



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

KRONİK VİRAL HEPATİTLİ HASTALARDA  
MANNOZ BAĞLAYAN LEKTİN GEN POLİMORFİZMİ İLE  
KARACİĞER HİSTOPATOLOJİSİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Uzm. Dr. Ahmet Tarık EMİNLER

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Bursa-2011



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

**KRONİK VİRAL HEPATİTLİ HASTALARDA  
MANNOZ BAĞLAYAN LEKTİN GEN POLİMORFİZMİ İLE  
KARACİĞER HİSTOPATOLOJİSİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**Uzm. Dr. Ahmet Tarık EMİNLER**

**YANDAL UZMANLIK TEZİ**

**Danışman: Prof. Dr. Selim GÜREL**

**Bursa-2011**

## İÇİNDEKİLER

Özet .....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Giriş.....	1
Hepatit B Virüsü.....	1
Hepatit C Virüsü.....	10
Doğal Bağışıklık Sistemi.....	14
Mannoz Bağlayan Lektin.....	15
Mannoz Bağlayan Lektin ve Gastrointestinal Sistem.....	18
Gereç ve Yöntem.....	21
Bulgular.....	27
Tartışma ve Sonuç.....	38
Kaynaklar.....	44
Ekler .....	48
EK-1: Kısaltmalar.....	48
Teşekkür.....	49
Özgeçmiş.....	50

## ÖZET

Viral hepatitlerde karaciğer hasarı gelişmesini etkileyen faktörler içerisinde kişinin immün durumunun da önemli olduğu son dönemde üzerinde durulan konulardan biridir. Yapılan çalışmalarda diğer tüm infeksiyöz durumlarda olduğu gibi viral infeksiyonlarda da doğal immün yanıtın önemi vurgulanmıştır.

Mannoz bağlayan lektin kalsiyum bağımlı C tipi bir serum lektinidir ve kompleman sistemi aktive ederek doğal immün yanıtta rol alır. MBL ile hepatit B infeksiyonu ilişkisinde, Mbl2 genindeki mutasyonlar ve buna bağlı düşük MBL düzeyleri ile HBV'nin yaptığı hastalık derecesi arasında ilişkiler bulunmuştur. Kronik Hepatit C'de ise yüksek MBL düzeylerinin patoloji ve tedaviye cevap ile pozitif ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Biz bu çalışmada MBL'yi kodlayan Mbl2 geninde kodon 54 polimorfizmleri ile kronik viral hepatit B ve C'li hastaların histopatolojik bulguları arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya çalıştık.

Çalışmada 70 Kronik hepatit B ile 30 Kronik hepatit C hastası incelendi. Her iki viral hepatit grubunda hastalar Ishak skorlamasındaki Modifiye Histolojik Aktivite indeksi (HAI) ve fibrozis skorlarına göre Mbl2 gen kodon 54 polimorfizmleri açısından karşılaştırıldı. Kronik hepatit B'de ilerlemiş fibrozis grubunda istatistiksel olarak anlamlılığa yakın derecede kodon 54 mutasyonu varlığı mevcuttu ( $p=0,052$ ). Kronik hepatit C grubunda ise aktivite ve fibrozis skorlarına göre ayrılan gruplar arasında ise mutasyon varlığı ile herhangi bir istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi.

Sonuç olarak; HBV ve HCV infeksiyonlarının seyrinde MBL'nin rol oynadığı kabul edilmekle beraber, MBL gen polimorfizmi ve MBL düzeyi ile hastalık progresyonu ve tedavisi arasındaki ilişkiyi inceleyen daha geniş çapta çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** Kronik hepatit B, kronik hepatit C, mannoz bağlayan lektin

## SUMMARY

### **The Relationship of Mannose Binding Lectin Polymorphism and the Liver Histopathology in Patients with Chronic Viral Hepatitis**

Factors affecting the development of liver damage in viral hepatitis in the person's immune status are one of the important issues to be dealt with in the last period. As in all other cases, the studies of viral infections emphasize the importance of the innate immune response.

Mannose binding lectin is a serum calcium dependent C type lectin and plays a role in natural immune response by activating the complement system. In relation with MBL and Hepatitis B infection, there has been found a relationship between Mbl2 gene mutations and depending on this, low MBL levels and the degree of the damage made by HBV. Chronic hepatitis C, high MBL levels positively correlated with pathology and response to treatment was considered.

In this study we investigated the relationship between codon 54 polymorphism in Mbl2 gene which encoding the MBL and histopathologic findings in chronic viral hepatitis B and C patients.

70 chronic hepatitis B and 30 with chronic hepatitis C patients were investigated. Both patients with viral hepatitis group were compared with Modified Histological Activity Index (HAI) and fibrosis scores in Ishak scoring system, according to the Mbl2 gene codon 54 polymorphism. In chronic hepatitis B, advanced fibrosis group had a presence of codon 54 mutation close to statistical significance ( $p = 0.052$ ). In the groups activity and fibrosis in chronic hepatitis C, according to the scores allocated to any statistical significance between groups was detected by the presence of the mutation.

As a result, although it is accepted that MBL plays a role in the courses of HBV and HCV infections, more extensive trials that investigate the

relationship between MBL gene polymorphism and MBL levels with the disease progression and treatment are necessary.

**Key words:** Chronic hepatitis B, chronic hepatitis C, mannose binding lectin.

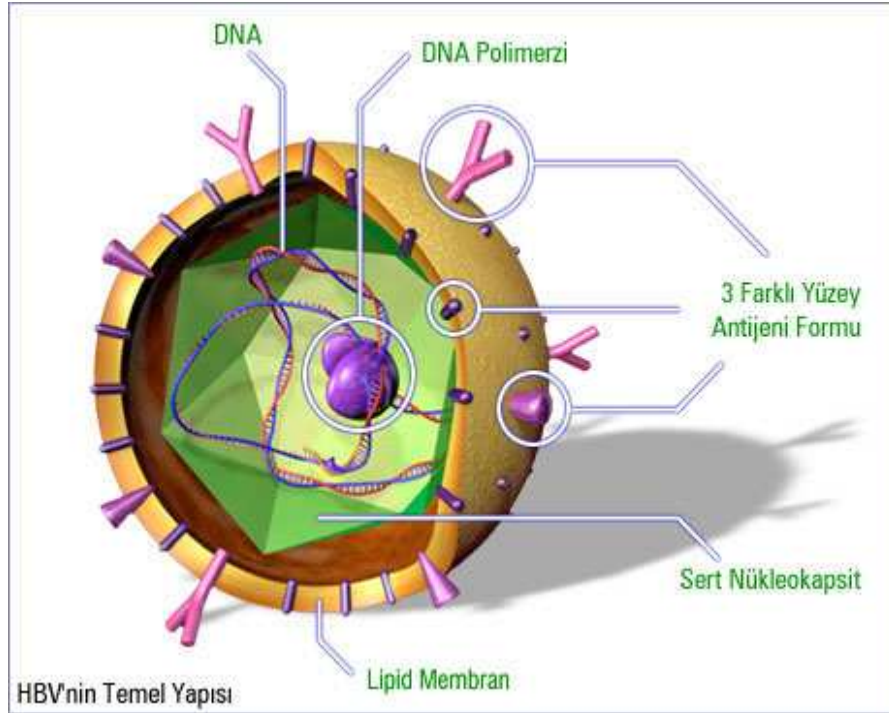
# GİRİŞ

## I. Hepatit B Virüsü

### I.A. Tanım ve Viroloji

HBV, Hepadnoviridea ailesinin ortohepatnoviridea subfamilyasının bir üyesidir ve sadece insanlarda ve deneysel olarak şempanzelerde enfeksiyona neden olur.

HBV kısmi çift sarmal DNA'sı bulunan zarflı bir virüstür. DNA virüsü olmasına rağmen replikasyonunu reverse transkriptaz enzimi aracılığıyla RNA üzerinden yapmaktadır. En dışta yüzey antijenlerini taşıyan bir lipid zarf yer almaktadır. Zarfın içinde ise viral genomu ve HBc Ag'i içeren, iközohedral yapıda nükleokapsid yer alır (1). (Şekil-1)



**Şekil-1:** Hepatit B virüsünün yapısı.

Viral genom 4 farklı proteini kodlayan “open reading frame (ORF)” bölgeden oluşur:

- 1-Kor (Core) geni
- 2-Yüzey antijeni geni
- 3-X geni
- 4-Polimeraz genleri.

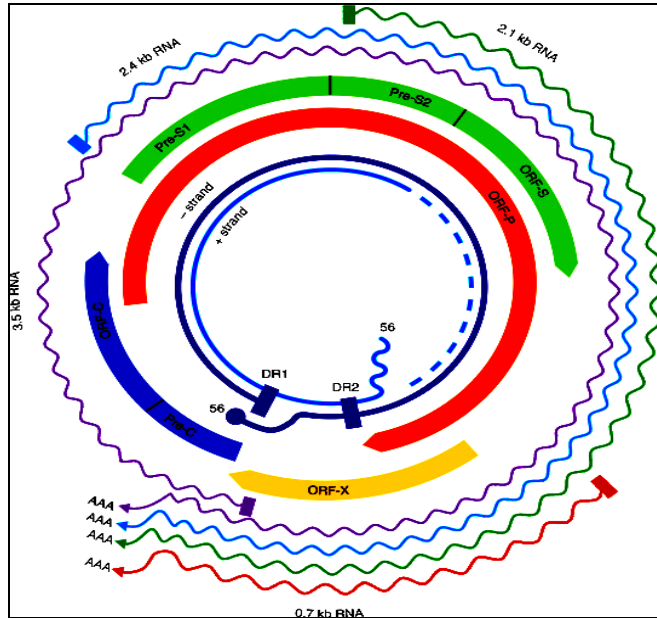
Kor geni, sırasıyla HBcAg ve HBeAg proteinini kodlayan kor ve prekor bölgeler içerir.

Yüzey geni, pre-S1(büyük), pre-S2(orta) ve S(küçük) yüzey proteinlerini kodlar.

X geni viral karsinogenez ile ilişkili olduğu düşünülen X proteinini kodlamaktadır.

Polimeraz geni ise polimeraz enzimini kodlar.

Viral genom 3200 baz çiftinden oluşur, kısmen çift (%70) ve kısmen tek (%30) sarmalıdır. Negatif sarmal tüm genomu içerir ve birim uzunluktadır, pozitif sarmal ise daha kısa olup uzunluğu negatif sarmalın 2/3'ü kadardır (2). (Şekil-2)



Şekil-2: Hepatit B virüsü genomik yapısı.



HBV 8 major genotipe (A-H) sahiptir. Bu farklı genotipik dağılım gruplar arasında tüm nükleotid sekanslarında % 8'den daha çok farklılıktan kaynaklanmaktadır. Hepatit B virüsünün genotiplerinin coğrafi dağılımı ve özellikleri Tablo-1'de özetlenmiştir (3). Ülkemizde baskın olan HBV genotipi Genotip D'dir (>%90) (4).

**Tablo-1:** Hepatit B virüsünün genotiplerinin coğrafi dağılımı ve klinik özellikleri.

---

A	Kuzeybatı Avrupa, Kuzey Amerika, Afrika
B ve C	Güneydoğu Asya
D	Güney Avrupa, Orta doğu, Hindistan
E	Batı Afrika
F	Orta ve Güney Amerika, Amerikan yerlileri
G	ABD, Fransa
H	Orta ve Güney Amerika
	✓ HBeAg serokonversiyonu ve HBsAg kaybı C>B
	✓ Kronikleşme D>A
	✓ İnterferon alfa ile tedaviye yanıt A > B ≥ C > D
	✓ Hızlı ilerleyen kronik hastalık C>B
	✓ Kor-prekor mutantlar D>B>C>>>A

---

### **I.B. Epidemiyoloji**

HBs Ag ve anti-HBs gibi serumda kalıcı göstergelerinin varlığı sayesinde HBV infeksiyonunun prevalansı çok iyi araştırılabilmiştir. HBV göstergeleri ve taşıyıcıların prevalansı dikkate alınarak dünya; düşük, orta ve yüksek endemisite bölgelerine ayrılmıştır.

Prevalansın düşük olduğu bölgelerde başlıca yetişkinler risk altındadır ve bulaş yolu genellikle perkütan ve cinsel yoldur. Orta ve yüksek endemisite gösteren bölgelerde ise başlıca çocuk ve adölesanlar risk altındadır ve perinatal bulaş en önemli nedendir.

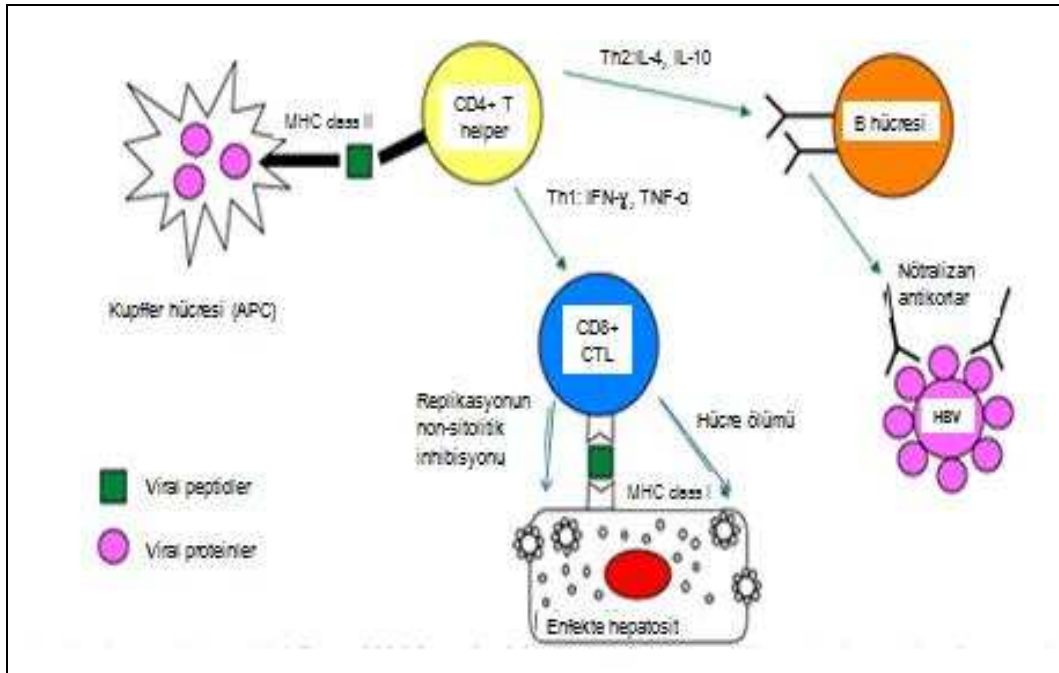
Ülkemiz genel taramalarda ortaya konan %3,9-12,5 arasındaki HBsAg seroprevalansı değerleri ile orta derecede endemik bir ülke konumundadır (5).

