



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg.
2024; 38 (3): 230 - 233
http://www.fusabil.org

HBe Ag-Negatif Kronik Hepatit B Hastalarında Serum Miyeloperoksidaz Düzeylerinin İnflamatuar Hasardaki Yeri

Arzu ŞENOL^{1, a}
Şafak ÖZER BALIN^{2, b}

¹Fethi Sekin Şehir Hastanesi,
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği,
Elazığ, TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-8537-0195

^b ORCID: 0000-0002-6958-4046

Geliş Tarihi : 29.01.2024

Kabul Tarihi : 29.07.2024

Yazışma Adresi Correspondence

Arzu ŞENOL
Fethi Sekin Şehir Hastanesi,
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği,
Elazığ - TÜRKİYE
asenol2017@gmail.com

Amaç: Hepatit B virüsü, dünyada yaklaşık 350 milyon kişide görülmekte ve yılda bir milyon kişinin ölümünden sorumlu tutulmaktadır. Miyeloperoksidaz, nötrofil ve monositlerin aktivasyonu sırasında oksidatif ürünler oluşturan bir hem proteindir. Bu ürünler, doku hasarı sürecinde yer alır. Bu çalışmada, HBe Ag negatif kronik hepatit B hastalarında, serum miyeloperoksidaz düzeyini ölçmek ve bu parametre ile biyokimyasal bulgular arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya Aralık 2017-Temmuz 2019 arasında Enfeksiyon Hastalıkları Polikliniğine başvuran HBe Ag negatif kronik hepatit B'li 70 hasta ve herhangi bir kronik hastalığı olmayan 50 kontrol grubu alınmıştır. Serum miyeloperoksidaz düzeyleri, ELISA yöntemi ile belirlenmiştir.

Bulgular: Kronik hepatit B hastalarının yaş aralığı 41.9±1 ve 31'i kadın, 39'u erkek iken, kontrol grubunun yaş aralığı 39.5±9 ve 22'si kadın 28'i erkek olarak belirlenmiştir. Serum miyeloperoksidaz düzeyleri, kontrol grubunda, HBeAg negatif kronik hepatit B hastalarından yaklaşık %2 daha düşük ve istatistiksel anlamlı saptanmıştır (p=0.001).

Sonuç: Miyeloperoksidaz düzeyinin kontrol grubunda kronik hepatit B hastalarından düşük olması, karaciğer inflamasyonu, doku hasarında bu enzimin önemli rol oynadığını gösterebilir. Miyeloperoksidaz serum düzeylerinin belirlenmesi, hastalık progresyonunun takibinde yararlı bir biyobelirteç olabilir.

Anahtar Kelimeler: HBe Ag negatif kronik hepatit B, miyeloperoksidaz, karaciğer inflamasyonu

The Role of Serum Myeloperoxidase Levels in Inflammatory Damage in HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B Patients

Objective: Hepatitis B virus is seen in approximately 350 million people in the world and is responsible for the death of one million people annually. Myeloperoxidase is a heme protein that forms oxidative products during activation of neutrophils and monocytes. These products are involved in the process of tissue damage. This study aimed to measure the serum myeloperoxidase level in HBe Ag negative chronic hepatitis B patients and to evaluate the relationship between this parameter and biochemical findings.

Materials and Methods: In this study, 70 patients with HBe Ag negative chronic hepatitis B who applied to the infectious diseases outpatient clinic between December 2017 and July 2019 and 50 controls without any chronic disease were included. Serum myeloperoxidase levels were determined by ELISA method.

Results: While the age range of hepatitis B patients was 41.9±1 and 31 were women and 39 were men, the age range of the control group was 39.5±9 and 22 were women and 28 were men. Serum myeloperoxidase levels were found to be approximately 2% lower in the control group than in HBe Ag negative chronic hepatitis B patients and were statistically significant (p=0.001).

Conclusion: The fact that myeloperoxidase level is lower than HBe Ag negative chronic hepatitis B in the control group may indicate that this enzyme plays an important role in liver inflammation and tissue damage. We think that determining myeloperoxidase serum levels may be a useful biomarker in monitoring disease progression.

