



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**NONALKOLİK STEATOHEPATİT VE
KRONİK HEPATİT C ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDA
SERUM KASPAZ KIRILMIŞ SİTOKERATİN-18 (CK18-Asp396) DÜZEYLERİ**

Dr. Yusuf YILMAZ

UZMANLIK TEZİ

Bursa – 2007



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**NONALKOLİK STEATOHEPATİT VE
KRONİK HEPATİT C ENFEKSİYONU OLAN HASTALARDA
SERUM KASPAZ KIRILMIŞ SİTOKERATİN-18 (CK18-Asp396) DÜZEYLERİ**

Dr. Yusuf YILMAZ

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Enver DOLAR

Bursa – 2007

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet		ii-iii
İngilizce Özet		iv-v
Giriş ve Amaç		1-2
Genel Bilgiler		3-18
Gereç ve Yöntem		19-23
Bulgular		24-32
Tartışma		33-38
Sonuç		39
Kaynaklar		40-51
Özgeçmiş		52
Teşekkür		53

ÖZET

Apoptozisin kronik karaciğer hasarında önemli bir rol aldığına inanılmaktadır. Kaspaz-kırılmış proteinler apoptotik hücrelerden serbestleşir ve dolaşımda ölçülebilir. Kronik karaciğer hastalıklarında apoptozisin rolünü daha iyi kavramak amacıyla 35 nonalkolik steatohepatitli (NASH), 21 kronik hepatit C (HCV)'li hastada ve 18 sağlıklı kontrolde kaspaz-kırılmış sitokeratin-18 (CK18-Asp396)'in serum seviyelerini ölçtük. CK18-Asp396 (M30-antijen) düzeyi ELISA yöntemiyle saptandı.

Serum M30-antijen düzeyi sağlıklı kontrollerden (ortanca: 54,5 IU/L), HCV'li hastalara (80,1 IU/L) ve NASH'li hastalara (144,1 IU/L) doğru artış gösterdi. Serum M30-antijen düzeylerinin NASH'li hastalarda sağlıklı kontrollerden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu saptandı ($p<0,001$). Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların M30-antijen düzeylerinin sağlıklı kontrollerinkinden yüksek saptanmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Anormal M30-antijen düzeylerinin ($>111,5$ IU/L) %62,9 sensitivite %100 spesifite ile NASH 'li hastaları sağlıklı kontrollerden ayırdığı görüldü.

NASH'li ve kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların hem histolojik aktivitesinin derecesi hem de fibrozis evresi ile M30-antijen düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Neticede bu sonuçlar, serum M30-antijen belirtecinin işaret ettiği apoptotik sürecin NASH patogenezindeki rolünün daha önemli olabileceğini, ancak gerek

kronik hepatit C enfeksiyonlu gerekse NASH'li hastalarda karaciğerin histolojik bulguları ile korelesyon göstermediğini düşündürmektedir. Bulgularımızı konfirme edecek daha büyük hasta gruplarıyla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Alkolik olmayan steatohepatit, kronik hepatit C, apoptozis, histopatoloji, biyobelirteç.

SUMMARY

SERUM LEVELS OF CASPASE-CLEAVED CYTOKERATIN 18 (CK18-ASP396) IN NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS AND CHRONIC HEPATITIS C

Apoptosis is deemed to play a crucial role in chronic liver injury. Caspase-cleaved proteins are released from apoptotic cells and may be measured in the circulation. To gain more insight into the role of apoptosis in chronic liver disease, we examined serum levels of caspase-cleaved cytokeratin 18 (CK18-Asp396) in 35 patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH), 21 patients with chronic hepatitis C (HCV) and 18 healthy controls. CK18-Asp396 levels were assessed by means of ELISA.

Analysis of serum CK18-Asp396 levels showed an increasing trend starting from healthy controls (median: 54.5 IU/L), through HCV patients (80.1 IU/L) up to patients with NASH (144.1 IU/L). It was detected that serum M30 antigen levels of patients with NASH were higher than healthy controls in a statistically significant manner ($p < 0.001$). Although M30 antigen levels of patients with chronic hepatitis C infection were higher than healthy controls, no statistically significant difference was found between two groups ($p > 0.05$). It was seen that abnormal M30 levels (> 111.5 IU/L) distinguished patients with NASH from healthy controls with 62.9 % sensitivity 100% specificity. No significant correlation was found between both histological activity level and fibrosis phase and M 30 antigen levels of patients with NASH and chronic hepatitis C infection.

In conclusion, these results make us think that apoptotic process pointed out by serum M30 antigen marker might be more important in NASH pathogenesis however it does not show any correlation with liver histological findings of patients with NASH and chronic hepatitis C. Further studies on larger groups of patients are needed to confirm our pilot findings.

Keywords: Nonalcoholic steatohepatitis; chronic hepatitis C; apoptosis; histopathology; biomarker.

GİRİŞ

Hepatit C virus (HCV) ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD) batılı ülkelerde kronik karaciğer hastalıklarının en yaygın iki nedenidir (1,2). NAFLD terimi basit yağlanmadan steatohepatite (NASH) kadar değişebilen geniş bir spektrumu kapsar. NASH benign bir yağlanma sendromu olmayıp, önemli oranda fibrozis ve siroza ilerleme gösterebilecek hatta hepatosellüler karsinoma (HCC) ile komplike olabilecek bir klinik durumdur (3). Kronik HCV enfeksiyonu da siroz ve HCC riski artmış olan karaciğer hastalıklarının ana nedenlerinden biridir (4).

NASH patofizyolojisi son birkaç yıldır hepatologların ilgi odağı olmasına rağmen tam olarak aydınlatılamamıştır. Günümüzde kanıtlar, patolojik şekilde artış gösteren hepatosit apoptozisinin, NASH'in belirgin özellikleri olan inflamasyona ve fibroze yol açıcı önemli bir mekanizma olduğunu, dolayısıyla steatozisin steatohepatite ilerlemesinde anahtar rol oynayabildiğini göstermektedir (5-7). Benzer şekilde hepatit C virüs enfeksiyonunda da karaciğer hücre hasarının apoptozisin indüksiyonu aracılığıyla oluştuğunu öne süren kanıtlar giderek artmaktadır (8-12).

Apoptoz, kaspazlar tarafından düzenlenen programlı hücre ölümüdür. Kaspazlar zimojen (inaktif öncül madde) olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein yer aldığından 'sistein proteazlar' olarak adlandırılan bir grup enzimdir (13). Apoptozisin ilk evrelerinden biri, epitel spesifik ara filament

sitokeratin 18 (CK18)'in kaspazlar tarafından 2 ayrı noktadan 3 parçaya kırılmasıdır (14-17). Bu kaspaz kırılması sonucu oluşan CK18 neo-epitopu (diğer adı M30-antijendir, sadece apoptozisde oluşur, nekrozda oluşmaz) monoklonal antikor M30 tarafından tanınır (14,18). Dolayısıyla apoptozis sırasında artmış olan kaspaz aktivasyonu monoklonal antikor M30 kullanılarak hastaların serumlarında saptanabilir (19).

AMAÇ

Biz bu çalışmada nonalkolik steatohepatitli hastalar ile kronik HCV enfeksiyonlu hastaların serumlarında M30-antijen düzeyinin sağlıklı kontrollerin serumlarında saptanan düzeylere göre nasıl değiştiğini ve M30-antijenin serum düzeyleri ile hastaların karaciğer histolojik bulguları arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmayı hedefledik.

GENEL BİLGİLER

Nonalkolik Steatohepatit

Non alkolik yağlı karaciğer hastağı (NAFLD) obezite, insülin rezistansı, tip 2 diyabet, hipertansiyon ve hiperlipidemiyle ilişkili bozukluklar topluluğı olarak tanımlanan metabolik sendromun hepatik manifestasyonu olarak ortaya çıkan, oldukça yaygın bir şekilde görülen karaciğer hastalığıdır (3). NAFLD terimi basit yağlanmadan steatohepatite, ileri düzeyde fibrozise ve siroza kadar değişebilen geniş bir spektrumu kapsar (3,20). Nonalkolik steatohepatit (NASH) terimi karaciğer biyopsi bulgularının alkolik hepatitle ayırt edilemediğı ancak alkol kullanımının önemli miktarda olmadığı durumlarda kullanılır (20,21). NASH; potansiyel olarak ilerleyici bir durumdur, çoğıu klinisyence ‘kriptojenik siroz’ un en yaygın nedeni olarak kabul edilir ve hepatosellüler karsinoma (HCC) ile komplike olabilir (22,23). Oysa NAFLD’ ın en yaygın görülen şekli olan basit yağlanma (steatozis) ise tipik olarak selim, ilerleyici olmayan bir klinik seyir gösterir. Bu prognostik özelliklerinden dolayı steatohepatiti basit yağlanmadan ayırt etmek çok önemlidir.

NASH tanısı için aşağıdaki kriterler önerilmiştir (20,24):

1. Karaciğer biyopsisinin inflamasyonla birlikte (lobuler veya portal) makroveziküler yağlanma göstermesi. Mallory cisimciği, fibrozis veya siroz eşlik edebilir ancak şart değildir.
2. Alkol kullanmıyor olması veya ihmal edilebilir düzeyde (haftada 40 gramdan az) alkol kullanım öyküsünün olması.
3. Hepatit B ve C enfeksiyonunun serolojik kanıtının olmaması.

Epidemiyoloji

Genel popülasyonda NASH'in gerçek prevalansı iyi bilinmemektedir. Batılı ülkelerde karaciğer biopsisi yapılan hastalar arasında NASH %7-10 arasında görülmekteyken (21,25) bu oran Japonya'da %1.2'dir (26). NASH çoğunlukla 40-60 yaş arasında görülür (21,25,27) ancak 10 yaş üzerindeki çocuklarda da görülebildiği bildirilmiştir (28,29). NASH kadın cinsinde daha sıktır (21).

Metabolik sendrom ile ilişkisi

NASH'in etyolojisi tam olarak bilinmemektedir ancak obezite, tip 2 DM, hiperlipidemi ile birlikte sıkça görülür (21,24,30,31). Bir çalışmada 304 NAFLD'lı hastada (bunların 120'si NASH) metabolik sendrom araştırılmış ve metabolik sendromun NASH'li grupta sadece yağlanmanın olduğu gruba göre önemli derecede daha sık görüldüğü bulunmuştur (32).

NASH'li hastalarda metabolik sendrom komponentlerinin görülme sıklıklarına bakıldığında;

Obezite, vakaların %69-100'ünde bildirilmiştir (21,24,33). Çoğu hasta ideal vücut ağırlığının %10-40 üstündedir (21,30,33). NASH, zayıflamak için

cerrahi yapılan obez hastalarda, genellikle ilk 12-18 ay içerisinde hızlı kilo kaybına bağlı olarak da ortaya çıkar (34).

Tip 2 DM, NASH'li hastaların %34-75'inde tanımlanmıştır (21,24,31,33).

Hiperlipidemi (hiperkolesterolemi ve/veya hipertrigliseridemi); obezite ve tip 2 DM ile sıklıkla ilişkilidir ve NASH'li hastaların %20-80'inde bildirilmiştir (21,24,27,31,33).

İlişkili diğer nedenler

NASH ile ilişkili olduğu bilinen birkaç neden tanımlanmıştır, bunlar;

- **Metabolik bozukluklar:** Total parenteral beslenme, hızlı kilo kaybı, akut açlık, intravenöz glukoz tedavisi.
- **Abdominal cerrahi:** Geniş ince barsak rezeksiyonu, morbid obezite için gastroplasti, biliyopankreatik diversiyon ameliyatı ve jejunal bypass.
- **İlaçlar veya toksinler:** Amiodaron, tamoksifen, glukokortikoidler, sentetik östrojenler, perheksilen maleat ve bazı pestisidler.
- **Diğer nedenler:** Wilson Hastalığı, Weber-Christian Hastalığı, parsiyel lipodistrofi, abetalipoproteinemi, bakteriyel aşırı çoğalmanın eşlik ettiği jejunal divertikülozis.

