

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA SERUM
HEPATİT B VİRÜS DNA DÜZEYİ İLE SERUM
HEPSİDİN, PENTRAKSİN-3, ZONULİN VE
KOEPTİN İLİŞKİSİ**

Dr. Burak EZER

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KONYA 2024

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA SERUM
HEPATİT B VİRÜS DNA DÜZEYİ İLE SERUM
HEPSİDİN, PENTRAKSİN-3, ZONULİN VE
KOPEPTİN İLİŞKİSİ**

Dr. Burak EZER

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Mehmet ÖZDEMİR

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 23TU18006 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2024

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca akademik bilgisini ve tecrubesini bizlerle paylaşmayı esirgemeyen, tez konusunun belirlenmesi ve hazırlanmasının her aşamasında desteğini gördüğüm, bilgi birikiminden faydalanma fırsatı bulabildiğim için gurur duyduğum danışman hocam Prof. Dr. Mehmet ÖZDEMİR'e,

Asistanlığım süresince eğitimime büyük katkı sağlayan ve üzerimde emeği olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Bahadır FEYZİOğLU, Prof. Dr. Metin DOğAN, Doç. Dr. Fatma Esenkaya TAŐBENT ve Dr. Öğr. Üyesi Selin UğRAKLI hocalarıma,

İstatistiksel analizler konusunda katkılarından dolayı Mehmet Sinan İYİSOY'a,

Verilerin istatistiksel yorumlanmasında ve tez sürecinde her daim yanımda olan arkadaşım Halk Sağlığı Uzmanı Dr. Tunahan UYGUN'a,

Tez numunelerinin toplanmasında yardımlarını esirgemeyen Hamza Çağlar DEMİRTAŐ ve Tuğba őahin őOBAN'a,

Uzmanlık eğitimim süresince beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, laboratuvar teknisyenlerine ve sekreterlerine,

Bugünlere gelmemin yegane mimarları olan, sevgilerini ve desteklerini her zaman hissettiğim annem Sevgi EZER ve babam Semih EZER'e,

Son olarak iyi günde ve kötü günde her zaman yanımda olan, tez sürecimi ve hayatımı her zaman kolaylaőtırmaya çalışan, manevi desteklerini ve sevgilerini hep hissettiğim sevgili eşim Gizem EZER'e, yakışıklı oğlum Kerem EZER'e;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Burak EZER

2024

ÖZET

KRONİK HEPATİT B HASTALARINDA SERUM HEPATİT B VİRÜS DNA DÜZEYİ İLE SERUM HEPİDİN, PENTRAKSİN-3, ZONULİN VE KOPEPTİN İLİŞKİSİ

Dr. Burak EZER

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KONYA 2024

Amaç: Kronik Hepatit B hastalarının viral yük, prognoz, tedavi takibinde kullanılan ve altın standart yöntem olan HBV DNA düzeyi moleküler bir yöntem olan PCR yöntemi kullanılarak tespit edilmektedir. Çalışmamızın amacı; moleküler yöntemlerle kantitatif olarak saptanan HBV DNA'ya göre maliyeti daha uygun, daha pratik olan ELISA yöntemi ile tespit edilebilen serum hepsidin, pentraksin-3, zonulin ve kopeptin biyomarkerlarının serum düzeylerini araştırarak Kronik Hepatit B hastalarının prognozu hakkında bilgi sahibi olabilmek ve serum HBV DNA düzeyi ile ilgili biyomarkerların ilişkisini incelemektir.

Yöntem: Çalışmaya Kronik Hepatit B tanılı ve 6 aydan daha uzun süre serumunda HBsAg saptanan 105 hasta ve herhangi bir karaciğer veya kronik hastalığı olmayan 35 kontrol grubunun serum örnekleri dahil edildi. Hastaların serum HBV DNA düzeyleri Real Time PCR (Anatolia, Türkiye) yöntemiyle tespit edildi. Hastalar, HBV DNA düzeyleri 10^0 - 10^2 arasında olan 35 hasta, 10^3 - 10^5 arasında olan 35 hasta ve 10^6 - 10^8 arasında olan 35 hasta olacak şekilde üç farklı gruba ayrıldı. Gruplar hafif, orta ve ağır viral yüklü olarak değerlendirildi. Hastaların kalan serumlarından kantitatif olarak serum hepsidin, PTX-3, zonulin ve kopeptin düzeylerini tespit edebilmek için ELISA (Elabscience, Çin) yöntemi kullanıldı.

Bulgular: Serum hepsidin düzeylerinde, kontrol grubu ve ağır viral yüke sahip hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,01$). Kontrol grubu ile diğer üç grup arasında serum pentraksin-3 düzeylerindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). Ağır viral yüke sahip grup ile diğer üç grup arasında kopeptin seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark belirlendi ($p=0,007$; $p=0,013$; $p=0,036$). Hepsidin ile yaş, viral yük, PTX-3 ve kopeptin arasında pozitif korelasyon saptandı ($p<0,01$). PTX-3 ile yaş arasında pozitif korelasyon, PTX-3 ile viral yük arasında pozitif korelasyon belirlendi ($p<0,05$; $p<0,01$). Zonulin ile yaş arasında negatif korelasyon saptandı ($p<0,01$). Kopeptin ile yaş arasında pozitif korelasyon saptanırken; kopeptin ile viral yük arasında negatif korelasyon tespit edildi ($p<0,01$).

Sonuç: Kronik hastalıkların erken tanı, tedavi takibi, prognozu hakkında bilgi sahibi olabilmek için yeni biyomarkere ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde HBV DNA'ya alternatif olarak Kronik Hepatit B hastalarının prognozu hakkında bilgi vermesi muhtemel biyomarkerlar hakkında çalışmalar kısıtlıdır. Çalışmamızın, HBV DNA düzeyleri hakkında ELISA yöntemi kullanılarak bilgi verebilecek olan yeni belirteçlerle ilgili çalışmalara katkı sağlayacağını öngörmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Kronik Hepatit B; HBV DNA; Hepsidin; Pentraksin-3; Zonulin,; Kopeptin

ABSTRACT

RELATIONSHIP BETWEEN SERUM HEPATITIS B VIRUS DNA LEVEL AND SERUM HEPSIDIN, PENTRAXIN-3, ZONULIN AND COPEPTIN IN CHRONIC HEPATITIS B PATIENT

Dr. Burak EZER

THESIS OF MEDICAL SPECIALTY

KONYA 2024

Objective: Chronic hepatitis B patients' viral load, prognosis and treatment follow-up are assessed by the HBV DNA level, which is the gold standard method and a molecular technique based on PCR. The aim of our study was to compare the serum levels of serum hepcidin, pentraxin-3, zonulin and copeptin biomarkers, which can be measured by ELISA, a more cost-effective and practical method than molecular methods, with the HBV DNA level, and to evaluate their relationship with the prognosis and status of the disease.

Method: We included serum samples from 105 patients diagnosed with Chronic Hepatitis B who had HBsAg in their serum for longer than 6 months and 35 healthy controls without any liver or chronic disease. We measured serum HBV DNA levels of the patients by Real Time PCR (Anatolia, Turkey). We divided the patients into three groups according to their viral load: 35 patients with HBV DNA levels of 10^0 - 10^2 , 35 patients with HBV DNA levels of 10^3 - 10^5 , and 35 patients with HBV DNA levels of 10^6 - 10^8 . Groups were evaluated as light, medium and heavy viral load. We used ELISA kits (Elabscience, China) to quantify serum hepcidin, PTX-3, zonulin and copeptin from the remaining serum samples of the patients.

Results: Serum hepcidin levels were significantly higher in the patient group with heavy viral load than in the control group ($p=0.01$). Serum pentraxin-3 levels were also significantly different between the control group and the other three groups ($p<0.001$). The group with heavy viral load had significantly lower copeptin levels than the other three groups ($p=0.007$; $p=0.013$; $p=0.036$). Hepcidin was positively correlated with age, viral load, PTX-3 and copeptin ($p<0.01$). PTX-3 showed positive correlation with age and positive correlation with viral load ($p<0.05$; $p<0.01$). Zonulin was negatively correlated with age ($p<0.01$). Copeptin was positively correlated with age but negatively correlated with viral load ($p<0.01$).

Conclusion: Chronic diseases require new biomarkers for early diagnosis, treatment monitoring and prognosis. There is a lack of research on biomarkers that may have a relationship with prognosis of chronic hepatitis B patients as an alternative to HBV DNA. Our study aims to identify new indicators that can measure HBV DNA levels by using the ELISA method.

Keywords: Chronic Hepatitis B; HBV DNA; Hepcidin; Pentraxin-3; Zonulin; Copeptin

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar	viii
ŞEKİLLER	ix
RESİMLER	x
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Epidemiyoloji	3
2.3. Viroloji	4
2.3.1. Virüsün Yapısı	4
2.3.2. Virüsün Genomu	5
2.3.3. Virüsün Genotipleri ve Subgenotipleri.....	7
2.3.4. Virüsün Replikasyonu	8
2.4. Patogenez	10
2.5. Bulaş Yolları	11
2.6. Klinik.....	12
2.6.1. Akut Enfeksiyon.....	12
2.6.2. Kronik Enfeksiyon	13
2.7. Tanı.....	15
2.7.1. Serolojik Testler	16
2.7.2. Moleküler Testler	17
2.7.3. Biyokimyasal Testler.....	18
2.7.4. Histopatolojik testler	19
2.8. Hepsidin.....	19
2.9. Pentraksin-3	21
2.10. Zonulin	23
2.11. Kopeptin	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27

3.1. Etik kurul ve Proje Desteği Bilgileri.....	27
3.2. Hasta Seçimi	27
3.3. Araç ve Gereçler	27
3.3.1. Alet ve gereçler	27
3.3.2. Kullanılan kitler	28
3.4. PCR yöntemiyle HBV DNA düzeyinin belirlenmesi.....	28
3.5. ELISA yöntemi.....	30
3.5.1. Kitlerin içeriğinde bulunan reaktifler	31
3.5.2. Numunelerin hazırlanması	31
3.5.3. Sandviç ELISA ęalışma basamakları	32
3.5.4. Kompetatif ELISA ęalışma basamakları	33
3.6. İstatistiksel analiz.....	34
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	54
6.1. Sonuç	54
6.2. Öneriler.....	54
KAYNAKLAR	55

TABLULAR

Sayfa No

Tablo 4.1. Kontrol ve hasta gruplarına ait demografik veriler	35
Tablo 4.2. Serum hepsidin seviyelerinin yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırılması.....	36
Tablo 4.3. Kontrol ve hasta gruplarının serum hepsidin seviyeleri	37
Tablo 4.4. Kontrol ve hasta gruplarının serum hepsidin seviyelerinin karşılaştırılması	37
Tablo 4.5. Serum pentraksin-3 seviyelerinin yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırılması ...	39
Tablo 4.6. Kontrol ve hasta gruplarının serum pentraksin-3 seviyeleri	39
Tablo 4.7. Kontrol ve hasta gruplarının serum pentraksin-3 seviyelerinin kıyaslanması	40
Tablo 4.8. Serum zonulin seviyelerinin yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırılması	41
Tablo 4.9. Kontrol ve hasta gruplarının serum zonulin seviyeleri.....	41
Tablo 4.10. Kontrol ve hasta gruplarının serum zonulin seviyelerinin karşılaştırılması	42
Tablo 4.11. Serum kopeptin seviyelerinin yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırılması	43
Tablo 4.12. Kontrol ve hasta gruplarının serum kopeptin seviyeleri	43
Tablo 4.13. Kontrol ve hasta gruplarının serum kopeptin seviyelerinin karşılaştırılması...44	
Tablo 4.14. Serum hepsidin, PTX-3, zonulin ve kopeptin Ortalama \pm SD değerleri	45
Tablo 4.15. Hepsidin korelasyon analizi	45
Tablo 4.16. Pentraksin-3 korelasyon analizi	46
Tablo 4.17. Zonulin korelasyon analizi	46
Tablo 4.18. Kopeptin korelasyon analizi	47

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 2.1. Dünya genelinde HBsAg seroprevalansı ve enfekte kişilerin dağılımı	4
Şekil 2.2. HBV yapısı	5
Şekil 2.3. HBV genom içeriği	6
Şekil 2.4. Dünya genelinde HBV genotip ve subgenotip dağılımı.....	7
Şekil 2.5. HBV replikasyon şeması.....	9
Şekil 2.6. Hepsidin sentezi	21
Şekil 2.7. Pentraksin-3 yapısı.....	22
Şekil 2.8. Zonulin etki mekanizması.....	24
Şekil 2.9. Pre-provazopressin yapısı.....	26
Şekil 4.1. Gruplara ve cinsiyete göre serum hepsidin düzeyindeki farklılıklar	38
Şekil 4.2. Gruplara ve cinsiyete göre serum pentraksin-3 düzeyindeki farklılıklar	40
Şekil 4.3. Gruplara ve cinsiyete göre serum zonulin düzeyindeki farklılıklar	42
Şekil 4.4. Gruplara ve cinsiyete göre serum kopeptin düzeyindeki farklılıklar	44

RESİMLER

	<u>Sayfa No</u>
Resim 3.1. HBV Quantification kit	29
Resim 3.2. Nükleik Asit İzolasyon ve PCR Setup Robotu.....	29
Resim 3.3. Real Time PCR cihazı.....	30
Resim 3.4. ELISA kiti	30
Resim 3.5. Çalışmada kullanılan plate okuyucu ve otomatik yıkama cihazı.....	34

SİMGELER ve KISALTMALAR

°C	: Santigrat Derece
mL	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
U/L	: Ünite/Litre
dk	: Dakika
%	: Yüzde
HBV	: Hepatit B Virüs
HBsAg	: Hepatit B Yüzey Antijeni
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	: Deoksiribonükleik asit
PTX-3	: Pentraksin-3
ADH	: Antidiüretik Hormon
AVP	: Arjinin-Vazopressin
HCC	: Hepatosellüler Karsinom
HBeAg	: Hepatit B e Antijeni
S-HBs	: Küçük Hepatit B Yüzey Antijeni
M-HBs	: Orta Hepatit B Yüzey Antijeni
L-HBs	: Büyük Hepatit B yüzey antijeni
SVPs	: Subviral Parçacık
RNA	: Ribonükleik asit
pgRNA	: Pregenomik RNA
rcDNA	: Gevşek dairesel DNA
cccDNA	: Kovalent bağlı kapalı dairesel DNA
HBcAg	: Hepatit B kor Antijeni
HBxAg	: Hepatit B x Antijeni
ORF	: Open Reading Frame
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
Anti-HBs	: Hepatit B Yüzey Antikoru
CTL	: Sitotoksik T Lenfosit
Th1	: Thelper-1 Lenfositler
Th2	: Thelper-2 Lenfositler

NTCP	: İnsan Sodyum Taurokolat Taşıma Polipeptidi
IL	: İnterlökin
IU/ML	: İnternasyonal Ünite/Mililitre
HIV	: İnsan İmmun Yetmezlik Virüsü
NK	: Naturel Killer
RT-PCR	: Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
KHB	: Kronik Hepatit B
IgM	: İmmunoglobulin M
IgG	: İmmunoglobulin G
ELISA	: Enzim Linked İmmünosorbent Assay
Anti-HBe	: Hepatit B e antijenine karşı antikor
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
GGT	: Gama Glutamil Transferaz
ALP	: Alkalen Fosfataz
HAI	: Histolojik Aktivite İndeksi
mm	: Milimetre
TJ	: Tight Junction

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hepatit B virüsü (HBV) önemli bir halk sağlığı sorunu olmasının yanı sıra hem dünyada hem de ülkemizde yaşamı tehdit eden önemli enfeksiyonlardan biridir. Dünya çapında yaklaşık iki milyar kişinin hepatit B virüsüne maruz kaldığı ve yaklaşık 400 milyon kişinin kronik hepatit B hastası olduğu bilinmektedir. 2015 yılında dünya çapında yaklaşık 257 milyon kişi kronik olarak HBV ile enfekte olmuş ve yıl içerisinde gerçekleşen yaklaşık 887.000 ölümün kronik HBV'ye bağlı olduğu düşünülmüştür (WHO. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b> Erişim Tarihi: 25.12.2023).

Ülkeler hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) pozitiflik yüzdesine göre yüksek (≥ 8), orta (2-7) ve düşük (< 2) prevalanslı ülkeler olarak sınıflandırılmaktadır (Thomas ve ark., 2012). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda HBsAg pozitifliği yüzde 0.8-5.7 arasında bulunmuş olup ülkemiz orta endemik bölgeler arasında yer almaktadır. Bölgesel olarak değerlendirildiğinde ise Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde HBsAg pozitiflik yüzdesi daha yüksek bulunmuştur (Akhan ve ark., 2014). HBV; cinsel temasla, parenteral yolla, anneden bebeğe horizontal ve vertikal geçişle insanlara bulaşabilmektedir (Mast ve ark., 2005). HBsAg pozitifliğinin 6 aydan uzun sürmesi kronik hepatit B tanısını düşündürür. Kronik HBV enfeksiyonu siroz ve hepatosellüler karsinom (HCC) gibi ölümlerle sonuçlanabilecek ciddi komplikasyonlara yol açabilir.

HBV deoksiribonükleik asit (DNA) seviyeleri, kronik HBV hastalarında viral yük, hastalığın prognozu, enfektivitesi, tedaviye yanıtı hakkında bilgi sağlar (European Association for the Study of the Liver EASL., 2017). HBV DNA Real time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi ile kantitatif olarak ölçülür. Ayrıca HBV DNA, HBsAg pozitifleşmeden 3 hafta önce serumda saptanabilir. Serum HBV DNA düzeyleri kronik HBV enfeksiyonu için replikasyon durumunu tespit etmek için kullanılır (Servoss ve Friedman, 2006).

Günümüzde HBV DNA'ya alternatif olarak kronik HBV hastalarında prognoz hakkında bilgi vermesi muhtemel inflamatuvar markerlar hakkında çalışmalar kısıtlıdır.

Hepsidin, demir metabolizmasından sorumlu inflamatuvar belirteçtir. Hepsidin esas olarak hepatositler tarafından üretildiğinden dolayı, karaciğerdeki patolojik değişiklikler hepsidin ekspresyonunu etkiler. Yapılan çalışmalarda karaciğerin hasar gördüğü siroz, alkolik karaciğer hastalığı, kronik hepatit B ve hepatit C hastalarında anormal hepsidin ekspresyonları gözlemlenmiştir (Wang ve ark., 2013).

Pentraksin-3 (PTX-3), yapı ve fonksiyon olarak CRP' ye benzeyen akut faz reaktanıdır. PTX-3 kompleman sisteminin klasik, alternatif ve lektin yolunun her üçünü de aktive eder. PTX-3, CRP'nin aksine karaciğerin yanı sıra makrofaj, endotelial hücreler, fibroblastlar, sinovyal hücreler gibi bir çok farklı hücreden salınabilmektedir. Karaciğer hastalıklarında PTX-3 ekspresyonlarında değişiklikler saptanmıştır (Larsson ve ark., 2013).

Zonulin (Prehaptoglobin-2), bağırsak epitelinde daha fazla eksprese edilen aynı zamanda beyin ve kalp dokusunda da sentezlendiği ispat edilmiş olan bir proteindir. Bağırsak geçirgenliğini düzenleyen ve epitelyal lamina propriadan salınan bir sinyal proteindir. Neoplazi, otoimmün hastalıklar, enfeksiyöz ve gastrointestinal sistem kaynaklı hastalıklarda zonulin ekspresyonlarında farklılıklar saptanmıştır (Rittirsch ve ark., 2013; Çalgın ve Çetinkol, 2019).

Antidiüretik hormon (ADH) olarak da bilinen arginin vazopressin (AVP), ana hipotalamik stres hormonlarından biridir. ADH, serum ozmolalite düzeyindeki değişiklikler veya hipovolemi sonucu hipotalamustan salınan ve ozmotik hemostazı düzenleyen nanopeptid bir hormondur (Katan ve ark., 2008). Kopeptin, ADH'un C-terminal kısmında bulunmaktadır. 39 amino asitten oluşan bu glikozillenmiş peptidin çoğunluğu lösinden oluşmaktadır. Kopeptinin, vücudun AVP seviyesini yansıtması ve AVP'nin tam tersine kanda birkaç gün stabil kalabilmesi nedeniyle pratikte AVP' den daha sık kullanılmaktadır (Morgenthaler ve ark., 2006). Çeşitli kalp, böbrek hastalıkları ve enfeksiyöz hastalıklarda anormal kopeptin düzeyleri saptanmıştır (Ede ve ark., 2016).

Kronik hastalıkların erken tanı, tedavi takibi, prognozu hakkında bilgi sahibi olabilmek için yeni biyomarkere ihtiyacı duyulmaktadır. Kronik HBV hastalarının viral yük, prognoz, tedavi takibinde kullanılan ve altın standart yöntem olan HBV DNA düzeyi moleküler bir yöntem olan Real Time PCR kullanılarak tespit edilmektedir.

Çalışmamızda; moleküler yöntemlerle kantitatif olarak saptanan HBV DNA'ya göre maliyeti daha uygun ve daha pratik olan ELISA yöntemiyle tespit edilebilen serum hepsidin, pentraksin-3, zonulin ve kopeptin biyomarkerlarının serum düzeylerinin araştırılması, kronik HBV hastalarının prognozu hakkında bilgi sahibi olabilmek ve serum HBV DNA düzeyi ile ilgili biyomarkerların korelasyonunun incelenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Hepatit B virüsünün eski çağlarda insanlara bulaştığına ve hastalığa neden olduğuna inanılmaktadır. Moleküler tekniklerin gelişmesi sonucunda, eski çağlarda HBV'nin varlığına dair kanıtlar bulunmuştur. İnsanları enfekte eden suşların 7.000 ile 10.000 yıl önce ortaya çıktığı düşünülmektedir (Caballero ve ark., 2018). HBV'nün kökenine dair bir diğer varsayım ise yaklaşık 1500 yıl önce evrimleşip insanları enfekte ettiği yönündedir (Zhou ve ark., 2006). Çok eski bir patojen olduğu için sarılıkla ilgili gözlemler Hipokrat (M.Ö. 460-375) tarafından günlük pratiğe dahil edilmiştir (Oon ve ark., 2012).

Tarihte kaydedilen ilk sarılık salgını Napolyon'un Mısır seferi sırasında yaşanmıştır. Birinci Dünya Savaşı sırasında da Akdeniz bölgesindeki İngiliz ve Fransız esirler arasında sarılık vakaları görülmüştür (Dündar ve ark., 2005). Virchow "kataral ikter" terimini ilk kez 1865'te kullanmış, Cockayne ise "infektif hepatit" terimini ilk kez 1912'de kullanmıştır. Vogt ise 1942'de hastalığın bir virüsten dolayı ortaya çıkabileceğini öne sürmüştür (Purcell ve ark., 1993).

Blumberg tarafından 1965 yılında ilk kez Avustralya antijeni olarak tespit edilen HBsAg aşısı çalışmalarının başlamasına öncülük etmiştir (Blumberg ve ark., 1970). Blumberg yaptığı buluştan ötürü, 1976 yılında Nobel ödülü almış olup, 2011 yılındaki ölümünden sonra her yıl Blumberg'in doğduğu gün olan 28 Temmuz tarihi 'Dünya Hepatit Günü' olarak kutlanmaktadır. 1968 yılında Bayer ve arkadaşları HBV'yi ilk kez elektron mikroskopunda incelemiştir. 1970 yılında 'Dane Partikülü', 1972 yılında ise 'Hepatit B e antijeni (HBeAg)' keşfedilmiştir. Zamanla bu antijenlerin keşfi HBV tanısında serolojik yöntemlerin daha sık kullanılmasının önünü açmıştır. Hasta serumunda HBV DNA dizi analizi ilk kez 1979 yılında yapılmış olup, böylelikle HBV'nin moleküler yapısına yönelik araştırmalar zamanla çoğalmaya başlamıştır (Thio ve Hawkins., 2015).