### I.C. Patogenez

Hepatit B virüsü sitopatik bir virüs değildir. Enfekte olan bireylerde ilerleyici karaciğer hastalığı virüsa karşı gelişen immün yanıt nedeniyle olur. Hepatit B virüsüne karşı hem doğal hem de adaptif immün yanıt uyarılır. Virüsün klirensinde öncelikle hücresel immün yanıt önemli rol oynasa da humoral yanıtın da katkısı olduğu bilinmektedir.

Akut HBV infeksiyonları sırasında doğal immün yanıtın elemanları olan TNF-alfa, IFN alfa ve beta tarafından HBV DNA'nın çoğu (%90'a kadar) ortadan kaldırılır. Bu aşamadan sonra ise enfekte hepatositler Th1 yanıtının ön planda olduğu HBV-spesifik sitotoksik CD8<sup>+</sup> T lenfositleri tarafından temizlenir.

Kronikleşen infeksiyonlarda ise sitotoksik T lenfosit yanıtı yetersizdir ve Th2 lenfositlerin rol oynadığı humoral yanıt ön plandadır (6). (Şekil-3). Hastalığın sınırlandırılması veya kronikleşmesine neden olan viral ve konak faktörleri son dönemde üzerinde çok durulan konular haline gelmiştir.



Şekil-3: Hepatit B virüsüne karşı oluşan immün yanıt.

#### **I.D. Histopatolojik Bulgular**

Karaciğerin histopatolojik olarak değerlendirilmesi tüm kronik karaciğer hastalıklarında olduğu gibi kronik hepatit B tanılı hastalarda da önemlidir. Hepatit B infeksiyonunda histopatolojik olarak diğer hepatitlerde de görülebilen tüm bulgular izlenebilir. Kronik Hepatit B infeksiyonunun en tipik özelliği buzlu cam hücreleridir. Bu görünümü oluşturan HBs Ag içeren endoplazmik retikulumdan oluşan ince sitoplazmik inklüzyonlardır. Hepatositlerin nükleusları pembe, ince granüler inklüzyonlar (kumlu nükleus) içerir ki bunlar da kor yapısına işaret ederler ve HBcAg pozitif saptanırlar. Bu şekilde nükleer boyanma aktif replikasyonun göstergesidir.

Kronik hepatit B'de inflamatuvar bulgular çok hafif ya da ağır olabilir. Hafif formlarında inflamasyon portal alana lokalize iken, aktivite arttıkça periportal nekroz (güve yeniği) ve lobüller arası uzanım gösteren köprüleşme nekrozları ortaya çıkar. Fibrozis ileri derece hasarın göstergesidir. Fibrozis de öncelikle portal alanda başlar ve devamında lobüller arası uzanım gösteren fibrotik bantlar oluşur. Devam eden hepatosit kaybı, fibrozis ve rejenerasyon nodülleri varlığı karaciğerde siroz oluşumunun histopatolojik bulgularıdır.

Histopatolojik incelemede karaciğer dokusundaki nekroinflamatuvar aktivite; köprüleşme nekrozu ile birlikte olan veya olmayan periportal inflamasyon, lobular inflamasyon ve portal inflamasyona göre değerlendirilir. Fibrozis ise ayrı bir kriter olarak incelenir. İnflamasyon ve nekroz hastalığın aktivite derecesini (grade) gösterirken, fibrozis prognostik değer taşır ve hastalık evresini (stage) gösterir.

Kronik hepatit B infeksiyonunun histopatolojik değerlendirmesinde Knodell, Modifiye Knodell (Ishak), Scheuer gibi skorlamalar kullanılmaktadır (7-9) (Şekil-4).

Modifiye HAI derecelendirmesi: Nekro inflamatuvar skorlar	SKOR
<b>A.Periportal veya periseptal interface hepatiti</b>	
Yok	0
Hafif (fokal, birkaç portal alanda)	1
Hafif/Orta (fokal, portal alanların çoğunda)	2
Orta (trakt ya da septaların %50'sinden azında, çevresinde devamlılık gösteren)	3
Şiddetli (trakt ya da septaların %50'sinden 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 multiasiner nekroz	6
<b>C. Fokal ("spotty") litik nekroz, apoptozis ve fokal inflamasyon</b>	
Yok	0
1 veya daha az odak (x100'lük her büyütmede)	1
2-4 odak (x100'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

Modifiye HAI derecelendirmesi: Yapısal değişiklikler, fibrozis ve siroz	
Değişiklik	SKOR
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 genişleme 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
İnkomplet Siroz	5
Siroz (Olası veya kesin)	6

**Şekil-4:** Kronik viral hepatitlerde Ishak skorlaması.

### I.E. Doğal Seyir ve Klinik Bulgular

Hepatit B infeksiyonunun klinik spektrumu asemptomatik infeksiyondan fulminan hepatite kadar geniş bir yelpazedir. HBV infeksiyonunun doğal seyri, klinik olarak iyi ortaya konulmuş ancak patogenetik mekanizmalar açısından çok iyi anlaşılmamış bir süreçtir. Bilindiği gibi akut B hepatitinden sonra hastaların bir kısmında tam şifa görülürken, bir grup hastada ise hastalık kronikleşmektedir. Akut B hepatitinden sonra neden değişik sonuçların ortaya çıktığı tam olarak bilinmemekle beraber araştırmalar, vücudun immün sisteminin

maturasyonunun, immün cevabın şiddetinin ve virüsün özelliklerinin bu süreçte önemli rol oynadığını göstermiştir.

İnfeksiyon erişkinlerin %95'inde HBsAg klirensi ve doğal bağışıklık gelişimi ile sonuçlanır.

### **I.E.a. Akut Hepatit B İnfeksiyonu**

İnkübasyon periyodu, viral yükü doğru orantılı olarak 2-6 ay arası değişir. Klinik bulguların ortaya çıkmasından 1-6 hafta önce HBs Ag ve ardından HBe Ag kanda saptanabilir ve bundan 1-2 hafta sonra da anti HBc IgM oluşur.

İnkübasyon sonrasında yaklaşık bir hafta süren preikterik (prodromal) evrede ateş, halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma ve kas ağrıları görülebilir. Bu dönemdeki semptomlar HbsAg ile oluşan immün komplekslerin kompleman aktivasyonuna yol açması nedeniyle ortaya çıkar (10). Bu dönemde laboratuvar olarak ALT yükselmiştir, serumda HBV DNA ve HBsAg, HBeAg ve AntiHBc IgM varlığı devam eder. Serum ALT değerleri genellikle 1000-2000 IU/L civarındadır. Sarılık ve koyu renkli idrarın ortaya çıkması ile 1-2 hafta sürecek olan ikterik dönem başlar. Daha sonra ise konvalesan dönem başlar. En erken kaybolan antijen HBe Ag'dir ve eş zamanlı olarak serumda AntiHBe antikoruna saptanır. Replikasyonun baskılanması ile yaklaşık olarak hastalık semptomlarının başlamasından 12 hafta sonra serum HBV DNA düzeyi saptanamayacak kadar düşüktür. Konvalesan dönemin başında HBs Ag kandan kaybolur ve ortalama 8 hafta sonra (pencere dönemi) AntiHBs antikoruna oluşur. Pencere döneminde serum AntiHBc IgM tek tanısal test olarak değerlidir. Ardından AntiHbc IgG (total anti HBc) oluşur ve ömür boyu pozitif kalır. Doğal bağışıklık kazanılmış olur.

Fulminan hepatit hastaların yaklaşık %0,5'inde ve klinik bulguların ortaya çıkmasından sonraki 4 hafta içinde görülür. Mortalite %80'den fazladır (11).

Hbs Ag'nin kanda 6 aydan uzun süre kalması kronikleşmeyi düşündürür. Ayrıca HBe Ag'nin kanda 10 haftadan uzun süre devam ettiği hastalarda da kronikleşme açısından dikkat edilmelidir (12).

### **I.E.b. Kronik Hepatit B İnfeksiyonu**

Kronik hepatit B'li hastaların öyküsünde genellikle akut veya semptomatik bir hastalık yoktur. Semptomatik olanlarda ise gastroenterit ve subfebril ateş öyküsü alınabilir ve genel olarak ön planda halsizlik ve bazı hastalarda sağ üst kadran ağrısı görülür. Fizik muayene tamamen normal olabileceği gibi hepatosplenomegali görülebilir.

Hepatit B infeksiyonunun kronikleşmesi; virüs, hepatosit ve inflamatuvar yanıt arasındaki dengelere göre 4 fazda seyreder:

- a)İmmüntolerans faz
- b)İmmünlirens faz
- c)Non-replikatif (inaktif taşıyıcı) faz.
- d)Reaktivasyon dönemi

Hastaların nasıl seyredeceği, bu fazların ne kadar süre boyunca devam edeceği ve şiddeti, kişinin enfekte olduğu yaş, hepatit B virüsünün genotipi, immün klirens dönemindeki serum ALT seviyesi gibi pek çok faktöre bağlı olarak gelişir.

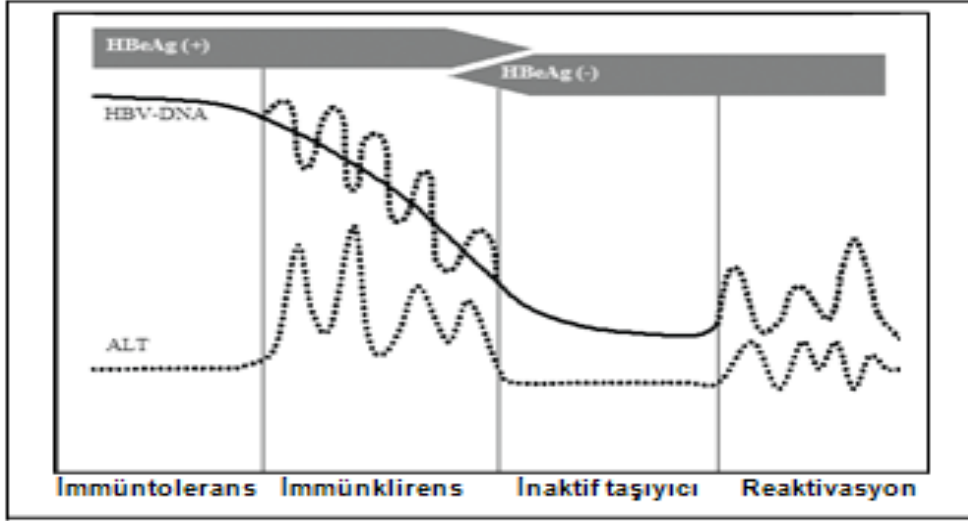
Erken çocukluk döneminde enfekte olan bireylerde yüksek DNA düzeylerine karşı aminotransferazlar normaldir ve aktif hepatit tablosu yoktur. Bu durum immün tolerans olarak adlandırılır. Özellikle perinatal dönemde HBe Ag varlığı yenidoğanda immün toleransa neden olur. Hastalar ilk 20 yıl immüntoleran fazda kalırken genelde 20'li yaşlarda immün klirens fazına geçiş ile beraber 30'lu yaşlarda inaktif taşıyıcı haline gelebilir.

İmmünlirens fazında hastalarda HbeAg hala pozitifdir, serum HBV-DNA ve ALT seviyeleri dalgalanma gösterir. Bu dönemde immün sistem enfekte hepatositleri ortadan kaldırmaktadır. Bu dönem genellikle uzun yıllar devam eder. İmmünlirens fazında aminotransferazların 5 kattan fazla yükselmesi "hepatik alevlenme" olarak tanımlanır. Hepatik alevlenme hepatik dekompanseasyonla sonuçlanabileceği gibi HBeAg serokonversiyonu (inaktif taşıyıcılık fazına geçiş) ve HBs Ag klirensi ile de sonuçlanabilir.

İnaktif taşıyıcılık fazı, Anti-HBe'nin oluşması ile başlar. HBV DNA seviyesi ve aminotransferazlar düşer, karaciğerdeki nekroinflamasyon durur. Bu faz ömür boyu sürebilir ancak bazı hastalar reaktivasyon fazına girebilir;

HBV DNA ve ALT yükselir, HBe Ag seroreversiyonu olabilir/ olmayabilir. (Şekil-5).

Kronik hepatit B infeksiyonu olan hastalarda yıllık spontan HBe Ag serokonversiyonu %2-15, HBs Ag serokonversiyonu ise %1 oranında gözlenir (11).



**Şekil-5:** Hepatit B infeksiyonunun fazları.

### I.F. Tanı

Akut hepatit tablosu dışında Hepatit B infeksiyonu genelde sessizdir ve rastlantısal testlerde ya da taramalar sırasında saptanır. Hastalık tanısında kullanılan serolojik belirteçler ve yorumları Tablo-2'de gösterilmiştir.

**Tablo-2:** Hepatit B infeksiyonu tanısında kullanılan serolojik belirteçler.

	HBs Ag	Anti-HBs	HBe Ag	Anti-HBe	Anti-HBc IgM	Anti-HBc IgG
<b>İnkübasyon periyodu</b>	+	-	+	-	-	-
<b>Akut enfeksiyon</b>	+	-	+	-	+	-
<b>Akut infeksiyon pencere dönemi</b>	-	-	-	-	+	+/-
<b>Akut infeksiyon konvalesan dönem</b>	-	-	-	+	+/-	+
<b>Kronik inaktif (taşıyıcı)</b>	+	-	-	+	-	+
<b>Kronik hepatit İmmun aktif/ immüntolerans faz</b>	+	-	+	-	-	+
<b>Doğal bağışıklık</b>	-	+	-	+/-	-	+
<b>Aşı ile immünite</b>	-	+	-	-	-	-

### **I.G. Prognoz**

Kronik HBV tanılı hastaların yaklaşık olarak 1/3'ünde uzun dönemde siroz, terminal dönem karaciğer hastalığı ya da hepatoselüler karsinom gibi ciddi komplikasyonların geliştiği bilinmektedir. Prognoz hem viral (HBV DNA seviyesi, HBV genotipi, mutant virüsler) hem de konağa ait faktörler (yaş, cinsiyet, genetik yapı ve immün sistem) ile ilişkilidir (13).

