankim hastalıklarında da nekroinflamasyonun ve fibrozisin belirlenmesinde hassas bir gösterge olarak kullanılabileceği iddia edilmektedir (10,71,79).

Saitou ve ark.'nın yaptıkları çalışmada günümüzde sadece kistik fibrozis'li ve bilier atrezili çocuklarda serum ekstraselüler matriks komponentleri çalışılmıştır (67). Bizim çalışmamızda serum YKL-40 düzeylerinin Hasta grubunda (Grup 1), Kontrol grubuna (Grup 2) göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ( $p=0.02$ ). Yaptığımız literatür taramalarında çocuk hastalarda YKL 40 düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalara son derece nadir olarak rastlanmıştır. Lebensztejn ve arkadaşlarının 63 kronik hepatit B'li çocukta fibrozis evresi ve enflamasyonun derecesini saptamak için ISHAK Skorlaması yaptıkları çalışmalarında YKL 40 düzeyleri, bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ( $p=0.03$ ) bulunurken, YKL-40 ile ALT, AST, GGT, total bilirubin testleri arasında korelasyon bulunmamıştır (sırasıyla  $r=0.075$ ,  $r=-0.065$ ,  $r=-0.0062$ ,  $r=0.045$ ) (67).

Julia S. ve arkadaşları, alkolik sirozlu hastalarda (532  $\mu\text{g/l}$ ) ve alkolik hepatitli hastalarda (740  $\mu\text{g/l}$ ) serum YKL-40 seviyesini oldukça yüksek bulmuşlardır. Post hepatik sirozlu hastalarda (425  $\mu\text{g/l}$ ) ve non sirotik fibrozisli hastalarda (330  $\mu\text{g/l}$ ), serum YKL-40 seviyelerinin normal kişilere (102 $\mu\text{g/l}$ ), yağlı karaciğerli hastalara (195  $\mu\text{g/l}$ ) ve fibrozissiz viral hepatitli hastalara (174  $\mu\text{g/l}$ ) göre daha yüksek olduğu, ciddi fibrozis varlığında ise (676 $\mu\text{g/l}$ ), hafif fibrozisli (466 $\mu\text{g/l}$ ) hastalara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (115).

Yapılan diğerk bir çalışmada ise serum YKL-40 seviyelerinin fibrozis derecesi ve Hyalürinik asit seviyesi ile korele olarak özellikle alkolik hepatitli hastalarda artmış olduğu gösterilmiştir (67).

Karaciğerk fibrozisi gelişiminde, enflamasyonla açığa çıkan çeşitli sitokinlerin etkisiyle dokudaki ekstrasellüler matriks yapımının artması ve yıkımının azalması sonucu matriks birikimi gözlenmektedir. MMP'ler, ESM bileşenlerini yıkıma uğratan nötral endopeptidaz ailesi olarak bilinirler. ESM'de MMP aktivitesi ile spesifik endojen doku inhibitörleri olan TIMP'ler arasında sürekli bir denge söz konusudur (21). Dengenin MMP aktivitesi yönüne kayması matriksin kontrolsüz olarak yıkılmasına ve sonuçta patofizyolojik olayların oluşumuna zemin hazırlar. Karaciğerk hasarında ortamda MMP düzeylerinin artmış bulunması, karaciğerk matriksinin yıkılımının hepatik fibrozis patogenezinde katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (72).Yapılan kaynak taramalarında hepatik fibrozis varlığında MMP-9 düzeyleri ile ilgili farklı sonuçlara rastlanmıştır. Hayasaka A. ve ark. MMP-9'un seviyesinin hepatosellüler karsinomalı hastalarda artarken kronik hepatit ve sirozlularda kontrol grubuna göre artmadığını göstermişlerdir (116). Diğerk bir çalışmada matriks yıkımı ve MMP-9 seviyelerinin artışının parankimal hücre hasarını arttırarak karaciğerk fonksiyonlarında progresif bozukluğa yol açtığı ileri sürülmüştür. (74). Bizim alışmamızda ise bu çalışma ile uyumlu olarak serum MMP-9 düzeylerinin hasta grubunda (Grup 1), kontrol grubuna (Grup 2) göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (p=0.01). MMP-9 değerlerinin karaciğerk fibrozisini göstermede önemli bir katkısı olabileceğini düşünmekteyiz.

HBV DNA analizi, HBV'ye bağlı karaciğerk hastalığı olanlarda aktif virus replikasyonunun ve HBV enfektivitesinin en duyarlı, direkt ve spesifik bir göstergesidir (8-10). Genel olarak, serum HBV DNA düzeyi, kronik HBV enfeksiyonu seyrinde HBeAg-pozitif fazda, anti-HBe-pozitif faza göre daha yüksek düzeyde seyretmektedir.

