

**T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**KRONİK HEPATİT B VE KRONİK HEPATİT C  
ENFEKSİYONLARINDA SİTOKİN DÜZEYLERİ İLE  
HİSTOPATOLOJİK AKTİVİTE VE FİBROZİS ARASINDAKİ  
İLİŞKİ**

**Dr. Arzu TIĞLI**

**ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. F. Zeynep AKÇAM**

**ISPARTA-2010**

**T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**KRONİK HEPATİT B VE KRONİK HEPATİT C  
ENFEKSİYONLARINDA SİTOKİN DÜZEYLERİ İLE  
HİSTOPATOLOJİK AKTİVİTE VE FİBROZİS ARASINDAKİ  
İLİŞKİ**

**Dr. Arzu TIĞLI**

**ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. F. Zeynep AKÇAM**

**“BU TEZ SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ ARAŞTIRMA PROJELERİ YÖNETİM  
BİRİMİ TARAFINDAN 1776-TU-09 PROJE NO’SU İLE DESTEKLENMİŞTİR”**

**ISPARTA-2010**

## ÖNSÖZ

Asistanlığım boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşan ve tezimin hazırlanmasına katkıda bulunan değerli danışman hocam Doç. Dr. F. Zeynep Akçam'a,

Eğitimimin her aşamasında katkıları olan, bilgi ve tecrübelerini bizlerden esirgemeyen hocalarım anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Güler Yaylı ve Yrd. Doç. Dr. Onur Kaya'ya,

Tezimin hazırlanmasında katkılarından dolayı Tıbbi Patoloji anabilim dalın'dan Yrd. Doç. Dr. Metin Çiriş'e, Mikrobiyoloji uzmanı Dr. Tekin Taş'a, istatistik konularında yardımlarından dolayı Dr. Onur Ünal'a, projemize destek olan Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Yönetim Birimi'ne,

Asistanlık süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, servis ve enfeksiyon kontrol komitesi hemşirelerine,

Her zaman ilgi, sevgi ve desteklerini hissettiğim, yaşamımın her anında yanımda olan canım aileme,

Son olarak; hayatıma anlam kazandıran, yanlarında daima huzur bulduğum sevgili eşim, canım kızım ve oğluma sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>KISALTMALAR ve SEMBOLLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
2.1. Hepatit B Virüs Enfeksiyonu .....	2
2.1.1. Virüsün Yapısı .....	2
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.1.3. Patogenez .....	6
2.1.4. Klinik .....	8
2.1.5. Tanı .....	10
2.2. Hepatit C Virüs Enfeksiyonu .....	12
2.2.1. Virüsün Yapısı .....	12
2.2.2. Epidemiyoloji.....	13
2.2.3. Patogenez .....	17
2.2.4. Klinik .....	21
2.2.5. Tanı .....	22
2.3. Karaciğer Biyopsisi.....	23
2.3.1. HBV Enfeksiyonunda Patoloji.....	27
2.3.2. HCV Enfeksiyonunda Patoloji.....	29
2.3.3. Kronik Viral Hepatitlerde Grade (Derece) ve Stage (Evre).....	29
2.4. İmmünite .....	32
2.4.1. İmmün Yanıt ve İnflamasyonda Sitokinlerin Rolü .....	33
<b>3. MATERYAL-METOD</b> .....	<b>41</b>
<b>4. BULGULAR ve SONUÇLAR</b> .....	<b>52</b>
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>64</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>69</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>70</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>71</b>

**KISALTMALAR ve SEMBOLLER**

<b>BT</b>	: Bilgisayarlı Tomografi
<b>CTL</b>	: Sitotoksik T lenfosit
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>ELISA</b>	: Enzyme linked immuno sorbent assay
<b>HAİ</b>	: Histolojik aktivite indeksi
<b>HBcAg</b>	: Hepatit B kor antijeni
<b>HBe Ag</b>	: Hepatit B zarf antijeni
<b>HBs Ag</b>	: Hepatit B yüzey antijeni
<b>HBV</b>	: Hepatit B virüsü
<b>HCV</b>	: Hepatit C virüsü
<b>HLA</b>	: Human leucocyte antigen
<b>HRP</b>	: Horserdish peroxidase
<b>IL-1</b>	: İnterlökin 1
<b>IL-2</b>	: İnterlökin 2
<b>IL-3</b>	: İnterlökin 3
<b>IL-4</b>	: İnterlökin 4
<b>IL-5</b>	: İnterlökin 5
<b>IL-6</b>	: İnterlökin 6
<b>IL-7</b>	: İnterlökin 7
<b>IL-8</b>	: İnterlökin 8
<b>IL-9</b>	: İnterlökin 9
<b>IL-10</b>	: İnterlökin 10
<b>IL-11</b>	: İnterlökin 11
<b>IL-12</b>	: İnterlökin 12
<b>IL-13</b>	: İnterlökin 13
<b>IL-14</b>	: İnterlökin 14
<b>IL-15</b>	: İnterlökin 15
<b>IL-16</b>	: İnterlökin 16
<b>IL-17</b>	: İnterlökin 17
<b>IL-18</b>	: İnterlökin 18
<b>Ig</b>	: İmmünglobulin

<b>IFN</b>	: İnterferon
<b>KHB</b>	: Kronik hepatit B
<b>KHC</b>	: Kronik hepatit C
<b>MCP-1</b>	: Monosit kemotaktik protein-1
<b>MHC</b>	: Major-histokompatibilite-kompleks
<b>ml</b>	: mililitre
<b>NAT</b>	: Nükleik asit testleri
<b>ng</b>	: nanogram
<b>NK</b>	: Naturel killer
<b>ORF</b>	: Open reading frame
<b>PDGF</b>	: Platelet derived growth factor
<b>pg</b>	: pikogram
<b>PMNL</b>	: Polimorf nüveli lökositler
<b>Pol</b>	: Polimeraz
<b>PZR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>RIBA</b>	: Rekombinant immunoblot test
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforming growth factor beta
<b>Th 1</b>	: T helper 1
<b>Th 2</b>	: T helper 2
<b>TMB</b>	: Tetrametilbenzidin dimetilformamid
<b>TNFR</b>	: Tümör nekroz faktör reseptör
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör alfa
<b>USG</b>	: Ultrasonografi
<b>UTR</b>	: Untranslated region
<b>ve ark.</b>	: ve arkadaşları
<b>VEGF</b>	: Vasculer endothelial growth factor
<b><math>\mu</math>l</b>	: mikrolitre

**TABLolar DİZİNİ**

Tablo 1. Ishak skoru.....	31
Tablo 2. IL-18 seri dilüsyonlarının hazırlanması.....	48
Tablo 3. TGF- $\beta$ 1 standart solüsyonun hazırlanması.....	50
Tablo 4. KHB hastalarında Ishak skor dağılımı.....	53
Tablo 5. KHC hastalarında Ishak skor dağılımı.....	53
Tablo 6. KHB hasta grubunun serum sitokin düzeyleri.....	58
Tablo 7. KHC hasta grubunun serum sitokin düzeyleri.....	59
Tablo 8. Kontrol grubunun serum sitokin düzeyleri.....	60
Tablo 9. Hasta ve kontrol grubunun serum sitokin düzeyleri ortalamaları.....	62
Tablo 10. Hasta ve kontrol gruplarının post-hoc testlerle TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-18 düzeylerinin karşılaştırılması.....	62

**RESİMLER DİZİNİ**

Resim 1. Councilman Cisimciği HE x 400 .....	54
Resim 2. Konflent zon 3 nekroz HE x 200 .....	54
Resim 3. Piecemeal nekroz HE x 40 .....	55
Resim 4. Köprüleşme fibrozisleri HE x 40 .....	55
Resim 5. Köprüleşme fibrozisleri Masson trichom boyası x 40 .....	56
Resim 6. Portal inflamasyon HE x 100 .....	56
Resim 7. Fokal nekroz HE x 400 .....	57
Resim 8. Şiddetli interface hepatit HE x 40 .....	57



## 1. GİRİŞ

Hepatit B virüsü (HBV) ve Hepatit C virüsü (HCV), kronik hepatite yol açan başlıca hepatotropik virüslerdir. Bulaşıcı olması, yaygın görülmesi, siroz ve hepatosellüler karsinom gibi ölümcül seyredebilmesi nedeniyle hala ciddi bir sağlık sorunu olarak önemlerini korumaktadırlar (9).

Kronik hepatit B (KHB) ve kronik hepatit C (KHC) gelişiminde enfekte kişinin immün sisteminin virüse karşı verdiği yetersiz yanıt etkilidir. Bu yanıtta sitokinlerin önemli bir rolü vardır. Sitokin profilindeki dengenin, enfeksiyonun düzelmesi veya persistansı şeklinde sonuçlanabileceği bilinmektedir (97).

Viral hepatitlerde oluşan karaciğer hücre hasarı çoğunlukla virüs ile enfekte hücrelerin neden olduğu immün yanıt ile ilişkilidir. Bu hücrelerden salınan sitokinlerin, hem virüsün oluşturacağı hastalık tipini hem de enfeksiyonun sonucunu belirlemede oldukça önemli oldukları düşünülmektedir. Virüsle karşılaşma sonrasında CD4+ T lenfositlerden ve diğer birçok immün efektör hücrelerden Th1 (T helper 1) sitokinler (IL-2, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) üretilir, viral çoğalma etkin bir şekilde inhibe edilir. Th 2 (T helper 2) tip sitokinler (IL-4, L-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13) üretildiğinde ise, virüsün konakçıda kalması kolaylaşabilir ve hastalık kronik seyredebilir. Bu sitokinlerin fibrozis ve siroz ile sonuçlanan pek çok karaciğer hastalığında anahtar rol oynadığı bilinmektedir (112).

Bu çalışmada, KHB ve KHC enfeksiyonlu hastaların serum örneklerinde sitokin düzeylerinin saptanması ve bu sitokinlerle karaciğer biyopsisindeki Ishak skoru ve fibrozis arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hepatit B Virüs Enfeksiyonu

#### 2.1.1. Virüsün Yapısı

HBV, Hepadnaviridae ailesinin orthohepadnavirüs cinsi içinde yer alan hepatotropik, zarflı ve kısmen çift sarmallı bir deoksi ribonükleik asit (DNA) virüsüdür. Sadece, 3200 nükleotidden oluşan genomik yapısı nedeniyle, bilinen tüm DNA virüsleri içinde en küçük olanıdır. Hepadnaviridae ailesinin üyeleri içinde insanlarda enfeksiyon oluşturan tek tür HBV'dir.

Enfekte hücrelerde üç farklı HBV partikülü gösterilmiştir. Dane partikülü olarak isimlendirilen, yaklaşık 42 nm çapındaki küresel şekilli partikül enfektif özelliktedir. 22 nm çapındaki küresel partikül ile tübüler partiküller ise nükleik asit içermeyip enfektif değildirler (1). Dane partikülünün çekirdeğinde bulunan viral genom çember şeklinde ve kısmen çift iplikçikli DNA yapısındadır. İplikçiklerden uzun olanı L veya negatif zincir, kısa olanı ise S veya pozitif zincir olarak isimlendirilir. Genetik bilginin tamamı uzun sarmal üzerinde kodlanmış olup bu sarmal üzerinde S, C, X ve P kısaltmaları ile gösterilen dört değişik protein kodlayan nükleik asit dizisi (Open Reading Frame=ORF) tanımlanmıştır (2,3).

**1.S geni:** Pre-S1, pre-S2 ve S bölgelerinden oluşup, virüs yüzey antijenini (hepatit B yüzey antijeni-HBsAg) kodlayan genidir. HBsAg'nin a, d, y, w ve r aminoasitlerinden a antijenik yapısı tüm HBsAg pozitif bireylerde mevcut olup, buna karşın oluşan anti-HBs nötralizan antikoruna bağışıklığı sağlar.

**2.C geni:** Kor ve nükleokapsid genidir. Kor partikülü içinde toparlanan hepatit B kor antijenini (HBcAg) kodlar. HBcAg, sadece karaciğer hücresinde tespit edilebilir. Bu antijenin karboksi terminalinin bir bölümünden hepatit B e antijen (HBeAg)'i kodlanarak extrasellüler bölgeye salınır. HBeAg, replikasyon ve enfeksiyözitenin göstergesidir. C gen organizasyonu pre C bölgesinden başlarsa HBeAg, C bölgesinden başlarsa HBcAg sentezlenmektedir.

**3.P geni:** P proteini=polimeraz (Pol) geni, viral genomun büyük bir kısmını (3/4) kaplar. DNA bağımlı DNA polimeraz ve ribonükleik asit (RNA) bağımlı revers transkriptaz aktivitesindeki temel bir polipeptidi kodlar.

**4.X geni:** Viral replikasyon için önemli olan iki transkripsiyon aktivatörünü kodladığı düşünülen küçük bir gendir (4).

HBV'nin konak hücreye bağlanmasında bazı konak doku faktörlerinin rol oynadığı düşünülmektedir. Fibronektin, transferrin reseptörü, apolipoprotein H, insan serum albumini, pre S2 glikan ve HBV bağlayan faktör gibi birçok reseptör adayı tanımlanmıştır (5).

Hücre yüzey reseptörü yolu ile HBV hepatosite girer ve sonra HBV zarfı soyularak HBV cccDNA formu ortaya çıkar. cccDNA, hepatositin nükleosunun içine hareket eder ve viral replikasyon sırasında RNA'nın kopyalanması için kalıp görevi yapar. Kor virüs partikülleri HBsAg ile sarılır ve HBV virionu salınır (4).

### 2.1.2. Epidemiyoloji

Dünyada yaklaşık 2 milyar insan HBV ile karşılaşmış olup seropozitifdir. 400 milyon kişinin kronik HBV enfeksiyonlu, bunların yaklaşık %7-30'unun da HBV varyantları ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye'de 3.5 milyon insan HBV ile enfektedir. Bunlardan sadece 400 bini tedavi almakta, geri kalan büyük miktardaki popülasyon ise kendisinin HBV ile enfekte olduğundan habersiz yaşamaktadır. Dünya nüfusunun yaklaşık % 5 (%0,1-20)'i inaktif taşıyıcıdır. İnaktif taşıyıcılar, çoğu kez HBV'ye bağlı herhangi bir rahatsızlık geliştirmeden normal yaşamlarını sürerken, çok az hastada KHB gelişmekte; az bir oranda hastada da HBsAg kaybolmaktadır (7).

HBV'nin bulaşmasında taşıyıcıların yanı sıra, akut ve kronik enfeksiyonlu bireylerin kan ve vücut sıvıları önemli rol oynar (8,9). İnsan vücut sıvılarından kan, semen ve vajinal sekresyonlarda önemli oranda HBV bulunurken (HBsAg ve HBV DNA pozitifliği) ter, gözyaşı, tükürük, süt ve diğer vücut sıvılarında da virüs tespit edilmiş olup, bu sıvılar da potansiyel olarak enfeksiyöz kabul edilmektedir. Bununla birlikte enfeksiyöz HBV partikülleri yalnızca serum, tükürük ve semende kesin olarak gösterilebilmiştir (9,10). -20 °C'de uzun süre saklanabilir ve 60 °C'de 4 saat

yaşayabilir. 100 °C'de ve sodyum hipokloritle muamele ile 10 dakikada inaktive olur.

HBV enfeksiyonunun başlıca bulaşma yolları ve bulaşma yollarına göre risk grupları aşağıda özetlenmiştir (8):

### **1- Parenteral (perkütan) bulaşma**

- Çoğul transfüzyon yapılan hastalar
- Hemodiyaliz hastaları
- Damar içi uyuşturucu bağımlıları
- Dövme (tatuaj) yaptırınlar
- Sağlık personeli

### **2- Cinsel temasla bulaşma**

- Erkek eş cinseller
- HBV taşıyıcılarının cinsel partnerleri
- Fahişeler
- Çok partnerli heteroseksüeller

### **3- Perinatal-vertikal bulaşma**

- HBV taşıyıcısı annenin bebekleri

### **4- Horizontal bulaşma**

- Kötü hijyen ve düşük sosyoekonomik durum
- Mental özürlüler

### **Dünyada HBV Enfeksiyonu Prevalansı**

HBV enfeksiyonu prevalansı tüm dünyada oldukça iyi araştırılmıştır. HBsAg ve anti-HBs pozitifliği oranları, enfeksiyonun alınma yaşı, en sık görülen bulaşma yolu gibi kriterler gözönüne alınarak dünya, düşük, orta ve yüksek endemisite bölgelerine ayrılmıştır (8).

**1. Düşük Endemi:** HBsAg prevalansının  $< \%2$  olduğu coğrafik bölgelerdir: Kuzey Amerika, Kuzey ve Batı Avrupa, Yeni Zelanda, Avustralya gibi gelişmiş ülkelerdir (8). Bu ülkelerde genel popülasyonda hepatit B insidansı düşük olup cinsel temas en önemli bulaş yoludur. Bu bölgelerde, genç erişkin dönemde parenteral yolla, özellikle ortak enjektörle intravenöz ilaç kullanımı ve yüksek riskli-güvenli olmayan cinsel temasla gelişen enfeksiyon neticesinde kronikleşmenin daha ön planda olduğu görülmektedir. İntravenöz ilaç bağımlılığı, homoseksüeller, kronik böbrek yetmezlikli hastalar ve bunlara hizmet veren diyaliz personeli, çok sayıda cinsel partneri olan kişiler, kronik HBV enfeksiyonu olan kişilerle aynı evde yaşayanlar, bakımevlerinde izlenen mental retarde bireyler, sağlık personelleri riskli grubu oluşturmaktadır (2).

**2. Orta endemi:** HBsAg prevalansı  $\%2-7$  oranındadır. Yetişkinlerin  $\%20-60$ 'ında anti-HBs pozitifdir. Doğu Avrupa, Fransa hariç Akdenize kıyısı olan Güney Avrupa ülkeleri, Rusya, İspanya, İsrail, İran, Suriye, Irak, Hindistan'ın yer aldığı Güney Orta ve Güney Batı Asya orta endemisiteye sahiptir. Enfeksiyon çoğunlukla çocukluk, ergenlik ve genç erişkinlik döneminde alınır. Başlıca bulaş yolu horizontaldir. Perinatal bulaş  $\% 10-20$  oranında görülmektedir (7).

**3. Yüksek endemi:** Afrika, Güneydoğu Asya, Çin, Alaska'da HBsAg pozitifliği  $\%5-20$  oranındadır ve yetişkinlerin  $\%70$ 'ten fazlası enfeksiyona karşı bağışiktir. Perinatal ve horizontal bulaş ana bulaş yoludur. Asya'da perinatal bulaşma, Afrika'da horizontal bulaşma ön plandadır (2,11). Çocukluk dönemindeki enfeksiyonların çoğu asemptomatiktir ve bu dönemde hepatit B ile ilgili akut enfeksiyon belirtileri siliktir, fakat erişkinlerde kronik karaciğer hastalığı ve karaciğer kanseri oranı yüksektir (12).

### **Türkiye'de HBV Enfeksiyonu Prevalansı**

Türkiye, yaklaşık  $\%6$  ( $\%3.9-12.5$ ) prevalansla (yaklaşık 3.5 milyon kişi) orta endemisiteye sahip bölgeler arasında yer almaktadır. Ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmalar HBV'nin çocukluk ve gençlik çağında aile ve toplum içinde horizontal yolla alındığını ve 18-20 yaşlarında toplumun taşıyıcılık oranına ulaşıldığını göstermektedir (7).

### **HBV Genotipleri**

Coğrafik ve etnik orjine göre HBV'nin farklı genotipleri vardır. Bunlar A-H arasında 8 farklı genotip olup, Türkiye'de genotip D hakimdir. Genotip A, Kuzey Amerika, Afrika ve Kuzey Avrupa'da; B ve C, Asya-Pasifik'te; D, Akdeniz ülkeleri ve Hindistan yarımadası'nda; E, Sahra altı Afrika'da; F, Orta ve Güney Amerika'da yaygın görülmektedir. Genotip G'nin yoğunlaştığı bölgeler bilinmemekte olup, Kuzey Amerika ve Fransa'da tesbit edildiği, Tayvan'da hepatosellüler kanserli hastalarda genotip C ile kombine olarak saptandığına dair yayınlar mevcuttur. Genotip H'nin dağılımı henüz anlaşılamamıştır (6).

### **2.1.3. Patogenez**

Viral hepatitlerde virüsün karaciğerde direk sitopatik etkisinin olmadığı, hastalık tablosunun immünolojik olduğu görüşü hakimdir (13,14). HBV'ye bağlı olarak karaciğerdeki hasar ve HBV'nin temizlenmesi immün sistem ile ilgilidir (15,16). Konağın HBV'ye karşı immün yanıtı klinik patolojinin ve virüsten kurtulmanın temel nedenidir.

HBV virüsüne karşı konakçının immün yanıtı karaciğerde hasara neden olmaktadır. Hücrel immün yanıt iki yolla olmaktadır:

1. Human leucocyte antigen (HLA) class 1 CD8+ zayıf sitotoksik T lenfosit (CTL) kontrolündeki yol.

Bu yoldaki hücrel immün yanıtta hepatit B virüsünün küçük proteinleri (özellikle HBcAg) CD8+'e sunulmak için hepatosit içinde belirli süreçlerden geçirilir. Bu süreçlerden sonra oluşan süreç hepatosit yüzey membranına getirilir. Hepatosit yüzey membranındaki bu süreçler direkt olarak CD8+ sitotoksik T lenfositler ile birleşir ve enfekte hücrenin ölümüne neden olur (17). HBV proteinlerin residü peptidlerini düzenlemek sınırlı olduğundan, class 1 deki bağlanma olduğunda değişiklik yapılarak, bu residü peptidlerin bağlanmaları sağlanabilir. Günümüzde Major-Histokompatibilite-Kompleks (MHC)'deki bağlanma alanlarının polimorfik natürde olması bunu desteklemektedir ve bu immüno-dominant hepatit B virüs peptidlerinin çok çeşitli bağlanmalara afinitesi olduğundan akut HBV enfeksiyonu sonrasında, virüse karşı gelişen immün yanıtın şeklini belirler.

2. Hepatosit dışındaki viral proteinlerin peptid parçacıkları karaciğere özgü olmayan antijen sunan hücreler (özellikle makrofajlar) tarafından hücre içine alınır. Bu antijen sunan hücrelerin sitoplazmasında yine benzer şekilde süreçler oluşturulur ve bu süreçler hücre membranına getirilir. Bu süreçler CD4+ T hücreleri ile birleşir, bu birleşim T hücre çoğalmasını, T hücreleri tarafından sitokin (bu sitokinler hepatositlerde hasara ve antijen sunan hücrenin ölümüne neden olur) salgılanmasını ve B hücrelerinin uyarılmasını tetikler (18).

Bu farklı immün yanıtlar sonrasında virüs başarılı şekilde temizlenir, virüsün başarılı şekilde temizlenmesi için konakta MHC molekülü, spesifik T hücrelerine antijen sunumu ve T hücreleri arasındaki uyuma (yani konakta hiçbir immün yetmezlik durumunun olmamasına) bağlıdır. Eğer bu tanınmada ve aktive olmada yetmezlik olursa, enfekte tüm hücreler parçalanır, viral replikasyon ürünleri açığa çıkar ve HBsAg'e karşı oluşan antikör hepatositlerin yeniden enfekte olmasını önleyemediğinden, başka hepatositler enfekte olur. Yani, yeterli immün yanıt olmazsa enfeksiyon devam ederek, enfekte hepatositleri öldürmeden HBV'yi inaktive ederler (19).

Virüsün hepatosite girmesinden sonra HBV enfeksiyonu bazı immünolojik belirleyicilerin belirlediği, birbirini izleyen dört evrede gelişir ve sonlanır (10,20).

**Evre 1 (İmmüntoleran Faz):** Enfeksiyonun semptomsuz inkübasyon dönemine uyar. Bu dönemde virüs replikasyonuna rağmen, oluşan immüntolerans nedeniyle karaciğer hasarı ortaya çıkmaz. HBsAg, HBeAg ve HBV-DNA yüksek titrelerde saptanırken, transaminaz seviyeleri normaldir. Karaciğer biyopsisi normaldir veya minimal hepatit bulguları gösterir (21).

**Evre 2 (İmmünklerens Faz):** Aktif hepatit ile karakterize olup HBsAg, anti-HBc IgM ve IgG pozitif ve transaminazlar yüksektir. HBV-DNA miktarı azalmıştır. Bu evre kronik hastalarda yıllarca sürer, hastalık siroz ve hepatosellüler kanserle sonuçlanabilir. Karaciğer biyopsisinde belirgin enflamatuvar aktivite tespit edilir. Sonunda anti-HBe serokonversiyonu gelişebilir (20).

**Evre 3 (Nonreplikatif Faz-İnaktif Taşıyıcı):** Konak immün yanıtının gelişmesi ile karakterize olan bu evrede HBsAg pozitif olmakla birlikte HBV-DNA negatifleşmiştir. Normal ya da normale yakın transaminaz seviyeleri olup karaciğer

biyopsisinde nekroinflamatuvar aktivitenin azalmış olduğu görülür. Birçok taşıyıcı hayatları boyunca HBeAg negatif, anti-HBe pozitif olarak yaşar (22).

**Evre 4 (Reaktivasyon fazı):** İnaktif HBV taşıyıcılarının 1/3'ünde HBe Ag'nin tekrar pozitifleşmesi gözlenmeden kronik hepatit oluşabilir. Bu taşıyıcıların bir kısmı HBV varyantlarından birini taşımakta olup HBV genomunun prekor ve kor-promotor bölgelerinde oluşan mutasyonlardan dolayı HBeAg salgılanmamaktadır. Hastaların bir kısmı HBeAg negatif kronik hepatitten direkt olarak HBeAg pozitif kronik hepatite geçerken çoğu bu döneme değişken süreli bir inaktif taşıyıcılık durumundan sonra girmektedir. Bu dönem HBeAg yokluğu ve anti-HBe antikorları varlığı, saptanabilir düzeylerde HBV-DNA mevcudiyeti, serum ALT düzeyleri yüksekliği ve histolojik olarak karaciğerde devam eden nekroinflamasyon ile karakterizedir (23).

Akut enfeksiyondan iyileşmede sellüler ve humoral immün yanıtlar bir bütün olarak önem taşırlar. T hücre yanıtları enfekte hücreleri temizler; humoral yanıtlar ise dolaşımdaki virionları bloke eder ve hepatositlerin enfeksiyona karşı korunmasını sağlar.