## **II. Hepatit C Virüsü**

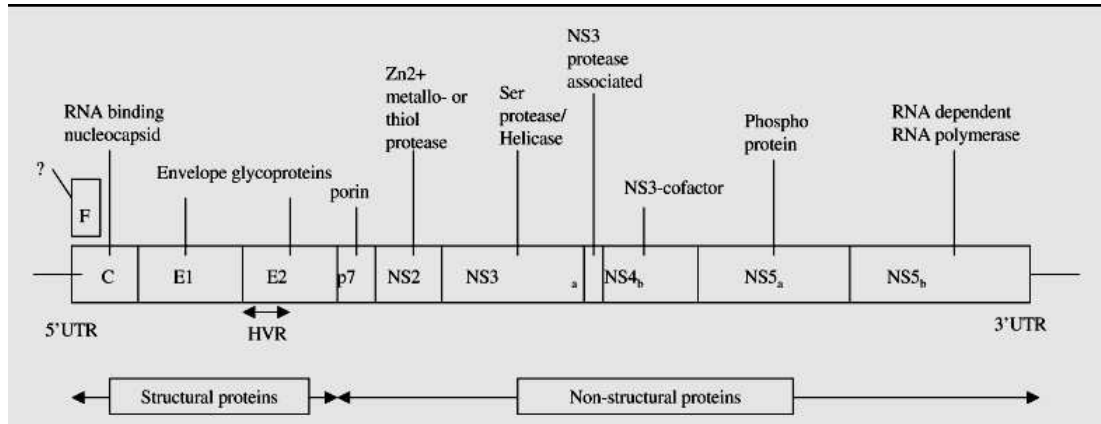
### **II.A. Tanım ve Viroloji**

Hepatit C virüsü Flaviviridae ailesine ait Hepacivirüs cinsinin bir üyesidir. Filtreleme ve elektron mikroskopi çalışmalarına göre HCV parçacıkları 40-70 nm çapındadır (14). HCV translasyonunda yaklaşık 3000 aminoasitlik bir poliprotein oluşturulur. Bu çoklu protein hücrel ve viral proteazlar tarafından dört yapısal (kor proteini, zarf proteinleri E1, E2 ve p7) ve altı tane yapısal olmayan proteine (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A ve NS5B) parçalanır (Şekil-6).



HCV yüksek derecede genetik çeşitlilik gösteren bir virüstür. Bunun temel nedeni yüksek replikatif aktivite ve RNA bağımlı RNA polimerazın (RdRp) doğrulama onarımı (“proof-reading”) aktivitesinin eksikliğidir (15). HCV enfeksiyonu tipik olarak kronik seyredir. Zaman içerisinde mutasyonların birikimi sonucu küçük nükleotit değişiklikleri ile birbirinden ayrılan fakat birbirine oldukça yakın varyantlardan oluşan “quasispecies” meydana gelir. “Quasispecies” enfekte bir bireyde bulunan HCV genom popülasyonunun genetik heterojinitesi olarak tanımlanır (14).

HCV'nin 6 genotipi ve çok sayıda subtipi tanımlanmıştır. Genotipler nükleotit düzeyinde birbirinden % 31-33 farklılık gösterirken, subtipler % 20-25'lik fark göstermektedir. Özellikle verilen tedavinin başarısında genotip tayini önemli yer tutmaktadır. Tedaviye kalıcı yanıt Genotip 1 ve 4 için %52 iken; Genotip 2 ve 3 'de bu oran daha kısa süre tedavi ile % 85'lere çıkabilmektedir (16). Ülkemizde yapılan çalışmalarda baskın HCV genotipi 1b olarak (%68-94) bulunmuştur (17).



**Şekil-6:** Hepatit C virusunun şematik olarak genomik yapısı.

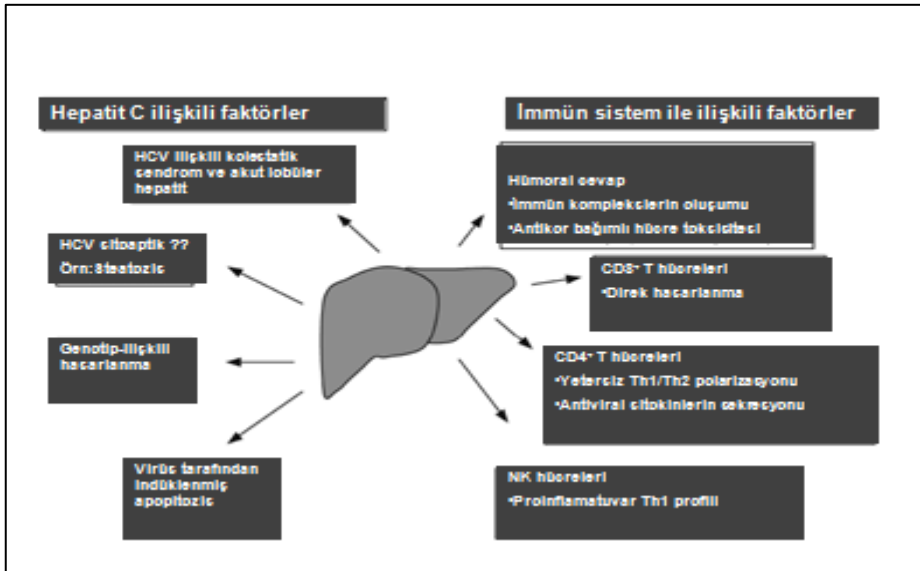
## II.B. Epidemiyoloji

Dünya nüfusunun yaklaşık %3'ünün HCV ile enfekte olduğu düşünülmektedir (18). Ülkemizde HCV sıklığı %1-2,4 arasında değişmektedir. Bu oranlar farklı popülasyonlarda %0,05-51,6 arasında değişmektedir. En yüksek oran hemodiyaliz hastalarındadır. Tüm çalışmalar dikkate alındığında Anti-HCV prevalansı ülkemizde %1,35 olup dünya

ortalamasının altındadır. HCV insidansının en sık olduğu yaş grubu 20-39'dur (19).

### II.C. Patogenez

Akut hepatit C infeksiyonundan sonraki altı ay içerisinde hastaların ancak %10-25'inde spontan olarak virüs klirensi olabilmektedir. Hepatit C virüsü ile enfekte olan hastaların önemli bir çoğunluğunda kronik hepatit gelişmektedir. Sitotoksik T-hücre hasarı kronik C hepatitindeki hücre hasarından sorumludur. Karaciğer hasarının önemli bir kısmı immünolojik sistem üzerinden olmaktadır. Fakat histopatolojik olarak steatoz görülmesi direk sitopatik etkinin olabileceğini de düşündürmektedir. Virüse özgü CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T hücreleri hem viral kontrolden hem de karaciğer hasarından sorumludur. Fakat kronik C hepatitinde karaciğer hasarı sadece bağışıklık sistemi üzerinden olmaz. HCV, oksidanlarda artış ve hücrelerin anti-oksidan kapasitelerinde azalma yaparak oksidatif strese yol açar. Aynı zamanda hepatit C virus core proteininin insülin direncine yol açarak karaciğer yağlanmasına yol açtığı ve bunun da karaciğerdeki hasarlanmayı arttırdığı tahmin edilmektedir (20, 21) (Şekil-7).



**Şekil-7:** Hepatit C virüs patogenezinde rol alan faktörler.

## **II.D. Histopatolojik Bulgular**

Kronik C hepatitinin histopatolojisinde hepatit B'deki "buzlu cam" görünümü gibi patognomonik olmayan ancak karakteristik bazı bulguları vardır. Bunlar; intraportal lenfoid agregatlar, lenfoid folliküller, safra duktus lezyonları, steatoz, pansiner hepatit, demir birikimi, displazi ve Mallory cisimciği olarak söylenebilir. Genellikle biyopside kronik persistan ile kronik aktif hepatit sınırında "borderline" aktivite görülür (22).

Histolojik aktivite ve fibrozisinin tayininde Kronik C hepatitinde de hepatit B'de kullanılan skorlama sistemlerinden faydalanılır.

## **II.E. Doğal Seyir ve Klinik Bulgular**

Akut HCV tipik olarak kronik infeksiyona neden olup, %60-80 hastada kronik hepatit hali izlenir. Spontan iyileşme (Normal ALT ve Negatif HCV-RNA) ile ilişkili faktörler; düşük miktarda bulaş, genç yaşta infeksiyonun kazanılması, kadın cinsiyet, yeterli immünitenin olması ve bazı spesifik HLA subtipleri olarak söylenebilir. Kronik hepatit hastalarının da hepsinde HCV-RNA pozitif olmakla beraber %30-40'ında ALT değerleri normal sınırlarda seyredebilir.

Kliniği genellikle sessiz olup hastalar genellikle rutin biyokimyasal inceleme ya da kan transfüzyonu öncesi tesadüfen tespit edilirler. %20 kadar hastada asemptomatik akut hepatit tablosu görülebilir. Bu hastaların %10-20'sinde sarılık, %20-30 kadarında da halsizlik, bulantı, kusma gibi non-spesifik semptomlar vardır. HCV-RNA bulaştan 2-3 hafta sonra, Anti-HCV ise 15 gün ile 3 ay arasındaki bir sürede pozitifleşir.

Kronik Hepatit C'li hastalarda başta yorgunluk olmak üzere artralji, parestezi, myalji ya da kaşıntı görülebilecek semptomlar arasındadır. İlerlemiş vakalarda ise ortaya çıkan komplikasyonlara ilişkin semptomlar gözlenir (23).

## **II.F. Tanı**

HCV'nin tanısında kullanılan virolojik testler anti-HCV antikor testleri, HCV-RNA viral yükünün ölçümü ve genotipleme testleridir. HCV antikor tayini için günümüzde 3. kuşak "enzyme immune assay" (EIA) kullanılmaktadır. Bu test ucuz ve kolay uygulanabilir olmakla beraber akut ve kronik infeksiyonları

ayırmada yardımcı olmaz, sadece hastanın HCV ile karşılaştığını gösterir. HCV-RNA'nın saptanması ve kantifikasyonu için geliştirilmiş ve ticarileştirilmiş son testler real-time PCR tekniğine dayanır. PCR ve serolojik yöntemler HCV genotiplemesinde de kullanılır.

### **II.G. Prognoz**

Kronik hepatit C'nin progresyonu sıklıkla sessiz olmaktadır. Bu hastalar devam eden hepatosellüler inflamasyon ile karakterize progresif karaciğer hastalığı açısından risk altında olup, bu hastalarda fibrozis ve takiben siroz (kompanse veya dekompanse), en sonunda da hepatosellüler kanser gelişebilir. Kronik hepatit C'de siroz gelişimine kadar sağkalımda genelde bozulma görülmez. Kompense karaciğer sirozu olanlarda 3,5 ve 10 yıllık sağkalım oranları sırasıyla % 96, %91 ve %79 olarak verilmiştir. Ancak dekompanse siroz geliştikten sonra 5 yıllık sağkalım şansı % 50'lere düşmektedir (24).

## **III.Doğal Bağışıklık Sistemi**

### **III.A. Tanım**

Herhangi bir patojenle ilk karşılaşmada ortaya çıkan bağışıklık yanıtıdır. Patojene karşı özel bir hafıza olmaksızın işlev görür. Ayrıca edinsel bağışıklığın farklılaşmasında da rol oynar.

### **III.B. Doğal Bağışıklık Sisteminin Elemanları**

Doğal bağışıklık sisteminin elemanları şu öğeleri içerir:

1. Epitel tabakası ve mukozal engeller
2. Fagositler (monosit, makrofajlar)
3. Kompleman sistemi
4. Doğal bağışıklık sitokinleri
5. Plazma proteinleri (akut faz proteinleri) (25).

Konak ile temas bölgesindeki fiziksel ve kimyasal bariyerleri aşan enfeksiyöz ajan "patern tanıyan moleküller" olarak adlandırılan bir grup protein ile karşılaşır. Bu moleküller temel olarak enfeksiyöz etkenin fagositozu ve lizisine neden olurken diğer yandan edinsel immün sistemin

uyarılmasını da sağlar. Toll benzeri reseptörler, kollektin ve fikolinler patern tanıyan moleküllere örnek olarak gösterilebilir. Mannoza bağlayan lektin insan kollektinleri arasında en iyi tanımlanmış olanıdır (26).

#### **IV. Mannoza Bağlayan Lektin**

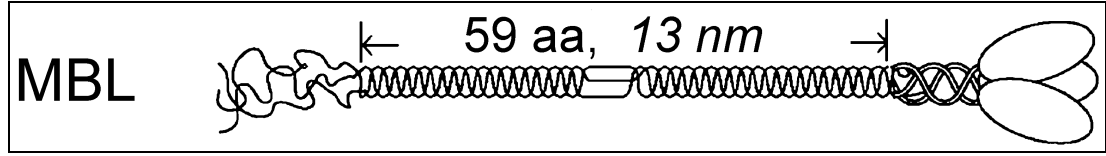
##### **IV.A. Tanım ve Tarihçe**

1946 yılında Nobel ödülü alan Sir Frank Macfarlane Burnet, serumda influenza virüsünü inaktive eden 3 adet inhibitör protein (alfa, beta, gamma) varlığını göstermiştir (27). Uzun yıllar sonra 1990 yılında Anders ve ark. beta proteininin “mannoza bağlayan lektin” (MBL) olduğunu saptamışlardır (28). MBL, lektin bölge içeren kollajen yapıda bir proteindir ve kollektinler adı verilen bir protein ailesinin elemanıdır. MBL eksikliği ile hastalık arasındaki ilişkili ilk vaka 1968 yılında tanımlanmıştır. Şiddetli dermatit, ishal, antibiyotik ve steroide cevapsız tekrarlayan bakteriyel infeksiyonları olan bir kız çocuk hastanın hematolojik incelemesinde; *Saccharomyces cerevisiae*'nin maya partikülleri, pirinç nişastası ve *Staphylococcus aureus*'un polimorf nükleer lökositler tarafından fagositozunda defekt olduğu tespit edilmiş. Bu defektin serum bağımlı olduğu ve taze donmuş plazma infüzyonunun fagositik defekti düzelttiği görülmüş. Hastanın birkaç akrabasında da aynı fagositik defektin varlığının ortaya konması ile bunun bir genetik orijinli hastalık olabileceği düşünülmüş ve 90'lı yıllarda da bu genetik defektin MBL geninde bir polimorfizm olduğu tespit edilmiştir (29).

