

Hepatit B Virüs İnfeksiyonunun Çeşitli Klinik Formlarında IL-18, TGF- β_1 , TNF- α , MMP-2 ve MMP-9 Serum Düzeylerinin Karşılaştırılması

Saner İKİZ, Can Polat EYİGÜN, Ömer COŞKUN, Hanefi Cem GÜL

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Hepatit B virüs (HBV) infeksiyonunun gelişmesi, ilerlemesi ve yüksek morbiditesi nedeni ile periyodik olarak izlenmesi gerektiği kabul edilmektedir. Zamanında tanı ve uygun güvenilir bir izleme tedavi açısından doğru bir zamanlama yapılabilmektedir. Çalışmamızda HBV infeksiyonlu hastalardan farklı klinik formlarda dört ayrı grup ve sağlıklı kişilerden ayrı bir grup oluşturuldu. Gruplar; sağlıklı kontrol grubu (15), taşıyıcı (13), akut HBV infeksiyonlu (13), kronik HBV infeksiyonlu (12) ve sirozlu (12) hasta olmak üzere toplam 65 kişiden oluşuyordu. Grupları oluştururken, serum ALT, AST ve HBV-DNA düzeyleri, biyopsi sonucu ortaya konmuş karaciğer histopatolojisi ve klinik gözlem sonuçları esas alındı. Gruplardan aldığımız serum örneklerinde birer sitokin olan IL-18, TGF- β_1 , TNF- α ile ekstraselüler protein olan MMP-2 ve MMP-9'un serum seviyeleri çalışıldı ve serum seviyeleri gruplar arasında karşılaştırıldı. Çıkan sonuçlar doğrultusunda HBV infeksiyonunun değişik klinik formlarının tanı ve izleminde, çalıştığımız parametrelerin kullanılmasının faydalı olabileceği kanısına vardık.

Anahtar Kelimeler: HBV, IL-18, TGF- β_1 , TNF- α , MMP-2, MMP-9.

SUMMARY

Comparison of IL-18, TGF- β_1 , TNF- α , MMP-2 and MMP-9 Serum Levels in Different Clinical Forms of Hepatitis B Virus Infections

Hepatitis B virus (HBV) infection should be followed periodically due to its nature, progression and morbidity. Timing of diagnosis, appropriate and reliable follow-up is the main issues of treatment. Here in this study, we described the study groups as, four different clinical groups with healthy controls. Total of 65 cases whom have been grouped as healthy control groups (15), carriers (13), acute HBV infected cases (13), chronic HBV infected cases (12) and cirrhotic cases (12). All cases underwent serum ALT, AST, HBV (DNA) measurement. Chronic and cirrhotic cases underwent liver biopsy and clinical follow-up results included to the study. IL-18, TGF- β_1 , TNF- α , MMP-2 and MMP-9 have been measured from patient's serum and compared between study groups. As a conclusion, we believe

eved that IL-18, TGF- β_1 , TNF- α , MMP-2 and MMP-9 might be used for different clinical forms of hepatitis in order to diagnosis and follow-up of the diseases.

Key Words: HBV, IL-18, TGF- β_1 , TNF- α , MMP-2, MMP-9.

GİRİŞ

Hepatit B virüs (HBV) infeksiyonu dünyadaki en yaygın infeksiyonlardan biridir (1). Önemli bir toplumsal sorun olan HBV infeksiyonu, araştırmacıları; hastalığın tanı ve izleminde yeni yöntemlerin belirlenmesi yönünde yoğun çalışmaya sevk etmiştir.

Sitokinler karaciğerde devam eden büyüme ve rejenerasyon, viral karaciğer hastalığı gibi inflamatuvar süreçler, karaciğer fibrozisi ve siroz gibi fizyolojik ve patolojik süreçlerin koordinasyonunu sağlar. Karaciğer büyüme ve rejenerasyonu çeşitli sitokinlerce regüle edilir (2).

İnterlökin (IL)-18 bilinen 27 adet IL'den biridir. HBV infeksiyonunun kendi kendini sınırlaması sırasında; HBV replikasyonunun kontrolünü desteklediği yönünde ve kronik hepatit hastalarının tedavi süreçleri sırasında, tedavi edici ve hastalığın prognozunda olumlu yönde etkileri olabileceğine dair bilgiler mevcuttur (3).

Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), aktive makrofajlar, B lenfositler ve natural killer (NK) hücrelerince salınırlar. Yapılan hayvan çalışmalarında hepatoselüler nekrozda TNF- α 'nın önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Klinik gözlemler TNF- α serum seviyeleri ile klinik tablo ve prognoz arasında korelasyon olduğunu göstermiştir (4).