Patogenez

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığının patogenezi tamamiyle aydınlatılamamıştır. Günümüzde genel olarak kabul gören ve 'çift vuruş hipotezi' olarak adlandırılan kurama göre NASH iki aşamalı bir patogenetik süreç içerisinde gelişmektedir (35). Hangi nedene bağlı olursa olsun nonalkolik steatohepatitin sabit bulgusu hepatositlerdeki yağ birikimidir ve bu NASH'e

giden süreçteki birinci basamaktır. Klinik pratikte alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmaları incelendiğinde, hastaların yaklaşık %90`ında tip 2 DM, obezite ve hiperlipidemi gibi hastalıkların bir veya birden fazlasının mevcut olduğu görülmektedir. Bu metabolik bozuklukların ortak noktası ise olguların büyük kısmında periferik insülin direncinin varlığıdır ve yağlanmaya sebep olan temel metabolik bozukluğun insülin direnci olduğu söylenebilir. Ancak aynı metabolik bozuklukları taşıyor olmalarına rağmen bazı hastalarda sadece yağlanma bazılarında ise steatohepatit gelişmesi, yağlı karaciğer hastalığının tüm formlarının sadece bu patogeneze süreci içerisinde açıklanmasını olanaksız kılmaktadır (36). Çift vuruş hipotezine göre yağlanma ile duyarlı hale gelmiş olan karaciğer, ikinci darbe (ikinci vuruş) ile karşılaştığında normal karaciğerden farklı olarak inflamasyonla karakterize bir reaksiyon vermekte ve yağlı karaciğer hastalığının basit yağlanmadan farklı bir formu olan steatohepatit ortaya çıkmaktadır. Bu patogeneze sürecinde ikinci darbeden sorumlu faktörlerin ROS (reaktif oksijen türleri) ve TNF-alfa gibi faktörler olduğu düşünülmektedir (37). Patogeneze değişik aşamalardan sorumlu tutulan diğer faktörler arasında özellikle önem taşıyanlar; demir birikimi, leptin, adiponektin, Th-2 sitokinler, mitokondriyal disfonksiyon ve apoptozis sayılabilir (38-40).

Klinik seyir ve prognoz

NASH'in genellikle klinik olarak stabil seyrettiği ve prognozunun alkolik hepatitten belirgin olarak daha iyi olduğu düşünülür. Amerika'da yapılan bir çalışmada alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında yaşam beklentisinin genel popülasyona göre hafifçe düşük olduğu bulunmuştur (41). Yüksek mortalite; ilerlemiş yaş, bozulmuş açlık glukozu ve siroz ile ilişkilidir. NASH, özellikle yaşlı ve diyabetik kadınlarda, kriptojenik sirozun altında yatan önemli bir etyolojik faktör olabilir (42).

Hastalığın seyri boyunca çoğu hastanın karaciğer fonksiyon testlerinde küçük değişiklikler olur. NASH'li hastaların çok az bir kısmında histolojik progresyon meydana gelebilir ve bu hastaların da bir kısmı son dönem karaciğer hastalığına ilerleyebilir. Ortalama 3.2 yıllık aralarla seri biyopsi yapılan 103 hastanın bulunduğu bir çalışmada hastaların %37'sinde fibrozis evresinin ilerlediği, %34'ünde değişmediği, %29'unda ise fibrozis evresinin gerilediği bildirilmiştir (43).

NASH'den siroz gelişmiş hastalarda HCC gelişme riski artmış olabilir (5,6). Karaciğer transplantasyonu yapılan NASH hastalarının bir kısmında hastalık tekrarlayabilir (44-46).

Tanı

NASH'li hastaların çoğunluğu asemptomatiktir. Hastaların bir kısmında halsizlik, yorgunluk, sağ üst kadranda huzursuzluk gibi nonspesifik semptomlar olabilir (27). Hastaların en yaygın başvuru şekli rutin laboratuvar incelemelerinde saptanan anormal karaciğer fonksiyon testleridir. Hastaların birçoğunda saptanabilen tek muayene bulgusu hepatomegalidir.

Serum AST ve ALT düzeyleri hastaların neredeyse %90'ında yüksektir (27). Transaminazlardaki artış çoğu olguda normalin 1-3 katı arasındadır. AST/ALT oranı NASH'li hastalarda genellikle 1'den düşüktür. Alkolik hepatitli hastalarda ise bu oran genellikle 2'nin üstündedir (32,33). GGT ve alkalın fosfataz düzeyleri olguların yarısından azında normalden yüksek bulunmaktadır, hiperbilirubinemi ise nadirdir (27).

Ancak serum aminotransferazlarının normal düzeyde olması, karaciğerin ilerlemiş histolojik özelliklerini dışlamaz. Bir çalışmada yağlı karaciğeri ve normal aminotransferazları olan 51 hastaya biyopsi (açıklanamayan hepatomegali veya

karaciğer transplantasyonu için canlı donörün değerlendirmesi amacıyla) yapılmış; 12 hastada köprüleşme fibrozisi, 6 hastada ise siroz saptanmıştır (49).

Ayırıcı tanı

NASH'in ayırıcı tanısı çoğu kronik karaciğer hastalığını içerir. Anamnez ve laboratuvar bulgularının ayırıcı tanıdaki değeri düşüktür, şöyleki NASH'in biyopsi öncesi tanısının prediktif değeri %56 iken, alkolik karaciğer hastalığının biyopsi öncesi tanısız prediktif değeri % 86'dır (50). Klinik pratiğimizde karşılaştığımız yağlı karaciğer olgularının büyük bir kısmında tanı sürecini başlatan bulgu ultrasonografide karaciğer yağlanması saptanması olmaktadır. Ultrasonografinin katkısı sadece yağlanmanın saptanması değil aynı zamanda derecelendirilmesine de olanak sağlamasıdır, ancak bu klinik derecelendirmenin klinik anlamı henüz belirli değildir ve hastalığın takibi için bir değer taşıyacağı kuşkuludur (36). Derecelendirmede dikkate alınan ölçütler (51):

Grade 1: Hafif diffüz ekojenite artışı mevcuttur, diyafragma ve intrahepatik damarların duvarları normal görünümündedir.

Grade 2: Orta derecede ekojenite artışı, diyafragma ve intrahepatik damar duvarları görüntüsünde hafif silinme mevcuttur.

Grade 3: Belirgin eko artışı, diyafragma, intrahepatik damar duvarları ve sağ lob posterioru görüntüsünde ileri derecede veya tamamen silinme mevcuttur.

Karaciğer yağlanması için ultrasonografinin duyarlılığı %60-94, özgüllüğü ise %88-95 arasında bildirilmiştir. Obezite, inceleme sonuçlarını yorumlamayı güçleştiren bir faktördür. Diğer bir sorun karaciğer yağ içeriği %30 iken geçerli olan duyarlılık rakamının yağ içeriği %10-19 olduğunda %50 civarında

kalmasıdır (52). BT ve MR'da steatozisi saptayabilir, ancak inflamasyonu veya fibrozisi yeterli duyarlılık ile saptayamaz (53).

Alkole ve ilaca bağı karaciğer hastalıkları genellikle dikkatli bir anemmezle teşhis edilebilir. Aşağıda bahsedilen diğer karaciğer hastalıkları ise biyopsi yapılmadan önce uygun laboratuvar yöntemleriyle değerlendirilmelidir:

- Viral hepatitler (Hepatit B, C, D)
- Herediter hemokromatoz
- Wilson hastalığı
- Alfa-1 antitripsin eksikliği
- Otoimmün hepatitler

Karaciğer biyopsisinin rolü

Yukarıda bahsedilen hastalıklar için kesin klinik ve/veya laboratuvar kanıtlar yoksa karaciğer biyopsisi NASH tanısını koymak veya dışlamak için tek yoldur (20,54). Karaciğer biyopsisi aynı zamanda hastalığın şiddetinin belirlenmesine ve prognostik bilgi sağlanmasına olanak tanır. Hastalığın tanısının konmasında ve tedaviye yanıtının izlenmesinde bir histolojik skrolama sistemi geliştirilmiştir.

Tedavi

NASH için günümüze kadar kanıtlanmış etkili bir tedavi yöntemi yoktur. Obezite, hiperlipidemi, kötü diabet kontrolü gibi risk faktörleri modifiye edilmelidir. NASH tedavisinde bugüne kadar araştırmalara konu oluşturmuş ilaçların sayısı ondan fazladır. Bu ilaçların bazıları aşağıda listelenmiştir. Ancak hemen belirtmek gerekir ki ne ülkemizde ne de dünyada doğrudan bu hastalık için ruhsatlandırılmış herhangi bir ilaç bulunmamaktadır.

- Vitamin E ve C
- Metformin
- Pioglitazon
- Rosiglitazon
- Probukol
- Betain
- Ursedeoksikolik asid
- Losartan
- Pentoksifilin
- Orlistat
- Atorvastatin

Kronik hepatit C virüs enfeksiyonu

Hepatit C virus (HCV), Flaviviridae ailesinden küçük bir RNA virüsüdür, dünyada kronik karaciğer hastalıklarının ana nedenlerinden biridir. Dünyada yaklaşık 170 milyon kişi (%3) HCV ile kronik olarak enfektedir. HCV ile enfekte bireylerin çoğunluğunda kronik hepatit gelişir ve bunların da önemli bir kısmı siroz veya hepatosellüler karsinoma ile komplike olur. ABD’de son dönem karaciğer hastalıkları nedeniyle yapılan karaciğer transplantasyonlarında ilk sırada HCV ilişkili karaciğer hastalıkları bulunmaktadır.

Epidemiyoloji

HCV enfeksiyon prevalansı dünyada oldukça değişiklik gösterir. İskandinav popülasyonunda %5’in altındayken Mısır’da bu oran %20’nin üzerindedir. ABD’de ise yaklaşık 3 milyon insan (%1) HCV ile enfektedir. ABD’de HCV’ye sekonder gelişmiş kronik hepatite bağlı yıllık ölüm sayısı 8000-13000 arasındadır.

ABD`de Anti-HCV prevelansı yaklaşık %1.6 (4.1 milyon anti-HCV pozitif kişi) civarındadır (55). Pozitif HCV prevelansı ise %1.3 (3.2 milyon HCV-RNA pozitif kişi) civarındadır. Hastalık en fazla 40-49 yaş arasında görülmektedir. Anti-HCV pozitifliği, dünyada ve Türkiye'de ortalama olarak %1 dolayındadır. Ancak Türkiye için %3'e varan oranların bildirildiği çalışmalar vardır. Türkiye'de hastanede yatan 1004 hasta üzerinde yapılan bir araştırmada anti-HCV prevelansı %2.6 olarak bulunmuştur (56).

Risk faktörleri

Avrupa ve ABD`de HCV enfekte kişilerin çoğu, hastalığı iv uyuşturucu kullanımı veya kan transfüzyonuyla almıştır.

İV yasadışı ilaç bağımlılığı: Uyuşturucu bağımlılarının % 40-80'i, bir yıllık süre sonunda HCV ile enfekte hale gelmektedir.

Kan transfüzyonu: 1990`lı yıllarda rutin serolojik testlerin uygulanmaya başlanmasıyla kan transfüzyonu ile ilişkili HCV bulaşma riski 1/100000 oranına kadar gerilemiştir.

Seksüel yolla geçiş: Tek eşli seksüel hayat yaşayanlarda HCV`nin seksüel yolla bulaşması çok nadirdir (yıllık <%1) (57), risk çoklu eşle seksüel hayat yaşayanlarda artmaktadır.