##### **IV.B. MBL'nin Yapısal Özellikleri**

MBL primer olarak karaciğerde üretilen bir akut faz reaktanıdır. C tipi lektinler ailesinin bir üyesidir. Birbirine özdeş ve 32kDa ağırlığında 3 polipeptid zincirden oluşur, toplam 96kDa ağırlığındadır ve üçlü heliks yapısındadır. (Şekil-8) Polipeptid zincirlerin her biri C terminalinde patojen mikroorganizmaların oligosakkarid yapısını tanıyan “kalsiyum bağımlı lektin bölgesi” içerir. Kanda fonksiyonel MBL bu üçlü heliks yapısının multimerleri (tetramer, pentamer, heksamer) halinde bulunur. Polimer sayısı arttıkça MBL'nin oligosakkaridlere affinitesi artar ve MBL ile ilişkili serin proteazlar

(MASP) aktive olur. MBL yapısal ve fonksiyonel olarak komplemanın C1q komponentine benzer ancak farklı olarak MBL antikor olmaksızın patojenleri bağlayabilir (30).



**Şekil-8:** MBL'nin temel strüktürel yapısının şematik görüntüsü.

MBL 10.kromozom üstünde yer alan ve 4 eksondan oluşan Mbl2 geni tarafından kodlanır. Ekson 1'de codon 52, 54 ve 57'de oluşan mutasyonlar MBL yapısını bozmakta ve polimerizasyonu engellemektedir. Mutasyona uğramamış allel 'A' olarak tanımlanırken, kodon 54'teki (Gly→Asp) mutasyon 'B' alleli, kodon 57'deki (Gly→Glu) mutasyon 'C' allelini ve kodon 52'deki (Arg→Cys) mutasyon 'D' allelini oluşturur. Homozigot ya da heterozigot mutasyonlar serum MBL düzeylerinde azalmaya neden olur. Mutasyon taşımayan bireylerde (AA) serum MBL düzeyi genellikle 1000ng/ml'nin üzerindeyken, heterozigot mutantlarda (AB, AC, AD) düzey genellikle 500-1000ng/ml civarındadır. Homozigot mutantlarda (BB, CC, DD) ise serum MBL düzeyi genellikle <100ng/ml'dir (31).

Beyaz ırkta serum MBL düzeyi azlığının %40, MBL'nin eksikliğinin ise %8 oranında görüldüğü bildirilmiştir (27). Yakın zamanda farklı etnik gruplardaki mutasyon sıklığı araştırılmış ve Güney Amerika'da B allel sıklığının %80, Avrasya popülasyonlarında B allel sıklığının %11-16, Batı Afrika'da C allel sıklığının %32 olduğu, Avustralya Aborjinlerinde ise mutant allellerin görülmediği bildirilmiştir (31).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda sağlıklı populasyonda homozigot B alleli %2-6, heterozigot B alleli sıklığı ise %12-20 oranında bulunmuştur (32).

#### **IV.C. MBL'nin İmmun Sistemdeki Rolü**

MBL kompleman sistemi aktive etme yeteneğine sahip tek kollektindir. Kompleman sistemi hem doğal hem de adaptif immün yanıtta önemli rol oynayan bir dizi protein ve enzim kompleksidir. Plazmada inaktif

olarak bulunan enzimlerin sırasıyla aktivasyonu ile inflamatuvar peptidlerin, opsoninlerin ve hücre zarı atak kompleksinin oluştuğu bir yoldur.

Doğal immün yanıtta kompleman sistem karşılaştığı mikroorganizmalara karşı fagositozu güçlendirme, B hücrelerinin antijen duyarlılığını artırma, immün kompleksleri dolaşımdan uzaklaştırma ve büyük immün agregatların oluşumunu önleme gibi inflamatuvar reaksiyonlar ile cevap verir (33).

Plazma globulinlerinin %10 kadarını kompleman oluşturur ve başlıca üretim yerleri monositler, makrofajlar, böbrek tubulus ve glomerulları ve hepatositlerdir.

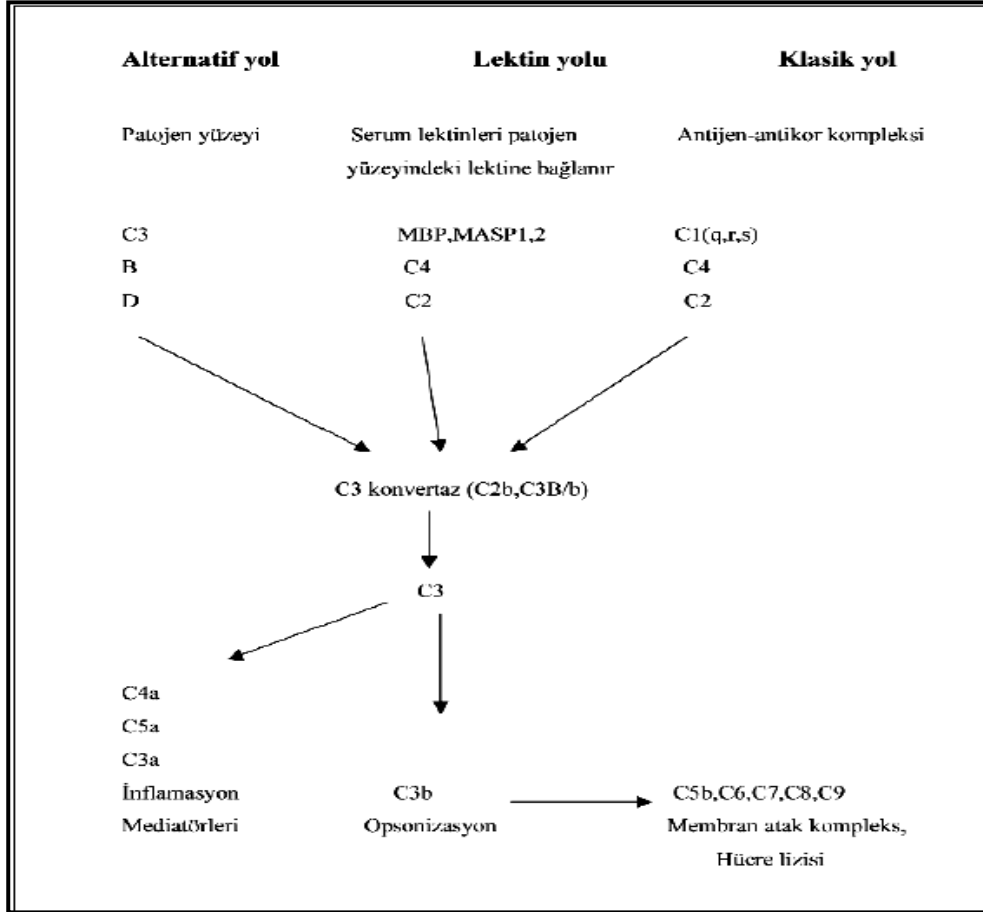
Normalde kompleman sistem plazmada inaktif halde bulunur. Aktivasyon için antijen-antikor agregatları ile fikse olmaları gerekir. Kompleman sistemi 3 yolla aktive olur:

- 1- Klasik yol
- 2- Alterne yol
- 3- MBL yolu

MBL, C1q'dan bağımsız olarak C1r2-C1s2 kompleksleri ile ilişkiye girerek klasik yoldan komplemanı aktive etmektedir. MBL, MBL ilişkili serin proteaz (MASP) ile birleşerek, "serum bakterisidal faktör" olarak adlandırılan bir kompleks oluşturmaktadır. MASP, fonksiyonel olarak aktive C1s'ye benzer ve hem C4 hem de C2'yi parçalayarak C3 konvertaz aktivitesi ile C4b2a komplekslerini oluşturabilir. Bu antikor ve C1q'dan bağımsız mekanizma, "kompleman aktivasyonunun lektin yolu" olarak isimlendirilmektedir. MASP, C3'ü direkt olarak parçalayabilecek bir yapıya sahip olduğundan, alternatif yoldan da komplemanı aktive edebileceği düşünülmektedir (Şekil-9).

MBL yolu, MBL'nin mikroorganizmalardaki karbonhidrat yapılara bağlanması ile aktive olur. Bağlandığı karbonhidratların çoğu memeli hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunmayan spesifik aminoasit motifi taşıdığından, self yapıları ayırt edebilir, sıklıkla mikrobiyal hücrelerin yüzeyleri ile iyi uyum gösterir. Bu hücrelerle bağlanması; fagositlerin MBL ile kaplanan bakterilere tutunması, bakterinin hücre içine alınması ve öldürülmesi ile

sonuçlanmaktadır. Bu nedenle MBL, direkt olarak bir opsonin olarak görev yapmaktadır. MBL, spesifik immün yanıt oluşuncaya kadar geçen 2-3 günlük sürede doğal bağışık yanıtı aktive etmesi nedeniyle önemlidir (33).



**Şekil-9:** Kompleman sisteminin 3 farklı yoldan aktivasyonu.

## V. MBL ve Gastrointestinal Sistem

MBL, son dönemde temel ve klinik gastroenterolojik araştırmalar içerisinde ilgi çekici bir yer tutmakta olup, barsak ve karaciğeri ilgilendiren enfeksiyöz ve immün hastalıkların patogeneğinde yeni anlayışlar getirmiştir. Yapılan gen ekspresyon ve klinik çalışmalar ile MBL'nin olası lokal ya da mukozal etkilerinin tayini heyecan verici keşifler olarak göze çarpmaktadır. Özellikle inflamatuvar barsak hastalıkları, çölyak hastalığı, GİS enfeksiyonları, kolon kanseri gibi barsak sistemini ilgilendirilen hastalıklarda değerli sonuçlar elde edilmiştir. Karaciğeri ilgilendiren patolojiler içerisinde de viral hepatitler,



siroz ve komplikasyonları, otoimmün hepatit gibi konularda ilgi çekici çalışmalar yapılmaktadır (34).

### **V. A. MBL ve Viral Hepatitler**

#### **V.A.a. MBL ve Hepatit B İnfeksiyonu İlişkisi**

MBL ile hepatit B infeksiyonu ilişkisinde iki mekanizma öne sürülmüştür:

Birincisi, MBL'nin Hepatit B virüsüne zarf yapısındaki orta yüzey antijeninin mannoz oligosakkaridler vasıtasıyla bağlandığı ve kompleman aktivasyonunu başlattığı yönündedir. Bu sayede MBL hepatit B virüsünün direk klirensinde rol oynamaktadır (35). Ayrıca MBL'nin yine kompleman sistemi aktive ederek oluşan immün komplekslerin temizlenmesini sağladığı, bu sayede inflamatuvar hasarı azalttığı gösterilmiştir. Bu nedenle MBL gen polimorfizmleri ve serumda MBL eksikliği kompleman sistem aktivasyonunun defektif olmasına neden olur ve HBV infeksiyonu sırasında oluşan immün komplekslerin klirensi azalarak karaciğerde doku hasarına neden olur (36).

İkinci mekanizma ise MBL'nin sitokinler üzerine düzenleyici etkisi ile ilişkilidir. Yüksek serum MBL düzeyi monositlerden IL-6, IL-1B ve TNF-alfa gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltmaktadır. MBL eksikliği durumunda ise bu sitokinlerin arttığı gözlenmiştir ve sonuçta kronik inflamasyon ve fibrozisin ortaya çıktığı anlaşılmıştır (37).

Sonuçta düşük serum MBL düzeyinin viral yük ve inflamatuvar sitokin artışına neden olduğu, bunun da karaciğerde inflamatuvar hasarı ve fibrozis sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir.

#### **V.A.b. MBL ve Hepatit C İnfeksiyonu İlişkisi**

HCV, E1 ve E2 adlı iki zarf glikoproteinini kodlayarak, viral zarfın içerisinde non-kovalen E1/E2 heterodimerler olarak eksprese olur. E1 ve E2, MBL'nin potansiyel ligandlarıdır. MBL bağlanması, MBL bağlantılı serin proteaz 2 (MASP-2) yolu ile kompleman sistemin aktivasyonunu başlatır.

MBL, virionların konakçı hücrelerine girmesini bloke ederek ve kompleman sistemin aktivasyonu ile viral partiküllerin temizlenmesi ve immün sistemin diğer elemanlarının uyarılması yolu ile HCV enfeksiyonunda rol alır (38).

Biz de bu çalışmamızda doğal bağışıklık sisteminin önemli bir elemanı olan MBL'yi kodlayan Mbl2 geninde kodon 54 polimorfizmleri ile kronik viral hepatit B ve C'li hastaların histopatolojik bulguları arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya çalıştık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### I. Genel Bilgiler

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji bölümünde takip edilen 18-65 yaş arası, daha önce karaciğer biyopsisi yapılan Kronik Hepatit B ve C'li hastalar alındı.

18 yaş altı veya 65 yaş üstü olanlar, otoimmün hastalığı olanlar, dekompanse sirozu olanlar, bilinen başka bir kronik hastalığı olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 23 Haziran 2009 tarihli ve 2009-12/96 no'lu karar ile onay alındıktan sonra araştırmaya başlandı.

Hastaların yaş ve cinsiyet kayıtları yapıldıktan sonra, biyopsi yapıldığı tarihten en geç 3 ay öncesine ait AST, ALT, Albumin, Trombosit ve INR değerleri ile HBV'li hastaların Hbe Ag durumu ile HBV-DNA ve HCV'li hastalarında HCV-RNA değerleri kaydedildi.

Tez çalışmasında kullanılacak kanların toplanması amacıyla hastalar telefon ile aranarak çalışma hakkında bilgi verilerek hastaneye çağrıldı. Bilgilendirilmiş onam formu imzalandıktan sonra her hastadan MBL gen polimorfizmi için 2 ml EDTA'lı tüpe kan alınarak -80°C'de muhafaza edildi.

Tüm hastaların karaciğer histopatolojik incelemeleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD laboratuvarında yapıldı. Histopatolojik skorlama için Ishak skorlaması kullanıldı.

Çalışmada 70 Kronik hepatit B (40 E, 30 K) ile 30 Kronik hepatit C (13 E, 17K) hastası ayrı ayrı incelendi.

