

171595

T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

İstanbul Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları

Eğitim ve Araştırma Hastanesi

**KRONİK VİRAL HEPATİTLİ ÇOCUKLARDA
SERUM HEPATOSİT BÜYÜME FAKTÖRÜ
DÜZEYİNİN HEPATİK FİBROZİS İLE İLİŞKİSİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Sibel AKPINAR TEKGÜNDÜZ

Klinik Şefi Uzm.Dr. S. Erdal ADAL

İstanbul-2007

ÖNSÖZ

Hastanemizde eğitimimizi sistemli ve huzurlu bir şekilde yürütebilmemiz için gerekli ortamı sağlayan değerli başhekimimiz Dr. Hüseyin Aldemir'e,

Uzmanlık eğitimim süresince desteğini esirgemeyen, iyi bir hekim olarak yetişmem için büyük emekleri olan saygıdeğer hocam klinik şefim Dr. S.Erdal Adal'a ,

Asistanlık sürem boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım klinik şeflerim Dr. Gönül Aydoğan, Dr. Rengin Şiraneci ve Dr. Sultan Kavuncuoğlu'na,

Çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde her aşamasında yardımlarından dolayı Dr. E.Mahir Gülcan'a,

Çalışmam sırasında desteklerinden dolayı Hemşire Yelda Karalar'a,

Asistanlık sürem boyunca bilgilerinden yararlandığım ve manevi desteğini hissettiğim başta Dr. Suat Biçer olmak üzere hastanemiz uzman doktorlarına, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma,

Yaşamımın her anında maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem, babam, kardeşim Dr. Seval Akpınar'a, anneanneme,

Desteğini her an yanımda hissettiğim sevgili eşim Dr. Emre Tekgündüz'e ve oğlum Uygur Tekgündüz'e sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Sibel Akpınar Tekgündüz

İÇİNDEKİLER

- I. Kısaltmalar (1)
- II. Giriş (3)
- III. Temel bilgiler (5)
- IV. Materyal-metod (15)
- V. İstatistiksel değerlendirme (19)
- VI. Bulgular (20)
- VII. Tartışma (25)
- VIII. Sonuç (30)
- IX. Özet (31)
- X. Abstract (32)
- XI. Kaynaklar (33)

KISALTMALAR

aFGF: Acidic fibroblast growth factor (Asidik fibroblast büyüme faktörü)

Anti HBc Ig M: Hepatit B cor IgM antikoru

Anti HBc total: Hepatit B cor total antikoru

Anti HBe: Hepatit Be antikoru

Anti HCV: Hepatit C virus antikoru

ALP: Alkalen fosfataz

Arg: Arginin

Asn: Asparagin

Asp: Aspartik asit

cAMP: Siklik AMP

CCl4: Karbontetraklorür

cDNA: complementary DNA

CRP: c-reaktif protein

CIN: Servikal intraepitelial neoplazi

Cys: Sistin

D: Dalton

DMSO: Deoksimetilsülfoksit

EGF: Epidermal growth factor (Epidermal büyüme faktörü)