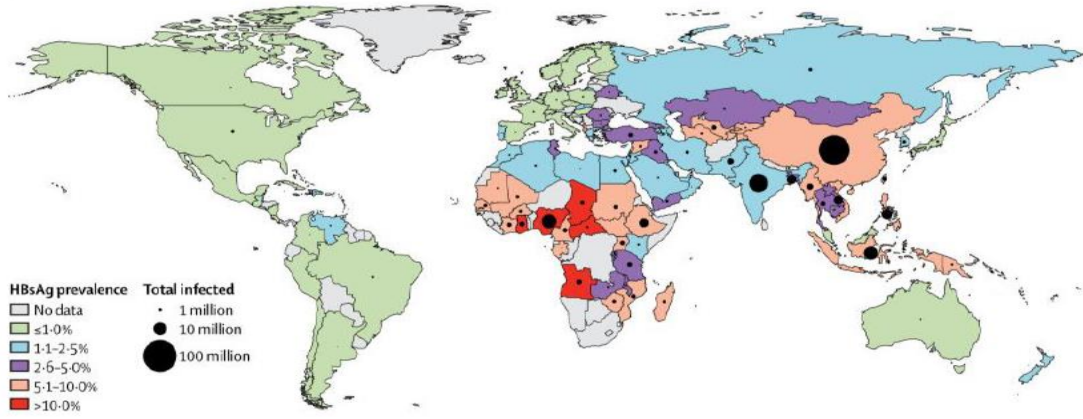
2.2. Epidemiyoloji

HBV, dünya çapında 2 milyar kişiyi etkileyen, akut ve kronik hepatite neden olabilen, siroz ve hepatoselüler karsinom gibi nedenlerden dolayı yılda yaklaşık 700.000 kişinin ölümüne neden olan bulaşıcı bir hastalıktır (Thio ve Hawkins, 2015).

Ülkeler HBsAg pozitiflik yüzdesine göre yüksek, orta ve düşük prevalanslı ülkeler olarak sınıflandırılmaktadır (Thomas ve Zoulim, 2012; Ott ve ark., 2012)

- 1- Düşük Prevalans <2: Yeni Zelanda, Avustralya, Batı Avrupa, ABD, Kanada
- 2- Orta Prevalans %2-7: Latin Amerika, Orta Asya ülkeleri, Akdeniz ülkeleri, Japonya
- 3- Yüksek Prevalans %=>8: Çin, Sahraaltı Afrika, Güneydoğu Asya

Ülkemiz orta endemik ülkeler arasında yer almakla beraber, ülkemizin batısından doğusuna gittikçe HBsAg pozitifliğinde artış gözlenmektedir. Sağlık bakanlığı verilerine göre ülkemizde yetişkinlerin %33'ü hayatının herhangi bir döneminde HBV ile karşılaşmış olup, yaklaşık 2 milyon kişide de HBsAg pozitifliği bulunmaktadır (T.C Sağlık Bakanlığı. Türkiye Viral Hepatit Önleme ve Kontrol Programı 2018-2023).



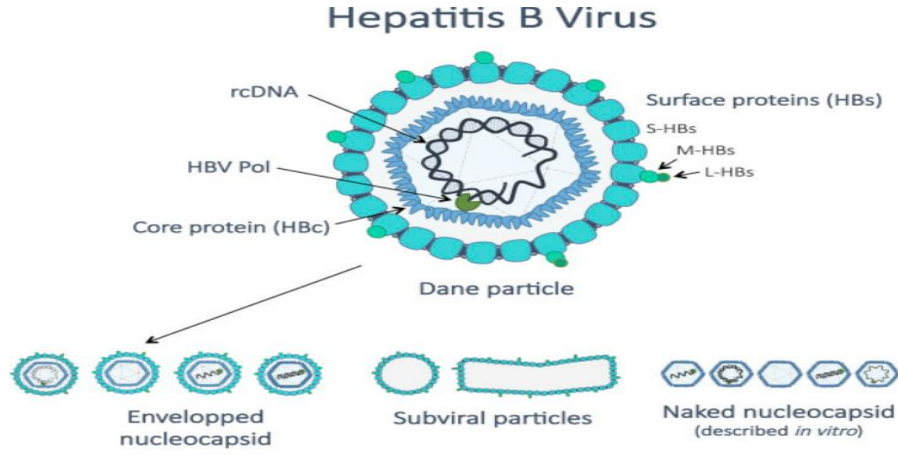
Şekil 2.1. Dünya genelinde HBsAg seroprevalansı ve enfekte kişilerin dağılımı (Polaris ve ark., 2018)

2.3. Viroloji

2.3.1. Virüsün Yapısı

HBV, Hepadnaviridae familyasında sınıflandırılan zarflı bir DNA virüsüdür (Rajoriya ve ark., 2017). Enfekte hastaların serumunda HBV'ye ait çapı 42 nm olan küresel yapılar (Dane partikülü), 22 nm çapında küresel ve iplikçi yapılar elektron mikroskopunda tespit edilebilmektedir (Thio ve Hawkins., 2015). 42 nm çapındaki Dane partikülü, viral DNA içermesi nedeniyle enfeksiyöz olmasına rağmen 22 nm boyutundaki küresel ve iplikçi diğer yapılar viral partikül içermediğinden dolayı enfeksiyöz değildir (Glebe ve ark., 2007). Enfeksiyöz olan 42 nm boyutundaki Dane partikülü üç tane yüzey antijeni ve bu antijenleri çevreleyen lipid membran içermektedir Bu yüzey antijenleri büyüklüğüne göre büyük (L-HBs), orta (M-HBs), küçük (S-HBs) olarak isimlendirilmektedir. Dane partikülü, hepatit B çekirdek proteini (HBc), viral polimeraz (Pol) ve viral genom DNA'sından oluşan bir

nükleokapsidi çevreler. Hasta serumunda çok daha fazla miktarda bulunan 22 nm boyutundaki küresel ve iplikçi parçacıklar, nükleokapsid içermeyen ve dolayısıyla bulaşıcı olmayan subviral parçacıkları (SVPs) içerir (Hu ve ark., 2017).



Şekil 2.2. HBV yapısı (Tsukuda ve ark., 2020)

2.3.2. Virüsün genomu

HBV genomu yaklaşık 3,2 kb uzunluğunda, pozitif ve negatif polariteli iki iplikçikten oluşan dairesel bir DNA'dır. HBV bir DNA virüsü olmasına rağmen ters transkriptazdan yararlanmaktadır. Zarflı bir virüs olmasına rağmen ise etere, düşük pH'a, ısıya, donmaya ve çözülmeye karşı oldukça dirençlidir ve bu özellikleri onun insandan insana bulaşma ve dezenfeksiyona karşı dayanıklılığını belirlemektedir. (Chieochansin ve ark., 2006). HBV, hepadnavirüs ailesinin bir prototipi olan ortohepadnavirüs ailesine ait, kısmen çift sarmallı, replikasyon döngüsünü esas olarak karaciğerde gösteren ve ikozahedral kapsite sahip bir virüstür (Terrault ve ark., 2016).

Pozitif polariteli ipliğin boyu negatif polariteli ipliğe göre daha kısadır. Her iki iplikçik de 5' ucundan hidrojen bağları aracılığıyla birbirlerine bağlıdır. Negatif ipliğin 5' ve 3' uçları arasında kısa bir boşluk vardır. Pozitif ipliğin 5' ucunda 18 nükleotid uzunluğunda bir oligonükleotid ribonükleik asit (RNA) bulunur ve pregenomik RNA'dan (pgRNA) kaynaklanır. Bu yapıya gevşek dairesel DNA (rcDNA) denir. Replikasyon esnasında viral genom kovalent bağlı kapalı dairesel DNA (cccDNA), yeni meydana gelen kapsidin içerisinde ise polimeraz enzimiyle beraber bulunan pgRNA şeklindedir (Jilbert ve ark., 2002; Zhang ve ark., 2011).

HBV genomu Open Reading Frame (ORF) aracılığıyla bazı proteinler sentezler. ORF-P bölgesi büyük bir protein olan polimerazın enzimini kodlar ve dört fonksiyonel alana bölünmüştür. Ayrıca viral replikasyon için sentezlenen viral DNA genomu için şablon görevini, ters transkriptaz enzimi aracılığıyla pgRNA üstlenir (Ezzikouri ve ark., 2014).

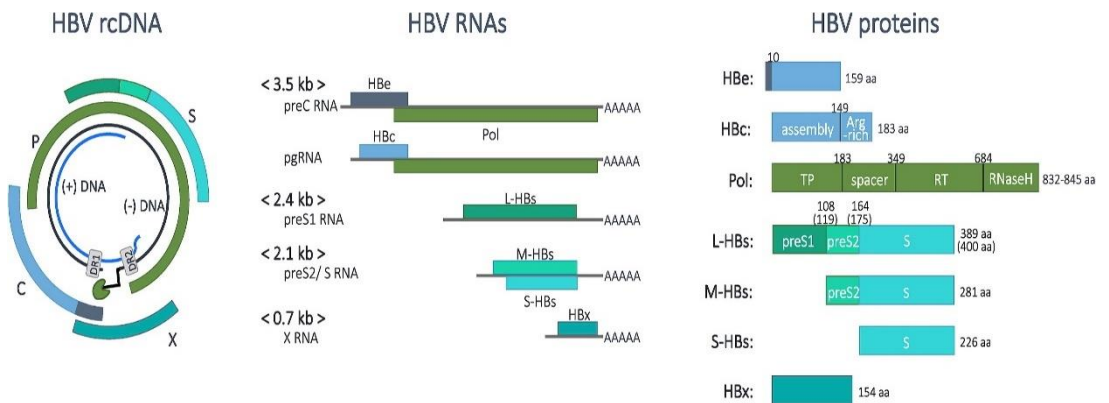
Gen bölgelerinin kodladığı proteinler şu şekildedir:

1-Surface (S) geni: Pre-S1, Pre-S2 ve S bölgelerinden meydana gelmektedir. L-HBs, M-HBs, S-HBs olmak üzere üç yüzey antijeninin sentezini kodlar. Dane partikülünde L-HBs, M-HBs eşit miktarda bulunurken S-HBs en fazla bulunan yüzey proteinidir. Bundan dolayı S-HBs antijeninin ‘a’ determinantına karşı meydana gelen antikorlar enfeksiyonu tek başına önleyebilmektedir. L-HBsAg'nin iç dizileri nükleokapsitin bir zarf edinmesine izin verirken, dış diziler hepatosit reseptörleri olarak görev yapar (Seyec ve ark., 1999).

2-Core (C) geni: Core bölgesinden Hepatit B kor antijeni (HBcAg), pre-kor bölgesinden 22 kDa prekor protein ve HBeAg sentezini kodlar. HBc antijenleri birleşerek viral nükleokapsid yapısını oluşturur. Bu antijenler yalnızca karaciğer dokusunda tespit edilebilir. HBeAg viral replikasyonda kullanılan pgRNA'dan sentezlendiğinden dolayı olarak aktif viral replikasyonu gösterir (Özacar ve Saymer, 2017).

3-Polimeraz (P) geni: DNA polimeraz, RNaz H ve ters transkriptaz aktivitelerine sahip polimeraz enzimini kodlar (Özacar ve Saymer, 2017).

4-X geni: X proteinini (HBx) kodlar. Literatürde, X antijeni, hepatosit gen aktivatörü-6 olarak da bilinmektedir. Hepatoselüler kanser gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (Özacar ve Saymer, 2017).



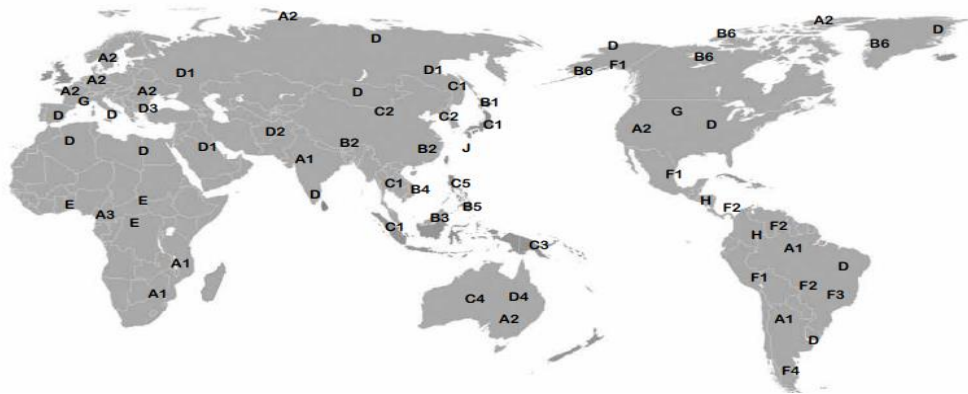
Şekil 2.3. HBV genom içeriği (Tsukuda ve ark., 2020)

2.3.3. Virüsün genotipleri ve subgenotipleri

HBV'de çeşitli genotip, subgenotip, mutant ve rekombinantların meydana gelmesinin esas nedeni replikasyon esnasında ortaya çıkan yüksek viral yük ve ters transkriptaz enziminin var olan hataları düzeltme yeteneğinin bulunmamasıdır (Tezcan ve ark., 2015). HBV genotip ve subgenotipleri moleküler yöntemler gelişip yaygınlaşmaya kadar HBsAg'ye karşı gelişen antikor yanıtına göre belirlenirken, günümüzde çeşitli moleküler yöntemlerle tespit edilmektedir.

Genotip için $\geq 8\%$, alt genotipler için ise $\geq 4-8\%$ arası nükleotid sekans farklılıkları gözlenmektedir. Bu dizi farklılıklarına dayanarak yapılan analizler, HBV'nin A'dan J'ye kadar 10 farklı genotipi olduğunu ve şu ana kadar 40'a yakın da subgenotipinin bulunduğunu ortaya çıkarmıştır (Tosun, 2018; Mousavi ve ark., 2014; Sünbül, 2014). HBV genotiplerinin hastaların tedaviye yanıtlarında ve klinik tablolarında meydana getirdiği farklılıklar nedeniyle dünya genelinde HBV genotiplerinin seroprevalansının belirlenmesi son zamanlarda oldukça önem kazanmıştır.

Genotip A; Afrika, Kuzey Avrupa, Kuzey Amerika'da, B ve C; Pasifik ve Asya'da, D; Hindistan ve Akdeniz ülkelerinde, E; Afrika Sahraltı bölgesinde, F; Güney ve Orta Amerika'da yaygındır. G ise ABD, Fransa ve Almanya da tanımlanmış olup, genotip H Meksika ve Orta Güney Amerika'da daha sık görülmektedir (Schaefer, 2007; Hou ve ark., 2005). Ülkemizde en çok genotip D gözlenmektedir (Tosun, 2018).



Şekil 2.4. Dünya genelinde HBV genotip ve subgenotip dağılımı (Kim ve ark., 2011)

Yapılan çalışmalarda genotip B taşıyıcılarında hem karaciğer fonksiyon bozukluğunu gösteren parametrelerin hem de histolojik aktivite indeksinin genotip C taşıyan hasta grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır. HCC riskinin de genotip C taşıyan hasta grubunda genotip B taşıyanlara göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (Mahtab ve ark., 2008).

Genotip A'nın genotip D' ye göre daha kötü prognoz gösterdiği, tedaviye yanıtta çeşitli zorluklara yol açtığı; genotip F'nin ise mortalite oranlarının genotip A ve D ye oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Pourkerim ve ark., 2014).

Yapılan çeşitli çalışmalarda HBV genotiplerinin hastaların gördükleri interferon tedavi sürecinde de çeşitli farklılıklara yol açtığı gözlemlenmiştir. Tayvan ve Hong Kong'da yapılmış olan çalışmalarda HBeAg serokonversiyon oluşturabilme yüzdeleri genotip B'de %41, genotip C'de ise %15 olarak saptanmıştır (Kao ve ark., 2000; Wai ve ark., 2002). Avrupa'da yapılmış olan başka bir çalışmada ise genotip A'nın genotip D'ye göre daha fazla serokonversiyon oluşturma özelliği olduğu tespit edilmiştir (Tapias ve ark., 2002). Lamivudine dirençli suşların ise genotip B de genotip C' ye göre daha sık saptandığı tespit edilmiştir. Akut hepatit olgularında genotip D' ye ait suşlar daha sık gözlenirken, kronik aktif hepatit vakalarında ise genotip A'ya ait suşlar daha sık tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda ise genotip A'nın antiviral direnç mutasyonlarının genotip D'ye göre daha kısa sürede meydana geldiği belirlenmiştir (Külah ve Yalınay, 2010; Pourkerim ve ark., 2014)

HBeAg pozitif hastalarda ise interferon alfa tedavisinin genotip A ve B taşıyıcısı olan hastalarda genotip D ve C taşıyıcısı hastalara oranla daha fazla etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca genotip A taşıyıcısı olan hastaların genotip B, C, D taşıyıcısı hastalara oranla IFN- α tedavisi sonrasında HBsAg ve HBeAg düzeylerinde daha fazla düşüş saptanmıştır (Zhang ve Cao, 2011; Guirgis ve ark., 2010; Croagh ve ark., 2015). HBV tedavisinde yaygın olarak kullanılan oral antiviral ajanlardan biri olan adefovirin, HBV genotip B'ye karşı genotip C'ye göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (Zeng ve ark., 2008).

2.3.4. Virüsün Replikasyonu

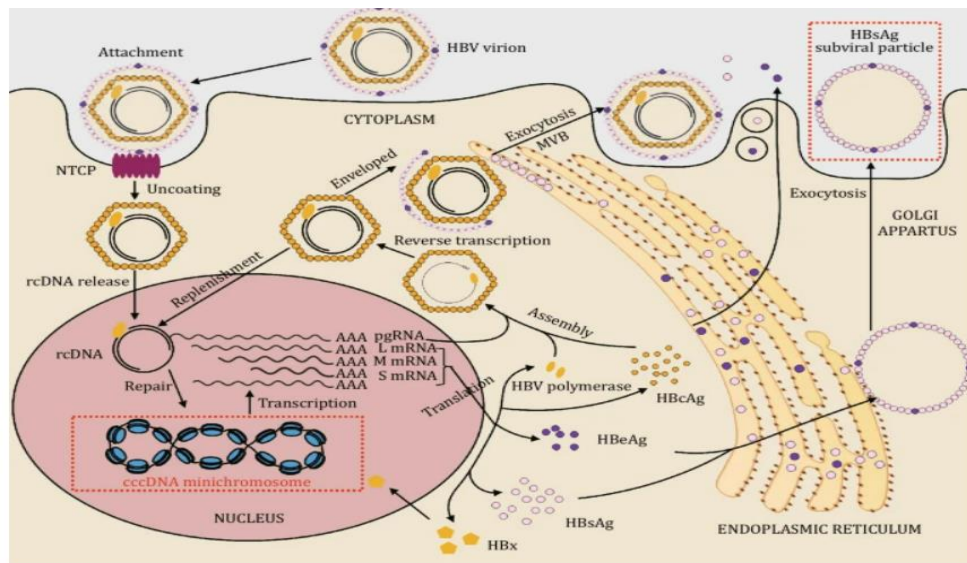
HBV öncelikle viral zarf proteinlerini kullanarak insan sodyum taurokolat taşıma polipeptidi (NTCP) aracılığıyla hepatositlere girer. Viral girişten sonra HBV çekirdek partikülü sitoplazmaya salınır ve ardından önce nükleoplazma daha sonrasında kovalent bağlı kapalı dairesel DNA (cccDNA) meydana gelir. cccDNA, pgRNA transkripsiyonu ve en az yedi farklı proteini kodlayan diğer mRNA'lar için bir şablon görevi görmesinin yanı sıra kendi genomunu kopyalamak için bir transkripsiyon-ters transkripsiyon mekanizması kullanır. cccDNA kalıcılığı, viral temizlenmenin başarısızlığından, fonksiyonel bir iyileşmenin bulunmamasından ve özellikle tedavinin sona ermesinden sonra nüksetmelerden sorumludur. Viral çekirdek ve polimeraz için pregenomik RNA, yalnızca haberci olarak

değil aynı zamanda çekirdek parçacıkları üretmek için polimerazın kullanımını içeren bir ters transkripsiyon şablonu olarak da hizmet eder (Nassal, 2015; Chen ve ark., 2020).

cccDNA meydana gelme sürecinde; viral polimeraz enzimi pozitif ipliğin 5' ucuna bağlanır ve daha kısa olan pozitif ipliği tamamlamış olur. Ardından polimeraz oligonükleotid RNA'yı ve negatif ipliğin ucundaki ilave 8 nükleotitlik dizileri keser. İpliklerin her ikisi de çift sarmallı cccDNA oluşturmak üzere 3' ve 5' uçlarındaki kovalent bağlarla birleştirilir (Seeger ve Mason, 2000). Meydana gelen cccDNA'nın negatif zinciri, transkripsiyon şablonu olarak kullanılır ve genomdan daha uzun olan pgRNA ile daha kısa olan subgenomik transkriptler sentezlenir.

PgRNA, ters transkripsiyon ve translasyon olaylarını kendisinin üretiminde kullanır (Beck ve Nassal, 2007). PgRNA'nın translasyon işlemi sonrasında kor proteini ve viral polimeraz enzimini sentezlenmekteyken; subgenomik transkriptlerin translasyona uğraması sonucunda zarf proteinleri ve X proteini sentezlenir (Özacar ve Sayiner, 2017; Urban ve ark., 2010). Bu DNA, mRNA sentezi için bir şablon görevi görür ve ardından pozitif iplikçikli RNA molekülünün tamamı sentezlenir.

Pozitif iplikçikli RNA da kalıp olarak kullanılır ve projeni DNA'nın negatif ipliği meydana gelmiş olur. Bu negatif iplik, pozitif ipliğin genomik DNA kalıbı olarak kullanılır. RNA'dan DNA sentezlenmesi olayını ters transkriptaz enzimi katalize etmektedir. Hem DNA bağımlı DNA sentezi, hem de RNA bağımlı DNA sentezi aynı enzim aracılığıyla olmaktadır. HBsAg zarfını içeren yeni oluşan HBV, tomurcuklar halinde membran yüzeyinden salınır (Levinson ve ark., 2022).



Şekil 2.5. HBV replikasyon şeması (Tsukuda ve ark., 2020)

2.4. Patogenez

Viral replikasyon ile konağın bağışıklık sistemi arasındaki denge, karaciğer hasarının derecesini ve hastalık patogenezini belirler (İnan ve Tabak, 2018). Birçok çalışma HBV'nin hepatositler üzerinde doğrudan sitopatik etkisinin olmadığını göstermektedir. Bu durum, karaciğer fonksiyonu ve histolojisi normal olan asemptomatik HBV taşıyıcılarının verileri tarafından desteklenmektedir. Bağışıklık sistemi yeterli olan bireylerin %95'inden fazlasında, viral yükte azalma ve uzun süreli humoral ve hücrel bağışıklık gelişimi ile birlikte akut, kendi kendine iyileşen hepatit kliniği gelişir (Thio ve Hawkins, 2015).

Akut klinik tabloda viral antijenlerin birçoğuna karşı CD4 ve CD8 T lenfosit yanıtı gözlenir. Virüsün tamamen ortadan kaldırılamadığı kronik tablolarda ise CD4 ve CD8 T lenfosit yanıtları belirgin olarak azalmıştır. Yine de hem akut hem de kronik HBV enfeksiyonu durumlarının ikisinde de HBsAg, HBcAg, HBeAg ye karşı meydana gelen antikor yanıtları gözlenir (Huang ve ark., 2006). HBV enfeksiyonundan sonra, serumda veya karaciğerde HBV DNA ve HBsAg saptanana kadar 4-7 haftalık bir inkübasyon süreci vardır (Yuen ve ark., 2018). Çalışmalar sitotoksik hücrelerin virüsün temizlenmesinden ve virüsle enfekte hepatositlerin yok edilmesinden sorumlu olduğunu göstermiştir. İnflamatuvar sitokinlerin aracılık ettiği ikincil mekanizmaların da virüs temizlenmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Bu sitokinlerden başlıcaları olan; tümör nekroz faktörü-alfa ve interferon-gama iki farklı yolu aktive ederek nükleokapsidlerin ve viral RNA'nın yok edilmesini sağlar (Chang ve Lewin, 2005). Sitokinlere bağlı olarak HBV DNA düzeyi azaldığında, bağışıklık sisteminin devreye girmesiyle hepatit tablosu gelişir. CD8 sitotoksik T lenfositler enfekte karaciğer hücrelerini virüsten temizlerken alanin aminotransferaz enziminde (ALT) de artış gözlenir. Sonraki aşamada bir antikor reaksiyonu meydana gelir ve hafıza hücrelerinin gelişimiyle beraber reaktivasyon ve reenfeksiyon önlenmiş olur. En kritik antikor yanıtı hepatit B yüzey antikor yanıtıdır (Anti-HBs). Ayrıca HBcAg'ye karşı MHC-2 aracılı CD4 T lenfosit yanıtı, HBV'yi serumdan temizlemek ve viremiyi kontrol etmek için en etkili mekanizmadır. Bağışıklık sisteminin akut verdiği yanıtta yetersizlik olması durumunda enfeksiyon kronikleşebilmekte ve hepatik fibrozis başlayabilmektedir.