HBV persistansı, enfeksiyonun alındığı yaşa yüksek düzeyde bağımlı görünmektedir. Bebeklik ve çocukluk çağında alınan enfeksiyon çoğunlukla persiste ettiği halde, erişkin yaş enfeksiyonunun %95 kadarı kendiliğinden iyileşmektedir (24).

Sonuç olarak, immün yanıtın kalitesi ve gücü enfeksiyonun doğal seyrini belirleyen başlıca faktördür. Virüsün proteinlerine karşı gelişen immüntolerans, virüsün etkin bir şekilde temizlenmesini engellemekte, ancak immün yanıt karaciğer hasarına neden olmaktadır (25).

#### **2.1.4. Klinik**

##### **2.1.4.1. Akut Hepatit B'de Klinik**

HBV enfeksiyonunun klinik seyri ve sonuçları değişkendir. Asemptomatik enfeksiyondan fulminan hepatite kadar değişen farklı klinik tablolar görülebilir (2).

Akut HBV enfeksiyonunun inkübasyon dönemi 60-180 gündür. Enfeksiyonunun klinik bulguları ve seyri, enfeksiyonun alındığı yaş, virüsün genetik



yapısı, eşlik eden bir başka hepatotrop virüs enfeksiyonunun varlığı, konakçının immün durumuna göre değişiklik gösterebilir. Hastalık çocuk ve gençlerde yetişkinlere göre daha hafif ve asemptomatik olarak seyrederek. Akut hepatitin başlangıç semptomları nonspesifiktir. Semptomatik akut HBV enfeksiyonu hafif ve anikterik veya daha ciddi ve ikterle birlikte olabilir. HBV'yi almış olan erişkinlerin %5-20'sinde klinik olarak belirgin akut hepatit belirtileri ortaya çıkmaktadır. Sklerada ikter, serum bilirubin düzeyi %2.5-3 mg üstünde olunca gerçekleşir. Tipik semptomları halsizlik ve yorgunluk olup bunu iştahsızlık, bulantı, kusma ve sağ üst kadranda hafif künt bir ağrı takip eder. Preikterik dönemdeki bu semptomlar genellikle 3-10 gün sürer. Bu dönemde iştahsızlık ile birlikte yemek ve sigara kokusu hastalarda bulantı oluşturur. Sarılığın başlaması ve koyu idrar çıkması ile ikterik dönem başlar. İkterik vakalarda semptomlar ilerleyebilir, değişmeden kalabilir veya hızlıca düzelebilir. Sarılığın başlamasıyla hafif kaşıntı oluşur, nadiren kaşıntı uzayabilir. İdrar koyu, dışkı açık veya çamur rengindedir. Sarılık süresi genellikle 1-3 haftadır ve 4 haftayı nadiren aşar (26).

Fizik muayenede, nonspesifik bulgulara rastlanılabileceği gibi, sarılık ve genellikle hassasiyetin de eşlik ettiği hepatomegali (%10), splenomegali (%5) ve lenfadenopati (%5) saptanabilir (27,28). Vaskülit, immün kompleks nefriti, artrit, poliarteritis nodosa, glomerulonefrit, eritema nodosum, Guillain Barre Sendromu gibi genellikle immün kompleks fenomenini yansıtan ekstrahepatik bulgulara da rastlanabilir (29,30). Akut HBV enfeksiyonu geçiren erişkin hastaların büyük çoğunluğunda, tam iyileşme görülür.

#### **2.1.4.2. Kronik Hepatit B'de Klinik**

Akut enfeksiyondan sonra kronikleşme riski sağlıklı erişkinde %5 civarındadır (30). Akut enfeksiyon sonrası, altı aydan uzun süreli HBsAg pozitifliği kronik hepatit B'nin göstergesidir. HBsAg pozitifliği durumunda karaciğerde viral replikasyon ve kanda değişik titrelerde viremi devam eder.

KHB, sıklıkla sessiz bir hastalıktır. Tanı, genelde donör olarak kan verme veya rutin kan taraması sırasında tesadüfen HBsAg pozitifliğinin bulunması veya serum transaminazlarında orta derecede yüksekliklerin araştırıldığı sırada konabilir. Semptomlar karaciğer hasarının ciddiyetiyle korele değildir.

KHB'de en sık görülen genel semptom yorgunluktur. Bazı hastalarda halsizlik, bulantı, üst abdominal ağrı, kas ve eklem ağrıları gibi nonspesifik şikayetler de bulunabilir. Ayrıca anksiyete başta olmak üzere hastalarda bir takım psikiyatrik semptomlar, endişe hali, uyku bozuklukları, kas gerginliği, depresyon görülebilir (31).

Klinik bulgular, sarılık, nadiren örümcek nevüs, küçük veya büyük karaciğer ve splenomegalidir. Asit ve ösefagus varis kanamaları portal hipertansiyona bağlı geç ortaya çıkan belirtilerdir.

KHB enfeksiyonunun en önemli komplikasyonları; siroz, portal hipertansiyon, asit, özofagus varis kanaması, hepatorenal sendrom ve hepatosellüler karsinomdur. Kronik hepatit B'li olguların %15-20'sinde 5 yıl içerisinde siroza ilerleme tespit edilir, sirozlu hastaların %20'sinde ise hepatosellüler karsinoma saptanır. KHB virüs enfeksiyonu olan olguların her yıl %1-10 kadarında spontan HBeAg/AntiHBe serokonversiyonu görülür ve genellikle karaciğer hastalığında alevlenme ile birlikte dir. HBsAg kaybının görülme olasılığı ise yılda %1-2 civarındadır. HBsAg taşıyıcılığı ile kronik hepatit arasındaki ayırım karaciğerdeki kronik nekroinflamatuvar hastalığın histolojik olarak ortaya konması ile mümkündür (32,33).

### **2.1.5. Tanı**

#### **Laboratuvar Bulguları**

Akut HBV enfeksiyonunda laboratuvar testleri normal gözlenir veya orta derecede azalmış hematokrit veya hemoglobine rastlanabilir. Lökosit sayısı normal, granülositopeni ve relatif lenfositoz olabilir. Geçici steatore hastalığın erken döneminde saptanabilir (26).

Total serum bilirubini çoğu hastada %10 mg'ı geçmez ve 10-14 gün kadar yüksek kalır. Akut viral hepatitin esas göstergesi serum transaminaz seviyelerindeki hızlı yükseliştir. Transaminaz yükselmesi semptomlar başlamadan önce başlar ve genelde semptomların birinci haftasında en yüksek değere ulaşır. ALT, AST'den daha yüksek saptanır. Transaminaz pik seviyeleri karaciğer hastalığı ile doğru orantılıdır ama prognostik faktör değildir. Serum alkalen fosfataz seviyesi normal

veya hafif yüksektir. Serum albumin, globulin, protrombin zamanı sıklıkla normaldir; ancak 17 saniye üzerinde olması prognozun ciddiliğini gösterir ve fulminan karaciğer yetmezliği açısından değerlendirilmelidir. Uzamış akut hepatit B’de anormal laboratuvar bulguları 3-4 aydan 12 aya kadar devam edebilir (2).

### **Serolojik Tanı**

Akut HBV enfeksiyonunun tanısı spesifik serolojik testlerle konabilmektedir. Bu amaçla HBsAg, HBeAg, anti-HBs, anti-HBe, anti-HBc IgM, anti-HBc IgG serolojik olarak saptanabilirken, HBcAg ise sadece hepatositlerde bulunduğundan saptanamaz.

Akut HBV enfeksiyonu sırasında, HBsAg virüse ait ilk saptanan antijendir. HBsAg hastalık semptomları ortaya çıkmadan 3-5 hafta önce serumda saptanmaya başlar ve 3 ay sonra kaybolur. HBsAg üç aydan fazla süre bulunursa kronik hepatit B gelişeceğine işaret eder ve altı aydan fazla pozitif olursa kronik enfeksiyon söz konusudur.

Serumda HBsAg ortadan kaybolduktan sonra genellikle hastalığın başlangıcından üç ay sonra ortaya çıkan anti-HBs antikorları hastalığın iyileştiğini ve hayat boyu kalıcı olan immüniteyi gösterir. HBsAg’nin ortadan kaybolduğu ve anti-HBs antikorlarının ortaya çıkmadığı dönem pencere dönemi olarak adlandırılır. Anti-HBs akut HBV enfeksiyonu dışında, hepatit B aşılması sonrasında immün bir cevap olarak da oluşmakta veya hepatit B immünglobulin (Ig) verilmesiyle, kan transfüzyonuyla ve anneden bebeğe pasif olarak da transfer edilebilmektedir (2,15,34).

HBcAg erken dönemde hızla spesifik antikor ile birleştiğinden serumda saptanması güçtür (35). Anti-HBc, HBsAg saptandıktan kısa süre sonra, anti-HBs ortaya çıkmadan önce görülmektedir. Başlangıçta anti-HBc’nin baskın Ig sınıfı IgM’dir. Anti-HBc IgM tipi antikorların belirlenmesi akut HBV enfeksiyonunda tanı için altın standarttır. Anti-HBc IgM ve IgG semptomlarla beraber ortaya çıkar. Anti-HBc birkaç ay pozitif kaldıktan sonra 4-8 ay içinde serumda bulunmaz. HBsAg’nin kaybolup anti-HBs gelişinceye kadar ki süre olan pencere döneminde anti-HBc Ig-M varlığının sürmesi kronikleşmeye işaret eder. Anti-HBc Ig-M’nin 7-8S formu kronik, 19S formu ise akut HBV enfeksiyonunda dominanttır (26,36).

Anti-HBc IgG tipi antikorlar HBV'ne maruz kalanlarda hayat boyu pozitif kalabilir ve akut, kronik veya önceden geçirilmiş HBV enfeksiyonunun göstergesidir ve kişinin daha önce HBV ile karşılaştığını gösterir. Anti-HBs olmaksızın anti HBc IgG'nin yüksek titrede bulunması viral enfeksiyonun devam ettiğini gösterir. Eğer anti-HBs ile beraber anti-HBc IgG pozitifse doğal immüniteyi gösteririr (13).

Viral replikasyonun devamını ve enfektiviteyi gösteren HBeAg, HBsAg'den birkaç gün sonra pozitif olur ve ALT pikinden hemen sonra kaybolur, eğer 10 haftadan fazla serumda bulunursa kronikleşmenin işaretidir. HBe Ag kayboluşu ile anti-HBe'nin ortaya çıkışı eş zamanlıdır ve anti-HBe akut enfeksiyondan yıllar sonra kaybolur. Anti-HBe düşük enfektiviteyi yani hastalığın iyileşeceğini işaret eder. Kronik HBV enfeksiyonunda tedavi ile HBeAg'nin kaybolup, anti-HBe'nin oluşması hedeflenir (13,15,37).

HBV-DNA viral replikasyonun en hassas göstergesidir. HBsAg mevcudiyetinde HBV-DNA tespit edilmesi viremi düzeyini gösteren en iyi belirteçtir (15,26). HBV DNA saptanması HBsAg pozitifliği gibi HBV enfeksiyonu kanıtı olarak değerlendirilir (38). HBV-DNA bakılması erken tanıda, antiviral tedaviye yanıtı izlemede, olağan dışı serolojik profilleri değerlendirmede son derece yararlıdır (15).

## **2.2. Hepatit C Virüs Enfeksiyonu**

### **2.2.1. Virüsün Yapısı**

HCV, küremsi, zarflı ve yaklaşık 50 nm büyüklüğünde bir pozitif sarmallı RNA virüsüdür. Flaviviridia ailesinde Hepacivirüs adıyla ayrı bir cins olarak sınıflandırılmıştır (43,44). Serumda düşük titrelerde bulunması ve hücre kültüründe üretilmeyişi nedeniyle virionun özellikleri tam olarak bilinmemektedir (45). HCV genomu yaklaşık 9600 nükleotid içeren pozitif polariteli, tek zincirli RNA'dır. Genom, 3' ve 5' uçlarda iki adet translasyona uğramayan bölge (untranslated region=UTR) bulundurur. Bu iki uç arasında, büyük bir prekürsör proteini kodlayan ve 9000'den fazla nükleotidden oluşan bir ORF bulunur. ORF yaklaşık 3010 aminoasit uzunluğunda büyük bir poliprotein kodlar. Genomun 5' ucunda bulunan 341 nükleotidlik UTR bölgesi, suşlar arasında yüksek oranda korunmuş nükleotid

dizisine sahiptir. Bu, virüs replikasyonu ve viral proteinlerin translasyonunda önemli rol oynar (46).

Virüsün yapısal proteinleri, çekirdek (core) proteini ve iki tane zarf proteini (13). HCV'nün yapısal olmayan proteinleri ise helikaz (NS2), proteaz (NS3), RNA polimeraz (NS5B), membran bağlayan protein (NS5) ve diğer düzenleyici proteinlerdir. Tanımlanan bu proteinlerin dışında interferon direnci ve protein sentez inhibisyonundan sorumlu değişik protein yapısında ürünlerde saptanmıştır (47).

HCV sadece insanda enfeksiyon yapmaktadır. Hepatosit dışında periferik kan mononükleer hücrelerinde de bulunabilir ve burada replike olabilir. Antiviral tedaviden sonra gelişen nüksde ve transplante karaciğerin reenfeksiyonunda bu hücreler önemli rol oynayabilir (48).

Hepatit C virüsünün hücre tropizmi ve hücreleri nasıl enfekte ettiği anlaşılamamıştır. İlk adım virionun hücre zarına tutunmasıdır. Bunun için düşük yoğunluklu lipoprotein veya CD81 reseptörünü kullandığı ileri sürülmüştür. Tutunma ve penetrasyondan sonra virüsün RNA'sı nükleokapsitten sitoplazma içerisine salınır. Virüs genomu translasyona uğrar ve poliprotein bireysel proteinlere parçalanır. HCV proteinlerinin hücre içerisinde belli bir düzeye gelmesi ile bir kısım HCV RNA'sının translasyon işleminde replikasyon sürecine kaymasına yol açarak pozitif sarmallar elde edilir. Bu sarmallar ya enfeksiyöz partiküller halinde paketlenip kana salınır veya tekrar translasyona uğrayarak viral protein üretirler. E proteinleri golgi kompleksinden öteye transport edilmediklerinden virüsün nükleokapsidleri, hücre içi membran kompartmanlarının lümenlerinin içerisine tomurcuklanarak kılıflarını kazanırlar (49,50).

### **2.2.2. Epidemiyoloji**

Hepatit C virüsü, hem ülkemiz, hem de dünya için önemli bir sağlık sorunudur. Kronik hepatitlerin % 40'nın nedeni HCV'dir. Kronik HCV enfeksiyonun siroz ve hepatosellüler kansere yol açıyor olması bu enfeksiyondan korkulmasının en önemli nedenidir. Dünyada yaklaşık 300 milyon insanın hepatit C virüsü ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir (51).

Virüs, sadece insan ve şempanzelerde enfeksiyona neden olmaktadır. Tek model deney hayvanının şempanzeler olması nedeniyle, oldukça az sayıda deneysel veri mevcuttur (52).

HCV'nün temel bulaş yolu parenteraldir. HCV enfeksiyonunun risk faktörleri arasında başlıcaları, kontamine kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu, damar içi ilaç kullanımı ve riskli cinsel temastır. Enfekte hastaların %40-50'sinde bilinen herhangi bir risk faktörü tanımlanamamıştır (51,53). Parenteral ve diğer bulaşma yolları için riskli gruplar aşağıda gösterilmiştir:

**1- Parenteral bulaş:** HCV bulaşında parenteral yol hepatit C vakalarının 1-2/3'ünden sorumludur.

**a- Kan ve kan ürünleri transfüzyonu:** HCV-RNA pozitif kan transfüzyonunda enfeksiyon genellikle oluşmaktadır. Donörlerin anti-HCV bakımından rutin testlere tabi tutulması ile posttransfüzyon HCV enfeksiyonlarında önemli azalmalar sağlanmıştır. HCV kontaminasyonundan ortalama 60-80 gün içerisinde HCV'ye karşı antikorlar oluşmaktadır. Antikor belirleme testlerine rağmen transfüzyon ile HCV bulaşması gerçekleşebilmektedir.(%0.01-0.001) (51,55).

**b- Damar içi ilaç kullanımı:** Gelişmiş ülkelerde HCV bulaşında en önemli faktörlerden biridir. Kontamine iğne ve/veya tıbbi ekipmanın ortak kullanımı yoluyla enfeksiyon alınmaktadır (51).

**c- Hemodiyaliz:** Hemodiyaliz ünitelerinde anti-HCV sıklığı ülkelere göre %4 ile %70 arasında değişmektedir. Konvansiyonel temizlik ve sterilizasyonun virüsü inaktif etmede yeterli olduğu bildirilmektedir (53).

**d- Organ transplantasyonu:** Organ transplant alıcıları HCV enfeksiyonu için ciddi risk taşırlar. Karaciğer transplantıyla, transplant sonrası ortalama 4.ayda HCV saptanma oranı %75-90'dır (53).

**e- Nozokomiyal bulaş:** HCV enfeksiyonu olan hastalarda daha önce hastanede kalma bir risk faktörüdür; hospitalize hastalardaki HCV enfeksiyon sıklığı %2-20 gibi yüksek oranlarda bildirilmektedir (53).

## 2- Şüpheli parenteral bulaş

**a- Tatuaj:** Tatuaj ile HCV bulaşı olabilir. Tayvan'da yapılan bir çalışmada tatuaj yaptıran başka risk faktörü olmayan genç ve sağlıklı 87 kişinin % 12,6'sında anti-HCV pozitif bulunmuştur. 126 kişiden oluşan kontrol grubunda ise bu oran % 2,4 olarak bulunmuştur (55).

**b- Akupunktur:** Uygun şekilde sterilize edilmeyen iğnelerle ve deneyimli olmayan kişiler tarafından yapıldığında akupunktur potansiyel bir risk faktörü olabilir (51).

**c- Sağlık personeli:** HCV ile enfekte hastadan sağlık personeline bulaş bilinmektedir. İğne batması sonucu HCV enfeksiyon oranı % 5-10 olmasına rağmen genel popülasyona göre kıyaslandığında sağlık çalışanları bir miktar daha artmış risk taşımaktadır (54).

## 3- Non-parenteral bulaş

**a- Anneden bebeğe geçiş:** HCV anneden bebeğe vertikal geçebilir. Genellikle dolaşımda viral yükü yüksek olan anneler yenidoğani enfekte etmektedirler. HCV ile enfekte kadınlardan doğan bebeklerde yaklaşık % 2-8 oranında perinatal bulaş olabilir. Maternal anti-HCV'nin yenidoğana pasif transferi de olabileceği için, yenidoğanda HCV enfeksiyonu var diyebilmek için, yenidoğanın serumunda HCV-RNA tespit edilmesi veya anti-HCV'nin 18 aylık dönemden sonra tespit edilmesi gerekir (56,57). Annede HIV ile koinfeksiyon ve üçüncü trimesterde yüksek HCV viremi varlığında bebeğe geçiş riski 2-4 kat daha fazladır. Annede HCV RNA negatifse bulaş sıfıra yakındır. Yenidoğana bulaşı önlemek amacıyla sezeryanla doğum önerilmemektedir. Anne sütünde HCV gösterilmesine karşın hepatit C ile enfekte kadından doğan bebekte emzirme ile enfeksiyon riskinin arttığını gösteren herhangi bir çalışma yoktur; bu nedenle postpartum emzirme kısıtlaması önerilmemektedir (58,59).

**b- Cinsel yolla bulaş:** Seksüel bulaş riski düşük olmasına rağmen eş zamanlı HIV enfeksiyonu, birden fazla cinsel eşin bulunması ve eşcinsel ilişki HCV bulaş riskini artırmaktadır (48,51).

**c- Ev içi temasla bulaş:** Cinsellik dışı ev içi temasla HCV bulaşı son derece düşüktür. Bu yolla bulaşta indeks hastayla temas süresi ile bulaşma riski arasında bir paralellik mevcuttur (48,51).

### **Dünyada HCV Enfeksiyonu Prevalansı**

HCV enfeksiyonunun prevalansı dünyanın değişik bölgelerinde farklıdır.

**Yüksek endemik bölgeler:** Japonya, Tayvan, İtalya ve özellikle Mısır'da prevalans %10-30 gibi oldukça yüksek oranda saptanmaktadır.

**Orta endemik bölgeler:** Doğu Avrupa, Akdeniz, Ortadoğu, Hint yarımadası, Afrika'nın bazı bölgeleri ve Asya orta derecede endemisite (%1-5) bölgeleridir.

**Düşük endemik bölgeler:** HCV prevalansı Batı Avrupa, Kuzey Amerika, Orta Amerika'nın pek çok bölgesi, Avustralya ve Afrika'nın Güney Afrika dahil sınırlı alanlarında düşüktür (%0,2-0,5). En düşük prevalans, İngiltere ve İskandinav ülkelerindedir (%0,01-0,1) (60).

### **Türkiye'de HCV Enfeksiyonu Prevalansı**

Ülkemizde HCV sıklığı %1-2,4 arasında değişmektedir (60). Kan donörlerindeki anti-HCV sıklığı ise %0,3-1,8 arasında değişmektedir (51).

### **HCV Genotipleri**

HCV'nin 11 ana genotipi ve a, b, c olmak üzere 3 alt tipi ile bunların çeşitli alt tipleri ile toplam 75 kadar HCV tipi bilinmektedir. Dünya dağılımına bakıldığında; tip 1,2,3'ün tüm dünyada yaygın, Tip 1b'nin ise güney ve doğu Avrupa, Güney Doğu Asya ve özellikle Japonya'da hakim olduğu görülmektedir. ABD'de tip 1a yaygınken, Ortadoğu ve Afrika'da tip 4 hakimdir. Tip 5, Güney Afrika ve Güney Doğu Asya'da, tip 3 ise Orta Asya'da görülen tiplerdir. Tip 6 Hong Kong, Macau ve Vietnam'da sınırlı, 7 Tayland'da yaygın, 8-9 Vietnam'da siktir ve 10-11 Endonezya'da görülmektedir. HCV genotipinin belirlenmesi; klinik seyir, tedaviye yanıt ya da yanıtızlıkta önemlidir (59,60). Ülkemizde en sık genotip 1b bulunur. HCV genotip 1b ile enfekte hastalarda siroz ve hepatosellüler kanser gelişme riskinin yüksek olduğu ileri sürülmektedir. Genotip 1b diğer genotiplere göre tedaviye daha dirençlidir (61).



### 2.2.3. Patogenez

HCV'nün hedefleri, hepatositler ve B lenfositleridir. Viral replikasyon çok güçlüdür. Replikasyon RNA'ya bağımlı RNA polimeraz aracılığıyla olur (51).

HCV erken dönemde güçlü bir doğal ya da adaptif immün yanıt uyandırmaktan kaçmakta, konağın etkin immün yanıtını baskılayacak yollar geliştirmektedir (62). Hepatitte parankim içinde lenfositlerin olması, immün kaynaklı hasarın kanıtıdır. Virüsün eradikasyonunda hücresel bağışıklığın rolü olduğunu destekleyen bulgular mevcuttur. T helper hücreleri ve CTL tarafından virüse spesifik cevabın güçlü gelişmesi ve sürdürülmesi viral klirensle ilişkilidir. T helper hücre cevabının önemli olduğu ve bu hücrelerin kaybıyla vireminin tekrar ortaya çıkması arasında güçlü bağlantının olduğu görülmüştür. HCV ile enfekte kişilerde diğer HCV genotipleri ile süper enfeksiyonun ortaya çıkması etkisiz immünitinin varlığını desteklemektedir (51).

#### Humoral İmmün Yanıt

Hepatit B'den farklı olarak HCV enfeksiyonunda meydana gelen antikorları tanımlamak zordur. HCV antijenlerine karşı ilk tesbit edilen antikor yanıtı yapısal olmayan protein 3 (NS-anti-c33) ve poliprotein kor (anti-22c) bölgelerine karşıdır. İlerleyen dönemlerde NS4 ve zarf proteinlerine karşı immün yanıt gelişir (14). Enfekte olan kişilerde hastalığın spontan iyileşme dönemine mi gireceği ya da kronikleşme sürecine mi gideceğini gösteren antikor cevabı ile ilgili çalışmalar başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Akut HCV enfeksiyonu olan bireylerde IgM antikorları gösterilmiş olmasına rağmen hastalığın gidişini bu şekilde tahmin etmek mümkün değildir. HCV'yi nötralize edebilecek antikorları tesbit edecek kapasitede uygun doku kültür yöntemleri bulunmamaktadır (62).

#### Hücresel İmmün Yanıt

Akut viral enfeksiyonun etkili klirensi immün sistemin tüm elemanları ile beraber düzgün çalışmasına bağlıdır. Etkene karşılık verilen immün yanıtta interferonlar (IFN) ve naturel killer (NK) rol oynar. NK hücreleri saatler içinde enfekte hücrelerin doğrudan parçalanmasını, IFN- $\gamma$  ve IL-12 gibi sitokinlerin salgılanmasını sağlayarak viral replikasyon üzerinde ilk basamak savunmasını

oluştururlar. IFN- $\gamma$ 'ın erken üretimi antiviral etkiyi sağlarken, inflamatuvar hücrelerin de intrahepatik olarak toplanmasını sağlar. Şempanze modeliyle yapılan bir çalışmada HCV'nin klirensinde virüse spesifik CD4+ veya CD8+ yanıtının gelişmesinden çok NK hücreleri ile oluşan doğal immünitinin rolü olduğu ileri sürülmüştür (62).

Akut olgularda strüktürel birçok viral antijene karşı belirgin CD4+ T hücre proliferasyonu gelişir. HLA sınıf II, antijene spesifik CD4+ hücrelere etkili immün yanıtı kontrol eder. CD4+ hücreler iki ana gruba ayrılır: Yardımcı Th 1 ve 2 (Th1, TH2). Th1'ler IL-2 ve IFN- $\gamma$  salgılayarak, CTL'i destekler ve intrasellüler enfeksiyonlara karşı savunma sağlarken, TH2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 salgılayarak antikor yanıtı oluştururlar (63). CD4+ yanıtı hem antiviral yanıtın oluşmasını hem de devamında sitokin salgılayarak B hücrelerinin ve virüs ile enfekte hücrelere spesifik CD8+ hücrelerinin yapımını artırır. CD4+ hücreler olmadan invivo şartlarda immün yanıt zayıflar ve CTL bellek fonksiyonu devam ettirilemez. Spontan olarak hepatitin gerilediği hastalarda HCV antijenlerine karşı güçlü bir Th1 yanıt ısrarlı bir şekilde devamlılığını sürdürür. HCV spesifik CD4+ hücresel yanıtın kaybı enfeksiyondan aylar sonra vireminin relapsı ile sonuçlanır (62).

