

## Araştırma Makalesi

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2023; 16(3):495-502

doi: 10.26559/mersinsbd.1358645

# Çocukluk çağı kronik Hepatit B hastalığının klinik seyir ve tedavisi ile Serum CD 95 (FAS) ve Nitrik Oksid düzeyleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi

 Aylin Kont Özhan<sup>1</sup>,  Mehmet Yavuz Çoşkun<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmunoloji ve Alerji Hastalıkları Bilim Dalı, Mersin, Türkiye

<sup>2</sup>Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Gaziantep Türkiye

### Öz

**Amaç:** Nitrik oksid (NO) ve CD 95' in (FAS) kronik hepatit B enfeksiyonlarında inflamasyonda ve apoptozisde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu çalışmada, kronik hepatit B enfeksiyonu olan çocukların serum NO ve CD 95 düzeylerinin sağlıklı çocuklarla karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlandı. **Yöntem:** Kronik hepatit B tanısı ile izlenen 1-18 yaş arası 69 hasta çalışmaya dahil edildi. Kronik inaktif hepatit B enfeksiyonu olan 32 hasta (21 erkek, 11 kız) grup 1 olarak, kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olan 37 hasta (25 erkek, 12 kız) grup 2 olarak ve 32 sağlıklı çocuk (18 erkek, 14 kız) kontrol grubu olarak sınıflandırıldı. Serum NO ve CD 95 düzeyleri ölçüldü. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırmaları yapıldı. **Bulgular:** Ortalama yaş grup 1' de 10.1±3.1 yıl, grup 2' de 9.3±3.3 yıl ve kontrol grubunda 9.2±1.8 yıl bulundu ( $p>0.05$ ). Hasta grubu ve kontrol grubu arasında serum NO ve CD 95 düzeyleri anlamlı farklılık gösterdi (sırasıyla 72.2±36.9'a karşılık 38.5±17.3 mμ,  $p<0.001$  ve %36.5±11'e karşılık %29.1±8.1,  $p<0.001$ ). Grup 1' in serum NO ve CD 95 düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulundu (sırasıyla 73.7±38.9'a karşılık 38.5±17.3 mμ,  $p<0.01$  ve %34.8±9.1'e karşılık %29.1±8.1,  $p<0.05$ ). Grup 2' nin serum NO ve CD 95 düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulundu (sırasıyla 71.0±35.5' e karşılık 38.5±17.3 mμ,  $p<0.01$  ve %38.1±12.4' e karşılık %29.1±8.1,  $p<0.05$ ). Grup 1 ve Grup 2 arasında serum NO ve CD 95 düzeyleri anlamlı farklılık göstermedi ( $p>0.05$ ). **Sonuç:** Serum NO ve CD 95 düzeylerinin kronik inaktif hepatit B enfeksiyonu olan çocuklarda ve kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olan çocuklarda artış gösterdiği saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Hepatit B virüs, kronik hepatit B enfeksiyonu, apoptozis, CD 95 (FAS), nitrik oksid (NO)

Yazının geliş tarihi: 18.09.2023

Yazının kabul tarihi: 17.10.2023

**Sorumlu yazar:** Aylin Kont Özhan, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmunoloji ve Alerji Hastalıkları Bilim Dalı Çiftlikköy Kampüsü, 33110, Mersin, Türkiye, Tel: 0324 2410000/2025, E-posta: [aylinkont@hotmail.com](mailto:aylinkont@hotmail.com)

## The correlation between clinical prognosis together with the treatment of chronic Hepatitis B infection and Serum CD 95 (FAS) and Nitric Oxide levels in children