Her iki viral hepatit grubunda hastalar Ishak skorlamasındaki Modifiye Histolojik aktivite indeksi (HAI) ve fibrozis skorlarına göre iki gruba ayrıldı.

HAI skoruna göre  $\leq 8$  ve  $\geq 9$  olanlar ile fibrozis skoruna göre  $\leq 3$  ve  $\geq 4$  olanlar Mbl2 gen kodon 54 polimorfizmleri açısından karşılaştırıldı.

Mbl2 gen kodon 54 polimorfizmleri;

- ✓ GG genotipi (Mutasyon yok)
- ✓ GA genotipi (Heterozigot mutasyon)
- ✓ AA genotipi (Homozigot mutasyon)

olarak üç grupta incelendi,

Mutasyon tespit edilenler (GA genotipi+AA genotipi) ve edilmeyenler (GG genotipi) de ayrı gruplar halinde karşılaştırıldı.

Aynı zamanda gruplar arasında taşıdıkları G ve A allel birimi yüzdelerine göre de karşılaştırmalı analizler yapıldı.

HBV'li hastalar ayrıca HbeAg durumlarına göre de iki grup halinde karşılaştırıldı.

MBL gen polimorfizmi PCR ve Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi ile Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD laboratuvarında çalışıldı.

## **II. MBL Gen Polimorfizminin Çalışılması**

Hastalardan genotip tayinleri için -80°C'de saklanan EDTA'lı tüplerden yaklaşık 2 cc'lik kan örneği alındı. DNA izolasyonu için 2 cc EDTA'lı kan, steril falkon tüpüne aktarıldı ve üzerine 1:3 oranında (6 cc) "lysis buffer" ilave edildi. Tüp, birkaç defa ters yüz çevrilerek iyi bir şekilde karıştırıldıktan sonra +4°C'de 15 dakika bekletildi. Oluşan nükleer pelleti çöktürmek için dakikada 1500 devirde 10 dk santrifüj edildi ve oluşan süpernatant döküldü. Pellet yeniden süspansiyon edildi. İkinci bir yıkama için yine 6 ml "lysis buffer" eklendi ve 10 dk 1500 rpm'de santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve pellet tamamen süspansiyon edildi. Bundan sonraki aşamalarda Dr.Zeydanlı DNA izolasyon kiti prosedürü uygulandı. Süspansiyon olmuş örnek 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüp içine alınarak üzerine 500 µl solüsyon B ve 20 µl solüsyon A eklendi. Karışım vortekslenerek 42°C'de 2 saat inkübe edildi. Inkübasyon sonrası üzerine 500 µl solüsyon C eklenip vortekslenerek 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Oluşan iki fazdan üstteki berrak faz alınarak temiz 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüpe konuldu. Üzerine 500 µl solüsyon D konuldu. 10.000

rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Oluşan süpernatant atılarak üzerine 500 µl solüsyon E konulup 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılarak tüpler kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra 100 µl distile su eklenerek çalışılma zamanına kadar -20°C'de saklandı.

### II.A. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) Protokolü

PCR yöntemi, genomik DNA'nın sıcaklığın etkisiyle çift zincirinin tek zincir hale gelmesi sonrasında uygun sıcaklıkta ilgili primerlerin ilgili primer bölgesine yapışması ve DNA Taq polimeraz enzimi katalizörlüğünde ortamdaki dört deoksinükleotid trifosfatın (adenin, guanin, sitozin, timin) yeni zincire eklenmesi sonucunda ilgili gen bölgelerin çoğaltılması temeline dayanmaktadır.

Bu çalışmada izole edilen DNA'larda Mbl2 genindeki kodon 54 polimorfizmini belirlemek için PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemi kullanılarak genotiplenme yapıldı. Bunun için PCR reaksiyonu karışımı hazırlandı. Yaklaşık 25 µl'lik PCR karışımı 0,2 ml'lik PCR tüpünde aşağıdaki sıra ile karıştırıldı (Tablo-3).

**Tablo-3:** PCR reaksiyonu karışımı için kullanılan malzemeler ve miktarları.

1) dNTP (10 mM) .....	0,3 µL
2) 10x PCR Buffer (Magnezyumlu) .....	2,5 µL
3) 10 pmol/ml primer forward .....	1,0 µL
4) 10 pmol/ml primer reverse.....	1,0 µL
5) dH <sub>2</sub> O.....	16,0 µL
6) Genomik DNA.....	4,0 µL
7) Taq polimeraz enzimi (5 ünite/µl).....	0,2 µL

Mbl2 genindeki kodon 54 polimorfizmini içeren 349 baz çiftlik bölgeyi çoğaltmak için F: 5'- TAGGACAGAGGGCATGCTC -3' ve R: 5'- CAGGCAGTTTCCTCTGGAAGG -3' primerleri kullanıldı (39).

Tüplerde bulunan reaksiyon karışımı PCR yapılmak üzere PCR cihazına yerleştirildikten sonra belirlenen program uygulandı. Mbl2 genindeki kodon 54 polimorfizmi için PCR döngü programı olarak belirtilen sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR işlemi PCR cihazında gerçekleştirildi (Tablo-4).

**Tablo-4:** PCR Döngü Programı.

Kapak sıcaklığı, (cihaz tipine özel) .....	103°C
1)Başlangıç denatürasyonu .....	94°C.....5 dakika
2)Denatürasyon .....	94°C.....1 dakika
3) Annealing .....	57°C.....1 dakika
4) Extention.....	72°C.....1 dakika
5) Son extention...	72°C.....10 dakika
*2,3 ve 4 işlemler sırasıyla 35 siklus	

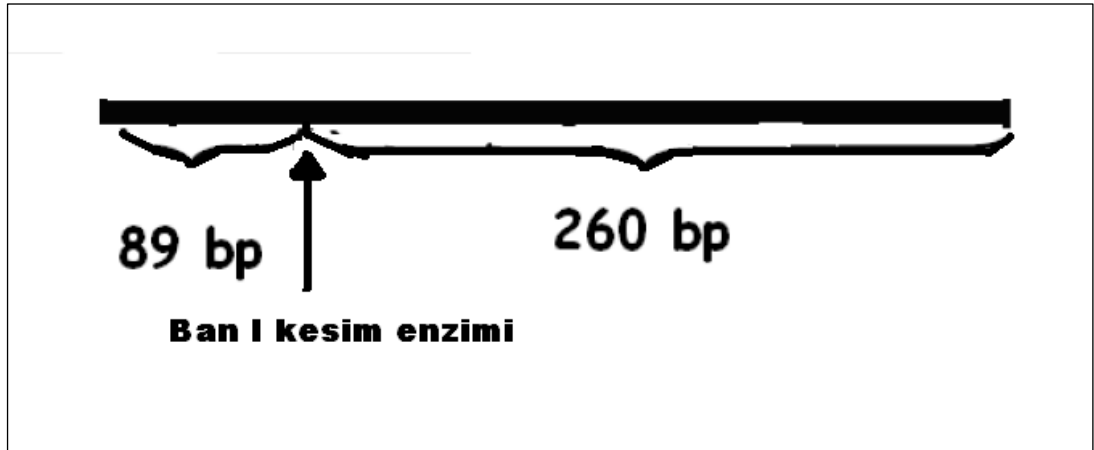
### **II.B. Jel Elektroforez Protokolü**

Agaroz Jel Elektroforezi, DNA ve PCR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması için kullanılan standart metotlardan biridir. Bu çalışmada PCR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için %2'lik agaroz jel elektroforezi uygulandı. %2'lik jel hazırlanması için 5 mL 10xTris-Borik Asit-EDTA (TBE) solüsyonu 45 ml dH<sub>2</sub>O ile beher içinde karıştırıldı. Karışımın içine 1 gr agaroz eklendi. Çözelti mikrodalga fırında "medium" ayarında agaroz çözününceye kadar ısıtıldı. Eriyen jel içine 3 µL etidyum bromid eklenerek karıştırıldı. Jel, elektroforez aparatına dökülerek soğumaya bırakıldı. Elektroforez tankı, 1xTBE ile doldurularak jel yürütme işlemine hazır hale getirildi. PCR ürünleri brom-fenol mavisi ile muamele edilerek agaroz jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar yürütüldü.

### **II.C. Restriksiyon Enzim Kesimine Bırakılması**

PCR reaksiyonu sonucu ürün elde edilenlerde genotip tayini için Ban I (Genemark, Rusya) kesim enzimi kullanıldı.

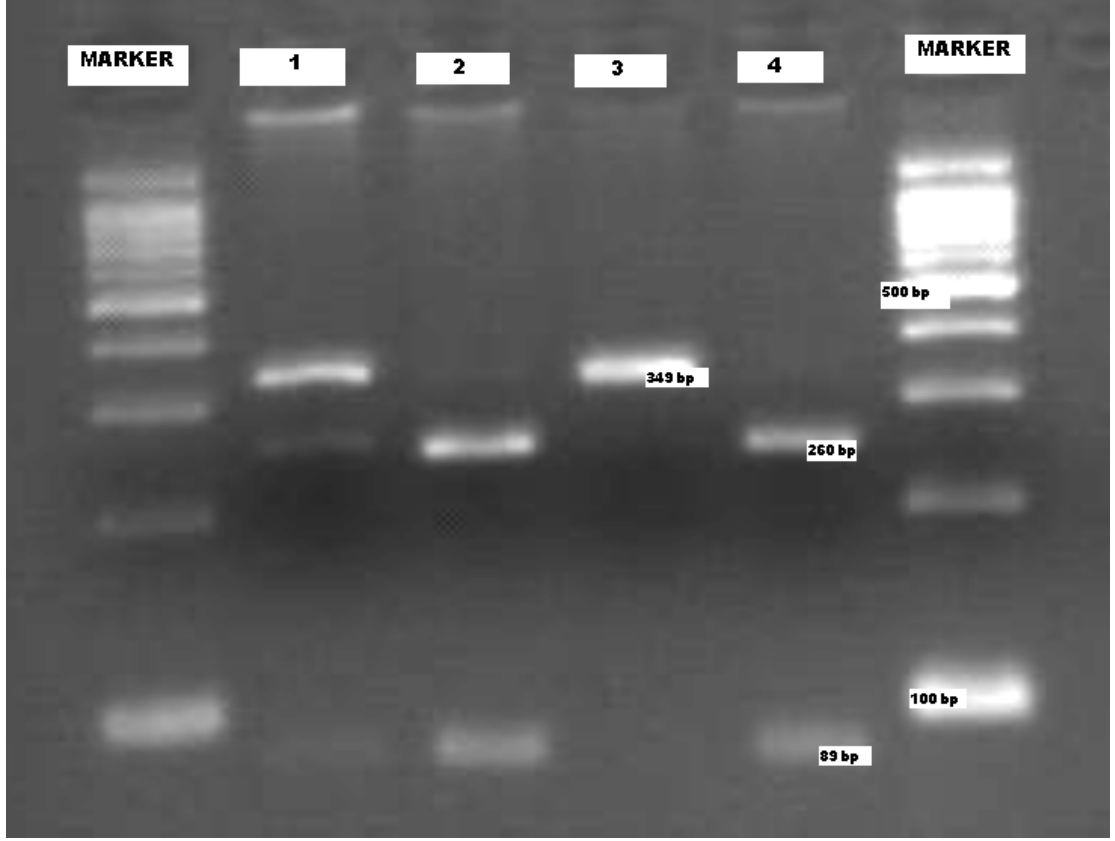
0,2 ml'lik tüplere 10 µl hacimdeki PCR ürünü, 2 µl restriksiyon enzim bufferı, 8 µl distile su ve her birey için 5 ünite/µl Ban I (Genemark, Rusya) kesim enzimi olacak şekilde karışım hazırlandı. Karışım enzimi optimum çalışma sıcaklığı olan 37°C'de 14–16 saat inkübasyona bırakıldı. Restriksiyon enzim kesim sonuçları % 2'lik agaroz jelde değerlendirildi. Bu jel için 1 gr agaroz tartılıp 1XTBE solüsyonu ile 50 ml total hacme tamamlandı. Agaroz istenilen konsantrasyonda hazırlandıktan sonra mikrodalga fırında kaynatıldı. İçerisine 3 µl etidyum bromid ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra jel aparatına döküldü. Ban I enzimi ile kesim yapılmış ürünlere bromfenol mavisini ile muamele edilerek jele yüklendi. 90-100V akımda 15 dk kadar yürütüldü.



**Şekil-10:** 349 bp'lik PCR ürününün Ban I enzimi için kesim noktasının okla gösterimi. Üründe G alleli varlığında enzimle kesim sonrası iki ayrı ürün oluşurken, A alleli varlığında enzimle kesim olmamaktadır.

#### **II.D. Genotiplerin Belirlenmesi**

Yürütülen ürünler ultraviyole ışığında değerlendirildi. Mbl2 genine ait 349 bp'lik PCR ürününden 260 bp ve 89 bp iki ayrı ürün oluşursa GG genotipi, 349bp, 260bp ve 89 bp üç ayrı ürün oluşursa GA genotipi, 349 bp PCR ürününde kesim olmaz ise AA genotipi olarak belirlendi (Şekil-10). MBL-2 genindeki kodon 54 polimorfizminin agaroz jel görüntüsü Şekil-11'de görülmektedir.



**Şekil-11:** Mbl2 genindeki kodon 54 polimorfizmi için yapılan PCR-RFLP ürünlerinin Ban I enzim kesimi sonrası %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. İlk ve son kuyucuk 100 bp DNA ladder (Marker), 1 nolu kuyucuk G/A genotipine (349bp, 260bp ve 89 bp), 2 ve 4 nolu kuyucuklar G/G genotipine (260bp ve 89 bp), 3 nolu kuyucuk ise A/A genotipine (349bp) sahip bireyleri göstermektedir.

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 13.0<sup>TM</sup> kullanılarak yapıldı. Kategorik değişken sıklıkları arasındaki farklar chi-square testi ile araştırıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testiyle incelendi. Normal dağılım gösteren (parametrik) iki grup değişkenleri arasındaki fark Student's *t* testi, normal dağılım göstermeyen (non-parametrik) iki grup değişkenleri arasındaki fark Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Ortalamalarla birlikte standart sapma verildi ve anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak alındı.