Perinatal geçiş: HCV`nin perinatal bulaşma oranı yüksek HCV-RNA düzeyi ile ilişkilidir ve bu oran % 5 olarak kabul edilmektedir (58).

Hemodiyaliz: Diyalize giren hastalarda son yıllarda HCV prevelansı ve insidansı giderek azalmaktadır. Avrupa`da hemodiyalize giren hastalarda prevalans 1992`de %21 iken 1993`de %17.7`ye gerilemiştir (59). Ülkemizde ise bu oran %43.6-51.2 arasında değişmektedir (60,61).

Diğer nadir nedenler: Endoskopik girişimler, dövme, piercing, kazayla iğne batması, vb.

Patogenez

Virüs 40-50 nm. büyüklüğünde, lipid zarflı (organik çözücülere duyarlı zarf yapısı), tek iplikçikli, pozitif kutuplu 9500 nükleotid içeren bir RNA virüsüdür. Pek çok RNA virüsü gibi HCV'nin de genom düzeyinde değişkenliği fazladır. Bu durum, RNA bağımlı RNA polimerazların "proofreading" (düzeltme) aktivitelerinin olmamasından kaynaklanır (62). Böylece, türümsüler de denen quasispecies adlı, enfekte kişideki nükleotidleri az çok farklı virüsler topluluğu ortaya çıkmaktadır. Bu özellik virüsün immün yanıtıdan kaçarak dirençli bir biçimde var olmasını ve enfeksiyonun sürekliliğini sağlar. Böylece virüse karşı oluşan antikor yanıtları yeterli olmamakta ve virüs etkisizleştirilememektedir (63).

Hücrel immün cevap ve T hücreleri aracılığıyla salgılanan sitokinler de şüphe götürmez bir şekilde Hepatit C'nin yaptığı karaciğer hasarında ve klinik tablonun gelişmesinde etkilidir. Muhtemelen HCV tarafından enfekte edilmiş olan lenfoid hücreler HCV'ye karşı verilecek olan immün cevapta düzenleyici rol oynamaktadır. Veriler, virüsün doğrudan sitotoksik etkisinin varsa bile çok küçük oranda olduğunu düşündürmektedir; çünkü dolaşımdaki viral yüke karşın karaciğer hasarının hafif kalabilmesi bu hasardan konak immün yanıtının sorumlu olduğunu göstermektedir. İnflamasyon alanlarında CD-8 lenfositlerinin bulunduğunu gösteren çalışmalar desteğinde süregiden karaciğer inflamasyonunda sitotoksik T lenfositlerin rol aldığını düşündürmektedir. Yalnız bu sitotoksik T lenfosit yanıtı virüsü ortadan kaldırmaya yetmemektedir (64-66).

HCV'nin 6 major genotipi tanımlanmıştır (67), aynı zamanda 50'den fazla alt tipi olduğu belirlenmiştir, en sık görülen alttipler 1a,1b, 2a ve 2b'dir (68). Genotipler arasında %30 veya daha fazla oranda farklılıklar olabilmektedir.

Genotip 1 Amerika ve Avrupa`da en yaygın görülen tiptir (69,70), bunları genotip 2 ve 3 takip eder. Genotip 4, Afrika ve Ortadoğu`da; genotip 5 Güney Afrika`da; genotip 6 ise Avustralya`da daha yaygındır. Ülkemizde prognozu daha ciddi sayılan tip1b sıklıdır. Tip 1b genel olarak dünyada en yaygın görülen tiptir.

Patoloji

Karaciğer biyopsisi kronik hepatit C`de karaciğer hasarının değerlendirilmesinde hala altın standart olarak kabul edilmektedir. Biyopsi aynı zamanda, benzer klinik tabloya yol açabilecek diğer karaciğer hastalıklarını ekarte etmeye yardımcı olabilir (71). Bu nedenle karaciğer biyopsisi kronik HCV enfeksiyonlu hastaların başlangıç değerlendirilmesinde genellikle tavsiye edilir (72,73). Kronik HCV enfeksiyonunda karaciğer biyopsi bulguları fibrozis olmadan veya hafif fibrozisin eşlik ettiği minimal portal inflamasyondan, yaygın fibrozisle birlikte önemli derecede nekroinflamatuvar değışikliklerin olduğu ve karaciğer yapısının bozulduğu tabloya kadar değışir.

Kronik hepatitin `derecesi` nekroz ve inflamasyon bakımından hastalığın aktivitesi anlamını taşır. Hastalığın `evresi` denildiğinde fibrozun ne kadar ilerlemiş olduğu, sirozun varlığı anlaşılır. Nekroinflamatuvar değışikliklerin yoğunluğunu ve fibrozisin yaygınlığını değerlendirmek için skorlama sistemleri geliştirilmiştir. En sık kullanılan derecelendirme ve evrelendirme sistemi Knodell`in histolojik aktivite indeksidir.

Klinik

HCV enfeksiyonu asemptomatik seyredebileceği gibi dekompanse siroz ve HCC`ye neden olabilen şiddetli kronik karaciğer hastalığına da yol açabilir. HCV enfeksiyonu aynı zamanda ekstrahepatik bozukluklara yol açabilir, bu bozuklukların çoğu otoimmün mekanizmalarla ortaya çıkar.

Akut hepatit C

Sessiz seyretmesi ve yüksek oranda kronikleşmeye meyilli olması (%55-85) akut hepatit C'nin belirgin özellikleridir. Genellikle asemptomatik seyreder. Vakaların %25'inde yorgunluk, iştahsızlık, bulantı, myalji, baş ağrısı gibi semptomlar görülebilir, sarılık ise daha az oranda ortaya çıkar. Fulminan hepatik yetmezlik çok nadirdir, ancak altta yatan kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda daha yaygın olabilir (74,75). Akut hepatit C iyileşme eğiliminde olacak ise; maruziyetten 1-2 hafta sonra HCV-RNA pozitifliği, bunu takiben ALT artışı görülür. Yaklaşık 8 hafta sonra ise anti-HCV pozitifleşir. Akut hepatit C, vakaların %10-40'ında kendiliğinden geriler. İyileşme döneminde önce HCV-RNA temizlenir ve ALT seviyeleri normalleşir, uzun dönemde de anti-HCV kaybolur. Bu anti-HCV'den temizlenme süresi yıllar alabilir (76).

Kronik hepatit ve siroz

Akut hepatit C'den sonra kronik enfeksiyon gelişme riski oldukça yüksektir. Birçok çalışmada hastaların %80-100'ünde HCV-RNA'nın pozitif kaldığı, %60-80'inde ise transaminazların sürekli yüksek kaldığı gösterilmiştir (77,78). Kronik enfeksiyonun bu yüksek prevalansından sorumlu mekanizmalar açık değildir. Virüsün genetik çeşitliliği, hızlı mutasyona eğilimi olması gibi faktörler immün sistemden kaçmasını sağlıyor olabilir (79,80).

Kronik hepatit C persistan transaminaz yüksekliği ve HCV-RNA pozitifliği ile karakterizedir. Ama bazı hastalarda serum transaminaz düzeyleri uzun zaman periyodları boyunca normal kalabilir. Bu hastalar genellikle hafif karaciğer hastalığına sahiptirler.

Kronik HCV enfeksiyonlu hastaların çoğunluğu asemptomatiktir. En sık görülen semptom halsizliktir (81). Hastaların yaklaşık 1/3'ü normal

aminotransferaz seviyesine sahiptir (78,82). Hastaların yalnızca %25`inde ALT düzeyi normalin 2 katından yüksektir, normalin 10 katından fazla artış ise çok nadirdir. Hastaların geri kalanında ise hafif transaminaz yükseklikleri görülür.

Siroza ilerleyiş genellikle sessizdir, kronik HCV enfeksiyonlu hastaların yaklaşık %50`sinde 10-20 yıllık takiplerinin sonucunda siroz gelişir (83-85). Trombosit sayısının azalması veya AST/ALT oranının ters dönmesiyle siroza gidişten şüphelenmelidir (23). Ek olarak, ultrasonografik anormallikler siroza işaret edebilir. Sirozlu hastalar genellikle birçok yıl kompanse kalır, 200 hastalık bir çalışmada 5 yıllık takip sonunda kompanse sirozlu hastaların yaklaşık %51`inde dekompanseasyon gelişmiştir (86).

Hepatosellüler karsinoma

Kronik hepatit C ile HCC arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. ABD`de HCC`li hastaların yaklaşık 1/3`ünde HCV`ye rastlanmaktadır. HCV ilişkili siroz geliştiğinde yılda % 0-3 arasında HCC gelişme riskinin olduğu tahmin edilmektedir (88,89).

Ekstrahepatik manifestasyonlar

Çeşitli ekstrahepatik bozuklukların HCV enfeksiyonu ile ilişkili olduğu dökümanite edilmiştir (Kriyoglobulinemi, membranöz proliferatif glomerulonefrit, serum otoantikörleri, non Hodgkin lenfoma, porfiriya kutanea tarda, liken planus). Mikst kriyoglobulinemi ile HCV enfeksiyonu arasındaki ilişki belirgindir ve bu hastaların yaklaşık %95`inde anti-HCV pozitif bulunur (90-92). Kronik hepatit C`li hastaların ise yaklaşık %30`unda kriyoglobulinler saptanabilir fakat kriyoglobulinemi ile ilişkili semptomlar nadirdir. 321 hastanın bulunduğu bir seride ekstrahepatik manifestasyonlardan en az birinin bulunduğu hastaların oranı %38 olarak bulunmuştur (93).

Ayırıcı tanı

Kronik hepatit klinik olarak benzer özelliklere sahip olan ancak tedaviye farklı yanıtlar veren ve bireysel olarak ele alınması gereken birçok hastalığa bağlı olarak gelişebilir. Kronik hepatit şüphesi taşıyan bireyler karaciğer yağlanması, alkole veya ilaca bağlı karaciğer hastalığı ve metabolik karaciğer hastalığı açısından araştırılmalıdır çünkü bu hastalıklar hem kronik hepatite yol açan hastalıkları taklit edebilir hem de kronik hepatite yol açan hastalıklarla eş zamanlı olarak görülebilir. Viral hepatitin risk faktörlerini belirlemek üzere tasarlanmış bir hikaye alındıktan sonra özgül ve uygun serolojik testler tanı koymak için kullanılabilir. Özel boyaların kullanıldığı karaciğer biyopsisi tanıyı doğrulamak, hasarın aktivitesini ve ağırlığını değerlendirmek, hastalığın evresini belirlemek için kullanılabilir (94).

Tanısal Metodlar

Anti-HCV testi

Anti-HCV, enfeksiyondan 3-6 hafta kadar sonra ELISA ile saptanabilir, akut hepatit tanısı için yararlı bir testtir. Kronik enfeksiyonlu hastalarda oldukça yüksek pozitif reaksiyon verir. Yanlış negatif sonuçlar immunsuprese hastalarda (HIV enfeksiyonu, renal yetmezlikli hasta) meydana gelebilirken, yanlış pozitif sonuçlar (düşük riskli grupta, örneğin kan donörlerinde %0.5-1) nadirdir (95).

HCV RNA saptanması

Klinik uygulamalarda HCV-RNA'nın kalitatif veya kantitatif saptanması yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun için ticari kitler geliştirilmiştir. Oldukça yüksek sensitiviteye sahiptirler, 100 IU/mL'den daha az HCV-RNA'yı dahi saptayabilirler (96). HCV enfeksiyonunun ilk biyokimyasal kanıtı HCV-RNA'nın

serumda veya karaciğerde bulunmasıdır. HCV-RNA PCR yöntemiyle serumda HCV'ye maruziyetten günler sonra veya 8 haftaya kadar değişen süre içerisinde saptanabilir.