### Abstract

**Aim:** Nitric oxide (NO) and CD 95 (FAS) are thought to play a role in inflammation and apoptosis in chronic hepatitis B infections. This study aimed to examine the serum NO and CD 95 levels of children with chronic hepatitis B infection in comparison with healthy children. **Method:** 69 patients between the ages of 1 and 18 who were diagnosed with chronic hepatitis B were included in the study. 32 patients (21 boys, 11 girls) with chronic inactive hepatitis B infection as group 1, 37 patients with chronic active hepatitis B infection (25 boys, 12 girls) as group 2 and 32 healthy children (18 boys, 14 girls) as control group were included. Serum NO and CD 95 levels were measured. Comparisons between patient and control groups were made. **Results:** The mean age was  $10.1\pm 3.1$  years in group 1,  $9.3\pm 3.3$  years in group 2 and  $9.2\pm 1.8$  years in the control group ( $p>0.05$ ). Serum NO and CD 95 levels showed significant differences between the patient group and the control group ( $72.2\pm 36.9$  vs.  $38.5\pm 17.3$   $\mu\text{M}$ ,  $p<0.001$  and  $36.5\pm 11\%$  vs.  $29.1\pm 8.1\%$ ,  $p<0.001$ , respectively). Serum NO and CD 95 levels of Group 1 were found to be higher than the control group ( $73.7\pm 38.9$  vs.  $38.5\pm 17.3$   $\mu\text{M}$ ,  $p<0.01$  and  $34.8\pm 9.1\%$  vs.  $29.1\pm 8.1\%$ ,  $p<0.05$ , respectively). Serum NO and CD 95 levels of Group 2 were found to be higher than the control group ( $71.0\pm 35.5$  vs.  $38.5\pm 17.3$   $\mu\text{M}$ ,  $p<0.01$  and  $38.1\pm 12.4\%$  vs.  $29.1\pm 8.1\%$ ,  $p<0.05$ , respectively). Serum NO and CD 95 levels did not show significant difference between Group 1 and Group 2 ( $p>0.05$ ). **Conclusion:** Serum NO and CD 95 levels were found to increase in children with chronic inactive hepatitis B infection and in children with chronic active hepatitis B infection.

**Keywords:** Hepatitis B virus, chronic hepatitis B infection, apoptosis, CD 95 (FAS), nitric oxide (NO)

### Giriş

Kronik hepatit B, hepatit B virüsünün (HBV) neden olduğu iltihabi karaciğer hastalığıdır. Hastalığın kendine özgü biyokimyasal, serolojik, histopatolojik ve klinik seyri vardır. Dünya Sağlık Örgütü, 2019 yılında 296 milyon kişinin kronik hepatit B enfeksiyonu ile yaşadığını ve her yıl 1,5 milyon yeni enfeksiyon olduğunu tahmin etmektedir.<sup>1</sup> HBV enfeksiyonu çocukluk döneminde genellikle asemptomatiktir. Kronik hepatit B hastalığında siroz, hepatoselüler karsinom ve ekstrahepatik belirtiler çoğunlukla erişkin yaşta gözlenir, ancak infant ve erken çocukluk döneminde de ortaya çıkabilir.<sup>2</sup> Tahmini olarak beş yaş altı çocuklarda hepatit B virüs enfeksiyonunun prevalansı %1-2'dir.<sup>3</sup>

HBV perinatal dönemde bulaşırsa %90, beş yaşına kadar bulaşırsa %20-30 ve erişkinlerde bulaşırsa %2-5 civarında kronikleşir. Kazanılan enfeksiyonun kronikleşmesinde kişinin humoral ve

özellikle de hücrel immün sisteminin sorumlu olduğu bilinmektedir.<sup>4,5</sup>

Apoptozis ilk kez 1973 yılında Whyllie ve ark.<sup>6</sup> tarafından "programlanmış hücre ölümü" olarak tarif edilmiş, o tarihten itibaren üzerinde en çok araştırma yapılan konulardan biri olma özelliği kazanmıştır.<sup>6,7</sup> Malignitelerin gelişiminden yaşlanmaya kadar pek çok hastalığın patogenezi apoptozisin regülasyonundaki bozukluklarla açıklanmaktadır.<sup>8-11</sup> Bu nedenle viral hepatitlerde apoptozisin erken dönemde ortaya konması, kronik viral hepatit gelişimi ve tedavisinde önemli olacaktır. CD 95 (FAS), hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein yapıda bir reseptör olup, tümör nekrozis faktör ailesinin üyesidir ve apoptotik sinyallerin iletiminden sorumlu tutulmaktadır.<sup>7</sup> Nitrik oksid (NO), inflamasyonda yer alan apoptozis ile ilgisi saptanan önemli bir mediatördür.

Lökositlerin endotele adhezyonunda, lenfositlerin fonksiyonlarında, sitokin oluşumunda, mikrovasküler geçirgenlikte, eritem ve ödem oluşumunda anahtar rol üstlenmektedir.<sup>12</sup>

Nitrik oksid ve CD 95' in kronik hepatit B enfeksiyonunda görülen inflamasyonda ve apoptozisde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, kronik hepatit B enfeksiyonu olan çocukların serum NO ve CD 95 düzeylerini sağlıklı çocuklarla karşılaştırmalı olarak incelemektir.