## BULGULAR

Çalışmaya alınan viral hepatitli hastalar Kronik Hepatit B ve Kronik Hepatit C olmak üzere ayrı iki grup halinde incelendi. Daha sonra her iki grupta yer alan hastalar Ishak skorlama sistemi kullanılarak yapılan karaciğer biyopsi sonuçlarında histolojik aktivite indeksi (HAİ) ve fibrozis skorlarına göre ayrı ayrı ikişer gruba ayrıldı:

HAİ grup I → HAİ skoru  $\leq 8$

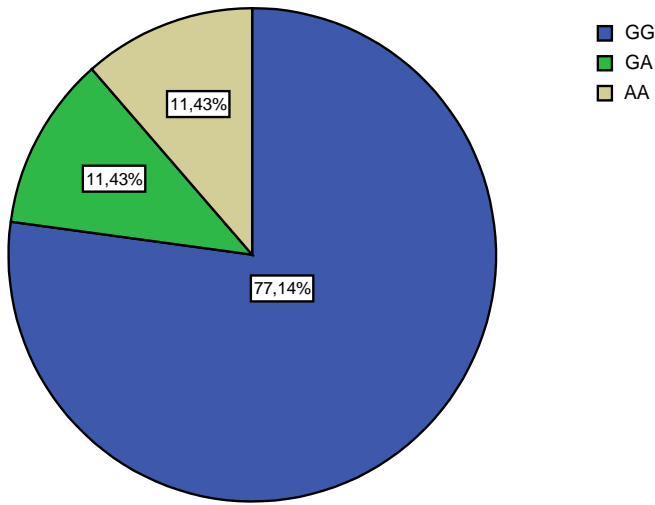
HAİ grup II → HAİ skoru  $\geq 9$

FİB grup I → Fibrozis skoru  $\leq 3$

FİB grup II → Fibrozis skoru  $\geq 4$

### Kronik Hepatit B

Çalışmaya 40 erkek, 30 kadın olmak üzere, ortalama yaşı  $43,17 \pm 11,94$ /yıl olan toplam 70 tane Kronik Hepatit B tanısı ile karaciğer biyopsisi yapılan hasta alındı. Hastaların 54'ünde (%77,14) GG genotipi, 8'inde (%11,43) GA genotipi, 8'inde (%11,43) de AA genotipi tespit edildi (Şekil-12).



**Şekil-12:** Kronik hepatit B'li hastalarda Mbl2 gen Kodon 54 polimorfizm yüzdeleri.

## I.A. HAİ Grubu

Histolojik aktivite skoru erkek cinsiyette, kadın cinsiyete göre anlamlı derecede yüksek saptandı ( $p<0,05$ ). Aynı zamanda ileri yaş ile histolojik aktivite skoru arasında anlamlı derecede pozitif ilişki saptandı ( $p<0,05$ ). (Tablo-5)

**Tablo-5:** Kronik Hepatit B HAİ grupları demografik özellikleri.

HEPATİT B (HAİ GRUP)	GRUP-I	GRUP-II	<i>p</i>
<b>CİNSİYET(E/K)</b>			
n	22/25	18/5	0,013
%	%46,8/%53,2	%78,3/%21,7	
<b>YAŞ</b>	40,98±12,01	47,65± 10,70	0,02

Her iki grup arasında AST, ALT, Albumin değerleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. Grup II'deki hastalarda anlamlı derecede HBV-DNA ve INR değerleri yüksek, trombosit değerleri düşük saptandı ( $p<0,05$ ) (Tablo-6).

**Tablo-6:** Kronik Hepatit B HAİ grupları laboratuvar parametreleri.

HEPATİT B (HAİ GRUP)	GRUP-I	GRUP-II	<i>p</i>
<b>ALT</b>	69,7±76,05	102,68±140,8	0,64
<b>AST</b>	41,09±36,28	78,86±103,22	0,11
<b>Albumin</b>	4,57±0,35	4,45±0,38	0,28
<b>INR</b>	1,04±0,08	1,10±0,13	0,02
<b>Trombosit</b>	235,04±65,43	190,68±72,04	0,016
<b>HBV-DNA</b>	11746505±36239911,85	22640200,5±39114282,68	0,03

Mutasyon açısından yapılan değerlendirmede her üç grup arasında anlamlı ilişki saptanmadı (p:0,49).

Mutasyon tespit edilen ve edilmeyen olarak ayrılan iki grup arasında da anlamlı ilişki tespit edilmedi (p:0,15).

Her iki grup arasında G ve A allel birim yüzdesine göre yapılan karşılaştırmada anlamlı bir ilişki görülmedi (Tablo-7).

**Tablo-7:** Kronik Hepatit B HAİ grubu mutasyon analizleri.

<b>HEPATİT B (HAİ GRUP)</b>	<b>GRUP-I</b>	<b>GRUP-II</b>	<b>p</b>
<b>GG (n) (%)</b>	38 (%80,9)	16 (%69,6)	0,49
<b>GA (n) (%)</b>	5 (%10,6)	3 (%13,0)	
<b>AA (n) (%)</b>	4 (%8,5)	4 (%17,4)	
<b>Mutasyon yok (n) (%)</b>	38 (%80,9)	16 (%69,6)	0,29
<b>Mutasyon var (n) (%)</b>	9 (%19,1)	7 (%30,4)	
<b>G allel birimi (n) (%)</b>	81 (%86,17)	35 (%76,08)	0,15
<b>A allel birimi (n) (%)</b>	13 (%13,83)	11 (%23,91)	

HBeAg durumlarına göre yapılan değerlendirmede de negatif ve pozitif gruplar arasında HAİ aktivite skoru ve mutasyon analizi ile anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. (Tablo-8, 9)

**Tablo-8:** Kronik Hepatit B'li hastalarda HbeAg durumu ve HAİ arasındaki ilişki.

<b>HEPATİT B (HAİ GRUP)</b>	<b>GRUP-I</b>	<b>GRUP-II</b>	<b>p</b>
<b>HbeAg (-)</b> n (%)	38 (%80,9)	15 (%68,2)	0,24
<b>HbeAg(+)</b> n (%)	9 (%19,1)	7 (%31,8)	

**Tablo-9:** Kronik Hepatit B'li hastalarda HbeAg durumuna göre mutasyon analizleri.

<b>HEPATİT B (HAİ GRUP)</b>	<b>HBeAg (-)</b>	<b>HBeAg (+)</b>	<b>p</b>
<b>GG (n) (%)</b>	43 (%81,1)	11 (%68,8)	0,52
<b>GA (n) (%)</b>	5 (%9,4)	2 (%12,5)	
<b>AA (n) (%)</b>	5 (%9,4)	3 (%18,8)	
<b>Mutasyon yok (n) (%)</b>	43 (%81,1)	11 (%68,75)	0,29
<b>Mutasyon var (n) (%)</b>	10 (%18,9)	5 (%31,25)	

### I.B. Fibrozis grubu

Fibrozis skoru erkek cinsiyette kadın cinsiyete göre anlamlı derecede yüksek saptandı. Ayrıca yine ileri yaş ile fibrozis skoru arasında anlamlı derecede pozitif ilişki tespit edildi (Tablo-10).

**Tablo-10:** Kronik Hepatit B fibrozis skoruna göre demografik özellikler.

HEPATİT B (FİB GRUP)	GRUP-I	GRUP-II	<i>p</i>
CİNSİYET(E/K)			
n	30/29	10/1	0,19
%	%50,8/%49,2	%90,9/%9,1	
YAŞ	41,47±11,66	52,27±9,36	0,005

Her iki grup arasında ALT, AST ve HBV-DNA düzeyleri arasında fark saptanmazken; Grup-II'de albumin ve trombosit değeri anlamlı derecede düşük, INR değeri anlamlı derecede yüksek saptandı (Tablo-11).

**Tablo-11:** Kronik Hepatit B fibrozis skoruna göre laboratuvar parametreleri.

HEPATİT B (FİB GRUP)	GRUP-I	GRUP-II	<i>p</i>
ALT	85±108,15	55±48,55	0,51
AST	54±71,40	48±38,75	0,48
Albumin	4,58±0,37	4,31±0,24	0,03
INR	1,04±0,08	1,13±0,15	0,01
Trombosit	232±67,5	164±56,43	0,003
HBV-DNA	17827884,1±40197023,5	1146328,18±1365935,94	0,77

Mutasyon açısından yapılan değerlendirmede her üç grup arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Mutasyon tespit edilen ve edilmeyen olarak ayrılan iki grup arasında ise fibrozis skoru yüksek olan Grup-II'deki hastaların istatistiksel olarak anlamlı değere yakın bir oranda mutasyona sahip oldukları tespit edildi ( $p=0,052$ ).

Bu sonuca paralel olarak; her iki grup arasında G ve A allel birim yüzdesine göre yapılan karşılaştırmada fibrozis grubu yüksek olan Grup-II'deki hastalarda anlamlı derecede fazla sayıda A allelinin olduğu tespit edildi (Tablo-12).

**Tablo-12:** Kronik Hepatit B fibrozis skoruna göre mutasyon analizleri.

<b>HEPATİT B (FİB GRUP)</b>	<b>GRUP-I</b>	<b>GRUP-II</b>	<b>p</b>
<b>GG (n) (%)</b>	48 (%81,4)	6 (%54,3)	0,11
<b>GA (n) (%)</b>	6 (%10,2)	2 (%18,2)	
<b>AA (n) (%)</b>	5 (%8,5)	3 (%27,3)	
<b>Mutasyon yok (n) (%)</b>	48 (%81,4)	6 (%54,5)	0,052
<b>Mutasyon var (n) (%)</b>	11 (%18,6)	5 (%45,5)	
<b>G allel birimi (n) (%)</b>	102 (%86,44)	14 (%63,64)	0,027
<b>A allel birimi (n) (%)</b>	16 (%13,56)	8 (%36,36)	

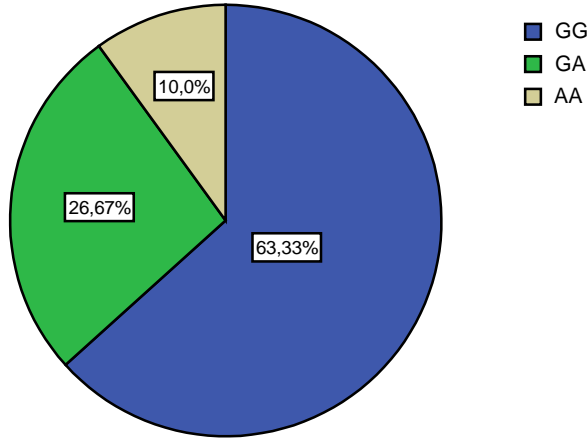
HBeAg durumlarına göre yapılan değerlendirmede negatif ve pozitif gruplar arasında fibrozis skoru yüksek olan Grup-II'de istatistiksel olarak anlamlılığa yakın olan daha fazla oranda HbeAg pozitif hasta tespit edildi ( $p=0,056$ ) (Tablo-13).

**Tablo-13:** Kronik Hepatit B'li hastalarda HbeAg durumu ile fibrozis skoru ilişkisi.

HEPATİT B (FİB GRUP)	GRUP-I	GRUP-II	<i>p</i>
HbeAg (-) n (%)	47 (%81,0)	6 (%54,5)	0,056
HbeAg(+) n (%)	11 (%19,0)	5 (%45,5)	

## II. Kronik Hepatit C

Çalışmaya 17'si kadın, 13'ü erkek olmak üzere ortalama yaşı  $45,8 \pm 14,5$  /yıl olan 30 hasta dahil edildi. Hastaların 19'unda (%63,3) GG genotipi, 8'inde (%26,6) GA genotipi, 3'ünde (%10) AA genotipi tespit edildi. (Şekil-13)



**Şekil-13:** Kronik hepatit C'li hastalarda Mbl2 gen Kodon 54 polimorfizm yüzdeleri

## II.A. HAİ grubu

Her iki grup arasında cinsiyet ve yaş açısından anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo-14).

**Tablo-14:** Kronik Hepatit C HAİ grupları demografik özellikleri.

HEPATİT C (HAİ GRUP)	GRUP-I	GRUP-II	<i>p</i>
CİNSİYET(E/K)			
n	9/9	4/8	0,36
%	%50/%50	%33,3/%66,7	
YAŞ	43±14,40	50±14,16	0,24

ALT, Albumin, INR ve HCV-RNA değerleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. Grup II'deki hastalarda anlamlı olarak AST değerleri yüksek, trombosit değerleri düşük saptandı ( $p<0,05$ ). (Tablo-15)

**Tablo-15:** Kronik Hepatit C HAİ grupları laboratuvar parametreleri.

HEPATİT C (HAİ GRUP)	GRUP-I	GRUP-II	<i>p</i>
ALT	52±31,17	94±107,19	0,18
AST	38±22,06	80±93,60	0,08
Albumin	4,49±0,37	4,21±0,59	0,12
INR	0,99±0,06	1,01±0,1	0,58
Trombosit	235±51,86	185±70,48	0,03
HCV-RNA	8597176,66±19571036,54	2055648,66±2785183,82	0,30



Mutasyon açısından yapılan değerlendirmede her üç grup arasında anlamlı ilişki saptanmamış olup, mutasyon tespit edilen ve edilmeyen olarak ayrılan iki grup arasında da anlamlı ilişki tespit edilmedi.

Her iki grup arasında G ve A allel birim yüzdesine göre yapılan karşılaştırmada anlamlı bir ilişki görülmedi (Tablo-16).

**Tablo-16:** Kronik Hepatit C HAİ gruplarına göre mutasyon analizleri.

<b>HEPATİT C (HAİ GRUP)</b>	<b>GRUP-I</b>	<b>GRUP-II</b>	<b>p</b>
<b>GG (n) (%)</b>	11 (%61,1)	8 (%66,7)	0,30
<b>GA (n) (%)</b>	4 (%22,2)	4 (%33,3)	
<b>AA (n) (%)</b>	3 (%16,7)	0	
<b>Mutasyon yok (n) (%)</b>	11 (%61,1)	8 (%66,7)	0,75
<b>Mutasyon var (n) (%)</b>	7 (%38,9)	4 (%33,3)	
<b>G allel birimi (n) (%)</b>	26 (%72,2)	20 (%83,3)	0,31
<b>A allel birimi (n) (%)</b>	10 (%27,8)	4 (%16,7)	

## II.B. Fibrozis grubu

Her iki grup arasında cinsiyet ve yaş açısından anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Tablo-17).