CTL'in görev yapabilmesi için MHC sınıf 1 molekülleri ile polimorfik T hücre reseptörlerinin etkileşimi gereklidir. CTL, hem enfekte hücrelerin parçalanmasından hem de TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  üretiminden sorumludur. Enfekte hücrelerin eliminasyonu için CTL iki önemli yol kullanır: perforin granzim B ve FasL. İnvitro olarak HCV her iki mekanizmayı kullansa da invivo olarak bu durum kanıtlanamamıştır (62).

Sitokin yapan CD4+ T ve CD8+ T hücreleri, muhtemelen hem virüs replikasyonunun baskılanmasında, hem de karaciğer hasarının oluşmasında önemli rol oynarlar (64). Apoptozun HCV enfeksiyonunda arttığı ve bunun, histolojik aktivite indeksi (HAI) ve karaciğeri infiltre etmiş CD8+ T hücre miktarı ile pozitif korelasyon gösterdiği, fakat aminotransferaz düzeyleri, HCV yükü veya genotip ile korelasyon göstermediği saptanmıştır. Bu, biyokimyasal aktivite ile karaciğerin histolojik hasarı arasında korelasyon olmayabileceğini de kısmen açıklar (65). KHC

olgularında serumda TNF- $\alpha$  düzeyleri inflamasyonun gelişimini, TGF- $\beta$  ise fibrozisin derecesini yansıtabilir (63). Karaciğerde lobüler CD8+ T hücre sayısı ile ALT düzeyleri arasında belirgin korelasyon vardır. CD8+ T hücrelerinin, virüsün strüktürel ve non-strüktürel proteinlerindeki birçok epitopu tanıdığı gösterilmiştir (64). HCV spesifik CTL aktivitesi periferik dolaşımdan çok karaciğerde bulunur. Karaciğer içindeki HCV spesifik CD8+ T hücre sayısının, periferedekinin 190 katına kadar artabileceği saptanmıştır. CTL yanıtı, çoğunlukla daha düşük viremi düzeyi ve daha aktif karaciğer hastalığı ile paralellik gösterir (66). CTL'ler karaciğer hasarının bir nedeni olsalar da, viral replikasyonu sınırlamada belli bir role sahiptirler (64). Akut hepatit C hastalarında ilk 6 ay süresince çeşitli HCV epitoplarına karşı etkin bir CD8+ T hücre yanıtı oluşmakta, ancak ilk 6 aydan sonra (kronik karakter kazananlarda) bu yanıt belirgin biçimde düşmektedir. Buna göre, IFN- $\gamma$  sentezleyen HCV spesifik CD8+ T hücre etkinliği ile akut HCV eradikasyonu arasında oldukça keskin bir ilişki vardır. Ancak bu etkinin 6 aydan sonra neden tükendiği açıklanamamıştır (67) Şempanze modelinde persistan HCV enfeksiyonunun, CTL epitopunda mutasyonun ortaya çıkması ve bunu takiben HCV spesifik CTL yanıtının kaybolması ile birlikte olduğu gösterilmiştir (64). CD5+ B hücrelerinin kronik HCV enfeksiyonunda periferik kanda belirgin artış gösterdiği bildirilmiştir. Periferik kandaki CD5+ B hücre sayısı ile histolojik aktivite indeksi arasında negatif korelasyon bulunmuştur (progresif hastalığa karşı koruyucu etki). Bu hücreler HCV ile ilişkili otoimmün ve lenfoproliferatif patolojilerin ortaya çıkmasında önemlidir (68). HCV enfeksiyonunun nasıl kontrol edildiği, şifa ya da kronikleşmeyi belirleyen mekanizmanın ne olduğu iyi anlaşılammıştır. Antiviral antikorlar virüsle birlikte bulunurlar ama onu nötralize etmezler. HBV enfeksiyonundan farklı olarak, HCV enfeksiyonunda şifayı işaret eden spesifik bir antikor paterni de yoktur. Şifa ile iyileşen hastalarda HVR-1'e karşı, kronikleşen olgularda görülenden daha hızlı bir antikor yanıtı oluşur ve bu, enfeksiyonun klirensini işaret edebilir (65). HVR-1'e karşı oluşan antikor havuzundaki bazı antikorların nötralize edici kapasite taşıdıkları düşünülmektedir (64). Böyle olsa bile, koruyucu anti-HVR- 1 immün yanıt, doğal enfeksiyondan sonra hızla düşer. Bu durum, iyileşmiş HCV enfeksiyonunun neden iyi bağışıklık bırakmadığını açıklayabilir. Erken anti-HVR1 yanıtı ile HCV enfeksiyonunun rezolüsyonu arasında anlamlı bir ilişki vardır (68). HCV kor

proteininin, hücresel proto-onkogenlerle transkripsiyon düzeyinde ilişkiye girerek, hücre proliferasyonunu hızlandırıp hücre büyümesini etkileyebileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla HCV kor proteininin onkojenik bir potense sahip olduğu anlaşılmaktadır (54).

Kronik HCV hastalarında HCV'ye özgü CD8+ hücreleri daha az proliferasyon kapasitesine sahiptir ve yetersiz IFN- $\gamma$  üretilir. HCV enfeksiyonunda T hücrelerinin işlev bozukluğu ile ilgili bazı mekanizmalar suçlanmaktadır (69):

- **HCV genomunda kaçak mutasyonlar:** Özgün T hücre yanıtını zayıflatarak mutant virüsün devamını kolaylaştırır.
- **Primer T hücre yetmezliği:** Kalıcı enfeksiyon gelişen semptomatik hastalarda kısa bir dönem CD4+ hücre yanıtı oluşmakta, ancak müteakiben kaybolmaktadır. Bunun olası nedeni dendritik hücrelerin yetersiz antijen sunumu veya virüse özgü T hücrelerin yetersiz antijen sunumu veya virüse özgün T hücrelerinin delesyonudur.
- **Dendritik hücrelerde gözlenen bozulmuş antijen sunumu:** Hepatit C kökenli hastalarda üretilen monosit kökenli dendritik hücrelerin sayı ve fonksiyonunda farklılıklar bildirilmiş ve HCV genomu monosit kökenli hücrelerden izole edilmiştir.
- **HCV proteinleri ya da viral yükün oluşturduğu immünoşüpresyon:** HCV kor proteinleri T hücre proliferasyonu ve IL-2 üretiminin azalmasına neden olmaktadır.
- **T hücre matürasyonunda yetersizlik;** İleri derecede matüre olmuş HCV'ye özgü CD8+ T hücrelerinin, zayıf matüre olan hücelere göre daha sitotoksik oldukları ve daha etkin IFN- $\gamma$  ürettikleri gösterilmiştir.
- **Regülatuar T hücreleri;** Bu hücreler, IL-10 sekrete ederek CD8+ T hücrelerini baskılamakta, HCV'nin kronikleşmesine katkıda bulunmakta ve karaciğer hasarını sınırlamaktadır.
- **Karaciğerin toleran durumu;** Sinüzoidal endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, dendritik hücreler bu toleran ortamdan sorumlu tutulmaktadır.

#### 2.2.4. Klinik

Hepatit C'nin akut dönemde tanımlanması oldukça güçtür. Bunun en önemli nedeni akut hepatit C olgularının çoğunun anikterik ve subklinik seyretmesidir. İnkübasyon süresi ortalama 6-8 haftadır. Kan ve kan ürünleri ile bulaş virüsün miktarı ile ilişkili olup, inkübasyon süresi 2-4 hafta olup daha kısadır. HCV-RNA enfeksiyondan 1-2 hafta sonra pozitifleşir. ALT yükselmeleri genelde 4. haftadan sonra görülür. Hastalarda halsizlik, yorgunluk, kas ağrıları, hafif ateş, bulantı-kusma ve karında sağ üst kadranda ağrı gibi yakınmalar olabilir. Sarılık olguların %20'sinden azında görülür. Serum transaminazları dalgalanma gösterirler ve yaklaşık %40 hastada normalleşir; ancak bu normalleşme virüsten temizlenme anlamına gelmez. Sonuçta hastaların %15-20'si tam olarak iyileşir. Az sayıda olguda tabloya purpura, ürtiker, deri döküntüleri, artralji ve serum hastalığı benzeri belirtiler eklenebilir. Akut enfeksiyondan sonra genel olarak fulminan hepatit gelişmez. Ancak kronik hepatit B enfeksiyonlarında gelişen akut hepatit C'nin fulminan hepatit için önemli bir risk oluşturduğu yönünde kanıtlar elde edilmiştir (72,73)

KHC tanısı konulan hastalar genelde kan bağıışı sırasında veya check-up amacıyla yapılan tetkikler sonucunda tesadüfen farkedilir. KHC'de en sık bildirilen semptom yorgunluktur (74). İştahsızlık, halsizlik, kilo kaybı, kaşıntı, eklem ağrısı, bulantı gibi semptomlar da görülebilir. Serum ALT düzeyi karakteristik olarak dalgalı seyir gösterir ve genelde normalin 3 katını geçmez. Serum bilirubin ve alkalen fosfataz düzeyleri normal sınırlardadır (75).

KHC'li hastanın fizik muayenesinde genellikle anormal bir bulguya rastlanmamakla birlikte bazı hastalarda hepatomegali saptanabilir (76). Yani hastaların çoğunda, fizik muayene bulguları eğer varsa, hastalığın ileri devrelerine kadar hepatomegali (bazen de splenomegali) ile sınırlıdır. Bazen bu bile yoktur. Hafif bir splenomegaliye portal hipertansiyon gelişmeden de rastlanabilir (77). Siroz ve portal hipertansiyon geliştiğinde splenomegali ve daha sonra da asit saptanabilir. Palmar eritem, spider anjioma, jinekomasti, kas atrofisi gibi bulgular ancak terminal devredeki hepatit C sirozunun bulgularıdır. Görüntüleme yöntemlerinde ileri devrelere kadar çoğu kez hiçbir anormallik bulunmamaktadır (76,77).

KHC enfeksiyonunun en önemli komplikasyonu, hepatik fibrozis sonucunda siroz ve hepatosellüler kanser gelişmesidir (78). Bu uzun süreli komplikasyonlar genellikle enfeksiyonun başlangıcından 20 yıl ve üzerindeki sürelerde oluşurlar. Daha hızlı ilerleyen olgular da vardır. HCV enfeksiyonu alındıktan sonra hastaların %5-20'sinde 10-20 yıl sonra siroz gelişir (78,79).

### 2.2.5. Tanı

HCV enfeksiyonu tanısı için bugün kullanılan en pratik yöntem antikor aranmasıdır. Bu amaçla çeşitli rekombinant ve sentetik antijenlerin kullanıldığı ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) testleri geliştirilmiştir.

Temastan sonra, genellikle karaciğer enzimlerinin yükselmesinden 1-4 hafta önce, kanda HCV-RNA pozitifleşir. Enfeksiyonun ilk 8-12 haftasında viremi pik yapar (78). Anti-HCV antikorları virüs alındıktan 20-150 gün sonra pozitifleşir (74). ALT yükselmesi ise genellikle 4. haftadan sonra olur. HCV enfeksiyonu tanısında antikor tayini için serolojik testler ve viral partiküllerin tespitinde de moleküler testler kullanılmaktadır. Antikor tespitine dayanan tarama testleri transfüzyonla ilişkili enfeksiyon riskini belirgin azaltmıştır. Enfeksiyonun kendiliğinden düzeldiği az sayıda hastada, HCV antikor düzeyinin zamanla azaldığı gösterilmiştir. Anti-HCV bazı olgularda bir yıla yakın saptanmayabilir (47). Serum ALT ölçümü, hepatik hastalığı belirlemede ve tedavi etkinliğinin izlenmesinde önemli, ucuz ve iyi bir nonspesifik laboratuvar testidir. Ancak HCV enfeksiyonlu kişide ALT düzeyi normal veya dalgalı seyir gösterebilir, tek bir normal değer aktif enfeksiyonu, progresif karaciğer hastalığını veya sirozu dışlamaz (80).

ELISA testleri ile enfeksiyon sonrası 4-10 hafta içerisinde antikorlar belirlenebilir. Herhangi bir risk faktörü ve karaciğer hastalığı belirtileri olmayan kan donörleri ve sağlık çalışanlarında yalancı pozitiflik olabilir ki bu kişilerde enfeksiyon varlığı diğer testlerle doğrulanmalıdır. Yalancı negatif sonuçlar pencere dönemi dışında, immün yetmezliği olan HIV enfeksiyonu gibi hastalarda, böbrek yetmezliği ve HCV ile ilgili esansiyel miks kriyoglobulinemi hastalarında görülebilir. ELISA testini doğrulamak için rekombinant immunoblot test (RIBA) kullanılır (81). Bu testte başlıca, ELISA'da da kullanılan antijenler kullanılmakta farklı olarak, her antijene karşı oluşmuş antikor ayrı ayrı saptanabilmektedir. Bu testlerde katı faz,

ELISA'dan farklı olarak, nitroselüloz bir banttır. Pozitif testte iki banttaki reaksiyon saptanır; tek banttaki reaksiyon 'indeterminate' sonuç olarak belirlenir. ELISA'dan daha duyarlı değil, ancak daha özgül olduğundan risk grubu dışındaki kişilerde ELISA pozitifliğinin doğrulanması amacıyla geçmişte önerilmiştir (82).

Hepatit C'de nükleik asit testleri (NAT), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testleri olup hepatit C enfeksiyonu tanısı için çok spesifik testlerdir. Anti-HCV antikolları pozitif bulunan kişilerde HCV enfeksiyonu tanısının doğrulanması HCV-RNA testinin pozitif olması ile yapılabilir. NAT, tedavi kararı ve antiviral tedavinin etkinliğinin takibi için zorunludur. (83).

ELISA teknolojisi ile periferik kanda total HCV kor antijeni ölçülmektedir. HCV replikasyonunun indirek markıdır. Akut enfeksiyonun pencere döneminde kullanılabilir gibi görünüyorsa da, tam olarak uygulama stratejisi belirlenmemiştir. Bu testin avantajı ELISA formatının yüksek volüm kapasitesinde olması ve diğer HCV RNA testlerine göre daha ucuz olmasıdır. Fakat HCV kor antijen testlerinin duyarlılığı HCV RNA testleri kadar yeterli değildir (83).

HCV enfeksiyonlarında akut enfeksiyona yönelik IgM yanıtının saptanamaması, anti-HCV IgG pozitifliğinin geç saptanması, HCV-RNA'nın kronik enfeksiyonda da pozitif olması, akut ve kronik enfeksiyon ayırımında zorluğa neden olur. Karaciğer biyopsisi ile bu ayırım yapılabilir (84).

### **2.3. Karaciğer Biyopsisi**

Histopatolojik inceleme ile karaciğerin yapısal bütünlüğü, karaciğerdeki hasarın düzeyi ve tipi konusunda veriler elde edilmektedir. Karaciğerdeki nekroinflamasyonun kantitatif olarak ölçülmesi ve fibrozisin evrenmesi amaçtır. Karaciğer iğne biyopsisinde  $17,7 \pm 5,8$  mm uzunluğunda ve  $7,5 \pm 3,4$  portal alana sahip doku alınabilmektedir. Her iki karaciğer lobundan yapılan biyopsi sonuçları arasında da farklılık görülebilmektedir. Biyopsi sonrası biyopsi materyalinin objektif olarak değerlendirilmesi de güç olup Knodell, Metavir ve Ishak gibi skorlama sistemleri geliştirilmiştir. Ayrıca aynı biyopsi materyalinin aynı patolog tarafından farklı zamanlarda veya farklı patologlar tarafından değerlendirildiği çalışmalarda uyum oranında farklılıklar saptanmıştır (85).

Karaciğer dokusundan örnek alınabilmesi için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır:

- Perkütan karaciğer biyopsisi,
- Transjuguler karaciğer biyopsisi,
- Laparoskopik karaciğer biyopsisi ,
- USG (Ultrasonografi)/ BT (Bilgisayarlı Tomografi) aracılı ince iğne aspirasyon biyopsisi.

Genellikle tercih edilen yöntem perkütan karaciğer biyopsisidir. Bu yöntemle orta aksiller çizgide, 8.-9. interkostal aralıktan lokal anestezi uygulandıktan sonra, hasta ekspiryum sonunda nefesini tutarken örnek alınır. İnterkostal teknik ile non-sirotik karaciğerlerin % 99'unda, sirotik karaciğerlerin ise 2/3'ünde yeterli parça sağlanır. Biyopsi sonrası hasta, sağ yan tarafına yatırılır, tansiyon ve nabız takibine alınır (86,87).

Karaciğer biyopsisinin endikasyonları (88), kontrendikasyonları (85), komplikasyonları (88,89) aşağıda sıralanmıştır.

#### **Karaciğer Biyopsi Endikasyonları**

- Kronik hepatitlerin tanı ve evrelendirilmesi,
- Negatif veya tam yorumlanamayan serolojik yanıtları olan karaciğer enzim yüksekliklerinin araştırılması,
- Alkolik ve non-alkolik steatohepatitlerin ve otoimmün hepatitlerin tanı ve evrelendirmesi,
- Kolestatik karaciğer hastalığının tanı ve değerlendirilmesi,
- Hemokromatozda, karaciğer demir yükünün ölçümü,
- Wilson hastalığının tanısı ve karaciğer bakır yükünün ölçümü,
- Nedeni bilinmeyen ateş durumlarında doku kültürü ve tanıya katkı amacıyla,
- Karaciğer kitlelerinin tanısı,



- Karaciğer transplantasyonu sonrasında karaciğer durumunun araştırılması amacıyla.

### **Perkütan Karaciğer İğne Biyopsisi Kontrendikasyonları**

Karaciğer iğne biyopsisi için bazı mutlak ve kısmi kontrendikasyonlar vardır:

#### **Kesin Kontrendikasyonları:**

- Açıklanamayan kanama öyküsü,
- Uyumsuz hasta,
- Kanama eğilimi,
- Protrombin zamanı normali en az 4 saniye aşmış,
- Trombosit sayısı  $60.000/\text{mm}^3$ 'ün altında,
- Kanama zamanı 10 dakikayı aşmış,
- Son 7-10 gün içinde nonsteroidal antiinflamatuar ilaç kullanımı,
- Kan transfüzyonu imkanının olmayışı,
- Karaciğerde hemanjiom veya damar kökenli tümör varlığı,
- Perküsyon veya USG ile uygun biyopsi bölgesi saptayamama,
- Karaciğer hidatik kisti varlığı.

#### **Relatif Kontrendikasyonları:**

- Aşırı şişmanlık,
- Peritoneal mayi,
- Hemofili,
- Sağ plevra bölgesinde enfeksiyon varlığı,
- Sağ diyafram altında enfeksiyon varlığı.

### **Karaciğer Biyopsisi Komplikasyonları**

Karaciğer iğne biyopsisi deneyimli kişilerce uygulandığında oldukça güvenilir bir yöntemdir. Yılda 50'nin üzerinde biyopsi yapan hekimlerde komplikasyon oranının çok sınırlı olduğu gösterilmiştir. Gelişen komplikasyonların

yaklaşık %60'ı ilk 2 saat, %96'sı ise ilk 24 saat içinde gerçekleşmektedir. Sorun gözlenen hastaların %2-3'ünde, sıklıkla ağrı ve hipotansiyon nedeniyle, hastaneye yatırma gereksinimi ortaya çıkmaktadır. Karaciğer iğne biyopsisi sonrası mortalite oranı 10.000-12.000'de 1 olgu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Karaciğer iğne biyopsisi sonrası komplikasyonlar, ciddi ya da önemsiz sorunlar olarak sınıflandırılmıştır.

Önemsiz kabul edilen sorunlar, uygulama bölgesinde rahatsızlık hissi, ağrı ve gelip geçici hipotansiyon (vazovagal) durumudur.

**Ağrı:** Olguların yaklaşık dörtte birinde karaciğer iğne biyopsisi sonrası sağ üst kadranda veya sağ omuz bölgesinde ağrı oluşmaktadır. Genellikle soluk alma ile artan, orta şiddette, kısa süreli ve künt bir ağrı olarak tanımlanabilir. Ancak, devam eden aşırı bir karın ağrısı, kanama veya peritonit gibi daha ciddi bir komplikasyon konusunda uyarıcı olmalıdır.

**Kanama:** Karaciğer iğne biyopsisi uygulamasında karaciğer içine hafif düzeyli bir kanama olması beklenilir. Ancak yoğun kanama ciddi komplikasyonlar içerisinde en sık karşılaşılan sorundur. Kanamanın bulguları genellikle biyopsiden sonraki 3-4 saat içerisinde ortaya çıkar. Kanama için risk faktörleri; ileri yaş, eş zamanlı üçten fazla karaciğer iğne biyopsisi uygulaması, siroz ve karaciğer kanseridir.

Karaciğer iğne biyopsisi sonucu üç farklı kanama ortaya çıkabilir,

- Biyopsi sırasında hastanın derin soluk alması sonucu hepatic arter veya portal ven hasarına bağlı batın içi kanamalar
- Karaciğer içi kanamalar
- Safra yollarına kanama (hemobiliya): En az karşılaşılan karaciğer iğne biyopsisi komplikasyonudur. Bu kanama tipi biliyer ağrı ve sarılık ile kendini gösteren bir komplikasyondur. Genellikle arter kaynaklı olup, biyopsiden sonra semptomların başlama süresi yaklaşık beş gün olarak bildirilmektedir.

**Safra peritoniti:** Safra kesesi perforasyonuna bağlı olarak gelişir ve kanamadan sonra ikinci sırada görülen komplikasyondur. Biyopsiden birkaç dakika

sonra ortaya çıkan tablo veya işlem sırasında iğneye safra içeriği gelmesi uyarıcı olmalıdır.

**Geçici bakteriyemi:** Karaciğer iğne biyopsisi sonrası vakaların % 6-14'ünde gelişir. Safra yollarında tıkanıklık veya kolanjit olan vakalarda ise nadiren sepsis gelişebilir.

**Perforasyon:** Karaciğer iğne biyopsisi sonrasında % 0,0078 pnömotoraks, % 0,063 oranında hemotoraks gelişebilir. Nadiren göğüs tüpü gerektirir, genellikle kendiliğinden iyileşirler. Biyopsi sonrası diğer batın içi organlarda görülen delinmeler ise sıklıkla önemli sorunlar oluşturmazlar.

**Nadir komplikasyonlar:** Cilt altı amfizemi, peritonda hava birikimi, diafram altı apse, karsinoid krizi, kist hidatiğe bağlı anaflaksi, hemobilyaya bağlı pankreatittir. Biyopsi sırasında biyopsi iğnesinin kırılması da başka bir sorundur. Son olarak, hepatosellüler kanserli hastalarda iğne hattı üzerinde malign hücre ekilmesi gerçekleşebilmektedir.

### 2.3.1. HBV Enfeksiyonunda Patoloji

Viral hepatit karaciğerde hücreyi ölüme götüren hepatosit hasarı, hepatosit rejenerasyonu, kolestaz ve iltihabi hücre infiltrasyonu ile karakterize panlobüler bir hastalıktır. Karaciğer dokusunda bunun sonucu nekroz ve hasar ile bunlara karşı gelişen reaktif iltihap vardır (39).

Akut viral hepatitte karaciğer makroskopik olarak şiş ve konjesyonlu olup, kapsülü ise ödemlidir (40). Kolestaz var ise yeşil renk görülebilir. Nekroz varlığında ise buruşuktur. Karaciğer diffüz olarak tutulmuştur (39,40,41).

Biyopside erken dönemde sinüzoidal döşeyici hücrelerde proliferasyon, fokal hepatosellüler nekroz da vardır (39,40,41). Lobüler değişiklikler en fazla perivenüler bölgededir. Hepatositlerde intrasellüler ödem sonucu hidropik değişiklikler olur ve ileri dönemlerde balon dejenerasyon gelişince irreversibl hale gelir, en çok da sentrilobüler bölgede lokalize olur (40). Hücre nekrozunda ise sitoplazma koyu boyanır ve yoğun bir görünüm alır, bunu gösteren hücrelere asidofil (Councilman) cisimler denilir (39,40).

Fokal nekrozlar akut viral hepatitlerde en sık rastlanan nekroz tipidir. Nekroz alanında hepatosit yerine lenfosit ve makrofajdan oluşan hücre birikimi vardır (40,41). Zamanla bu bölgede pigmentle yüklü makrofajlar birikir. Multinükleer çekirdekli hücreler de görülür (39,40).

Hepatosit nekrozu alanlarında inflamasyon yaygın olarak görülür (40). Ağır olgularda yaygın nekroz alanları da vardır. Vasküler yapıları birbirine bağlayan bant şeklindeki köprüleşme nekrozları portal-portal veya sentral-sentral ven arasında olabilir. Özellikle yaşlılarda görülen sentral-sentral ya da sentral-portal köprüleşme nekrozları hastalığın kronikleşeceğini gösteren bulgulardandır (39,40,42).

KHB’de en çarpıcı mikroskopik bulgulardan biri de piecemeal nekrozlarıdır ve lenfositlerden zengindir (40). Nekroz çevresindeki hepatositlerde hidropik dejenerans görülürken etrafındaki T lenfositler hem rozet oluşturur hem de hepatosit sitoplazmasına girip hücre ölümüne neden olur (40). Portal bağ dokusu içinde hepatosit bulunması piecemeal nekrozunu gösterir (40,42).

Köprüleşme nekrozlarında ise lobüllerdeki vasküler yapılar birbirine bağlanır. Portal-portal köprüleşme nekrozları piecemeal nekrozunun bir tipi kabul edilir (39,42). Portal-sentral ve sentral-sentral köprüleşme nekrozları ise, mikrosirkülasyonu bozarak portal ve sistemik dolaşım arasında şantların oluşmasına neden olur. Portal inflamasyon lenfosit ve makrofajlardan zengindir ancak arada sayıca az plazma hücreleri ve eozinofiller bulunur (39,40).