HBV spesifik sitotoksik T lenfositleri (CTL) virüsün ortadan kaldırılmasında önemli bir role sahiptir. Ayrıca, CTL'lerden salınan sitokinlerin HBV çoğalmasını direkt inhibe edebilme özelliği mevcuttur. CTL'ler hem enfeksiyon kontrolünden hem de karaciğer harabiyetinden sorumludur. CTL'ler , enfekte hepatositleri tanır ve apoptotik sinyaller

gönderir. Bu nedenle biyopsi örneklerinde hepatositlerin içinde asidofilik "Coinslin cisimcikleri" gözlenir. CTL'ler daha sonra makrofajları ve doğal öldürücü (NK) hücreleri aynı bölgeye toplar (Koziel, 1996; Van Hecke ve ark., 1994; Hayashi ve Mita, 1999). CD 4 T lenfositlerinin direkt olarak virüsün temizlenmesine veya karaciğer harabiyetine katkısı yoktur. Ancak bu hücreler sitokinlerin salınması yoluyla CTL aracılı süreçleri destekler. CTL'lerin virüsü temizlemesinde interlökin-2 ve perforin gibi sitokinler de katkı sağlamaktadır (Tütüncü, 2015; Locarnini, 2004). CTL'lerin sitokinlerin aracılığıyla makrofaj ve natural killer (NK) hücrelerini çağırması üzerine HBsAg sentezi yüksek seviyelerde seyrederse fulminan hepatit tablosu gelişebilir (Özacar ve Saymer, 2017).

Kronik HBV enfeksiyonunda CD4 ve CD8 T hücresi yanıtları büyük oranda azalır ve İnterlökin-4 (IL-4) , IL-5 ve IL-10 salınımıyla karakterize edilen T helper-2 (Th-2) yanıtı ön plana çıkar. Sonuç olarak humoral bağışıklık yanıtın daha baskın olduğu bir tablo ortaya çıkar. Sitotoksik T lenfosit yanıtı periferde zayıftır ve bu yanıt karaciğerde devam eder. Portal alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonu ve CD8 T lenfositlerinin hakim olduğu hepatosit nekrozu görülür (Locarnini, 2004). Histopatolojik olarak değerlendirildiğinde karaciğer hücrelerindeki nekroinflamatuvar durum; köprüleşme nekrozunun eşlik ettiği veya etmediği periportal, portal ve lobular inflamasyona bakılarak değerlendirilir. Enflamasyon ve nekroz hastalık aktivitesinin derecesini gösterirken, fibrozis prognostik değere sahiptir ve hastalığın evresini gösterir (Ganem ve Prince, 2004).

2.5. Bulaş Yolları

HBV; parenteral, horizontal, cinsel ve perinatal geçişle insanlara bulaşabilmektedir.

Parenteral yol: Enfekte vücut sıvıları veya kan ile cilt altı ve mukozal bölgenin teması sonucu meydana gelen bulaş şeklidir. Enfekte kan ve kan ürünlerinin bağışlanması (kan bağışçılarının rutin taranması ile enfeksiyon riski azalsa da izole anti-HBc pozitifliği olan kişiler enfeksiyonu bulaştırma özelliğine sahip olabilir), intravenöz tedavilerde ortak enjektör kullanımı (tüm dünyada artan uyuşturucu kullanımı nedeniyle hepatit B bulaş riski de artış göstermektedir), sağlık çalışanlarında gözlemlenen hastaya ait enjektör gibi aletlerle kesici delici yaralanmalar, sağlık ekipmanlarının yetersiz sterilizasyonu başlıca parenteral yolla bulaş nedenleridir (Nguyen ve ark., 2020; Sümer ve Ural, 2017).

Horizontal yol: Enfekte kişilerle aynı evde cinsel hayat olmadan birlikte yaşama esnasında enfekte vücut salgıları ve sıvıları (vajinal akıntı, meni, tükürük) yoluyla bulaşma

gerçekleşebilir. Özellikle hiperendemik bölgelerde yaşayan çocuklarda bu yolla bulaşmanın açık yaralar ve kesikler yoluyla olması muhtemeldir (Nguyen ve ark., 2020; Sümer ve Ural, 2017).

Cinsel yol: Virüsün genital salgılarda bulunması ve bu bölgedeki mukozaların hasar görmesi enfeksiyona neden olabilir. Travmatik ilişki, eşcinsel ilişki ve cinsel yolla bulaşan diğer bazı hastalıkların varlığı enfeksiyon riskini artırır (Nguyen ve ark., 2020; Sümer ve Ural, 2017).

Perinatal yol: Anneden çocuğa enfeksiyon perinatal ve postnatal dönemde geçebildiği gibi, hamilelik esnasında transplasental yolla da geçebilmektedir. Anne HBeAg pozitif ise doğum sırasında bulaşma oranı %70-90, HBeAg negatif ise %5-20'dir. Enfeksiyon çoğunlukla doğum sırasında bulaşmaktadır. Transplasental bulaş, perinatal bulaşın %2'sini oluşturmaktadır. Anne sütünün bulaştırıcılığıyla ilgili tartışmalar devam etse de, gerekli önlemler alınarak bebek anne sütü almaya devam etmelidir (Nguyen ve ark., 2020; Sümer ve Ural, 2017).

2.6. Klinik

2.6.1. Akut Enfeksiyon

HBV'nin inkübasyon periyodu yaklaşık 1-4 ay arasındadır (Özacar ve Sayiner,2017). Akut HBV enfeksiyonunun klinik semptomları bulantı, kusma, halsizlik, yorgunluk ve sağ üst kadranda ağrı gibi diğer akut hepatitlerde görülen klinik tablolar gibidir. Fizik muayenede perküsyonda hepatosplenomegali, inspeksiyonda ikterik vücut saptanabilir (McMahon ve ark, 1985). Sarılık ve diğer şikayetler genellikle başlangıçtan 1-3 ay sonra düzeler ancak bazı hastalarda ALT ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri normale dönmesine rağmen yorgunluk düzelmeyebilir.

Akut HBV tablosundaki hastalarda AST ve ALT seviyeleri 1000-2000 internasyonal ünite/litre (IU/L) arasında değişmektedir. ALT düzeyleri AST ye göre daha yüksek seyrederken, protrombin zamanı (PZ) hastalığın ilerleme süreci hakkında bilgi verir (Lee, 1997). ALT ve AST düzeyleri 1-4 ay arasında normal seviyelerine iner. Bu değerler 6 aydan fazla yüksek kalıyorsa, hastalığın kronikleşme ihtimali oldukça yüksektir (Wang ve ark., 2019). Bağışıklık sistemi sağlam olan birçok hasta, virüsü karaciğerden temizler ve iyileşir. İmmun sistem tarafından sentezlenen anti-HBs antikorları hastaları yeni enfeksiyonlardan korur (Özacar ve Sayiner, 2017).

2.6.2 Kronik Enfeksiyon

Kronik HBV enfeksiyonu 6 aydan uzun süredir devam eden HBsAg pozitifliği olarak tanımlanmaktadır (Thio ve Hawkins, 2015). Enfeksiyonun kronikliği ve yaş ile bağışıklık arasında yakın bir ilişki vardır. Perinatal dönemde HBV'ye maruz kalan bebeklerin %80-90'ında, 6 yaş altı çocuklarda %30'unda, yetişkinlerde ise %5-10'unda kronikleşme görülmektedir.

Kronik HBV enfeksiyonları klinik olarak genelde asemptomatik seyir göstermektedir (Özacar ve Saymer, 2017). HCC veya siroz gelişene kadar genelde spesifik olmayan klinik semptomlar gözlemlenir. Semptomlar hastalığın şiddeti, serum ALT ve AST düzeyleri veya biyopsiyle saptanan karaciğer hasarı ile ilişkili değildir. Fizik muayenede anormallik saptanmayabilir (Thio ve Hawkins, 2015). Kronik HBV enfeksiyonlu hastaların biyokimyasal testleri normal aralıkta olabilir. Karaciğer biyopsisinde portal alanda normal histoloji veya minimal mononükleer hücre infiltrasyonu görülebilir. Ayrıca karaciğer biyopsisinde "Piecemeal" nekrozu, lobüler inflamasyon ve asidofilik özellik gösteren "Councilman" inklüzyonları histopatolojik olarak saptanabilen diğer bulgulardır (Terrault ve ark., 2018).

Kronik HBV enfeksiyonunun seyri; HBeAg varlığı, HBV DNA, ALT düzeyi ve karaciğer inflamasyonuna göre beş aşamaya ayrılır. Kronik HBV enfeksiyonun bu beş fazı birbirini takip etmez (Lampertico ve ark., 2017) .

Faz-1: "HBeAg Pozitif Kronik Enfeksiyon" olarak isimlendirilen bu dönem eskiden "immün toleran dönem" olarak bilinmekteydi. HBeAg'nin pozitif olmasının yanı sıra, serum ALT düzeyleri normal aralıktayken serum HBV DNA düzeylerinin çok yüksek olması Faz-1'in en önemli özelliğidir. Karaciğerde inflamasyon ve nekroz çok az veya hiç yoktur. Ancak HBV DNA'nın yüksekliği hepatositlerde hepatokarsinogenezin devam ettiğini göstermektedir (Mason ve ark, 2016; Lampertico ve ark, 2017).

Faz-2: "HBeAg Pozitif Kronik Hepatit" olarak isimlendirilen bu dönemin ise en önemli özelliği ALT ve HBV DNA düzeylerinin yüksek seyretmesidir. Karaciğerde orta-şiddetli nekroinflamasyon ve fibrozise hızlı ilerleme süreci gözlemlenir. Faz-2 yetişkin çağda gözlemlenen maruziyetlerde daha sık görülür. Hastaların çoğunda HBeAg serokonversiyonu ve HBV DNA'nın baskılanması gerçekleşebilir, HBeAg negatif enfeksiyon dönemine geçiş saptanabilir (Lampertico ve ark, 2017)..

Faz-3: ‘‘HBeAg Negatif Kronik Enfeksiyon’’ olarak isimlendirilen bu dönem eskiden ‘‘inaktif HBV taşıyıcılığı’’ olarak bilinmekteydi. Bu dönemde HBeAg antikoru pozitif saptanır. Bu dönemin en önemli özelliği düşük düzeyde HBV DNA (<2000 IU/ml) ve normal düzeyde ALT düzeylerinin gözlenmesidir. Faz-3’de olan hastalarda siroz veya HCC gelişme ihtimali düşük olmasına rağmen HBeAg negatif kronik hepatit tablosu gelişebilir. Bu dönemdeki hastalarda HBsAg düzeyleri düşüktür (<1000 IU/ml). Faz-3’de olan hastalardan her yıl %1-3’ünde spontan olarak HBsAg negatifleşmesi gözlenmektedir (Lampertico ve ark., 2017; Cornberg ve ark, 2017).

Faz-4: ‘‘HBeAg Negatif Kronik Hepatit’’ olarak isimlendirilen bu dönemin en önemli özelliği HBeAg negatifliği ve Hepatit B e antijenine karşı antikor (Anti-HBe) pozitifliğinin saptanmasıdır. HBV DNA düzeyleri HBeAg pozitif hastalara göre daha düşük olmasına rağmen yine de orta-yüksek düzeylerde değişken bir seyir göstermektedir. Faz-4’de ALT düzeyleri değişken ve sürekli olarak yüksek seyretmektedir. Karaciğer histopatolojik incelemesinde nekroenflamasyon ve fibrozis görülür. Bu dönemdeki hastalarda, HBeAg sekresyonunu bozan veya ortadan kaldıran pre-core/bazal core başlatıcı bölgelerinde mutasyona sahip HBV varyantları bulunur. Bu dönemdeki hastalarda kendiliğinden iyileşme olasılığı oldukça düşüktür (Lampertico ve ark., 2017).

Faz-5: ‘‘Okült HBV Enfeksiyonu’’ olarak isimlendirilen bu dönemde Anti-HBc pozitif, HBsAg negatif olarak saptanır. Bunlarla beraber, Anti-HBs negatif veya pozitif olarak saptanabilir (Yang ve ark., 2016). Bu dönemdeki hastaların en önemli özelliği HBV DNA düzeylerinin tespit edilemeyecek düzeyde olması, ALT düzeylerinin ise normal aralıkta olmasıdır. Karaciğer hücrelerinde cccDNA saptanabilir. İmmun sistemin baskılanması bu dönemdeki hastalarda reaktivasyona yol açabilir (Lampertico ve ark., 2017).

Tedavi edilmeyen kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda beş yıllık siroz insidansı %8 ile %20 arasında değişmektedir. Sirotik hastalarda dekompanseasyon insidansı beş yıl içinde %20’dir. Bu hastalarda yıllık HCC gelişme riski %2-5 arasındadır (Raffetti ve ark., 2016). HCC gelişme riskini arttıran konağa ait faktörlerden bazıları; siroz, kronik karaciğer nekrozu, erkek cinsiyet, ileri yaş, alkol tüketimi, diğer hepatit virüsleri veya insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile birlikte enfeksiyon varlığı, diyabet veya metabolik sendrom, aile öyküsü, sigara kullanımı olarak sayılabilir. Yüksek düzeyde HBV DNA ve/veya HBsAg, HBV genotipi (C>B) ve mutasyonlar HCC gelişiminde etkili olan HBV’e ait özelliklerdir.

Tüm bu faktörler tedavi edilmeyen hastalarda siroz gelişmesini kolaylaştırabilir (Varbobitis ve Papatheodoridis, 2016).

2.7 Tanı

HBV enfeksiyonunun tanısında biyokimyasal, serolojik, moleküler testlerden yararlanılmaktadır. Virüse karşı oluşan antijenleri ve antikörleri tespit etmek için belirli serolojik yöntemlerin kullanılması gerekir. Bu aşamayı doğrulamak, viral yükü ölçmek ve genotipleri belirlemek için kalitatif ve kantitatif moleküler tanı testleri kullanılır (Akhan ve ark., 2014; Song ve Kim, 2016). HBV enfeksiyonunun serolojik belirteçleri HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe ve anti-HBc İmmunoglobulin M (IgM) ve IgG'den oluşur. Serolojik belirteçlerin tanımlanması HBV enfeksiyonu olan hastaların tanımlanmasına olanak sağlar. Kronik hepatit B (KHB)'nin doğal seyrini anlamak, enfeksiyonun klinik aşamalarını değerlendirmek ve antiviral tedavinin etkinliğini izlemek gereklidir (Song ve Kim, 2016).

HBsAg, HBV enfeksiyonu sırasında önemli bir serolojik belirteçtir. HBV'ye akut maruziyetten sonra 1-10 hafta içinde serumda HBsAg görülür. HBsAg pozitifliğinin 6 aydan uzun devam etmesi KHB enfeksiyonunu gösterir (Kao, 2008). Çeşitli çalışmalar karaciğerdeki cccDNA transkripsiyonel aktivitesi ile serum HBsAg seviyeleri arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Enfeksiyon evrelerinde meydana gelen serum HBsAg düzeylerindeki değişimler ilgili hastalık evrelerindeki cccDNA dağılımını göstermektedir (Chan ve ark., 2007; Thompson ve ark., 2010). Serum HBsAg düzeyleri, HBeAg pozitif olan hastalarda negatif olanlara göre daha yüksek saptanmaktadır (Nguyen ve ark., 2010). Anti-HBs nötralize edici bir antikör olarak bilinir ve uzun süreli bağışıklıktan esas sorumlu antikördür. Aşı yoluyla HBV'e karşı kazanılmış bağışıklıkta anti-HBs serumda tespit edilen tek serolojik belirteçtir. Daha önce geçirilmiş HBV enfeksiyonu varlığında, anti-HBc IgG ile beraber serumda saptanabilir. Nadiren, HBsAg ve anti-HBs antikoru eş zamanlı serumda saptanabilir. Bu durumda mevcut olan anti-HBs antikörlerinin virüsü temizleyemediği kabul edilir; mevcut tablo KHB enfeksiyonu olarak değerlendirilir (Song ve Kim, 2016). Geçmişte HBeAg ve anti-HBe tespiti enfektiviteyi ve viral replikasyonu tahmin etmek için kullanılırken, günümüzde HBV DNA bu amaç için kullanılmaktadır.

HBeAg'den anti-HBe serokonversiyonu hepatit remisyonuyla ilişkilidir. Ancak HBeAg negatif bazı hasta gruplarında, HBeAg üretilmesini önleyen pre-kor ve/veya kor bölgelerinde meydana gelen mutasyonlar nedeniyle viral çoğalma devam etmektedir. Bu durum HBeAg negatif kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olarak tanımlanır (Deny ve

Zoulim, 2008; Kao, 2008). HBcAg enfekte hepatositlerde hücre içi olarak bulunduğundan serumda tespit edilemez. Akut enfeksiyonda, HBsAg'nin ortaya çıkmasından 1-2 hafta sonra anti-HBc IgM ve IgG ortaya çıkar ve serum aminotransferazları yükselir ve semptomlar şiddetlenir. Anti-HBc IgG pozitifliği hem HBV enfeksiyonu sırasında hem de KHB gelişen hastalarda serumda görülmeye devam eder.

Geçirilmiş HBV enfeksiyonunu gösteren temel serolojik belirteç testi anti-HBc IgG pozitifliğidir. Ülkemizde tek başına anti-HBc IgG seropozitifliği %0,1-20 arasındadır (Akkuş ve ark., 2021). HBV DNA viral replikasyon aktivitesini ve viral yükü gösteren en önemli belirteçtir. HBV enfeksiyonundan yaklaşık bir ay sonra serumda saptanabilir seviyelere ulaşır ve seviyesi giderek artar. HBV DNA, maruziyet sonrası yaklaşık 3 aylık süre zarfında ve kronik enfeksiyonlarda kademeli olarak azalır ve HBV enfeksiyonu tamamen iyileştikten sonra da kaybolur (Datta ve ark., 2014). HBV DNA düzeyinin belirlenmesi, replikasyon aktivitesinin güvenilir bir belirteçidir ve daha yüksek HBV DNA seviyeleri, hastalığın daha hızlı ilerlemesi ve daha yüksek HCC insidansı ile ilişkilidir. HBV DNA, antiviral tedaviye ihtiyaç duyan hastaları belirlemek ve tedavi alan hastaları izlemek için kullanılır (Chen ve ark., 2006; Chevaliez ve Pawlotsky, 2008).

HBV DNA; dallanmış DNA ve hibrit yakalama gibi sinyal amplifikasyon veya PCR gibi hedef amplifikasyon yöntemleriyle tespit edilmektedir. Real Time PCR, viral yükü geniş dinamik aralıkta tespit edebilir. Bu nedenle klinik kullanımda HBV DNA'nın tespiti ve ölçümü için standart yöntem haline gelmiştir. Ayrıca tam otomatik olma avantajına sahip olması önemli bir özelliktir (Song ve Kim, 2016). HBV genotiplendirilmesinde ters hibridizasyon, dizi analizi, genotip spesifik PCR, kısıtlama fragman uzunluğu polimorfizmi, gerçek zamanlı PCR, mikroarray gibi yöntemler kullanılabilir (Pourkerim ve ark., 2014).

2.7.1. Serolojik Testler

HBsAg: Hepatit B virüsünün yüzeyinde bulunan bir proteindir. HBV'nin akut ve kronik enfeksiyonlarda yüksek düzeyler görülebilir. HBV enfeksiyonlarından sonra hasta serumlarında ilk ortaya çıkan serolojik markerdir (Wang ve ark., 2019). Virüse maruz kaldıktan yaklaşık 1-10 hafta sonra , ALT yükselmesinden 1-3 hafta önce ve semptomların başlamasından da yaklaşık 2-7 hafta önce serumda tespit edilir. Akut enfeksiyonda 4-6 ay içinde serumda kaybolmasına rağmen kronik enfeksiyonlarda yüksek seyretmeye devam eder. HBsAg'nin pozitif olması hem akut hem de kronik HBV enfeksiyonunu gösterebilir

ancak akut ve kronik tablo ayrımı için anti-HBc IgM testi de çalışılmalıdır. 6 aydan uzun süren, serum HBsAg pozitifliği enfeksiyonun kronikleştiğinin kanıtıdır (Danta, 2014).

Anti-HBs : Anti-HBs düzeyinin 10 Ünite/Litre (U/L)'den daha yüksek saptanması HBV'ye karşı bağışıklığın oluştuğunu göstermektedir. Geçirilmiş hastalık sonucu veya aşı sonrası Anti-HBs pozitifliği saptanabilir. Bu iki durumun ayrımında ise Anti-HBc IgG yol göstericidir. Pozitifliği geçirilmiş enfeksiyonu, negatifliği ise aşıya bağlı bağışıklığı ifade eder (Danta, 2014).

Anti-HBc IgM: Anti-HBc IgM'nin pozitifliği akut enfeksiyon varlığını gösterir. Akut enfeksiyonda ilk oluşan antikordur. HBsAg'den 1-2 hafta sonra serumda oluşur ve sıklıkla 3-6 ay içinde azalarak kaybolur. Anti-HBcIgM, HBsAg ve Anti-HBs'nin negatif olduğu pencere döneminin tek serolojik göstergesidir. Kronik enfeksiyonun reaktivasyonu veya akut alevlenmesi sırasında serumda düşük titrede Anti-HBc IgM pozitifliği saptanabilir (Danta, 2014; Bowyer ve ark., 2011).

Anti-HBc IgG: Hastaların HBV ile enfekte olduğunu veya HBV'nin geçirilmiş olduğunu gösteren en önemli parametredir. Ömür boyu pozitiflik devam eder. HBsAg negatifliğiyle beraber saptanması geçirilmiş enfeksiyonu düşündürür. Anti-HBc IgG aşılardan sonra negatif saptanır (Danta, 2014; Bowyer ve ark., 2011).

. **HBeAg**: Virüsteki replikatif durumu tespit etmek için kullanılır. Akut ve kronik enfeksiyonların her ikisinde de saptanabilir. Akut vakalarda HBsAg ile yaklaşık aynı dönemlerde meydana gelir ve HBsAg kaybolmadan önce kaybolur. Kronik enfeksiyonlarda ise vücudun bağışıklık sisteminin temizleme dönemi başladıktan sonra zamanla azalır (Bowyer ve ark., 2011; Danta, 2014).

Anti-HBe: HBeAg negatifleştikten sonra serumda tespit edilebilir ve yıllarca pozitif kalır. HBeAg'nin oluşmasını önleyen çeşitli mutasyonların olmadığı durumlarda, HBeAg negatifleştikten sonra Anti-HBe meydana geldiyse viral replikatif dönem sona ermiştir. HBeAg pozitif kronik hepatitin tedavisi esnasında HBeAg serokonversiyonunun meydana gelmesi, tedavideki başarının en önemli göstergelerindendir (Krajden ve ark.,2005; Song ve Kim, 2016).