**Tablo-17:** Kronik Hepatit C fibrozis gruplarının demografik özellikleri.

HEPATİT C (FİB GRUP)	GRUP-I	GRUP-II	<i>p</i>
CİNSİYET(E/K)			
n	11/14	2/3	0,86
%	%44-%56	%40-%60	
YAŞ	44±14,78	54±10,06	0,25

ALT, Albumin, INR ve HCV-RNA değerleri arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. Grup II'deki hastalarda anlamlı olarak AST değerleri yüksek, trombosit değerleri düşük saptandı ( $p < 0,05$ ). (Tablo-18)

**Tablo-18:** Kronik Hepatit C fibrozis gruplarının laboratuvar parametreleri.

HEPATİT C (FİB GRUP)	GRUP-I	GRUP-II	<i>p</i>
ALT	70±79,35	64±32,62	0,30
AST	54±69,49	60±15,62	0,03
Albumin	4,49±0,34	3,82±0,72	0,10
INR	0,98±0,07	1,07±0,10	0,07
Trombosit	231±49,24	137±76,06	0,001
HCV-RNA	6781485,6±16809813,9	1975964,8±2596389,3	0,58

Mutasyon açısından yapılan değerlendirmede her üç grup arasında anlamlı ilişki saptanmamış olup, mutasyon tespit edilen ve edilmeyen olarak ayrılan iki grup arasında da anlamlı ilişki tespit edilmedi.

Her iki grup arasında G ve A allel birim yüzdesine göre yapılan karşılaştırmada anlamlı bir ilişki görülmedi. (Tablo-19)

**Tablo-19:** Kronik Hepatit C fibrozis gruplarına göre mutasyon analizleri.

<b>HEPATİT C (FİB GRUP)</b>	<b>GRUP-I</b>	<b>GRUP-II</b>	<b>p</b>
<b>GG (n) (%)</b>	16 (%64)	3 (%60)	0,60
<b>GA (n) (%)</b>	6 (%24)	2 (%40)	
<b>AA (n) (%)</b>	3 (%12)	0	
<b>Mutasyon yok (n) (%)</b>	16 (%64)	3 (%60)	0,86
<b>Mutasyon var (n) (%)</b>	9 (%36)	2 (%40)	
<b>G allel birimi (n) (%)</b>	38 (%76)	8 (%80)	0,78
<b>A allel birimi (n) (%)</b>	12 (%24)	2 (%20)	

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Hepatit, karaciğerde inflamasyonu tarif eden bir tanımdır. Bu duruma yol açacak birçok neden bulunmakta olup; klinik bulgular, prognoz ve tedavi altta yatan nedene göre değişmektedir. Karaciğer enzimlerinin 10 kat yükselmesi ve 6 ay içerisinde düzelmesi akut; enzim yükekliliğinin 6 aydan daha fazla sebat etmesi de kronik hepatit olarak tanımlanır.

Viral hepatitler hem akut hem de kronik hepatit yapabilen nedenler arasında en sık rastlanılanlardır. Birçok viral etken akut hepatit yapmakla beraber kronik hepatit yapan etkenler HBV, HCV ve HDV olarak sayılabilir. Bu viral hepatitlerin bazı formlarında virüs replikasyonu olmakla beraber, hastalar asemptomatik olup hastalığa dair biyokimyasal bulgulara rastlanmaz. Bazı hastalarda ise viral replikasyonla beraber hepatosit hasarı progresif olarak ilerler ve karaciğer hücre nekrozu, fibrozis ve bozulmuş karaciğer fonksiyonları ile karakterize karaciğer sirozuna neden olur. Siroza ilerleme hastalık süresi ve karaciğerdeki inflamasyonun şiddeti ile ilişkilidir.

Viral hepatitlerde karaciğer hasarı gelişmesini etkileyen kişisel faktörler, cinsiyet, yaş, etnik köken, infeksiyonun süresi, alkol alımı, HIV/HBV/HCV ile dual infeksiyonlar ve infekte eden virüsün genotipi olarak sayılabilir. Bunlara ilave olarak kişinin immün durumunun da önemli olduğu son dönemde üzerinde durulan konulardan biridir. Bu konuyla ilgili pro-inflamatuar sitokinler, Vitamin D reseptörü ve HLA tiplerini kodlayan genlerin polimorfizmleri incelenmektedir.

Hepatit B'li hastaların ikiz kardeş, aile ve etnik kökenlere göre gruplandırarak araştıran çalışmalarda konak immünitesini etkileyen genetik faktörlerin hastalığın ilerlemesi ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Hepatit B infeksiyonuna karşı ön planda Th1 yanıtının oluştuğu ve bu yanıtın yetersiz kaldığı durumlarda ise hastalığın kronikleşme sürecine girdiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda diğer tüm infeksiyöz durumlarda olduğu gibi viral infeksiyonlarda da doğal immün yanıtın önemi vurgulanmıştır (40).

Mannoz bağlayan lektin kalsiyum bağımlı C tipi bir serum lektinidir ve kompleman sistemi aktive ederek doğal immün yanıtta rol alır.

MBL, 10.kromozomda yer alan Mbl2 geni tarafından kodlanmaktadır ve bu gendeki tek nukleotid polimorfizmleri proteinin yapısını bozmakta ve serum düzeyinde azalmaya neden olmaktadır.

MBL ile hepatit B enfeksiyonu ilişkisinde, MBL'nin direkt etki ya da kompleman aktivasyonu ile virüsün klirensinde rol oynadığı, ayrıca proinflamatuvar sitokin salınımını azaltarak karaciğer dokusundaki inflamatuvar hasarı azalttığı öne sürülmüştür (35, 36).

Mbl2 gen polimorfizmi ve MBL serum düzeyinin kronik Hepatit B hastalık seyrine etkisi bugüne kadar az sayıda çalışmada bildirilmiştir.

Kohort özellikleri, deneysel yaklaşımlar ve araştırılan polimorfizmlerin farklılığına rağmen literatürün birçoğu Mbl2 genindeki mutasyonlar ve buna bağlı düşük MBL düzeyleri ile HBV'nin yaptığı hastalık derecesi arasında ilişkiler bulmuştur. Yapılan çalışmalarda, MBL polimorfizmleri ile viral persistans, hastalık ilerlemesi, HBV kazanımı ve fulminan hepatik yetmezlikte sağkalım ile bağlantı bulunmuştur. Ancak bunun aksini ispat eden çalışmalar da mevcuttur.

Çalışılan tüm kohortlarda, özellikle Kodon 54 mutasyonu (B tipi) ve promoter polimorfizm-221 (X tipi) ile HBV enfeksiyonunun herhangi bir safhası arasında korelasyon bulunmuştur.

İlk olarak 1996 yılında Lancet'de çıkan yayında Thomas ve ark. MBL gen mutasyonları ile HBV persistansı arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır (42).

1999 yılında yapılan bir çalışmada ise kodon 54 mutasyonunun hastalık persistansı ve hastalık progresyonunda etkili olduğu savunulmuş ve kodon 54 mutasyonu olan yetişkin HBV hastalarında semptomatik siroz ve spontan bakteriyel peritonit geliştirme olasılıklarının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Böylelikle mutasyonu olan kişilerin saptanması halinde izlem yaklaşımlarının değişebileceği, enfeksiyonlara karşı profilaksi verilebilmesinin hastalar açısından yararlı olacağı savunulmuştur (43).

Vietnam'dan yapılan çalışmada ise akut hepatit B geçiren kişilerde kodon 54 mutasyonu daha sık saptanmıştır. Aynı çalışmada hastalarda kodon 54 mutasyonu ile yüksek viral yük ve transaminaz düzeyi arasında ilişki bulunmuş ve bu sonuç ile MBL' nin HBV klirensinde direk etkili olduğu savunulmuştur (44).

Japonya'dan yapılan bir çalışmada ise MBL mutasyonlarının Hepatit B virüsünün neden olduğu fulminan hepatit tablosunda yaşam süresini kısalttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada serum MBL düzeyinin, bu hastalarda sağkalım süresini göstermede prediktif bir faktör olarak değerlendirilebileceği düşünülmüştür (45).

ABD'de 2005 yılında yapılan bir çalışmada toplam 527 hasta incelenmiş ve mutasyon gözlenmeyen kişilerde hepatit B enfeksiyonu doğal bağışıklık ile sonuçlanırken, kodon 54 mutasyonu olan ve düşük serum MBL düzeyi gösteren hastalarda ise persistan hastalığın anlamlı olarak daha sık görüldüğü gösterilmiştir. Araştırmacılar, düşük serum MBL düzeyinin hastalık persistansı ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (46).

Bunların yanı sıra, Chong ve ark. (47) yaptıkları çalışmada 320 HBsAg taşıyıcısı, 199 HBV'ye bağlı siroz ve HCC hastası, 87 spontan serokonversiyon oluşan HBV enfeksiyonu geçiren hasta ve 484 sağlıklı kontrol grubunu MBL gen mutasyonları açısından karşılaştırmışlar. HBsAg taşıyıcısı olanlar, spontan serokonversiyon geçirenler ve sağlıklı kontrol gruplarında Mbl2 gen polimorfizmi veya MBL düzeyi arasında bir ilişkiye rastlamamışlardır. Ancak mutasyon tespit edilen MBL genotipleri olan hastalarda yaklaşık üç kat daha fazla artmış ilerlemiş hastalık riski (siroz, HCC vb.) bulmuşlardır.

1998 yılında Almanya'da yapılan bir çalışmada (48) ise Kodon 52 ve 54 mutasyonları ile kronik hepatit B arasında bir ilişki tespit edilmemiş olup, buna paralel olarak 2005 yılında Kore'de yapılan bir çalışmada (49) da Kodon 54 mutasyonu ile hepatit B virüs enfeksiyonunun temizlenmesi veya kronik hepatit B enfeksiyonunun progresyonu arasında bir ilişki görülmemiştir.

Sonuç olarak, birkaç tane karşı yayına rağmen MBL'nin serum düzeyinde azalmaya neden olan polimorfizmlerinin Hepatit B infeksiyonunun prognozunu kötü etkilediği görüşü ağırlık kazanmaktadır.

Çalışmamızda temel olarak Mbl2 gen polimorfizminin kronik hepatit B hastalığının progresyonuna etkisi araştırıldığı için sağlıklı kontrol grubu alınmayıp, kronik hepatit B tanılı hastaların histopatolojileri karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda yapılan çalışmalarda Mbl2 gen mutasyonlarının serum MBL protein düzeyinde azalma ile direkt ilişkili olduğu tespitinden yola çıkılarak, çalışmamızda MBL serum düzeylerini ölçmeden sadece Mbl2 gen mutasyonları ile gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldı.

Kronik hepatit B grubunun 54'ünde (%77,14) GG genotipi, 8'inde (%11,43) GA genotipi, 8'inde (%11,43) de AA genotipi tespit edildi.

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada Kodon 54 mutasyonun hastalık aktivitesi ile ilişkisi olmadığı tespit edildi. Ancak ilerlemiş fibrozis grubunda istatistiksel olarak anlamlılığa yakın derecede kodon 54 mutasyonu varlığı mevcuttu. ( $p=0,052$ ). Buna paralel olarak; her iki grup arasında taşıdıkları G ve A allel birimi yüzdesine göre yapılan karşılaştırmada fibrozis grubu yüksek olan grupta anlamlı derecede fazla sayıda A allel biriminin olduğu görüldü ( $p<0,05$ ).

Kronik Hepatit C'de MBL'nin rolü şu ana kadar yapılan çalışmalarda net olarak ortaya konulamamıştır. Yapılan birkaç çalışmada yüksek MBL düzeylerinin patoloji ve tedaviye cevap ile pozitif ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bu çalışmalar kohort özellikleri, vakaların sınıflandırılması ve araştırılan MBL gen mutasyonları açısından farklılıklar taşımaktadır.

1998 yılında Japonya'dan yayınlanan çalışmada Kodon 54'de homozigot mutasyonunun kronik hepatit C'li hastalarda interferon tedavisine zayıf cevap ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (50).

2000 yılında yine Japonya'dan bildirilen yayında 52 HCV infeksiyonu olan hasta ile 50 sağlıklı kontrol grubu arasında yapılan inceleme sonucunda; kodon 54 mutasyonu tespit edilen hastaların daha ileri derecede hastalığa sahip oldukları tespit edilmiş ve MBL'nin HCV infeksiyonun seyrini etkileyen faktörlerden biri olabileceği düşünülmüştür (51).

2006 yılında İnan'da yapılan bir çalışmada da 100 hepatit C hastası kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve hasta grupta kodon 54 mutasyonunun daha sık olduğu tespit edilmiş. Yorum olarak da kodon 54 mutasyonunun HCV enfeksiyonu için bir risk faktörü olabileceği belirtilmiştir (52).

2007 yılında Brezilya'dan yapılan bir çalışmada ise MBL gen mutasyonunun HCV enfeksiyonlu kişilerde sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla görüldüğü, aynı zamanda istatistiksel anlamlılık taşımasa da peg-IFN ve Ribavirin tedavisine yanıtın da mutasyona sahip bireylerde daha düşük olduğu tespit edilmiştir (53).

2008 yılında yayınlanan bir çalışmada ise Mbl2 gen exon-1 bölgesindeki polimorfizmlerin, düşük MBL düzeyi ve HCV enfeksiyonunun karaciğer inflamasyonu ve fibrozise ilerlemesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (54).

Yine 2008 yılında Brezilya'dan yapılan bir çalışmada ise Mbl2 polimorfizminin kronik hepatit C'nin progresyonu ve Peg-IFN'a yanıt ile direk ilişkisinin olduğu öne sürülmüştür (55).

2010 yılına ait güncel bir çalışmada ise MBL varyant allelleri ve buna bağlı düşük MBL seviyelerinin HCV enfeksiyonuna yatkınlığı arttırdığı, HYO haplotip ile fibrozis şiddetinin ilişkili olduğu belirtilmiştir.(56)

HCV enfeksiyonlu hastalarda MBL ilişkili serin proteaz-1 kompleks (MBL/MASP-1) aktivitesinin sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada ise karaciğer fibrozisi ile MBL serum seviyeleri arasında pozitif korelasyon tespit edilmiş, ayrıca MBL/MASP-1 aktivitesi ile HCV'ye bağlı karaciğer fibrozisi arasında anlamlı ilişki ortaya konulmuştur (40).