Safra kanalı epitel hücrelerinde değişiklik olması ve safra kanalı kaybı da görülen diğer bir lezyondur (40,42). Safra kanal proliferasyonu veya safra kanal kaybı olgunun siroza ilerleyeceğini gösteren bir bulgudur (40).

KHB’de buzlu cam görünümü karakteristiktir (62). Normal hepatositlerden daha büyük olan bu hücreler ince granüllü sitoplazmalı, eozinofilik ve üniform görünümündedir. Buzlu cam görünüm sitoplazmanın tümünü veya bir kısmını tutabilir. KHB’de buzlu cam hücreleri dışındaki diğer hücrelerde pleomorfizm gösterir. Bu bulgu tek başına B hepatitini akla getirmelidir (40,42). Kor antijenin birikimi ile oluşan kumlu nüve görünümü de KHB için karakteristiktir (39,40). Periportal ve periseptal yerleşimli displastik hücre grupları KHB’de sık görülür (40).

### 2.3.2. HCV Enfeksiyonunda Patoloji

HCV enfeksiyonunda gelişen karaciğer patolojisi genel olarak öteki viral hepatitlerdeki patoloji ile uyumludur, bu nedenle de patogonomik değildirler. Akut ya da kronik hepatitlerde karaciğerde bulunan lezyonlar başlıca inflamasyon ve hepatosellüler nekrozdan ibarettir. Steatoz HBV'ye oranla daha sık görülmektedir. Kronik HCV'li enfeksiyonların bir bölümünde (%5-50) portal alanlarda, merkezinde kazeifikasyon olsun veya olmasın, granülomlar saptanır, bunlar akut C hepatitinde görülmez. KHC'de karaciğerin histomorfolojisi, öteki kronik hepatitlere benzer şekilde geniş bir yelpaze oluşturmaktadır. Diffüz portal inflamasyon, güve yeniği nekroz, spotly nekroz ve apoptoz ve nekroinflamasyonun sekelleri (periportal fibröz, köprüleşme fibrozu ve siroz) şeklindedir. HCV enfeksiyonu sadece siroza yol açtığına ölümcüldür. Normalde karaciğerde sadece A vitamini depolanmasında rolü olan stellat hücreler karaciğerde oluşan hasarla ve TGF- $\beta$  aracılığıyla aktive olup proliferasyon olurlar ve karaciğerin başlıca kollajen üreten hücreleri konumuna geçerler. Bu olay da fibrozise yol açar, fibrozisin iyileşmesiyle ekstrasellüler matriksin metalloproteinazlarla uzaklaştırılabilmesi için stellat hücrelerinin apoptozu ve fazla ekstrasellüler matriksin metalloproteinazlarla uzaklaştırılması gerekir. Doğal koşullarda sirozun oluşması için gerekli 15-20 yıllık süreç ekstrasellüler matriksin uzaklaştırılması için de gereklidir (70,71).

### 2.3.3. Kronik Viral Hepatitlerde Grade (Derece) ve Stage (Evre)

Kronik hepatitlerde; derece nekroinflamatuvar aktivitenin şiddetini, evre ise fibrozis derecesi ve yapısal değişiklikleri tanımlar. Histolojik olarak derece evrenin belirtilmesi, kronik hepatitlerde hastalığın şiddeti ve ilerleyişinin tayini açısından prognostik öneme sahiptir (90).

Aktivitenin temel dayanağı, lenfositik güve yeniği nekrozu ve lobüler nekroinflamatuvar aktivitedir. Bu portal inflamasyonun şiddetinden daha önemlidir. Ancak portal inflamasyon da diğerlerine paraleldir. Karaciğerdeki nekroinflamasyon viral ve otoimmün hepatitlere, ilaçlara bağlı hepatitlere, bilier hastalıklar ve diğer tip hepatitlere bağlı olarak meydana gelebilir (91).

Eğer inflamasyon var ve portal bölge ile sınırlı ise ‘portal hepatit’ veya ‘triadit’ olarak adlandırılır ve kronikleşme tanısı tamamen diğer klinik bilgilere bağlı olarak konur. Bu durumda gerçek kronik hepatit ile sistemik lezyonlara veya komşu lezyonlara karşı gelişen nonspesifik inflamasyonu birbirinden ayırt etmek oldukça güçtür. Eğer inflamasyon lenfositik güve yeniği nekrozu ya da belirgin lobüler inflamasyon ile birlikte ise kronik hepatitten kuşkulandırılmalıdır (92).

HAI, nekroinflamatuvar aktivitenin derecesini ifade eder (91). Histolojik derece bazen klinik ve biyokimyasal değerlendirmeler ile oldukça iyi bir korelasyon gösterir. Bazen de bu korelasyon kötüdür. Bunun birçok sebebi vardır. Histolojik değişikliklerin biyokimyasal değişikliklere göre oldukça yavaş meydana gelmesi bu sebeplerden bir tanesidir.

Kronik hepatitlerin evresi hastalığın süresi ile ilişkilidir ve prognostik ve terapötik yönden önemlidir. Evre değerlendirmesinde konnektif doku boyaları esastır. Kronik hepatitte portal mesafenin içinde ve çevresinde fibröz doku artar. Bu genellikle periportal nekroinflamatuvar aktivite ile ilişkilidir. Perihepatosellüler fibrosis hepatosit rozetleri olarak bilinen yapıların oluşmasına neden olabilir. Yaygın güve yeniği nekrozu komşu portal mesafeye ulaşabilir ve bu porto-portal septumlara neden olur. Benzer şekilde hepatik venüle ulaşırsa porto-santral septumlar gelişir. Siroz gelişiminde poro-santral septumların porto-portal septumlardan daha önemli olduğu düşünülmektedir (93).

Siroz, kronik hepatitlerin son evresidir ve fibröz septumlarla çevrelenmiş parankimal nodüllerin varlığı ile karakterizedir. Kronik hepatitler ve sirozda oluşabilen diaplazik hepatositler, adenomatöz hiperplazi veya makrorejeneratif nodüller, muhtemelen hepatosellüler karsinomun öncüsüdür (94).

Kronik hepatitlerde birçok dereceleme sistemi kullanılmıştır. Bunlardan en yaygın kullanılanı Ishak olarak da bilinen Modifiye HAI’dır. Nekroinflamasyonun 4 kategori, fibrozisin 1 kategori olduğu skorlama sistemidir. Maksimum skoru 24’dür (95). Bu skor tablo 1’de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Ishak skoru

<b>Modifiye HAI derecelendirilmesi :</b>	<b>Skor</b>
<b>Nekroinflamatuvar skorlar</b>	
<b>A. Periportal veya periseptal interface hepatiti (*piecemeal* nekroz)</b>	
Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alanda)	1
Hafif/Orta ( fokal, portal alanların çoğunda)	2
Orta (trakt ya da septaların %50'den azında, çevresinde devamlılık gösteren)	3
Şiddetli (trakt ya da septaların %50'den fazlasında, çevresinde devamlılık gösteren)	4
<b>B. Konfluent nekroz</b>	
Yok	0
Fokal konfluent nekroz	1
Zon 3 nekroz (bazı alanlarda)	2
Zon 3 nekroz (çoğu alanda)	3
Zon 3 nekroz + seyrek portal-santral (P-C) köprüleşme	4
Zon 3 nekroz + çok sayıda portal-santral (P-C) köprüleşme	5
Panasiner veya mültiasiner nekroz	6
<b>C. Fokal (*spotty*) litik nekroz, apoptozis fokal inflamasyon</b>	
Yok	0
1 veya daha az odak (x 100'lik her büyütmede)	1
2-4 odak (x 100'lük her büyütmede)	2
5-10 odak (x100'lük her büyütmede)	3
10'dan fazla odak (x100'lük her büyütmede)	4
<b>D. Portal inflamasyon</b>	
Yok	0
Hafif (bazı veya tüm portal alanlarda)	1
Orta (bazı veya tüm portal alanlarda)	2
Orta/Belirgin (tüm portal alanlarda)	3
Belirgin (tüm portal alanlarda)	4
<b>Modifiye histolojik aktivite indeksi evrelendirmesi:</b>	
<b>Yapısal değişiklikler, fibrozis ve siroz</b>	
<b>Değişiklik</b>	<b>Skor</b>
Fibrozis yok	0
Birkaç portal alanda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	1
Portal alanların çoğunda fibröz genişleme ve +/- kısa fibröz septa	2
Portal alanların çoğunda fibröz ve seyrek portal –portal (P-P) köprüleşme	3
Portal alanlarda fibröz genişleme ve belirgin köprüleşme [Portal-portal (P-P) yanı sıra portal-santral (P-C)]	4
Belirgin köprüleşme (P-P ve/veya P-C) ile seyrek nodül (inkomplet siroz)	5
Siroz (olası veya kesin)	6

## 2.4. İmmünite

İmmünite antijene özgü bir yanıttır ve genellikle oluşumu belli bir süre gerektirir. İmmün sistem, doğal (innate) ve kazanılmış (spesifik-adaptif) olarak ayrılan iki kısımda incelenebilen bir savunma sistemidir. Bu iki sistem birbiriyle çok hassas bir denge içerisinde ve yardımlaşma ile çalışarak konağı patojenlere karşı korumaktadır.

Doğal immünite, bir patojenle karşılaşınca ilk cevabı doğumdan itibaren oluşturabilen, genetik olarak belirlenmiş immün özellikleri içeren ve konağın kendisine ait olan ve olmayan antijenik yapıyı tanıma kapasitesine sahip olan savunma sistemi olup belirli bir patojen için selektivite göstermez ve birey bazı mikroorganizmaları tanıma ve yok etme özelliklerine doğuştan itibaren sahiptir (96). Doğal immün sistem, hücreleri ve çeşitli molekülleri içerir. Hücresel elemanlar polimorfonükleer lökositler (PMNL), monosit, makrofaj, eozinofil, mast hücre ve bazofiller, çözünür faktörler ise sitokinler, akut faz reaktanları ve özellikle en önemli faktörlerden biri olan kompleman sisteminden oluşur. Organizmanın enfeksiyonlarla mücadelesinde hem evrimsel olarak eski hem de oldukça evrensel olan doğal immün sistem, spesifik immüniteyle kıyaslandığında patojenleri tanıyan reseptörler açısından daha kısıtlı bir repertuara sahiptir. Doğal direnç mekanizmaları; anatomik ve fizyolojik bariyerler, kimyasal ve biyolojik faktörler, dalağın fonksiyonu, yaş, beslenme, ateş ve akut faz reaktanları, ırk ve genetik etki, bakteriyel interferens ve interferon, enfeksiyonlara doğal duyarsızlık, oral tolerans, fagositler ve NK hücreler, fagositoz ve inflamasyondur (96).

Kazanılmış immünite ise, belirli bir antijene özgün olup, antijenle tekrarlayan karşılaşmalarda daha hızlı ve güçlü cevap oluşturma gibi üstünlüklere sahiptir. Bu olaya antikor ve T lenfositleri aracılık eder ve sorumlu hücreler özgül bir antijen için uzun vadeli belleğe sahiptir. Bu savunma, organizmanın patojene primer veya sekonder yanıtına göre humoral veya sellüler düzeyde olabilir. Hücre aracılı (sellüler) yanıt esas olarak T lenfositlerden kurulu iken antikor aracılı (humoral) bağışıklık B lenfositlerden ve plazma hücrelerinden kuruludur (97). Kazanılmış immünite, iki şekilde sağlanır. *Aktif immünizasyon*, hastalık etkeninin doğrudan alınması (doğal enfeksiyon) veya bu etkenin zararsız hale getirilmesinden sonra



konağa verilmesiyle (aşılama) kazanılır. *Pasif immünizasyon* ise anneden bebeğe geçen bağışıklık dışında, belirli bir antijene karşı hiperimmün kılınmış başka konaktan (at) alınan immün serumun veya Ig'in korunmak istenilen kişiye verilmesiyle kazandırılır (98).

Daha önce karşılaşmamış bir patojenle ilk kez karşılaşıldığında, kazanılmış bağışıklığın gelişimine kadar geçen ortalama 5 gün içerisinde, vücudun patojen ile mücadelesinde doğal bağışıklık önemlidir. Kazanılmış immün sistemin, antijen tanıma kapasitesi çok geniş bir reseptör repertuarıyla spesifisiteyi sağlarken, doğal immün sistem patojenlerde ortak olan bir dizi moleküler yapıyı tanıyabilmekte ve böylece konağa ait olan ve olmayanı belirleyerek ilk savunmayı başlatabilmektedir (96).

#### 2.4.1. İmmün Yanıt ve İnflamasyonda Sitokinlerin Rolü

Sitokinler; doğal ve spesifik immün yanıt oluşumunda, immün sistem hücrelerinin karşılıklı ilişkileri düzenleyen çözünür peptid ve glikoprotein yapısında maddelerdir. Hücreler arası sinyal proteini olan sitokinler, immün ve inflamatuvar yanıt oluşumu, hematopoez ve yara iyileşmesi gibi farklı birçok biyolojik olayın düzenlenmesinde rol alırlar. Değişik uyarılara cevap olarak salınan sitokinlerin, hedef hücrelerin büyüme, farklılaşma, aktivasyon ve doku onarımında önemli biyolojik rolleri vardır (96,99).

İmmün ve inflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılması, uyarılmış lenfositler, monositler ve makrofajlar ile, diğer bazı hücrelerde sentezlenen ve salgılandıkları zaman organizmada sistemik (**endokrin**) ve/veya salgılandıkları hücre çevresindeki hücelere (**parakrin**) veya doğrudan salgılandıkları hücreler üzerine (**otokrin**) etkili sitokinler aracılığı ile olur (98). Bazı dokularda birbirleriyle sinerjistik etkili olabilen sitokinler, başka dokularda antagonist etki de gösterebilmekte ve birbirlerini inhibe edebilmektedirler. Sitokinler, hücrelerin çevresel koşullarına göre farklı etkiler gösterebilmektedir. Bir sitokin değişik tip hücreler tarafından yapılabilir ve değişik tip hücreler üzerine etki gösterebilir, başka sitokinlerin sentezlenmesini uyarabilir yada engelleyebilir. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Birden fazla sitokin aynı etkiyi gösterebilir (100).

Sitokinler, immünolojik, lokal veya sistemik inflamatuvar ve onarıcı konak cevabını düzenleyen ve hücreler arasında sinyal görevi gören biyolojik mediatörlerdir. Bunlar, lenfositler tarafından salgılandıkları zaman lenfokinler, monosit ve makrofajlar tarafından salgılandığında ise monokinler, lökositler tarafından salgılandıkları zaman ise interlökin (IL) olarak adlandırılmaktadır. Kemokin deyimi ise kemotaktik ve sitokin parçalarının birleştirilmesiyle üretilmiş olup bunlar, makrofaj ve monositleri enfeksiyon noktasına çekebilen bir grup sitokindir (98,99).

### **Sitokinlerin sınıflandırılması**

1- Elgert'in aile gruplarına göre sitokinler;

İnterlökinler: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-14, IL-15.

Kemokinler: IL-18, Monosit Kemotaktik Protein-1 (MCP-1).

İnterferonlar: IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ .

Sitotoksik/immün düzenleyici/büyüme faktörleri: TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , TGF- $\beta$ .

Koloni uyarıcı faktörler (Hematopoietik büyüme faktörleri): G-CSF, GM-CSF, M-CSF, IL-3, IL-7.

2- Fonksiyonlarına göre sitokinler;

Doğal immüniteye aracılık edenler: Tip I interferonlar, TNF, IL-1, IL-6, kemokinler.

Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyenler: IL-2, IL-4, TGF- $\beta$ .

Inflamatuvar yanıtı düzenleyenler: IFN- $\gamma$ , lenfotoksin, IL-5, IL-10, IL-12

Hematopoezi uyaranlar: C-Kit ligand (stem cell factor), IL-3, IL-7, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, IL-7, IL-9, IL-11 (101).

### **Sitokinlerin Genel Özellikleri**

**1. İnterlökin-1 (IL-1):** Esas olarak makrofajlar tarafından üretilen ve pek çok hedef hücrenin farklılaşmasını ve özgül ürünler sentezlemesini sağlaması yanında özellikle T hücrelerini farklılaşma ve IL-2 üretme yönünden etkinleştiren bir

proteindir. Endojen pirojen olup santral sinir sistemi üzerine IL-1'in etkisiyle ateş ortaya çıkar. Prostoglandin sentezi gibi inflamatuvar cevapları indükler, lökositlerin endotel hücrelerinde adezyonunu sağlar ve vasküler geçirgenlikte artış sağlayarak PMNL ve makrofajların bölgeye göçüne neden olur (96,98).

**2. İnterlökin-2 (IL-2):** Esas olarak T helper hücreler tarafından sentezlenen ve salınan IL-2 otokrin olarak kendini ve parakrin olarak B hücre, monosit ve NK hücreleri etkiler. T hücrelerinde motilite ve sitotoksik aktiviteyi artırır (102).

**3. İnterlökin-3 (IL-3):** Hematopoetik büyüme faktörü olarak fonksiyon gören IL-3, CD4+ T lenfositlerce salınır. Kemik iliğinde, erken progenitor hücrelerde büyümeyi artırır. Eozinofil fonksiyonlarını uyarır ve monosit sitotoksitesini artırır (99,103).

**4. İnterlökin-4 (IL-4):** Aktive Th hücreler, mast hücreleri ve NK hücrelerden salınan glikoprotein yapısında bir sitokindir. Mast hücreleri ve eosinofillerin büyüme ve fonksiyonlarını arttırarak, Ig E salınımına neden olduğu ve allerjik hastalıklarda rol aldığı bildirilmiştir. Th 2 hücrelerin gelişimini sağlarken, Th1 lenfositlerin gelişimini ve fonksiyonunu inhibe eder. Makrofajlara yaptığı multipl etkiyle MHC klas II proteinlerini arttırarak; IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını inhibe eder ve hücrel immün cevabı da baskılar (103,104).

**5. İnterlökin-5 (IL-5):** B hücre büyüme faktörü olarak tanımlanan IL-5, majör olarak Th 2 hücrelerinden salınan bir sitokindir. Başlıca rolü eozinofil büyüme ve farklılaşması ile matür eozinofillerin aktivasyonudur (103,104).

**6. İnterlökin-6 (IL-6):** Makrofajlar ve T helper lenfositler tarafından üretilirler ve B hücrelerinin farklılaşmasını uyarır, hipotalamusu etkileyerek ateş yapar ve karaciğer tarafından akut faz proteinlerin üretilmesini tetikler (96,98).

**7. İnterlökin-7 (IL-7):** Timus, dalak ve kemik iliği stromal hücrelerinden salınan, B ve T hücre prekürsörlerinin gelişmesi için önemli uyarılar yapan, glikoprotein yapısında bir sitokindir. Monositlerden sitokin salınımını indükleyerek makrofajların sitotoksik aktivitesini arttırır (99,103).

**8. İnterlökin-8 (IL-8):** Temel etkisi nötrofil aktivasyonu ve kemotaksis üzerinedir. Sinovyal doku makrofajları ve fibroblastlar tarafından üretilir (104).

**9. İnterlökin-9 (IL-9):** Aktif T hücrelerden salınan mast hücreleri ve bazı T hücrelerinde büyümeyi destekleyici etkisi olan polipeptid yapıda bir sitokindir (99,103).

**10. İnterlökin-10 (IL-10):** Sitokin sentez inhibitör faktörü olarak da bilinen, protein yapıda, aktif Th 2, B hücreler, monosit ve keratinositlerden salınır. Sıklıkla TGF- $\beta$  ile uyumlu çalışarak aktif T hücrelerinden salınan sitokinleri inhibe ederler. Antiinflamatuvar sitokin olarak da bilinir (103).

**11. İnterlökin-11 (IL-11):** Kan hücreleri ve lenfoid hücrelerin büyüme ve değişimlerini etkileyen bir sitokindir. Kemik iliğinin stromal hücrelerinden salınır. Direk olarak megakaryositleri uyarır ve megakaryopoezde önemli rol oynar (102,103).

**12. İnterlökin-12 (IL-12):** Aktif B hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler ve hatta astrositlerde yapılan bir sitokindir. NK hücrelerinin en kuvvetli uyarıcısıdır. Fonksiyonel T hücre ayırılmasının güçlü uyarıcısıdır. Hücrel immün cevabı ve Th 1 reaksiyonları artırır. IL-12, intrasellüler patojenlerin eliminasyonunda hücrel immün cevapta merkezi role sahiptir (99).

**13. İnterlökin-13 (IL-13):** Th 2 hücrelerden ve bazı epitelyal hücrelerden salınan ve çok sayıda sitokinin üretimi üzerine inhibitör etkili olan sitokindir. Proanjio etkileri olduğu, endotelial kemotaksisi uyardığı, IL-4'e benzer yapı ve fonksiyonlara sahip olduğu bulunmuştur (99,103).

**14. İnterlökin-15 (IL-15):** IL-2'ye benzer aktivitesi vardır. Çevresel uyarı ve enfeksiyöz ajanlara bağlı olarak makrofajlar ve diğer hücreler tarafından salınarak, transkripsiyon, aktivasyon ve uyarımda rol alan intrasellüler moleküllerin aktivasyonu ve salınımı ile monosit, makrofaj, NK hücreler, T ve B lenfositlerin ayırılması ve büyümesi için önemlidir. Koruyucu immün cevapta ve değişik immünoinflamatuvar bozukluklarda merkezi role sahiptir (99,103,106).

**15. İnterlökin-16 (IL-16):** CD8 T hücrelerinden salınır ve eozinofiller için kemoatraktan role sahiptir. Mikst lenfosit reaksiyonu ve CD4+ hücrelerden IL-2 salınımını azaltarak T hücre anerjisinde rol alabileceği düşünülmektedir (99,103).

**16. İnterlökin-17 (IL-17):** Aktif memory T hücrelerinden salınan homodimerik yapıda bir sitokindir. Nötrofil prekürsörlerinin büyüme ve farklılaşması ile T hücre proliferasyonunu sağladığı bildirilmiştir (99,103).

**17. İnterlökin-18 (IL-18):** Makrofaj ve keratinositlerden salınan, yapısal olarak IL-1'e benzeyen, makrofajlardan IFN- $\gamma$  ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin salınımını arttıran bir sitokindir. Th1 farklılaşmasını sağlayarak IL-12 ile birlikte NK, T ve B hücrelerinden salgılanan IFN- $\gamma$  ve GM-CSF salınımını arttırdığı bilinmektedir (103).

**18. Tümör Nekroz Faktör (TNF):** TNF, inflamasyonda rol alan temel sitokinlerden birisidir. TNF'ün aynı resptöre bağlanan iki farklı formu vardır: TNF- $\alpha$  (kaşektin) ve TNF- $\beta$  (lenfotoksin). İki arasındaki en önemli fark kaynaklandıkları hücrelerin farklı olmasıdır. TNF- $\alpha$  monosit/makrofaj ve Kupffer hücrelerinden, TNF- $\beta$  ise aktive T lenfositlerinde yapılır. Bu ikisinin genleri 6. Kromozomun kısa kolunda bulunur.

TNF- $\alpha$  direk antiviral etki, immünomodülatör aktivite, virüsle enfekte hücelere sitotoksik etki ile apoptoz ve multipl biyolojik fonksiyonlarla birlikte inflamasyon ve hücrel immün cevapta önemli role sahip olduğu bilinmektedir (10,103,107).

TNF- $\alpha$ 'nın genel sistemik etkileri:

a.TNF- $\alpha$ , endojen pirojendir. Hipotalamik etkiyle ateş oluşturur. Bu ateşin nedeni, hipotalamik hücrelerin aşırı prostoglandin sentezlemesidir.

b.TNF- $\alpha$ , mononükleer fagosit ve vasküler endotelin IL-1 ve IL-6, hepatositlerin ise akut faz proteinlerini sentezlemesini uyarır. Akut faz proteinleri, organizmada bir doku hasarı ve inflamasyon olduğu zaman plazma düzeyleri değişiklik gösteren proteinlerdir. Bunlardan bazılarının konsantrasyonu artarken (C-reaktif protein, serum amiloid-A, alfa-2 makroglobulin, fibrinojen, seruloplazmin, ferritin, kompleman komponent-3 gibi) bazılarınınki düşer (albumin, transferrin gibi).

c.TNF- $\alpha$ , damar endotelinin prokoagulan ve antikoagulan fonksiyonlarında değişiklikler yaparak pıhtılaşma sistemini aktive eder.

d.-TNF- $\alpha$ , uzun süre verildiğinde kemik iliğinde kök hücre bölünmesini baskılayarak lenfopeni, immün yetmezlik ve kaşeksi gelişmesine yol açabilir.

TNF- $\alpha$ , osteoblastik alkalen fosfataz aktivitesini, osteoklastların kemik rezorbsiyonunu, kondrositlerin kartilaj turnover'ını, fibroblast ve sinoviyal hücrelerin proliferasyonunu uyarır. Aşırı miktarda TNF- $\alpha$  salınımı dolaşım yetmezliği ve dissemine intravasküler koagülasyon ile ölüme sebep olabilir (107).

**19. Transformik Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ):** Başlangıçta fibroblastlar için büyüme faktörü olarak bulunan TGF- $\beta$ ; antiproliferatif aktivite, hematopoez ve immünyetede negatif düzenleyici etkilere sahip bir sitokindir. Aktive makrofajlar ve T lenfositleri de içeren pek çok hücre tarafından salınımı yapılmaktadır. Son zamanlarda Th3 olarak tanımlanan Th hücrelerinin alt tipi tarafından salındığı bildirilen ve major olarak immünyosüpresif etkileri olan TGF- $\beta$ , 1, 2 ve 3 olmak üzere en az üç tane alt tipi ve beş tane hücre yüzey reseptörünün bulunduğu saptanmasına rağmen immün sistemde en fazla salınan formu TGF- $\beta$  1' dir (99,103,108).

Primer olarak büyüme ve farklılaşmanın mediyatörüdür. Mezenkimal dokuların normal embriyonik gelişimin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarda doku yaralanmasına ve tamirine katkıda bulunur. İnflamasyonun düzenlenmesinde muhtemelen doza bağımlı olarak bifonksiyonel bir moleküldür. Düşük düzeylerde, *invivo* ve *invitro* olarak anjiogenezisi uyarırken, yüksek düzeylerde *invitro* olarak endotelial proliferasyonu inhibe etmektedir. Makrofajlar, endotelial hücreler, T ve B lenfositlerde antiproliferatif aktiviteye sahiptir. IL-2 reseptörleri ve klas II MHC proteinlerinin hücrel ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir. Nötrofil ve monositler için kemotraktandır ve monositlerde adezyon proteinlerinin ekspresyonunu artırır. Büyüme ve karsinogenez sürecinde epitelial hücrelerin büyüme ve farklılaşmasında da rolü olduğu sanılmaktadır (99,103,108).