2.7.2. Moleküler Testler

HBV DNA; hem tanı hem de tedavi kararının verilmesinin yanı sıra tedavinin takibinde de gerekli bir parametredir. HBV DNA, akut HBV enfeksiyonunda serumda HBsAg tespit edilmeden üç hafta önce tespit edilebilmektedir. HBV DNA düzeyinin

belirlenmesinde, hedef çoğaltma ve sinyal çoğaltma gibi metodları kullanan testler mevcuttur. PCR, nükleik asit amplifikasyonuna dayalı yöntemler arasında en yaygın kullanılanıdır. Günümüzde duyarlılığı ve kanıtasyonu yüksek olan Real Time PCR metoduyla; HBV DNA düzeyi $20-10^8$ IU/ml kanıtasyon aralığında saptanabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün tanımladığı uluslararası standartlara göre, HBV DNA düzeyi IU/ml olarak ifade edilir. 1 IU/ml ise yaklaşık olarak 5.26-5.82 kopya/ml'ye eşdeğerdir. Kantitatif HBV DNA; HBV enfeksiyonu tanısında, KHB'de evreleme ve tedavi endikasyonu koymada, tedavi yanıtını izlemede, antiviral ilaç direncinin saptanmasında, serolojik testlerle tespit edilemeyen mutant enfeksiyon tanısında, gizli HBV enfeksiyon tanısında, riskli temasda bulaşın erken saptanmasında kullanılmaktadır (Song ve Kim, 2016; Altındış, 2018).

2.7.3 Biyokimyasal Testler

Viral hepatitlerin tanı ve takibinde kullanılan temel biyokimyasal testlerden biri olan ALT, hepatositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve serum ALT düzeyi karaciğer nekroinflamasyonunun dolaylı bir göstergesidir (Akhan ve ark., 2014; Tabak ve ark., 2017). Serum ALT'nin aralıklı olarak yükselmesi veya dalgalanması karaciğer inflamasyonunun önemli bir göstergesidir. Bazı çalışmalar şiddetli karaciğer fibrozisinde serum ALT düzeylerinin normal kalabileceğini göstermiştir. Güncel verilere göre; fibrozis derecesi eşit veya fazla 2 olan KHB hastalarının %12-43'ünün ALT düzeyleri normaldir (Danta, 2014).

AST; karaciğer hücrelerinin yanı sıra iskelet kası, kalp kası, beyin, böbrek, akciğer, dalak, pankreas, lökositlerde ve kırmızı kan hücrelerinde bulunur. Gama glutamil transferaz (GGT); karaciğerde, safra kanallarında, kalpte, beyinde, böbreklerde ve seminal veziküllerde bulunabilen önemli bir enzimdir. GGT ve Alkalen fosfataz (ALP) beraber artışı karaciğer hasarını işaret eder. ALP karaciğere özgü değildir ve karaciğer hücreleri dışında ince bağırsak, kemik, plasenta, böbrek ve beyaz kan hücrelerinde bulunmaktadır (Akhan ve ark., 2014; Ataman, 2018).

Akut hepatit tablolarında semptomlar başlamadan kısa bir süre önce ALT ve AST enzimlerinin düzeyleri artmaya başlar. Yaklaşık 12.günde normal seviyelerinin 20-50 katına çıkmış olurlar. ALT ve AST düzeylerindeki yüksekliğin altı aydan daha uzun sürmesi enfeksiyonun kronikleştiği konusunda şüphe uyandırır. Sıklıkla ALT'nin AST'ye olan oranı birin üstünde tespit edilir. Hastalık ilerleyip karaciğerde siroz tablosu görülmeye başlayınca bu oran tersine döner (Altındış ve Yoldaş, 2013).

2.7.4 Histopatolojik Testler

KHB'de hepatosit patolojik hasarının ciddiyetinin ortak ölçülebilir yöntemlerle değerlendirilmesi; hastalığın takibi, tedavi sonuçlarının değerlendirilmesi, hasta gruplarının karşılaştırılması ve uluslararası çalışmalarda ortak dil oluşturulması, fibrozisin tespit edilmesi ve siroz tanısının doğrulanması için gerekli olan invaziv bir tanı yöntemidir. Skorlama sistemlerinin amacı, karaciğer nekroinflamasyonu ve fibrozisi için sayısal değerler ortaya çıkararak biyopsi sonuçlarını objektif, karşılaştırılabilir ve yeniden değerlendirilebilir hale getirmektir. Karaciğer biyopsisini değerlendirmek için grade ve evre kullanılır. Histolojik aktivite indeksi (HAI), Knodell isimli bir bilim adamı tarafından ilk kez 1981 senesinde tanımlanmıştır. 1995 senesinde ise Ishak, modifiye HAI sınıflamasını keşfetmiştir. Scheur ve METAVİR klasifikasyonları ise sık kullanılan diğer klasifikasyonlardır. HAI, hepatosit hasarını, nekroinflamatuvar olayları, inflamatuvar olayın kapsamı ve yerini gösterir. Evre ile fibrozisin şiddeti tespit edilmektedir. Portal alanla sınırlı olan fibrozis evre 1, portal alan etrafına uzanan fibrozis ise evre 2 olarak kabul edilir. Ishak klasifikasyonuna göre, siroz evre 6, siroz öncesi karaciğer evre 5, yaygın köprüleşme evre 4, nadir köprüleşme ise evre 3 olarak değerlendirilir (Ishak ve ark., 1995; Desmet ve ark., 2003).

Rutin incelemeler esnasında sayısal parametrelerin oldukça sık kullanılması birbirinden farklı puanlamaların ortaya çıkmasına sebep olabilir. Diğer bir sorun ise aynı hastaya aynı araştırmacı tarafından farklı zamanlarda yapılan biyopsilerde bazen farklılık olması ve gözlemciler arası farklılıkların da belirgin olmasıdır. Başka bir problem ise karaciğer biyopsi kalitesinin yeterli olmasının gerekliliğidir. Kaliteli biyopsi materyal dokusunun uzunluğu yaklaşık 15-25 milimetre (mm), genişliği ise 1,2-2 mm civarında olmalı ayrıca ilgili doku alanı en az beş adet portal bölge içermelidir. Histopatolojik inceleme yapılırken subkapsüler bağ dokusu değerlendirmeye alınmamalıdır (Afdhal ve Nunes, 2004; Goodman, 2007; Lefkowitz, 2007).

2.8. Hepsidin

Protein yapısına sahip bir hormon olan hepsidin ilk kez plazma ultrafiltratı kullanılarak elde edilmiştir. İlk zamanlarda Krause ve arkadaşları, karaciğerde üretilen antimikrobiyal protein (LEAP-1) olarak isimlendirmiştir (Ross, 2017). Daha sonra ise hepatik kökenli olması ve in vitro bakterisidal aktivitesi nedeniyle ismi, hepsidin (hepatik bakterisidal protein) şeklinde güncellenmiştir. Hepsidin sentezini düzenleyen önemli koşullar arasında hipoksi, demir depoları, inflamasyon ve anemi yer alır (Huang ve ark.,

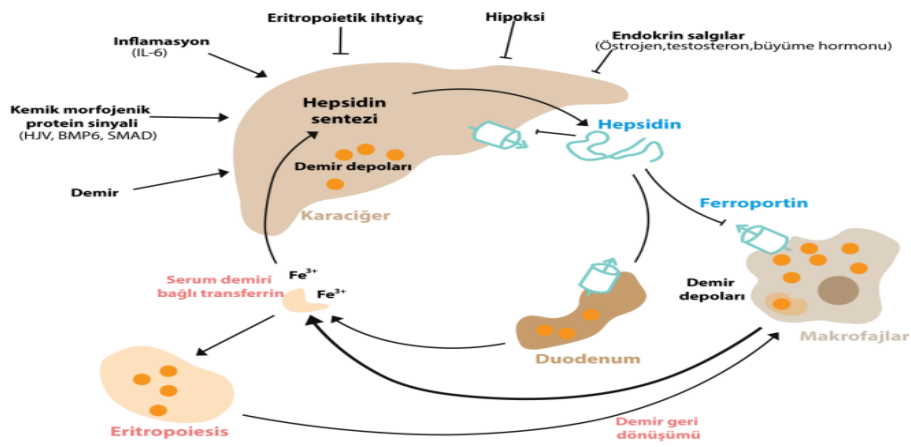
2017). Hepsidin demir metabolizmasını düzenleyen katyonik, peptit yapıda bir hormondur. 19. kromozomda bulunan HAMP geni aracılığıyla kodlanmaktadır (Ganz, 2003). İnsanlarda hepsidin, 84 aminoasitli bir preprohormon, 60 aminoasitli bir prohormon ve 25 aminoasitli bir hormon olarak bulunur. Hepsidin aktif olan hali 25 aminoasitten oluşan hormonal bir formdur. Bu aktif olan formu elde edebilmek için preprohepsidin iki tane enzimatik reaksiyona girer. Aktif hormonun sentezlenme sürecinde serin proteaz-1 ve α 1-antitripsin enzimleri de görev alır (Coyne, 2011; Pandur ve ark., 2012).

Hepsidin esas olarak karaciğerde sentezlenmesine rağmen daha az miktarda iskelet kası, kalp, beyin ve böbrekte de sentezlenebilir (Kwapisz ve ark., 2009). Hepsidin metabolizmasında karaciğerden sonra rol oynayan en önemli organ böbreklerdir. Hepsidin sentezinde az miktarda görev alan böbrekler, vücuttan atılım konusunda ise oldukça aktif rol oynar. Bundan dolayı keşfedildiği dönemde hepsidin hem serumda hem de idrarda tespit edilmiştir (Kemna ve ark., 2008). Ayrıca hepsidin yıkım işleminden sonra elde edilen 20 ve 22 aminoasit içeren formları da idrar numunelerinde saptanabilir (Ganz, 2005).

Hepsidin insan vücudunda demir metabolizmasının önemli düzenleyicilerinden biridir. Ferroportin demiri hücre dışına taşıyan transmembran proteinidir. Hücredeki demir miktarını düzenleyen ana mekanizma ferroportin kanalı üzerinden gerçekleşir. Ferroportinin düzenlenmesi; demirin plazmadan, ekstrasellüler boşluktan ve bağırsaktan bile emilimini etkiler. Hepsidin, ferroportine bağlanarak kovalent bir modifikasyona neden olur. Bu durum; ferroportinin lizozomlar aracılığıyla parçalanmasına neden olur. Böylece demirin retikuloendotelial makrofajlardan, duodenal enterositlerden ve hepatositlerden dışarı çıkışı engellenmiş olur (Nemeth ve ark., 2004). Ayrıca hepsidin, hücre yüzeyindeki ferroportin konsantrasyonunu azaltır. Bu şekilde de demirin plazmaya girişi inhibe edilmiş olur (Chawla ve ark., 2019).

Hepatositlerde hepsidin sentezini düzenleyen en önemli koşulların başlıcaları anemi hipoksi, infalasyon ve serum depolarıdır. Artan serum demiri ve inflamasyon hepsidin sentezini uyarırken anemi ve hipoksi hepsidin sentezini inhibe etmektedir (Nicolas ve ark., 2002; Nemeth ve Ganz, 2006). Hepatositlerde bulunan demir seviyelerindeki artış otokrin faktör olarak görev yapan Bone morphogenic protein-6 (BMP6)'nın sentezini artırır. BMP-6 çeşitli reseptörlere bağlanarak Sons of mothers against decapentaplegic (SMAD) yolunu aktive eder (Andriopoulos ve ark., 2009; Hentzhe ve ark., 2010).

Hepsidin düzeylerini etkileyen önemli faktörlerden biri olan inflamasyon ise IL-6 aracılığıyla etkisini gösterir. Herhangi bir inflamasyon durumunun olmadığı sağlıklı bireylerde hepsidin düzeyleri esas olarak demir metabolizması tarafından kontrol edilmekteyken, inflamasyon varlığında ise IL-6 aracılığıyla kontrol edilmektedir. Bu nedenle hepsidin akut faz reaktanı olarak da bilinir. IL-6 makrofaj ve hepatositlerde bulunan reseptörlerine bağlanarak Janus Kinaz ve STAT-3 yollarını aktive eder sonuç olarak serum hepsidin seviyeleri artar ve dolaylı yoldan serum demir seviyeleri düşmüş olur (Wrighting ve Andrews, 2006).



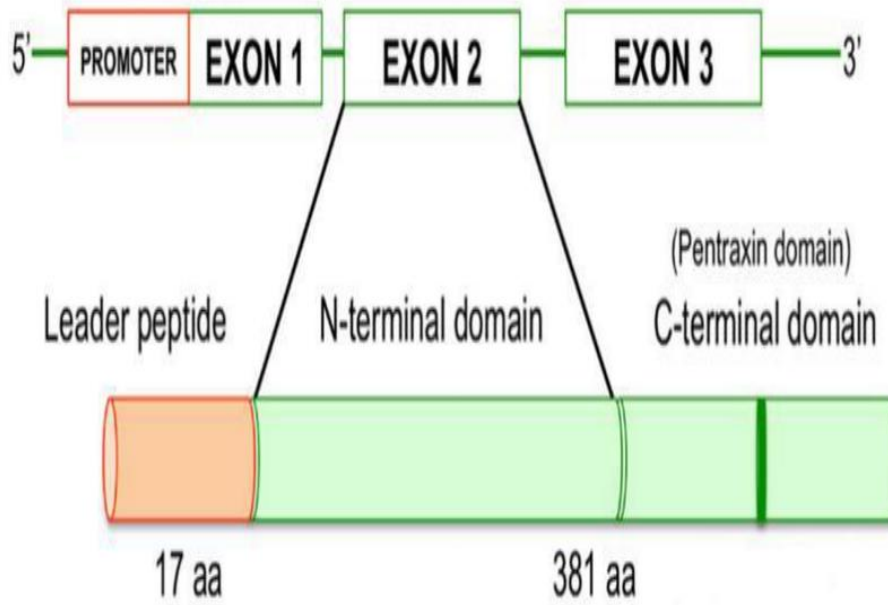
Şekil 2.6. Hepsidin sentezi (Steinbicker ve Muckenthaler, 2013)

2.9 Pentraksin-3

C-Reaktif Protein (CRP) ve Serum Amiloid Protein (SAP) kısa pentraksinler grubunda yer alırken, Pentraksin-3 (PTX-3) ve 4 uzun pentraksinler grubunda yer almaktadır. Uzun pentraksinlerin kromozom yerleşimleri, genom yapıları ve ligandları tanıma özellikleri kısa pentraksinlerden farklıdır (Inforzato ve ark., 2013; Giacomini ve ark., 2018). PTX-3 aynı zamanda TNF ile uyarılan gen olarak da bilinmektedir (Giacomini ve ark., 2018).

Uzun pentraksin ailesinde keşfedilmiş olanların içinde en önemli olanı PTX-3'tür. PTX-3 sentezini uyarıcı gen ilk kez 1992 yılında keşfedilmiştir. Üç ekzon halinde dizilen ve iki intron bölgesiyle ayrılan PTX-3 geni, 3.kromozomun q25 bandında yer alır. İlk ikisi N-terminalini ve lider peptidi, üçüncüsü ise C-terminal pentraksin bölgesini kodlar. PTX-3'ün

yapısı, kovalent olarak bağlı iki tetramer yapıdan meydana gelen karmaşık bir oktamer tarafından oluşturulur (Bastrup ve ark., 2013).



Şekil 2.7. Pentraksin-3 Yapısı (Günaştı ve ark., 2017)

PTX-3; inflamasyonu düzenlemesinin yanı sıra, doğuştan bağışıklıkta da görev alarak çeşitli reseptörlerle etkileşime girer ve doku onarımına katkı sağlar. Çeşitli enfeksiyon ve travmalardan sonra düz kas hücrelerinde, mezenkimal hücrelerde, makrofaj ve nötrofillerde; TNF-alfa gibi inflamatuvar sitokinler, IL-10 gibi anti-inflamatuvar sitokinler, trombin ve Toll Like Reseptör agonistleri aracılığıyla PTX-3 sentezi uyarılır. Sonuç olarak PTX-3; meydana gelmiş olan doku hasarı ve inflamasyonunun potansiyel bir tanısal ve prognostik belirteci haline gelmiş olur (Magrini ve ark., 2016).

Dendritik hücreler, makrofajlar ve endotel hücreleri gen bölgesine bağımlı olarak PTX-3 üretir. PTX-3'ün gen bölgelerinden bağımsız olarak sentezi nötrofillerde görülür ve nötrofiller PTX-3 deposu gibi işlev görürler. Yapılan birçok çalışmada çeşitli bakteriyel ve virüs enfeksiyonlarında PTX-3 sentezinin arttığı tespit edilmiştir (Bottazzi ve ark., 2016; Hamed ve ark., 2017). Oksitlenmiş ve enzimatik olarak değiştirilmiş düşük yoğunluklu lipoproteinler ve antiinflamatuvar yüksek yoğunluklu lipoprotein de endotel hücrelerinde ve damar düz kas hücrelerinde PTX-3 sentezini uyarır. Interferon-gamma, hem transkripsiyonel stabiliteyi hem de gen bölgesindeki transkripsiyonu azaltarak makrofajlarda ve dendritik hücrelerde PTX-3'ün üretimini baskılar. Prostaglandin E2, IL-4, deksametazon ve Vitamin D3 de miyeloid kökenli dendritik hücrelerde polisakkaritler aracılığıyla üretilen PTX-3'ün

üretimini inhibe eder. Çeşitli glukokortikoid hormonlar ise hematopoetik kök hücrelerde PTX-3 sentezini baskılar (Infarzato ve ark., 2013).

PTX-3 inflamasyonun düzenlenmesinde görev alır. Kompleman sistemiyle iş birliği yaparak patojenlerin tanınmasına yardımcı olur ve immün sistem hücreleri tarafından mikroorganizmaların fagositozunu indükler. Tüm bu nedenlerden dolayı PTX-3 doğal bağışıklığın önemli bir parçasıdır (Magrini ve ark., 2016). PTX-3'ün bir başka görevi ise apoptozise uğramış hücrelerin vücuttan temizlenmesidir. Apoptozise uğramış hücrelerden salınan self-antijen mekanizmasını düzenler. PTX-3 ayrıca patojenlerin fagositozunu indüklediği için başlıca opsoninlerden biridir (Ortega ve ark., 2009).

PTX-3, kompleman 1q ile birlikte kalsiyumdan bağımsız olacak şekilde etkileşime girer. PTX-3'ün kompleman 1q ile etkileşimi klasik yolla kompleman aktivasyonunu sağlar. Sonuç olarak kompleman 3 ve 4 birikimi meydana gelir (Bottazzi ve ark., 2016). Ayrıca PTX-3; mannoz bağlayıcı lektin, fikolin-1 ve fikolin-2 gibi lektin yolağının elemanlarına bağlanarak lektin yolağının aktivasyonunu sağlamasının yanı sıra, faktör H ile de etkileşim kurarak alternatif kompleman sistem yolağını düzenler (Erreni ve ark., 2017).

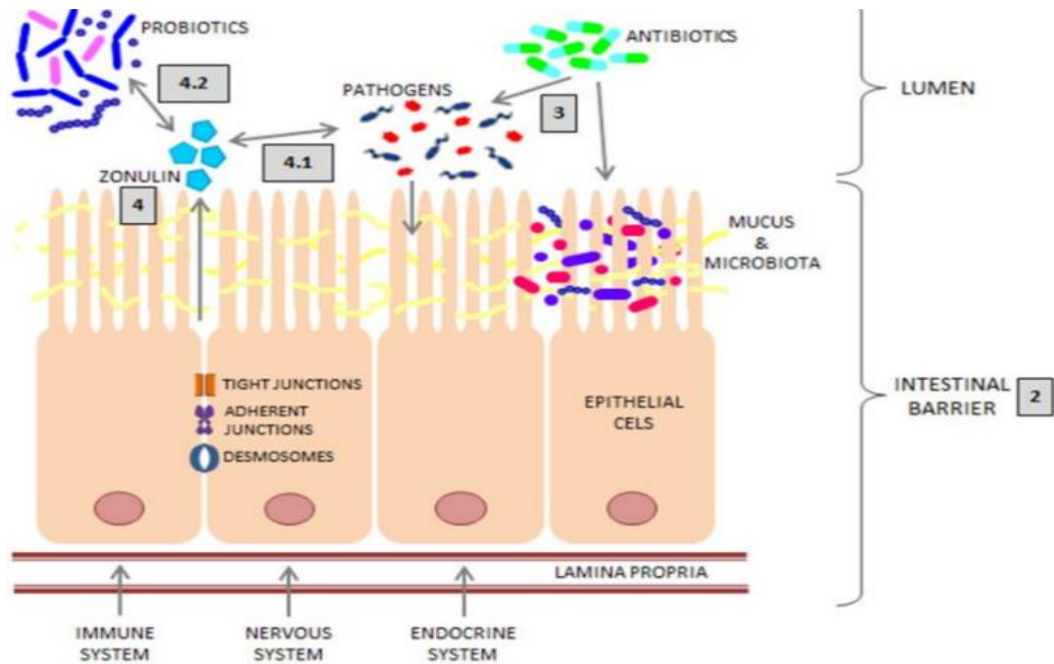
Meningokok, tüberküloz, sepsis ve septik şok gibi klinik tablolarda daha yüksek PTX-3 seviyeleri gözlemlenmiştir (Mantovani ve ark., 2003; Huttunen ve ark., 2016). Ayrıca PTX-3'ün akut akciğer hastalıklarında belirteç olabileceğiyle ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur (He ve ark., 2007; Huttunen ve ark., 2016). Çalışmalarda prostat kanseri, akciğer kanseri, pankreas kanseri, yumurtalık kanseri ve hepatosellüler karsinomlarda inflamasyonun bir belirteci olarak PTX-3'ün arttığı gösterilmiştir (Doni ve ark., 2019).

2.10. Zonulin

Zonulin yaklaşık 47 kDa ağırlığında olan, serin proteazlara benzer yapıya sahip, *Vibrio cholera* ile ilgili çalışmalar sırasında sıkı bağlantıları irdeleyen bir çalışmada tesadüfen keşfedilmiş bir proteindir. Bağırsak epitelinin yanı sıra fetal ve yetişkin, kalp ve beyin dokularında da eksprese edildiği tespit edilmiştir (Fasano ve ark., 2000; Wang ve ark., 2000). Zonulin literatürde preheptoglobulin-2 olarak da bilinmektedir. Tek zincirli formdayken epidermal büyüme faktörü reseptörlerini proteinazlar ile uyararak bağırsak geçirgenliğini düzenler. Çift zincirli halinde ise hemoglobini oksidasyondan korur (Fasano, 2012). Bu nedenle zonulinin halihazırda bilinen fizyolojik işlevleri; tight junction (TJ) fonksiyonlarını düzenleyerek proksimal bağırsağı bakteriyel kolonizasyondan korumak ve özellikle makromoleküllerin bağırsak boşluğundan insan vücuduna taşınmasını önlemektir.

Zonulin bağırsakta gerçekleştirdiği bu fizyolojik olayları, hücreler arasındaki TJ yapısını ve fonksiyonunu modüle ederek uygular (Fasano, 2011). Zonulin, distal ileum ve jejunumdaki epitel bölgelerinin üzerinde bulunan kendine özgül reseptörlere bağlandıktan sonra, hücrenin içinde Protein Kinaz C yolağını kullanarak aktin liflerinin birbirine bağlanmasını sağlar ve TJ işlevini düzenler. Çeşitli mekanizmalarla zonulin salınımı gerçekleştikten sonra hücreler arası mesafe geri dönüşümlü ve hızlı bir şekilde açılır (Fasano, 2012). Bağırsak boşluğunda zonulin salınımını uyaran birçok olası tetikleyici olmasına rağmen en iyi bilinenleri gluten ve bakteriyel organizmalardır. Bakteriyel organizmalarla temas etmiş olan ince bağırsak zonulin salgılar. Sadece bakteriyel etkenin ince bağırsak mukozası ile temasıyla olan bu salgı, mikroorganizmanın tipine veya virülansına bağlı değildir. Paraselüler yol açıldığında mikroorganizmalar yayılır ve doğuştan gelen bağışıklık sistemi immun yanıt oluşturur (Fasano, 2012).

Otoimmün hastalıkların patogenezi için günümüzde yaygın olarak kabul edilmiş olan hipotezlerden biri de; geçirgenliği artan bağırsaklardan geçen antijenlerin otoimmün hastalıkları tetikleyen çevresel faktörlerden biri olmasıdır. Normal koşullar altında TJ, antijenlerin paraselüler bölgeden geçişine izin vermemektedir. TJ düzenlemesinde rol alan zonulinin de otoimmün hastalıkların patogenizinde rol alabileceği savunulmaktadır (Fasano, 2011).