FS: Fibrosis skoru

FXII: Faktör XII

FXI: Faktör XI

γ GT (GGT): Gama glutamil transpeptidaz

Gly: Glisin

HAI: histolojik aktivite indeksi

HAI-1: HGF aktivatör inhibitörü 1

HAI-2: HGF aktivatör inhibitörü 2

HBV DNA: Hepatit B virüs DNA

HBsAg: Hepatit B virus yüzey antijeni

HBV: Hepatit B virüsü

HCC: Hepatosellüler karsinom
HCV: Hepatit C virusü
HCV RNA: Hepatit C virus ribonükleik asiti
HGF: Hepatocyte growth factor (hepatosit büyüme faktörü)
hHGF (Human HGF): İnsan kökenli hepatosit büyüme faktörü
HPV: Human papilloma virus
HTLV-1: Human T cell leukemia virus-1
IFN: İnterferon
Ig: İmmunglobulin
IL 1 α : İnterlökin 1 α
IL 1 β : İnterlökin 1 β kD: kilo Dalton
KHB: Kronik hepatit B
KHC: Kronik hepatit C
Leu: Lösin
LDN: Lobuler dejenerasyon ve nekroz
mRNA: messenger RNA
Pİİ: Portal iltihabi infiltrasyon
Plt: Trombosit
PPGN: Periportal güve yeniği nekrozu
Pro: Prolin
PTT: Parsiyel tromboplastin zamanı
RPE: Retina pigment epiteli
SCF: Stem cell factor (kök hücre faktörü)
SGOT: Serum glutamik oksaloasetik transaminaz
SGPT: Serum glutamik pirüvik transaminaz
TGF β : Transforming growth factor β
TPA: Tissue plasminogen activator (Doku plazminojen aktivatörü)
Tyr: Tirozin
Val: Valin
VEGF: Vascular endotelial growth factor (Vasküler endotelial büyüme faktörü)

GİRİŞ

Bütün dünyada yaygın görülen hepatit B virusuna (HBV) bağılı akut hepatitin ortalama %5'inin kronikleştiği ve bunların önemli bir bölümünün siroza dönüştüğü; sirozlu olgularda ise hepatosellüler kanser gelişme riskinin yüksek olduğu bilinen bir gerçektir. Tek rezervuarı insan olan HBV'nin yayılmasında taşıyıcılık kavramı oldukça önemlidir. Bugün dünyada 400-500 milyon kadar taşıyıcı bulunduğu sanılmaktadır (1).

Ülkemizde 1972 yılından günümüze kadar donörler, donör dışı normal popülasyon, çocuklar ve riskli bireyler gibi çeşitli gruplarda HBsAg seroprevalansının araştırıldığı çok sayıda çalışma yayınlanmıştır. Bu araştırmalardan elde edilen verilere göre Türkiye'de ELISA yöntemiyle bakılan HBsAg seroprevalansı bölgeden bölgeye değişmek üzere %3,9-12,5 olarak belirlenmiştir. Güneydoğu Anadolu bölgesinden özellikle Diyarbakır'dan genellikle %10'un üzerinde değerler bildirilmektedir (1).

Çocuk yaş grubunda da HBsAg'nin serumda 6 aydan fazla süreyle saptandığı durumlarda kronik HBV enfeksiyonundan söz edilir. HBV enfeksiyonunun kronikleşmesi bireyin yaşına, cinsiyetine ve immün sistemin durumuna bağlıdır. Kronikleşme oranları erişkin kadında %1-3, erişkin erkekte %5-10, yenidoğanda %90-100, çocuklarda %20-30, Down sendromunda %30-50 düzeylerindedir (2).

Hepatit C virus (HCV) enfeksiyonu tüm dünyada yaygın, oldukça ciddi bir sağlık sorunudur. Dünya genelinde 300 milyon insanın HCV ile enfekte olduğu bildirilmektedir (3).

Çocuk yaş grubunda C hepatiti genellikle asemptomatiktir, bundan dolayı pediatrik grupta sağlıklı çocuklarda HCV epidemiyolojisi çok iyi bilinmemektedir. Pediatrik yaş grubunda anti HCV İtalya'da %0,4, Suudi Arabistan'da %0,9, Kamerun'da %14,5, Amerika'da %0,1-0,4 olarak saptanmıştır (2).

Çocukluk döneminde C hepatitinin seyri ve prognozu tam olarak bilinmemektedir. Akut C hepatiti çocukluk döneminde %80-85 oranında asemptomatik seyretmekte, pediatrik grupta fulminan HCV enfeksiyonu son derece nadir görülmektedir. Perinatal

dönemde HCV ile enfekte olan çocuklarda yapılan çalışmalarda HCV RNA'nın yaşamın ilk 2 yılında yüksek oranda spontan kaybolduğu, doğumdan sonra enfeksiyonun alınması durumunda ise kronikleşmenin erişkinlerde olduğu gibi %85 düzeyinde olduğu belirtilmektedir (2).