“Transforming growth faktör-beta₁ (TGF- β_1)” istirahat halinde olan hücrelerle aktive olmuş hücrelere farklı etki yapar. İstirahat halinde veya immatür hücreleri stimüle ederken, aynı hücre popülasyonları aktive olduklarında inhibe eder. Genellikle immünitinin negatif regülasyonunu sağlar. İnflamasyonun şiddetlenmesinde görev alır. Yara iyileşmesinin hızlanması (fibroblast çoğalmasımı ve revaskülarizasyonu indükleyerek), fibrozis gelişimi (uzun süreli etkide) ve ekstraselüler matris (ECM)'in regülasyonunu sağlar (5). TGF- β_1 karaciğer rejenerasyonunda hepatosit proliferasyonunu inhibe eder ve karaciğer sirozunda hepatositler tarafından ECM proteinlerinin üretimini stimüle eder (6).

Matriks metalloproteinazlar (MMP), ECM'nin protein ve proteoglikanlarını degrade edebilme po-

tansiyeline sahip çeşitli hücre tipleri tarafından salgılanan, çinko içeren endopeptidazların bir üyesidir. Karaciğer ECM ve bazal membran gibi bariyerlerde birçok proteolitik enzimin yer aldığı bildirilmiştir. Bu enzimler arasında MMP'ler majör rol oynar. MMP-2 ve MMP-9 bazal membran ve ECM'nin majör yapısal komponentini oluşturan Tip 4 kollajeni degrade eder. Aktivitesi tümör dokusu ve malign hücrelerde artmış olarak bulunmuştur. MMP-2 ve MMP-9 kanser invazyon ve metastazında önemli rol oynar. Hepatoselüler karsinoma (HSC) da MMP-9'un aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir (7-9).

Çalışmamızda; HBV ile meydana gelen farklı klinik formlarda HBV taşıyıcılığı (HBVT), akut HBV infeksiyonu (AHBV), kronik HBV infeksiyonu (KHBV), sirozlu hasta grubu (SHG) ve kontrol grubu (KG)'nda, IL-18, TGF- β_1 , TNF- α , MMP-2 ve MMP-9'un serum seviyelerinin HBV infeksiyonunun tanı ve takibinde kullanılabilirliğini araştırdık.

MATERYAL ve METOT

Çalışmamız, Ocak 2003-Şubat 2005 tarihleri arasında Gülhane Askeri Tıp Akademisinde gerçekleştirilmiştir.

Hastaların serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri; Olympus AU 2700 (Olympus Diagnostics, Hamburg, Almanya) otoanalizörleri kullanılarak, HBsAg, HBeAg, anti-HBs, anti-HBe incelemeleri; Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) yöntemi, AXSYM System (Abbott, ABD) ile çalışıldı. Karaciğer iğne aspirasyon biyopsileri, hepafix biyopsi seti (Braun AG, Melsungen, Almanya) kullanılarak yapıldıktan sonra, biyopsi materyalleri rutin hematoksil-eozin boyasının yanı sıra, retikülin ve van Gieson yöntemleri ile de boyanarak histopatolojik değerlendirmeye alındı.

Çalışmamız için klinik, biyokimyasal, serolojik ve histopatolojik olarak ayırdığımız beş ayrı grup oluşturduk. Bu gruplar;

1. Kontrol Grubu

Hiçbir yakınması olmayan, önceden HBV ile karşılaşmamış (anti-HBc total negatif), HBsAg, anti-

HCV negatif, serum transaminazları normal 15 (%23) gönüllü, sağlıklı bireyden oluşmaktaydı.

2. HBV Taşıyıcılığı

En az altı ay boyunca takip edilen ve hiçbir yakınması olmayan, tesadüfen HBsAg pozitifliği tespit edilmiş (kan bağıışı sonrasında, ailesinde HBsAg pozitifliği saptanan bireylerin taranması ile, aşılama öncesi serolojik inceleme ile), HBV-DNA polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) sonuçları negatif, serum transaminazları normal 12 (%18.5) hastadan oluşmaktaydı. Hastaların hiçbirinde; uzun süreli alkol ve ilaç alımı, madde bağımlılığı ve kronik bir hastalık öyküsü yoktu.

3. Akut HBV İnfeksiyonu

Akut semptomları olan, serum direkt bilirubin ve indirekt bilirubin değerleri yüksek, transaminaz seviyeleri normalden en az dört-beş kat yüksek tespit edilen, HBsAg ve anti-HBc IgM pozitifliği belirlenen 12 (%18.5) hastadan oluşmaktaydı.