Key Words: HBe Ag negative chronic hepatitis B, myeloperoxidase, liver inflammation

Giriş

Hepatit B virüsü (HBV), dünyada yaklaşık 350 milyon kişide görülmekte ve yılda bir milyon kişinin ölümünden sorumlu tutulmaktadır (1, 2). Hepatit B'den korunma, teşhis ve tedavi konusunda önemli gelişmeler olmasına rağmen hastalık eradike edilememiştir (3). Karaciğer sirozu (KS) ve hepatoselüler karsinom (HSK), hepatit B'nin en önemli komplikasyonlarıdır. Hem enfeksiyöz hem de nonenfeksiyöz hastalıkların patogeneğinde oksidatif stres (OS) suçlanmaktadır. Oksidatif stres, hücre için tehlikelidir ve hücre içindeki DNA, proteinler ve lipitler gibi çeşitli makro moleküllerde hasarlara yol açar (2). Kronik viral hepatitte karaciğer hasarı ve fibrozisin patojenik mekanizmaları net değildir. Ancak, immünolojik karaciğer hasarında, doğrudan sitotoksikite ve OS'in etkili olduğu bildirilmiştir (4). Ayrıca, HBV antijenlerinin viral olarak enfekte olmuş hücrelerin ölümüne yol açan inflammatuar süreçler sırasında OS'i tetiklediği gösterilmiştir (5).

Miyeloperoksidaz (MPO), başlıca reaktif oksijen türleri (ROS) üreten enzimlerden biridir. MPO, nötrofiller ve monositlerin aktivasyonu sırasında salınan bir hem proteindir

(6). Bu enzim tarafından oluşturulan oksidatif ürünler çok sayıda doku hasarında etkilidir (4). Kronik hastalıklarda OS'in etkilerinin araştırılması, pek çok hastalığın patogenezinin aydınlatılmasında yol gösterebilir. MPO düzeylerinin ölçülmesi de, kronik viral hepatit B'de OS'in etkisini göstermede umut verici bir biyobelirteç olabilir. Hepatit B'nin patogenezi hakkındaki bilgilerin artması, hastalık progresyonunun takibi, daha iyi ve etkili tedavilere yol açabilir.

Bu çalışmada, HBe Ag negatif kronik hepatit B (HKH) hastalarında, serum MPO düzeyini ölçmek, bu enzimin karaciğer inflamasyonu ve hasarında etkili olabileceğini göstermek ve bu parametre ile biyokimyasal bulgular arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amaçlanmıştır.

Geçer ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Çalışma protokolü, Helsinki Deklarasyonu etik kurallarına uygundur ve çalışma için Fırat Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 08.06.2017 tarih ve 34 sayılı kararla onay ve hasta onamı alınmıştır.

Bu prospektif çalışmaya Aralık 2017-Temmuz 2019 tarihleri arasında Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine başvuran HKH'li (≥ 6 months HBs Ag positive, HBe Ag negative, Anti Hbc IgG positive, HBV DNA < 31.6 IU/ML; eski adı inaktif HBs Ag taşıyıcılığı) 70 olgu ile HBsAg, anti-HCV ve anti HIV negatif, akut ve kronik hepatit geçmişi ve herhangi bir kronik hastalığı olmayan 50 kontrol grubu alınmıştır. Akut hepatit, Hepatit A, Hepatit C ve HIV ko-enfeksiyonu olan hastalar, 18 yaş altında olanlar, otoimmün serolojisi pozitif olan hastalar, gebelik, metabolik ve genetik nedenli karaciğer hastalıkları, HSK ve KS olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Veri Toplama: Hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), HBV viral yük (HBV DNA), serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST), alfa fetoprotein (AFP) düzeyleri rutin hasta analizinin bir parçası olarak çalşılan parametrelerdir.

Serum MPO Düzeylerinin Belirlenmesi:

Hastalardan periferik venöz kandan yaklaşık 5 mL kan alınarak serumlarına ayrılmış ve serumlar -80°C derecede derin dondurucuda saklanmıştır. Serum MPO düzeyleri, ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi (R&D Systems, Minneapolis, MN, ABD) ile belirlenmiş ve test sonuçları ng/mL olarak ifade edilmiştir.

İstatistiksel Değerlendirme: Veri analiz işlemleri SPSS 22.0 (Chicago, ABD) paket istatistik yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğunun tespiti için Kolmogorov-Smirnov normallik analizi yapılmıştır. Normal dağılıma uyan sürekli değişkenlerin analizinde parametrik One-Way Anova (post hoc tukey), normal dağılıma uymayan değişkenlerin analizinde ise nonparametrik independent samples t-test kullanılmıştır. Sayısal veriler ortalamaya±standart sapma olarak, kategorik veriler % olarak ifade edilmiş; kategorik verilerin karşılaştırılmasında pearson ki kare testi kullanılmış, istatistiksel karşılaştırmalarda $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