**20. Platelet Deriveted Growth Factor (PDGF):** Fibroblastlar ve düz kas hücreleri üzerine kemotaktik etkili olan PDGF, makrofajlar, endotelial hücreler ve trombositler tarafından üretilmektedir. Yapısal olarak TGF- $\beta$  ile benzerlik gösterir. Sistemik sklerozda fibrotik dönemde TGF- $\beta$  ile birlikte rol alır (104).

**21. Vasculer endothelial growth factor (VEGF):** Spesifik bir endotelial mitojendir. Vasküler permeabiliteyi artırarak inflamatuvar alana lökositlerin migrasyonunu sağlar (109).

**22. İnterferon (IFN):** Önemli immünoregülatör ve antiproliferatif bir sitokindir. Aktif Th hücreleri, CD8+ sitotoksik T hücreleri ve NK hücrelerinden salgılanır. Antijenle uyarılmış hücrelerce, IL-2 ile koordineli bir şekilde üretilmektedir. Temel etkisi endotelial hücreler, fibroblastlar, makrofajlar ve kondrositler gibi farklı hücrelerde, klas I ve klas II MHC moleküllerin ekspresyonunu düzenlemektedir. Hedef hücrelerde metabolik aktiviteyi ve spesifik gen ekspresyonunu artırarak etki ettiği bilinmektedir. IFN'lar IL-2'nin salınımını değişik uyarılarla inhibe ederken, NK hücre aktivitesini arttırlar (99,103).

Başlıca iki tip IFN tanımlanmıştır:

- Tip 1 IFN:  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\Omega$  gibi antiproliferatif ve antiviral etkili olanlar.
- Tip 2 IFN:  $\gamma$  ise immünmodülatör bir sitokindir.

Tip 1 IFN'ların en güçlü uyarıcısı viral enfeksiyonlardır. Primer olarak lökositlerden salınan IFN- $\alpha$ , monosit/makrofajların aktivasyonu, hücre yüzeylerinde antijen ekspresyonu, NK hücre aktivitesinin ve CTL'in aktivitesini arttırdığı in vitro olarak gösterilmiştir. Fibroblast ve diğer nonlökositik hücreler primer olarak IFN- $\beta$  ekspresse eder. Az miktarda IFN- $\beta$  ise lökositlerden salınmaktadır. IFN- $\Omega$  ise yalnız bir fonksiyonel gene sahiptir ve primer olarak lökositler tarafından salınırlar (99,103).

Klinik olarak tip 1 IFN'lar, hematolojik hastalıklar, akut/kronik hepatit B ve C enfeksiyonlarında ve multipl sklerozda tedavide yalnız başına veya kombine olarak kullanılmaktadır (109).

Tip 2 IFN veya immüne IFN olarak da adlandırılan IFN- $\gamma$ , tip 1'e benzemez. Polipeptidlerin homodimer yapısındadır. T hücreler, B hücreler, NK hücreler, makrofajlar ve diğer hücrelerin farklılaşmasını ve aktivasyonunu kapsayan inflamatuvar ve immün cevabın bütün fazlarında rol aldığı bilinmektedir. Genelde, Th1 lenfositlerden salınmasına rağmen CD8+ hücreler, NK hücreler ve bazı Th0 hücrelerden de salınabilmektedir. IFN- $\gamma$  makrofajların güçlü aktivatörü olmasına

rağmen nötrofilleri de aktive edebilir ve NK hücrelerin sitolitik aktivitesini de uyarabilir. Th1 hücrelerin aktivitesini arttırırken Th2 hücrelerin aktivitesini inhibe eder (99,103).

Sitokinlerin total düzeyleri yalnızca baskın olan cevabı yansıtır. Ayrıca farklı hücrelerden salınan aynı sitokinlerin, yalnızca bir hücre tipi ile ilişkilendirilmesi oldukça zor görünmektedir. Farklı zamanlarda oluşan cevaplar da farklı olabilmektedir. Özellikle HBV, HCV gibi kronik enfeksiyonlarda akut ve kronik fazlarda da sitokin düzeyleri farklılık göstermektedir.

Sitokinler başlıca etkili olduğu hücreler arasında birikirler ve oldukça kısa ömürlüdürler. Hepatotropik virüslere bağlı olan sitokinlerin araştırılması çoğunlukla periferik kan mononükleer hücrelerinde veya serumda yapılmaktadır. Bu da sitokinlerin gerçek düzeylerini yansıtmayabilir. Protein düzeyleri ve mRNA'nın ölçümü, sitokin fonksiyonunu yansıtmayabilir veya yanlış gösterebilir.

Ayrıca, sitokin ölçümlerinde kullanılan bazı kitlerin henüz standardize edilmemiş olması da sonuçların yorum ve karşılaştırılmasında sorunlara yol açabiliyor (98).



### 3. MATERYAL-METOD

Çalışma için SDÜ Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 14.01.2009 tarih ve 01/04 sayılı kararla onay alınmıştır.

#### Çalışma Dizaynı

Çalışmaya Eylül 2007–Haziran 2009 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği tarafından takip edilen 25 KHB ve 25 KHC hastası alındı. KHB ve KHC tanısı alan hastalara karaciğer biyopsisi yapıldı. Alınan biyopsi örnekleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji laboratuvarında incelendi. Kontrol grubu olarak da polklinikimize farklı sebeplerle başvuran hastalar arasından yapılan tetkiklerde HBV ve HCV için serolojisi negatif, karaciğer enzimleri normal sınırlar içinde, yaş ve cinsiyet özelliği çalışma grubuna benzer 30 sağlıklı birey seçildi. Çalışmaya dahil edilen hastalarda, daha önce tedavi almamış olmaları ve çalışmaya katılmayı kabul etmeleri şartı arandı. Çalışmaya katılmayı kabul etmeyenler ile daha önceden interferon ve/veya antiviral tedavi almış olan hastalar çalışma dışında bırakıldı.

Hastalardan ve kontrol grubundan 10 cc venöz kan, biyokimya tüplerine alındıktan sonra, 10 dakika boyunca 4000 devirde santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra eppendorf tüpüne konulan serumlar çalışma gününe kadar -80 derecede derin dondurucuda saklandı. Çalışma günü olan 15-17.07.2009 tarihinde bu serumlar oda sıcaklığına getirilip eritildikten sonra ELISA yöntemi ile TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-18, TGF- $\beta$  düzeyleri belirlendi.

Bu çalışmada aşağıda bulunan malzemeler kullanılmıştır:

- 1-Hasta serumları
- 2-Kontrol serumları
- 3-10 ml'lik (mililitre) steril enjektörler
- 4-8 ml'lik biyokimya tüpleri
- 5-2 ml'lik eppendorf tüpleri
- 6-Vortex cihazı ( Wise Mix VM-10)

7-300 µl'lik (mikrolitre) pipetör

8-100 µl'lik pipetör

9-Distile su

10-Okuyucu (ELX800 iu)

11-Otomatik yıkayıcı (ELX50)

12-Yazıcı (Panasonic K-X P1110)

13-Sitokin kitleri

13.a. Human TNF- $\alpha$  ELISA-BIOSOURCE-Kit içeriği

-96 kuyucuk içeren monoklonal anti TNF- $\alpha$  antikorları ile kaplı plak

-0,75 ml HRP (Horseradish peroksidaz) konjugat solüsyonu, 1 şişe

-Liyofilize kontrol 1, 2 birer şişe

- Liyofilize kalibratör 0'dan 2 şişe

- Liyofilize kalibratör 1-5 birer şişe

-6 ml konjugat tampon solüsyonu, 1 şişe

-6 ml inkübasyon tampon solüsyonu, 1 şişe

-10 ml konsantre yıkama solüsyonu, 1 şişe

-1 ml kromojen TMB (Tetrametilbenzidin dimetilformamit) konsantrat, 1 şişe

-21 ml substrat tampon solüsyonu, 3 şişe

-6 ml stop solüsyonu, 1 şişe

-Folyo

13.b. Human IFN- $\gamma$  ELISA-BIOSOURCE-Kit içeriği

-96 kuyucuk içeren monoklonal anti IFN- $\gamma$  antikorları ile kaplı plak

- 6 ml HRP konjugat solüsyon, 1 şişe
- Liyofilize kalibratör 0, 3 şişe
- Liyofilize kalibratör 1-5, birer şişe
- 10 ml yıkama solüsyonu konsantre, 1 şişe
- Liyofilize kontrol 1-2, birer şişe
- 1 ml kromojen TMB konsantrat 1 ml, 1 şişe
- 21 ml Substrat tampon solüsyonu, 3 şişe
- 6 ml stop solüsyonu, 1 şişe
- Folyo

#### 13.c. Human IL-10 ELISA-BIOSOURCE-Kit içeriği

- 96 kuyucuk içeren monoklonal IL-10 antikoları ile kaplı plak
- 6 ml HRP konjugat solüsyonu, 1 şişe
- Liyofilize kalibratör 0-5, birer şişe
- Liyofilize dilüent, 3 şişe
- 11 ml inkübasyon tampon solüsyonu, 1 şişe
- 10 ml yıkama solüsyonu konsantre, 1 şişe
- Liyofilize kontrol 1-2, birer şişe
- 1 ml kromojen TMB konsantrat, 1 şişe
- 21 ml substrat tampon solüsyonu, 3 şişe
- 6 ml stop solüsyonu, 1 şişe
- Folyo

#### 13.d. Human IL-18 ELISA-BenderMedSystems-Kit içeriği

- 96 kuyucuk içeren monoklonal anti-IL-18 antikoları ile kaplı plak
- 100 µl biotin-konjugat, 1 şişe

- 150 µl streptavidin-HRP, 1 şişe
- Liyofilize IL-18 standart, 2 şişe
- Liyofilize IL-18 kontrol serumu, 2 şişe
- 12 µl dilüsyon solüsyonu, 1 şişe
- 5 ml konsantre çalışma tampon solüsyonu, 1 şişe
- 50 ml konsantre yıkama solüsyonu, 1 şişe
- 15 ml substrat solüsyonu, 1 şişe
- 12 ml stop solüsyonu, 1 şişe
- Folyo

#### 13.e. Human TGF-β 1 ELISA-ASSAYPRO-Kit içeriği

-96 kuyucuk içeren monoklonal anti TGF-β antikorları ile kaplı plak

- 2 ng liyofilize TGF-β 1 standart
- 80 µl biotinylated TGF-β 1 antikor konsantre
- 80 µl streptavidin-peroksidaz konjugat solüsyonu
- 30 ml mix dilüent konsantre
- 30 ml yıkama solüsyonu konsantre
- 8 ml kromojen substrat solüsyonu
- 12 ml stop solüsyonu
- Folyo

### **METOD**

Serum sitokin düzeyleri kit prosedürleri uyarınca ELISA yöntemiyle ölçüldü. Human TNF-α (ELISA-BIOSOURCE-Kitleri), Human IL-10 (ELISA-BIOSOURCE-Kitleri), Human IL-18 (ELISA-BenderMedSystems-Kitleri)'in serum düzeyleri pg/ml, Human IFN-γ (ELISA-BIOSOURCE-Kitleri)'in serum düzeyi IU/ml ve Human TGF-β 1 (ELISA-ASSAYPRO-Kitleri)'in serum düzeyi ng/ml

olarak hastalar ve kontrol grubu için ayrı ayrı ölçüldü. IFN- $\gamma$  1 İÜ =50 pg/ml, TGF- $\beta$  için 1ng/ml=1000 pg/ml olacak şekilde hesaplandı.

### **1. KHB, KHC ve kontrol grubunun serumlarında ELISA yöntemi ile TNF- $\alpha$ düzeyinin belirlenmesi**

- Kit içerisindeki maddeler kullanılmadan önce oda ısısında 30 dakika bekletildi.
- 96 kuyucuk içeren plak üzerinde her bir kuyucuğa 50  $\mu$ l inkübasyon buffer konuldu.
- Her bir kalibratörden (2 ml distile su ile sulandırıldı), kontrollerden (2 ml distile su ile sulandırıldı) ve serum örneklerinden 200  $\mu$ l uygun kuyucuklara konuldu.
- Plak üstü kısmı folyo ile kapatılarak 2 saat oda ısısında inkübe edildi.
- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 400  $\mu$ l yıkama solüsyonu (1/200 oranında distile su ile sulandırıldı) kullanılarak üçer defa yıkandı.
- Her bir kuyucuğa 100  $\mu$ l 0 kalibratöründen eklendi.
- Her bir kuyucuğa 50  $\mu$ l HRP konjugattan (600  $\mu$ l konsantre konjugat ile 6000  $\mu$ l konjugat tamponun karışımı ile hazırlandı) eklendi.
- Plak üstü kısmı folyo ile kapatılarak 2 saat oda ısısında inkübe edildi.
- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 400  $\mu$ l yıkama solüsyonu kullanılarak üçer defa yıkandı.
- Kromojen TMB solüsyonundan substrat tampon şişesine 0,2 ml eklenerek elde edilen revelation solüsyonundan 200  $\mu$ l yıkamayı takiben 15 dakika içinde her bir kuyucuğa eklendi.
- 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta inkübe edildi.
- Her bir kuyucuğa 50  $\mu$ l stop solüsyonu eklendi.
- 3 saat içerisinde ELX800 iu okuyucu kullanılarak 450 nanometredeki her bir kuyucuğun absorbans değeri saptandı ve pg/ml cinsinden hesaplandı.

## **2. KHB, KHC ve kontrol grubunun serumlarında ELISA yöntemi ile INF- $\gamma$ düzeyinin belirlenmesi**

- Kit içerisindeki maddeler kullanılmadan önce oda ısısında 30 dakika bekletildi.
- Her bir kalibratörden (0,5 ml distile su ile sulandırıldı), kontrollerden (0,5 ml distile su ile sulandırıldı) ve serum örneklerinden 50  $\mu$ l uygun kuyucuklara konuldu.
- Her bir kuyucuğa 50  $\mu$ l HRP konjugattan eklendi.
- Plak üstü kısmı folyo ile kapatılarak 2 saat oda ısısında inkübe edildi.
- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 400  $\mu$ l yıkama solüsyonu (1/200 oranında distile su ile sulandırıldı) kullanılarak üçer defa yıkandı.
- Kromojen TMB solüsyonundan substrat tampon şişesine 0,2 ml eklenerek elde edilen revelation solüsyonundan 200  $\mu$ l yıkamayı takiben 15 dakika içinde her bir kuyucuğa eklendi.
- 15 dakika oda ısısında ve karanlıkta inkübe edildi.
- Her bir kuyucuğa 50  $\mu$ l stop solüsyonu eklendi.
- 3 saat içerisinde ELX800 iu okuyucu kullanılarak 450 nanometredeki her bir kuyucuğun absorbans değeri saptandı ve pg/ml cinsinden hesaplandı.

## **3. KHB, KHC ve kontrol grubunun serumlarında ELISA yöntemi ile IL-10 düzeyinin belirlenmesi**

- Kit içerisindeki maddeler kullanılmadan önce oda ısısında 30 dakika bekletildi.
- 96 kuyucuk içeren plak üzerinde her bir kuyucuğa 100  $\mu$ l inkübasyon buffer konuldu.
- Her bir kalibratörden (1 ml distile su ile sulandırıldı), kontrollerden (1 ml distile su ile sulandırıldı) ve serum örneklerinden 100  $\mu$ l uygun kuyucuklara konuldu.
- Plak üstü kısmı folyo ile kapatılarak 2 saat oda ısısında inkübe edildi.

- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 400 µl yıkama solüsyonu (1/200 oranında distile su ile sulandırıldı) kullanılarak üçer defa yıkandı.
- Tüm kuyucuklara 100 µl dilüent (distile su ile sulandırıldı) kondu ve sonra 50 µl HRP konjugat eklendi.
- Plak üstü kısmı folyo ile kapatılarak 2 saat oda ısısında inkübe edildi.
- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 400 µl yıkama solüsyonu kullanılarak üçer defa yıkandı.
- Kromojen TMB solüsyonundan substrat tampon şişesine 0,2 ml eklenerek elde edilen revelation solüsyonundan 200 µl yıkamayı takiben 15 dakika içinde her bir kuyucuğa eklendi.
- 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta inkübe edildi.
- Her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi.
- 3 saat içerisinde ELX800 iu okuyucu kullanılarak 450 nanometredeki her bir kuyucuğun absorbans değeri saptandı ve pg/ml cinsinden hesaplandı.

#### **4. KHB, KHC ve kontrol grubunun serumlarında ELISA yöntemi ile IL-18 düzeyinin belirlenmesi**

- Kit içerisindeki maddeler kullanılmadan önce oda ısısında 30 dakika bekletildi.
- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 400 µl yıkama solüsyonu (1/20 oranında distile su ile sulandırıldı) kullanılarak ikişer defa yıkandı.
- Yıkandıktan sonra kurutma kağıdına vurularak yıkama solüsyon artıkları uzaklaştırıldı.
- Kuyucuklar kurumadan dilüe edilen standartlardan, 100'er µl çift kuyucuk olacak şekilde kondu.
- IL-18 standart dilüsyonları aşağıdaki şekilde yapıldı:

Liyofilize IL-18 standart distile su ile sulandırılarak 10.000 pg/ml konsantrasyonunda standart solüsyon hazırlandı. Daha sonra 7 adet plastik tüplere 225 µl dilüsyon solüsyonu konuldu ve 10.000 pg/ml konsantre standart solüsyondan

seri dilüsyonlarla 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156, 78 pg/ml IL-18 içeren standartlar hazırlanmış oldu (Tablo 2).

**Tablo 2.** IL-18 seri dilüsyonlarının hazırlanması

<b>Standart konsantrasyon</b>	<b>IL-18(pg/ml)</b>	<b>Dilüsyon solüsyonu</b>
Standart 1=5000 pg/ml	225 µl standart solüsyon	10.000 pg/ml 225 µl
Standart 2=2500 pg/ml	225 µl standart solüsyon	5000 pg/ml 225 µl
Standart 3=1250 pg/ml	225 µl standart solüsyon	2500 pg/ml 225 µl
Standart 4=625 pg/ml	225 µl standart solüsyon	1250 pg/ml 225 µl
Standart 5=313 pg/ml	225 µl standart solüsyon	625 pg/ml 225 µl
Standart 6=156 pg/ml	225 µl standart solüsyon	313 pg/ml 225 µl
Standart 7=78 pg/ml	225 µl standart solüsyon	156 pg/ml 225 µl

- 100 µl dilüsyon solüsyonu blank kuyucuğuna eklendi.
- Dilüsyon solüsyonundan 50 µl örnek kuyucuklarına eklendi.
- Her bir serum örneğinden 50 µl örnek kuyucuklarına eklendi.
- Biotin konjugat hazırlandı (0,06 ml biotin konjugat 5,94 çalışma tamponu ile karıştırıldı=1/100 dilüsyon) ve 50 µl tüm kuyucuklara eklenildi.
- Plak üstü kısmı folyo ile kapatılarak 2 saat oda ısısında inkübe edildi.
- Streptavidin-HRP hazırlandı (0,12 ml streptavidin-HRP 11,88 çalışma tamponu ile karıştırıldı=1/100 dilüsyon). Çalışma tamponu 1/ 20 oranında distile su ile sulandırıldı.
- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 400 µl yıkama solüsyonu kullanılarak üçer defa yıkandı.
- Streptavidin-HRP 100 µl tüm kuyucuklara eklenildi.
- Plak üstü kısmı folyo ile kapatılarak 1 saat oda ısısında inkübe edildi.



- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 400 µl yıkama solüsyonu kullanılarak üçer defa yıkandı.
- 100 µl TMB substrat solüsyonu her bir kuyucuğa eklenildi.
- Plak üstü kısmı folyo ile kapatılarak 10 dakikada oda ısısında ve karanlıkta inkübe edildi.
- Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu hızlı bir şekilde eklenildi.
- Stop solüsyonu eklendikten hemen sonra ELX808 iu okuyucu kullanılarak 450 nanometredeki her bir kuyucuğun absorbans değeri saptandı ve pg/ml cinsinden hesaplandı.

#### **5.KHB, KHC ve kontrol grubunun serumlarında ELISA yöntemi ile TGF-β 1 düzeyinin belirlenmesi**

- Kit içerisindeki maddeler kullanılmadan önce oda ısısında 30 dakika bekletildi.
- 96 kuyucuk içeren plak üzerinde her bir kuyucuğa 50 µl standart solüsyon ve serum örneklerinden konuldu.
- Plak üstü kısmı folyo ile kapatılarak 2 saat oda ısısında inkübe edildi.
- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 200 µl yıkama solüsyonu (1/20 oranında distile su ile sulandırıldı) kullanılarak beşer defa yıkandı. Sıvı artıklarını uzaklaştırmak için her defasında plak kurutma kağıdına 4-5 kez vuruldu.
- Biotinylated TGF-β 1 antikor mix dilüentle 1/100 oranında sulandırıldıktan sonra her bir kuyucuğa 50 µl eklendi ve 2 saat oda ısısında inkübe edildi.
- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak beşer defa yıkandı. Sıvı artıklarını uzaklaştırmak için her defasında plak kurutma kağıdına 4-5 kez vuruldu.
- Streptavidin peroxidaz konjugat mix dilüentle 1/100 oranında sulandırıldıktan sonra her bir kuyucuğa 50 µl eklendi ve oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.

- Otomatik yıkayıcı (ELX50) ile her kuyucuk 200 µl yıkama solüsyonu kullanılarak beşer defa yıkandı. Sıvı artıklarını uzaklaştırmak için her defasında plak kurutma kağıdına 4-5 kez vuruldu.
- Kromojen substrattan 50 µl yaklaşık 15 dakika oda ısısında inkübe edildi. Plağa kibarca vurularak tamamen karıştırıldığından emin olundu. Oluşan hava kabarcıkları pipet ucuyla patlatıldı.
- Her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu konuldu. Rengin maviden sarıya dönmesi beklendi.
- Stop solüsyonu eklendikten hemen sonra ELX800 iu okuyucu kullanılarak 450 nanometredeki her bir kuyucuğun absorbans değeri saptandı ve ng/ml cinsinden hesaplandı ve bu değerler pg/ml ye çevrildi.

#### TGF-β 1 standart solüsyonunun hazırlanması

Konsantre mix dilüent (10X) distile su ile sulandırıldı. TGF-β 1 standart 1ml mix dilüent solüsyonu ile sulandırıldı ve 2ng/ml konsantrasyon elde edildi. 2 ng/ml standart solüsyonundan seri dilüsyonlarla tablo 3’de görüldüğü gibi 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625 ve 0,031 ng/ml TGF-β 1 içeren standartlar hazırlanmış oldu. Mix dilüent solüsyonu standart 0 (0 ng/ml) olarak kullanıldı.

**Tablo 3.** TGF-β 1 standart solüsyonunun hazırlanması

Standart	Dilüsyon	TGF-β1(ng/ml)
S1	Standart (2 ng/ml)	2,0
S2	1 kısım S1+ 1 kısım mix dilüent	1,0
S3	1 kısım S2+ 1 kısım mix dilüent	0,5
S4	1 kısım S3+ 1 kısım mix dilüent	0,250
S5	1 kısım S4+ 1 kısım mix dilüent	0,125
S6	1 kısım S5+ 1 kısım mix dilüent	0,063
S7	1 kısım S6+ 1 kısım mix dilüent	0,031
S8	Mix dilüent	0,000

#### Histopatolojik Değerlendirme

Hastalara, kanlarının alındığı gün perkütan yolla 17-G biyopsi iğnesi kullanılarak karaciğer ince iğne biyopsisi yapıldı. 25 KHB ve 25 KHC hastasından

alınan biyopsi örnekleri %10'luk formaldehit tamponlu solüsyon içinde fikse edildikten sonra parafin bloklar içine yerleştirildi ve 5 µm kalınlığında örnekler dilimlendi. Örnekler nekroinflamatuvar aktivitenin değerlendirilmesi için; hematoksilin eozin boyasıyla boyandı. Fibrozis ve yapısal değişikliklerin değerlendirilmesi için Masson trichrom ve Sweet's retikülin boyasıyla boyandı. Tüm örnekler aynı patolog tarafından değerlendirildi. Karaciğer biyopsi örneklerindeki fibrozis ve nekroinflamatuvar aktivite Ishak skorlama sistemine göre belirlendi.

### **İstatistik**

Hasta ve kontrol gruplarının TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-18 ve TGF- $\beta$  serum düzeylerinin karşılaştırılmaları SPSS 15.0 paket programında Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanılarak yapıldı. Sitokinlerin birbirleri ve Ishak skoru ve fibrozis ile arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde spearman bağlantı analizi kullanıldı. Testler sonucu elde edilen p değerleri 0,05 den küçük ise anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR ve SONUÇLAR

Hastalar, hepatit B grubunda 19 erkek (%76), 6 kadın (%24), hepatit C grubunda ise 13 erkek (%52), 12 kadından (%48) oluşmaktaydı. Kontrol grubunun 15'i kadın (%50), 15'i erkekti (%50). Hepatit B'de yaş ortalaması  $38,6\pm 13,02$ , hepatit C'de yaş ortalaması  $48,6\pm 13,07$ , kontrol grubunda yaş ortalaması  $37,7\pm 9,81$  olarak tespit edildi.

##### **Histopatolojik Değerlendirme**

Histopatolojik inceleme sonucu; kronik HBV hastalarında, biyopsi materyal uzunluğunun ortalaması  $1,05\pm 0,48$ ; içerdiği portal alan sayısı ortalaması  $8,2\pm 3,13$  şeklinde tespit edildi. Kronik HCV hastalarında ise biyopsi materyal uzunluğu ortalaması  $1,43\pm 0,64$ ; içerdiği portal alan sayısı ortalaması  $10,92\pm 3,87$  olarak tespit edildi.