Hepatocyte growth faktör (HGF) Kupffer hücresi, endotel hücresi ve İto hücresi gibi karaciğerin nonparankimal hücrelerinden salınır (4). Tek zincir yapısındaki prekürsör HGF karaciğer, dalak, böbrek, akciğer ve adrenal bezde bulunur (5). HGF proteini yalnızca karaciğer için değil böbrek, plasenta, beyin, akciğer, pankreas ve hematopoitik dokular için de büyüme faktörüdür. HGF proteini ve HGF mRNA'nın yüksek konsantrasyonu ince barsak, beyin, tiroid, timus ve plasentada da saptanır (6). Karaciğer HGF'nin proteolitik aktivasyonu ve temizlenmesinde önemli rol oynar (5).

Önemli bir sağlık sorunu olan kronik hepatit B (KHB) ve kronik hepatit C (KHC) enfeksiyonunun tanısında ve hepatit B enfeksiyonunun interferon tedavisi sonrası takibinde belirteç olarak serum HGF düzeyinin kullanımı ile ilgili fazla çalışma yoktur. Özellikle konu ile ilgili olarak çocukluk çağına ait çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda pediatrik yaş grubunda KHB ve KHC olgularında tanı anında HGF düzeylerinin belirlenmesi, KHB hastalarında interferon tedavisinin HGF düzeyleri ve karaciğer fibrozisi üzerine etkisi, HGF'nin KHB hastalarının takibindeki yerinin belirlenmesi planlanmaktadır.

TEMEL BİLGİLER

HGF ilk olarak 1984 yılında parsiyel hepatektomiye takiben sıçan serumunda saptanmıştır (7). Tavşan serumu ve sıçan trombositlerinden elde edilmiştir. İnsanda fulminan hepatik yetmezlikli hastanın plazması ve sirozlu hastanın karaciğerinde gösterilmiştir (8,9).

HGF Kupffer hücresi, endotel hücresi ve İto hücresi gibi karaciğerin nonparankimal hücrelerinden salgınır (4). Tek zincir yapısındaki prekürsör HGF karaciğer, dalak, böbrek, akciğer ve adrenal bezde bulunur (5). HGF proteini yalnızca karaciğer için değil böbrek, plasenta, beyin, akciğer, pankreas ve hematopoetik dokular için de büyüme faktörüdür. HGF proteini ve HGF mRNA'nın yüksek konsantrasyonu ince barsak, beyin, tiroid, timus ve plasentada da saptanır (6). Karaciğer HGF'nin proteolitik aktivasyonu ve temizlenmesinde özellikle önemlidir (5).

HGF'nin aminoasit sırası 1989 yılında tanımlanmış ve yapısının plazminojene benzediği ortaya konmuştur (10). Human HGF (İnsan kökenli HGF) cDNA'sı 728 aminoasitten oluşan, α ve β zincirlerini içeren tek zincir prekürsör olarak sentezlenir. Human HGF ön prekürsörünün moleküler ağırlığı 83,126 D ve matür formun 76,879 D'dir (10). Prekürsör molekülün N terminal aminoasiti pyroglutamattır (11). HGF iki heterodimer zincir (α ve β zincir) ve tek zincir prekürsörün karışımından elde edilir (12,13). Alfa zincirin N terminal bölgesinin öncesinde metionin ile başlayan 54 aminoasitlik dizi bulunur. Bu 54 aminoasitin ilk 29 tanesi sinyal sekansı için tipik olan hidrofobik özelliktedir. Sonraki 25'i (30-54. aminoasitler) öncü diziyi oluşturur. Alfa zincir 55-494 arasındaki aminoasitleri, β zincir 495-728 aminoasitleri içerir. Proteazların bilinen substrat özgünlüğü nedeniyle bu Gly-Leu-Arg-Val dizisi plazmin veya plazma kallikrein gibi tripsin benzeri proteazlarca erişilebilir olmalıdır. Biyosentez sonrası zincirler tripsin benzeri proteaz ile Arg-Val bölgesinden ayrılır. Heterodimer tek zincir formununun 494. pozisyonundaki arginin ile 495. pozisyonundaki valin arasında kırılması ile oluşur. HGF α zinciri 294 ve 402., β zinciri 566 ve 653. bölgelerde asparagin ile bağlı glikolizasyon bölgeleri içerir (10). Arg-val-val ayrılma alanı TPA ile plazminojenden