Karaciğerkdeki nekroinflamasyon ile viral replikasyon arasında her zaman bir paralellik bulunmamaktadır(18). Yalçın ve ark.'nın karaciğerk biyopsilerinde histolojik olarak belirgin nekroinflamasyon bulguları saptanan, HBeAg-pozitif ve negatif olan 53 kronik Hepatit B'li hastada yaptıkları çalışmada, tüm hastalarda HBV DNA pozitif, ALT düzeyleri ise yüksek bulunmuştur Bu bulgular sonucunda HBV DNA pozitif ve ALT düzeyi yüksek olan hastalarda karaciğerk biyopsisi gerekli olmadığını ileri sürmüşlerdir. Kronik HBV enfeksiyonunda, HBV DNA pozitif bir hastada hepatosellüler hasarın saptanmasında diğerk parametrelere göre ALT takibi, basit ve ucuz bir yöntem olması gibi özellikleri gözönüne alındığında oldukça büyük bir öneme sahiptir. (20-22). Çalışmamızda



HBV DNA viral yükü ile HBV enfeksiyonunun progresyonunu gösteren biyokimyasal ve hematolojik parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde ALT ve APTZ düzeylerinin viral yük miktarı ile korele olarak arttığı, Total Protein düzeyinin ise viral yük miktarı ile korele olarak azaldığı saptanmıştır. Bu durum HBV DNA viral yükünün artışı ile doğru orantılı karaciğer hücre hasarının da arttığını göstermektedir. Ayrıca kronik HBV enfeksiyonunun patogenezi ve doğal seyri sırasında immuntolerans gelişebileceği göz önüne alınmalıdır. Organizmanın virüse karşı gösterdiği immün tolerans, viral replikasyonun ve vücuttaki viral yükün oldukça yüksek düzeylerde bulunmasına yol açar, hastalığın biyokimyasal bulguları (ALT, AST) ve karaciğer biyopsisi normal sınırlarda bulunur (117).

Preanalitik faktörlerin Fibrotest ve Aktitest panellerinde yer alan testleri etkilediği, sonuçların yorumlanmasını zorlaştırdığı bilinmektedir. Hemoliz varlığında indirekt bilirubin düzeylerinde artma ve haptoglobulin düzeylerinde azalma, Gilbert hastalığında indirekt Bilirubinde artma, ektrahapatik kolestaz durumlarında total bilirubin ve GGT değerlerinde artış ve akut enflamasyon durumlarında alfa-2 makroglobulinde izole bir artıştan dolayı yanlış pozitif sonuçlar, Fibrotest ve Aktitest panellerinin zayıf noktalarını oluşturmaktadır. (118)

Günümüzde hepatik inflamasyon ile hepatik fibrozisin tanı ve evrelendirilmesinde karaciğer biyopsisi halen altın standart olarak kabul edilmektedir. Çalışmanın sonuçları kronik Hepatit B'li çocuklarda noninvaziv testlerin karaciğer biyopsisi yerini alamayacağını, ancak bu testlerin yüksek spesifiteye sahip olduğunu, biyopsi yapılamayan ve biyopsi tekrarı gerektiren seçilmiş hasta gruplarında yararlı olabileceğini göstermektedir. Daha fazla hasta sayısı ile yapılacak olan daha fazla sayıdaki çalışmalarla konunun daha fazla aydınlatılabileceği de unutulmamalıdır.

## VI. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmaya biyokimyasal, virolojik, histopatolojik olarak daha önceden karaciğer fibrozisi tanısı konmuş 2-18 yaş grubundaki Kronik Hepatit B'li 35 hasta grubu ve rutin kontrol amacı ile gelen 15 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubu dahil edildi. Çalışmamızda kronik HBV'li hastalarda fibrozis derecesinin belirlenmesinde karaciğer biyopsisi ile Fibrotest ve Aktitest düzeylerinin tanısal değeri karşılaştırıldı. Çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1. Çalışmamızda öncelikle Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) demografik özellikleri (yaş, cinsiyet) karşılaştırılmış ve gruplar arasında farklılık saptanmamıştır (sırasıyla  $p=0.147$ ,  $p=1.00$ ).
2. Hasta grubunda (Grup 1), Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla AST, ALT, GGT, Total Bilirubin değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek (sırasıyla  $p=0.01$ ,  $p=0.01$ ,  $p=0.01$ ,  $p=0.03$ ), Total Protein değerleri ise Hasta grubunda (Grup1) Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $p=0.02$ ).
3. Hematolojik testlerden APTZ Hasta grubunda (Grup 1), Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ( $p=0.007$ ).
4. Hasta grubunda (Grup 1), Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla MMP-9 ve YKL-40 değerleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p=0.01$ ,  $p=0.02$ ).
5. Hepatit B'li hasta grubunda noninvaziv serum belirteci olan Fibrotest skorlaması ile belirlenen fibrozis düzeyleri ile invaziv histopatolojik ISHAK skoru sonucu elde edilen fibrozis düzeylerinin uyumu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (Fisher's Exact test  $p= 0,432$ ,  $\chi^2=1.222$ ).
6. Hepatit B'li hasta grubunda (Grup 1) noninvaziv serum belirteci olan Aktitest skorlaması belirlenen aktivite düzeyleri ile invaziv histopatolojik ISHAK skoru sonucu elde edilen aktivite düzeylerinin uyumu bakımından gruplar arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Fisher's Exact test  $p= 1.00$ ,  $\chi^2 =0.030$ ).