4. Kronik HBV İnfeksiyonu

Altı aydan uzun süreli HBsAg ve HBeAg/anti-HBe pozitifliği bulunan, HBV-DNA PCR pozitifliği saptanan, serum transaminaz değerleri yüksek, histopatolojik olarak değerlendirilerek kronik HBV enfeksiyonu tanısı almış 13 (%20) hastadan oluşmaktaydı.

5. Sirozlu Hasta Grubu

Sirozlu oldukları histopatolojik inceleme sonrasında ispatlanmış 13 (%20) hastadan oluşmaktaydı.

Bu hasta gruplarının IL-18, TGF- β_1 , TNF- α , MMP-2 ve MMP-9 serum düzeylerine bakılarak, birbirleriyle karşılaştırıldı.

Bütün hasta grupları ve kontrol grubundan alınan kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar -20°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü oda ısısında bir kez çözdürülerek çalışma yapıldı. IL-18 çalışması RayBio (Ray Biotech, Inc Norcross, GA 30092) firmasının RayBio Human IL-18 ELISA kiti (Cat no: ELH-IL-18-001) kullanılarak çalışıldı. Kit 3 pg/mL'lik sensitiviteye sahipti. Sonuçlar ELISA plakları mikropalak okuyucusunda (EL 800x) değerlendirildi. MMP-2 çalışması aynı firmanın RayBio Human MMP-2 ELISA kiti (Cat no: ELH- MMP-2-001) kullanılarak çalışıldı.

Kit 140 pg/mL sensitiviteye sahipti. Sonuçlar ELISA plakları mikropalak okuyucusunda (EL 800x) değerlendirildi. MMP-9 çalışması aynı firmanın RayBio Human MMP-9 ELISA kiti (Cat no: ELH- MMP-9-001) kullanılarak çalışıldı. Kit 10 pg/mL sensitiviteye sahipti. Sonuçlar ELISA plakları mikropalak okuyucusunda (EL 800x) değerlendirildi. TGF- β_1 çalışması aynı firmanın RayBio Human TGF-Beta $_1$ ELISA kiti (Cat no: ELH-TGF-beta $_1$ -001) kullanılarak çalışıldı. Kit 80 pg/mL sensitiviteye sahipti. Sonuçlar ELISA plakları mikropalak okuyucusunda (EL 800x) değerlendirildi. TNF- α çalışması aynı firmanın RayBio Human TNF-alpha ELISA kiti (Cat no: ELH-TNF alpha-001) kullanılarak çalışıldı. Kit 10 pg/mL sensitiviteye sahipti. Sonuçlar ELISA plakları mikropalak okuyucusunda (EL 800x) değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

SPSS 11.0 for Windows paket programı kullanılarak değerlendirildi. Önce çalışmaya alınan parametrelerin ortalamaları, ortancaları, standart sapmaları ve dağılımları belirlendi. Daha sonra gruplardan sağlanan verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları test edildi. Tüm gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Vallis testi ile yapıldı. Bu test sonucunda gruplar arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğu değerlendirilen değişkenlerde ikişerli alt grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Hesaplanan p değerleri için Bonferoni düzeltmesi uygulandı. Alfa yanılma payı 0.05'ten küçük olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma grubundaki hastalar; 12 (%18.5)'si HBVT, 12 (%18.5)'si AHBV, 13'ü KHBV, 13 (%20)'ü SHG ve 15 (%23)'i KG olmak üzere toplam 65 (ortalama yaş= 34.8 yıl) kişiden oluşmaktaydı. SHG'deki iki hasta hariç tüm hastalar erkekti. Çalışma grupları ve çalışılan testlere ait parametreler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Değerlendirme sonunda IL-18, TGF- β_1 , TNF- α , MMP-2 ve MMP-9 için sonuçlar anlamlı kabul edildi.

Kontrol grubu ve deney gruplarının birbirleriyle ikişerli karşılaştırılması için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı (Tablo 2-6). Sonuçlardan p< 0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 1. Tüm gruplar arası karşılaştırmanın Kruskal-Wallis testi ile gösterilmesi.