2003 yılında Avrupa'dan (57) ve 2009 yılında Brezilya'dan (58) yapılan iki çalışmada ise MBL gen polimorfizmi ve buna bağlı MBL düzeyinin düşüklüğü ile HCV enfeksiyonuna yatkınlık, hastalık progresyonu ve tedaviye yanıt açısından anlamlılık tespit edilmemiştir.

Bizim alışmamızda ise kronik hepatit C grubundaki hastaların 19'unda (%63,3) GG genotipi, 8'inde (%26,6) GA genotipi, 3'ünde (%10) AA genotipi tespit edildi.



Aktivite ve fibrozis skorlarına göre ayrılan gruplar arasında ise mutasyon varlığı ile herhangi bir istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi.

Farklı popülasyonlar arasındaki veya toplumların kendi içlerindeki anlamlı derecede değişken MBL gen polimorfizmleri ve MBL serum düzeyleri olması nedeniyle viral hepatitlerde MBL'nin rolünü tam olarak ortaya koymak zordur. Genotipik değişiklikler ile birlikte alt grup olan haplotip oranları da popülasyonlar arasında değişiklik göstermektedir. Sağlıklı kontrol gruplarında MBL seviyeleri ile haplotip oranları arasındaki ilişki yaygın olarak çalışılsa da bu konu ile ilgili viral hepatitli hastalarda yapılan çalışmalar yetersizdir.

Yapılan literatür taramalarında Mbl2 gen polimorfizmleri ile karaciğer histopatolojisi arasındaki direk ilişkiyi inceleyen bir çalışmaya rastlanılmadı. Bizim çalışmamızda sadece kronik hepatit B'li hastalarda, mutasyon taşıyan grupta artmış fibrozis derecesi tespit edilmiş olup, bu da mutasyona sahip bireylerin karaciğer hasarlanması açısından daha dikkatli şekilde incelenmesi gerektiğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak; HBV ve HCV infeksiyonlarının seyrinde MBL'nin rol oynadığı kabul edilmekle beraber, MBL düzeyi ile hastalık progresyonu ve tedavisi arasındaki ilişkiyi inceleyen daha geniş çapta çalışmalara ihtiyaç vardır. MBL gen polimorfizmi ve buna göre değişen MBL serum düzeyinin tayini ile viral hepatit tanısı olan hastaların seyri ve tedaviye yanıtı açısından öngörülebilir bilgilerin elde edilebileceği ümit edilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Locamini S. Molecular virology of hepatitis B virus. *Semin Liver Dis* 2004;24 (Suppl 1):3-10.
2. Ustaçelebi Ş, Ergünay K. Hepatit B virüsünün moleküler virolojisi. Tabak F, Balık İ, Tekeli E. (editörler). *Viral Hepatit 2007*. İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği Yayını; 2000. 96-107.
3. Kramvis A, Kew M, François G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 2005;19:2409-23.
4. Sunbul M, Leblebicioglu H. Distribution of hepatitis B virus genotypes in patients with chronic hepatitis B in Turkey. *World J Gastroenterol* 2005;11:1976-80.
5. Taşyaran MA. HBV infeksiyonu epidemiyolojisi. Tekeli E, Balık İ. (editörler). *Viral Hepatit 2003*. Ankara: Viral Hepatit Savaşım Derneği; 2003. 121-8.
6. Koziel M. The immunopathogenesis of HBV infection. *Antivir Ther* 1998; 3(S3):13-24.
7. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981; 1: 431-5.
8. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22: 696-9.
9. Scheuer PJ. Assessment of liver biopsies in chronic hepatitis: how is it best done? *J Hepatol* 2003; 38: 240-2.
10. Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B infection. *Lancet* 2009;373:582-92.
11. McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009;49:S45-55.
12. Chu CM, Hung SJ, Lin J, Tai DJ, Liaw F. Natural history of Hepatitis e antigen to antibody seroconversion in patients with normal serum aminotransferase levels. *Am J Med* 2004;116:829-34.
13. Park BK, Park YN, Ahn SH, et al. Long term outcome of chronic hepatitis B based on histological grade and stage. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:383-8.
14. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005; 42:962-73.
15. Steinhauer DA, Domingo E, Holland JJ. Lack of evidence for proofreading mechanisms associated with an RNA virus polymerase. *Gene* 1992; 122:281-8.
16. Hadziyannis SJ, Sette H, Morgan TR, et al. Peginterferon  $\alpha$  2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140:346-55.
17. Altuglu I, Soyler I, OzacarT, Erensoy S. Distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with chronic hepatitis C infection in Western Turkey. *Int J Infect Dis* 2008; 12:239-44.

18. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26:S62–5.
19. Sunbul M. HCV infeksiyonunun epidemiyolojisi ve korunma. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (editörler). *Viral Hepatit* 2007. 1. baskı. 208-19.
20. Tang H, Grise H. Cellular and molecular biology of HCV infection and hepatitis. *Clin Sci (Lond)* 2009; 117:49-65.
21. Ishii S, Koziel MJ. Immune responses during acute and chronic infection with hepatitis C virus. *Clin Immunol* 2008; 128:133-47.
22. Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, Brown D, Dusheiko GM. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 1992; 15: 564-71.
23. Leonard B. Seeff. The history of the “natural history” of hepatitis C (1968-2009). *Liver Int* 2009;29(s1): 89-99.
24. Schiff's Diseases of the liver. Hepatitis C. Vol 2. 10th edition. 830-2.
25. Janeway CA Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002; 20:197–216.
26. Worthley DL, Bardy PG, Mullighan CG. Mannose-binding lectin: biology and clinical implications. *Intern Med J* 2005;35:548-55.
27. Burnet FM, McCrea JF. Inhibitory and activating action of normal ferret sera against an influenza virus strain. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1946;4:277-82.
28. Anders EM, Hartley CA, Jackson DC. Bovine and mouse serum beta inhibitors of influenza A virüs are mannose-binding lectins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;12:4485-9.
29. Bouwman LH, Roep BO, Roos A. Mannose-binding lectin: clinical implications for infection, transplantation, and autoimmunity. *Hum Immunol* 2006;4-5:247-56.
30. Kilpatrick DC. Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *Transfus Med* 2002;6:335-52.
31. Garred P, Larsen F, Seyfarth J, Fujita R, Madsen HO. Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes Immun* 2006;2:85-94.
32. Koturoglu G, Onay H, Midilli R, et al. Evidence of an association between mannose binding lectin codon 54 polymorphism and adenoidectomy and/or tonsillectomy in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2007;8:1157-61.
33. Gadjeva M, Thiel S, Jensenius JC. The mannan binding-lectin pathway of the innate immune response. *Curr Opin Immunol* 2001;13:74-8.
34. Worthley D, Bardy P, Gordon D, Mullighan C. Mannose-binding lectin and maladies of the bowel and liver. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6420-8.
35. Gerlich WH, Lu X, Heermann KH. Studies on the attachment and penetration of hepatitis B virüs. *J Hepatol* 1993;17:S10-4.
36. Saevarsdottir S, Vikingsdottir T, Valdimarsson H. The potential role of mannan-binding lectin in the clearance of self-components including immune complexes. *Scand J Immunol* 2004;1-2:23-9.
37. Dommett RM, Klein N, Turner MW. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens* 2006;3:193-209.
38. Brown KS, Keogh MJ, Owsianka Am, et al. Specific interaction of hepatitis C virus glycoproteins with mannan binding lectin inhibits virus entry. *Protein Cell* 2010; 1: 664–74.

39. Vardar F, Pehlivan S, Onay H, et al. Association between mannose binding lectin polymorphisms and predisposition to bacterial meningitis. *Turk J Pediatr* 2007; 49: 270-3.
40. Brown KS, Ryder SD, Irving WL, et al. Mannan binding lectin and viral hepatitis. *Immunology Letters* 2007;108: 34–44.
41. McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985;4:599-603.
42. Thomas HC, Foster GR, Sumiya M, et al. Mutation of gene of mannose-binding protein associated with chronic hepatitis B viral infection. *Lancet* 1996;348:1417-9.
43. Yuen MF, Lau CS, Lau YL, Wong WM, Cheng CC, Lai CL. Mannose binding lectin gene mutations are associated with progression of liver disease in chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 1999;4:1248-51.
44. Song Le H, Binh VQ, Duy DN, et al. Mannose-binding lectin gene polymorphisms and hepatitis B virus infection in Vietnamese patients. *Mutat Res* 2003;1-2:119-25.
45. Hakozaki Y, Yoshiba M, Sekiyama K, et al. Mannose-binding lectin and the prognosis of fulminant hepatic failure caused by HBV infection. *Liver* 2002;1:29-34.
46. Thio CL, Mosbruger T, Astemborski J et al. Mannose binding lectin genotypes influence recovery from hepatitis B virus infection. *J Virol* 2005;79:9192-6.
47. Chong WP, To YF, Ip WK, et al. Mannose-binding lectin in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2005;5:1037-45.
48. Hohler T, Wunschel M, Gerken G, Schneider PM, Meyer zum Buschenfelde KH, Rittner C. No association between mannose-binding lectin alleles and susceptibility to chronic hepatitis B virus infection in German patients. *Exp Clin Immunogenet* 1998;15:130–3.
49. Cheong JY, Cho SW, Lim SK, Shin DH, Yoon SK, Lee JE, Hahm KB, Kim JH. Lack of association between hepatitis B virus infection and polymorphism of mannose-binding lectin gene in Korean population. *J Korean Med Sci* 2005;20:65-9.
50. Matsushita M, Hijikata M, Ohta Y, Iwata K, Matsumoto M, Nakao K, et al. Hepatitis C virus infection and mutations of mannose-binding lectin gene MBL. *Arch Virol* 1998;143:645–51.
51. Sasaki K, Tsutsumi A, Wakamiya N, Ohtani K, Suzuki Y, Watanabe Y, Nakayama N, Koike T. Mannose-binding lectin polymorphisms in patients with hepatitis C virus infection. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:960-5.
52. Somi MH, Azgharsadeh M, Farhang S et al. Association of Mannose Binding Lectin Polymorphism with Hepatitis C Infection in Northwest of Iran. *Hepatitis Monthly* 2006; 6: 53-7.
53. Segat L, Vasconcelos LRS, Montenegro de Melo F, Silva BS, Arraes LC et al. Association of polymorphisms in the first exon of mannose binding lectin gene (MBL2) in Brazilian patients with HCV infection. *Clin Immunol* 2007;124:13–7.

54. Koutsounaki E, Goulielmos GN, Koulentaki M, Choulaki C, Kouroumalis E, Galanakis E. Mannose-binding Lectin MBL2 Gene Polymorphisms and Outcome of Hepatitis C Virus-infected Patients. *J Clin Immunol* 2008;28:495–500.
55. Alves Pedroso ML, Boldt AB, Pereira-Ferrari L, Steffensen R, Strauss E, Jensenius JC, Ioshii SO, Messias-Reason I. Mannan-binding lectin MBL2 gene polymorphism in chronic hepatitis C: association with the severity of liver fibrosis and response to interferon therapy. *Clin Exp Immunol*. 2008;152:258-64.
56. Halla MC, do Carmo RF, Silva Vasconcelos LR, Pereira LB, Moura P, de Siqueira ER, Pereira LM, Mendonça Cavalcanti Mdo. Association of hepatitis C virus infection and liver fibrosis severity with the variants alleles of MBL2 gene in a Brazilian population. *Hum Immunol* 2010;71:883-7.
57. Kilpatrick DC, Delahooke TE, Koch C, Turner ML, Hayes PC. Mannan binding lectin and hepatitis C infection. *Clin Exp Immunol* 2003;132:92–5.
58. Vallinoto AC, da Silva RF, Hermes RB, et al. Mannose-binding lectin gene polymorphisms are not associated with susceptibility to hepatitis C virus infection in the Brazilian Amazon region. *Human Immunol* 2009;70:754–7.

## EKLER

### EK-1: Kısaltmalar

Ag	Antijen
Anti	Antikor
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
ELISA	Enzim bağı immün test
GIS	Gastrointestinal sistem
HAI	Histolojik aktivite indeksi
HBV	Hepatit B virüsü
HCV	Hepatit C virüsü
HCC	Hepatosellüler kanser
HDV	Hepatit D virüsü
HIV	İnsan immünyetmezlik virüsü
HLA	İnsan doku grubu
IFN	İnterferon
IL	İnterlökin
INR	Uluslararası normalizasyon oranı
MASP	MBL ilişkili serin proteaz
MBL	Mannoz bağlayan lektin
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
RNA	Ribonükleik asit
TNF	Tümör nekroz faktör

## TEŞEKKÜR

Gastroenteroloji yan dal eğitimim boyunca bana her zaman yardımcı olan ve destekleyen başta tez hocam Prof. Dr. Selim GÜREL ve bilim dalı başkanımız Prof. Dr. Selim Giray NAK olmak üzere Gastroenteroloji Bilim Dalı ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm hocalarıma saygılarımı sunuyor ve teşekkür ediyorum.

Tez çalışmam sırasında bilimsel destek ve laboratuvar imkanları sağlayan Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan Doç Dr. Tahsin YAKUT ve araştırma görevlisi Dr. Mutlu KARKUCAK'a teşekkür ediyorum.

Yan dal eğitimim boyunca sağladıkları uyumlu ve hoşgörölü çalışma ortamıyla beni destekleyen sevgili uzman arkadaşlarım Uzm. Dr. Murat KESKİN, Uzm. Dr. Talat AYYILDIZ ve Uzm. Dr. Kader IRAK'a; daima bize yardımcı olan hemŐire, sekreter ve personel arkadaşlarıma da ayrıca teşekkür ediyorum.

YaŐadığım bu zorlu süreçte her zaman beni destekleyen ve yanımda olan sevgili eŐim Hatice AYDIN EMİNLER ve geleceğin güzel yüzü küçük kızım Güzin Ceyla ile beraber tüm aileme de sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

## ÖZGEÇMİŞ

21 Şubat 1977 tarihinde Sakarya'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi sırasıyla Donatım İlkokulu ve Sakarya Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1995-2001 yılları arasında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimimi tamamladıktan sonra 2002 Haziran ayında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. 2007 Mayıs ayında uzmanlığımı aldıktan sonra 2007 Eylül-Aralık arasında Kastamonu Dr. Münif İslamoğlu Devlet Hastanesi'nde İç Hastalıkları uzmanı olarak görev aldım.

11 Şubat 2008 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda yan dal uzmanlık eğitimime başladım ve halen aynı yerde görevime devam etmekteyim.