Şekil 2.8. Zonulin Etki Mekanizması (Serek ve Wawrzyniak, 2021)

2.11. Kopeptin

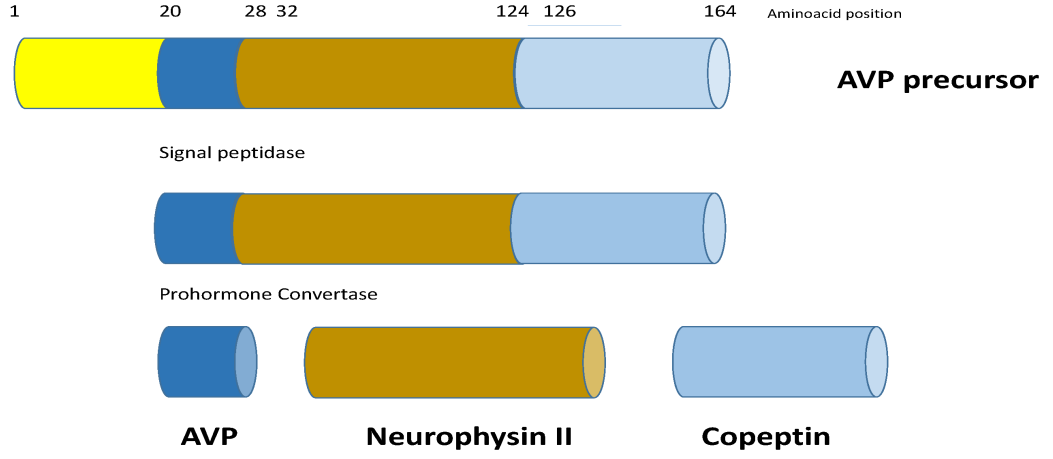
Vücuttaki su dengesini düzenleyen faktörlerden en önemlilerinden biri de antidiüretik hormon (ADH) olarak da isimlendirilen arjinin-vazopressin (AVP)'dir. İki sistein aminoasidi ile C terminali arasında disülfid bağlantısı bulunan dokuz aminoasitten meydana gelir. İlk olarak; nörofizin II, sinyal peptidi ve kopeptini de içeren 164 aminoasitlik bir yapı, hipotalamusta supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerde sentezlenir. Nörofizin II AVP ve kopeptinle birlikte arka hipofiz veziküllerinde birlikte depolanır. AVP; hipotansiyona, plazma osmotik basıncındaki herhangi bir değişikliğe ve vücutta meydana gelen çeşitli stres durumlarına cevap olarak kan dolaşımına salınır (Quigley ve ark., 2007).

Vazopressinin periferik etkileri için üç farklı reseptör görev alır. AVP'nin vazokonstriktör etkisine aracılık eden V1a reseptörleri esas olarak karaciğer ve böbrekteki vasküler düz kas hücrelerinde bulunur. Böbrek toplayıcı kanallarında bulunan V2 reseptörleri ise aquaporin-2 yoluyla vücudun su dengesinde rol oynar, anti-diüretik etkiden sorumlu esas reseptördür. V1b reseptörleri adenohipofizde bulunur ve adrenokortikotropik hormonun salgılamasından sorumludur (Acher ve ark.,2002; Holmes ve ark., 2003).

Serum ve plazmada bulunan AVP' nin yarı ömrü yaklaşık 16-20 dakika olup, oldukça kısadır. AVP'nin stabil olmayan yapısı ve bazı rezidü prohormonlara da bağlanabilmesi gibi dezavantaj yaratacak özellikleri mevcuttur. Ayrıca AVP reseptörü bulunan tüm hücrelere bağlanabilmektedir. Hedef hücrelerdeki bu bağlanma, kan dolaşımında ve plazmada vazopressin ölçülmesine engel bir durum olmamasına rağmen sonuçların sağlıklı, güvenilir olmamasına neden olur. Bu nedenlerden dolayı AVP' nin klinik kullanımı oldukça sınırlıdır. AVP yerine vazopressin seviyeleri hakkında daha doğru sonuçlar verebilecek daha stabil olan, AVP ile birlikte kan dolaşımına salınan kopeptin klinik pratikte daha sık kullanılmaktadır (Lukaszyk ve Malyszko, 2015). Kopeptin, plazma ve serum örneklerinde oda sıcaklığında en az yedi gün, 4°C'de ise yaklaşık 14 gün stabil kalabilmektedir. Kopeptin düzeylerinin üç saat gibi kısa bir sürede ölçülebilmesi, analiz öncesi çeşitli protokollere gerek olmaması ve yüksek duyarlılığa sahip olması klinik pratikte tercih edilmesinin en önemli sebeplerindendir (Morgenthaler ve ark., 2006).

Kopeptin düzeyleri, açlık veya egzersiz sonrası dönemde artış gösterirken su tüketimiyle beraber azalmaktadır (Morgenthaler ve ark., 2008). Genel olarak kopeptin ve vazopressin arasında bir korelasyon mevcuttur. Kopeptin hormonunun stabilitesinin yüksek

olmasından dolayı, vücuttaki stres durumlarında kortizole kıyasla daha güvenilir olduğu tespit edilmiştir (Katan ve ark., 2008; Roussel ve ark., 2014).



Şekil 2.9. Pre-provazopressin yapısı (Martino ve Arnaldi, 2021)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul ve Proje Desteği Bilgileri

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastanesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı tarafından 17 Mart 2023 tarihinde değerlendirilerek 2023/4243 sayılı kararıyla onaylandı. 23TU18006 proje numaralı bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından desteklendi.

3.2. Hasta Seçimi

Çalışmaya Mart-Kasım 2023 ayları arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli bölümlerden gelen serumlardan Kronik Hepatit B tanılı ve 6 aydan daha uzun süre serumunda HBsAg saptanan 105 hasta dahil edildi. Hastaların HBV DNA düzeyleri Real time PCR yöntemi kullanılarak belirlendi. Hastalar gruplandırılırken literatürdeki çalışmalar incelenmiş olup, biyopsi endikasyonu olan viral yük ve mortalitenin belirgin artış gösterdiği viral yük dikkate alındı (Çalgın ve Çetinkol, 2019). Hastalar; HBV DNA düzeyleri 10^0 - 10^2 arasında olan 35 hasta, 10^3 - 10^5 arasında olan 35 hasta ve 10^6 - 10^8 arasında olan 35 hasta olmak üzere üç gruba ayrıldı. Gruplar hafif, orta ve ağır viral yüklü olarak değerlendirildi. Hepatit markerlarından HBsAg(-) ve Anti-HCV(-) olan ve Wilson, hemokromatozis, alkolik/toksik hepatit, otoimmün hepatit, ALT/AST enzimlerinin yüksekliği gibi herhangi bir karaciğer hastalığı olmayan ayrıca herhangi bir kronik veya bulaşıcı hastalığı olmayan 35 kan donörü olan kişi kontrol grubu olarak seçildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların HBV DNA ölçümü yapıldıktan sonra, kan donörlerinin ise rutin testleri sonrası arta kalan serum örnekleri çalışmaya dahil edildi. Serum örnekleri ELISA yöntemiyle kantitatif olarak Pentraksin-3, Hepsidin, Zonulin ve Kopeptin düzeylerinin saptanacağı çalışma yapılana kadar -80°C 'de saklandı.

3.3. Araç ve Gereçler

3.3.1 Alet ve Gereçler

- Santrifüj cihazı (Sigma k-15-1, Almanya)
- Etüv (Nüve EN 500, Türkiye)
- -20°C Derin dondurucu (Uğur Derin Dondurucu, Türkiye)

- -80 °C Derin dondurucu (Jouan, Danimarka)
- +4 °C Soğutucu (Bosch, Almanya)
- 1,5 ml'lik kapaklı ependorf tüp (Isolab, Almanya)
- Otomatik ayarlanabilir pipetler (Eppendorf, Almanya)
- Distile su cihazı (Milli pore, Fransa)
- İnkübatör (Nüve EN 400, Türkiye)
- ELISA plate okuyucu (AllSheng AMR-100, Çin)
- Plate otomatik yıkama cihazı (AllSheng APW-200, Çin)
- Viral DNA izolasyon kiti (Magnesia 2448, Anatolia, Türkiye)
- Nükleik Asit İzolasyon ve PCR Setup Robotu (Anatolia, Magnesia 2448, Türkiye)
- Real Time PCR cihazı (Anatolia, Montania 4896, Türkiye)

3.3.2. Kullanılan Kitler

- Bosphore HBV Quantification kit (Anatolia, Türkiye)
- Pentraksin-3 ELISA kit (Elabscience, Çin)
- Hepsidin ELISA kit (Elabscience, Çin)
- Zonulin ELISA kit (Elabscience, Çin)
- Kopeptin ELISA kit (Elabscience, Çin)

3.4 PCR yöntemiyle HBV DNA düzeylerinin belirlenmesi

Hasta serumundan nükleik asit izolasyonu için Nükleik Asit İzolasyon ve PCR Setup Robotu kullanıldı. Cihazla uyumlu olan Bosphore HBV Quantification kitinde master miks, negatif kontrol için distile su, internal kontrol, pozitif kontrol ve dört adet standart numunesi mevcuttu. Nükleik asit izolasyon kiti ise viral DNA izolasyon kiti, proteinaz K ve taşıyıcı RNA solüsyonlarını içeriyordu.



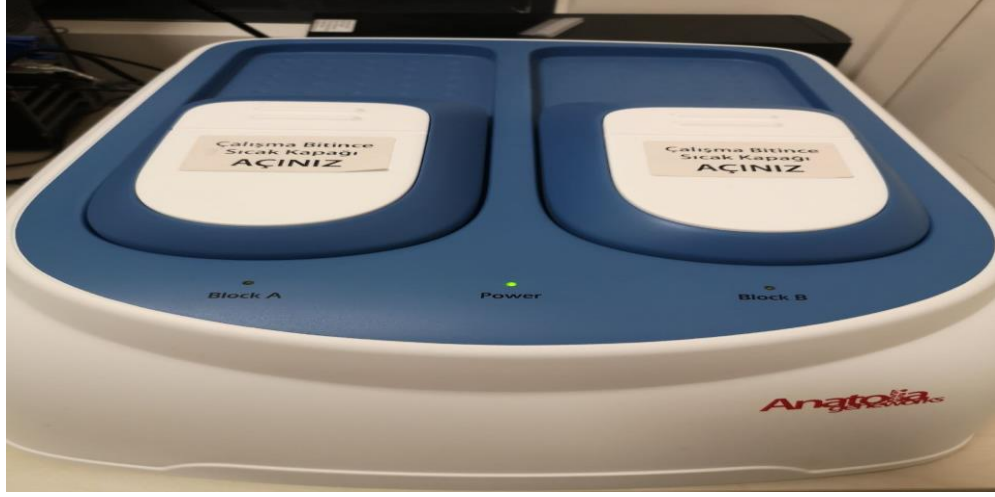
Resim 3.1. HBV Quantification kit

Öncelikle hasta serumları santrifüj edilip Nükleik Asit İzolasyon ve PCR Setup Robotu'na verilecek şekilde hazır hale getirildi. Daha sonrasında Bosphore HBV Quantification kitinde bulunan standart numuneleri , taşıyıcı RNA ve proteinaz K numuneleri vorteks işlemine tabi tutuldu. Ardından taşıyıcı RNA solüsyonuna 1000 μ L distile suyla, proteinaz K'ya ise proteinaz k yıkama solüsyonu ile 1300 μ L dilüsyon işlemi uygulandı. Master miks, negatif kontrol, internal kontrol, taşıyıcı RNA solüsyonları ve proteinaz K numuneleri cihazın önerilerine uygun olarak Nükleik Asit İzolasyon ve PCR Setup Robotu'na yerleştirildi.



Resim 3.2. Nükleik Asit İzolasyon ve PCR Setup Robotu

Nükleik asit izolasyon işleminin bitmesini takiben PCR platelerinin Real Time PCR cihazına aktarılması sonucunda kantitatif olarak HBV DNA düzeyleri IU/mL olarak ölçüldü.



Resim 3.3. Real Time PCR Cihazı

3.5 ELISA Yöntemi

HBV DNA düzeyleri saptanan hastaların $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de saklanan serumlarından ELISA yöntemi aracılığıyla serum Pentraksin-3, Hepsidin, Zonulin ve Kopeptin seviyeleri araştırıldı. Dört belirtecin tespitinde de Elabscience® marka ELISA kit kullanıldı. Toplam 140 hasta çalışmaya dahil edildiği için her belirteç için ikişer kutu ELISA kiti harcandı.



Resim 3.4. ELISA kiti

3.5.1 Kitlerin içeriğinde bulunan reaktifler

1. Her birinde ayrı ayrı 8 kuyucuğun yer aldığı 12 adet mikroyet strip (her bir kuyucuk yüzeyinde PX-3, Hepsidin, Zonulin'e karşı geliştirilmiş antikor, Kopeptin antijeni bulunmaktadır).

2. Konjugat-1 (120 µL, biotin ile konjuge PX-3, Hepsidin, Zonulin, Kopeptin'e karşı hazırlanan antikor)

3. Konjugat-2 (120 µL, avidin-Horseradish peroksidaz (HRP) ile konjuge PX-3, Hepsidin, Zonulin, Kopeptin'e karşı hazırlanan antikor)

4. Referans standart numunesi ve örnek dilüenti (20 ml)

5. Konjugat-1 dilüenti (14 ml)

6. Konjugat-2 dilüenti (14 ml)

7. Yıkama tamponu (30 ml)

8. Substrat (10 ml , üre peroksit-tetrametilbenzidin (TMB))

9. Stop Solüsyonu (10 ml)

10. Standart numunesi (2 şişe)

3.5.2 Numunelerin Hazırlanması

Reaktiflerin, pleytin ve -80°C'de saklanan serum örneklerinin oda sıcaklığına (25°C) getirilmesi sağlandı. 30 ml yıkama tamponu 720 ml distile suyla karıştırıldı ve 750 ml yıkama solüsyonu oluşturuldu. Konjugat-1, konjugat-2 ve standartlar kendi dilüentleriyle dilüe edilerek çalışma solüsyonları oluşturuldu. Üretici firma önerileri doğrultusunda sadece hepsidin belirteci çalışılacak hasta serum numunelerine dilüsyon işlemi uygulandı. Hepsidin için her hasta numunesi için, 5 µL hasta numunesi 95 µL örnek dilüenti solüsyonuyla dilüsyon işlemi yapıldı.

PTX-3, Hepsidin ve Zonulin belirteçlerinin kantitatif olarak saptanmasında Sandviç ELISA metodu kullanılırken; Kopeptin düzeyinin kantitatif olarak belirlenmesinde Kompetatif ELISA metodu kullanıldı.

3.5.3 Sandviç ELISA çalışma basamakları

1. Pleytin ilk sekiz kuyucuğuna, standart çalışma eğrisini oluşturabilmek adına referans standart çalışma solüsyonları 100 µL eklendi.

2. Geri kalan bütün antikor kaplı kuyucuklara, 100 µL hasta serum numuneleri eklendi. Pleyt kapatılıp, 37°C' de 90 dakika (dk) inkübe edildi.

3. Kuyucuklardaki bu içerik hipoklorid bulunan atık kabına boşaltıldı ve yıkama işlemi yapılmadan önce tüm kuyucuklara 100 µL konjugat-1 çalışma solüsyonu (biotin ile konjuge antikor) ilave edilip homojenize edildi. Pleyt kapatılıp, 37°C' de 1 saat inkübe edildi.

4. Bütün kuyucuklarda bulunan bu içerik hipoklorid bulunan atık kabına boşaltıldı. Ardından, kalan nemi ortadan kaldırmak adına plaka emici kağıt üzerine vuruldu. Daha sonra, kuyucuklar 350 µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı.

5. Tüm kuyucuklara 100 µL konjugat-2 çalışma solüsyonu (avidin- HRP ile konjuge antikor) ilave edildi. Pleyt kapatılıp, 37°C' de 30 dk inkübe edildi.

6. Kuyucuklarda bulunan içerik hipoklorid içeren atık kabına döküldü. Ardından, kalan nemi ortadan kaldırmak adına plaka emici kağıt üzerine vuruldu. Daha sonra, kuyucuklar 350 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.

7. Kuyucukların tamamına 90 µL substrat eklendi. Pleyt kapatılıp, 37°C' de 15 dk boyunca karanlıkta inkübe edildi.

8. Daha sonra bütün kuyucuklara 50 µL stop solüsyonu eklenmesi neticesinde reaksiyon durduruldu.

9. Tüm kuyucuklar, 450 nanometrede spektrofotometrik çalışma prensibine sahip cihazla değerlendirildi. Standart curve eğrilerinde herhangi bir problemle karşılaşılması üzerine, firma önerileri doğrultusunda sonuçlar kantitatif olarak ng/ml şeklinde raporlandı.

3.5.4 Kompetatif ELISA çalışma basamakları:

1. Pleytin ilk sekiz kuyucuğuna, standart curve eğrisini oluşturabilmek adına referans standart çalışma solüsyonları 50 µL eklendi.

2. Geri kalan bütün antijen kaplı kuyucuklara, 50 µL hasta serum numunesi eklenmiş olup hemen ardından konjugat-1 çalışma solüsyonu (biotinle ile konjuge antikor) tüm kuyucuklara 50 µL olacak şekilde ilave edildi. Pleyt kapatılıp, 37°C' de 45 dk inkübe edildi.

3. Bütün kuyucuklarda bulunan bu içerik hipoklorid bulunan atık kabına boşaltıldı. Ardından, kalan nemi ortadan kaldırmak adına plaka emici kağıt üzerine vuruldu. Daha sonra, kuyucuklar 350 µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı.

4. Tüm kuyucuklara 100 µL konjugat-2 çalışma solüsyonu (avidin- HRP ile konjuge antikor) ilave edildi. Pleyt kapatılıp, 37°C' de 30 dk inkübe edildi.

5. Kuyucuklarda bulunan içerik hipoklorid içeren atık kabına döküldü. Ardından, kalan nemi ortadan kaldırmak adına plaka emici kağıt üzerine vuruldu. Daha sonra, kuyucuklar 350 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.

6. Kuyucukların tamamına 90 µL substrat eklendi. Pleyt kapatılıp, 37°C' de 15 dk boyunca karanlıkta inkübe edildi.

7. Daha sonra bütün kuyucuklara 50 µL stop solüsyonu eklenmesi neticesinde reaksiyon durduruldu.

8. Tüm kuyucuklar, 450 nanometrede spektrofotometrik çalışma prensibine sahip cihazla değerlendirildi. Standart curve eğrisinde herhangi bir problemle karşılaşılması üzerine, firma önerileri doğrultusunda sonuçlar kantitatif olarak pg/ml şeklinde raporlandı.

Kompetatif ELISA çalışma prensibinden dolayı çalışma bitiminde serumda kantitatif olarak yüksek saptanan değerlerin, aslında kantitatif olarak daha düşük seviyede bulunduğu belirtildi.



Resim 3.5 Çalışmada kullanılan ELISA plate okuyucu ve otomatik yıkama cihazı

3.6. İstatistiksel Analiz

Biri kontrol grubu olmak üzere 35 er kişilik toplam dört grup ve 140 kişi çalışmaya alınmış olup, çalışmamızın başlangıcında yapılan G-power analizine göre çalışmanın gücü 0,90264 olarak saptandı.

Sayısal değişkenler ortalama ve standart sapma ya da medyan (Q1-Q3) tanımlayıcı istatistikleri ile belirtildi. Kategorik değişkenler için frekans ve yüzde istatistikleri verildi. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki kare ve Fisher exact testlerinden yararlandı. Sayısal değişkenlerin analizinde karma etki modelleri kullanıldı. Sayısal değişkenlerin arasında Spearman korelasyonları hesaplandı. Analizler R 4.3.1 (R Core team, 2023) programı ile yapıldı. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde çeşitli polikliniklere ve servislere başvurmuş olan Kronik Hepatit B tanılı, PCR yöntemiyle HBV DNA düzeyleri tespit edilen 105 yetişkin alındı. Hastalardan; HBV DNA düzeyleri 10^0 - 10^2 arasında olan 35 hasta hafif, 10^3 - 10^5 arasında olan 35 hasta orta ve 10^6 - 10^8 arasında olan 35 hasta ise ağır viral yüklü olarak isimlendirilecek şekilde üç farklı gruba ayrıldı. Çalışmaya dahil edilen hafif viral yüke sahip hasta grubunda yaş dağılımı 18-69 arasında değişmekte olup yaş ortalaması $42,8 \pm 13,1$ yıl (Ort. \pm SD), medyan yaş 40 yıl olarak tespit edildi. Orta viral yüke sahip hasta grubunda yaş dağılımı 19-80 arasında değişmekte olup yaş ortalaması $43,6 \pm 16,2$ yıl, medyan yaş 43 yıl olarak tespit edildi. Ağır viral yüke sahip hasta grubunda ise yaş dağılımı 19-78 arasında değişmekte olup yaş ortalaması $42,8 \pm 16,8$ yıl, medyan yaş 37 yıl olarak tespit edildi. Kontrol grubunun yaş dağılımı 22-61 arasında değişmekte olup yaş ortalaması $42,8 \pm 10,6$ yıl, medyan yaş 39 yıl olarak tespit edildi.

Hafif, orta, ağır viral yüke sahip hasta grupları ve kontrol grubu arasında yaş dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,99$). Çalışmaya dahil edilen hafif, orta, ağır hasta gruplarının ve kontrol grubunun her biri 35 kişiden oluşturuldu. Tüm grupların %51 ($n=18$)'i erkek ve %49 ($n=17$)'u kadındı, dört grup arasında cinsiyet dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0,99$). Çalışma gruplarına ait demografik özellikler Tablo 4.1'de belirtildi.

Tablo 4.1. Kontrol ve hasta gruplarına ait demografik veriler

Değişken	Kontrol, n=35 ¹	Hafif, n=35 ¹	Orta, n=35 ¹	Ağır, n=35 ¹	p değeri
Yaş	$42,8 \pm 10,6$	$42,8 \pm 13,1$	$43,6 \pm 16,2$	$42,8 \pm 16,8$	>0,99
Cinsiyet					>0,99
Erkek	18 (%51)	18 (%51)	18 (%51)	18 (%51)	
Kadın	17 (%49)	17(%49)	17 (%49)	17 (%49)	

¹Ortalama \pm SD; n (%)

HBV DNA düzeyleri belirlenen hasta ve kontrol gruplarında ELISA metoduyla kantitatif olarak hepsidin, pentraksin-3, zonulin ve kopeptin seviyeleri ölçüldü. Yaşa göre değerlendirme yapılırken, çalışmaya dahil edilen yetişkinlerin yaş ortalaması dikkate alınmış olup 45 yaş altı ve 45 yaş üstü olacak şekilde istatistiksel analiz yapıldı. Saptanan hepsidin, zonulin, kopeptin düzeyleri normal dağılıma uymadığı için medyan değerler (Q1-Q3) verildi. Serum pentraksin-3 seviyeleri normal dağılıma uyduğu için ortalama ve standart sapma değerleri kullanıldı.

Serum hepsidin düzeyleri, yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak karşılaştırıldığında (Tablo 4.2); 45 yaş üstü yetişkinlerde ve erkeklerde serum hepsidin seviyelerinin yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p < 0,005$).

Tablo 4.2. Serum hepsidin seviyelerinin yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırılması

Değişken	Serum hepsidin seviyesi ¹	p değeri
Yaş		
45 yaş altı	496,4 (214,5-1324,8)	<0,001
45 yaş üstü	1070,9 (609,4-1957,6)	
Cinsiyet		
Erkek	1248,5 (745,9-1814,5)	0,001
Kadın	398,0 (207,0-779,7)	

¹Medyan değer (Q1-Q3)

Kantitatif olarak ölçülen kontrol ve hasta gruplarının serum hepsidin düzeylerine Tablo 4.3’de yer verildi.