Test	Gruplar	Ortalama	SD	Ortanca	p
IL-18	Kontrol	269.90	124.10	234.21	0.002
	HBVT	424.64	206.95	378.60	
	AHBV	717.19	338.51	770.75	
	KHBV	576.25	319.78	472.00	
	SHG	485.43	241.13	526.33	
TGF- β_1	Kontrol	0.13	0.077	0.11	0.000
	HBVT	0.48	0.13	0.50	
	AHBV	1.03	0.74	0.81	
	KHBV	2.52	2.23	1.5300	
	SHG	4.31	2.20	3.5700	
TNF- α	Kontrol	3.77	1.99	3.51	0.000
	HBVT	7.03	0.97	6.79	
	AHBV	10.94	1.89	10.86	
	KHBV	20.17	6.22	19.04	
	SHG	26.78	5.81	27.44	
MMP-2	Kontrol	102.78	71.18	76.63	0.000
	Taşıyıcı	115.93	130.10	76.63	
	AHBV	72.63	9.60	72.88	
	KHBV	133.95	23.12	131.77	
	SHG	503.11	264.20	484.29	
MMP-9	Kontrol	4546.05	2707.03	4309.86	0.000
	HBVT	5334.99	3248.69	4007.14	
	AHBV	4060.71	1658.53	3910.64	
	KHBV	7655.67	2161.39	9106.24	
	SHG	7958.18	1251.59	8221.69	

SD: Standart deviasyon, HBVT: Hepatit B taşıyıcılığı, AHBV: Akut hepatit B enfeksiyonu, KHBV: Kronik hepatit B enfeksiyonu, SHG: Sirozlu hasta grubu.

Tablo 2. IL-18 için grupların ikiyeşli Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılması. *

	KG	HBVT	AHBV	KHBV	SHG
KG					
HBVT	0.28				
AHBV	0.01	0.24			
KHBV	0.05	1.00	1.00		
SHG	0.12	1.00	0.64	1.00	

* IL-18 için kontrol grubu ile AHBV ve KHBV grubu arasındaki ilişki anlamlı kabul edildi.

KG: Kontrol grubu, HBVT: Hepatit B taşıyıcılığı, AHBV: Akut hepatit B enfeksiyonu, KHBV: Kronik hepatit B enfeksiyonu, SHG: Sirozlu hasta grubu.

Tablo 3. TGF- β_1 için grupların ikişerli Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılması. *

	KG	HBVT	AHBV	KHBV	SHG
KG					
HBVT	0.01				
AHBV	0.01	0.01			
KHBV	0.01	0.01	0.01		
SHG	0.01	0.01	0.01	0.13	

* TGF- β_1 için KHBV ve SHG arasındaki ilişki anlamsız çıkarken, diğer gruplar arası ikili ilişki anlamlı kabul edildi.

KG: Kontrol grubu, HBVT: Hepatit B taşıyıcılığı, AHVB: Akut hepatit B infeksiyonu, KHBV: Kronik hepatit B infeksiyonu, SHG: Sirozlu hasta grubu.

Tablo 4. TNF- α için grupların ikişerli Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılması. *

	KG	HBVT	AHBV	KHBV	SHG
KG					
HBVT	0.01				
AHBV	0.01	0.01			
KHBV	0.01	0.01	0.01		
SHG	0.01	0.01	0.01	0.07	

* TNF- α için KHBV' li grup ile SHG arasındaki ilişki anlamsız çıkarken, diğer gruplar arası ikili ilişki anlamlı kabul edildi.

KG: Kontrol grubu, HBVT: Hepatit B taşıyıcılığı, AHVB: Akut hepatit B infeksiyonu, KHBV: Kronik hepatit B infeksiyonu, SHG: Sirozlu hasta grubu.

Tablo 5. MMP-9 için grupların ikişerli Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılması. *

	KG	HBVT	AHBV	KHBV	SHG
KG					
HBVT	1.00				
AHBV	1.00	1.00			
KHBV	0.07	0.50	0.01		
SHG	0.01	0.81	0.01	1.00	

* MMP-9 için kontrol grubu ile SHG, AHVB'li grup ile KHBV ve SHG arasındaki ilişki anlamlı olup, diğer gruplar arası ikili ilişkiler anlamsız olarak bulundu.

KG: Kontrol grubu, HBVT: Hepatit B taşıyıcılığı, AHVB: Akut hepatit B infeksiyonu, KHBV: Kronik hepatit B infeksiyonu, SHG: Sirozlu hasta grubu.

TARTIŞMA

HBV infeksiyonlu hastaların tanı ve takiplerinde alışlagelmiş serolojik, moleküler ve histopatolojik metotlar kullanılmaktadır (10). Bunlardan girişimsel bir yöntem olan karaciğer iğne biyopsisinin %0.018 mortalite riski vardır ve periyodik takipte sık kullanılamaz. Nitekim ilk biyopsi sırasında karşı karşıya kalınan psikolojik ve mekanik

travmalar nedeni ile hastaların 1/3'ünün kontrol biyopsilerine rıza göstermediği anlaşılmıştır (11).

Çalışmamızda araştırılan parametrelerin her birinin karaciğer hastalığının progresyonunun monitörizasyonu için kolay uygulanabilen testler olup olamayacağı değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda öncelikle beş grup hastanın serum IL-18 seviyeleri belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır.