plazmin aktivasyonuna neden olan bölge ile benzerdir. Bu TPA'nın tek zincir yapısındaki HGF'nin heterodimere dönüşümünü sağlayan doğal enzim olabileceğini düşündürmektedir (13). 440 aminoasitten oluşan α zincirin tahmini molekül ağırlığı 50,808 D , 224 aminoasitten oluşan β zincirinin ise 26,089 D'dir. Alfa ağır zinciri 4 kringle içerir (10).Kringle yapısı küçük halkanın disülfid bağları ile bağlanarak büyük halka içinde tutulduğu çift halkalı polipeptid yapılarıdır. Tüm halkalarda Asn-Tyr-Cys-Arg-Asn-Pro-Asp şeklinde karakteristik aminoasit sırası vardır. HGF'de bulunan bu kringle alanı ile plazminojenin 1.,4.,5., protrombinin 1. kringle alanı arasında dizi benzerliği vardır. Hafif zincir olan β zinciri ise serin proteaz ailesinden yalancı proteaz yapısındadır. HGF' nin yapısı büyüme faktörleri için olağan dışıdır. Kringle ve yalancı proteaz yapıları yakın filogenetik kökeni düşündürür. Kringle taşıyan proteinlerle benzerlik gösterir. Bunlar plazma proteinleri ve koagülasyonla ilişkili proteinlerdir. FXII, doku plasminojen aktivatörü, plasminojen HGF ile benzerlik gösterir. FXI, kallikrein gibi serin proteazlarda HGF'nin β zinciri ile benzerlik gösterir (14).

HGF geni 18 exon, 17 introndan oluşur, yaklaşık 70 kb'dır. Diğer kringle içeren proteinlerde olduğu gibi her kringle 2 exon tarafından kodlanır (15). 1989 yılında HGF molekülünün aminoasit dizisi saptanmış ve cDNA'ları tanımlanmıştır (10). HGF geni ve reseptörü c-met'in 7. kromozomda kodlandığı saptanmıştır (16).

Bazı faktörler HGF üretimini regüle eder. Hem IL-1 α hem de IL-1 β HGF gen ekspresyonunu ve üretimini artırır. Buna karşılık transforming growth factor β (TGF β) ve glukokortikoidler fibroblastlardan HGF salınımında inhibitör etkiye sahiptir (17). İnjurin parsiyel hepatektomiden sonra düzeyi artan humoral bir maddedir ve sıçanların sağlam karaciğerlerinde HGF mRNA'nın ekspresyonunu artırır (18). Benzer karakterli ısıya dayanıklı, protein yapıda olmayan bir faktör domuz karaciğerinden elde edilmiştir (19). İnsan deri fibroblastlarından HGF salınımı, hem cAMP hem de membran geçirgen cAMP analogu aracılığıyla oldukça artar (20).

HGF ile yüksek afiniteli reseptörü olarak bilinen c-met arasındaki ilişki 1991'de tanımlanmıştır (21). c-met 190 kD molekül ağırlığındadır. Disülfid bağlarıyla bağlı heterodimerik formdan oluşur . Bu protein α (145kD) ve β (50kD) subünitten oluşur ve

c-met protoonkogeni ile kodlanır (14). Tüm etkinliği β subünitin intrasellüler kısmı gösterir ve tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. Reseptör hepatosit, fibroblast, keratinosit ve melanositin yüzeyinde gösterilebilir ve uterus, böbrek, karaciğer, dalakta saptanabilir. Hematopoetik hücreler aynı zamanda c-met reseptörü taşırlar (22).