HCV genotip testi

HCV genotipinin belirlenmesi tanı için gereksizdir, ancak tedavi süresinin belirlenmesinde ve tedaviye verilecek cevabın tahmin edilmesinde faydalıdır. Genotip 2 ve 3, genotip 1'e göre antiviral tedaviye daha iyi cevap verir (97,98). HCV genotipinin belirlenmesi için birçok test geliştirilmiştir, ancak çoğunun temeli PCR yöntemine dayanır.

Tedavi

Hepatit C'nin tedavisi hızlı bir gelişim içindedir. İnterferon alfa kronik hepatit C'nin tedavisinde on yılı aşkın bir süredir başarıyla kullanılmaktaysa da bir kür interferon alfa monoterapisine kalıcı virolojik yanıt oranı sadece %10-20'dir. İnterferon alfa ve ribavirinin kombine olarak kullanılmasıyla kalıcı virolojik yanıt oranı önemli ölçüde artarak %35-45'e ulaşmıştır. Peginterferon ve ribavirinin kombine olarak verildiği 48 haftalık bir kürde alınan ortalama virolojik yanıt oranı %54 -56'dır (97,98). Tedavi öncesinde, kombinasyon tedavisine alınacak yanıtı olumlu yönde etkileyen faktörler kısa hastalık süresi, ağır hepatik fibroz ve siroz bulunmaması, düşük HCV-RNA düzeyi, genotip 2 ve 3'dür. Virolojik yanıtın uzun süreli olması HCV-RNA'nın erken klirensinin sağlanması (tedavinin başlangıcından itibaren 3 ay içinde) ve uzun süreli tedaviyle orantılıdır. Genotip 2 ve 3'lü hastalarda kalıcı yanıt oranları %70-80'dir ve bu oranlara 24 haftalık daha düşük doz ribavirin (günlük 800mg) kürüyle ulaşılabilir. Bunun tersine genotip 1'li hastalarda kalıcı yanıt sağlanması, 48 haftalık kürde (%40-45) 24 haftalık kürde göre daha sıktır ve optimal yanıt oranlarını elde

edilebilmesi için ribavirinin tam doz kullanılması gerekir (günlük 1000-1200 mg).

Kronik hepatit C tedavisinde tam yanıtın tanımlanması için kullanılan kriterler:

- 1- Serumda HCV-RNA'nın negatifleşmesi,
- 2- Serum aminotransferaz düzeylerinin normale dönmesi
- 3- Karaciğer histolojisinde iyileşme sağlanmasıdır.

Tam yanıt tanımlanırken kullanılabilecek en kesin nokta tedavinin sonlandırılmasından itibaren en az 6 ay HCV-RNA tesbit edilememesi, uzun süreli bir remisyonun göstergesi olan kalıcı virolojik yanıt ve karaciğer hastalığının düzelmesidir.

Kombinasyon tedavisiyle bile hepatit C'de interferon tedavisine kalıcı yanıt oranı sadece %50'dir ve hastaların çoğu tedaviyi zorlukla tolere edebilmektedir. Hepatit C'ye sekonder dekompanse karaciğer hastalığı olanlarda karaciğer transplantasyonu endikedir.

Gelecekteki potansiyel yaklaşımlar arasında HCV proteazına , helikaza, ve polimeraz enzimlerine karşı ve HCV'nin tutulumunu, membrana bağlanmasını veya translokasyonunun başlatılmasını engelleyen spesifik inhibitörler bulunmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma katılımcıları

Çalışmaya Kasım 2005 ile Ekim 2006 tarihleri arasında UÜTF Gastroenteroloji kliniğine ve polikliniğine başvuran NASH ön tanısı olan 44 hasta (22 kadın ve 22 erkek, 29-70 yaş aralığında) ve kronik hepatit C virüs enfeksiyonu (14 kadın ve 7 erkek, 19-68 yaş aralığında) olan 21 hasta alındı. Ayrıca sağlıklı kontrol grubunu oluşturmak üzere Genel Dahiliye polikliniğine check-up amaçlı başvuran ve yapılan tetkikleri sonucu sağlıklı oldukları saptanan 18 birey çalışmaya dahil edildi. Yazılı olarak çalışmaya gönüllü katılım beyanı, her katılımcıdan alındı. Her hastadan karaciğer biyopsisi için ayrıca aydınlatılmış onam alındı.

Çalışmaya alınma kriterleri:

1. 18-70 yaş aralığında olmak
2. Klinik ve laboratuvar bulguları ile NASH ön tanısı almak (Ultrasonografide yağlanma ile uyumlu bulguların olması şart)
3. Kronik hepatit C virüs enfeksiyonlu hasta olmak (en az 6 aydır anti-HCV pozitifliği ve pozitif HCV-RNA PCR test sonucu olan normal veya yüksek transaminazlı hastalar)

Çalışmadan dışlanma kriterleri:

1. Tip 1 DM, Parkinson, Alzheimer, AIDS, veya dekompanse karaciğer sirozu hastalığı olması
2. Organ transplantasyonu yapılmış olması
3. EBV, papilloma virüs enfeksiyonu olması
4. Malign hastalığı bulunması (karaciğer tümörleri dahil)
5. Antiviral tedavi alıyor olması
6. Diğer karaciğer hastalıklarına rastlanması (diğer viral hepatitlerin varlığını destekleyen serolojik bulguların saptanması, hemokromatoz, Wilson hastalığı, otoimmün hepatit, primer biliyer siroz, sklerozan kolanjit, biliyer obstrüksiyon, alfa-1 antitripsin eksikliği)
7. Methotreksat, östrojen, amiodaron, steroid gibi yağlı karaciğere yol açtığı bilinen ilaçları kullanıyor olması
8. Haftada 40 gr'dan fazla alkol kullanıyor olması

Bu çalışma Tıp Fakültesi Etik Komitesi tarafından onaylanmıştır.

Klinik değerlendirme

Çalışmaya katılan bütün bireylerin ayrıntılı olarak fizik muayenesi, antropometrik ölçümleri, ayrıntılı laboratuvar tetkikleri yapıldı. Karaciğerin ultrason (US) ile görüntülenmesi yağlanmanın derecesini belirlemek için yapıldı. Karaciğer yağlanması semikantitatif bir şekilde 4 derecede değerlendirildi: 0, yok; 1, hafif; 2, orta; 3, ileri derece. Histolojik değerlendirme, deneyimli bir patolog tarafından, NIDDK NASH Clinical Research Network'e göre yapıldı (99) ve bu histolojik değerlendirmeye göre NASH ön tanısı olan hastalardan NASH tanısı kesinleşenler (n=35) çalışmaya alındı. Histolojik değerlendirmeyle NASH tanısı kesinleşmeyenler (n=9) çalışmadan dışlandı. Kronik HCV enfeksiyonu

olan hastaların (n=21) histolojik değerlendirmesi ise aynı patolog tarafından Knodell'in Histolojik Aktivite İndeksine (100) göre yapıldı.

Histolojik değerlendirme

Karaciğer biyopsileri lokal anestezi ile 16-gauge Tru-cut iğne kullanılarak ultrason rehberliği altında yapıldı. Histolojik numunelerin boyutu 2,5 cm'den az değildi. Bütün biyopsi materyalleri işlemiden hemen sonra formalin ile fikse edildi ve parafin bloklara gömüldü. Mevcut bloklardan 4 mikronluk kesitler alınıp hematoxilen-eozin ve Mason-trikrom ile boyandı.

NASH ön tanısı olan hastaların biyopsi materyalleri deneyimli bir patolog tarafından, hastaların klinik bilgilerinden habersiz bir şekilde, NASH Klinik Araştırma Ağı Puanlama Sistemi kullanılarak değerlendirildi (99). Bu puanlama sistemine göre en yüksek puan 8'dir: Steatozis %5'in altındaysa 0 puan, %5-33 arasındaysa 1 puan, %33-66 arasındaysa 2 puan, %66'dan fazlaysa 3 puan verilir. Lobüler inflamasyon değerlendirilirken her 200'lük büyütmede; odak saptanamazsa 0 puan, 2'den az odak görülürse 1 puan, 2-4 odak görülürse 2 puan, 4'den fazla odak görülürse 3 puan verilir. Balonlaşma değerlendirilirken ise balonlaşmış hücre yoksa 0 puan, birkaç tane varsa 1 puan, çok sayıda varsa veya balonlaşma aşıkarsa 2 puan verilir. NASH'li hastalarda fibrozis evresinin değerlendirilmesi ise şu şekilde yapılır: Fibrozis yoksa; evre 0 kabul edilirken, hafif, zone 3'de, perisinüzoidalse evre 1A; orta, zone 3'de, perisinüzoidalse evre 1B; portal veya periportalse evre 1C; perisinüzoidal ve portal veya periportalse; evre 2, köprüleşme nekrozu varsa; evre 3, siroz saptanırsa evre 4'dür. Fibrozisin, hastalık aktivitesinin bir sonucu olduğu ve genellikle geri dönüşümsüz olduğu düşünülür ve aktivite skorunun bir komponenti olarak puanlamaya dahil edilmez. Bu puanlama sistemine göre toplam 5 ve üzerinde puan alanlar kesin olarak NASH tanısı alırlar.

Kronik HCV enfeksiyonlu hastaların karaciğer biyopsi materyalleri ise aynı patolog tarafından Knodell Histolojik Aktivite İndeksine göre sınıflandırıldı (35). Hastalığın aktivite derecesi (grade) periportal ve/veya köprüleşme nekrozu, portal inflamasyon, intralobüler dejenerasyon ve fokal nekrozis olup olmamasına göre puanlanarak belirlendi. Bu skorlar toplanarak histolojik aktivite indeksi (HAİ) hesaplandı: 1-3 puan alanlar minimal kronik hepatit, 4-8 puan alanlar hafif kronik hepatit, 9-12 puan alanlar orta derecede kronik hepatit, 13-18 puan alanlar şiddetli kronik hepatit olarak kabul edildi. Puanlamaya dahil edilmeyen fibrozis evresi ise (stage) şu şekilde değerlendirildi: fibrozis yoksa evre 0, fibroz portal genişleme varsa evre 2, köprüleşme fibrozisi (portal-portal veya portal-santral bağlantı) varsa evre 3, siroz saptanırsa evre 4.

ELISA testi

Çalışmaya katılan bütün bireylerden kan numuneleri alındı ve hemen 2500 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar -80°C'de dondurularak saklandı ve inceleme için sadece bir defa çözüldü. Bütün serum örnekleri, aynı anda aynı şekilde iki kez, klinik bilgilerden habersiz şekilde analiz edildi. M30-antijen tetkiki amaçlı bir ELISA deneyi (bir solid faz, two-site immunosorbent assay) uygulandı. Kitler (M30-Apoptosense ELISA kit, Peviva, İsveç), deney için ticari olarak alınmıştı. Kısaca, numuneler, yakalayıcı olarak kullanılan fare monoklonal antikörle kaplı oyuklara yerleştirildi. Bir horseradish peroksidaz konjugat monoklonal antijen (M30-antijen) saptayan antikör (konjugat) olarak kullanıldı. Sandwich formasyondan sonra, bağlanmamış birleşim atıldı ve ortama TMB substrat eklendi. Son olarak abzorbans değeri, 450 nm'de mikroyüzey okuyucuda ölçüldü. Bilinen konsantrasyon değerlerinden ölçümlenen emilim değerlerine ilişkin standart eğri oluşturularak, örnekdeki M30-antijen oranı tahmin edildi. M30-antijen, konsantrasyonu imalatçı talimatına göre litredeki birim cinsinden (IU/L) açıklandı.