7. Histopatolojik değerlendirmede fibrozis saptananlar ve saptanmayanlar arasında biyokimyasal ve hematolojik serum değerleri açısından anlamlı fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).
8. Histopatolojik değerlendirmede nekroenflamatuar aktivite evresi 6-11 ve 1-5 olanlar arasında biyokimyasal ve hematolojik serum değerleri açısından anlamlı fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ).
9. Noninvaziv serum belirteci olan Fibrotest ile fibrozis saptananlarda saptanmayan gruba göre GGT ve Direkt Bilirubin değeri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( sırasıyla  $p=0.015$ ,  $p=0.012$ ).
10. Noninvaziv serum belirteci olan Aktitest ile nekroenflamatuar aktivite saptananlarda saptanmayan gruba göre ALP değeri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p=0.017$ ).
11. Hepatit B'li hasta grubunda fibrozis göstergesi olarak kabul edilen Fibrotest sensitivitesi; %36, spesifitesi; %81, pozitif prediktif değer; %56, Negatif prediktif değer; %36 olarak saptanmıştır.
12. Hepatit B'li hasta grubunda nekroenflamatuar aktivitenin göstergesi olarak kabul edilen Aktitest sensitivitesi; %31, spesifitesi; %68, pozitif prediktif değer; %31, Negatif prediktif değer; %32 olarak saptanmıştır.
13. Çalışmamızda HBV DNA viral yükü ile HBV infeksiyonunun progresyonunu gösteren biyokimyasal ve hematolojik parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde ALT, APTZ düzeylerinin viral yük miktarı ile arttığı, Total Protein düzeyinin ise viral yük miktarı ile azaldığı saptanmıştır

Fibrozis ve nekroenflamatuar belirteç testleri olarak kabul edilen Fibrotest ve Aktitest'in, Kronik Hepatit B'li hastalarda fibrozis ve nekroenflamatuar aktivite derecesini belirlemede özellikle biyopsi yapılamayan, biyopsi yapılamasını kabul etmeyen fakat sık aralarla biyopsi yapılması gereken olgularda, histolojik evre ve klinik prognoz için oldukça yüksek oranda bilgi verdiği, ayrıca ekonomik ve psikolojik komplikasyonları azalttığını düşünmekteyiz.

Ayrıca çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde biyopsi ve Fibrotest-Aktitest sonuçlarının fibrozis varlığını ortaya koymaktan ziyade fibrozis olmadığını göstermek açısından daha fazla uyuma sahip olduğu da görülmüştür. Günümüzde hepatik inflamasyon ile hepatik fibrozisin tanı ve evrelendirilmesinde karaciğer biyopsisi halen altın standart olarak kabul edilmektedir. Çalışmanın sonuçları kronik Hepatit B’li çocuklarda noninvaziv testlerin karaciğer biyopsisi yerini alamayacağını, ancak bu testlerin yüksek spesifiteye sahip olduğunu, biyopsi yapılamayan ve biyopsi tekrarı gerektiren seçilmiş hasta gruplarında yararlı olabileceğini göstermektedir. Ancak řu an için en uygun yaklaşım, karaciğer biyopsisi ile birlikte, noninvaziv biyokimyasal testlerin, serolojik testlerin ve görüntüleme yöntemlerinin hasta kliniği ile birlikte değerlendirilmesidir.

Daha fazla hasta sayısı ile yapılacak olan daha fazla sayıdaki çalışmalarla konunun daha fazla aydınlatılabileceği de unutulmamalıdır.

## VII. ÖZET

### KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONLU ÇOCUKLARDA KARACİĞER FİBROZİSİNİN NONİNVAZİV TANI METODLARI İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

**Amaç;** Kronik hepatit B'li çocuk hastalarda karaciğer fibrozis derecesinin belirlenmesinde serumda tayin edilen noninvaziv testler ile karaciğer biyopsisinin tanısal değerliliğinin karşılaştırılmasıdır.

**Materyal- Metod;** Çalışmamızda hasta grubu, CBU Pediatrik Gastroenteroloji polikliniğinde takip edilip biyokimyasal, virolojik, histopatolojik olarak önceden kronik hepatit B tanısı konmuş, pediatrik yaş grubundaki 35 çocuktan, kontrol grubu ise 15 sağlıklı çocuktan oluşmaktadır. Hasta serumlarından tayin edilen noninvaziv Fibrotest fibrozis düzeyleri ile noninvaziv Aktitest aktivite düzeyleri, histopatolojik değerlendirme ile elde edilen fibrozis ve aktivite düzeyleri ile karşılaştırıldı. YKL-40 ve MMP-9 tayinleri ise ELİSA yöntemi ile yapıldı. İstatiksel analizde SPSS 10.0 programı kullanıldı.

**Bulgular;** Çalışmamızda Hasta grubu (Grup 1) ve Kontrol grubunun (Grup 2) demografik özellikleri (yaş, cinsiyet) karşılaştırıldı ve gruplar arasında farklılık saptanmadı. Aktitest'in belirlediği aktivite düzeyleri ile histopatolojik inceleme sonucu elde edilen aktivite düzeylerinin uyumu bakımından yapılan karşılaştırmada ( $p=1.00$ ) ve Fibrotestin'in belirlediği fibrozis düzeyleri ile histopatolojik inceleme sonucu elde edilen fibrozis düzeylerinin uyumu bakımından yapılan karşılaştırılmada ( $p=0.432$ ) gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmedi. Hasta grubunda Aktitest'in Sensitivite %31, Spesifite %68, pozitif prediktif değeri %31, negatif prediktif değeri %32 olarak bulunurken, Fibrotest sonuçları ise Sensitivite %36, Spesifite %81, pozitif prediktif değeri %56, negatif prediktif değeri %36 olarak tespit edildi. Hasta grubunda (Grup 1), Kontrol grubuna (Grup 2) kıyasla MMP-9 ve YKL-40 değerleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p=0.01$ ,  $p=0.02$ ). AST, ALT, GGT, total bilirubin, APTZ düzeyleri, hasta grubunda kontrol

grubuna göre anlamlı derecede yüksek, total protein düzeyi ise anlamlı derecede düşük bulundu.