HBe Ag negatif kronik hepatit B hastalarının yaş aralığı 41.9 ± 1 ve 31'i kadın, 39'u erkek iken; kontrol grubunun yaş aralığı 39.5 ± 9 ve 22'si kadın 28'i erkek olarak belirlenmiştir. HBe Ag negatif kronik hepatit B hastaları ve kontrol grubu arasında, yaş ortalamaları, cinsiyet, AST, ALT ve AFP değerleri açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (sırasıyla $p=0.103$, $p=0.901$, $p=0.298$, $p=0.187$, $p=0.159$). Serum MPO düzeyleri, kontrol grubunda, HKH hastalarından yaklaşık %2 daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p: 0.001$). HBe Ag negatif kronik hepatit B hastalarında, MPO düzeyleri ile yaş, cinsiyet, AST, ALT ve AFP değerleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$). HBe Ag negatif kronik hepatit B ve kontrol grubunun demografik özellikleri, laboratuvar testlerinin ve MPO düzeylerinin ortalama değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. HBe Ag negatif kronik enfeksiyon olguları ve kontrol grubunun demografik özellikleri, laboratuvar testlerinin ortalama ve p değerleri

	Kronik enfeksiyon (n=70)	Kontrol (n=50)	p-değeri
Yaş ¹	41.85±10	39.52±9	0.115
Cinsiyet (Kadın/Erkek)	31/39	22/28	0.901
Aspartat aminotransferaz (IU/L)**	29 (20-41)	28 (21-34)	0.298
Alanin aminotransferaz (IU/L)**	33 (21-49)	31 (26-36)	0.187
Total bilirubin (mg/dL)**	0.75 (0.24-1.93)	0.5 (0.28-0.9)	0.101
Alfa fetoprotein (µg/L)**	2.79 (1.5-4.15)	2.81 (1.19-4.03)	0.269
Platelet ($10^9/L$)*	253066±56250	262627±58000	0.740
Protrombin zamanı (sn*)	11.85±0.40	11.81±0.20	0.170
Miyeloperoksidaz (ng/mL)**	4.4 (2.18-10.7)	2.71 (2.27-2.95)	0.001

*mean±SD, **median (min-max)

Tartışma

Hepatit B virüsü, sitopatik bir virüs değildir, ancak karaciğer hasarında bu virusun karaciğer fibrozuna inflamatuvar bir katkısının olduğu bilinmektedir (5). Enfamasyon bölgesinde aktive olan nötrofil ve monositlerden salgılanan MPO enziminin, oksidanların oluşumunda ve kronik inflamatuvar hastalıklarda doku hasarının gelişmesinde temel rol oynadığı bildirilmiştir (7). Buna ek olarak karaciğerde bulunan yıldız makrofajlar veya kupffer hücreleri de MPO sentezler. Bu hücrelerin aktivasyonunun, oksidanların ve sitokinlerin lokal salınımla birlikte hepatik fibroze yol açabileceği öne sürülmüştür (8).

Önemli bir MPO ürünü olan hipokloröz asit (HOCl), genomik DNA'daki baz değişiklikleri ile ilişkilendirilmiştir. Nötrofillerdeki MPO aktivitesinin genellikle kadınlarda erkeklere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (9). Bir çalışma, cinsiyet ve MPO düzeyleri arasında doğrudan bir ilişki bulamamıştır (10). Bu çalışmada, iki grup arasında, MPO düzeyi ile cinsiyet arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Birçok çalışma (2, 11, 12), hepatit B enfeksiyonunda lipid peroksidasyonunun (LPO) varlığını doğrulamıştır. Bir çalışmada (5), MPO plazma düzeyleri, HBV ile ilişkili siroz ve KHB hastalarında sağlıklı olgulara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.

Fujita ve ark. (13), kronik hepatit B enfeksiyonunda, hepatit virüslerinin karaciğer hücre hasarına neden olduğu mekanizmaların büyük ölçüde bilinmediğini belirtmişlerdir. Ayrıca, sağlıklı olguların karaciğeri içindeki ROS miktarının, hepatit B enfeksiyonu olan hastaların karaciğerlerinden önemli ölçüde düşük olduğunu bildirmişlerdir. Hepatit B hastalarının karaciğerlerinde artmış LPO'nun aktif fibrogeze yol açan bir kaskad başlattığı ileri sürülmüştür (4). Yadav ve ark. (14), hepatik stellat hücrelerin aktivasyonunun, karaciğer fibrozunda önemli olduğunu belirtmişlerdir. Arnhold (15), MPO'nun hem savunma hem de enfamatuvar bölgelerde doku hasarına karışan çok fonksiyonlu bir enzim olduğunu, PMNL'lerin azurofilik granüllerinin çok miktarda MPO içerdiğini belirtmiştir. Atif Babior ve ark. (16), uyarılmış PMNL'lerde, moleküler oksijenin süperoksit anyon radikale indirgendliğini bildirmişlerdir.