İstatistiksel analiz

Windows program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) SPSS 10.0 versiyonu kullanarak istatistiksel analiz yapıldı. Sürekli değişkenler; ortalama, standard sapma ve medyan değeri şeklinde [persantil değeri aralığı] belirtildi. Pearson chi-kare testi ve Kolmogorov-Smirnov testi çalışma grupları arasında kategorik değişkenlerin dağılımının kıyaslanmasında kullanıldı. One-way ANOVA çalışma gruplarının ortalamalarının karşılaştırılmasında kullanıldı, gerektiğinde non-parametrik testler olarak Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney U testi yapıldı. Pairwise kıyaslamaları, Bonferroni ayarlaması ($p < 0.017$) ile family-wise alfa 0.05 değerini aşmayacak şekilde kesinleştirme amaçlı uygulandı. M30-antijen'in NASH'li hastaları Hepatit C'li hastalardan ve sağlıklı kontrol grubundan ayırt etmedeki diyagnostik performansları gruplarda ROC analiz yöntemi kullanılarak hesaplandı. Sensitivite, spesifite, pozitif veya negatif prediktif değerleri ve M30 eğri altı alan (AUC) değerleri sunuldu. 0.5'den yüksek AUC değeri istatistiksel olarak, testin başarılı diyagnostik performansda olduğunu belirtmektedir. 0.05'in altında bir p değeri ($p < 0.05$) pairwise comparison hariç istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. M30-antijenin eşik değeri MedCalc istatistiksel demo yazılımı (Mariakerke, Belçika) kullanılarak belirlendi.

BULGULAR

Hastaların Özellikleri

Bireylerin temel klinik ve laboratuvar verileri tablo 1’de özetlenmiştir. Çalışmaya 35 NASH tanılı, 21 kronik hepatit C enfeksiyonlu hasta, ayrıca 18 sağlıklı gönüllü ile devam edilmiştir. NASH’li grupta yaş ortalaması 47 ± 9 yıl, kronik hepatit C enfeksiyonlu grupta 48 ± 13 yıl, sağlıklı bireylerde 39 ± 11 yıl idi. NASH’li hastaların çoğunluğu erkek iken (%60), kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların %33,3’ü, sağlıklı gönüllülerin ise %50’si erkekti. ATP III kriterlerine göre (101) NASH’li hastaların %34,3’ü, kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların %28,6’sı metabolik sendroma sahipti.

NASH’li hastalarla kontrol grubu arasında ise yaş, cinsiyet, bel çevresi, HDL, LDH, total bilirubin bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken BMI, açlık insülin, açlık glukozu, total kolesterol, trigliserid, AST, ALT, AST/ALT oranı, ALP, GGT, HOMA ve metabolik sendrom yüzdesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Tablo 1).

Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalarla kontrol grubu arasında cinsiyet, total bilirubin, HDL, kolesterol, LDH bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken yaş, BMI, A1C, açlık glukozu, AST, ALT, AST/ALT oranı, ALP, GGT, trigliserid, metabolik sendrom yüzdesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Tablo 1).

NASH'li hastalarla kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalar arasında yaş, cinsiyet, bel çevresi, BMI, açlık glukozu, AST, ALP, GGT, LDH, total bilirubin, metabolik sendrom yüzdesi bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken ALT, AST/ALT oranı, açlık insülin, trigliserid, total kolesterol bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmaya katılan bireylerin klinik ve laboratuvar özellikleri

	NASH (n=35)	KHC (n=21)	Sağlıklı kontrol (n=18)
Erkek cinsiyet	%60,0	%33,3	%50,0
Yaş (yıl)	47,0 ± 9,3	48,2 ± 13,7	38,9 ± 11,1
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	29,7 ± 4,1	28,6 ± 4,5	24,0 ± 3,7
Bel çevresi (cm)	100 ± 7	95 ± 11	88 ± 10
Bel/kalça oranı	0,95 (0,09-1,08)	0,92 (0,81-1,13)	0,85 (0,69-1,02)
Hipertansiyon öyküsü	%25,7	%33,3	%0
Hiperlipidemi öyküsü	%85,7	%14,3	%0
Açlık glukozu (mg/dL)	100 ± 19	98 ± 11	82 ± 11
Diyabet öyküsü	%11,4	%0	%0
Açlık insulini (μU/mL) ¹	34 (3-298)	10 (2-47)	4 (1-19)
HOMA-indeks	3,01 (0,3-9,5)	2,8 (0,6-11,5)	0,5 (0,1-4,2)
HOMA-indeks >3.0	%72,7	%40,0	%5,5
Total kolesterol (mg/dL)	224 ± 32	161 ± 35	159 ± 42
HDL (mg/dL)	45 ± 8	46 ± 12	53 ± 13
Trigliserid (mg/dL) ¹	151 (63-391)	85 (34-169)	62 (39-93)
Metabolik sendrom	%34,3	%28,6	%0
ALT (IU/L) ¹	64 (33-184)	50 (20-122)	13 (8-28)
AST (IU/L) ¹	43 (24-95)	37 (22-150)	19 (13-26)
AST/ALT oranı ¹	0,65 (0,35-0,93)	0,94 (0,50-1,45)	1,35 (0,82-1,87)
ALP (UI/L) ¹	84 (44-142)	91 (55-123)	58 (41-90)
GGT (UI/L) ¹	53 (16-526)	45 (16-586)	14 (10-28)
LDH (UI/L) ¹	196 (143-375)	188 (110-269)	171 (136-229)
T.Bilirubin (mg/dl) ¹	0,7 (0,1-1,8)	0,7 (0,5-1,8)	0,8 (0,4-2,1)

¹Veriler ortanca (minumum-maksimum) olarak ifade edilmiştir.

HOMA (homeostasis model assessment): insülin direncini ifade eder.

KHC: Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalar

Histopatoloji

NASH tanılı hastaların histolojik özellikleri Tablo 2A'da, kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların özellikleri ise Tablo 2B'de sunulmuştur. NASH tanılı hastaların %14.3'ünde steatozis hafif düzeydeyken, %48.6'sında orta düzeyde, %37,1'inde ileri düzeydeydi. NASH'li hastaların tamamının biyopsi materyallerinde çeşitli derecede lobüler inflamasyon ve balonlaşma mevcuttu. Fibrozis ise bu hastaların %65.7'sinde gözlemlendi. NASH tanısı konan hastaların hiçbirinde siroz saptanmadı (Tablo 2A).

Kronik HCV enfeksiyonlu hastaların %14.3'ünde (n=3) minimal kronik hepatit, %28.6'sında (n=6) hafif kronik hepatit, %38.1'inde (n=8) orta derecede kronik hepatit, %19'unda (n=4) ise şiddetli kronik hepatit gözlemlendi. Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların %76.2'sinde (n=5) fibrozis vardı ve bu hastalardan 1 tanesinde (%4.7) siroz saptandı (Tablo 2B).

Tablo 2A. Alkolik olmayan steatohepatitli hastaların histopatolojik bulguları

Değişkenler	Tanımlama	Puan	NASH (n=35)
Steatozis	< %5	0	%0
	%5-%33	1	%14,3
	>%33-%66	2	%48,6
	>%66	3	%37,1
Lobüler inflamasyon (her 200' lük büyütmede)	odak yok	0	%0
	<2 odak	1	%2,9
	2-4 odak	2	%74,3
	>4 odak	3	%22,9
Balonlaşma	Yok	0	%0
	Birkaç tane balon hücresi	1	%2,9
	Çok sayıda veya belirgin	2	%97,1
Fibrozis evresi	Yok	0	%34,3
	Hafif, zone 3, perisinüzoidal	1A	%11,4
	Orta, zone3, perisinüzoidal	1B	%8,6
	Portal veya periportal	1C	%17,1
	Perisinüzoidal ve portal veya periportal	2	%22,9
	Köprüleşme	3	%5,7
	Siroz	4	%0

Tablo 2B. Kronik Hepatit C enfeksiyonu olan hastaların özellikleri

Hasta	Yaş ve cins	Histopatolojik derece ve evre	Viral yük 10 ⁶ kopya/ml	M30 IU/L	HCV genotip	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	US steatozis Derecesi
1	66,K	S, F3	0,79	78,3	-	60	71	2
2	36,E	M, F0	2,51	16,0	-	26	43	0
3	63,K	O, F1	0,13	65,7	-	32	22	1
4	35,K	O, F3	2,03	43,4	1b	64	73	1
5	47,K	H, F1	1,45	126,6	1b	30	32	2
6	61,E	O, F3	5,10	15,71	-	36	51	0
7	20,K	M, F0	4,52	0,56	-	27	26	0
8	19,E	H, F1	1,07	144,5	-	66	122	0
9	28,E	S, F3	0,02	119,1	-	54	108	0
10	68,K	H, F0	22,57	82,8	-	32	24	0
11	60,K	H, F1	6,02	93,7	1b	74	71	1
12	56,K	H, F1	3,59	46,8	-	54	75	0
13	50,E	O, F3	3,21	72,3	-	49	65	0
14	50,K	O, F3	1,60	37,2	-	26	20	0
15	56,K	O, F1	5,64	122,3	-	33	50	2
16	50,K	O, F4	0,01	80,1	-	69	48	0
17	48,K	O, F1	9,58	85,4	-	37	41	0
18	48,K	H, F0	0,65	33,3	-	25	25	0
19	53,E	M, F0	18,06	86,0	-	22	22	0
20	47,K	S, F3	12,15	2017,2	-	97	96	2
21	47,E	S, F3	0,07	271,6	-	150	117	1

M: minimal kronik hepatit H: hafif kronik hepatit O:orta derecede kronik hepatit
S:şiddetli kronik hepatit F:fibrozis evresi (-): çalışılmadı

Görüntüleme

NASH ön tanılı hastaların tümü ultrasonda yağlanma saptananlardan seçildiğinden NASH tanısı kesinleşen hastaların tamamında çeşitli derecede yağlanma mevcuttu. Kronik Hepatit C virüs enfeksiyonu olan hastaların ise %38'inde ultrasonda yağlanma gözlenirken sağlıklı kontrollerin hiçbirinde yağlanma yoktu. Çalışmaya katılan bireylerin sonografik olarak hepatosteatoz derecesi ayrıntılı olarak Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Çalışma gruplarının görüntüleme özellikleri

Steatozis		NASH (n=35)	KHC (n=21)	Sağlıklı kontrol (n=18)
Karaciğer	Yok	%0	%60,2	%100
yağlanmasının	Hafif	%30	%19,9	%0
ultrasonografik	Orta	%56,7	%19,9	%0
derecesi	Şiddetli	%13,3	%0	%0

KHC: Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalar

Serum M30-antijen düzeyi

Tablo 4'de gösterildiği gibi M30-antijen düzeyleri, NASH'li hastalarda kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalara ve sağlıklı kontrollere göre daha yüksekti. NASH'li hastaların M30-antijen değerleri ile kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların M30-antijen değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. NASH'li hastaların M30-antijen değerlerinin sağlıklı kontrollerin M30-antijen değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu saptandı ($p<0,001$). Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların M30-antijen düzeyleri sağlıklı kontrollerin M30-antijen düzeylerinden yüksek olduğu

görülmesine rağmen iki grup arasında M30-antijen düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 4. Çalışma gruplarındaki serum M30-antijen konsantrasyonları

M30-antijen (IU/L)	NASH (n=35)	KHC (n=21)	Sağlıklı kontrol (n=18)	p ¹
Ortalama $\pm$ SD	220,4 $\pm$ 201,6	173,3 $\pm$ 426,5	56,6 $\pm$ 29,1	<0,001
Ortanca	144,1	80,1	54,5	
Min.-Max.	14,2-807,8	0,5-2017,2	0-111,5	
25.-75. persantil	67,3 – 285,4	40,3 - 120,8	42,9 – 82,2	
		p ² = 0,008	p ³ <0,001	

p¹ değeri Kruskal-Wallis test kullanılarak hesaplandı.

p² NASH'li hastalarla Hepatit C'li, p³ NASH'li hastalarla sağlıklı kontrolleri karşılaştırmak için Mann-Whitney U test yapıldı.