Tablo 4.3. Kontrol ve hasta gruplarının serum hepsidin seviyeleri

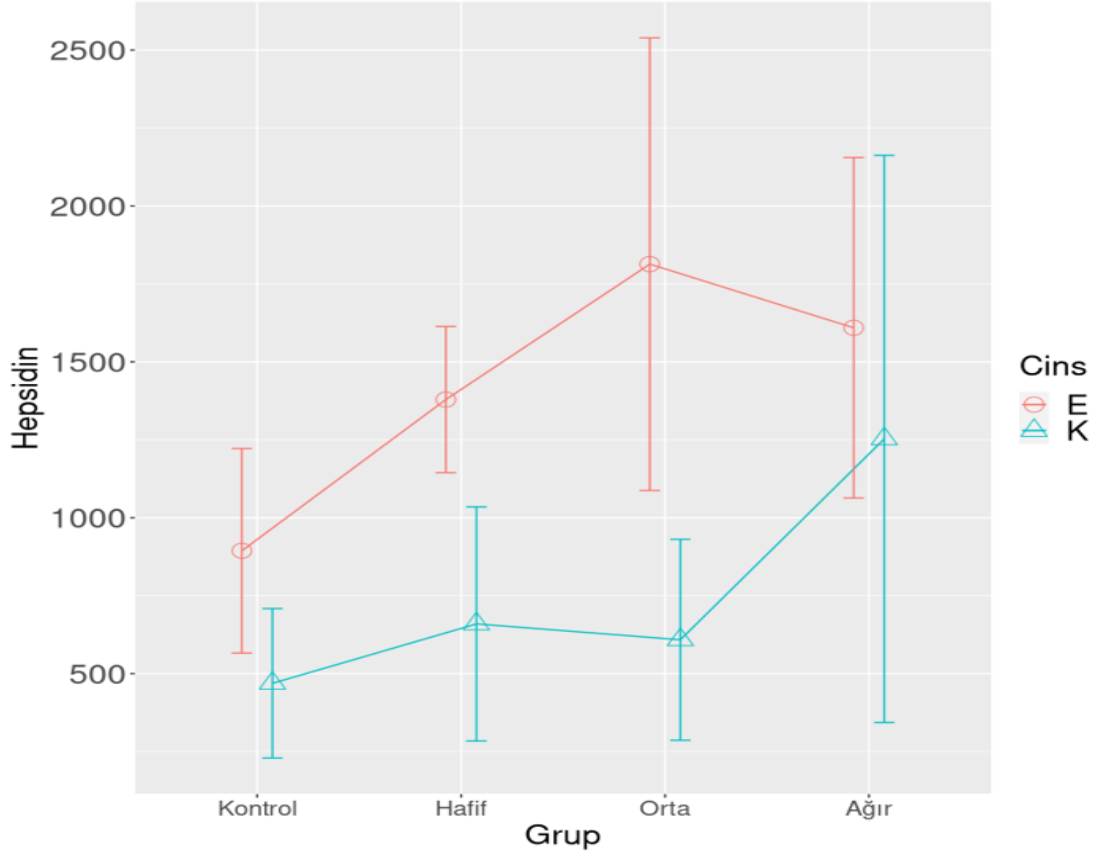
Değişken	Kontrol, n=35 ¹	Hafif, n=35 ¹	Orta, n=35 ¹	Ağır, n=35 ¹
Hepsidin	470,4	968,7	962,6	979,9
	(257,5-838,0)	(398,0-1565,0)	(253,7-1507,5)	(577,3-1783,0)

¹Medyan değer (Q1-Q3)

İstatistiksel olarak gruplardaki serum hepsidin düzeyleri arasındaki farklılıkları tespit edebilmek adına tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldı. Grupların istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu elde edilen veriler Tablo 4.4’te sunuldu. Kontrol grubu ve ağır viral yüke sahip grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,01).

Tablo 4.4. Kontrol ve hasta gruplarının serum hepsidin seviyelerinin karşılaştırılması

Karşılaştırılan Gruplar	estimate	SE	df	t.ratio	p değeri
Kontrol-Hafif	-340,7	235,320	134,0	-1,4	0,472
Kontrol-Orta	-524,9	235,369	134,0	-2,2	0,120
Kontrol-Ağır	-748,5	235,320	134,0	-3,1	0,010
Hafif-Orta	-184,1	235,362	134,0	-0,7	0,862
Hafif-Ağır	-407,8	235,320	134,0	-1,7	0,311
Orta-Ağır	-223,6	235,369	134,0	-0,9	0,778



Şekil 4.1. Gruplara ve cinsiyete göre serum hepsidin düzeyindeki farklılıklar

Serum pentraksin-3 düzeylerinin, yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak incelendiği veriler Tablo 4.5’de verildi. Yaş ve cinsiyet durumlarıyla pentraksin-3 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.5. Serum pentraksin-3 seviyelerinin yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırılması

Değişken	Serum pentraksin-3 seviyesi ¹	p değeri
Yaş		
45 yaş altı	38,5±27,7	0,133
45 yaş üstü	49,8±37,6	
Cinsiyet		
Erkek	46,2±35,3	0,538
Kadın	40,0±28,9	

¹Ortalama±SD

Kantitatif olarak ölçülen kontrol ve hasta gruplarının serum pentraksin-3 düzeyleri Tablo 4.6’da belirtildi.

Tablo 4.6. Kontrol ve hasta gruplarının serum pentraksin-3 seviyeleri

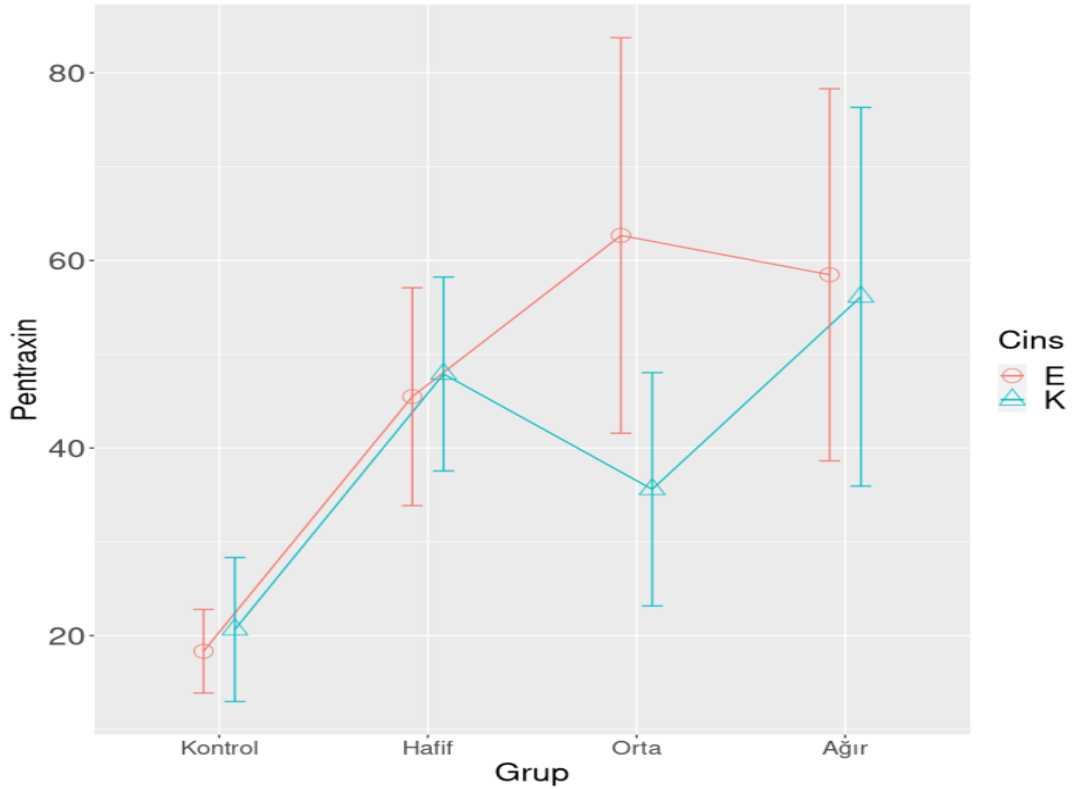
Değişken	Kontrol, n=35 ¹	Hafif, n=35 ¹	Orta, n=35 ¹	Ağır, n=35 ¹
Pentraksin-3	19,4±12,1	46,6±21,5	49,5±36,9	57,3±39,0

¹ Ortalama±SD

İstatistiksel olarak gruplardaki serum pentraksin-3 düzeyleri arasındaki farklılıkları tespit edebilmek adına tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldı. Grupların istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu elde edilen veriler Tablo 4.7’de belirtildi. Kontrol grubu ile hafif, orta ve ağır viral yüklü grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$).

Tablo 4.7. Kontrol ve hasta gruplarının serum pentraksin-3 seviyelerinin kıyaslanması

Karşılaştırılan Gruplar	estimate	SE	df	t.ratio	p değeri
Kontrol-Hafif	-27,1	6,841	134,0	-3,9	0,001
Kontrol-Orta	-29,3	6,843	134,0	-4,3	<0,001
Kontrol-Ağır	-37,8	6,841	134,0	-5,5	<0,001
Hafif-Orta	-2,4	6,843	134,0	-0,3	0,984
Hafif-Ağır	-10,7	6,841	134,0	-1,5	0,402
Orta-Ağır	-8,2	6,843	134,0	-1,2	0,625



Şekil 4.2. Gruplara ve cinsiyete göre serum pentraksin-3 düzeyindeki farklılıklar

Serum zonulin düzeylerinin, yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak incelendiği verilere Tablo 4.8’de yer verildi. 45 yaş üstü bireylerde ve kadınlarda serum zonulin düzeylerinin daha yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p=0,01$; $p<0,001$).

Tablo 4.8. Serum zonulin seviyelerinin yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırılması

Değişken	Serum zonulin seviyesi ¹	p değeri
Yaş		
45 yaş altı	61,6 (46,0-99,6)	0,010
45 yaş üstü	46,4 (35,3-79,6)	
Cinsiyet		
Erkek	42,9 (27,7-56,5)	<0,001
Kadın	80,1 (57,5-116,5)	

¹Medyan değer (Q1-Q3)

Kantitatif olarak ölçülen kontrol ve hasta gruplarının serum zonulin düzeyleri Tablo 4.9’da belirtildi.

Tablo 4.9. Kontrol ve hasta gruplarının serum zonulin seviyeleri

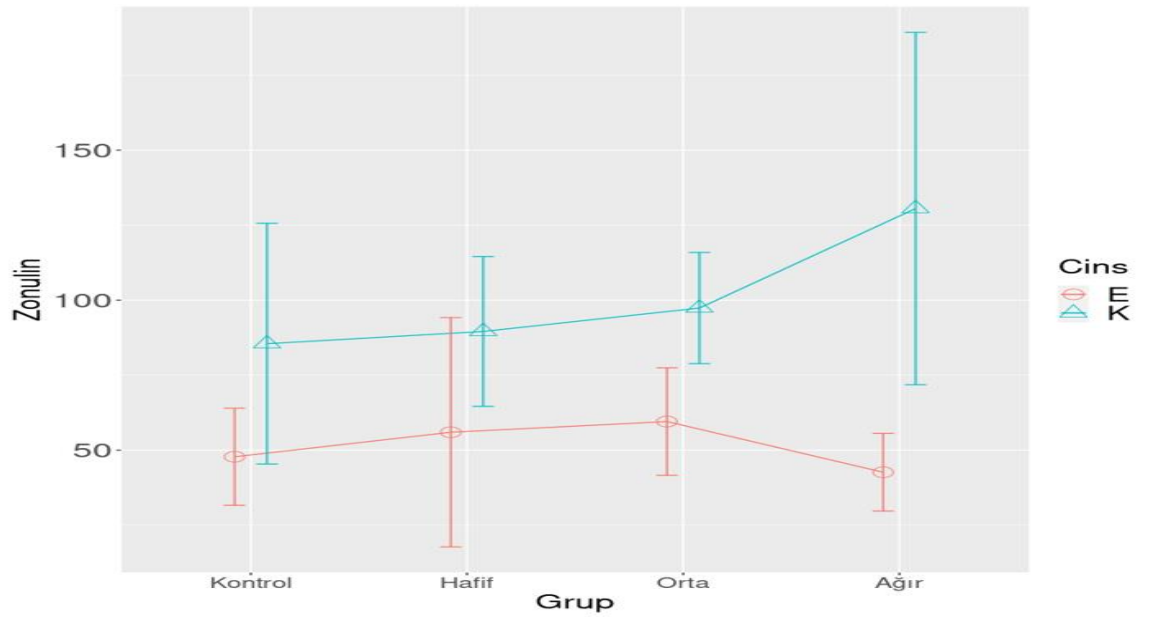
Değişken	Kontrol, n=35 ¹	Hafif, n=35 ¹	Orta, n=35 ¹	Ağır, n=35 ¹
Zonulin	49,7 (40,9-60,1)	54,0 (38,4-87,1)	63,3 (47,9-110,6)	65,5 (36,2-91,5)

¹Medyan değer (Q1-Q3)

İstatistiksel olarak gruplardaki serum zonulin düzeyleri arasındaki farklılıkları tespit edebilmek adına tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldı. Grupların istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu elde edilen veriler Tablo 4.10'da verildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.10. Kontrol ve hasta gruplarının serum zonulin seviyelerinin karşılaştırılması

Karşılaştırılan Gruplar	estimate	SE	df	t.ratio	p değeri
Kontrol-Hafif	-6.2	15,083	134,0	-0,4	0.976
Kontrol-Orta	-11,9	15,086	134,0	-0,7	0.858
Kontrol-Ağır	-19,2	15,083	134,0	-1,2	0.581
Hafif-Orta	-5,7	15,086	134,0	-0,3	0.981
Hafif-Ağır	-13,0	15,083	134,0	-0,8	0.824
Orta-Ağır	-7,2	15,086	134,0	-0,4	0.963



Şekil 4.3. Gruplara ve cinsiyete göre serum zonulin düzeyindeki farklılıklar

Serum kopeptin düzeylerinin, yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak değerlendirildiği veriler Tablo 4.11’de belirtildi. 45 yaş üstü kişilerde kopeptin seviyesinin yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı saptandı (p=0,017).

Tablo 4.11. Serum kopeptin seviyelerinin yaş ve cinsiyet açısından karşılaştırılması

Değişken	Serum kopeptin seviyesi ¹	p değeri
Yaş		
45 yaş altı	36,3 (25,2-50,5)	0,017
45 yaş üstü	27,0 (16,6-44,6)	
Cinsiyet		
Erkek	27,3 (19,8-37,9)	0,191
Kadın	38,3 (26,0-56,7)	

¹Medyan değer (Q1-Q3)

Kantitatif olarak ölçülen kontrol ve hasta gruplarının serum kopeptin düzeylerine Tablo 4.12’de yer verildi.

Tablo 4.12. Kontrol ve hasta gruplarının serum kopeptin seviyeleri

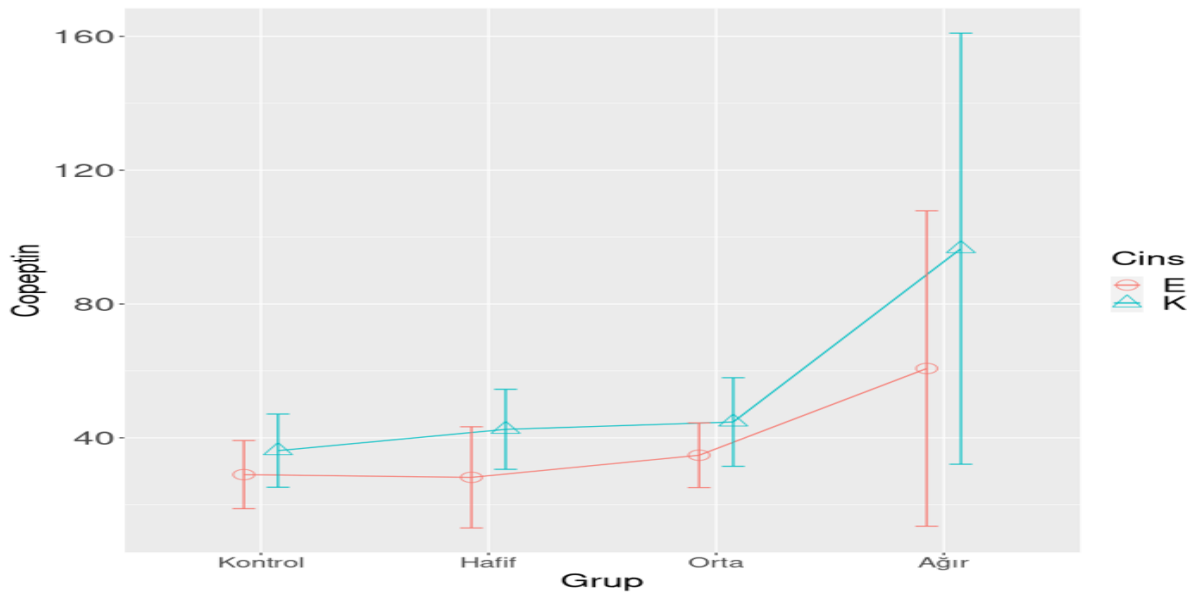
Değişken	Kontrol, n=35 ¹	Hafif, n=35 ¹	Orta, n=35 ¹	Ağır, n=35 ¹
Kopeptin	26,7	28,9	34,9	39,8
	(18,9-42,5)	(18,2-40,0)	(25,2-44,0)	(24,2-61,8)

¹Medyan değer (Q1-Q3)

İstatistiksel olarak gruplardaki serum kopeptin seviyeleri arasındaki farklılıkları tespit edebilmek adına tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldı. Grupların istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucu elde edilen veriler Tablo 4.13’de verildi. Ağır viral yüke sahip gruptaki kopeptin düzeylerinin düşüklüğü; kontrol grubu, hafif ve orta viral yüke sahip gruplardan istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p=0,007$; $p=0,013$; $p=0,036$).

Tablo 4.13. Kontrol ve hasta gruplarının serum kopeptin seviyelerinin karşılaştırılması

Karşılaştırılan Gruplar	estimate	SE	df	t.ratio	p değeri
Kontrol-Hafif	-2,7	13.923	134,0	-0,1	0,997
Kontrol-Orta	-7,6	13.925	134,0	-0,5	0,947
Kontrol-Ağır	-45,6	13.922	134,0	-3,7	0,007
Hafif-Orta	-4,9	13.925	134,0	-0,3	0,985
Hafif-Ağır	-42,9	13.923	134,0	-3,0	0,013
Orta-Ağır	-38,0	13.925	134,0	-2,7	0,036



Şekil 4.4 Gruplara ve cinsiyete göre kopeptin düzeyindeki farklılıklar

ELISA metoduyla kantitatif olarak saptanan serum hepsidin, pentraksin-3, zonulin ve kopeptin düzeylerinin Ortalama±SD değerleri Tablo 4.14’de verildi.

Tablo 4.14. Serum hepsidin, PTX-3, zonulin ve kopeptin Ort±SD değerleri

Değişken	Kontrol, n=35 ¹	Hafif, n=35 ¹	Orta, n=35 ¹	Ağır, n=35 ¹	p
Hepsidin	687,54±605,24	1029,43±703,80	1228,11±1274,07	1436,12±1451,89	0,014
PTX-3	19,46±12,10	46,65±21,55	49,52±36,91	57,34±39,01	<0,001
Zonulin	66,10±61,33	72,29±65,99	77,91±40,36	85,33±92,01	0,623
Kopeptin	32,47±20,89	35,15±27,75	39,61±22,94	78,12±110,52	0,004

¹Ortalama±SD; n (%)

ELISA metoduyla kantitatif olarak ölçülen serum hepsidin, PTX-3, zonulin ve kopeptin belirteçlerinin birbirleriyle olan korelasyonu, viral yükü olan korelasyon durumları ve yaşla olan korelasyonları incelendi. Serum hepsidin düzeylerinin korelasyon analizi Tablo 4.15’de sunuldu. Hepsidin ile yaş, viral yük, PTX-3 ve kopeptin arasında pozitif korelasyon saptandı (p<0,01).

Tablo 4.15. Hepsidin korelasyon analizi

Değişken	Hepsidin	
	r değeri	p değeri
Yaş	0,328	<0,01
Viral yük	0,225	<0,01
PTX-3	0,268	<0,01
Zonulin	-0,161	>0,05
Kopeptin	0,298	<0,01

Serum PTX-3 seviyelerinin korelasyon analizi Tablo 4.16’da belirtildi. PTX-3 ile yaş ve viral yük arasında pozitif korelasyon saptandı ($p<0,05$; $p<0,01$).

Tablo 4.16. Pentraksin-3 korelasyon analizi

PTX-3		
Değişken	r değeri	p değeri
Yaş	0,195	<0,05
Viral yük	0,449	<0,01
Zonulin	-0,46	$>0,05$
Kopeptin	0,094	$>0,05$

Serum zonulin seviyelerinin korelasyon analizine Tablo 4.17’de yer verildi. Zonulin ile yaş arasında negatif korelasyon saptandı ($p<0,01$).

Tablo 4.17. Zonulin korelasyon analizi

Zonulin		
Değişken	r değeri	p değeri
Yaş	-0,243	<0,01
Viral yük	0,135	$>0,05$
Kopeptin	-0,45	$>0,05$

Serum kopeptin düzeylerinin korelasyon analizine Tablo 4.18’de yer verildi. Zonulin ile yaş arasında güçlü negatif korelasyon saptandı ($p<0,01$). Kopeptin ile yaş arasında pozitif korelasyon saptanırken, kopeptin ile viral yük arasında negatif korelasyon tespit edildi ($p<0,01$; $p<0,01$).

Tablo 4.18. Kopeptin korelasyon analizi

Kopeptin		
Değişken	r değeri	p değeri
Yaş	0,241	<0,01
Viral yük	-0,226	<0,01

5. TARTIŞMA

Kronik hastalıkların erken tanı, tedavi takibi, prognoz tespitinde çeşitli yöntemler kullanılır. Kronik Hepatit B hastalarının tanısında çeşitli serolojik testler, biyokimyasal testler, histopatolojik testler ve moleküler yöntemler tercih edilir. Kronik Hepatit B hastalarının hem tanı hem viral yük hem de tedavi takibinde kullanılan altın standart yöntem; PCR yöntemiyle kantitatif olarak tespit edilen HBV DNA düzeyidir (Song ve Kim, 2016). Literatürde doğrudan HBV DNA düzeyi ile çeşitli biyomarkerların ilişkisini inceleyen çalışmalar kısıtlıdır. Çalışmamızda HBV DNA düzeyi ile hepsidin, PTX-3, zonulin ve kopeptin ilişkisi incelendi.

Serum hepsidin düzeylerinin yaş ve cinsiyetle ilişkisini incelemek için yapılmış olan çalışmaların birinde 65 erkek çalışmaya dahil edilmiş olup, erkeklerde yaşla beraber hepsidin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış gözlenmiştir (Ganz ve ark., 2008). Başka bir çalışmada ise kadınlarda menopoz öncesi ve sonrası gruplarda hepsidin düzeyleri tespit edilmiş olup, postemenopozol dönemde hepsidin düzeyleri daha yüksek saptandığı için kadınlarda yaş arttıkça hepsidin düzeylerinin artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Koziol ve ark., 2001). Yine benzer bir çalışmada Ferrucci ve ark. tarafından 85 yaş üstü erkeklerde hepsidin düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı yüksekliği tespit edilmiştir (Ferrucci ve ark., 2010). 1445 erkek ve 1553 kadın olmak üzere toplam 2998 kişinin dahil edildiği, hepsidin düzeylerinin yaş ve cinsiyete göre dağılımının incelendiği çok merkezli bir çalışmada ise; erkeklerde yaşla beraber hepsidin düzeyinde herhangi bir artış olmayıp sabit kaldığı, kadınlarda ise yaşla beraber artış olduğu, erkeklerde kadınlara göre daha yüksek hepsidin düzeylerinin varlığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Galesloot ve ark., 2011). Bulgaristan'da yapılmış olan bir çalışmada ise, erkeklerde istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde kadınlardan daha yüksek serum hepsidin düzeyleri tespit edilmiştir (Ilkovska ve ark., 2016). Bizim çalışmamızda da literatüre paralel olarak serum hepsidin düzeylerinin erkeklerde kadınlardan daha yüksek olduğu, 45 yaş üstünde istatistiksel olarak daha yüksek seyrettiği, yaş artışıyla pozitif korelasyon gösterdiği tespit edildi ($p=0,001$; $p<0,001$; $r=0,358$, $p<0,01$).