Tablo 6. MMP-2 için grupların ikişerli Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılması. *

	KG	HBVT	AHBV	KHBV	SHG
KG					
HBVT	1.00				
AHBV	1.00	1.00			
KHBV	0.03	0.01	0.01		
SHG	0.01	0.01	0.01	0.01	

* MMP-2 için kontrol grubu ile HBVT ve AHBV'li grup, HBVT grup ile AHBV'li grup arasındaki ilişki anlamsız olup, diğer gruplar arası ikili ilişkiler anlamlı kabul edildi.

KG: Kontrol grubu, HBVT: Hepatit B taşıyıcılığı, AHBV: Akut hepatit B enfeksiyonu, KHBV: Kronik hepatit B enfeksiyonu, SHG: Sirozlu hasta grubu.

Elde ettiğimiz sonuçlarda IL-18'in serum seviyelerinin ortalaması alındığında en düşük değere KG'de rastlanmıştır. Bunu sırasıyla HBVT, SHG, KHBV enfeksiyonlu grup ve en yüksek olarak da AHBV hasta grubu izliyordu. İstatistiksel olarak değerlendirdiğimizde; AHBV ve KHBV enfeksiyonlu grubun IL-18 serum seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda anlamlı olarak yüksek bulundu. İnflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan bir sitokin olan IL-18'in AHBV enfeksiyonunda belirgin olmak üzere KHBV enfeksiyonunda da artması; HBV enfeksiyonunda IL-18'in inflamasyonun bir göstergesi olarak kullanılabileceğini ve inflamasyonun kendi kendini sınırlaması için önemli bir değere sahip olduğunu göstermiştir.

Yumoto ve arkadaşları ile Eichiro ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, fulminan ve akut hepatik hasarlı hastalarda IL-18 seviyelerinin belirgin olarak arttığı, IL-18'in bu yükselişinin sitokinlerin akut karaciğer hasarında önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir (12,13). Sonuç olarak, akut hepatik hasarda (viral veya ilaç nedeni) IL-18 seviyesinin arttığı ve artmış sitokin seviyesinin fulminan ve akut hepatik hasarlı hastalarda prognozun belirlenmesinde önemli olduğu gösterilmiştir.

Kimura ve arkadaşları ile Wen ve arkadaşları, hepatitli hastalarda IL-18'in olası rolünü incelemiş ve hastalığın ciddiyetine IL-18 üretim artışının eşlik ettiğini; kronik hepatitte karaciğer inflamasyonunun derecesi ile IL-18 üretiminin artışının paralellik gösterdiğini, HBV enfeksiyonlu tüm gruplarda IL-18 transkripsiyonu ve ekspresyonu üzerine pozitif bir korelasyon olduğunu gözlemlemiştir (3,14).

Çalışmamızda, gruplar üzerinde TGF- β_1 'de çalışıldı. Çıkan sonuçların her bir grup için ortalaması alınarak diğer gruplar ile kıyaslama yapıldı. TGF- β_1 'in serum seviyesi en düşük KG'de bulunurken en yüksek SHG'de saptandı. TGF- β_1 serum seviyesinin KG sonrası sırası ile HBVT, AHBV ve KHBV'li hasta grubunda yükseldiğini gözlemledik. İnflamasyonun şiddetlenmesinde görev alan ve yara iyileşmesinin hızlanmasını (fibroblast çoğalmasını ve revaskülarizasyonu indükleyerek), fibrozis gelişimini (uzun süreli etkide) ve ECM'nin regülasyonunu sağlayan bir sitokin olan TGF- β_1 'in bu sonuçlar doğrultusunda ve hepatik hasarın derecesi ile orantılı olarak arttığı, inflamatuvar olaylar ve fibrozis derecesi ile korele bir şekilde serum seviyesinin yükseldiği belirlenmiştir (5). Yaptığımız istatistiksel çalışmada TGF- β_1 için KHBV'li grup ile SHG arasındaki ilişki anlamsız bulunurken, diğer gruplar arası ikili ilişkiler anlamlı olarak kabul edildi ($p < 0.05$).