KHC: Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalar.

M30-antijen NASH'li hastaları sağlıklı kontrol grubundan ayırmadaki performansı ROC analizi ile hesaplandı ve 111,5 eşik değerine göre %62,9 sensitivite %100 spesifite ile ayırabildiği görüldü. Ayrıntılar Tablo-5'de verilmiştir.

Tablo 5. M30-antijenin NASH' li hastaları sağlıklı kontrollerden ayırmadaki diyagnostik performansı

Eşik değeri (IU/L)	Sensitivite (%95 CI)	Spesifite (%95 CI)	Pozitif prediktif değeri	Negatif prediktif değeri	Negatif likelihood oranı	ROC eğrisi altında kalan alan (%95 CI)
111,5	62,9 (44,9-78,5)	100 (81,3-100)	100	58,1	0,37	0,835 (0,707-0,922)

NASH'li ve kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların hem fibrozis evresi hem de histolojik aktivitesinin derecesi ile M30-antijen düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır.

Kronik hepatit C enfeksiyonu olup normal transaminazı olanlarla (n=9) yükselmiş transaminazı olan hastalar arasında da M30-antijen düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Fibrozisi olan kronik hepatit C virus enfeksiyonlu hastalarla (n=16) fibrozisi olmayan hepatit C'li hastaların (n=5) serum M30 antijen düzeyleri arasında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). Hepatit C'li hastalar erken evre ve ileri evre fibrozisi olanlar olarak da iki gruba ayrılıp incelendiğinde bu iki grubun M30 antijen düzeyleri arasında yine istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). Ayrıca kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalarda M30-antijen düzeyi ile viral yük, histolojik aktivite indeksi, ultrasonografik yağlanma bulguları arasında bir ilişki saptanmadı.

TARTIŞMA

Kronik hepatit C, kronik karaciğer hastalığı ve sirozun en yaygın sebeplerindendir. Bazı ülkelerde görülen en yaygın karaciğer transplantasyonu endikasyonudur. Tüm dünyada küresel nüfusun yaklaşık %2'si olmak üzere yaklaşık olarak 170 milyon insan HCV'den etkilenmektedir (1,102). Bunun yanısıra, NAFLD anormal karaciğer fonksiyonu testlerinin en yaygın nedenidir. NAFLD karaciğer hasarı oluşturmak için yeterli düzeyde alkol tüketmeyen hastalardaki karaciğer steatozu olarak tanımlanır (103,104). Steatozis; obez, hiperlipidemili ve diyabetli hastalarda sıklıkla oluşur ve bu üç hastalık metabolik sendromun temel kriterlerindendir (24,25). NAFLD tanısının doğrulanması görüntüleme yöntemleri ile yapılabilir ancak, hastalığın kesin tanısı ve evrelendirilmesi karaciğer biyopsisini gerektirmektedir. NAFLD, hastaların az bir kısmında siroz ve hepatoselüler karsinoma gibi artmış ölüm riskine yol açan komplikasyonlara neden olur. Ayrıca artmış ölüm riski muhtemelen vasküler hastalık gibi insülin rezistansına ait komplikasyonlara bağlıdır. Daha önceden 'kriptojenik siroz' tanısı konmuş hastalarda NAFLD'nin önemli bir rolü olduğu artık bilinmektedir (22).

NAFLD tanımlanmasının üzerinden 20 yıldan fazla zaman geçmiştir ve patofizyolojik mekanizmasının anlaşılması açısından pek çok gelişme kaydedilmiştir. İnsülin direnci hepatoselüler yağ birikimi için önemli bir faktördür. Aşırı miktardaki intraselüler yağ asitleri, oksidatif stres, adenosin trifosfat (ATP) azalması ve mitokondriyal disfonksiyon yağlanmış karaciğerde hepatoselüler

hasarın önemli sebepleridir (105). Mitokondriyal disfonksiyon orijini ne olursa olsun NASH'de anahtar bir rol oynar. Mitokondriyal disfonksiyon yalnızca yağ birikimine katkıda bulunmaz ayrıca reaktif oksijen ürünleri (ROS) oluşmasına sebep olur. Sonuçta çeşitli kısır döngüler; lipid peroksidasyonu, mitokondriyal hasar, ROS oluşumu, anti-oksidanların azalması ve sitokin salınımının neden olduğu oksidatif stres genetik olarak yatkın bireylerde nekroinflamasyon ve fibrogenezise sebep olabilir (105). Bütün bunların sonucunda hepatosit nekrozu veya apoptozis meydana gelir (5,6). Hücre ölümü altında yatan mekanizma henüz açıklanmamıştır. Enflamatuvar ve immünolojik faktörlerin, sitokinlerin ve kemokinlerin belirgin etkisi muhtemeldir (2).

Deneysel ve klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar karaciğer doku tahribatının, inflamasyonun, rejenerasyonun ve fibrozisin hepsinin bir arada hepatosit apoptozisi tarafından tetiklenebileceğini göstermektedir (104,106). Bundan dolayı, apoptozis alkolik olmayan steatohepatitteki hepatosit eliminasyonunun altında yatan önemli mekanizmalardan birisidir. Apoptozis nedeniyle kronik hepatosellüler ölüm hepatit fibrogenezini başlatabilir (107). İdeal olarak, hepatositler ölen hücrelerin yerine geçmek üzere rejenere olur; ancak kronik karaciğer hastalığında hepatosellüler rejenerasyon büyüme faktörlerindeki dengesizlik ve karaciğerin yapısı ve dolaşımındaki bozukluk nedeniyle genellikle inhibe edilir. Hücre artıkları ve apoptotik cisimler birikir ve daha da fazla hasardan nekahete dönüşümü içeren ve fibrojenik prosesleri kolaylaştıran kendini artıran bir döngüyü oluşturabilen inflamatuvar cevapları başlatır (5). Karaciğerde fibrozisin kaynağı hepatik stellat hücrelerdir (105). Hepatik stellat hücreler (HSH), in vitro olarak gösterilmiş olan apoptotik cisimleri fagosite edebilir ve apoptotik cisimlerin hareketsiz HSH tarafından fagositozu miyofibroblastlara fenotipik transdiferansiyasyonu kolaylaştırır (6). Apoptotik yapıların hepatik stellat hücreler tarafından birleştirilmesi, onları fibrojenik aktivitelerini fibrozis gelişimine katkıda bulunarak stimüle edebilir. Enzimatik aktiviteleri ve apoptozis süresince

maskelenmemiş olan neoepitopları (aktin ve sitokeratin 18 ve 19) da içeren incelemeye bağlı olarak varsayılan pek çok apoptozis belirteçleri gelecek vaad etmektedir. Apoptotik süreçleri aktive eden bazı stimuluslar, apoptozis indüksiyonu için zorunlu olaylar olan ifadelerini ve aktivasyonlarını üreterek farklı yollar üzerinden kaspaz sistemine yakınlaşmaktadırlar. Sitokeratin 18 nekrozla ölmekte olan hücrelerde mevcut olmayan neoepitopların görünümünü belirleyen kaspazların, özellikle de kaspaz 6'nın ana hedefidir. Bu neoepitopların teorik avantajları, hepatoselüler apoptozisin mezenkimal apoptozisten kolay ayırımına izin vermekte, hepatositlerde mevcut olan ancak mezenkimal hücrelerde bulunmayan sitokeratin 18 esas varlığını da içermektedir.

Monoklonal antikorla (M30) tanımlanan bu neoepitoplardan biri (sitokeratin 18'in kaspaz 6 ile parçalanma bölgesi) apoptozis belirteci olarak önerilmiştir ve in vitro ve in vivo olarak geçerli kılınmıştır. NASH'li hastalar üzerinde daha önce yürüttüğümüz bir çalışmada fibrozisin apoptozis tarafından tetiklendiği kavramını destekleyecek şekilde ilerlemiş fibrozisli hastalarda, erken fibrozisli hastalara kıyasla M-30 antijen seviyelerini yüksek bulduk (40). Oysa şuanki çalışmada daha önceki çalışmada saptadığımız bulguları konfirme edemedik. Ancak bu sonuca, sayı bakımından uygun olmayan hasta popülasyonunun neden olması muhtemeldir. ELISA yöntemi kullanılarak (kaspaz ile oluşturulan CK-18 neoepitopu ve M-30 antikorunu tanıyanlardan biri), Bantel ve meslektaşları HCV ile enfekte hastaların serumlarında sağlıklı kontrol grubundakilerin serumlarına nazaran daha yüksek kaspaz aktivite seviyesi olduğunu göstermişlerdir (11). İmmünohistokimya aracılığıyla karaciğer biyopsilerinde bu iki yöntem arasındaki ilginç farkları göstererek kaspaz aktivitesini de göstermişlerdir. Bu çalışmada kaspaz tarafından yıkılan yükselmiş CK-18 seviyeleri tarafından yansıtılan artmış serum kaspazına ve onun karaciğerdeki CK-18 yıkımı ile olan korelasyonuna bakmasızın ilerlemiş nekroenflammatuvar hasarı olan HCV hastalarında serum kaspaz aktivitesinin gerek karaciğer hasarının histolojik evresi ile gerekse viral

yük ile korele olmadığını bildirilmişlerdir. Benzer sonuçları, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olmamasına rağmen kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların serumları ile yapmış olduğumuz çalışmada elde ettik. Bunun açıklaması apoptotik hücrelerin hızlıca fagosite edilmesi ve dolayısıyla serumda saptanmadan kaçabilmeleri olabilir. Eğer gerçekten de apoptotik hücreler hızlıca fagosite edilip serumda saptanmalarına fırsat kalmadan ortadan kaybolsaydılar aynı durum NASH hastaları için de geçerli olmalıydı. Oysa NASH hastalarında M30 düzeyi sağlıklılara göre belirgin derecede yüksekti. Belki bu apoptotik hücreler, NASH hastalarında fagositlerin kısa sürede temizleyemeyeceği miktarda ortaya çıkıyor ve bu süre içinde M30-antikör tarafından saptanıyordur. Bütün bunlar düşünüldüğünde HCV ilişkili karaciğer hücre hasarından sorumlu mekanizmaların NASH`de olduğu gibi tamamiyle anlaşılmadığını hem immün aracılı reaksiyonlar hem de virüsün direk sitopatik etkisinin patogenezinde rol alıyor olabileceğini, hücresel ve moleküler mekanizmaların yeterince aydınlatılamadığı hipotezine dayandırılabilir.