Değişik tümörlerin reseptör durumuna bakıldığında hepatoma ve melenoma hücreleri, bazı gastrointestinal tümörler ve tiroid ile akciğer kanserinde HGF reseptörü ekspresyonu saptanmıştır. İnsan lösemi ve lenfomasında c-met geninin aşırı ekspresyonu rapor edilmiştir (17).

Heparan sülfat proteoglikanları HGF'yi güçlü bir şekilde bağlar ve düşük afiniteli reseptör olarak hizmet eder (22).

HGF matür hepatositte DNA sentezinin en kuvvetli uyarıcısıdır. Ek olarak α fetoprotein ve akut faz proteini sentezini artırır. HGF aynı zamanda melanosit, epitel hücresi, endotel hücresi ve hematopoetik hücreleri içeren diğer hedef hücrelerin büyümesini uyarır (17).

Fare embriyosunda c-met ve HGF ekspresyonu varlığı, HGF'nin organ gelişimindeki rolünü gösterir. HGF renal tubulus hücrelerinde DNA sentezini artırır ve aynı zamanda epitelde tubul formasyonu artırır. Renal hasardan sonra dolaşımdaki HGF konsantrasyonu artar. Bazı deneylerde HGF replasmanı sonrası akut renal hasarda düzelme görülmüştür (17). Sıçanlarda bilateral renal arter okluzyonlarında HGF ile düzelme saptanmıştır (23). Başka bir çalışmada sisplatin aracılı renal yetmezlik intravenöz HGF ile önlenmiştir (24).

HGF aynı zamanda yara iyileşmesinde rol oynayabilir. Tavşanlarda suni olarak oluşturulan gastrik yaralar HGF eklenmesiyle daha hızlı iyileşmiştir (25).

HGF endotel hücre proliferasyonunu uyarır ve motiliteyi artırır, tümör büyümesinde diğer muhtemel düzenleyici etkisi angiogenezdır. HGF aynı zamanda psöriatik plakların içindedeki yeni vaskülarizasyon alanları yaratır (26). Hepatosit için güçlü bir uyarıcı olmasına karşın HEPG2 içeren bazı hepatomalarda büyümeyi inhibe eder (17).

HGF'nin etkisi TGF β ile inhibe olur, heparinle kısmen inhibe olurken epinefrinle artar (27,28). Hepatosit %2 DMSO ile fenotip olarak stabildir. Ancak DMSO içeren

ortamda hepatosit, HGF ya da diğer iki hepatosit mitojeni olan peptidlere (EGF ve asidik fibroblast growth faktör-(aFGF)) cevap vermez (28).

CC14 intoksikasyonu ve sıçanlarda 2/3 hepatektomi sonrası HGF seviyeleri ölçülmüştür. Buna göre; a) 2/3 parsiyel hepatektomi sonrası 1-2 saat içinde HGF 15-17 kat artmış, 24 saat içinde düşük seviyelere dönmüş ve DNA sentezi 24 saat içinde zirve yapmıştır. b) CC14 intoksikasyonu sonrası HGF 24-36 saat yüksek kalmış ve DNA sentezi 48 saatte zirve yapmıştır (28). c) Sıçanlarda 2/3 parsiyel hepatektomi sonrası 3-6 saatte HGF mRNA artar, 20.saatte zirve yapar ve 72.saatte bazal seviyeye döner (30,31). d) Köpekte portal vene direkt HGF injeksiyonu karaciğerde DNA sentezini artırır (32).