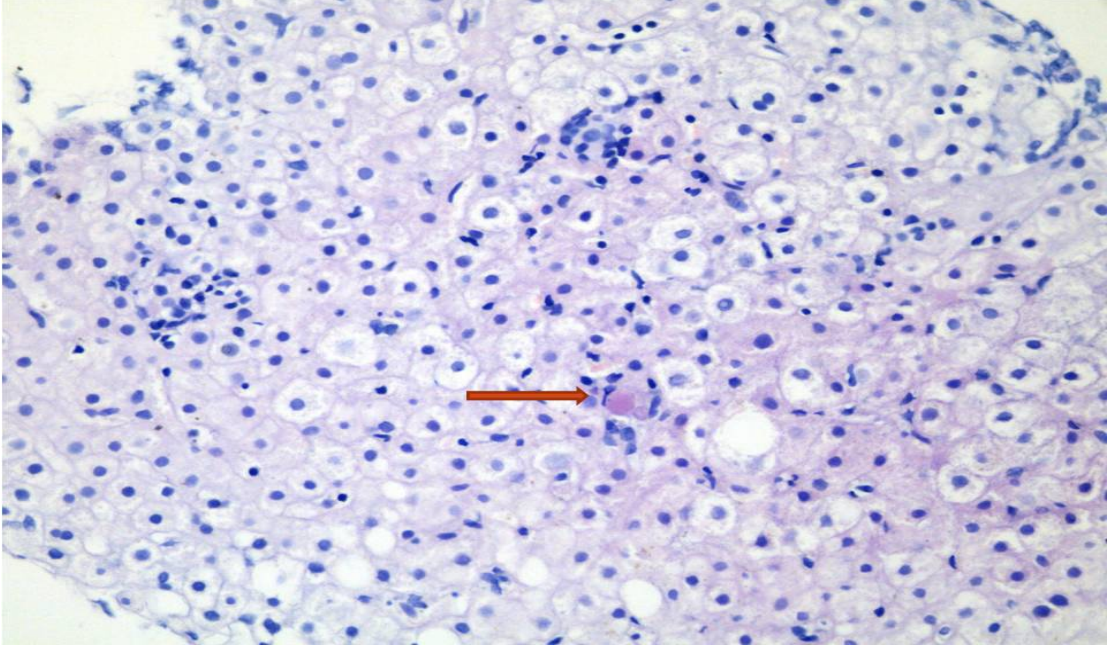
KHB ve KHC grubunun Ishak skorlarının ortalama değerleri alındı. Her iki gruptaki Ishak skor dağılımı tablo 4 ve 5'de sunulmuştur. KHB hastalarında Ishak skoru  $8,72\pm 6,35$ , piecemeal nekroz  $1,96\pm 1,39$ , konfluent nekroz  $1,32\pm 1,88$ , fokal litik nekroz  $2,08\pm 0,86$ , portal inflamasyon  $1,88\pm 1,01$ , fibrozis  $1,48\pm 2,08$  olarak bulundu. KHC hastalarında Ishak skoru  $10,32\pm 7,73$ , piecemeal nekroz  $2,32\pm 1,54$ , konfluent nekroz  $1,76\pm 2,25$ , fokal litik nekroz  $2,52\pm 1,22$ , portal inflamasyon  $2,48\pm 1,19$ , fibrozis  $1,92\pm 2,44$  olarak bulundu. Hastalara ait histopatolojik değişiklikler resim 1 ile 8 arasında gösterilmiştir.

**Tablo 4.** KHB hastalarında Ishak skor dağılımı

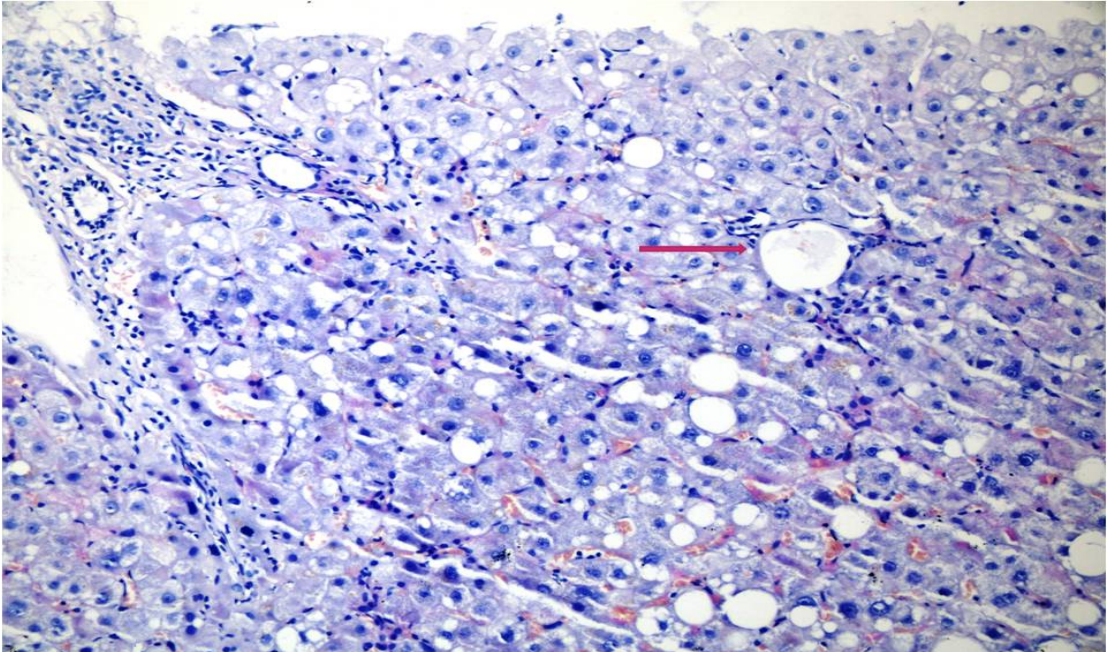
	Modifiye HAİ derecelendirilmesi Nekroinflamatuvar skorlar								Modifiye histolojik aktivite indeksi evrelendirilmesi	
	Piecemeal Nekroz		Konfluent Nekroz		Fokal litik nekroz, apopitozis ve fokal inflamasyon		Portal inflamasyon		Yapısal değişiklikler, fibrozis ve siroz	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0	2	8	13	52	0	0,0	0	0,0	14	56
1	12	48	4	16	6	24	12	48	2	8
2	2	8	3	12	13	52	6	24	3	12
3	3	12	1	4	4	16	5	20	0	0,0
4	6	24	2	8	2	8	2	8	3	12
5	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	4
6	0	0,0	2	8	0	0,0	0	0,0	2	8

**Tablo 5.** KHC hastalarında Ishak skor dağılımı

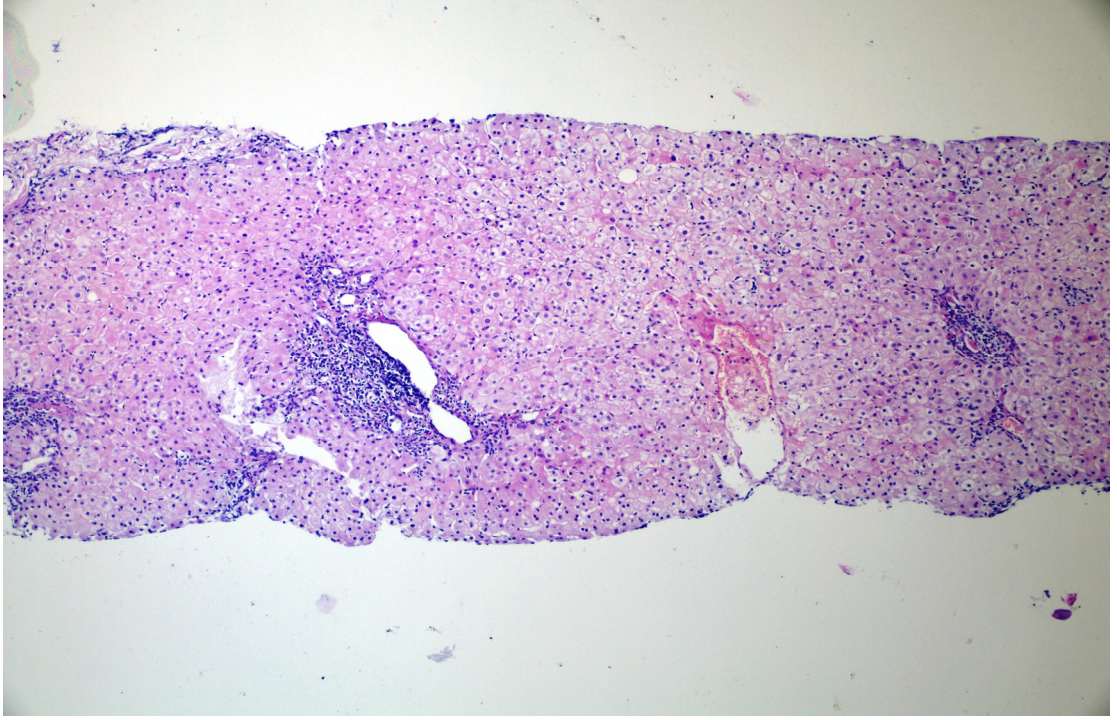
	Modifiye HAİ derecelendirilmesi Nekroinflamatuvar skorlar								Modifiye histolojik aktivite indeksi evrelendirilmesi	
	Piecemeal Nekroz		Konfluent Nekroz		Fokal litik nekroz, apopitozis ve fokal inflamasyon		Portal inflamasyon		Yapısal değişiklikler, fibrozis ve siroz	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
0	3	12	13	52	1	4	1	4	14	56
1	8	32	3	12	4	16	5	20	1	4
2	1	4	0	0,0	9	36	6	24	1	4
3	4	16	2	8	3	12	7	28	1	4
4	9	36	2	8	8	32	6	24	0	0,0
5	0	0,0	3	12	0	0,0	0	0,0	6	24
6	0	0,0	2	8	0	0,0	0	0,0	2	8



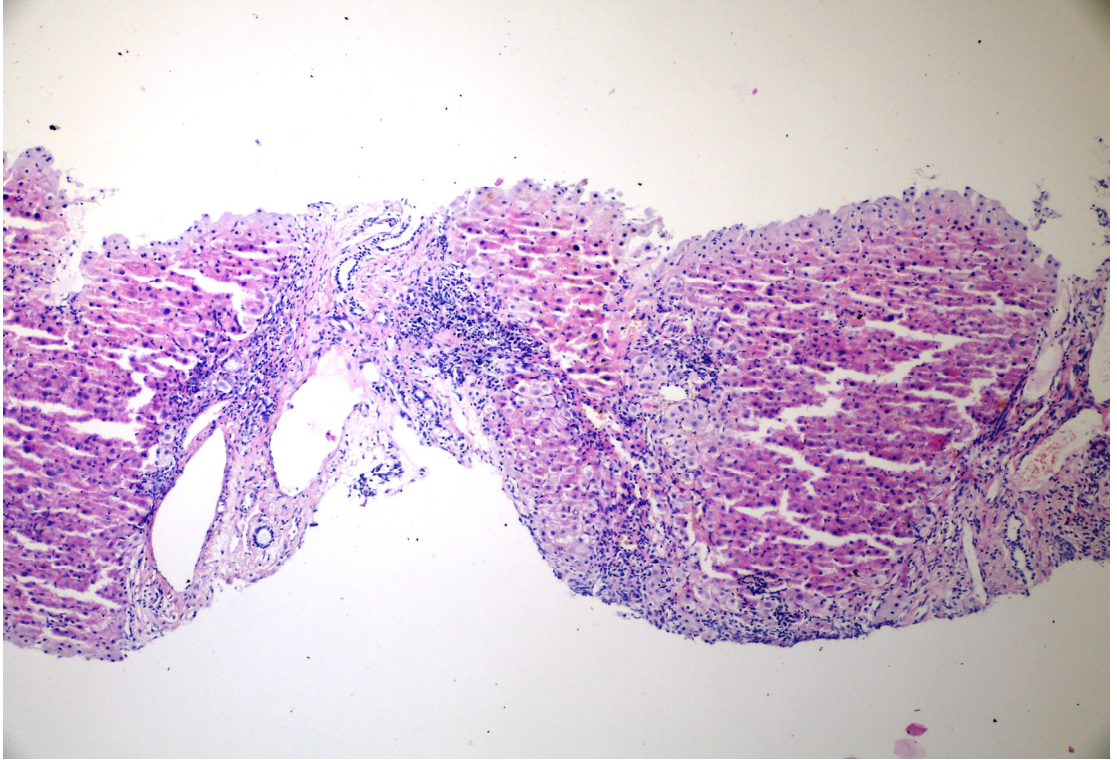
**Resim 1.** Councilman Cisimciği HE x 400



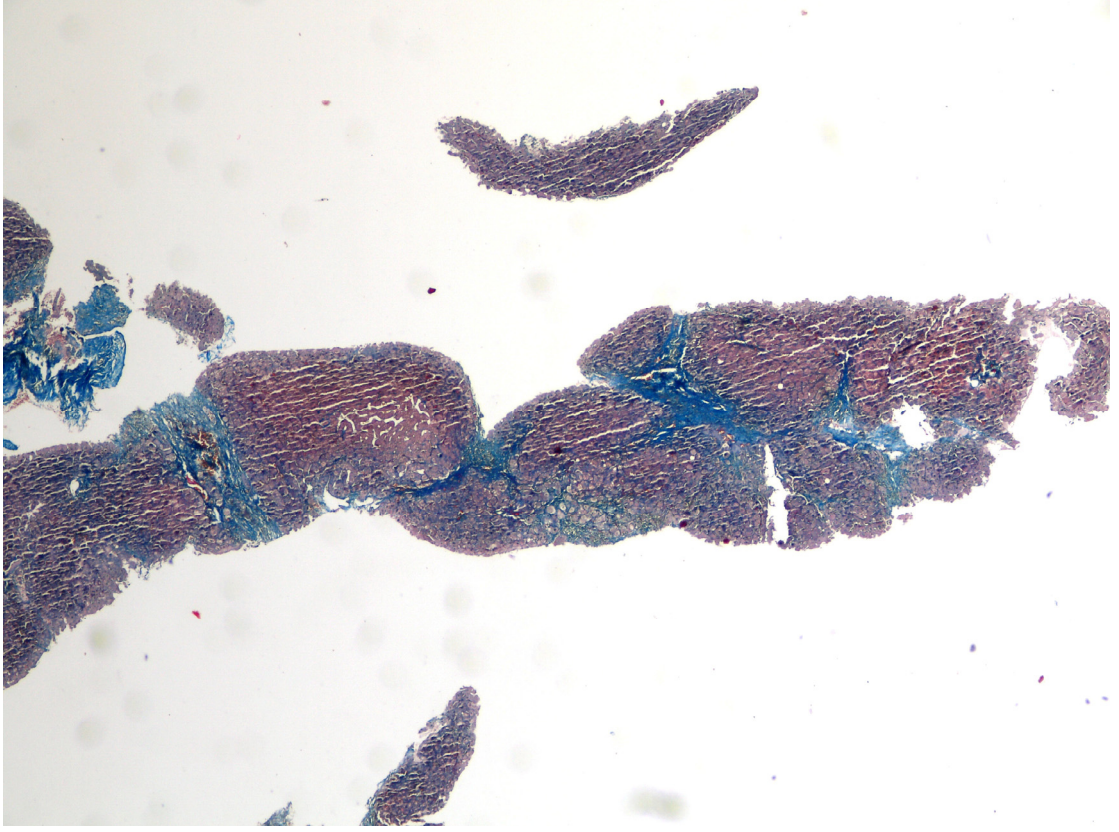
**Resim 2.** Konflent zon 3 nekroz HE x 200



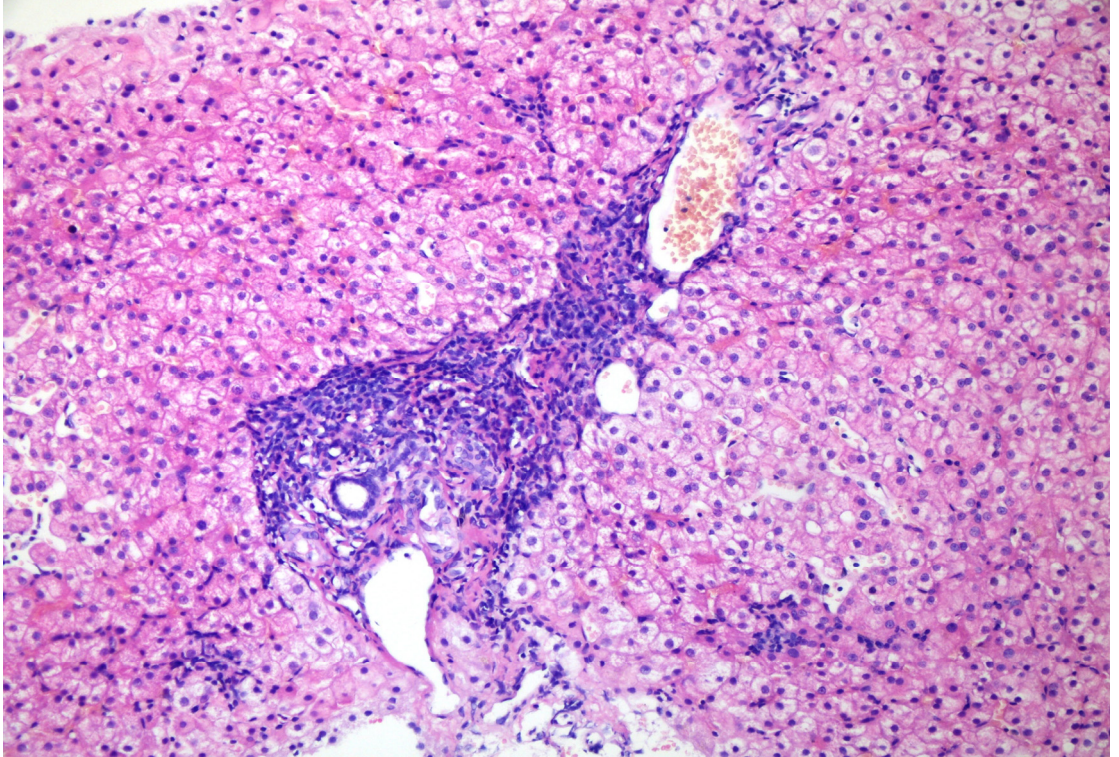
**Resim 3.** Piecemeal nekroz HE x 40



**Resim 4.** Köprüleşme fibrozisleri HE x 40

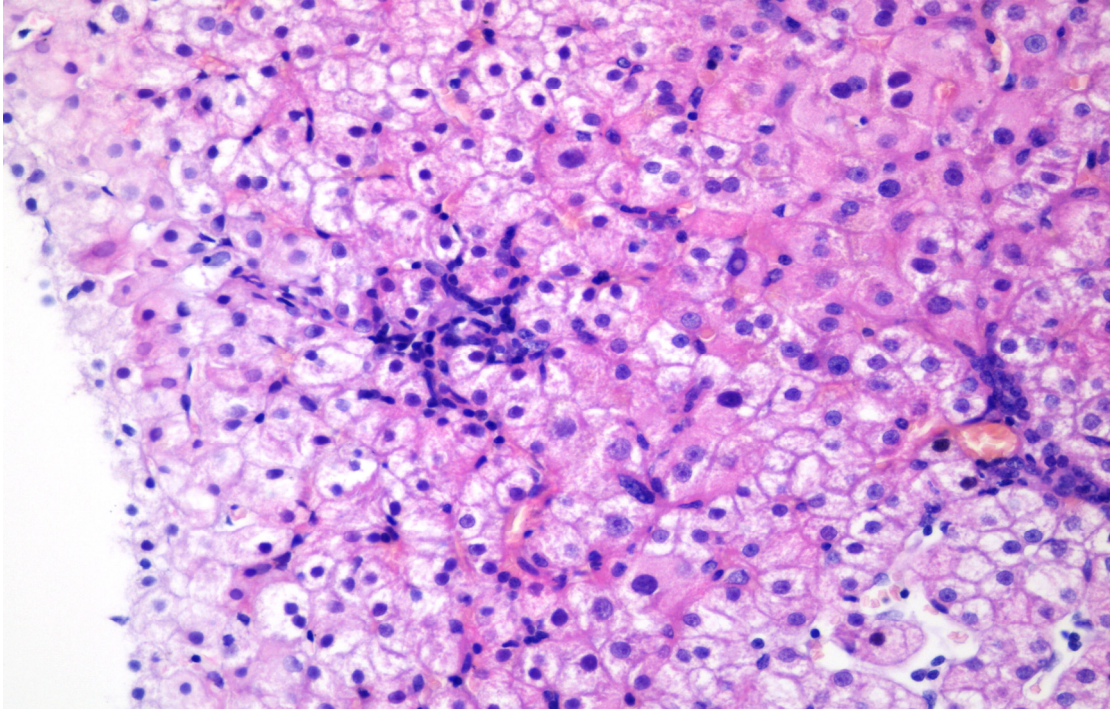


**Resim 5.** Köprüleşme fibrozisleri Masson trichom boyası x 40

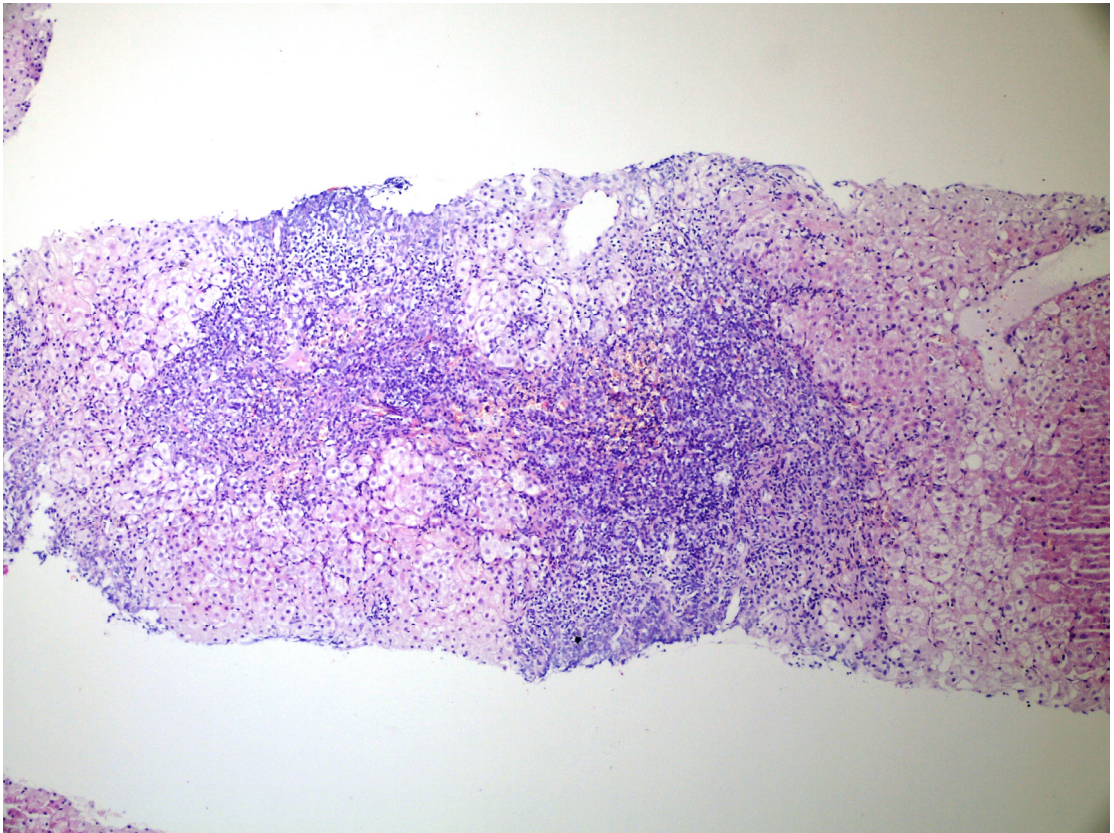


**Resim 6.** Portal inflamasyon HE x 100





**Resim 7.** Fokal nekroz HE x 400



**Resim 8.** Şiddetli interface hepatit HE x 40

### Sitokin Sonuçları

KHB, KHC ve kontrol gruplarına ait sitokin sonuçları Tablo 6 ve tablo 7'de gösterilmiştir. Sitokin düzeylerinin her biri kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Ayrıca sitokinlerin her birinin; İshak skoru ve fibrozis ile ilişkisi değerlendirildi.