Kothari ve ark. (17), plazma MPO konsantrasyonlarının nötrofil proliferasyonunun ve inflamasyon şiddetinin bir göstergesi olabileceğini belirtmişlerdir. Dikici ve ark. (18), viral hepatitte virüsün periferik lenfositleri de enfekte ettiğini ve enfekte lenfositlerin, sağlıklı hücreleri virüslere karşı uyararak için interferon ürettiğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada, karaciğerde MPO ekspresyonu görülmemiştir

(19). Bir diğer çalışmada, plazma MPO seviyeleri KHB hastalarında kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (4). Güler ve ark. (20) sağlıklı kontrollere kıyasla kronik aktif ve inaktif hepatit B olgularının serum MPO'sunda anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir. Ayrıca, hastaların ALT seviyeleri ile MPO arasında anlamlı bir farklılık saptamışlardır. Bu çalışmada, ALT ve MPO düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Taşdelen ve ark. (21) çalışmalarında, kronik aktif ve inaktif hepatit B hastalarında kontrollere kıyasla önemli bir karbonil seviyesi artışı tespit etmiştir. Ayrıca, hem kronik hem de inaktif hepatit B hastalarının periferik kan lenfositlerinde DNA hasarı gösterilmiştir (2).

Bhargava ve ark. (22) kronik ve inaktif hepatit B hastalarının lenfositlerinde ROS düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. 2010 yılında yapılan bir meta analiz, hepatit B'nin patogenezinde OS'in önemli bir rol oynamasına rağmen, karaciğer hastalıklarında antioksidan tedaviyi destekleyen veya reddeden herhangi bir kanıt olmadığı sonucuna varmıştır (2). Sağlıklı olguların karaciğerlerindeki ROS miktarının, HBV enfeksiyonu olan hastaların karaciğerlerinden önemli ölçüde daha düşük olduğu bildirilmiştir (4). Brown ve ark. (23), immünohistokimyasal yöntemler kullanarak, yerleşik makrofajlarda, özellikle KC'lerde MPO ekspresyonunu bildirmiştir. Karaciğer hasarı bölgesinde toplanan MPO pozitif nötrofilik granüllerdeki (NG) artış, NG'lerin karaciğer hasarı ve onarımının çok adımlı süreci sırasında ortaya çıkan inflamatuvar reaksiyondaki önemli rolünü göstermektedir. Bu çalışmada ise, serum MPO düzeyleri kontrol grubunda, HKH olgularından istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır.

Bilindiği kadarıyla bu çalışma, HKH hastalarında serum MPO düzeylerini değerlendiren az sayıda çalışmadan biridir. MPO enzimi, nötrofilik granülositlerde en çok bulunan proinflamatuvar biyobelirteçtir. MPO'nun antibakteriyel aktiviteleri, farklı reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimini içerir. MPO ayrıca kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, karaciğer hastalıkları ve kanser gibi birçok inflamatuvar hastalığıdaki rolü nedeniyle bilinen bir biyobelirteçtir. Çalışmalar, HBV enfeksiyonunda çeşitli derecelerde OS meydana geldiğini göstermektedir. Hepatit B'nin patogenezinde OS'in etkili olduğu bilinmektedir. MPO düzeyinin kontrol grubunda HKH'dan düşük olması, karaciğer inflamasyonu ve doku hasarında, bu enzimin önemli rol oynadığını gösterebilir. Ayrıca, MPO serum düzeylerinin belirlenmesi, hastalık progresyonunun takibinde yararlı bir biyobelirteç olabilir. Makrofajların ve nötrofillerin aktivasyonu herhangi bir inflamasyon türünde meydana gelebileceğinden, MPO'nun hepatit B'deki kesin durumunu netleştirmek için daha ileri çalışmalar gereklidir.