Bu konuda Calabrese ve arkadaşları, TGF- β_1 'in serum seviyelerinin sırası ile KG, KHBV ve SHG olmak üzere yükseldiğini saptamış ve parankimal TGF- β_1 ekspresyonu ile inflamatuvar ve fibrozis skorları arasında belirgin bir korelasyon olduğunu gözlemlemiştir (15). Yine Flisiak ve arkadaşları ile Yoo ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, HBV enfeksiyonlu hastalar arasında yüksek TGF- β_1 seviyelerinin hepatik hasarın derecesi ile orantılı olduğunu, akut viral hepatit patogenezinde TGF- β_1 'in önemli bir rol oynadığını ve mekanizma veya etyoloji ile ilişkisiz olduğunu göstermişlerdir (16,17). TGF- β_1 'in karaciğer rejenerasyonunda hepatosit proliferasyonunu inhibe ettiğini ve karaciğer sirozunda hepatositler tarafından ECM proteinlerinin üretimini stimüle ettiğini; fibrozis ile TGF- β_1 'in arttığını açıklamışlardır.

Çalışmamızda, TNF- α 'nın serum seviyelerinin en düşükten başlayarak sırasıyla; KG, HBVT, AHBV, KHBV ve en yüksek olarak SHG'nin izlediğini tespit ettik. Bilindiği gibi sitokinler, özellikle TNF- α , inflamatuvar cevabın regülasyonu ve organ fonksiyonlarının homeostazisine katılan moleküller arasında kompleks bir ağ oluşturur. Sitokinler karaciğerde devam eden büyüme ve rejenerasyon, viral karaciğer hastalığı gibi inflamatuvar süreçler, karaciğer fibrozisi ve siroz gibi fizyolojik ve patolojik süreçlerin koordinasyonunu sağlar. Tüm bunların ışığında, TNF- α serum seviyeleri ile gözlenen klinik tablolar ve prognoz arasında korelasyon kurulabileceği ve karaciğer hastalığının aktivitesi ile TNF- α 'nın serum düzeyinin ilişkili olabileceği düşünüldü. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, TNF- α için KHBV'li grup ile SHG arasındaki ilişki anlamsız bulunurken, diğer gruplar arası ikili ilişkiler anlamlı olarak kabul edildi ($p < 0.05$).

Fang ve arkadaşları ile Xu ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda, HBV enfeksiyonlu hastalarda TNF- α 'nın karaciğer üzerindeki etkilerini immünohistokimyasal olarak araştırmış ve TNF- α 'nın KHBV enfeksiyonlu hastalarda karaciğerde aktive edildiğini göstermişlerdir (4,18). TNF- α 'nın serum seviyelerinin özellikle karaciğer histolojisi ile korelasyon gösterdiğini, hepatoselüler nekrozda TNF- α 'nın önemli rol oynadığını ve bu seviye ile klinik tablo ve prognoz arasında korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Yine Missale ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, proinflamatuvar ve sitotoksik etkileri nedeni ile TNF- α serum seviyelerinin akut hepatitte artış gösterdiğini ve kronikleşme ile TNF- α serum seviyelerinin arttığını bildirmişlerdir (2). Bozkaya ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, KHBV enfeksiyonlu hastaları hastalığın aktivitesine göre dört gruba ayırmış ve sonuçta TNF- α serum seviyelerinin karaciğer hastalığının aktivitesi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (19). Sheron ve arkadaşları ise yaptıkları bir çalışmada, TNF- α üretiminin HBsAg ve HBeAg pozitif hastalarda normal kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin artış olduğunu, AST düzeyi veya histolojik aktivite ile değil, HBV-DNA seviyesi ile korelasyon olduğunu, sonuç olarak da viral enfeksiyonun aktivitesi ile TNF- α serum seviyelerinin arttığını bildirmişlerdir (6). Çeşitli araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda TNF- α seviyelerinin karaciğer hastalığının aktivitesi ile korelasyon gösterdiğini ve bu artışın

HBV replikasyon seviyesine değil, karaciğer hastalığının aktivitesine bağlı olduğunu ifade etmişlerdir (20-22).

Çalışma gruplarımız arasında MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinin klinik açıdan farklılık olup olmadığına incelenmesi de hedeflendi.

MMP-9'un serum seviyelerini incelediğimizde, KG'ye göre HBVT olan grupta hafif bir artış görülmüş olup; AHBV enfeksiyonlu grupta ise bariz bir düşüş saptanmıştır. Yine KG ile karşılaştırıldığında aralarında çok fazla fark olmamakla beraber, SHG'de daha yüksek olmak üzere, KHBV enfeksiyonlu grup ve SHG'de belirgin şekilde artmış MMP-9 serum düzeyleri saptandı. Yapılan istatistiksel değerlendirmede MMP-9 için kontrol grubu ile SHG, AHBV'li grup ile KHBV ve SHG arasındaki ilişki anlamlı olup, diğer gruplar arası ikili ilişkiler anlamsız olarak bulundu ($p > 0.05$). Bu MMP-9'un SHG ve KHBV enfeksiyonlu grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı yükselişi ile açıklanabilir. KHBV enfeksiyonlu ve sirozlu hastalarda MMP-9 serum düzeyleri tanı ve izlem için kullanılabilir.