Çin'de yapılmış olan bir çalışmada HBV DNA düzeylerine göre hafif, orta ve ağır olmak üzere üç gruba ayrılan hasta ve kontrol grubu serum hepsidin düzeyleri açısından incelendiğinde, hasta grubunun ortalamasının yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p<0,001$). Aynı çalışmada, serum hepsidin ve HBV DNA düzeyleri arasında

pozitif korelasyon ($r=0,383$, $p=0,001$) tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2013). Wang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise hasta grupları KHB, siroz ve HCC tanısı almış olan üç farklı hasta grubuna ayrılmış olup, hasta gruplarında kontrol grubuna daha yüksek ortalamalar ve serum hepsidin seviyeleri tespit edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastaların serum HBV DNA düzeyleri ve hepsidin düzeyleri arasında pozitif korelasyon ($r=0,48$, $p<0,01$) saptanmıştır (Wang ve ark., 2016). Başka bir çalışmada da KHB hastalarındaki serum hepsidin düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (Lyberopoulou ve ark., 2015). Lin ve arkadaşlarının sirozlu hastalarda yaptığı çalışmada ise sirotik hastalarda serum hepsidin seviyesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğu ($p<0,001$) belirlenmiştir (Lin ve ark., 2013). Sirotik hastalar ve kontrol grubunun karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise serum hepsidin seviyesinin kontrol grubuna göre sirozlu hastalarda düşüklüğü istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,005$) saptanmıştır (Varghese ve ark., 2020).

Bizim çalışmamızda da literatür verilerine benzer şekilde KHB hasta gruplarında kontrol grubuna göre serum hepsidin seviyelerinin ortalama değerleri daha yüksek olmasına rağmen, gruplar arasında sadece kontrol ve ağır grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p=0,010$). Hasta gruplarının hepsidin düzeylerinin ortalamalarının kontrol grubuna göre belirgin derecede daha yüksek olmasına ve hafif gruptan ağır gruba doğru serum hepsidin seviyelerinin ortalamasının artışına rağmen gruplar arası istatistiksel fark saptanmaması, çalışma popülasyonu sayısının yetersiz bütçe nedeniyle az olmasına bağlı olabilir. Ayrıca hasta gruplarındaki bireylerin KHB tanısına ilave olarak serum hepsidin düzeyini etkileyebilecek herhangi bir akut veya kronik hastalık varlığının hepsidin seviyelerinde dalgalanmalara yol açabileceğini düşünmekteyiz.

Literatürde yapılmış olan çalışmalarda sirozlu hastalarda kontrol grubuna göre daha düşük; KHB tanılı hastalarda ise kontrol grubuna göre daha yüksek serum hepsidin seviyelerinin saptanmasının nedeni sirozlu hastalarda meydana gelen karaciğer hücrelerinin hasarına bağlıdır. Ayrıca çalışmamızda literatüre paralel olacak şekilde serum HBV DNA düzeyi ile serum hepsidin düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($r=0,225$, $p<0,001$).

Serum PTX-3 seviyelerinin yaş ve cinsiyetle olan ilişkilerini inceleyen çalışmaların birinde PTX-3 seviyesi ile yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak herhangi bir ilişki saptanmamıştır (Zorlu ve ark., 2015). Çin’de yapılan başka bir çalışmada ise PTX-3 düzeyleri ile yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir (Han ve ark., 2021). Yamasaki ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada erkeklerde ve ileri yaşta PTX-3 seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (Yamasaki ve ark., 2009). Feder ve ark. tarafından yapılmış olan bir çalışmada da yaş ve cinsiyet ile PTX-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Feder ve ark., 2020). Bizim çalışmamızda da literatüre uygun olacak şekilde yaş, cinsiyet ve PTX-3 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

KHB, siroz ve HCC tanılı üç hasta grubu ve kontrol grubundan oluşturulan bir çalışmada hasta gruplarındaki PTX-3 seviyelerinin yüksekliği kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) saptanmıştır. (Deng ve ark., 2020). Türkiye’de yapılmış olan bir çalışmada KHB nedeniyle ortaya çıkan karaciğer fibrozis evresi arttıkça PTX-3 seviyesinin düştüğü istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,01$) tespit edilmiştir (Balın ve ark., 2021). HCC hastalarında serum PTX-3 seviyesinin artışıyla sağ kalım süresinin azalması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Han ve ark., 2021).

Bizim çalışmamızda da literatüre benzer şekilde kontrol grubu ile hafif, orta ve ağır gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,001$). Çalışmamızda hafif gruptan ağır gruba doğru serum PTX-3 seviyelerinin ortalamasının artışına rağmen gruplar arası istatistiksel fark saptanmamasının nedeninin, çalışma popülasyonu sayısının yetersiz bütçe nedeniyle az olmasına ve hasta gruplarındaki bireylerin KHB tanısına ilave olarak serum PTX-3 düzeyini etkileyebilecek herhangi bir akut veya kronik hastalık varlığının PTX-3 seviyelerinde dalgalanmalara yol açabilmesine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Yapılan çalışmalarda sirotik hastalarda daha yüksek PTX-3 seviyeleri tespit edilmesine rağmen, siroz evresi arttıkça PTX-3 seviyelerinin azalmasının nedeninin çalışmaya dahil edilen hastaların viral yükü ile ilişkili olabileceğini tahmin etmekteyiz. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız literatürdeki doğrudan HBV DNA düzeyi ile PTX-3 seviyesini irdeleyen dolayısıyla Hepatit B hastalarının viral yükü ve PTX-3 arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışmadır. Bu nedenle çalışmamızın diğer çalışmalara göre üstünlüklerinden biri olarak görmekteyiz. HCC hastalarında kötü prognostik faktör olarak saptanan PTX-3 seviyeleriyle ilgili olarak literatüre benzer şekilde bizim çalışmamızda da serum PTX-3 ve HBV DNA

düzeyi arasında pozitif korelasyon ($r=0,449$, $p<0,001$) dolayısıyla PTX-3 ve viral yük arasında güçlü bir ilişki saptandı.

Sapone ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada serum zonulin ve yaş, cinsiyet arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır (Sapone ve ark., 2006). Polonya’da yapılan başka bir çalışmada da serum zonulin seviyeleri ile cinsiyet ve yaş arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (Pietrukaniec ve ark., 2019). Bizim çalışmamızda serum zonulin seviyesinin yaş arttıkça azalması, kadınlarda erkeklerden daha yüksek olması ve yaşla negatif korelasyon göstermesi anlamlıydı ($p=0,010$; $p<0,001$; $r=-0,243$, $p<0,01$).

Pietrukaniec ve ark., tarafından siroz tanılı hasta grubunda yapılmış olan bir çalışmada , sirozlu hastalardaki zonulin seviyesinin kontrol grubuna göre düşüklüğü anlamlı ($p<0,001$) bulunmuştur (Pietrukaniec ve ark., 2019). Başka bir çalışmada ise sirotik hasta grubundaki serum zonulin seviyelerinin yüksekliği kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) tespit edilmiştir (Ponziani ve ark., 2019). Sirotik hastalarda yapılan başka bir çalışmada ise hasta grubunda serum zonulin seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmış olup, bu farklılığın anlamlı olmadığı belirtilmiştir (Blesl ve ark., 2020). İtalya’da yapılmış olan başka bir çalışmada da serum zonulin seviyeleri sirotik hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,05$) derecede daha yüksek saptanmıştır (Raparelli ve ark., 2017). Hsu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise sirotik hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek zonulin düzeyleri tespit edilmiştir (Hsu ve ark., 2021). Çin’de yapılan bir çalışmada KHB hastalarında kontrol grubuna daha yüksek serum zonulin seviyeleri tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2019). Türkiye’den yapılmış olan KHB tanılı hastaların dahil edildiği, hastaların viral yüke göre hafif, orta ve ağır şeklinde üç gruba ayrıldığı bir çalışmada serum zonulin seviyelerinin KHB hastalarında kontrol grubuna göre daha düşük olması istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) bulunmuştur. Gruplar arasında sadece hafif ve ağır viral yüke sahip gruplardaki zonulin düzeylerinde anlamlı farklılık bildirilmiştir. Ayrıca serum HBV DNA düzeyi ile zonulin seviyesi arasında negatif korelasyon ($r=-0,510$, $p<0,05$) saptanmıştır (Çalgın ve Çetinkol, 2019).

Bizim çalışmamızda kontrol grubu ve hasta grupları arasında ayrıca hasta gruplarının da kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Serum HBV DNA düzeyi ile zonulin arasında korelasyon tespit edilmedi ($r=0,135$, $p>0,05$). Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız, doğrudan serum HBV DNA düzeyi ile zonulin düzeyi ilişkisinin incelendiği literatürdeki ikinci çalışmadır. Literatürde siroz ve KHB tanılı hasta gruplarındaki serum zonulin seviyeleri arasındaki ilişki konusunda fikir birliği

sağlanamamıştır. Daha geniş hasta popülasyonunun ve hastaların viral yüklerinin de çalışmalara dahil edildiği prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

Serum kopeptin düzeylerinin yaş ve cinsiyet açısından incelendiği Türkiye’de yapılmış olan bir çalışmada yaş ve cinsiyet ile kopeptin düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (İlgezdi ve ark, 2022). İran’da yapılan bir çalışmada yaş, cinsiyet ile kopeptin düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmamasına rağmen serum kopeptin seviyeleri kadınlarda daha yüksek seviyelerde tespit edilmiştir (Davoodi ve Minoo, 2022). Schoen ve ark. yaptığı bir çalışmada erkeklerde kadınlara göre anlamlı derecede daha yüksek kopeptin düzeyleri saptanmıştır (Schoen ve ark., 2015). Kopeptin seviyelerinin incelendiği başka bir çalışmada ise yaşla kopeptin arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (Abudeif ve ark., 2023). Bizim çalışmamızda kopeptin seviyeleri ile cinsiyetler arasında anlamlı bir fark saptanmazken ($p>0,05$), kopeptin düzeyleri ile yaş arasında anlamlı bir farklılık ve yaşla kopeptin arasında pozitif korelasyon tespit edildi ($p=0,017$; $r=0,241$, $p<0,01$).

Tawfik ve ark. yaptığı siroz tanılı hasta gruplarından kompanse siroz tanılı hasta grubu hariç diğer tüm hasta gruplarında serum kopeptin düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksekliği anlamlı ($p=0,001$) bulunmuştur (Tawfik ve ark., 2018). Mısırdaki yapılan bir çalışmada ise siroz tanılı ve komplikasyon gelişmiş hastalarda , herhangi bir komplikasyon gelişmemiş hastalara göre serum kopeptin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı yükseklik tespit edilmiştir (Abudeif ve ark., 2023). Türkiye’den yapılmış olan KHB tanılı hastaların dahil edildiği, hastaların viral yüke göre hafif, orta ve ağır şeklinde üç gruba ayrıldığı bir çalışmada hasta grubundaki kopeptin düzey düşüklüğü kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). Hafif, orta ve ağır gruplarda kopeptin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Aynı çalışmada serum HBV DNA düzeyi ile serum kopeptin seviyeleri arasında negatif korelasyon ($r=-0,415$, $p=0,023$) tespit edilmiştir (Çalgın ve Çetinkol, 2019).

Bizim çalışmamızda ağır gruptaki kopeptin seviyelerinin düşüklüğü ile kontrol grubu, hafif ve orta viral yüke sahip grupların kopeptin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,007$; $p=0,013$; $p=0,036$). Bizim çalışmamızda da Çalgın ve ark. yaptığı çalışmadaki gibi serum HBV DNA düzeyi ile kopeptin seviyeleri arasında negatif korelasyon saptandı ($r=-0,226$, $p<0,01$). Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız, doğrudan serum HBV DNA düzeyi ile kopeptin düzeyi ilişkisinin incelendiği literatürdeki ikinci çalışmadır. İki çalışmada da bulunan verilerin doğrulanabilmesi amacıyla daha geniş hasta

popülasyonlarının dahil edildiği daha çok sayıda prospektif çalışmaya ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

Bildiğimiz kadarıyla literatürde KHB tanılı hastalarda serum zonulin ve kopeptin düzeylerinin beraber incelendiği bir çalışma mevcut olup; çalışmamız KHB hastalarında hepsidin, PTX-3, zonulin ve kopeptin düzeylerinin beraber incelendiği ilk çalışmadır. KHB hastalarında serum hepsidin ve PTX-3 seviyeleri arasında pozitif korelasyon ($r=0,268$, $p<0,01$), serum kopeptin ve hepsidin düzeyleri arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir ($r=0,298$, $p<0,01$). İlgili biyomarkerların birbirleriyle olan korelasyon durumlarının incelenmesiyle ilgili daha geniş hasta popülasyonlarında gerçekteştirilecek olan çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

Literatürde KHB hastalığının çeşitli biyomarkerlarla ilişkisini inceleyen çeşitli çalışmalar mevcut olmasına rağmen, doğrudan HBV DNA düzeyi ile çeşitli belirteçlerin ilişkisini inceleyen çalışmalar kısıtlıdır. Bu çalışma ile kontrol grubu ve ağır viral yüke sahip gruplar arasında serum hepsidin seviyelerinde anlamlı farklılık belirlendi. PTX-3 düzeylerinin kontrol ve hasta grubu arasındaki farklılık anlamlıydı. Ağır viral yüke sahip grup ile diğer üç grup arasında kopeptin seviyeleri açısından anlamlı farklılık tespit edildi. Serum hepsidin, PTX-3 düzeyleri ile HBV DNA düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptanırken serum kopeptin ve HBV DNA seviyeleri arasında negatif korelasyon saptandı. KHB tanılı hastalarda serum hepsidin ve PTX-3, hepsidin ve kopeptin miktarları arasında pozitif korelasyon saptandı.

6.2. Öneriler

KHB tanılı hastaların prognozu hakkında bilgi verebilecek olan, daha pratik ve daha az maliyetli ELISA testleriyle tespit edilebilen ve gelecek vadede çeşitli biyomarkerlarla ilgili önemli ipuçları elde edilmiştir. Daha geniş hasta popülasyonlarının dahil edildiği, hasta grubu olarak daha ayrıntılı kategorize edilmiş çalışmalar bu ipuçlarının teyidi açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Abudeif A**, Hashim MS, Ahmed NM, Ahmed AO. Serum copeptin is associated with major complications of liver cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *Clin Exp Hepatol*. 2023;9(1):71-8.
- Acher R**, Chauvet J, Rouille Y. Dynamic processing of neuropeptides: sequential conformation shaping of neurohypophysial preprohormones during intraneuronal secretory transport. *J Mol Neurosci*. 2002;18:223-8.
- Afdhal NH**, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *Am J Gastroenterol*. 2004;99(6):1160-74. doi: 10.1111/j.1572-0241.2004.30110.x.
- Akhan S**, Aynoğlu A, Çağatay A, Gonen İ, Gunal Ö, Kaynar T, ark. Kronik Hepatit B Virüsü İnfeksiyonunun Yönetimi: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği Viral Hepatit Çalışma Grubu Uzlaşı Raporu. *Klimik Derg*. 2014;27(1):2-18.
- Akkuş S**, Cihan M, Akçin R, Özbey D, Dinç H, Sarp TZ, ark. Farklı klinik yakınmalı hastalarda izole hepatit b kor antikoru (İzole Anti-Hbc) pozitifliğinin retrospektif değerlendirilmesi. *TMC Derg*. 2021;51(3):263-71.
- Altundiş M**. Kronik Hepatitlerde Güncel Tanı Testleri. *In: Güner R, Tabak F, eds. Viral Hepatit 2018*. 1.Baskı. İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic.Ltd.şti. 2018:75-92.
- Altundiş M**, Yoldaş Ö. Viral Hepatitlerin Tanısında Serolojik ve Moleküler Testler. *In: Tabak F, Tosun S, eds. Viral Hepatit 2013*. 1.baskı. İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic.Ltd.şti. 2013:161-80.
- Andriopoulos B Jr**, Corradini E, Xia Y, Faasse SA, Chen S, Grgurevic L, et al. BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nat Genet*. 2009; 41(4):482-7.
- Ataman Hatipoğlu Ç**. Karaciğer Testleri ve Klinik Kullanımları. *In: Güner R, Tabak F eds. Viral Hepatit 2018*. 1.Baskı. İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic.Ltd.şti. 2018:57-73.
- Balin řÖ**, Cabalak M, Sağmak Tartar A, Kazancı Ü, Telo S, Demirdağ K, ark. Pentraxin-3: A Novel Marker for Indicating Liver Fibrosis in Chronic Hepatitis B Patients? *Turk J Gastroenterol*. 2021;32(7):581-585. doi: 10.5152/tjg.2020.19378. PMID: 34464321; PMCID: PMC8975501.
- Bastrup-Birk S**, Skjoedt MO, Munthe-Fog L, Strom JJ, Ma YJ, Garred P. Pentraxin-3 serum levels are associated with disease severity and mortality in patients with systemic inflammatory response syndrome. *PLoS One*. 2013;8(9):e73119.
- Beck J**, Nassal M. Hepatitis B virüs replication. *World J Gastroenterol*. 2007;13(1):48-64. doi: 10.3748/wjg.v13.i1.48. PMID: 17206754; PMCID: PMC4065876.
- Blesl A**, Jünger C, Lammert F, Fauler G, Rainer F, Leber B, et al. Secondary Sclerosing Cholangitis in Critically Ill Patients Alters the Gut-Liver Axis: A Case Control Study. *Nutrients*. 2020;7;12(9):2728. doi: 10.3390/nu12092728. PMID: 32906634; PMCID: PMC7551864
- Blumberg BS**, Sutnick AI, London WT. Australia antigen as a hepatitis virus. Variation in host response. *Am J Med*. 1970;48(1):1-8. .
- Bottazzi B**, Inforzato A, Messa M, Barbagallo M, Magrini E, Garlanda C, et al. The pentraxins PTX3 and SAP in innate immunity, regulation of inflammation and tissue remodelling. *J Hepatol*. 2016;64(6):1416-27.

- Bowyer SM**, Sim JGM and Webber, LM . Current Laboratory Diagnosis of hepatitis B virus infection including eight years of retrospective laboratory data. *CME The SA Journal of CPD*. 2011;29:210-3.
- Caballero A**, Taberero D, Buti M, Rodriguez-Frias F. Hepatitis B virus: The challenge of an ancient virus with multiple faces and a remarkable replication strategy. *Antiviral Res*. 2018;158:34-44.
- Chan HL**, Wong VW, Tse AM, Tse CH, Chim AML, Chan HY et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5:1462-8.
- Chang JJ**, Lewin SR. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Immunol Cell Biol*. 2007;85(1):16-23. doi: 10.1038/sj.icb.7100009.
- Chawla LS**, Beers-Mulroy B, Tidmarsh GF. Therapeutic Opportunities for Hepcidin in Acute Care Medicine. *Crit Care Clin*. 2019;35(2):357-74.
- Chen CJ**, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*. 2006;295:65-73.
- Chen CY**, Winer BY, Chavez D, Guerra B, Brasky KM, Eng S, et al. Woolly Monkey-HBV Infection in Squirrel Monkeys as a Surrogate Nonhuman Primate Model of HBV Infection. *Hepatology Commun*. 2020;4:371–386.
- Chevaliez S**, Pawlotsky JM. Diagnosis and management of chronic viral hepatitis: antigens, antibodies and viral genomes. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2008;22:1031-48.
- Chieochansin T**, Chutinimitkul S, Payungporn S, Theamboonlers A, Tangkijvanich P, Komolmit P, et al. Rapid detection of lamivudine-resistant hepatitis B virus mutations by PCR-based methods. *Tohoku J Exp Med*. 2006;210:67-78.
- Cornberg M**, Wong VW-S, Locarnini S, Brunetto M, Janssen HL, Chan HL-Y. The role of quantitative hepatitis B surface antigen revisited. *J Hepatol*. 2017;66(2):398-411.
- Coyne DW**. Hepcidin: clinical utility as a diagnostic tool and therapeutic target. *Kidney Int*. 2011;80(3):240-4. doi: 10.1038/ki.2011.141.
- Croagh CM**, Desmond PV, Bell SJ. Genotypes and viral variants in chronic hepatitis B: A review of epidemiology and clinical relevance. *World J Hepatol*. 2015; 7(3): 289-303.
- Çalgın MK**, Cetinkol Y. Decreased levels of serum zonulin and copeptin in chronic Hepatitis-B patients. *Pak J Med Sci*. 2019;35(3):847-51. doi: 10.12669/pjms.35.3.144.
- Danta M**. Hepatitis B virus testing and interpreting test results. B positive -All you wanted to know about Hepatitis B: A Guide for primary care providers. *Australasian Society for HIV Medicine*. 2014:1-66.
- Datta S**, Chatterjee S, Veer V. Recent advances in molecular diagnostics of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol*. 2014;20:14615-25.
- Davoodi SN**, Minoof F. The correlation Between Copeptin and Volume Status in Chronic Hemodialysis Patients. *Iran J Kidney Dis*. 2022;16 (5):298-303.
- Deng H**, Fan X, Wang X, Zeng L, Zhang K, Zhang X, et al. Serum pentraxin 3 as a biomarker of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus infection. *Sci Rep*. 2020;10(1):20276.
- Dény P**, Zoulim F. Hepatitis B virus: from diagnosis to treatment. *Pathol Bio*. 2010;58:245-53. doi: 10.1016/j.patbio.2010.05.002.

- Desmet VJ**, Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, et al. Formulation and Application of a Numerical Scoring System for Assessing Histological Activity in Asymptomatic Chronic Active Hepatitis. *J Hepatol*. 2003;38(4):382-6.
- Doni A**, Stravalaci M, Inforzato A, Magrini E, Mantovani A, Garlanda C, et al. The Long Pentraxin PTX3 as a Link Between Innate Immunity, Tissue Remodeling, and Cancer. *Front Immunol*. 2019;4;10:712.
- Dündar İ**, İnal AS. Geçmişten günümüze viral hepatitler. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E, eds. *Viral Hepatit* 2005. 1. Baskı. İstanbul: Ohan Matbaası, 2005:10-20.
- Ede H**, Karaçavuş S, Göçmen AY, Yaylak B, Akkaya S, Açıkgöz B, ark. Serumcopeptin level can be helpful biomarker in evaluation of myocardial perfusionscintigraphy results. *Cardiol J*. 2016; 23(1):71-7.
- Erreni M**, Manfredi AA, Garlanda C, Mantovani A, Rovere-Querini P. The long pentraxin PTX3: A prototypical sensor of tissue injury and a regulator of homeostasis. *Immunol Rev*. 2017;280(1):112–25
- European Association** for the Study of the Liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017;67(2):370-98.
- Ezzikouri S**, Ozawa M, Kohara M, Elmdaghri N, Benjelloun S, Tsukiyama-Kohara K. Recent insights into hepatitis B virus-host interactions. *J Med Virol*, 2014;86:925-32.
- Fasano A**. Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10(10):1096-100.
- Fasano A**. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev*. 2011;91(1):151-75.
- Fasano A**, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti I, Tommasini A, et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *The Lancet*. 2000;355(9214):1518-19.
- Feder S**, Haberl EM, Spirk M, Weiss TS, Wiest R, Buechler C. Pentraxin-3 is not related to disease severity in cirrhosis and hepatocellular carcinoma patients. *Clin Exp Med*. 2020;20(2):289-97.
- Ferrucci L**, Semba RD, Guralnik JM, Ershler WB, Bandinelli S, Patel KV, et al. Proinflammatory state, hepcidin, and anemia in older persons. *Blood*. 2010;115(18):3810-6.
- Galesloot TE**, Vermeulen SH, Geurts-Moespot AJ, Klaver SM, Kroot JJ, van Tienoven D, Wetzels JF, et al. Serum hepcidin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood*. 2011;117(25):e218-25.
- Ganem D**, Prince AM. Hepatitis B Virus Infection-Natural History and Clinical Consequences. *N Engl J Med*. 2004;350(11):1118-29.
- Ganz T**, Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*. 2003;102 (3):783–8.
- Ganz T**. Hepcidin a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2005;18(2):171-82.
- Ganz T**, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood*. 2008;112(10):4292-7.
- Giacomini A**, Ghedini GC, Presta M, Ronca R. Long pentraxin 3: A novel multifaceted player in cancer. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer*. 2018;1869(1):53-63.
- Glebe D**, Urban S. Viral and cellular determinants involved in hepadnaviral entry. *World J Gastroenterol*. 2007;13(1):22-38.