## **Gereç ve Yöntem**

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'nde kronik hepatit B tanısı ile izlenen 1-18 yaş arası 69 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan çocuklar grup 1: kronik inaktif hepatit B enfeksiyonu olanlar (n=32), grup 2: kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olanlar (n=37) ve grup 3: sağlıklı kontrol (n=32) olarak gruplara ayrıldı.

Kronik inaktif hepatit B hastalarının olduğu 1. grupta çalışmaya dahil edilme kriterleri: Hepatit B yüzey antijen (HBsAg) pozitifliği >6 ay, hepatit B zarf antijeni (HBeAg) negatifliği, hepatit B zarf antikoru (anti-HBe) pozitifliği, serum HBV deoksiribonükleik asit (DNA) düzeyinin <10<sup>4</sup> kopya/ml olması, serum alanin aminotransaminaz (ALT) düzeylerinin normalin üst değerinin 1,5 katından daha düşük seyretmesi, karaciğer biyopsisinde önemli hepatit bulgularının olmaması (nekroinflamatuvar skor <4) olarak belirlendi.<sup>13</sup>

Kronik aktif hepatit B hastalarından oluşan 2. grupta çalışmaya dahil edilme kriterleri (29 hasta tedavi almayan, 8 hasta tedavi alan): HBsAg pozitifliği >6 ay, HBeAg pozitifliği, anti-HBe serokonversiyonunun olmaması, serum ALT düzeylerinin tedavi almayanlarda normalin üst değerinin 1,5 katından daha düşük seyretmesi, tedavi alanlarda normalin üst değerinin 1,5 katından daha yüksek seyretmesi, serum HBV DNA düzeyinin ≥10<sup>5</sup> kopya/ml olması, karaciğer biyopsisinde tedavi almayanlarda önemli hepatit bulgularının olmaması

(nekroinflamatuvar skor <4), tedavi alanlarda önemli hepatit bulgularının olması (nekroinflamatuvar skor >4) olarak belirlendi.<sup>13</sup>

Sağlıklı çocuklardan oluşan 3. grupta çalışmaya dahil edilme kriterleri: Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Pediatri Polikliniği'ne sağlam çocuk izlemi için başvurması, 1-18 yaş aralığında olması, başvuru esnasında akut veya kronik enfeksiyonunun/hastalığının olmaması, sürekli ilaç kullanım öyküsünün olmaması olarak belirlendi.

Hepatit B ile birlikte hepatit C virüs antikoru (+), hepatit C virüs ribonükleik asit (+) ve insan bağışıklık yetmezlik virüsü (+) olanlar; alfa-1 antitripsin eksikliği, Wilson hastalığı, otoimmün hepatiti, delta antijen pozitifliği; hemofili, kanama bozukluğu tanısı olanlar ve antikoagülan tedavi alanlar; dekompanse siroz, hepatoselüler karsinom, malign hastalığı olanlar; psikiyatrik hastalık, aktif konvülsiyon, hemoglobinopati, renal yetmezlik, immün yetmezlik ve çalışma sırasında nonspesifik veya spesifik ateşli hastalığı olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmamıza aldığımız hastaların yaş, cinsiyet, hastalık süreleri ve takip süreleri veri olarak kaydedildi. Kronik inaktif hepatit B olan hastalar başlangıçta ve altı ayda bir, kronik aktif hepatit B olup tedavi almayanlar başlangıçta ve üç ayda bir ALT, HBsAg, hepatit B yüzey antikoru (anti-HBs), HBeAg, anti-HBe, hepatit B çekirdek antikoru (antiHBc), total ve serum HBV DNA değerleri ile takip edildi. Kronik aktif hepatit B olup tedavi alan hastalarda tedavi öncesi, tedavinin üçüncü ayının sonunda ve altıncı ayının sonunda HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, antiHBc-total, HBV DNA değerleri takip edildi.

*NO Analizi:* NO tayini için periferik kan örnekleri EDTA içeren tüplerde toplandı ve 15 dakika boyunca 4 derecede 5000 devir/dakikada santrifüj edildi. Analiz edilene kadar -80 derecede muhafaza edildi. Örnekler 1:2 v/v karışımında saf etanol ile proteinlerden arındırıldı. 14000 devirde 5 dakikalık santrifüjü takiben 30 dakikada 0 derecede inkübe edildi.

Çökelti atılarak süpernatant, NO seviyelerini ölçmek için kullanıldı. NO seviyelerini ölçmek için NO/ozon kemiluminesans tekniği uygulandı (Model 280i NOA, Sievers Instruments, Boulder, CO, USA). Örneklerdeki serum NO metabolitlerinin konsantrasyonları mikromolar olarak ifade edildi.