**Sonuç;** Karaciğer fibrozisinin tanı ve evrelendirilmesinde karaciğer biyopsisi halen altın standart olarak yerini korumaktadır. Günümüzde en uygun yaklaşım, karaciğer biyopsisi ile birlikte noninvaziv biyokimyasal testlerin, serolojik testlerin ve görüntüleme yöntemlerinin hasta kliniği ile birlikte değerlendirilmesidir.

**Anahtar Kelimeler:** Kronik hepatit B, Karaciğer Biyopsisi, Fibrotest, Aktitest

## VIII. ABSTRACT

### NONINVASIVE DIAGNOSTIC METHODS FOR LIVER FIBROSIS IN CHILDREN WITH CHRONIC HEPATITIS B INFECTION

**Introduction:** Our study is designed to compare noninvasive blood sampling methods versus liver biopsy in the diagnostic value of liver fibrosis level assesment in chronic hepatitis B infected children.

**Patient and Methods:** Thirty-five children aged 2-18 years diagnosed with chronic Hepatitis B infection (Group 1) in the Pediatric Gastroenterology Department of the Medical Faculty of Celal Bayar University were enrolled in the study. The control group (Group 2) consisted of 15 age-matched healthy children.

Serum levels of patients with noninvasive FibroTest fibrosis levels and noninvasive Aktitest activity levels were compared with fibrosis and activity levels obtained by histopathological evaluation. YKL-40 and MMP-9 levels were measured with ELISA methods. The collected data were analyzed using the SPSS for Windows program (Version 10.0)

**Result:** Patients group (Group 1) and control group (Group 2) has the same demographic (age, sex) features. Actitest and Fibrotest mediated activity-fibrosis levels were not statistically different from the histopathologically mediated activity-fibrosis levels; respectively  $p=1.00$  and  $p=0.432$ . Actitest sensitivity 31%, specificity 68%, positive predictive value 31% and negative predictive value was 32% in predicting the fibrosois levelin the patient group. Fibrotest sensitivity 36%, specificity 81%, positive predictive value 56% and negative predictive value was 36% in predicting the necroinflamatuary activity in the patient group. MMP-9 and YKL-40 levels were higher in patients group (Group 1) compared to control group (Group 2) respectively  $p=0.01$  and  $p= 0.02$ . AST, ALT, GGT, total bilirubine and activated partial tromboplastin time was statistically significantly higher, but total protein level was lower in the patient group.

**Conclusion:** Liver biopsy is the gold standart diagnostic test for diagnosing and grading liver fibrosis. Today the most advisable approach for liver fibrosis is liver biopsy combined with noninvasive blood tests, serological tests, imaging procedures and patients clinical features.

**Key Words:** Chronic hepatitis B infection, liver biopsy, Fibrotest, Actitest.

## IX. KAYNAKLAR

1. Siegel CA, Silas AM, Suriawinata AA, Leeuwen DJV. Liver Biopsy 2005: When and how?. Cleve Clin J Med. 2005; 72(3): 199-204.
2. Bağcı S. Karaciğer fibrozisinde tanı metodları. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci. 2005;1(16): 29-43.
3. Rockey DC, Bissell DM. Noninvasive measures of liver fibrosis. Hepatology. 2006; 43: 113-120.
4. Roy-Chowdhury N, Roy-Chowdhury J. Liver Physiology and Energy Metabolism. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ (Eds.). Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: Pathophysiology / Diagnosis/ Management. 8th ed. Philadelphia. W.B.Saunders 2006; 1551-73.
5. Eng FJ, Friedman SL. Fibrogenesis I. New insights in to hepatic stellate cell activation: the simple becomes complex. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2006; 279(1): 7-11.
6. Lindquist JN, Marzloff WF, Stefanovic B. Fibrogenesis. III. Posttranscriptional regulation of type I collagen. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2000; 279(3): G471-476.
7. Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stres. Moleculer Aspects of Medicine. 2000; 21: 49-98.
8. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier G, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. Ultrasound Med Biol. 2003; 29(12): 1705-13.
9. Ledinghen V, Le Bail B, Rebouissoux L, Fournier C, Foucher J, Miette V, Castéra L, Sandrin L, Merrouche W, Lavrand F, Lamireau TJ. Liver stiffness measurement in children using FibroScan: feasibility study and comparison with Fibrotest, aspartate



transaminase to platelets ratio index, and liver biopsy. *Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007; 45(4): 443-50.

10. Leroy V, Monier F, Bottari S, Trocme C, Sturm N, Hilleret MN et al. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: Comparison With PIIINP and Hyaluronic Acid. *Am J Gastroenterol.* 2003; 12: 271-9.

11. Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int.* 2006; 26: 1175–86.

12. Valkova M. Hepatic fibrogenesis. *Bratisl Lek Listy.* 2002; 103(2): 76-85.

13. Safadi R, Friedman SL. Hepatic Fibrosis Role of Hepatic stellate cell activation. *Med Gen Med.* 2002; 4(3): 1-5.

14. Kershenovich Stalnikowitz D, Weissbrod AB. Liver fibrosis and inflammation. A review. *Ann hepatol.* 2003; 2:159-63.

15. Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis.* 2001; 21: 373-84.

16. Bataller R, Brenner DA. Hepatic stellate cells as a target for the treatment of liver fibrosis. *Semin Liver Dis.* 2001; 21(3): 437-51.

17. Kawada N. Molecular mechanism of stellate cell activation and therapeutic strategy for liver fibrosis. *Comp Hepatol.* 2004; 3: 1-4.

18. Aydın O, Yıldız L, Kefeli M, Barış S, Kandemir B. Kronik viral hepatitlilerde Ishak modifiye histolojik aktivite indeksinin tek gözlemci ve gözlemciler arası tekrarlanabilirliği. *Türk Patoloji Dergisi.* 2005; 21(3-4): 58-61.

19. Maher JJ. Interactions between hepatic stellate cells and the immune system. *Semin Liver Dis.* 2001; 21(3): 417-26.

20. Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis.* 2001; 21(3): 351-72.

21. Reel B. Matriks Metalloproteinaz Enzimleri ve Ateroskleroz. *Turkiye Klinikleri J Med Sci.* 2006; 26: 527-537.

22. Burt AD. Pathobology of hepatic stellate cells. *J. Gastroenterol.* 1999; 34: 299-304.
23. Orfei E. Review of pathology of the liver. <http://www.meddean.luc.edu/lumen/MedEd/orfpath/pthentnt.htm>.
24. Öner H, Öner J. Bir bazal membran glikoproteini: Nidogen. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 25: 688-92.
25. Koukoulis GK, Shen J, Virtanen I, Gould VE. Vitronectin in the Cirrhotic Liver: An Immunomarker of Mature Fibrosis. *Human Pathology.* 2001; 32(12): 214-220.
26. Ekmekci H, Sönmez H, Ekmekçi O, Öztürk Z, Domaniç N, Kökoğlu E. Plasma vitronectin levels in patients with coronary atherosclerosis are increased and correlate with extent of disease. *J Thromb Thrombolysis.* 2002; 14(3): 221–5.
27. Walsh KM, Fletcher A, MacSween RN, Morris AJ. Basement membrane peptides as marker of liver disease in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2000; 32: 325-30.
28. Gulubova MV, Vlaykova T. Tenascin immunoreactivity in the large bowel and the liver in patients with colorectal cancer. *Histochem J.* 2001; 33: 111–20.
29. Guyot C, Lepreux S, Combe C, Doudnikoff E, Sage PB, Balabaud C, et al. Hepatic fibrosis and cirrhosis: The (myo)fibroblastic cell subpopulations involved. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006; 38: 135–51.
30. Patel K, Lajoie A, Heaton S, Pianko S, Behling CA, Bylund D, et al. Clinical use of hyaluronic acid as a predictor of fibrosis change in hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol.* 2003; 18: 253-7.
31. Maher JJ. Cytokines:overview. *Semin Liver Dis.* 1999; 19(2): 109-15.
32. Bataller R, Brenner AD. Liver Fibrosis. *The Journal Of Clinical Investigation.* 2005; 115(2): 112-27.
33. Friedman SL. Mac the knife? Macrophages- the doubleedged sword of hepatic fibrosis. *J Clin Invest.* 2005; 115(1): 29-32.
34. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem.* 2000; 275(4): 2247–50.
35. Rockey DC. The cell and molecular biology of hepatic fibrogenesis. Clinical and therapeutic implications. *Clin Liver Dis.* 2000; 4(2): 319-355.
36. Guo CY, Wu JY, Wu YB, Zhong MZ, Lu HM. Effects of endothelin-1 on hepatic stellate cell proliferation, collagen synthesis and secretion, intracellular free calcium concentration. *World J Gastroenterol.* 2004; 10(18): 2697-700.