2/3 parsiyel hepatektomi sonrası HGF mRNA'nın artması plazmadaki artışın hepatik kaynaklı olmadığını gösterir (14). Trombositler HGF'yi yüksek oranda içermesine rağmen ratlarda ciddi trombositopeni indüksiyonu karaciğer rejenerasyonunu engellemez (33). HGF normalde karaciğer tarafından dolaşımdan uzaklaştırılır, karaciğer kitlesinin akut azalması (hepatik rezeksiyon) ya da klirens kapasitesinin düşmesi (toksin sonrası) HGF artışı olmaksızın serum HGF düzeylerindeki artışı açıklayabilir. Plazmadaki akut HGF artışına norepinefrin artışı da eşlik edebilir (14). Norepinefrin EGF ve HGF'nin hepatosit üzerindeki mitojenik etkisini kuvvetlendirir (28). Sirkülasyondaki norepinefrin hepatik monoamin oksidazlar ile yok edilir ve hepatektomi sonrası norepinefrin düzeyinde artış olur. HGF ve norepinefrin plazmada zirve seviyesine DNA sentezi başlamadan saatler önce ulaşır. TGF α ve aFGF hepatosit DNA sentezinin başlamasında ilk dalga olarak görülmez, bu faktörler mitogeneze 2. ve 3. dalgadır (14).

Akut hepatit, fulminan hepatit, subakut hepatit, kronik hepatit, karaciğer sirozu, hepatosellüler karsinom (HCC) hastalarının dahil edildiği ve hastalarda albumin, total bilirubin, PTT, hepaplantin testi, trombosit sayısı (Plt sayısı), SGOT, SGPT, hHGF değerlerinin değerlendirildiği bir çalışmada serum hHGF düzeyi akut karaciğer hastalığı olanlarda sağlıklı gruba göre belirgin derecede yüksek bulunmuş. Orta ve hafif derecede karaciğer disfonksiyonu olanlarda hafif hHGF artışı saptanmıştır. Fulminan hepatitli hastalarda ciddi karaciğer disfonksiyonunda hHGF seviyesi yüksek bulunmuş fakat düzey SGPT azalmasıyla birlikte azalmıştır. Yine protrombin zamanı ile hHGF arasında ters ilişki saptanmıştır. Hepatik ensefalopatinin kaybolmasıyla serum hHGF düzeyi hızla

normale dönmüştür. Ciddi hepatik yetmezlikten ölenlerde serum hHGF devamlı yüksek bulunmuş fakat α fetoprotein hastalar ölene kadar artmamıştır. Yine bu çalışmada kronik hepatit, karaciğer sirozu, HCC'li karaciğer sirozlularda serum hHGF düzeyi yüksek bulunmuştur. Kronik hepatitin akut alevlenmesindeki hastalarda total bilirubin ve transaminaz yüksekliği olanlarda hHGF'de artış saptanmıştır. HCC gelişen siroz hastalarında HCC olmayanlara kıyasla hHGF düzeyi daha yüksek saptanmıştır. HCC gelişen siroz olgularında perkutan etanol enjeksiyonu ve transkatater hepatik anjiyoembolizasyon yapılanlarda işlem sonrası hHGF'nin değişmediği ancak α fetoprotein seviyesinde düşme olduğu saptanmıştır. Böylece HCC boyutlarıyla hHGF arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir. Hasta gruplarının tümünde hepaplantin testiyle hHGF arasında negatif ilişki saptanmıştır. Albumin tedavisi almayan HCC gelişen ve gelişmeyen siroz hastalarında serum albumin seviyesiyle serum hHGF arasında negatif ilişki saptanmıştır. Aynı çalışmada splenektomi sonrası hHGF' de artış görülmüş bu iki şekilde açıklanmıştır: 1) Splenektomi yapılmasıyla hepatik retiküloendotelial sistem (RES) aktive olur ve hHGF üretimi artar. 2) hHGF'nin metabolize edildiği RES'in kaybıyla hHGF artar (34).

Diğer bir çalışmada HCV enfeksiyonu olan hastalarda IFN tedavisi öncesi hHGF değerleriyle tedavi sonu değerler karşılaştırıldığında serum hHGF'de tedavi ile azalma izlenmiştir. Bu hastaların serum hHGF düzeyleri ile ALT seviyeleri arasında korelasyon saptanmıştır. hHGF ile AST, ALP, GGT ve trombosit sayısı arasında ilişki saptanmamıştır. hHGF ile HCV RNA seviyesi ve HCV genotipi ilişkili bulunmamıştır (35).