**Tablo 6.** KHB hasta grubunun serum sitokin düzeyleri

No	Hasta	HBeAg	TNF- $\alpha$ pg/ml	IFN- $\gamma$ pg/ml	IL-10 pg/ml	IL-18 pg/ml	TGF- $\beta$ pg/ml
1	F.B.	+	33,75	27,55	4,51	3,16	433,55
2	Ş.A.	-	4,35	10,52	4,31	220,07	436,21
3	A.K.S.	+	2,48	16,18	26,65	71,40	418,58
4	M.Ç.	-	20,14	11,22	6,35	14,17	486,96
5	A.Ü.	+	0,61	4,88	13,71	13,29	436,21
6	D.P.	-	1,55	8,40	9,11	48,72	428,24
7	T.K.	-	1,72	5,58	11,88	12,73	434,43
8	H.K.	-	6,23	6,28	10,03	4,61	434,43
9	E.B.	-	9,28	6,28	8,19	64,11	435,32
10	H.Ö.	-	4,59	6,28	4,51	86,00	455,89
11	A.B.	+	6,46	15,47	0,82	90,38	425,60
12	M.Y.	-	5,29	11,93	2,67	43,74	472,24
13	H.U.	-	6,93	9,81	10,03	27,15	434,43
14	R.A.	-	0,38	6,28	5,43	12,73	427,36
15	S.Ö.	-	3,65	0,17	11,88	5,51	489,74
16	M.K.	+	2,72	9,81	8,19	75,78	446,90
17	S.T.	-	5,52	6,99	10,03	6,95	431,78
18	M.Ç.	+	5,29	4,88	10,96	84,54	435,32
19	N.K.	-	2,95	17,60	17,43	14,17	502,81
20	R.L.	+	5,52	28,98	2,67	25,70	462,22
21	A.Y.	-	10,92	9,62	8,19	46,65	438,87
22	A.İ.Ç.	+	0,55	11,93	6,35	58,77	524,61
23	B.A.	-	12,41	11,22	11,88	51,59	454,99
24	H.K.	-	0,38	5,78	9,11	157,91	428,24
25	M.B.	+	10,92	6,99	4,51	102,08	507,52

**Tablo 7.** KHC hasta grubunun serum sitokin düzeyleri

No	Hasta	TNF- $\alpha$ pg/ml	IFN- $\gamma$ pg/ml	IL-10 pg/ml	IL-18 pg/ml	TGF- $\beta$ pg/ml
1	N.Ö.	15,17	14,76	6,35	113,80	433,55
2	H.A.	5,99	14,76	1,02	11,84	422,97
3	H.D.	2,01	10,52	2,67	46,65	459,50
4	C.Ö.	5,99	8,40	11,88	37,93	478,66
5	R.K.	1,08	6,28	4,51	8,94	427,36
6	M.T.	0,09	2,06	10,96	39,39	433,55
7	M.Y.	3,88	6,28	9,11	69,94	443,33
8	T.K.	4,35	11,22	8,19	75,97	450,49
9	N.K.	7,16	6,28	10,96	77,40	491,60
10	T.B.	6,46	14,05	82,11	49,56	435,32
11	M.Ç	3,42	11,93	2,67	65,57	492,53
12	B.B.	7,63	11,93	10,03	143,18	439,76
13	A.Ç.	2,72	21,15	4,51	28,59	453,19
14	G.Ç.	5,52	3,47	11,88	321,78	440,65
15	A.K.	5,76	8,40	8,19	72,86	440,65
16	M.Y.	0,61	14,05	8,19	12,73	455,89
17	Ş.K.	1,78	3,47	8,19	48,72	436,21
18	U.O.	9,75	16,89	82,11	102,08	491,60
19	N.T.	2,01	36,13	1,74	0,27	452,29
20	M.D.	7,16	1,36	9,11	3,16	434,43
21	H.T.	8,34	13,35	0,82	358,00	429,13
22	M.T.	2,48	2,76	6,55	100,62	434,43
23	H.S.	5,52	15,50	12,11	146,12	433,55
24	Y.Ö.	2,72	4,17	8,19	23,43	462,22
25	M.A.	8,81	7,69	2,67	125,54	437,09

**Tablo 8.** Kontrol grubunun serum sitokin düzeyleri

No	Hasta	TNF- $\alpha$ pg/ml	IFN- $\gamma$ pg/ml	IL-10 pg/ml	IL-18 pg/ml	TGF- $\beta$ pg/ml
1	F.N.P.	4,59	25,42	0,08	90,38	415,96
2	M.P.	5,52	14,76	0,01	11,84	502,81
3	N.Ç.	0,95	6,99	0,03	67,03	433,55
4	F.D.	1,08	9,81	0,03	88,92	423,84
5	K.G.U.	0,61	6,99	0,04	1,18	433,55
6	M.K.	4,59	4,88	0,07	96,23	442,44
7	A.B.	2,72	6,99	0,02	14,73	433,55
8	A.A.	5,52	12,64	0,03	228,99	473,15
9	G.T.	5,76	13,35	0,09	125,54	450,49
10	N.G.Ç.	4,35	9,11	0,01	2,62	585,58
11	A.T.	3,42	4,17	0,02	1,64	433,55
12	D.D.	0,61	21,15	0,03	1,03	423,84
13	A.A.	1,55	6,28	0,05	35,03	446,90
14	I.K.	1,78	9,81	0,06	0,40	435,32
15	T.Y.	3,42	9,11	0,03	33,58	454,99
16	Z.D.	2,01	5,58	0,06	0,73	451,39
17	K.B.	5,99	10,52	0,07	46,65	416,84
18	D.A.K.	4,82	9,11	0,04	0,34	612,20
19	O.K.	0,55	2,06	0,07	1,18	493,46
20	Ö.E.	0,15	5,58	0,05	0,27	423,84
21	Ö.Ş.	2,65	2,06	0,02	0,22	441,54
22	M.Ç.	0,61	3,47	0,03	86,00	430,01
23	B.A.	3,88	7,69	0,06	0,94	482,34
24	M.A.	3,42	3,47	0,09	78,70	466,76
25	B.A.Ç.	5,99	18,31	0,01	8,94	418,58
26	A.Ü.	0,78	9,81	0,07	6,05	483,27
27	H.Ç.	1,48	6,28	0,02	5,51	434,43
28	A.T.	6,46	8,40	0,04	0,34	464,04
29	M.K.	0,38	4,88	0,04	33,58	433,55
30	S.A.	5,76	6,28	0,08	29,23	425,60

KHB, KHC ve kontrol grubunun sitokin düzeylerinin ortalama değerleri alındı. Bu üç grupta ölçülen sitokinlerin ortalama±standart sapmaları tablo 9’da sunulmuştur.

Bu üç grubun sitokin düzeyleri karşılaştırıldığında IFN- $\gamma$  ve TGF- $\beta$  düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-18 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 9). Bu farklılığın nereden kaynaklandığını bulabilmek için yapılan ikili karşılaştırmalarda (Bonferroni düzeltmesi ile) kontrol grubunun TNF- $\alpha$  ve IL-18 düzeyinin HCV’li hasta grubundaki TNF- $\alpha$  ve ve IL-18 düzeyinden anlamlı olarak düşük olmasından kaynaklandığı tesbit edilmiştir (sırasıyla p=0,017 ve p=0,004). Yine aynı yöntemle farklılığın nereden kaynaklandığını bulabilmek için yapılan ikili karşılaştırmalarda kontrol grubunun IL-10 düzeyinin HBV ve HCV’li hasta grubundaki IL-10 düzeyinden anlamlı olarak düşük olduğu görüldü (p=0,001; Tablo 10).

25 KHB’li hastanın 9’unda HBe Ag pozitifdi. HBe Ag pozitif olan hastalarla HBe Ag negatif olan hastaların sitokin değerleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

**Tablo 9.** Hasta ve kontrol grubunun serum sitokin düzeyleri ortalamaları

Sitokin	Grup	Sayı	Ortalama değer pg/ml	Standart sapma pg/ml	p değeri
TNF- $\alpha$	Kontrol grubu	30	3,04	2,09	<b>0,035</b>
	HBV	25	6,58	7,26	
	HCV	25	5,05	3,42	
IFN- $\gamma$	Kontrol grubu	30	8,83	5,40	0,494
	HBV	25	10,42	6,65	
	HCV	25	10,67	7,45	
IL-10	Kontrol grubu	30	0,05	0,02	<b>0,001</b>
	HBV	25	8,77	5,37	
	HCV	25	12,98	21,10	
IL-18	Kontrol grubu	30	36,59	52,01	<b>0,008</b>
	HBV	25	53,67	51,80	
	HCV	25	83,36	88,29	
TGF- $\beta$	Kontrol grubu	30	455,57	45,43	0,825
	HBV	25	451,29	29,28	
	HCV	25	448,39	20,60	

**Tablo 10.** Hasta ve kontrol gruplarının post-hoc testlerle TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-18 düzeylerinin karşılaştırılması

Sitokin	Grup	P değeri
TNF- $\alpha$	HBV-Kontrol grubu	0,042
	HCV-Kontrol grubu	<b>0,017</b>
	HBV-HCV	0,961
IL-10	HBV-Kontrol grubu	<b>0,001</b>
	HCV-Kontrol grubu	<b>0,001</b>
	HBV-HCV	0,654
IL-18	HBV-Kontrol grubu	0,032
	HCV-Kontrol grubu	<b>0,004</b>
	HBV-HCV	0,248

Sitokinler arasında korelasyon olup olmadığına bakıldığında KHC hastalarında TNF- $\alpha$  ile IL-18 arasında olumlu, güçlü düzeyde istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu görüldü ( $p=0,004$   $r=0,551$ ). KHB hastalarında ise sitokinler arasında anlamlı bir ilişki yoktu.

Sitokin düzeylerinin Ishak skoru ve fibrozis ile arasındaki ilişki incelendiğinde; KHB ve KHC'li hastalarda IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-18, TGF- $\beta$ 'nin istatistiksel olarak anlamlı korelasyon göstermediği tesbit edildi. KHB'li hastalarda TNF- $\alpha$ 'nın Ishak skoru ve fibrozis ile arasındaki ilişki incelendiğinde olumlu, gücü orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu görüldü (sırasıyla  $p=0,040$ ,  $r=0,416$  ve  $p=0,030$ ,  $r=0,414$ ). KHC'li hastalarda da TNF- $\alpha$ 'nın Ishak skoru ve fibrozis ile arasındaki ilişkisi incelendiğinde korelasyonun olumlu yönde, gücü orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu görüldü (sırasıyla  $p=0,023$ ,  $r=0,453$  ve  $p=0,026$ ,  $r=0,445$ ).

## 5. TARTIŞMA

Viral hepatit sırasındaki karaciğer hasarı virüsle enfekte hücrelerin neden olduğu immün yanıtla ilgilidir. Hepatit virüsleri hepatositleri enfekte ettikten sonra viral proteinlere yönelik özgün immün yanıt gelişmesine sebep olur. B lenfositlerce geliştirilen antikor cevabı viral enfeksiyonun önlenmesi ve virüsün opsonizasyonunda rol oynar (111). Hepatit virüsünün yayılması esas olarak Ts (CD8+) ve Th (CD4+) hücrelerce sağlanır. B lenfositlerin MHC klas II molekülleri ile viral peptidleri CD4+ T lenfositlere sunarak sitokin salınmasını ve bu sitokinlerin B ve CD8+ T hücre aktivitesini düzenledikleri düşünülmektedir (118,119).

Ts ve özellikle Th hücrelerinin karaciğerde viral hastalıklarda önemli roller üstlendikleri saptanmıştır. Özellikle iki alt gruba ayrılan Th (Th1 ve Th2) hücreleri bu konuda önemli görevlere sahiptir. Bu Th hücrelerinin bir kısmı humoral bağışıklığı yönlendiren bir kısmı da hücre sel bağışıklığı yönlendiren sitokin sentezine sebep olur. Her Th alt grubu kendini otokrin olarak çoğaltma yeteneğine sahip olduğu kadar diğer Th alt grubunun gelişmesini ve aktivite göstermesini baskılama yeteneğine sahip sitokinler salgılayabilir (114,115). Th hücrelerinin hangi yöne farklılaşacağı ortamdaki antijenin özelliğine, uyarıyı aldıkları ortama ve uyarı şekline ve ortamdaki sitokinlere bağlıdır (114,115,116).

CD4+ T hücreler antiviral immün cevabı başlatırlar. Salgılanan sitokinler ile virüsün oluşturacağı hastalık tipi ve oluşan enfeksiyonun progresyonu belirlenir (120,121). Virüsle karşılaşan CD4+ T hücreler ve immün efektör hücrelerden; Th1 sitokinler (IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) üretildiğinde virüsün çoğalmasının önleneceği, Th2 sitokinler (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13) üretildiğinde ise virüsün çoğalmasının kolaylaşarak hastalığın kronikleşebileceği bildirilmiştir. Yani HBV ve HCV enfeksiyonlarında hastalığın gidişatını etkileyen konağın yaşı dışında en önemli faktör baskın olan Th grubudur. Enfeksiyon sırasında hakim olan Th grubu hastalığın kronikleşeceğini mi yoksa iyileşeceğini mi tayin eder (111).

Kronik HBV enfeksiyonunda karaciğerde TNF- $\alpha$  sisteminin aktif olduğu ve viral enfeksiyonun TNF- $\alpha$  üretimini indüklediği bildirilmiştir (122,123). TNF- $\alpha$  konakçının enfektif ajanlara karşı immünmodülatör cevabında merkezi bir rol oynar (124). TNF- $\alpha$ , hepatit B virüsüne karşı konakçı immün yanıtının gelişmesinde ve



hepatit B virüsünün viral klirensinin sağlanmasında rol oynayan nonsitotoksik antiviral önemli sitokinlerden biridir (125). HBV ile ilişkili TNF yükselmesi karaciğer inflamasyon skoru ile korele bulunmuştur (126). TNF- $\alpha$ , karaciğerde lokal inflamatuvar alanlarda infiltrasyon yapan mononükleer hücreler ile üretilip sekrete edilir ve bu TNF- $\alpha$ 'nın kronik karaciğer hastalığında inflamatuvar aktivitede rol oynayabileceğini düşündürmektedir (127). Wang JY ve ark.'ı (126) 66 kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubunu karşılaştırmışlar, TNF- $\alpha$  düzeyini KHB enfeksiyonlu hastalarda yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmada da, KHB'li hastalarda TNF- $\alpha$  seviyesini kontrol grubuna göre yüksek bulunmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu da TNF- $\alpha$ 'nın genelde akut evrede etkin olması ve dolayısıyla KHB'li hastalarda etkinliğinin kaybolması ve azalmasına bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca kontrol grubuna göre TNF- $\alpha$  değerlerinin yüksek olması kontrol edilemeyen inflamasyonun devam etmesine bağlanabilir. Bu çalışmada, KHB ve KHC hastalarında Ishak skoru ve fibrozis ile IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-18, TGF- $\beta$  arasında korelasyon görülmezken TNF- $\alpha$  ile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulundu. Bu, TNF- $\alpha$  yüksekliğinin karaciğerdeki inflamasyonla ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

İnflamatuvar yanıtı uyaran olarak makrofaj ve hepatositlerden salınan TNF- $\alpha$  hepatit C'ye karşı da ilk cevap savunmasında önemlidir. Hepatit C virüsüne karşı direk antiviral etki gösterir. Bu sırada lenfosit proliferasyonunu artırır ve karaciğer içindeki virüsle savaşmak için hedefe kilitli CTL yanıtını stümüle eder. Hepatit C virüs core proteini multifonksiyonel olup, viral nükleokapsitin bir komponentidir (128). Hepatit C virüs core proteini öncelikle TNFR (tümör nekrozis faktör reseptör) etkileşimine girmektedir (129). Hepatit C virüs core proteini, TNFR ile birleşmesi sonrasında, sinyal proteinleri aracılığıyla apoptozis olmakta ve hücre ölümü gerçekleşmektedir (130). Bu çalışmada da, KHC'li hastalarda TNF- $\alpha$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu bilgiler ışığında HCV'ye bağlı hepatitin tedavisinde, potansiyel tedavi hedeflerinden birisinin TNF- $\alpha$  olmasının gerektiği düşünülmektedir.

Zylberg ve ark.'ın (131) 60 KHC'li hastada TNF- $\alpha$  aktivitesi ile hepatit C virüsünün virolojik, biyolojik, klinik ve histolojik özellikleri arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında; TNF- $\alpha$  düzeyi KHC enfeksiyonlu hastalarda sağlıklı

kontrol grubundan yüksek bulunmuş, KHB enfeksiyonlu hastalarla KHC enfeksiyonlu hastalar arasında önemli farklılık gözlenmemiştir. Bu çalışmada da, serum TNF- $\alpha$  düzeyi KHC enfeksiyonlu hastalarda kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. Ancak KHB ve KHC enfeksiyonlu hastalar kendi aralarında karşılaştırıldığında TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Viral hepatitlerde, enfeksiyonun farklı evrelerinde, farklı sitokinlerin salınabileceği bilinmektedir. Bu sitokinlerden biri olan IFN- $\gamma$ , spesifik T lenfositler tarafından immün cevap sırasında yapılır. Kronik HBV enfeksiyonunda, IL-2 veya mitojen ile stimüle edildiğinde periferik lenfositlerde IFN- $\gamma$  yapımının azaldığı, bu sebeple de kronik hepatitlerde bozulmuş IFN sisteminin etkili olabileceği düşünülmüştür. Kronik HBV enfeksiyonunda HBcAg'nin IFN- $\gamma$  yapımını stimüle eden güçlü bir immünojen olduğu ve CD4+ T hücrelerinin esas IFN- $\gamma$  üreten hücreler olduğu bildirilmiştir (132). Kronik karaciğer hastalarında periferik IFN- $\gamma$  üretimindeki azalmanın; KHB enfeksiyonun şiddeti ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (133). HBV ve HCV enfeksiyonun kontrolünde ve virüsün temizlenmesinde IFN- $\gamma$  salınımının arttığı ve IFN- $\gamma$ 'nın IL-12 tarafından inhibe edilebileceği belirtilmektedir. KHB'de IFN- $\gamma$  düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük bulunduğu ve dekompanse evrede ise daha düşük olduğu bildirilmektedir (134). Yapılan bir çalışmada KHB enfeksiyonunun klinik şiddeti ile meydana çıkan IFN- $\gamma$  seviyeleri arasında korelasyon bulunmadığı rapor edilmiştir (135). Abaylı ve ark.'ın yaptıkları bir çalışmada virüslerin temizlenmesi veya replikasyonun önlenmesinde etkili olan IFN- $\gamma$ , HCV'li hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre düşük bulundu (136). Bu çalışmada ise, HBV ve HCV'li hastaların serum IFN- $\gamma$  düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ve enfeksiyonun kronik evrede olmasına bağlandı.

IL-10, Th2 tarafından sentezlenen bir sitokindir. TH2 dışında B hücreleri, makrofaj ve keratinositlerde de sentezlendiği bildirilmiştir. IL-10 T hücrelerinden sitokin sentezlenmesini inhibe eder. IL-10 etkisi ile inhibe edilen sitokinler IFN- $\gamma$  ve IL-3 olarak saptanmıştır. Buna karşılık, TNF- $\alpha$  düzeylerinde değişme görülmemiştir (102). Bozkaya ve ark.'ın (137) çalışmasında HBeAg, HBV DNA (+) ve ALT yüksek seyreden grupta IL-10 kontrol grubuna göre yüksek bildirilmiştir. Ayraescu ve ark.'ı (138) KHC'li hasta grubunda proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- $\alpha$  ve

antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10'u yüksek bulmuş, Abaylı ve ark. (136) yaptıkları bir çalışmada ise hepatit C ile enfekte hasta grubunda IL-10 düzeyini sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuştur. Aynı çalışmada her iki grubun IFN- $\gamma$  düzeyleri arasında fark saptanmamıştır. Bu çalışmada, KHB ve KHC hastalarının serum IL-10 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Yukarıdaki bilgiler ışığında, hastalarımızdaki yüksek IL-10 düzeyleri nedeniyle proinflamatuvar bir sitokin olan IFN- $\gamma$ 'ın baskılanmış olabileceği düşünülmektedir. Pro ve antiinflamatuvar sitokinler arası dengesizlik karaciğer hasarının patogeneğinde önemli rol oynamakta ve fibrozisin ilerlemesine yol açmaktadır.

IL-18'in HBV enfeksiyonunun kendi kendini sınırlaması sırasında; HBV replikasyonunun kontrolünü desteklediği yönünde ve kronik hepatit hastalarının tedavi süreçleri sırasında, tedavi edici ve hastalığın prognozunda olumlu yönde etkileri olabileceğine dair bilgiler mevcuttur (139). İkiz ve ark.'ın (140) yaptığı bir çalışmada akut ve kronik hepatit B enfeksiyonlu hastaların serum IL-18 seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kimura ve ark.'ı (139) hepatitli hastalarda IL-18'in olası rolünü incelemiş ve hastalığın ciddiyetine IL-18 üretim artışının eşlik ettiğini; kronik hepatitte karaciğer inflamasyonunun derecesi ile IL-18 üretiminin artışının paralellik gösterdiğini, HBV enfeksiyonlu tüm gruplarda IL-18 transkripsiyonu ve ekspresyonu üzerine pozitif korelasyon olduğunu gözlemlemişlerdir. Yine Sharma ve ark.'nın (141) yaptıkları bir çalışmada, kronik hepatit C ve sirozlu hasta grubunda IL-18 konsantrasyonunun yüksek olduğu ve bunun HAİ ve nekrozla pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. İnflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan bir sitokin olan IL-18'in kronik hepatitlerde artması, IL-18'in inflamasyonun bir göstergesi olarak kullanılabileceğini ve inflamasyonun kendi kendini sınırlaması için önemli bir değere sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada da, serum IL-18 düzeyi KHC enfeksiyonlu hastalarda kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu fark, KHB'li hastalarda istatistiksel olarak anlamlı değildi. KHB ve KHC enfeksiyonlu hastalar kendi aralarında karşılaştırıldığında IL-18 düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı.

TGF- $\beta$ , istirahat halinde olan hücrelerle aktive olmuş hücrelere farklı etki yapar. İstirahat halinde veya immatür hücreleri stimüle ederken, aynı hücre popülasyonları aktive olduklarında ise onları inhibe eder. Genellikle immünitinin

negatif regülasyonunu sağlar. İmmünoşüpresif etkinin yanı sıra, karaciğer rejenerasyonunda hepatosit proliferasyonunu inhibe eder ve karaciğer sirozunda hepatositler tarafından ekstrasellüler matrix proteinlerin yapımını güçlü bir şekilde uyarır. Kronik hepatit ve sirozda fibrozis patogeneğinde önemli rol oynar (111). TGF- $\beta$ 'nın histolojik evreyi yansıttığını ve latent TGF- $\beta$ 'nın aktivasyonunun fibrogenezisin başlangıç noktası olduğu belirtilmektedir (142). Kırmaz ve ark.'ın (143) yaptıkları bir çalışmada serum TGF- $\beta$  düzeyi KHB, KHC ve sirozlu hastalarda bakılmış; kontrol grubu ve KHB'ye göre siroz ve KHC'li hastalarda yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada da, KHB ve KHC'li hasta grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TGF- $\beta$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Fibrozis sürecinde TGF- $\beta$  salınımının fibrozis patogeneğinde önemli bir başlangıç noktası olduğuna ilişkin görüşün desteklenmesi için sirozlu hasta grubunun arttırıldığı daha fazla hasta sayılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Literatürlerde, akut ve kronik hepatit patogeneğinde rol oynayan T hücreler ve bunlara bağlı salınan sitokinlerin rolü ya da baskınlığı konusu ve hatta viral hepatitlerdeki immünoopatogenetik mekanizma net olmadığı gibi birbiriyle çelişen ve hatta birbirinin tam aksi sonuçları veren yayınlar mevcuttur. Değişik çalışmaların sonuçlarının farklı olması viral hepatit immünoopatogeneindeki karmaşayı ve belirsizliği ortaya çıkarmış olup, immün yanıtın yokluğu ya da eksikliği kadar aşırılığının da istenmeyen sonuçlar ortaya çıkarabileceğini düşündürmüştür. Bundan dolayıdır ki; viral hepatitlerdeki immün mekanizmayı anlamada akut ve kronik viral hepatitler paralel değerlendirilmeli ve eğer ilerliyorsa fulminan hepatit ya da siroza gidişte sitokin profili bakılmalıdır. Kompleks bir mekanizmaya sahip olan HBV ve HCV enfeksiyonunda sitokin yanıtının önemli rolü bulunmaktadır. Bu sitokinlerin durumu hepatit patogenezinin gelişimi ile ilgili bilgi sağlayabilir. Tüm bu sonuçlar ışığında sitokinlerin karaciğer hücre hasarı ve fibrozis üzerine etkileri konusunda daha çok çalışma yapılması gerektiği düşüncesindeyiz. Çünkü immün sistemin bu enfeksiyonla karşılaştığında vereceği cevabı önceden kestirebilmek virüsü elimine edemeyen bireylerin tedavisinde yeni ufuklar sağlayacaktır. İleride prospektif olarak yapılacak daha kapsamlı çalışmalar, sitokinlerin viral hepatitlerdeki değerinin tam olarak belirlenmesi ve iyileşmede gerekli olan sitokin miktarının tespit edilerek eksikse yerine konması; eğer aşırı ise sitokin antagonistlerinin verilmesi şeklinde yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde etkili gibi durmaktadır.

## ÖZET

### **Kronik Hepatit B ve Kronik Hepatit C Enfeksiyonlarında Sitokin Düzeyleri ile Histopatolojik Aktivite ve Fibrozis Arasındaki İlişki**

HBV ve HCV enfeksiyonu, karaciğer yetmezliğine ve siroza yol açabilmesi nedeniyle tüm dünyada ciddi bir sağlık sorunudur. Enfeksiyonun kronikleşmesine yol açan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Sitokin profil dengesindeki değişimin, enfeksiyonun düzelmesi veya persistansı şeklinde sonuçlanabileceği bilinmektedir.

Bu çalışmada, KHB ve KHC hastalarının TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-18 ve TGF- $\beta$  düzeylerinin tespiti ve bu sitokinlerle Ishak skoru ve fibrozis arasında korelasyon olup olmadığını araştırmak amaçlandı. KHB ve KHC tanısı alan 50 hasta ile hepatit B ve C serolojileri negatif olan 30 kontrol grubu çalışmaya alındı. Bu üç grubun serum sitokin düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. Hasta gruplarına ayrıca karaciğer biyopsisi yapıldı. Alınan biyopsi örnekleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji laboratuvarında incelendi. Hepatit C'li hastalarda serum TNF- $\alpha$ , IL-10 ve IL-18 düzeyleri; hepatit B'li hastalarda ise IL-10 düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Bu üç grup arasında IFN- $\gamma$  ve TGF- $\beta$  düzeyleri açısından ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. KHB ve KHC hastalarında Ishak skoru ve fibrozis ile IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-18, TGF- $\beta$  arasında korelasyon görülmezken TNF- $\alpha$  ile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulundu.

HBV ve HCV enfeksiyonları kompleks bir patogenetik mekanizmaya sahiptir. Klinik seyir ve progresyonda sitokin yanıtının önemli rolü bulunmaktadır. Tüm bu sonuçlar ışığında sitokinlerin karaciğer hücre hasarı ve fibrozis üzerine etkileri konusunda daha fazla çalışma yapılması gerektiği düşüncesindeyiz. Çünkü bu konunun yeterince açıklığa kavuşması ile viral hepatitlerde immünoterapötik yaklaşımlar şekillenecektir.

**Anahtar kelimeler:** Hepatit, sitokin, Ishak skoru, fibrozis

## SUMMARY

### **The Relation Between Cytokine Levels With Histopathological Activity / Fibrosis in Chronic Hepatitis B and Chronic Hepatitis C Infections**

Having the potential of progressing to liver failure and liver cancer, HBV and HCV infections are still serious worldwide problems. The mechanisms of chronicity have not been fully understood yet. It has been stated that the changes in balance of cytokine profile may result in either recovery or persistence.