37. Chen MH, Chen JC, Tsai CC, Wang WC, Chang DC, Tu DG, Hsieh HY. The role of TGF-beta1 and cytokines in the modulation of liver fibrosis by Sho-saiko-to in rat's bile duct ligated model. *J Ethnopharmacol.* 2005; 97(1): 7-13.
38. Paradis V, Dargere D, Bonvoust F, Vidaud M, Segarini P, Bedossa P. Effects and regulation of connective tissue growth factor on hepatic stellate cells. *Lab invest.* 2002; 82(6): 767-74.
39. Nouchi T, Worner TM, Sato S, Lieber CS. Serum procollagen type III N- terminal peptides and laminin P1 peptide in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 1987; 11: 287-93.
40. McCullough AJ, Stassen WN, Wiesner RH, Czaja AJ. Serial determinations of the amino-terminal peptide of type III procollagen in severe chronic active hepatitis. *J Lab Clin Med.* 1987; 109: 55-62.
41. Neubauer K, Saile B, Ramadori G. Liver fibrosis and altered matrix synthesis. *Can J Gastroenterol.* 2001; 15(3):187-93.
42. Maher JJ. Interactions between Hepatic Stellate Cells and the Immune System. *Semin Liver Dis.* 2001; 21(3): 417-26.
43. Tilg H, Kaser A, Moschen AR. How to modulate inflammatory cytokines in liver diseases?. *Liver Int.* 2006; 26: 1029–39.
44. Campbell MS, Reddy KR. The evolving role of liver biopsy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004; 20(3): 249-59.
45. Rossi E, Adams LA, Bulsara M, Jeffrey GP. Assessing liver fibrosis with serum marker models. *Clin Biochem Rev.* 2007; 28: 3-10.
46. Sherlock S, Dooley J. *Disease of the liver and biliary system.* Oxford: Blackwell Science. 2002; 42: 37-46.
47. Kovacs MJ, Keeney M, Chin-Yee I. Decreasing Liver Biopsy Complications. *Annals of Internal Medicine.* 1993; 119: 436.
48. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97: 2614-8.
49. Wu J, Danielsson A. Detection of hepatic fibrogenesis: a review of available techniques. *Scand J Gastroenterol.* 1995; 30: 817-21.
50. Zeremski M, Talal AH. Noninvasive markers of hepatic fibrosis: Are they ready for prime time in the management of HIV/HCV co-infected patients? *J Hepatol.* 2005; 43: 2–5.

51. Hirata M, Akbar SMF, Horiike N, Onji M. Noninvasive diagnosis of the degree of hepatic fibrosis using ultrasonography in patients with chronic liver disease due to hepatitis C virus. *Eur J Clin Invest.* 2001; 31(6): 528-35.
52. Foucher J, Castera L, Bernard PH, Adhoute X, Lharie D, Bertet J, Couzigou P, Ledinghen V. Prevalence and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006; 18(4):411-2.
53. Ross W, Shepherd RW, Ramm GA. Liver function and dysfunction. *Fibrogenesis and Cirrhosis.* 80-87
54. Lu LG, Zeng MD, Wan MB, Li CZ, Mao YM, Li JQ, et al. Grading and staging of hepatic fibrosis, and its relationship with noninvasive diagnostic parameters. *World J Gastroenterol.* 2003; 9(11): 2574-8.
55. Colli A, Fraquelli M, Andreoletti M, Marino B, Zuccoli E, Conte D. Severe Liver Fibrosis or Cirrhosis: Accuracy of US for Detection-Analysis of 300 Cases. *Radiology.* 2003; 227: 89-94.
56. Mal F, Hartmann DJ, Trinchet JC, et al. Serum laminin and portal pressure in alcoholic cirrhosis. A study of 39 patients. *Gastroenterol Clin Biol.* 1988; 12: 841-8.
57. Fuke H, Saitou Y, Nakano T, Uemoto S, Shiraki K. Matrix metalloproteinase, hepatocyte growth factor, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase during human liver regeneration. *Liver Int.* 2006; 26: 380-1.
58. Curry MP, Nezam HA. Serum markers of hepatic fibrosis. *UpToDate* 2003, version 11.2
59. Montalto G, Soresi M, Aragona F, et al. Procollagen III and laminin in chronic viral hepatopathies. *Presse Med.* 1996; 25: 59-63.
60. Trinchet JC, Hartmann DJ, Pateron D, et al. Serum type I collagen and N-terminal peptide of type III procollagen in chronic hepatitis. Relationship to liver histology and conventional liver tests. *J Hepatol.* 1991; 12: 139-45.
61. Niemala O, Risteli J, Blake JA, et al. Markers of fibrogenesis and basement membrane formation in alcoholic liver disease. Relation to severity, presence of hepatitis and alcohol intake. *Gastroenterology.* 1990; 98: 1612-19.
62. Hahn E, Wick G, Pencev D, Timpl R. Distribution of basement membrane proteins in normal and fibrotic human liver: Collagen type IV, laminin and fibronectin. 1980; 21: 63-70.