*CD 95 Analizi:* CD 95 tayini için 2 cc venöz kan EDTA' lı tüpe alındı. Santrifüj sonrası üzerindeki süpernatant dökülen materyal, fosfat buffer solüsyon ile muamele edilip tekrar 1200 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üzerindeki süpernatant dökülen materyal çalışmaya hazır hale getirildi. CD 95 tayini için FACsort Flowcytometry (Becton Dickinson Immuncytometry Systems, USA) cihazı kullanıldı. Lenfosit "gate"i alınarak CD 95 ekspresyonu % olarak değerlendirildi.

Çalışma için Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. Çalışma Helsinki Bildirgesi Prensiplerine uygun olarak yürütüldü.

#### *İstatistiksel değerlendirme*

Verilerin analizi, SPSS paket programı ile yapıldı. Tanımlayıcı veriler ortalama ± standart sapma ve sayı (yüzde) ile ifade edildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk normallik testi ve histogramlar ile test edildi. Bağımsız grup karşılaştırmalarında Ki-kare testi, Independent Samples T-test veya ANOVA kullanıldı.  $P < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### **Bulgular**

Çalışmaya kronik hepatit B tanısı ile izlenen 69 hasta dahil edildi. Hastaların 46' sı erkek (%66.6), 23' ü kızlardan (%33.3) oluşmaktaydı. Tüm hastaların yaş ortalaması 9.68 yıl olup yaşları 2-15 arasında değişmekteydi.

Grup 1' de 25 hastada horizontal bulaşma tespit edilirken yedi hastada bulaş yolu tespit edilemedi. Grup 2' de 27 hastada horizontal bulaşma, bir hastada perinatal bulaşma tespit edilirken dokuz hastada bulaş yolu tespit edilemedi. Kronik aktif hepatit B hastalarından oluşan 37 hastanın sekizine

interferon ve lamuvidinden oluşan kombine tedavi verildi. Diğer 29 hasta ise tedavisiz izlenmekteydi.

Grup 1' de 29 hastada başlangıçta ALT normal, 3 hastada ise yüksek tespit edildi. Kronik aktif hepatit B olan grup 2' de tedavi almayan 29 hastanın 14' ünde ALT başlangıçta normal, 15 hastada yüksek tespit edildi. Tedavi alan sekiz hastanın tümünün başlangıçta HBeAg pozitif olup tedavinin başlangıcından sonra en az üç aylık izlem sonunda dört hastada HBeAg negatifleşip antiHBe serokonversiyon oluşumu gözlemlendi. Çalışmaya katılan grupların demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de gösterildi.

Hasta grubu ve kontrol grubu arasında serum CD 95 düzeyleri anlamlı farklılık gösterdi ( $36.5 \pm 11$ ' e karşılık  $29.1 \pm 8.1$ ,  $p < 0.001$ ) (Tablo 2). Grup 1' in serum CD 95 düzeyi kontrol grubundan daha yüksek bulundu ( $34.8 \pm 9.1$ ' e karşılık  $29.1 \pm 8.1$ ,  $p < 0.05$ ). Grup 2' nin serum CD 95 düzeyi kontrol grubundan daha yüksek bulundu ( $38.1 \pm 12.4$ ' e karşılık  $29.1 \pm 8.1$ ,  $p < 0.05$ ). Grup 1 ve Grup 2 arasında serum CD 95 düzeyleri anlamlı farklılık göstermedi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 3).

Hasta grubu ve kontrol grubu arasında serum NO düzeyleri anlamlı farklılık gösterdi ( $72.2 \pm 36.9$ ' a karşılık  $38.5 \pm 17.3$  m $\mu$ ,  $p < 0.001$ ) (Tablo 2). Grup 1' in serum NO düzeyi kontrol grubundan daha yüksek bulundu ( $73.7 \pm 38.9$ ' a karşılık  $38.5 \pm 17.3$  m $\mu$ ,  $p < 0.01$ ). Grup 2' nin serum NO düzeyi kontrol grubundan daha yüksek bulundu ( $71.0 \pm 35.5$ ' e karşılık  $38.5 \pm 17.3$  m $\mu$ ,  $p < 0.01$ ). Grup 1 ve Grup 2 arasında serum NO düzeyleri anlamlı farklılık göstermedi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 3).