This study aims to reveal a possible correlation between cytokine levels, i.e., TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-18, TGF- $\beta$ , and Ishak score or fibrosis in patients with CHB or CHC. Totally, fifty patients with CHB (n=25) or CHC (n=25) and the control group of subjects with negative hepatitis B and hepatitis C serology (n=30) were included in the study. Serum cytokine levels were measured by ELISA method. Also, liver biopsies were taken in all patients. The biopsy samples were examined in the pathology laboratory in the hospital of Suleyman Demirel University. The serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-10 and IL-18 in the hepatitis C group were significantly high compared to those of the control group, but, only IL-10 levels in the hepatitis B group were significantly high. The three groups did not show any significant difference with respect to IFN- $\gamma$  or TGF- $\beta$  levels. In patients with CHB or CHC, there was a significant correlation between TNF- $\alpha$  and Ishak score or fibrosis, but no such correlation was found with IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-18 or TGF- $\beta$ .

HBV and HCV infections have rather complex pathogenetical mechanisms. The cytokine activity has important impacts on clinical severity and progression. The results obtained in this study imply that further investigations on possible effects of cytokines on hepatocellular damage and fibrosis should be done. Thus, new immunopathological approaches to viral hepatitis might be arranged.

**Keywords:** Hepatitis, cytokine, Ishak score, fibrosis

## KAYNAKLAR

1. Mehmet K. Hepatit B Virüsü. In: Tekeli E, Balık İ (Eds). Viral Hepatit 2003: Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2003, Ankara. 90-91.
2. Robinson WS. Hepatitis B Virus and Hepatitis D Virus. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, New York: Churchill Livingstone, 2000:1652-1685.
3. Hollinger FB. Hepatitis B Virus. Fields BN, Knipe DM, Howley PM (Eds). Fields Virology, 3rd Ed, Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996:2738-2761.
4. Birengel S, Tekeli E: Kronik Hepatit B’de Epidemiyolojik, Virolojik, Fizyopatolojik ve Klinik Özellikler, Tanımlamalar In: Köksal İ, Leblebicioğlu H (Eds) Kronik Viral Hepatitlerin Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar, 2003 Ankara:11-21.
5. Kıyan M. Hepatit B Virüsü Replikasyon Stratejisi. Kılıçturgay K, Badur S (Eds). Viral Hepatit 2001. Viral Hepatitle Savaşım Derneği. İstanbul: Deniz Ofset. 2001:92-93.
6. Kato H, Orito E, Gish RG, Suqouchi F, Suziki S, Yeda R et al. Characteristics of hepatitis B virus isolates of genotype G and their phylogenetic differences from the other six genotypes (A through F). J Virol 2002;76:6131-6137.
7. Birengel S, Tekeli E: Kronik Hepatit B’de Epidemiyolojisi In: Köksal İ, Leblebicioğlu H (Eds). Kronik viral Hepatitlerin Tanı ve Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar, 2009 Ankara:11-21.
8. Taşyaran M.A. HBV Enfeksiyonu Epidemiyolojisi. In: Tekeli E. Balık İ (Eds). Viral Hepatit 2003:121-128.
9. Aydın K. Akut Viral Hepatitlerde Epidemiyoloji. In: Köksal İ. (Eds). Viral Hepatitlerde Yenilikler. Karadeniz Teknik Üniversitesi Matbaası, Trabzon 1998:43-57.
10. Akçam FZ. Hepatit B Virüsü Enfeksiyonu. Sted. 2003;12(6):211.
11. Curry MP, Chopra S. Acute Viral Hepatitis. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone. 2005:1426-1441.
12. Alter M. Epidemiology of Hepatitis in Europe and Worldwide. J Hepatol 2003;39:64-69.
13. Bilgiç A. Hepatit B Virus ve Serolojik Tanı. Aktüel Tıp Dergisi (Viral Hepatitler Sayısı) 1997; 2(3):130-133.
14. Dündar İH, Saltoğlu N. Hepatit Viruslarında Mutasyon ve Getirdiği Sorunlar. In: Tekeli E, Balık İ (Eds). Viral Hepatit 2003. 1. Baskı, İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği; 2003:430-458.
15. Bilgiç A, Özacar T. Hepatit B Virüsü. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2002:1350-1370.
16. Yalçın K, Değertekin H. Akut Viral Hepatitler. In: Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan İ (Eds) Gastroenteroloji. Ankara: Türk Gastroenteroloji Vakfı; 2002:485-487.
17. Chisari FV, Ferari C. Hepatit B Virus İmmunopathogenesis. Annu Rev Immunol. 1995; 13:29-60.
18. William M. Lee, M.D Hepatitis Virus İnfection N. Engl J Med. 337(24); 1997: 1733-1745.

19. Guidotti LG, Chisari FV. To kill or to cure; option in host defense against viral infection. *Curr Opin Immunol* 1996; Aug; 8(4):478-483.
20. Lee W M. Hepatitis B Virus İnfection. *N Engl J Med* 1997; 37: 1733-1745
21. Kılıçturgay K. Viral Hepatitte İmmünopatogenez. In: Tekeli E, Balık İ (Eds). *Viral hepatit 2003. Viral hepatitle Savaşım Derneği*, Ankara 2003:315-318.
22. Wai CT and Lok AS. Treatment of Hepatitis B. *J Gastroenterol* 2002;37:771-778.
23. Çelik İ. Akbulut Ayhan. Kronik Hepatit B ve Delta Hepatitinin Doğal Seyri. In: Köksal İ. Leblebicioğlu H: *Kronik Viral Hepatitlerin Tanı ve tedavisinde Güncel Yaklaşımlar*, Ankara 2009;25-39.
24. Kılıçturgay K.:Viral Hepatitte İmmünopatogenez. In: Tekeli E, Balık İ (Eds). *Viral Hepatit 2003: Viral hepatitle Savaşım Derneği*, 2003, Ankara:316-328.
25. Bozkaya H. Hepatit B Virusu İnfeksiyonunun İmmünopatogenezi. *T Klin J Gastroenterohepatol* 2001;12(2):54-56.
26. Kurt H. Hepatit B Virusu İnfeksiyonu. In: Tekeli E, Balık İ (Eds). *Viral Hepatit 2003: Viral hepatitle Savaşım Derneği*, 2003, Ankara:129-134.
27. Gitlin N. Hepatitis B: Diagnosis, Prevention and Treatment. *Clin Chem* 1997; 43:1500-1506.
28. Kajino K, Jilbert AR, Saputelli J, et al. Woodchuck Hepatitis Virus İnfections: very rapid recovery after a prolonged viremia and infection of virtually every hepatocyte. *J Virol* 1994;68:5792-5803.
29. Yoffe B, Burns DK, Bhatt HS, Combes B. Extrahepatic B Virus DNA sequences in patients with acute hepatitis B infection. *Hepatology* 1990;12:187-192.
30. Hyams KC. Risks of chronicity following acute hepatitis B virus infection: a review. *CID*1995;20(4):992-1000.
31. Balcıoğlu İ, Özdemir S. Kronik Hepatitli Hastalarda Nöropsikiyatrik Bulgular. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Eds) *Viral Hepatit 2005*, Ankara, *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, 2005;76-82.
32. Leblebicioğlu H. Hepatit B Virusu Mikrobiyolojisi, Patogenez, Epidemiyoloji, Klinik, Tedavi ve Korunma. In: Usluer G (Eds). *A'dan Z'ye Akut Viral Hepatitler. Modern Tıp Seminerleri*. Güneş Kitabevi, Ankara 2002:16-23.
33. Akagi G, Furuya K, Otsuka H. Hepatitis B antigen in the liver in hepatocellular carcinoma in Shikoku, Japan. *Cancer* 1982;49:678-682.
34. Horvat RT, Tegtmeyer GE. Hepatitis B and D Viruses. Murray P, Baron E, Jorgensen J, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (Eds). *Manuel of Clinical Microbiology*. 8. Edition. 2003;1464-1479.
35. Kimura T, Rokuhara A, Matsumoto A, Yagi S, Toraka E, Kiyosawa K, Maki N. New enzyme immunoassay for detection of hepatitis B virus core antigen (HBcAg) and relation between levels of HBcAg and HBV DNA. *J Clin Microbiol*. 2003;41:1901
36. Şenol E. Hepatit B. *Galenos Aylık Tıp Dergisi*, 1998;1(12):12-17.
37. Kılıçturgay K. Akut Viral Hepatitler. *Aktüel Tıp Dergisi* 2003;8(5):25-31.
38. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev*, 1999;12(2):351-366.



39. Tulunay Ö. Kronik Viral Hepatit Patolojisi. In: Tekeli E, Balık İ.(Eds) Viral Hepatit 2003. Ankara: Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 2003;330-345.
40. Yüce G. Viral Hepatitlerin Patolojisi. Aktüel Tıp Dergisi, 1997;2(3):180-185
41. Felek S. Karaciğer ve Safra Yolları Enfeksiyonları. In Felek S. (Ed.) Sistemik Enfeksiyon Hastalıkları. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2000;195-212.
42. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Eds.). Basic Pathology (Temel Patoloji). Çevikbaş U (Çev. Ed.).İstanbul: Nobel; 2000;525-532.
43. Shukla DD, Hoyne PA, Ward CW. Evaluation of complete genome sequences and sequences of individual gene products for the classification of hepatitis C viruses. Arch Virol. 1995;140(10):1747-1761.
44. Shimizu Y, Feinstone SM, Kohara M, Purcell RH, Yoshikura H. Hepatitis C virus: detection of intracellular virus particles by electron microscopy. Hepatology 1996;23: 205-209.
45. Sherlock S, Dooley J. Hepatitis C Virus. Diseases of the liver and biliary system. Eleventh edition 2002;305-316.
46. Türkoğlu S. Hepatit C virüsü: Viroloji ve Seroloji. Viral Hepatit 2003. Viral Hepatitle Savaşım Derneği 2003;186-198.
47. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C Virus Infection. N Engl J Med 2001;345:41-52.
48. Akkız H. Epidemiyoloji ve Korunma (HCV) In: Tekeli E, Balık İ (Eds). Viral hepatit 2003. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, Ankara 2003;199-221.
49. Bartenschlager R, Lohmann V. Replication of the Hepatitis C Virus. Bailliere's Clin Gastroenterol 2000;14:241-254.
50. Gomez J, Martell M, Quer J, Cabot B, Esteban JI. Hepatitis C viral quasispecies. J Viral Hepat 1999;6:3-16.
51. Quer J, Esteban J. Epidemiology. In: Thomas HC, Lemon S, Zykerman AJ(eds). Viral Hepatitis 3 ed.Massachusetts, USA: Blackwell Publishing 2005;407-425.
52. Turgut H. Viral Hepatitler ve İmmün Yanıt. Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics 2008;1(2):62-66.
53. Tabak F. Virus Hepatitlerinin Epidemiyolojisi. İn: Yücel A, Tabak F (Eds). Günümüzde Virus Hepatitleri. İstanbul Bulaşıcı Hastalıklar Savaşım Derneği 1998;11: 21-30.
54. Di Bisceglie AM. Hepatitis C. Lancet 1998;31:351–355.
55. Sünbül M. HCV Enfeksiyonunun Epidemiyolojisi ve Korunma. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Eds) Viral Hepatit 2007. Viral Hepatitle Savaşım Derneği. İstanbul: Oban matbaası 2007;207.
56. Ohto H, Terazawa S, Sasaki N. Transmission hepatitis C virus from mother to infants. The New England Journal of Medicine 1994;330:744-750.
57. Gibb DM, Goodall RL, Dunn DT, Healy M, Neave P, Cafferkey M et al. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: Evidence for preventable peripartum transmission. Lancet 2000;356:904-907.
58. Leao JC, Teo CG, Porter SR. HCV infection: aspects of epidemiology and transmission relevant to oral health care workers. Int. J. Oral Maxillofac. Surg. 2006;35:295–300.
59. Hardikar W. Hepatitis C in childhood. J Gastroenterol and Hepatol. 2002;17:476–481.

60. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int.* 2009;29(19):74-81.
61. Altuđlu I, Soyler I, Ozacar T, Erensoy S. Distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with chronic hepatitis C infection in Western Turkey. *Int J Infect Dis.* 2008;12(3):239-244.
62. Yenen OŞ. Hepatit C Virüsü. İn: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi 2002:1377-1400.
63. Türkoğlu S. Hepatit C Virüsü Viroloji ve Seroloji. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Eds) *Viral Hepatit 2007. Viral Hepatitle Savaşım Derneği. İstanbul: Oban matbaası. 2007;227-228.*
64. Chan S-W, McOmish F, Holmes E C, Dow B, Peutherer JF, Follett E, Yap PL, Simmonds P. Analysis of a new hepatitis C virus type and its phylogenetic relationship to existing variants. *J Gen Virol* 1992;73:1131-1141.
65. Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:21-29.
66. Dienstag JL, Isselbacher KJ. Acute Viral Hepatitis. In: Hauser K, Longo B, Jameson F (Eds). *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16th ed. New York, McGraw-Hill 2005;822-1838.
67. Manns MP, Mc Hatchison JG, Gorden SL. Peginterferon alpha-2b plus ribavirin compared with interferon alpha- 2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-965.
68. Jaeckel E, Cornberg M, Wedemeyer H, Santantonio T, Mayer J, Zankel M et al. For the German Acute Hepatitis C Therapy Group. Treatment of Acute Hepatitis C with İnterferon Alfa-2b. *N Engl J Med* 2001;345:1452-1457.
69. Köksal İ, Leblebicioğlu H. Kronik viral hepatitlerin tanı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar In: Erdem H, Eyigün C.P. (Eds). *Hepatit C enfeksiyonunun patogenezi ve doğal seyri Ankara 2009:40-53.*
70. Lau JYN, Xie X, Lai MM, Wu PC. Apoptosis and viral hepatitis. *Semin Liver Dis* 1998;18:169-176.
71. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynki K, Judson FN, Mares A, Aleander WJ and et al. The natural history of community acquired hepatitis C in the United States. The Ssentinel Countines Chronic non-A, non-B Hepatitis Study Team. *N Eng J Med* 1992; 327:1899-1905.
72. Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: increased risk in chronic carriers of HBV. *Gut* 1999;45:481-482.
73. Di Bisceglie AM. Natural history of hepatitis C impact on clinical management. *Hepatology* 2000;31:101.
74. Söyletir G, Doğanay M (Eds). Hepatit C virüsü. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2. Baskı. Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri 2002:1377-1400.
75. Akıncı E, Bodur H. HCV Enfeksiyonunda Klinik ve Tanı. İn: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Eds). *Viral Hepatit 2007. Viral Hepatitle Savaşım Derneği. İstanbul: Oban matbaası 2007:217.*
76. Şentürk H. Hepatit C'de klinik bulgular ve tanı. *Viral Hepatit 2003. Viral Hepatitle Savaşım Derneği* 2003;222-225.
77. Şentürk H, Canbakan B, Yıldırım B. Hepatit C. *Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyumu* 2004;38:151-157.

78. Thomas DL, Ray SC, Lemon SM. Hepatitis C. In: Mandell GL, Bennett JE and Dolin R (Eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, 6 th. ed. Philadelphia, Churchill Livingstone 2005;1950-1981.
79. Marcus EL, Tur-Kaspa R. Chronic hepatitis C virus infection in older adults. Clin Infect Dis 2005;41:1606-1612.
80. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C: Paris, 26-28 February 1999, consensus statement. J Hepatol 1999;30:956-961.
81. Leblebicioğlu H. Viral Hepatitler. İnfeksiyon Hastalıkları Ders Notları. 5. Baskı Samsun 2001.
82. Arman D. Hepatit C tanısı. Köksal İ. Leblebicioğlu H. Kronik hepatitlerin tanı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar Ankara 2009:188-195.
83. Köksal İ. Kronikleşen hepatitler, Hepatit B, Hepatit C ve Hepatit D. Hepatit C virüs enfeksiyonunda tanı testleri İstanbul, 2009:35-37.
84. Orland J, Wright TL, Cooper S: Acute hepatitis C. Hepatology 2001;33(2):321-327.
85. Erdem H. Karaciğer İğne Biyopsisi. Köksal İ. Leblebicioğlu H. Kronik hepatitlerin tanı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar Ankara 2009:54-61.
86. Friedman LS. Controversies in liver biyopsy; Liver disease in the 21st century: clinico-pathologic corelates. AASLD postgraduate course book 2003; Boston, MA:233-243.
87. Caturelli E, Giacobbe A, Facciorusio D. Percutaneous biyopsy in diffuse liver disease: increasing diagnostic yield and decreasing complication rate by routine ultrasound assesment of puncture site. Am J Gastroenterol 1996;1295-1296.
88. Altıparmak E. Karaciğer biyopsisi. In:Tabak F. Balık İ, Tekeli E. (Eds), Viral Hepatit 2005. Viral Hepatitle Savaşım Derneği,Ankara 2005;176-178.
89. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy N Engl J Med 2001;344(7):495-500.
90. Kamal I, Amelia B, Loenerdo B. Histological grading and staging of chronic hepatitis. Journal of Hepatology 1995;22:696-699.
91. Prodromos H, Swan NT, Michael AG. Histological classification and quantitation of the severity of chronic hepatitis: Seminars in liver disease 1995;15:414-421.
92. Desmet VJ. Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M and Scheuer Pj. Classification of Chronic Hepatitis: Diagnosis, Grading and Staging. Hepatology 1994;19:1513-1520.
93. Cooksley WGE, Brodbear RA, Robinson W, Harrison M, Holliday JW, Powel LW et al. The prognosis of chronic active hepatitis without cirrhosis in relation to bridging necrosis. Hepatology 1986;6:345-348.
94. Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, Poulsen HE, Scheuer PJ, Sobin LH. The morphology of cirrhosis: recommendation definition, nomenclature, and classification by a working group sponsored by the World Health organization. J clin Pathol 1978;31: 395-414.
95. Brunt EM. Grading and stating the histopathological lesions of chronic hepatitis the knodellhistology activity index and beyond. Hepatology 2000;31:241-246.
96. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. International Edition: Mosby and WB Saunders, 2001;119-129.
97. Lewinson W, Jawetz E. İmmünoloji. In: Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, Çeviri Editörü: İsmail H Dünder. İstanbul: Barış Kitabevi/Appleton ve Lange, 1998;327-400.

98. Kılıçturgay K. İmmünolojiye Giriş. 2.Basım. Bursa: Güneş Kitabevi, 1991;1-150.
99. Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Molecular Immunology. USA: Saunders Company 2000;235-269.
100. Onat T, Emerk K, Sözman E. İnsan Biyokimyası. 2002;12:557-569.
101. Tokgöz G. Sitokinler. Klinik İmmünoloji. 1997;11:85-100.
102. Minbay A. Sitokinler ve interferonlar. Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker S(eds). In: İmmünoloji. 1. Baskı Ankara: Medisan Yayınevi, 1994;179-192.
103. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. Parslow TG, Stites DP, Terr AI (eds). Medical Immunology. 10 .baskı.International Edition: Mc Graw-Hill Companies, 2001;148-166.
104. Kokuludağ A. Sitokinler. Gümüşiş G, Doğanavşargil E (eds). Klinik Romatoloji. İstanbul;1999;39-46.
105. Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M, İnterlökinler. T Klin J Med Sci. 1998;18:77-84.
106. Kirman I, Vainer B, Nielsen OH. Interleukin-15 and its role in chronic inflammatory diseases. Inflamm Res 1998;47:285-289.
107. Makhatadze NJ. Tumor necrosis factor locus: genetic organization and biological implications. Human Immunology 1998;59:571-579.
108. Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immun responses by TGF-β. Anna Rev Immunol 1998;16:137-161.
109. Szekanecz Z, Koch AE, Kunkel SL, Strieter RM. Cytokines in rheumatoid arthritis: Potential targets for pharmacological intervention. Drugs and Aging 1998;12:377-399.
110. Dudley FJ, Tox RA, Sherlock S. Cellular imunity and hepatitis associated antigen liver disease. Lancet, 1972;1:723-726.
111. Koziel Mj. Cytokines in viral hepatitis. Sem liver Disease, 1999;19:157-169.
112. Andus T, Bauer J, Gerok W. Efects of cytokines on the liver. Hepatology, 1991;13(2):364-375.
113. Borish L, Rosenwasses LJ. Update on cytokines. J.Allergy Clin Immunol, 1996; 97:719-734.
114. Vingerhoets J, Michielsen P, Vanham G, Bosmans E, Paulij W, Ramon A et al. HBV-specific lymphoproliferative and cytokine responses in patients with chronic hepatitis. B. Journal of Hepatology, 1998;28:8-16.
115. Rossol S, Marinos G, Carucci P, Singer MV, Williams R, Naoumov NV. Interleukin-12 induction of Th1 cytokines is important for viral clearance in chronic hepatitis B.J clin Invest, 1997;99:3025-3033.
116. Gencer S, Özer S, Oltan N. Akut ve kronik viral hepatitli hastalarda ve taşıyıcılarda lenfosit alt gruplarının incelenmesi.Viral Hepatit Dergisi.1999;(1):6-12.
117. Van Hecke E, Paradijs J, Molitor C. Hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocyte responses in patient with acute and chronic hepatitis B virus infection. J Hepatol, 1994;20:514-523
118. Millich DR, McLachlan A. The nucleokapsid of hepatitis B virus both a T cell-independent and T cell-dependent antigen. Science, 1986;234:1398-1401
119. Eckels DD, Flomenberg P, Gill JC. Hepatitis C virus: models og immunopathogenesis and prophylaxis. Transfusion, 1996;36:836-844.

120. Tsai SL, Huang SN. T cell mechanism in the immunopathogenesis of viral hepatitis B and C. *J Gastroentrol Hepatol*, 1997;12:227-235.
121. Mc Caughan GW, Napoli J, McGuinness P. T1 and T2 cytokine responses in chronic HCV: implications for mechanisms of liver injury. *Viral Hepatitis Reviews*, 1997;3:129-142.
122. Fang JW, Shen WW, Meager A, Lau JY. Activation of tumor necrosis factor-alpha system in the liver in chronic hepatitis B virus infection. *Am J Gastroenterol*, 1996;91(4):748-753.
123. Gonzales-Amaro R, Garcia-Monzon C, Garcia-Buey L, Moreno-Otero R, Alonso JL, Yagüe E. Induction of tumor necrosis factor alpha production by human hepatocytes in chronic viral hepatitis. *J Exp Med*, 1994;179(3):841-848.
124. Nelson DR, Lim HL, Marousis CG, Fang JW, Davis GL, Shen L. Activation of tumor necrosis factor-alpha system in chronic hepatitis C virus infection. *Dig Dis Sci* 1997;42:2487-2894.
125. Jung MC, Pape GR. Immunology of hepatitis B infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2:43-50.
126. Wang JY, Wang XL, Liu P. Detection of serum TNF-alpha, IFN-beta, IL-6 ve IL-8 in patients with hepatitis B. *World J Gastroenterol*, 1999;5:38-40.
127. Yoshioko K, Kakumu S, Arao M, Tsutsumi Y, Inoue M, Wakita T et al. Immunohistochemical studies of intrahepatic tumor necrosis factor alpha in chronic liver disease. *J Clin Pathol* 1990;43:298-302.
128. Kim D.W, Suziki R, Harada T, Saito I, and Miyamura T. Transsuppression of gene expression by hepatitis c viral core protein. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 1994; 47:211-220.
129. Matsumoto M, Hsieh T.Y, Zhu N, VanArsdale T, Hwan S.B, Jeng K.S. et al. Hepatitis C virüs core protein interacts with the cytoplasmic tail of lymphotoksin-b receptor. *J. Virol.* 1997;71:1301-1309.
130. Hsu H, Xiong J, and Goeddel DN. The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NF-kB activation. *Cell* 1995;81:495-504.
131. Zylberberg H, Rimaniol AC, Pol S, Mason A. Solubl tumor necrosis factor reseptors in chronic hepatitis C: *J Hepatol.* 1999;30:185-191.
132. Chu CM, Sheen IS, Yeh CT, Hsieh SY, Tsai SL and Liaw YF. Serum levels of interferon-alpha and gamma in acute and chronic hepatitis B virus infection. *Dig Dis Sci*, 1995;40:2107-2112.
133. Fuji A, Kakumu S, Ohtani Y, Murase K, Hirofuji H and Tahara H. Interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic liver disease. *Hepatology*, 1987;7:577-581.
134. Jiang R,Feng X, Guo Y, Lu Q, Hou J, Luo K et al. T Helper cells in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Chin Med J* 2002;115:422-424.
135. Tangkijvanich P, Vimolket T, Theamboonlers A, Kullavanijaya P, Suwangool P, Poovorawan Y. Serum IL-6 and IFN-gama levels in patients with hepatitis B-associated chronic liver disease. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2000;18(2):109-114.
136. Abaylı B, Canataroğlu A, Akkız H. Serum profile of T Helper 1 and T Helper 2 cytokines in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Turk J Gastroenterol* 2003; 14:7-11.

137. Bozyaka H, Bozdayı M, Türkyılmaz R, Sarıoğlu M, Çetinkaya H, Çınar K, Köse K, Yurdaydın C, Uzunlmođlu O. Circulation IL-2, IL-10 and TNF-alpha in chronic hepatitis B: their relations to HBeAg status and the activity of liver disease. *Hepatogastroenterology*, 2000;47:1675-1679.
138. Ayramescu Cs. Correlations among the serum levels of some interleukins and the histopathological aspects in chronic viral hepatitis C. *Rom J Morphol Embryol* 2008; 49:57-62.
139. Kimura K, Kakimi K, Wieland S, Guidotti LG, Chisari FV. Interleukin-18 inhibits hepatitis B virus replication in the livers of transgenic mice. *J Virol* 2002;76:10702-10707
140. İkiz S, Eyigün C.P, Coşkun Ö, Gül C. H. Hepatit B Virüs enfeksiyonunun çeşitli klinik formlarında IL-18, TGF-β, TNF-α, MMP-2 ve MMP-9 serum düzeylerinin karşılaştırılması. *Viral Hepatit Dergisi* 2007;12:82-90.
141. Sharma A, Chakraborti A, Das A, Dhiman RK, Chawia Y. Elevation of interleukin-18 in chronic hepatitis C: İmplications for hepatitis C virus pathogenesis. *Immunology*, 2009;128:514-522.
142. Neuman MG, Benhamou Jp, Bourliere M, Ibrahim A, Malkiewicz I, Asselah T et al. Serum tumor necrosis factor-α and transforming growth factor-β levels in chronic hepatitis C patients are immunomodulated by therapy. *Cytokine* 2002;17:108-117.
143. Kirmaz C, Terziođlu E, Topalak O, Bayrak P, Yılmaz O, Ersöz G, Sebik F. Serum transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) in patients with cirrhosis, chronic hepatitis B and chronic hepatitis C eur cytokine netw. 2004;15:112-116.