- Goodman ZD.** Grading and Staging Systems for Inflammation and Fibrosis in Chronic Liver Diseases. *J Hepatol.* 2007;47(4):598-607.
- Guirgis BS, Abbas RO, Azzazy HM.** Hepatitis B virus genotyping: current methods and clinical implications. *Int J Infect Dis.* 2010;14(11):941-53.
- Günaştı N, Balcı Ş, Lütüfer T.** Mersin Univ Sağlık Bilim Derg. 2017;10(1):65-71.
- Hamed S, Behnes M, Pauly D, Lepiorz D, Barre M, Becher T, et al.** Diagnostic value of Pentraxin-3 in patients with sepsis and septic shock in accordance with latest sepsis-3 definitions. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):554.
- Han Q, Deng H, Fan X, Wang X, Zhang X, Zhang K, et al.** Increased Serum Pentraxin 3 Levels are Associated with Poor Prognosis of Hepatitis B Virus-Related Hepatocellular Carcinoma. *J Hepatocell Carcinoma.* 2021;8:1367-73.
- Hayashi N, Mita E.** Involvement of Fas system-mediated apoptosis in pathogenesis of viral hepatitis. *J Viral Hepat.* 1999;6(5):357-65.
- He X, Han B, Liu M.** Long pentraxin 3 in pulmonary infection and acute lung injury. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol.* 2007;292(5):1039-49.
- Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C.** Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. *Cell.* 2010;142(1):24–38.
- Holmes CL, Landry DW, Granton JT.** Science review: vasopressin and the cardiovascular system part 1—receptor physiology. *Crit Care.* 2003;7:427–34.
- Hou J, Liu Z, Gu F.** Epidemiology and Prevention of Hepatitis B Virus Infection. *Int J Med Sci.* 2005;2(1):50-7. doi: 10.7150/ijms.2.50.
- Hsu CF, Lin MW, Huang CC, Li TH, Liu CW, Huang SF, et al.** Roles and mechanisms of circulating CEACAM1 in the cirrhosis-related intestinal hyperpermeability: in vitro approach. *J Chin Med Assoc.* 2021;84(9):851-9.
- Hu J, Liu K.** Complete and Incomplete Hepatitis B Virus Particles: Formation, Function, and Application. *Viruses.* 2017;9(3):56.
- Huang CF, Lin SS, Ho YC, Chen FL, Yang CC.** The immune response induced by hepatitis B virus principal antigens. *Cell Mol Immunol.* 2006;3(2):97-106.
- Huang P, Wang J, Lin X, Yang FF, Tan JH.** Effects of IL-10 on iron metabolism in LPS-induced inflammatory mice via modulating hepcidin expression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(15):3469-75.
- Huttunen R, Hurme M, Aittoniemi J, Huhtala H, Vuento R, Laine J, et al.** High plasma level of long pentraxin 3 (PTX3) is associated with fatal disease in bacteremic patients: a prospective cohort study. *PLoS One.* 2011;6(3):e17653.
- Ilkowska B, Kotevska B, Trifunov G, Kanazirev B.** Serum Hepcidin Reference Range, Gender Differences, Menopausal Dependence And Biochemical Correlates In Healthy Subjects. *J of IMAB* 2016;22(2):1127-31.
- Inforzato A, Doni A, Barajon I, Leone R, Garlanda C, Bottazzi B, et al.** PTX3 as a paradigm for the interaction of pentraxins with the Complement system. *Semin Immunol.* 2013;25(1):79–85.
- Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al.** Histological Grading and Staging of Chronic Hepatitis. *J Hepatol.* 1995;22(6):696-9.

- İlgezdi İ**, Şener U, Öcek L, Köse Ş, Sarıteke A, Tokuçoğlu F. Copeptin Levels in Clinically Silent Multiple Sclerosis. *Turk J Neurol*. 2022;28(4):237-41.
- İnan N**, Tabak F. Hepatit B Virüsü ve İmmünopatogenez. In: Güner R, Tabak F, editors. *Viral Hepatit 2018*. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri; 2018:157-65.
- Jilbert AR**, Burrell CJ, Triatni M, Kann M. Hepatitis B Virus Replication. In: Lai CL, Locarnini S eds. *Hepatitis B virüs*, London: International Medical Press. 2002:43-53.
- Kao JH**. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2008;2:553-62.
- Kao JH**, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2000;118(3):554-9
- Katan M**, Morgenthaler N, Widmer I, Puder JJ, König C, Müller B, et al. Copeptin, a stable peptide derived from the vasopressin precursor, correlates with the individual stress level. *Neuro Endocrinol Lett*. 2008;29:341-6.
- Kemna EH**, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Hepsidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica*. 2008;93(1):90-7.
- Kim BK**, Revill PA, Ahn SH. HBV genotypes: relevance to natural history, pathogenesis and treatment of chronic hepatitis B. *Antivir Ther*. 2011;16(8):1169-86
- Koziel MJ**. Immunology of viral hepatitis. *Am J Med*. 1996;100(1):98-109. doi: 10.1016/s0002-9343(96)90018-2. PMID: 8579095.
- Kozioł JA**, Ho NJ, Felitti VJ, Beutler E. Reference centiles for serum ferritin and percentage of transferrin saturation, with application to mutations of the HFE gene. *Clin Chem*. 2001;47(10):1804-10.
- Krajden M**, McNabb G, Petric M. The laboratory diagnosis of hepatitis B virus. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005;16(2):65-72.
- Külah C**, Yalınay Çırak M. Ankara bölgesindeki hepatit B virus genotiplerinin DNA analizi yöntemi ile belirlenmesi. *Mikrobiyol Bül*. 2010;44(2):245-53.
- Kwapisz J**, Slomka A, Zekanowska E. Hepsidin and Its Role in Iron Homeostasis. *EJIFCC*. 2009;25;20(2):124-8. PMID: 27683336; PMCID: PMC4975279.
- Lampertico P**, Agarwal K, Berg T, Buti M, Janssen HLA, Papatheodoridis G, et al. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017;67(2):370-98.
- Larsson A**, Ronquist G, Åkerfeldt T. Lifestyle intervention is associated with decreased concentrations of circulating pentraxin 3 independent of CRP decrease. *Ups J Med Sci*. 2013;118(3):165-8.
- Lee WM**. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med*. 1997;337(24):1733-45. doi: 10.1056/NEJM199712113372406.
- Lefkowitz JH**. Liver Biopsy Assessment in Chronic Hepatitis. *Arch Med Res*. 2007;38(6):634-43. doi: 10.1016/j.arcmed.2006.08.005.
- Levinson WE**, Chin-Hong P, Joyce EA, Nussbaum J, Schwartz B. Review of Medical Microbiology and Immunology. 16 ed: McGraw Hill Professional; 2022. 335-348.
- Lin D**, Ding J, Liu JY, He YF, Dai Z, Chen CZ, et al. Decreased serum hepcidin concentration correlates with brain iron deposition in patients with HBV-related cirrhosis. *PLoS One*. 2013;8(6):e65551.

- Locarnini S.** Molecular virology of hepatitis B virus. *Semin Liver Dis.* 2004;24(1):3-10. doi: 10.1055/s-2004-828672.
- Lukaszyc E, Malyszko J.** Copeptin: Pathophysiology and potential clinical impact. *Adv Med Sci.* 2015;60(2):335-41.
- Lyberopoulou A, Chachami G, Gatselis NK, Kyrtzopoulou E, Saitis A, Gabeta S, et al.** Low Serum Hecpidin in Patients with Autoimmune Liver Diseases. *PLoS One.* 2015;10(8):e0135486.
- Magrini E, Mantovani A, Garlanda C.** The Dual Complexity of PTX3 in Health and Disease: A Balancing Act? *Trends Mol Med.* 2016;22(6):497–510.
- Mahtab MA, Rahman S, Khan M, Karim F.** Hepatitis B virus genotypes: an overview. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2008;7(5):457-64.
- Mantovani A, Garlanda C, Bottazzi B.** Pentraxin 3, a non-redundant soluble pattern recognition receptor involved in innate immunity. *Vaccine.* 2003;21(2):43-7.
- Martino M, Arnaldi G.** Copeptin and Stress. *Endocrines.* 2021;2(4):384-404.
- Mason WS, Gill US, Litwin S, Zhou Y, Peri S, Pop O, Hong ML, et al.** HBV DNA Integration and Clonal Hepatocyte Expansion in Chronic Hepatitis B Patients Considered Immune Tolerant. *Gastroenterology.* 2016;151(5):986-98.
- Mast EE, Margolis HS, Fiore AE, Brink EW, Goldstein ST, Wang SA, Moyer LA, et al.** A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children, and adolescents. *MMWR Recomm Rep.* 2005;54(RR-16):1-31.
- McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Heyward WL, Bender TR, Francis DP, et al.** Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis.* 1985;151(4):599-603.
- Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A.** Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. *Clin Chem.* 2006;52(1):112-9.
- Morgenthaler NG, Struck J, Jochberger S, Dünser MW.** Copeptin: clinical use of a new biomarker. *Trends Endocrinol Metab.* 2008;19(2):43-9.
- Mousavi MT, Haghshenas MR, Rafiei A, Navaei RA, Khah ZH.** Hepatitis B virus genotypes distribution with HBsAg positive in the north of Iran (Mazandaran) during 2011-2014. *Med Arch.* 2014;68(6):376-80.
- Narciso-Schiavon JL, Pereira JG, Silva TE, Bansho ETO, Morato EF, Pinheiro JT, et al.** Circulating levels of pentraxin-3 (PTX3) in patients with liver cirrhosis. *Ann Hepatol.* 2017;16(5):780-7.
- Nassal M.** HBV cccDNA: viral persistence reservoir and key obstacle for a cure of chronic hepatitis B. *Gut.* 2015;64(12):1972-84. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309809.
- Nemeth E, Ganz T.** Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annu Rev Nutr.* 2006;26:323–42. doi: 10.1146/annurev.nutr.26.061505.111303.
- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al.** Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science.* 2004;17;306(5704):2090-3.
- Nguyen MH, Wong G, Gane E, Kao JH, Dusheiko G.** Hepatitis B Virus: Advances in Prevention, Diagnosis, and Therapy. *Clin Microbiol Rev.* 2020;33(2):e00046-19.
- Nguyen T, Thompson AJ, Bowden S, Croagh C, Bell S, Desmond PV, Levy M, et al.** Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: a perspective on Asia. *J Hepatol.* 2010;52(4):508-13.

- Nicolas G**, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest*. 2002;110(7):1037–44.
- Oon GC**. Viral hepatitis--the silent killer. *Ann Acad Med Singap*. 2012;41(7):279-80. PMID: 22892603.
- Ortega-Hernandez OD**, Bassi N, Shoenfeld Y, Anaya JM. The Long Pentraxin 3 and Its Role in Autoimmunity. *Semin Arthritis Rheum*. 2009;39(1):38–54.
- Ott JJ**, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine*. 2012;30(12):2212-9.
- Ozacar T**, Sayiner A. Hepatit B Virüsü. Edt; Wilke Topcu A, Soyletir G, Doganay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 4. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri 2017; 1670-86.
- Pandur E**, Nagy J, Poór VS, Sarnyai A, Huszár A, Miseta A, et al. Alpha-1 antitrypsin binds preprohepcidin intracellularly and prohepcidin in the serum. *FEBS J*. 2009;276(7):2012-21.
- Pietrukaniec M**, Migacz M, Żak-Gołąb A, Olszanecka-Glinianowicz M, Chudek J, Duława J, et al. Zonulin Family Peptide Levels in Ascites and Serum in Patients with Liver Cirrhosis: A Preliminary Study. *Dis Markers*. 2019;5;2019:2804091.
- Polaris Observatory Collaborators**. Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3(6):383–403.
- Ponziani FR**, Bhoori S, Castelli C, Putignani L, Rivoltini L, Del Chierico F, et al. Hepatocellular Carcinoma Is Associated With Gut Microbiota Profile and Inflammation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*. 2019;69(1):107-20.
- Pourkarim MR**, Amini-Bavil-Olyae S, Kurbanov F, Van Ranst M, Tacke F. Molecular identification of hepatitis B virus genotypes/ subgenotypes: revised classification hurdles and updated resolutions. *World J Gastroenterol*. 2014;20(23):7152-68.
- Purcell RH**. The discovery of the hepatitis viruses. *Gastroenterology*. 1993;104(4):955-63. doi: 10.1016/0016-5085(93)90261-a.
- Raffetti E**, Fattovich G, Donato F. Incidence of hepatocellular carcinoma in untreated subjects with chronic hepatitis B: a systematic review and meta-analysis. *Liver Int*. 2016;36(9):1239-51. doi: 10.1111/liv.13142. Epub 2016 May 22. PMID: 27062182.
- Raparelli V**, Basili S, Carnevale R, Napoleone L, Del Ben M, Nocella C, et al. Low-grade endotoxemia and platelet activation in cirrhosis. *Hepatology*. 2017;65(2):571-581. doi: 10.1002/hep.28853.
- Rajoriya N**, Combet C, Zoulim F, Janssen HLA. How viral genetic variants and genotypes influence disease and treatment outcome of chronic hepatitis B. Time for an individualised approach? *J Hepatol*. 2017;67(6):1281-97. doi: 10.1016/j.jhep.2017.07.011. Epub 2017 Jul 21. PMID: 28736138.
- Rittirsch D**, Flierl MA, Nadeau BA, Day DE, Huber-Lang MS, Grailer JJ, et al. Zonulin as prehaptoglobin2 regulates lung permeability and activates the complement system. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2013;304(12):863-72. doi: 10.1152/ajplung.00196.2012.
- Ross AC**. Impact of chronic and acute inflammation on extra- and intracellular iron homeostasis. *Am J Clin Nutr*. 2017;106(6):1581-1587.
- Roussel R**, Fezeu L, Marre M, Velho G, Fumeron F, Jungers P, et al. Comparison between copeptin and vasopressin in a population from the community and in people with chronic kidney disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(12):4656-63. doi: 10.1210/jc.2014-2295.

- Sapone A**, de Magistris L, Pietzak M, Clemente MG, Tripathi A, Cucca F, et al. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes*. 2006;55(5):1443-9. doi: 10.2337/db05-1593. PMID: 16644703.
- Schaefer S**. Hepatitis B Virus Taxonomy and Hepatitis B Virus Genotypes. *World J Gastroenterol*. 2007;13(1):14-21. doi: 10.3748/wjg.v13.i1.14. PMID: 17206751; PMCID: PMC4065870.
- Schoen T**, Hohmann EM, Van Der Lely S, Aeschbacher S, Reusser A, Risch M, et al. Plasma copeptin levels and ambulatory blood pressure characteristics in healthy adults. *J Hypertens*. 2015;33(8):1571-9. doi: 10.1097/HJH.0000000000000610. PMID: 26103126.
- Seeger C**, Mason WS. Molecular biology of hepatitis B virus infection. *Virology*. 2015;479-480:672-86. doi: 10.1016/j.virol.2015.02.031.
- Serek P**, Oleksy-Wawrzyniak M. The Effect of Bacterial Infections, Probiotics and Zonulin on Intestinal Barrier Integrity. *Int J Mol Sci*. 2021;22(21):11359. doi: 10.3390/ijms222111359. PMID: 34768787; PMCID: PMC8583036.
- Servoss JC**, Friedman LS. Serologic and molecular diagnosis of hepatitis B virus. *Infect Dis Clin North Am*. 2006;20(1):47-61.
- Seyec J**, Chouteau P, Cannie I, Guguen-Guillouzo C, Gripon P. Infection process of the hepatitis B virus depends on the presence of a defined sequence in the pre-S1 domain. *J Virol*. 1999;73(3):2052-7.
- Song JE**, Kim DY. Diagnosis of hepatitis B. *Ann Transl Med*. 2016;4(18):338. doi: 10.21037/atm.2016.09.11. PMID: 27761442; PMCID: PMC5066055.
- Steinbicker AU**, Muckenthaler MU. Out of balance--systemic iron homeostasis in iron-related disorders. *Nutrients*. 2013;5(8):3034-61.
- Sümer Ş**, Ural O. Akut Viral Hepatitler. In: Topcu Willke Ayşe, Söyletir Güner, Doğanay Mehmet, editors. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyolojisi*. 4th ed. İstanbul; 2017.1081–2.
- Sünbül M**. Hepatitis B virus genotypes: global distribution and clinical importance. *World J Gastroenterol*. 2014;20(18):5427-34.
- Tabak F**, Yurdaydın C, Idilman R. Viral Hepatitis Guidelines Study Group. Diagnosis, management and treatment of hepatitis B virus infection: Turkey 2017 Clinical Practice Guidelines. *Turk J Gastroenterol* 2017;28(2):73-83.
- Tapias JM**, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodés J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology*. 2002;123(6):1848-56.
- Tawfik AK**, Helmy A, Yousef M, Abou-Saif S, Kobtan A, Asaad E, et al. Copeptin as a novel marker predicting prognosis of liver cirrhosis and its major complications. *Hepat Med*. 2018;10:87-93. doi: 10.2147/HMER.S174267. PMID: 30214326; PMCID: PMC6128273.
- T.C. Sağlık Bakanlığı**. Türkiye Viral Hepatit Önleme ve Kontrol Programı 2018-2023. Ankara. 2018.
- Terrault NA**, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH; American Association for the Study of Liver Diseases. AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2016;63(1):261-83. doi: 10.1002/hep.28156. Epub 2015 Nov 13. PMID: 26566064; PMCID: PMC5987259.
- Terrault NA**, Lok AS, McMahon BJ, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology*. 2018;67(4):1560-1599.

- Tezcan S**, Ülger M, Üçbilek E, Aslan G, Serin MS, Sezgin O. Mersin ilinde hepatit B virus genotip D ile kronik enfekte hastalarda bazal kor promotor/ prekor gen bölgesi mutasyonlarının karakterizasyonu. *Mikrobiyol Bül.* 2015; 49(3): 377-92.
- Thio CL**, Hawkins C. Hepatitis B virüs and hepatitis delta virüs. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier, 2015:1815-39.
- Thomas D**, Zoulim F. New challenges in viral hepatitis. *Gut*. 2012;61(1):1-5. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302122. PMID: 22504915.
- Thompson AJ**, Nguyen T, Iser D, Ayres A, Jackson K, Littlejohn M, et al. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. *Hepatology*. 2010;51(6):1933-44. doi: 10.1002/hep.23571. PMID: 20512987.
- Tosun S**. Dünyada ve Türkiye'de Viral Hepatit B Epidemiyolojisi. In: Güner R, Tabak F, editors. *Viral Hepatit* 2018. 1 ed. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri; 2018:13-32.
- Tsukuda S**, Watashi K. Hepatitis B virus biology and life cycle. *Antiviral Res.* 2020 Oct;182:104925. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104925.
- Tütüncü E**. Hepatit B Enfeksiyonu İmmünpatogenez. Kandemir Ö, A D, editors: *Hepatit B'den D'ye Güncel*. Viral Hepatitle Savaşım Derneği.2015;(1):28-40.
- Urban S**, Schulze A, Dandri M, Petersen J. The replication cycle of hepatitis B virus. *J Hepatol.* 2010;52(2):282-4. doi: 10.1016/j.jhep.2009.10.031.
- Quigley MA**, Kelly YJ, Sacker A. Breastfeeding and hospitalization for diarrheal and respiratory infection in the United Kingdom Millennium Cohort Study. *Pediatrics*. 2007;119(4):837-42.
- Van Hecke E**, Paradijs J, Molitor C, Bastin C, Pala P, Slaoui M, et al. Hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocyte responses in patients with acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 1994;20(4):514-23. doi: 10.1016/s0168- 8278(05)80499-4.
- Varbobitis I**, Papatheodoridis GV. The assessment of hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B under antiviral therapy. *Clin Mol Hepatol.* 2016;22(3):319-26. doi: 10.3350/cmh.2016.0045.
- Varghese J**, Varghese James J, Karthikeyan M, Rasalkar K, Raghavan R, Sukumaran A, et al. Iron homeostasis is dysregulated, but the ironhepcidin axis is functional, in chronic liver disease. *J Trace Elem Med Biol* 2020;58:126442.
- Wai CT**, Chu CJ, Hussain M, Lok AS. HBV genotype B is associated with better response to interferon therapy in HBeAg(+) chronic hepatitis than genotype C. *Hepatology*. 2002;36(6):1425-30. doi: 10.1053/jhep.2002.37139. PMID: 12447868.
- Wang J**, Dong A, Liu G, Anderson GJ, Hu TY, Shi J, et al. Correlation of serum hepcidin levels with disease progression in hepatitis B virus-related disease assessed by nanopore film based assay. *Sci Rep.* 2016;6:34252. doi: 10.1038/srep34252.
- Wang X**, Li MM, Niu Y, Zhang X, Yin JB, Zhao CJ, et al. Serum Zonulin in HBV-Associated Chronic Hepatitis, Liver Cirrhosis, and Hepatocellular Carcinoma. *Dis Markers*. 2019;2019:5945721. doi: 10.1155/2019/5945721. PMID: 31485278; PMCID: PMC6710742.
- Wang XH**, Cheng PP, Jiang F, Jiao XY. The effect of hepatitis B virus infection on hepcidin expression in hepatitis B patients. *Ann Clin Lab Sci.* 2013;43(2):126-34. PMID: 23694786.
- Wang W**, Uzzau S, Goldblum SE, Fasano A. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *J Cell Sci.* 2000;113 Pt 24:4435-40. doi: 10.1242/jcs.113.24.4435. PMID: 11082037.

- WHO.** Hepatitis B 2020. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b> (Erişim tarihi: 25.12.2023).
- Wrighting DM,** Andrews NC. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood.* 2006;108(9):3204-9. doi: 10.1182/blood-2006-06-027631. Epub 2006 Jul 11. PMID: 16835372; PMCID: PMC1895528.
- Yamasaki K,** Kurimura M, Kasai T, Sagara M, Kodama T, Inoue K. Determination of physiological plasma pentraxin 3 (PTX3) levels in healthy populations. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(4):471-7. doi: 10.1515/CCLM.2009.110. PMID: 19327124.
- Yang R,** Song G, Guan W, Wang Q, Liu Y, Wei L. The Lumipulse G HBsAg-Quant assay for screening and quantification of the hepatitis B surface antigen. *J Virol Methods.* 2016;228:39-47. doi: 10.1016/j.jviromet.2015.11.016.
- Yuen MF,** Chen DS, Dusheiko GM, Janssen HLA, Lau DTY, Locarnini SA, et al. Hepatitis B virus infection. *Nat Rev Dis Primers.* 2018;4:18035. doi: 10.1038/nrdp.2018.35. PMID: 29877316.
- Zeng AZ,** Deng H, Yang C, Xin XJ, Li QL, Guo JJ, et al. Hepatitis B virus genotype-associated variability in antiviral response to adefovir dipivoxil therapy in Chinese Han population. *Tohoku J Exp Med.* 2008;216(3):205-11. doi: 10.1620/tjem.216.205. PMID: 18987454.
- Zhang Q,** Cao G. Genotypes, mutations, and viral load of hepatitis B virus and the risk of hepatocellular carcinoma: HBV properties and hepatocarcinogenesis. *Hepat Mon.* 2011; 11(2): 86-91.
- Zhou Y,** Holmes EC. Bayesian estimates of the evolutionary rate and age of hepatitis B virus. *J Mol Evol.* 2007;65(2):197-205.