63. Korner T, Kropf J, Gressner AM. The clinical value of laminin determination in advanced liver cirrhosis. *Dtsch Med Wochenschr.* 1996; 121: 965-71.
64. Misaki M, Shima T, Yano Y, et al. Basement membranerelated and type III procollagen-related antigens in serum of patients with chronic viral liver disease. *Clin Chem.* 1990; 36: 522-9.
65. Guechot J, Laudat A, Loria A, et al. Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amin-terminal peptide serum assays as marker of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. *Clin Chem.* 1996; 42: 558-65.
66. Mehta S, Bhaskar K, Sulkowski M, Astemborski J, Thomas D, Moore R, Afdhal N. Serum Markers of liver Fibrosis in HIV/ HCV-infected Adults. *Conf Retroviruses Opportunistic Infect.* 2004; 11: 8-11.
67. Lebensztejn DM, Skiba E, Werpachowska I, Sobaniec-Łotowska ME, Kaczmarek M. Serum level of YKL-40 does not predict advanced liver fibrosis in children with chronic hepatitis B. *Advances in Medical Sciences.* 2007 ; 52 : 120-124.
68. Hogdall EVS, Ringsholt M, Hogdall CK, Christensen J, Johansen JS, Kjaer SK, Blaakaer J, Ostenfeld-Moller L, Price PA, Christensen LA. YKL-40 tissue expression and plasma levels in patients with ovarian cancer. *BMC Cancer.* 2009; 9: 1-10.
69. Johansen JS, Jensen BV, Roslind A, Nielsen D, Price PA. Serum YKL-40, A New Prognostic Biomarker in Cancer Patients? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15(2): 194-202.
70. Patel K, Lajoie A, Heaton S, Pianko S, Behling CA, Bylund D, et al. Clinical use of hyaluronic acid as a predictor of fibrosis change in hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol.* 2003; 18: 253-7.
71. Guo X-K, Zhao W-Q, Kondo C, Shimojo N, Yamashita K, Aoki T, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases-1 (TIMP-1) and -2 (TIMP-2) are major serum factors that stimulate the TIMP-1 gene in human gingival fibroblasts. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1763: 296–304.
72. Matrisian LM. The matrix-degrading metalloproteinases. *Bioessays* 1992; 14: 455-63.
73. Murawaki Y, Ikuta Y, Kawasaki H. Clinical usefulness of serum tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-2 assay in patients with chronic liver disease in comparison with serum TIMP-1. *Clin Chim Acta.* 1999; 281: 109–20.
74. Ghada F. Helaly. Impact of hepatitis B viral load on serum IL-6, MMP-9 and alpha-fetoprotein levels and their correlation with liver injury in chronic hepatitis B infection. Department of Microbiology, Medical Research Institute, University of Alexandria, Egypt

75. Arthur MJP. Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000; 279: 245-9.
76. Annoni G, Weiner FR, Zern MA. Increased transforming growth factor- beta 1 gene expression in human liver disease. *J Hepatol.* 1992; 14: 259.
77. Chung YH, Kim JA, Song BC, et al. Expression of transforming growth factor-alpha mRNA in livers of patients with chronic viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 2000; 89: 977-83.
78. Valkova M. Hepatic fibrogenesis. *Bratisl Lek Listy.* 2002; 103(2): 76-85.
79. Hui AY, Chan HL-Y, Wong VW-S, Liew C-T, Chim AM-L, Chan FK-L, et al. Identification of chronic hepatitis B patients without significant liver fibrosis by a simple noninvasive predictive model. *Am J Gastroenterol.* 2005; 100(3): 616-23.
80. Halfon P, Bourliere M, Deydier R, Fridlund DB, Renou C, Tran A, et al. Independent prospective multicenter validation of biochemical markers (Fibrotest–Actitest) for the prediction of liver fibrosis and activity in patients with chronic hepatitis C: The Fibropaca Study. *Am J Gastroenterol.* 2006; 101: 547–55.
81. Pohl A, Behling C, Oliver D, Kilani M, Monson P, Hassanein T. Serum aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *AJM.* 2001; 96(11): 3142-6.
82. Bantel H, Lügering A, Heidemann J, Volkmann X, Poremba C, Strassburg CP, Manns MP, Schulze-Osthoff K. Detection of Apoptotic Caspase Activation in Sera From Patients With Chronic HCV Infection Is Associated With Fibrotic Liver Injury. *Hepatology.* 2004; 40(5): 1078-87.
83. Watt K, Uhanova J, Gong Y, Kaita K, Doucette K, Pettigerw N, Minuk GY. Serum immunoglobulins predict the extent of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Journal of Viral Hepatitis.* 2004; 11(3): 251-8.
84. Herold C, Heinz R, Niedobitek G, Schneider T, Hahn EG, Schuppan D. Quantitative testing of liver function in relation to fibrosis in patients with chronic hepatitis B and C. *Liver.* 2001; 21: 260–65.
85. Aydın Z, Demir K, Ökten A, Kaymakoğlu S, Salmayenli N, Özdil S , ark. Kronik viral hepatitlerde fibrozis göstergesi olarak noninvaziv testlerin değerlendirilmesi. *İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2003; 66(3): 171-7.
86. Rossi E, Adams L, Prins A, Max Bulsara M, Boer B, Garas G, MacQuillan G, Speers D, Jeffrey G. Validation of the FibroTest Biochemical Markers Score in Assessing Liver Fibrosis in Hepatitis C Patients. *Clinical Chemistry.* 2003; 49(3): 450–454.