MMP-2 için bulunan sonuçlar incelendiğinde; KG grubuna göre HBVT olan grupta hafif, KHBV enfeksiyonlu grupta ise HBVT olan gruba kıyasla bir miktar yükselme tespit edildi. Yine KG ile kıyaslandığında AHBV enfeksiyonlu olan grupta belirgin sayılabilecek bir düşüş ve bundan daha önemlisi SHG'de pik sayılabilecek bir yükselme gözlemlendi. Sonuçlar istatistiksel açıdan incelendiğinde MMP-2 için KG ile HBVT ve AHBV'li grup, HBVT ile AHBV'li grup arasındaki ilişki anlamsız olup, diğer gruplar arası ikili ilişkiler anlamlı kabul edildi ($p < 0.05$). MMP-2'nin karaciğer sirozunun tanı ve izleminde, olgunun ciddiyeti ve aktivitesi hakkında bilgi verebilecek bir belirteç olarak kullanılabileceği söylenebilir.

Kwon ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, plazma MMP-2 aktivitesi sirozlu hastalarda KG ve KHBV grubuna göre bariz olarak yüksek bulunmuştur (23). Plazma MMP-9 aktivitesi ise sirozlu hastalarda kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksekti, ancak kronik hepatitli veya HSK'lı hastalardan farklı değildi. Koulentaki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, KG ile karşılaştırıldığında AHBV'li hastalarda bütün MMP'lerin serum konsantrasyonlarında belirgin düşüş saptanmış olup, MMP-2 serum seviyelerinin AHBV ile kıyaslandığında artmadığı, ancak kronik hepatit ve karaciğer sirozlu hastalarda arttığı bildirilmiştir

(24). Yin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, HBV enfeksiyonuna bağlı karaciğer fibrozisi ve erken siroz tespit edilen 88 hasta incelenmiş olup, MMP-2'nin hepatik fibrozisin derecesi ile pozitif olarak korele olduğu ve serum fibrozis belirteci olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (25). Yine Chung ve arkadaşları çalışmalarında, KG ile karşılaştırıldığında KHBV enfeksiyonlu hastaların serum MMP-2 konsantrasyonlarında hafif bir yükselme, KHBV'li hastaların serum MMP-9 konsantrasyonlarında bariz bir artış mevcudiyeti gözlemlenmiştir (7). Aynı çalışmada MMP-2 seviyeleri AHBV'li hastalarda KG ile benzer seviyede saptanmış, kronik hepatit ve sirozlu hastalarda arttığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; inflamatuvar olaylarda önemli rol oynadığı bilinen bir sitokin olan IL-18'in, AHBV enfeksiyonunda belirgin olmak üzere KHBV enfeksiyonunda da artması; HBV enfeksiyonlarında IL-18'in inflamasyonun bir göstergesi olarak kullanılabilirliği söylenebilir.

Çalışmamızda inflamasyonun şiddetlenmesinde görev alan ve yara iyileşmesinin hızlanmasını (fibroblast çoğalmasını ve revaskularizasyonu indükleyerek), fibrozis gelişimini (uzun süreli etki) ve ECM'nin regülasyonunu sağladığı bilinen bir sitokin olan TGF- β_1 'in hepatik hasarın derecesi ile orantılı olarak arttığı, inflamatuvar olaylar ve fibrozis derecesi ile korele bir şekilde serum seviyesinin yükseldiği saptanmıştır.