Hepatit C virüsü incelendiğinde ileri derecede geniş heterojenite gösterdiği görülür. Öyle ki farklı izolatlar arasında %1 ile %50 arasında nükleotid değişkenliği mevcuttur. Filogenetik analizlerin sonuçlarına göre HCV`nin en az 6 farklı genotipi (dizi bakımından %30-50 farklılık gösterirler) ve 90`dan fazla alt tipi (%15-30 farklılık gösterirler) mevcuttur. Tek bir genotipin farklı izolatları arasında %5 ile 15 farklılık görülebileceği gibi tek bir bireyden izole edilen virionlar arasında dahi genellikle %1 ile 5 farklılık mevcuttur ki bu durum 'quasispecies fenomeni' olarak adlandırılır ve bu virüsün kronik enfeksiyona sebep olma sıklığının nedenini açıklayabilir (108,109). Farklı genotip ve alt tiplerle oluşan enfeksiyonda CK 18 apoptozis sırasında kaspazlar tarafından farklı bir noktadan kırılıyor olabilir, ya da kaspaz bağımsız bir apoptozis de söz konusu olabilir. M30-antikör, kırılmış CK 18`i Asp396 dışındaki bir bölgeden tanıyamayacağı için M30 antijen saptanamayacaktır. Bu durum çalışmamızda belirgin olan düşük seviyedeki M30-antijenini açıklayabilir. Kronik hepatit C

(HCV) enfeksiyonu ile bağlantılı karaciğer hasarının patogenezinin immün sistemin aracılık ettiği düşünülmektedir. Ancak, steatoz gibi bazı sık rastlanan histopatolojik özellikler HCV'nin doğrudan sitopatolojik etkisini düşündürmektedir. HCV'nin steatoz patogenezindeki doğrudan sorumluluğu; bazı viral sekansların ve lipidlerin intrasellüler birikimine katıldığını düşündüren HCV genotip 3 ile bağlantısı ile, steatozun şiddeti ve HCV replikasyon seviyeleri ile, tedaviye cevap ve steatozun kaybolması arasındaki bağlantı ile gösterilmektedir (1). HCV'li hastalardaki genotip 3 steatozun bağımsız bir risk faktörüken, genotip 1'de steatozisin metabolik sendromla bağlantılı olduğu bulunmuştur (110,111). Genotip 1 hastalarında, insülin rezistansının fibrozisi harekete geçirdiği mekanizmalar; steatozisi, hiperlipidemi, artmış TNF üretimini ve PPARgamma (peroxisome proliferator activated receptor gamma) reseptörlerinin bozulmuş ekspresyonunu içermektedir. Bunun yanı sıra, insülin rezistansı tedavisi zor hastalarda ortak bir payda olarak bulunmuştur (108,109). Ülkemizde ve dünyada en sık görülen genotipin 1b olduğu ve genotip 1'li hastalarda steatozisin metabolik sendrom ile ilişkili olduğu düşünüldüğünde yağlanma saptanan kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalarda yağlanma saptanmayanlara göre M30 antijen düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark olmaması daha önceki çalışmamızda gösterdiğimiz gibi (sadece steatozisi olan bireylerle normal bireyler arasında anlamlı fark saptamamıştık) beklenen bir bulgu olabilir (40).

Steatozisin steatohepatitten farkı inflamasyonun ve/veya fibrozisin eşlik etmemesidir (32,109). Yaptığımız çalışmada artmış M30-antijen düzeyi NASH'li hastalarda hepatosit apoptozisinin direkt olmayan bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu hastalardaki steatozis evresi (evre 1, 2 veya 3) ile M30-antijen düzeyi arasında korelasyon bulunmadı (veri gösterilmedi). Bu durum şöyle açıklanabilir: Apoptozisin temel taşlarından biri apoptotik cisimciklerin yakındaki fagositler tarafından inflamatuvar cevap olmaksızın kaldırılmasıdır. Fakat karaciğer bu kurala istisnadır. Daha önce hepatoselüler apoptozise cevap olarak inflamasyonun ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (112). Gerçekte birçok çalışma

apoptozisin nötrofil kemotaksisini ve karaciğer parankimi içine transmigrasyonunu tetiklediğini göstermiştir (113,114). Yakın zamanda yapılmış çalışmalar da bunu desteklemektedir (40,115). Daha önceki çalışmamızda NASH'li hastalarda M30 düzeyinin steatozis (basit yağlanma)'li hastalar ve sağlıklı kontrollerden belirgin olarak yüksek olması apoptotik cisimciklerin inflamatuvar yanıtla temizlendiğinin göstergesi olabilir (40).

NASH ve basit steatoz arasındaki klinik ayırım önemlidir, çünkü NASH, siroz ve hepatoselüler karsinomu da içeren ciddi karaciğer hastalıklarının en önde gelenidir. Sirozun NASH'li hastalarda gelişmesi sadece steatozu olanlara nazaran daha muhtemeldir. Ayrıca, NASH tanısı atlanabilen bir hastalıktır. Tip 2 diyabetli hastalar ve obez hastalar arasında insidansı özellikle yüksektir. Steatoziden NASH'e geçişin tam sınırının net olarak çizilememiş olmasına rağmen, inflamasyon ve/veya fibrozis temel farktır. Daha önceki bulgularımız apoptozisin de bu iki klinik antitenin ayırımında rol alabileceğini göstermektedir (40).

Başka bir bakışla, mevcut çalışma NASH'li hastaların steatozlu hastalarla ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek M30-antijen seviyelerine sahip olduğunu göstermektedir. Bulgularımız, önemli klinik anlamlar taşımaktadır. İlk olarak M30-antijen ölçümü NASH tanısı gözden kaçmış hastaların sayısını azaltabilir. Ayrıca NASH'in tanısı için karaciğer biyopsisinin gerekliliği akılda tutulmalıdır. NASH'i tespit etmede yeni tanısal serum belirteçlerine veya invaziv olmayan işlemlere ihtiyaç duyulduğu aşikârdır. Serum M30-antijen ölçümü böyle bir işlem olabilir. NAFLD ile bağlantılı ciddi risklere rağmen, serum M30-antijeni hastalığın progresyonunu izlemede ve yüksek riskli hastaları belirlemede yeni bir izlem parametresi olarak görülebilir. Örnek büyüklüğü daha geniş olan başka çalışmaların yapılması bizim pilot bulgularımızı geçerli kılmak için zorunludur.

SONUÇ

NASH ve kronik hepatit C, kronik karaciğer hastalıklarının en sık görülen nedenlerindendir. Yaptıkları karaciğer hasarında apoptozisin rolü halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Bizim çalışmamızda serum M30-antijen (CK18-Asp396) seviyelerinin hem NASH hem de kronik hepatit C'li hastalarda sağlıklı kontrollerden yüksek olması apoptozisin kronik karaciğer hasarında önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Ancak NASH ve kronik hepatit C'li hastalarda histolojik aktivite ve fibrozis ile M30-antijen düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ayrıca kronik hepatit C'li hastalarda M30-antijen düzeyi ile viral yük arasında korelasyon saptanmadı. Bu durum, ortaya çıkan karaciğer hasarında apoptozisin önemli bir rolü olmasına rağmen başka faktörlerin de önemli ve etkili olduğunu düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Seela Ramesh, Arun J. Sanyal. Hepatitis C and Nonalcoholic Fatty Liver Disease:a review. *Semin Liver Dis.* 2004; 24 (4): 399-413.
2. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002;346:1221-31.
3. Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2004;24:3-2.
4. Forns X, Sanchez-Tapias JM. Chronic viral hepatitis C. In: Weinstein MW, CJ Hawkey, Bosch J Deville WL (eds). *Clinical Gastroenterology and hepatology*. First edition. Philadelphia: Elsevier Inc; 2005. 601-607.
5. Canbay A, Higuchi H, Bronk SF, Taniai M, Sebo TJ, Gores GJ. Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: a link between apoptosis and fibrosis. *Gastroenterology* 2002; 123: 1323-30,
6. Susca M, Grassi A, Zauli D, Volta U, Lenzi M, Marchesini G, et al. Liver inflammatory cells, apoptosis, regeneration and stellate cell activation in non-alcoholic steatohepatitis. *Dig Liver Dis* 2001; 33:768-777.
7. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, Burgart LJ, Lindor KD, Gores GJ. Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2003;125: 437-443.
8. Hayashi N, Mita E. Fas system and apoptosis in viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1997;12:223-226.
9. Lau JYN, Xie X, Lai M, Wu PC. Apoptosis and viral hepatitis. *Semin Liver Dis* 1998;18:169 –176.
10. Bantel H, Schulze-Osthoff K. Apoptosis in hepatitis C virus infection. *Cell Death Differ* 2003;10:48 –58.

11. Bantel H, Lugering A, Heidemann J, Volkmann X, Poremba C, Strassburg CP, Manns MP, Schulze-Osthoff K. Detection of apoptotic caspase activation in sera from patients with chronic HCV infection is associated with fibrotic liver injury. *Hepatology*. 2004 Nov;40(5):1078-87.
12. Kronenberger B, Wagner M, Herrmann E, Mihm U, Piiper A, Sarrazin C, Zeuzem S. Apoptotic cytokeratin 18 neoepitopes in serum of patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2005 May;12(3):307-14.
13. Nicholson, DW. Caspase structure, proteolytic substrates and function during apoptotic cell death. *Cell Death Differ*. 1999;6:1028-1042.
14. Ueno T, Toi M, Linder S. Detection of epithelial cell death in the body by cytokeratin 18 measurement. *Biomed Pharmacother* 2005;59(2):359-62.
15. Caulin C, Salvesen GS, Oshima RG. Caspase cleavage of keratin 18 and reorganization of intermediate filaments during epithelial cell apoptosis. *J Cell Biol* 1997;138:1379-94.
16. Ku NO, Liao J, Omary MB. Apoptosis generates stable fragments of human type I keratins. *J Biol Chem* 1997;272:33197-203.
17. MacFarlane M, Merrison W, Dinsdale D, Cohen GM. Active caspases and cleaved cytokeratins are sequestered into cytoplasmic inclusions in trail-induced apoptosis. *J Cell Biol* 2000;148(6):1239-54.
18. Leers MP, Kolgen W, Bjorklund V, Bergman T, Tribbick G, Persson B, Bjorklund P, et al. Immunocytochemical detection and mapping of a cytokeratin 18 neo-epitope exposed during early apoptosis. *J Pathol* 1999;187:567-72.
19. Bantel H, Ruck P, Gregor M, et al. Detection of elevated caspase activation and early apoptosis in liver diseases. *Eur J Cell Biol*. 2001;80:30-39.
20. Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 137-45.

21. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Ott BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980;55:434.
22. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, Musso A, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002;123(1):134-40.
23. Marrero JA, Fontana RJ, Su GL, Conjeevaram HS, Emick DM, Lok AS. NAFLD may be a common underlying liver disease in patients hepatocellular carcinoma in the United States. *Hepatology* 2002;36(6):1349-54.
24. Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, et al. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: A follow up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11:74.
25. Propst A, Propst T, Judmaie G, Vogel W. Prognosis in nonalcoholic steatohepatitis (letter). *Gastroenterology* 1995; 108:1607.
26. Nonomura A, Mizukami Y, Unoura M, et al. Clinicopathologic study of alcohol-like liver disease in non-alcoholics; Non-alcoholic steatohepatitis and fibrosis. *Gastroenterol Jpn* 1992; 27:521.
27. Bacon BR, Faravash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: An expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994;107:1103.
28. Baldrige AD, Perez-Atayde AR, Graeme-Cook F, et al. Idiopathic steatohepatitis in childhood: A multicenter retrospective study. *J Pediatr* 1995;127:700.
29. Moran JR, Ghishan FK, Halter SA, Greene HL. Steatohepatitis in obese children: A cause of chronic liver dysfunction. *Am J Gastroenterol* 1983;78:374.
30. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: An autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990; 12:1106.

31. Pinto HC, Baptista A, Camilo ME, et al. Nonalcoholic steatohepatitis Clinicopathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients. *Dig Dis Sci* 1996; 41:172.
32. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37:917.
33. Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis: A study of 49 patients. *Hum Pathol* 1989;20:594.
34. Cello JP, Grendell JH. The liver in systemic conditions. In: *Hepatology*, Zakim D, Boyer TD (Eds). WB Saunders, Philadelphia 1990.1428.
35. Day CP, James OF. Steatohepatitis a tale of two 'hits'? *Gastroenterology* 1998;114(4):842.
36. Sonsuz A. Nonalkolik Steatohepatit. *Endoskopi* 2006;16(9):55-62.
37. Day C. Pathogenesis of steatohepatitis. *Best practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2002;16(5):663-678.
38. Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(8):2519-20.
39. Perez-Carreras M, Del Hoyo P, Martin MA, et al. Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003;38(4):999-1007.
40. Yilmaz Y, Dolar E, Ulukaya E, Akgoz S, Keskin M, Kiyici M, Aker S, Yilmaztepe A, Gurel S, Gulden M, Nak SG. Soluble forms of extracellular cytokeratin 18 may differentiate simple steatosis from nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2007 February 14;13(6):837-844.
41. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, et al. The natural history of nonalcoholic Fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005;129:113.
42. Caldwell, SH, Oelsner, DH, Iezzoni, JC, et al. Cryptogenic cirrhosis: Clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999;29:664.