87. Poynard T, Morra R, Halfon P, Castera L, Ratzu V, Imbert-Bismut F, Naveau S, Thabut D, Lebre C, Zoulim F, Bourliere M, Cacoub P, Messous D, Munteanu M, Ledinghen V. Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterology*. 2007; 7(40): 1-11.
88. Poynard T, Munteanu M, Bismut FI, Charlotte F, Thabut D, Calvez SL, et al. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chemistry*. 2004; 50(8): 1344–55.
89. Friedman SL. Prognosticating in the future: Genomics and beyond. In: ACA Clinical Symposium—Prognostic Markers of liver Disease. Program and abstracts of Digestive Disease Week 2004; May 15-20,2004;New Orleans, Louisiana.
90. Ertugrul Ö, Ertugrul B, Soner Ü, Çağlar F. Akut viral hepatit infeksiyonlarının yaş ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2006; 7(1) : 25 – 27.
91. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *Journal of Viral Hepatitis*. 2004; 11: 97–107.
92. Chang MH. Natural history and clinical management of chronic hepatitis B virus infection in children. *Hepatology*. 2008; 2: 28–36.
93. Özen M, Yoloğlu S, Işık Y, Yetkin G. Turgut Özal Tıp Merkezi'ne başvuran 0-16 yaş grubu çocuklarda AntiHBs seropozitifliği. *Türk Pediatri Arşivi*. 2006; 41: 31- 5.
94. Yim HJ, Lok ASF. Natural History of chronic Hepatitis B Virus Infection: What We Knew in 1981 and What We Know in 2005. *Hepatology*. 2006; 43: S173-S181.
95. Kanra G, Cengiz A.B, Hepatit B Virus Enfeksiyonu. *Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Katkı Pediatri Dergisi*. 1998; 19 (6): 594-609.
96. Savaş C. Hepatik fibrozisin patogenezi. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*. 2005; 1(16): 5-10.
97. Saitou Y, Shiraki K, Yamanaka Y, Yamaguchi Y, Kawakita T, Yamamoto N, et al. Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker, YKL-40, in patients with HCV-associated liver disease. *World J Gastroenterol*. 2005; 11(4): 476-81.
98. McCuskey RS. Anatomy of the liver. In: Boyer TD, Wright TL, Manns MP (Eds.). *Zakim and Boyer's hepatology: A Textbook of Liver Disease*. Hepatology. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company 2006: 3-21.
99. Ökten A. Türkiye'de Kronik Hepatit, Siroz ve Hepatosellüler Karsinoma Etiyolojisi. *Güncel Gastroenteroloji*. 2003; 7(3): 187-91.

100. Thomas CH. Hepatitis B and D. *Medicine*. 2007; 35(1): 39-42.
101. Afdhal NH, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *Am J Gastro*. 2004; 99: 1160-74.
102. Pehlivan Y, Koruk M, Gülşen MT, Savaş C, Kadayıfçı A. Kronik Viral Hepatitli Hastalarda Hastalığın Evresi ile AST,ALT Oranının İlişkisi Kronik Hepatitite AST/ALT Önemi. *Gaziantep Tıp Dergisi*. 2008; 14: 28-31.
103. Wong VS, Hughes V, Trull A, Wight DGD, Petrik J. Serum hyaluronic acid is a useful marker of liver fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat*. 1998; 5(3):187–92.
104. Park BK, Park YN, Ahn SH, Lee KS, Chon CY, Moon YM. Long-term outcome of chronic hepatitis B based on histological grade and stage. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007; 22: 383-388.
105. Sheth S, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patient with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroentero*. 1998; 93(1): 44-8.
106. Thabut D, Simon M, Myers RP, et al. Noninvasive prediction of fibrosis in patient with chronic hepatitis C (letter). *Hepatology*. 2003; 37: 1220.
107. Reddy D, Loo AT, Levine RA. AST/ALT ratio  $\geq 1$  is not diagnostic of cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci*. 1998; 43(9): 2156-59.
108. Giannini E, Risso D, Botta F, Chiarbonello B, Fasoli A, Malfatti F, et al. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase–alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus–related chronic liver disease. *Arch Intern Med*. 2003; 163: 218-24.
109. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleish JD, Marrero JA. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patient with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003 ; 38(2): 518 – 526.
110. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Deydier R, Renou C, Fridlund DB, et al. Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver fibrosis stages in patients with hepatitis C virus. *Comp Hepato*. 2005; 11(4): 1-7.
111. Nunes D, Fleming C, Offner G, O'Brien M, Tumilty S, Fix O, et al. HIV infection does not affect the performance of noninvasive markers of fibrosis for the diagnosis of hepatitis C virus-related liver disease. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005; 40(5): 538-44.
112. Myers R.P, Torres M, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Charlotte F, Poynard T. Biochemical Markers of Fibrosis in Patients with Chronic Hepatitis C. *Digestive Diseases and Sciences*. 2003; 48(1): 146-153.



113. Morali G, Maor Y, Klar R, Braun M, Ari Z.B, Bujanover Y, Zuckerman E, Boger S, Halfon P. Fibrotest-Actitest: The Biochemical Marker of Liver Fibrosis –The Israeli Experience. *Imaj*. 2007; 9: 588–591.
114. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: A prospective study. *Lancet*. 2001; 357: 1069-75
115. Johansen JS, Christoffersen P, Moller S, Price PA, Garbarsch JC, Bendtsen F, Garbarsch C, Bendtsen F. Serum YKL-40 is increased in patients with hepatic fibrosis. *Journal of Hepatology*. 2000; 32: 911-920.
116. Hayasaka A, Sujaku K, Fujimoto N, et al. Elevated plasma levels of matrix metalloproteinase-9 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 1996; 24: 1058-66.
117. Kaya S, Sütçü R, Sesli Çetin E, Yılmaz N, Arıkan S, Cicioğlu Arıdoğan B, Delibaş N. Hepatit B Virüs ile Enfekte Hastalarda Viral Yük ile Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzimler Arasındaki ilişki. *Türk Klinik Biyokimya Derg*. 2006; 4(2): 77-82.
118. Poynard T, Imbert Bizmut F, Ratziu V. Serum Markers of Liver Fibrosis. *Hepatology Rev*. 2004; 1: 23-31.