Literatürde serum HGF düzeylerinin araştırıldığı farklı sistemik hastalıklar mevcuttur. Meme kanserli hastaların kanserli dokularında normal meme dokusuna göre HGF, c-met, HGF aktivatörü ve HGF aktivatör inhibitörleri (HAI-1 ve HAI-2) yüksek bulunmuş ve kanser gelişiminde HGF düzenleyici sistemin önemli rol oynadığı gösterilmiştir (36).

Enfeksiyöz diyarelerde dışkıda HGF düzeyi yüksek bulunmuştur. Bu olguların iyileşme döneminde ise normal bulunmuştur. Fakat bu hastaların dışkı ve serum HGF

düzeyleri arasında ilişki yoktur. Bu bulgularla erken izolasyon gerektiren diyare olgularında dışkıda HGF saptanmasının yararlı olabileceği düşünülmüştür (37).

Tıkanma sarılığı olgularında serum bilirubin düzeyi ile serum HGF değeri pozitif korelasyon, safra HGF /kan HGF oranı, HGF klirensi, günlük HGF atımı negatif korelasyon göstermektedir. Benzer pozitif korelasyon diğer karaciğer fonksiyon parametreleriyle HGF arasında saptanmıştır. Bu hastalarda HGF'nin ekskresyonu azalır ve HGF safrada kandan daha yüksek konsantrasyona ulaşır. Ekskresyonun azalması nedeniyle serum HGF düzeyi artar. Safrada saptanan yüksek HGF düzeyleri uzamış sarılıklarda görülen karaciğer sirozunu açıklayabilir (38).

Retina pigment epitelinin (RPE) subretinal proliferasyonu ile giden retina dekolmanında RPE'de HGF artışı saptanmıştır. Retina dekolmanı tedavisinde HGF'ye yönelik yaklaşımlara dikkat çekilmektedir (39).

Brusellozda tedavi öncesi HGF ve CRP değerleri tedavi sonu değerlerle kıyaslandığında istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Bu bulgularla tedavinin etkinliğini değerlendirmede serum HGF değerinin destekleyici belirteç olabileceğini göstermiştir (40).

İdiyopatik pulmoner fibroziste fibroblastlarda HGF üretiminde defekt saptanmıştır (41).

Kawasaki hastalığında koroner arter lezyonu gelişmiş hastalarda kontrol grubuna göre VEGF(vasküler endotelial growth faktör) ve HGF yüksek bulunmuş. HGF'nin koroner arter lezyonu gelişiminde belirleyici olabileceği vurgulanmıştır (42).

Crohn ve ülseratif kolitte HGF belirgin derecede yüksek bulunmuştur. HGF'nin barsakta angiogenez ve vasküler permeabiliteye aracılık ettiği gösterilmiştir. Hastalığın aktivitesiyle HGF düzeyinin ilişkili olduğu saptanmış ve aktivite belirteci olarak kullanılabilirliği düşünülmüştür (43).

HCC HGF seviyesini yükselten hastalıklardan biridir ancak operasyon sonrası HGF seviyesi kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. Sebep olarak karaciğer rezeksiyonuna yanıt gösterilmiştir (44). Yine metastatik HCC hastalarında HGF seviyelerinde yükseklik saptanmıştır. Bu bulgular HCC için klinik tanı ve metastaz takibinde HGF düzeyinin kullanılabilirliğini düşündürmektedir (45).

Gastrik karsinomlu hastalarda serum HGF düzeyi tümör grade'i ile orantılı olarak artmaktadır. Aynı zamanda karaciğer metastazı gelişenlerde metastazı olmayanlara göre serum HGF düzeyi yüksek bulunmuştur. HGF'nin sağkalımı göstermede belirleyici faktör olabileceği gösterilmiştir (46).

Kolorektal kanserli hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre kan HGF değeri istatistiksel olarak yüksek bulunmuş, HGF konsantrasyonunun tümörün lenf nodu ve karaciğer metastazını, tümör boyutunu yansıttığı görülmüştür (47).

Pretermelerde erken neonatal dönemde trakeal aspirasyon sıvılarında HGF düzeyinin düşük bulunmasının ciddi bronkopulmoner hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (48).