TNF- α serum seviyeleri ile klinik tablo ve prognoz arasında korelasyon kurulabileceği ve karaciğer hastalığının aktivitesi ile TNF- α 'nın serum düzeyinin ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Karaciğer hastalığının her aşamasında MMP aktivitesinde belirgin değişiklik olması nedeni ile bu parametrelerin her birinin karaciğer hastalığının progresyonunun takibi için kolay uygulanabilen testler olabileceği, özellikle sirozlu hastalarda MMP-2 olmak üzere, KHBV enfeksiyonlu hastalarda MMP-2 ve MMP-9 serum düzeylerinin tanı ve izlem için kullanılabilirliği söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Uzun Ö, Ünal S. Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2002; 2: 561-3.
2. Missale G, Ferrari C, Fiaccadori F. Cytokine mediators in acute inflammation and chronic course of viral hepatitis. *Ann Ital Med Int* 1995; 10: 14-8.
3. Kimura K, Kakimi K, Wieland S, Guidotti LG, Chisari FV. Interleukin-18 inhibits hepatitis B virus replication in the livers of transgenic mice. *J Virol* 2002; 76: 10702-7.
4. Xu XW, Lu MH, Tan DM. Association between tumour necrosis factor gene polymorphisms and the clinical types of patients with chronic hepatitis B virus infection. *Clinical Microbiology & Infection* 2005; 11: 691.
5. Kılıçturgay K. İmmünoloji 2003. 3. Baskı. Ankara: Nobel & Güneş Tıp Kitabevi, 2003: 113-53.
6. Sheron N, Lau J, Daniels H, et al. Increased production of tumour necrosis factor alpha in chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 1991; 12: 241-5.
7. Chung TW, Kim JR, Suh JI, et al. Correlation between plasma levels of matrix metalloproteinase (MMP)-9/MMP-2 ratio and alpha-fetoproteins in chronic hepatitis carrying hepatitis B virus. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 65.
8. Ljumovic D, Diamantis I, Alegakis AK, Kouroumalis EA. Differential expression of matrix metalloproteinases in viral and non-viral chronic liver diseases. *Clinica Chimica Acta* 2004; 349: 203-11.
9. Vihinen P, Ala-aho R, Kahari VM. Matrix metalloproteinases as therapeutic targets in cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2005; 3: 203-20.
10. Tabak F, Balık İ, Tekeli E. Viral Hepatit 2005. Ankara: Viral Hepatit Savaşım Derneği, 2005; 127-51.
11. Wong JB, Bennett WG, Koff RS, Pauker SG. Pretreatment evaluation of chronic hepatitis C. *JAMA* 1998; 280: 2088-93.
12. Yumoto E, Higashi T, Nouse K, et al. Serum gamma-interferon-inducing factor (IL-18) and IL-10 levels in patients with acute hepatitis and fulminant hepatic failure. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 285-94.
13. Eichiro Y, Toshihiro H, Kazuhuro N, et al. IL-8 and IL-10 in acute hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 285.
14. Wen W, Zhang L, Xiao H. The transcription and expression of IL-18 gene in HBV infectors. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2001; 81: 655-8.
15. Calabrese F, Valente M, Giacometti C, et al. Parenchymal transforming growth factor beta-1: Its type II receptor and Smad signaling pathway correlate with inflammation and fibrosis in chronic liver disease of viral etiology. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 1302-8.
16. Flisiak R, Prokopowicz D, Jaroszewicz J, Flisiak I. Plasma transforming growth factor-ss(1) in acute viral hepatitis. *Med Sci Monit* 2005; 25: 304-8.

17. Yoo YD, Ueda H, Park K, et al. Regulation of transforming growth factor-beta 1 expression by the HBV X transactivator. Role in HBV pathogenesis. *J Clin Invest* 1996; 15: 388-95.
18. Fang JW, Shen WW, Meager A, Lau JY. Activation of the tumor necrosis factor-alpha system in the liver in chronic hepatitis B virus infection. *Am J Gastroenterol* 1996; 4: 748-53.
19. Bozkaya H, Bozdayi M, Turkyilmaz R, et al. Circulating IL-2, IL-10 and TNF-alpha in chronic hepatitis B: Their relations to HBeAg status and the activity of liver disease. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1675-9.
20. Yuan AL, Luo YH, Liu SD. Tumor necrosis factor alpha levels in patients with chronic liver diseases and its relationship to pathogenesis. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 1994; 33: 672-4.
21. Zhang W, Yue B, Wang GQ, Lu SL. Serum and ascites levels of macrophage migration inhibitory factor, TNF-alpha and IL-6 in patients with chronic virus hepatitis B and hepatitis cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2002; 1: 577-80.
22. Hussain MJ, Lau JY, Williams R, Vergani D. Hepatic expression of tumour necrosis factor-alpha in chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Pathol* 1994; 47: 1112-5.
23. Kwon OS, Lim do Y, Kwon KA, et al. Clinical usefulness of plasma activities of gelatinase (matrix metalloproteinase-2 and 9) in chronic liver disease. *Taehan Kan Hakhoe Chi* 2003; 9: 222-30.
24. Koulentaki M, Valatas V, Xidakis K, Kouroumalis A, Petinaki E, Kouroumalis E. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in acute viral hepatitis. *J Viral Hepatitis* 2002; 9:189-93.
25. Yin SS, Li XM, Wang BE, Wang TL, Jia JD, Qian LX. The relationship of serum metalloproteinase with the severity of liver fibrosis and inflammation. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2004; 12: 666-8.

YAZIŞMA ADRESİ

Dr. Ömer COŞKUN

Gülhane Askeri Tıp Akademisi

İnfeksiyon Hastalıkları ve

Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ANKARA

e-mail: coskunomer23@hotmail.com