Grup 1 ve grup 2' ye dahil edilen hastalarda ALT' si normal ( $n=43$ ) ve ALT' si yüksek ( $n=26$ ) olanların NO değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Grup 1 ve grup 2' deki HBeAg (-) ( $n=32$ ) ve HBeAg (+) ( $n=37$ ) olan hastaların NO değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Grup 1 ve grup 2' deki hastalardan HBV DNA (-) ( $n=36$ ) ve HBV DNA (+) ( $n=33$ ) olanların NO değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 1.** Grupların demografik ve klinik özellikleri

Özellikler	Grup 1 (n=32) n (%)	Grup 2 (n=37) n (%)	Kontrol (n=32) n (%)
Yaş ortalaması (yıl)	10.1±3.1*	9.3±3.3*	9.2±1.8*
Cinsiyet (Erkek/Kız)	21(65.6)/11(34.3)*	25(67.5)/12(32.4)*	18(56.2)/14(43.75)*
Hasta takip süresi (ay)	25.9±20.5*	26.1±22.6*	
Bulaş yolu			
Horizontal	25 (78,1)	27 (72.9)	
Vertikal	(-)	1 (2.7)	
Bilinmeyen	7 (21.8)	9 (24.3)	
Akut başlangıç	6 (18.7)	2 (5.4)	
ALT seviyesi (U/L)			
<45	29 (90.6)	14 (37.8)	
≥45	3 (9.3)	23 (62.1)	
HBeAg (başlangıç) (+)	(-)	37 (100)	
AntiHBe (başlangıç) (+)	32 (100)	(-)	
HBeAg (son) (+)	(-)	33 (89.1)	
AntiHBe (son) (+)	32 (100)	4 (10.8)	
HBV DNA (başlangıç)			
(-)	31 (96.8)	5 (13.5)	
(+)	1 (3.1)	32 (86.4)	
HBV DNA (son)			
(-)	29 (90.6)	9 (24.3)	
(+)	3 (9.3)	28 (75.6)	
Anne HBV pozitifliği	15 (46.8)	19 (51.3)	
Baba HBV pozitifliği	4 (12.5)	9 (24.3)	
Kardeş HBV pozitifliği	14 (43.7)	16 (43.2)	

ALT: Alanin aminotransaminaz; HBeAg: Hepatit B zarf antijeni; antiHBe: Hepatit B zarf antikorunu; HBV: Hepatit B virüsü; DNA:deoksiribonükleik asit. Veriler: ortalama ± SS ve sayı (%). \*p>0.05.

**Tablo 2.** Hasta ve kontrol grupları arasında CD 95 ve NO düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta (Grup 1+Grup 2) (n=69)	Kontrol (n=32)	p
CD 95 (%)	36.5±11	29.1±8.1	p<0.001*
NO (mµ)	72.2±36.9	38.5±17.3	p<0.0001*

NO: (nitrik oksid). Veriler: ortalama ± SS. \*Independent Sample T-testi.

**Tablo 3.** Hasta alt grupları ve kontrol grubu arasında CD 95 ve NO düzeylerinin karşılaştırılması

	Grup 1 (n=32)	Grup 2 (n=37)	Kontrol (n=32)	p
CD 95 (%)	34.8±9.1 <sup>a</sup>	38.1±12.4 <sup>a</sup>	29.1±8.1 <sup>b</sup>	p<0.05*
NO (mµ)	73.7±38.9 <sup>a</sup>	71.0±35.5 <sup>a</sup>	38.5±17.3 <sup>b</sup>	p<0.01*

NO: (nitrik oksid). Veriler: ortalama ± SS. \*ANOVA, farklı harfler istatistiksel anlamlılığı gösterir.

## **Tartışma**

Hepatit B enfeksiyonu tüm dünyada önemli bir sorun olarak devam etmektedir. Hepatit B enfeksiyonu sırasında oluşan karaciğer hücre hasarının mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Patogenezde genel olarak immün kökenli sürecin etkili olduğu düşünülmektedir. Viral hepatitlerin patogenezinde ve HBV'nin kronikleşmesinde virusların sitopatik etkisinden ziyade konağın immün cevabı, özellikle de hücresel immünite suçlanmaktadır. Hepatit virüsleriyle hücresel immün parametrelerin ve sitokinlerin ilişkileri ile hepatitli hastalarda karaciğer doku örneklerindeki FAS (membran proteini) dağılımı ve histopatolojik aktivite arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.<sup>14,15</sup>