43. Adams, LA, Sanderson, S, Lindor, KD, Angulo, P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol* 2005; 42:132.
44. Carson K, Washington MK, Treem WR, et al. Recurrence of nonalcoholic steatohepatitis in a liver transplant recipient. *Liver Transpl Surg* 1997;3:174.
45. Molloy RM, Komorowski R, Varma RR. Recurrent nonalcoholic steatohepatitis and cirrhosis after liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1997;3:177.
46. Kim, WR, Potercuha, JJ, Porayko, MK, et al. Recurrence of nonalcoholic steatohepatitis following liver transplantation. *Transplantation* 1996; 62:1802.
47. Cohen, JA, Kaplan, MM. The SGOT/SGPT ratio--an indicator of alcoholic liver disease. *Dig Dis Sci* 1979; 24:835.
48. Sorbi, D, Boynton, J, Lindor, KD. The ratio of aspartate aminotransferase to alanine aminotransferase: Potential value in differentiating nonalcoholic steatohepatitis from alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:1018.
49. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003;37:1286.
50. Van Ness MM, Diehl AM. Is liver biopsy useful in the evaluation of patients with chronically elevated liver enzymes? *Ann Intern Med* 1989; 111:473.
51. Zobair SS, Younossi ZM, Remer EM, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;123:745-750.
52. Adams LA, Talwalkar JA. Diagnostic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:34-38.

53. Rofsky NM, Fleshaker H. CT and MRI of diffuse liver disease. *Semin Ultrasound CT MR* 1995;16:16.
54. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; 123:745.
55. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* 2006;144:705.
56. Polat SA. Yatarak tedavi gören psikiyatri hastalarında hepatit B ve hepatit C seroprevalansı. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2002;24(1):15-20.
57. Terrault NA, Busch M, Murphy E, et al. Sexual transmission of hepatitis C virus in heterosexual monogamous couples-the HCV Partners study (abstract). *Hepatology* 2003; 38:183A.
58. Ohto H, Terazawa S, Sasaki N, et al. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. *N Engl J Med* 1994; 330:744.
59. Geerlings W, Tufveson G, Ehrich JH, et al. Report on management of renal failure in Europe, XXIII. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9 Suppl 1:6.
60. Koksall I, Biberoglu K, Biberoglu S, Koc F, Ayma Y, Aker F, Koksall H. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Turkey. *Infection* 1991;19(4):228-9.
61. Bozdayi G, Rota S, Verdi H, Derici U, Sindel S, Bali M, Basay T. The presence of hepatitis C virus (HCV) infection in hemodialysis patients and determination of HCV genotype distribution. *Mikrobiyol Bul* 2002;36(3-4):291-300.
62. Houghton M, Weiner A, Han J, et al. Molecular biology of the hepatitis C viruses: Implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology* 1991; 14:381.
63. Farci P, Alter H, Govindarajan S, et al. Lack of protective immunity against reinfection with hepatitis C virus. *Science* 1992; 258:135.

64. Koziel MJ, Dudley D, Afdhal N, et al. HLA class I-restricted cytotoxic T lymphocytes specific for hepatitis C virus: identification of multiple epitopes and characterization of patterns of cytokine release. *J Clin Invest* 1995;96:2311-21.
65. Lechner F, Wong DK, Dunbar PR, et al. Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus. *J Exp Med* 2000;191:1499-512.
66. Takaki A, Wiese M, Maertens G, et al. Cellular immune responses persist and humoral responses decrease two decades after recovery from a single-source outbreak of hepatitis C. *Nat Med* 2000;6:578-82.
67. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes (letter). *Hepatology* 1994;19:1321.
68. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42:962.
69. Lau JY, Davis GL, Prescott LE, et al. Distribution of hepatitis C virus genotypes determined by line probe assay in patients with chronic hepatitis C seen in tertiary referral centers in the United States. *Ann Intern Med* 1996;124:868.
70. Dusheiko G, Schmilovitz-Weiss H, Brown D, et al. Hepatitis C virus genotypes: An investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology* 1994;19:13.
71. Yano M, Kumada H, Kage M, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996;23:1334-40.
72. National Institutes of Health Consensus Development Conference Panel statement: management of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:Suppl 1:2S-10S.
73. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C: Paris, 26-28, February 1999, consensus statement. *J Hepatol* 1999;30:956-61.

74. Hoofnagle JH, Carithers RL, Shapiro C, Ascher N. Fulminant hepatic failure: Summary of a workshop. . Hepatology 1995;21:240.
75. .Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: Increased risk in chronic carriers of hepatitis B virus. Gut 1999; 45:613.
76. Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. Hepatology 2002;36(5 Suppl 1):S21-9.
77. Farci P, Alter HJ, Wong D, et al. A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. N Engl J Med 1991;325:98.
78. Barrera JM, Bruguera M, Ercilla MG, et al. Persistent hepatitis C viremia after acute self-limiting posttransfusion hepatitis C. Hepatology 1995;21:639.
79. Gonzalez-Peralta RP, Qian K, She YS, et al. Clinical implications of viral quasispecies in chronic hepatitis C. J Med Virol 1996;49:242.
80. Farci P, Shimoda A, Coiana A, et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. Science 2000;288:339.
81. Merican I, Sherlock S, McIntyre N, et al. Clinical, biochemical and histological features in 102 patients with chronic hepatitis C virus infection. Q J Med 1993;86:119.
82. Conry-Cantilena C, Van Raden M, Gobble J, et al. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. N Engl J Med 1996;334:1691.
83. Tong MJ, El-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. N Engl J Med 1995;332:1463.
84. Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R, et al. Natural course of chronic hepatitis C. Am J Gastroenterol 1993;88:240.
85. Yano M, Kumada H, Kage M, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. Hepatology 1996;23:1334.

86. Garcia-Suarez J, Burgaleta C, Hernanz N, et al. HCV-associated thrombocytopenia: Clinical characteristics and platelet response after recombinant alpha2b-interferon therapy. *Br J Haematol* 2000; 110:98.
87. Planas R, Balleste B, Antonio Alvarez M, et al. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients. *J Hepatol* 2004;40:823.
88. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: A retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112:463.
89. Hu KQ, Tong MJ. The long-term outcomes of patients with compensated hepatitis C virus- related cirrhosis and history of parenteral exposure in the United States. *Hepatology* 1999;29:1311.
90. Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, et al. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. *The GERMIVIC. Medicine (Baltimore)* 2000; 79:47.
91. Agnello V, Chung RT, Kaplan LM. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 1992; 327:1490.
92. Pozzato G, Mazzaro C, Crovatto M, et al. Low-grade malignant lymphoma, hepatitis C virus infection, and mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1994;84:3047.
93. Misiani R, Bellavita P, Fenili D, et al. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 1992;117:573.
94. Lindsay KL, Hoofnagle JH. Kronik hepatitler. In: Goldman L, Ausiello D (eds). *Cecil textbook of medicine Türkçe. 22`nci baskı* Ankara: Güneş kitabevi;2006.921-23.
95. Vrieling H, Reesink HW, van den Burg PJ, et al. Performance of three generations of anti-hepatitis C virus enzyme-linked immunosorbent assays in donors and patients. *Transfusion* 1997;37:845-9.
96. Beld M, Habibuw MR, Rebers SP, Boom R, Reesink HW. Evaluation of automated RNA extraction technology and a qualitative HCV assay for

sensitivity and detection of HCV RNA in pool-screening systems. *Transfusion* 2000;40:575-9.

97. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998;352 :1426-32.
98. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;339:1485-92.
99. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;41:1313.
100. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-35.
101. Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP). *JAMA* 2001;285(19):2486-97.
102. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341:556-62.
103. Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ. Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Semin Liver Dis* 2001;21: 17-26
104. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003;37:1202-1219.

105. Dolar E. Nonalcoholic steatohepatitis and hepatic fibrosis:a review
Turkiye Klinikleri J Int Med Sci 2005,1(16):11-20.
106. Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessavre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity.Toxicol Sci, 2002; 65(2): 166–76.
107. Rust C, Gores GJ. Jaeschke H, Lemasters JJ. Apoptosis versus oncotic necrosis in hepatic ischemia/reperfusion injury. Gastroenterology 2003;125:1246-1257.
108. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. N Engl J Med 2001;345:41-52.
109. Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. Hepatology 2002;36(suppl1) :35-46.
110. Adinolfi LE, Utili R, Ruggiero G. Body composition and hepatic steatosis as precursors of fibrosis in chronic hepatitis C patients. Hepatology 1999;30:1530-31.
111. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with spesific HCV and visseral obesity. Hepatology 2001;33:1358-64.
112. Jaeschke H. Inflammation in response to hepatocellular apoptosis. Hepatology 2002;35:964-6.
113. Lawson JA, Fisher MA, Simmons CA, et al. Parenchymal cell apoptosis as a signal for sinusoidal sequestration and transendothelial migration of neutrophils in murine models of endotoxin and Fas-antibody-induced liver injury. Hepatology 1998;28:761-7.
114. Jaeschke H, Fisher MA, Lawson JA, et al. Activation of caspase 3 (CPP32)-like proteases is essential for TNF-alpha induced hepatic parenchymal cell apoptosis and neutrophil mediated necrosis in a murine endotoxin shock model. J Immunol 1998;160:3480-6.

115. Wieckowska A, Zein NN, Yerian LM, Lopez AR, McCullough AJ, Feldstein AE. In vivo assessment of liver cell apoptosis as a novel biomarker of disease severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2006;44:27-33.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Rize'nin Güneysu ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Güneysu'da tamamladım.

1996 yılında başladığım İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nden 2002 yılında altıncı olarak mezun oldum. 2002 yılında tıpta uzmanlık sınavını (TUS) kazandım.

Mayıs 2007'de 'Soluble forms of extracellular cytokeratin 18 may differentiate simple steatosis from nonalcoholic steatohepatitis' başlıklı makale ile Türkiye Hepatoloji Vakfı 2007 Genç Araştırmacı ödülünü aldım.

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Ocak-Eylül 2007 döneminde baş asistanlık görevini yürüttüm. Halen araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerini paylaşan, yetişmemde büyük emeği geçen başta İç Hastalıkları AD Başkanı Sayın Prof. Dr. Şazi İmamoğlu olmak üzere tüm İç hastalıkları AD öğretim üyelerine, ayrıca Kardiyoloji AD, Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz AD, Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD öğretim üyelerine,

Sabrı, ilgisi ve yardımlarıyla tezimi tamamlamamda katkılarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden çok şey öğrendiğim tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Enver Dolar'a, ayrıca Prof. Dr. Selim Gürel'e, Prof. Dr. Macit Gülten'e, Doç Dr. Murat Kıyıcı'ya, Prof. Dr. Selim Giray Nak'a,

Tezime olan katkılarından dolayı Doç. Dr. Engin Ulukaya'ya, Prof. Dr. Ömer Yerci'ye, Uzm. Dr. Arzu Yılmaztepe'ye, Uzm. Dr. Sibel Aker'e, İç Hastalıkları AD asistanlarına, Mehmet Kovacıoğlu'na, Gastroenteroloji klinik ve poliklinik çalışanlarına teşekkür ederim.

Yoğun asistanlık eğitimim boyunca her zaman desteğini hissettiğim sevgili eşime özellikle tez dönemimde bana gösterdiği sabrından ötürü ayrıca teşekkür ederim.