Kaynaklar

1. CDC. Viral hepatitis 2013. Available from: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6229a1.html>. 2013; 62 (29): 581-596.
2. Alavian SM, Showraki A. Hepatitis B and its relationship with oxidative stress. *Hepat Mon* 2016; 16(9): e37973.
3. Haleboua-De Marzio D, Hann HW. Then and now: The progress in hepatitis B treatment over the past 20 years. *World J Gastroenterol* 2014; 20(2): 401-413.
4. Namiduru ES, Namiduru M, Tarakçioğlu M, Tanriverdi M. Levels of Malondialdehyde, myeloperoxidase and

- nitrotyrosine in patients with chronic viral hepatitis B and C. *Adv Clin Exp Med* 2012; 21(1): 47-53.
5. Mohamadkhani A, Jazii FR, Sayehmiri K, et al. Plasma myeloperoxidase activity and apolipoprotein a-1 expression in chronic hepatitis B patients. *Archives of Iranian Medicine* 2011; 14(4): 254-258.
 6. Harmandar FA, Harmandar IO, Tezel IA. Nötrositik asitli siroz hastalarında serum ve asit sıvısı TNF-alfa, interlökin-6, nitrik oksit ve myeloperoksidaz seviyelerinin, asit enfeksiyonu açısından tanısal ve prediktif değeri. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi* 2020; 19: 75-82.
 7. Seckin Y, Cagin YF, Sener F. Asitteki myeloperoksidaz düzeyi spontan yatırımlı peritonit için tercih edilen bir faktör mü? *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 2016; 23(2): 146-151.
 8. Khan AA, Alsahli MA, Rahmani AH. Myeloperoxidase as an active disease biomarker: recent biochemical and pathological perspectives. *Med Sci* 2018; 6: 33.
 9. Carmo RF, Vasconcelos LRS, Mendonça TF, et al. Myeloperoxidase gene polymorphism predicts fibrosis severity in women with hepatitis C. *Human Immunol* 2014; 75(8): 766-770.
 10. Kumar AP, Piedrafita FJ, Reynolds WF. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands regulate myeloperoxidase expression in macrophages by an estrogen dependent mechanism involving the 463GA promoter polymorphism. *J Biol Chem* 2004; 279: 8300-8315.
 11. Sen V, Uluca U, Ece A, et al. Serum prolidase activity and oxidant-antioxidant status in children with chronic hepatitis B virus infection. *Ital J Pediatr* 2014; 40: 95.
 12. Shaban NZ, Salem HH, Elsadany MA, et al. Alterations in lipid peroxidation and antioxidants in patients' with different stages of hepatitis B virus infection in Egypt. *Life Sci J* 2014; 11(8): 960-967.
 13. Fujita N, Horiike S, Sugimoto R, Hideaki T, Iwasa M. Hepatic oxidative DNA damage correlates with iron overload in chronic hepatitis C patients. *Free Radic Biol Med* 2007; 42: 353-362.
 14. Yadav D, Hertan H, Schweitzer P, Norkus P, Pitchumoni CS. Serum and liver micronutrient antioxidants and serum oxidative stress in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2634-2639.
 15. Arnhold J. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. *Biochemistry (Mosc)* 2004; 69: 4-9.
 16. Babior BM. NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol* 2004; 16: 42-47.
 17. Kothari N, Keshari RS, Bogra J, et al. Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis. *J Crit Care* 2010; 29: 1-7.
 18. Dikici I, Mehmetoglu I, Dikici N, Bitirgen M, Kurban S. Investigation of oxidative stress and some antioxidants in patients with acute and chronic viral hepatitis B and the effect of interferon-alpha treatment. *Clin Biochem* 2005; 38(12): 1141-1144.
 19. Amanzada A, Malik IA, Nischwitz M, et al. Myeloperoxidase and elastase are only expressed by neutrophils in normal and in inflamed liver. *Histochem Cell Biol* 2011; 135: 305-315.
 20. Guler SA, Tolun FI, Ucmak H, et al. Relationship between antioxidant capacity and oxidative stress in patients with chronic hepatitis B. *Advance Laboratory Med Int* 2014; 4(1): 17-25.
 21. Tasdelen FN, Aydin BK, Sarikaya H, et al. Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis B. *Clin Lab* 2012; 58(3-4): 273-280.
 22. Cicek IE, Cicek E, Kayhan F, et al. The roles of BDNF, S100B, and oxidative stress in interferon-induced depression and the effect of antidepressant treatment in patients with chronic viral hepatitis: A prospective study. *J Psychosom Res* 2014; 76(3): 227-232.
 23. Brown KE, Brunt EM, Heinecke JW. Immunohistochemical detection of myeloperoxidase and its oxidation products in Kupffer cells of human liver. *Am J Pathol* 2001; 159: 2081-2088.