Sağlıklı bireylerde ve kronik inaktif hepatit B hastalarında serum FAS seviyesinin benzer olduğu, kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda ise kronik inaktif hepatit B hastalarına göre HBV DNA seviyelerinden bağımsız olarak anlamlı bir yükseklik bulunduğu tespit edilmiştir. Bu sonuca dayanılarak kronik hepatit B'de inflamasyon aktivitesinin apoptozis ile ilişkili olduğu, ancak apoptozla HBV DNA arasında korelasyon olmadığı kanısına varılmıştır.<sup>16</sup> Bu sonuçlar çalışmamızda elde ettiğimiz verilerle uyumlu olmakla beraber, farklı olarak kronik inaktif hepatit B hastalarında serum FAS seviyesi sağlıklı kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Serum FAS seviyesindeki bu anlamlı farklılığın, HBV DNA düzeyinden bağımsız olarak HBV enfeksiyonunun progresyonu ile ilişkili olduğu ileri sürülebilir.

Songle H ve ark.<sup>17</sup> hepatit B virusu ile enfekte hastalarda soluble- FAS (s-FAS) ve soluble-FAS ligand (s-FASL) serum seviyelerini sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmış ve kronik inaktif hepatit B hastalarında daha yüksek düzeyler bulmuştur. Aynı çalışmada kronik aktif hepatit B enfeksiyonu olanlarda s-FAS ve s-FASL seviyeleri, hem kronik inaktif hepatit B hastalarından hem de sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlara

göre s-FAS seviyelerinin HBV enfeksiyonunun progresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülebilir. Çalışmamızda da benzer şekilde kronik inaktif hepatit B hastalarında serum FAS seviyesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında belirgin derecede yüksek bulunmuştur. Kronik inaktif hepatit B olan hastalar ile kronik aktif hepatit B olan hastalar arasında FAS seviyesi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

FAS ekspresyonu kronik hepatit veya siroz, hepatoselüler karsinom ve sağlıklı bireylerde çalışılmış ve FAS ekspresyonu sağlıklı kişilerde %4.7, kronik hepatit veya siroz olan hastalarda %6.9, hepatoselüler karsinomlu hastalarda %18.2 bulunmuştur.<sup>18</sup> Bu bulgu serum FAS seviyelerinin hepatitlerin progresyonu ile ilişkili olduğu kanısını desteklemektedir. Tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde FAS seviyesinin önemli bir işaret olabileceği düşündürülen çalışmalar mevcuttur.<sup>16</sup> Ancak tedavi alan hasta sayısı az olduğundan çalışmamızda böyle bir değerlendirme istatistiksel açıdan mümkün olamamıştır.

Serbest radikallerin karaciğer hasarının ortaya çıkmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir. NO bir serbest radikal olup mikroorganizmalara ve tümör hücrelerine yönelik sitotoksik veya sitostatik etki oluşturmada rol oynayan önemli biyolojik aktif bir moleküldür. NO'nun HBV aracılığıyla hepatik indüklenebilir nitrik oksid sentetaz'ın (iNOS) transaktivasyonu ve birkaç patofizyolojik olaylar sonucu oluştuğu kabul edilmektedir.<sup>19</sup> iNOS eksikliği bulunan farelerde geliştirilen HBV enfeksiyonunda, farelerin T lenfositlerinin HBV spesifik sitotoksisiteyi geliştiremedikleri, HBV enfeksiyonuna dirençli oldukları gösterilmiştir.<sup>20</sup> Akut hepatit B hastalarının NO ve proinflamatuvar sitokin serum seviyeleri, kronik hepatit B' li hastalar ve sağlıklı kontrollere göre, istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edilmiştir. Diğer yandan kronik hepatit B' li hastalarda serum NO seviyesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hafif yüksek tespit edilmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı çalışmada akut hepatit B' li hastalarda NO ile serum transaminazlar ve sitokinler arasında anlamlı korelasyon saptanmadığı bildirilmiştir.<sup>21</sup> Benzer başka

bir çalışmada, kronik hepatit B hastalarında NO ve iNOS düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin arttığı gösterilmiştir. ALT düzeyi yüksek HBV hastalarında ise NO ve iNOS seviyeleri kontrol grubu ve ALT düzeyi normal olan HBV'li hastalara göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır.<sup>22</sup> Çalışmamızda ALT' si normal olan HBV ile enfekte hastalar ile ALT' si yüksek olan hastaların NO düzeyleri karşılaştırılmıştır, ancak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Çalışmamızda, hem kronik inaktif hepatit B hastalarında hem de kronik aktif hepatit B hastalarında serum NO düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu bulgular Liu ve arkadaşlarının<sup>23</sup>, hepatit B enfeksiyonunun tek başına NO sentezini arttırdığı hipotezini desteklemektedir.

İnterferon, kronik hepatit B tedavisinde karaciğer fibrozisini ve fonksiyon bozukluğu önleme amaçlı kullanılmaktadır.<sup>13</sup> Kronik aktif hepatit B hastalarında interferon tedavisi öncesi ve sonrasında serum NO düzeylerinin ölçüldüğü bir çalışmada, yeterli hasta sayısı olmamakla beraber, NO düzeylerinin tedavi sonrası düştüğü tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. NO düzeyinin azalması inflamasyonun azalmasına bağlanmış ve daha geniş gruplarda çalışma yapılması gerektiği vurgulanmıştır.<sup>24</sup> Başka bir çalışmada, kronik aktif hepatit B hastalarında NO ve interferon tedavisine cevap arasında ilişki araştırılmış ancak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.<sup>25</sup> Çalışmamızda tedavi alan hasta sayısı az olması nedeniyle istatistiksel olarak bu yönde bir değerlendirme yapmak mümkün olmamıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda, apoptozis ve inflamasyon ile ilişkili olduğu düşünülen NO ve CD 95 düzeyleri hem kronik inaktif hepatit B olan hastalarda hem de kronik aktif hepatit B olan hastalarda kontrol grubuyla karşılaştırıldıklarında anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu bulgu, apoptozisin birçok hastalıkta olduğu gibi kronik hepatit B enfeksiyonunda da önemli bir rol oynadığını düşündürülebilir. Kronik hepatit B enfeksiyonlarında, hastalığın klinik seyri ve tedavisi ile NO ve CD 95 düzeylerinin

karşılaştırıldığı bu çalışma, yıllardır üzerinde oldukça fazla tartışılan kronik hepatit B enfeksiyonuna ilişkin mekanizmalara ışık tutacak ve tanı yöntemleri ve tedavi konusunda katkıda bulunacaktır. Bu konuda apoptozise yönelik kapsamlı ve ileri çalışmaların artmasıyla önemli mesafe katedilebileceği kanısındayız.

**Yazar katkısı:** Tasarım ve Dizayn: MYÇ. Veri Toplama ve İşleme: AKÖ. Analiz ve Yorum: AKÖ, MYÇ. Literatür taraması: AKÖ, MYÇ. Makale yazımı: AKÖ. Eleştirel inceleme: MYÇ.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

**Mali destek:** Bu çalışmayı maddi olarak destekleyen bir kuruluş bulunmamaktadır.

**Teşekkür:** Bu çalışma "Çocukluk çağı kronik hepatit B hastalığının klinik seyri ve tedavisi ile serum CD 95 (FAS) ve nitrik oksid düzeyleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi" başlıklı tıpta uzmanlık tezinden türetilmiştir (Tez no: 193371). Gaziantep Üniversitesi'ne ve çalışmamızda yer alan katılımcılara teşekkür ederiz.

#### Kaynaklar

1. The World Health Organization. Hepatitis B. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-B>. Temmuz 2023'de basıldı. Temmuz 2023'de erişildi.
2. Stinco M, Rubino C, Trapani S, Indolfi G. Treatment of hepatitis B virüs infection in children and adolescents. *World J Gastroenterol*. 2021;27(36):6053-6063. doi:10.3748/wjg.v27.i36.6053.
3. Indolfi G, Easterbrook P, Dusheiko G, et al. Hepatitis B virus infection in children and adolescents. *Lancet Gastroenterol. Hepatol*. 2019;4(6): 466-476. doi: 10.1016/S2468-1253(19)30042-1.
4. Türkiye Viral Hepatit Önleme ve Kontrol Programı 2018-2023. [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/Yayinlarimiz/Programlar/Turkiye\\_Viral\\_Hepatit\\_Onleme\\_ve\\_Kontrol\\_Programi\\_2018-2023.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/Yayinlarimiz/Programlar/Turkiye_Viral_Hepatit_Onleme_ve_Kontrol_Programi_2018-2023.pdf);2018.
5. McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, 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. doi: 10.1093/infdis/151.4.599.

6. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol.* 1980;68:251-306. doi: 10.1016/s0074-7696(08)62312-8.
7. Kiraz S, Ertenli I, Oztürk MA, et al. Increased soluble FAS suggest delayed apoptosis in Familial Mediterranean Fever complicated with amyloidosis. *J Rheum.* 2003;30(2):313-315.
8. Rudin CM, Thompson CB. Apoptosis and Disease: Regulation and Clinical relevance of Programmed Cell Death. *Annu. Rev. Med.* 1997;48:267-281. doi: 10.1146/annurev.med.48.1.267.
9. Hetts SW. To Die or Not To Die. *Jama.* 1998; 279(4): 300-307. doi: 10.1001/jama.279.4.300. PMID: 9450715.
10. Rust C, Gores GJ. Apoptosis and Liver disease. *Am J Med.* 2000;108(7):567-574. doi: 10.1016/s0002-9343(00)00370-3.
11. Andreoli TE. The Apoptotic Syndromes. *Am J Med.* 1999; 107(5): 488. doi: 10.1016/s0002-9343(99)00258-2.
12. Panossian A, Hambartsumyan M, Panosyan L, et al. Plasma nitric oxide level in Familial Mediterranean Fever and its modulations by Immuno-Guard. *Nitric Oxide.* 2003; 9(2): 103-110. doi: 10.1016/j.niox.2003.08.005.
13. Braderick A. Clinical manifestations and diagnosis of hepatitis B virus infection in children and adolescent. *UpToDate.* Available from: <http://www.uptodate.com>. Nisan 2023'de basıldı. Temmuz 2023'de erişildi.
14. Oksuz M, Akkiz H, Isiksal YF, et al. Expression of Fas antigen in liver tissue of patients with chronic hepatitis B and C. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004;16(3): 341-345. doi: 10.1097/00042737-200403000-00015.
15. Mochizuki K, Hayashi N, Hiramatsu N, et al. Fas Antigen Expression in Liver Tissues of Patients With Chronic Hepatitis B. *J Hepatol.* 1996;24(1):1-7. doi:10.1016/s0168-8278(96)80178-4.
16. Lapinski TW, Kowalczyk O, Prokopowicz D, Chyzewski L. Serum concentration of sFas and sFasL in healthy HbsAg carriers, chronic viral hepatitis B and C patients. *World J Gastroenterol.* 2004;10(24):3650-3653. doi: 10.3748/wjg.v10.i24.3650.
17. Song le H, Binh VQ, Duy DN, et al. Variations in the serum concentrations of soluble Fas and soluble Fas ligand in Vietnamese patients infected with hepatitis B virus. *J Med Virol.* 2004;73(2):244-249. doi: 10.1002/jmv.20082.
18. Hamazaki K, Gochi A, Matsubara N, Mori M, Orita K. Expression of Fas antigen and Bcl-2 protein in hepatocellular carcinoma. *Acta Med.* 1995;49(4):227-230. doi: 10.18926/AMO/30379.
19. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J.* 1994;298:249-258.
20. Guidotti LG, Guilhot S, Chisara FV. Interleukin-2 and alpha/beta interferon downregulate hepatitis B virus gene expression in vivo by tumor necrosis factor-dependent and independent pathways. *J Virol.* 1994;68(3):1265-1270. doi:10.1128/JVI.68.3.1265-1270.1994.
21. Koulentaki M, Notas G, Petinaki E, et al. Nitric oxide and pro-inflammatory cytokines in acute hepatitis B. *Eur J Intern Med.* 2004;15(1):35-38. doi: 10.1016/j.ejim.2003.11.004.
22. Wang K, Han LY, Lu Q, Wang B, Li XH, Wang HM. Nitric oxide and nitric oxide synthase in patients with chronic hepatitis B. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi.* 2005; 19(2): 142-145.
23. Liu RH, Jacop JR, Tennant BC, Hotchkiss JH. Nitrite and nitrosamine synthesis by hepatocytes isolated from normal woodchucks (*Marmota monax*) and woodchucks chronically infected with woodchuck hepatitis virus. *Cancer Res.* 1992;52(15):4139-4143.
24. Ersoy Y, Bayraktar M, Mızrak B, et al. The level of endothelin-1 and nitric oxide in patients with chronic viral hepatitis B and C and correlation with histopathological grading and staging. *Hepatol Res.* 2006; 34(2): 111-116. doi: 10.1016/j.hepres.2005.11.005
25. Amaro MJ, Bartolome J, Pardo M, Cotonat T, Lopez A, Carreno V. Decreased nitric oxide production in chronic viral hepatitis B and C. *J Med Virol.* 1997;51(4):326-331. doi: 10.1002/(sici)1096-9071(199704)51:4<326::aid-jmv11>3.0.co;2-g.