14-21. gestasyon haftasında gebelerin serumunda bakılan HGF düzeyi yüksekse düşük doğum ağırlıklı fetüs doğma ihtimalinin artacağı saptanmış ve bunun erken tanıda kullanılabileceği belirtilmiştir (49).

Nörofibrinomatosis Tip 1'de deride cafe-au-lait maküllerinde gözlenen epidermal melanozisin dermal fibroblastlarda HGF ve SCF (stem cell factor) sentezi ile ilişkili olduğu görülmüştür (50).

HIV ile enfekte kadınlarda CIN (servikal intraepitelial neoplazi) ile ilişkili onkojenik HPV (human papilloma virus) enfeksiyonunu ile HGF/c-met kompleksinin aşırı ekspresyonu arasında güçlü ilişki saptanmıştır. Bu durumun condyloma acuminata proliferasyonu ve onkojenik HPV lezyonunda tümör proliferasyonuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (51).

HGF düzeyi preterm kolostrumunda ve devam sütünde term bebeklere göre yüksek bulunmuştur. Bebeklerde gastrointestinal kanalda trofik etkisi gösterilmiştir (52).

Pretermelere postnatal erken dönemde dekzametazon uygulamasıyla trakeal aspirasyonda HGF seviyesinde düşme saptanmıştır. Bu azalma dekzametazonun akciğer gelişimi üzerine etkisine katkıda bulunur (53).

Retinal arterlerde aterosklerozun derecesiyle kan HGF düzeyi arasında korelasyon saptanmıştır. Bu hastalarda HGF'nin aterosklerozun varlığına veya gelişimine işaret ettiği ve kan basıncı değerlerinden bağımsız olarak sistemik ateroskleroz gelişimini öngörmede kullanılabileceği gösterilmiştir (54).

İdrar HGF düzeyi transisyonel hücreli mesane kanserinde yüksek bulunmuş, bu durum mesane kanserinde belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür. HGF düzeyinin hastalığın aktivitesini yansıttığı ve özellikle yüksek titrelere sahip hastalarda kas invazyonu bulunduğu gösterilmiştir (55).

H.pylori gastritinde gastrik mukozal HGF seviyesi yüksek bulunmuş, tedaviyle bu düzey düşmüştür. Mitojen olan HGF'nin H.pylori gastritindeki gastrik hücre proliferasyonundan sorumlu olduğu düşünülmüştür (56).

Akut akciğer zedelenmesinde hidrostatik pulmoner ödem olgularına kıyasla ödem sıvısında HGF düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Yüksek düzeyler ile mortalite arasında ilişki saptanmış ve HGF düzeyinin prognostik değeri olduğu gösterilmiştir (57).

Henoch Schönlein purpurasında akut dönemde serum HGF düzeyi yüksek bulunmuş ve klinik düzelmeye paralel olarak HGF düzeyi düşmüştür (58).

Komplikasyon gelişmiş hipertansiyon hastalarında HGF düzeyi komplikasyon gelişmemiş hipertansiyon hastaları ve normal sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Diabetes mellitus hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada komplikasyonlu hipertansiyonu olan hastalarda komplikasyon gelişmemiş olanlara kıyasla serum HGF düzeyi yüksek bulunmuştur. Bu da her iki grup hastada serum HGF düzeyinin komplikasyonları öngörmede yeni bir belirteç olabileceğini düşündürmüştür (59).

Tükrük bezi kanseri ve adenomu olan hastalarda HGF düzeyi bakılmış ve benign tükrük bezi lezyonu olan olgularda doku düzeyinde HGF daha yüksek bulunmuş ve HGF'nin tükrük bezi dokusunda tükrük kanallarının gelişiminde önemli rol oynadığının göstergesi olduğu vurgulanmıştır (60).

Akut hepatit B enfeksiyonlu hastalarda kontrol grubu ve kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalara göre HGF düzeyleri yüksek bulunmuştur. Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalarda HGF ile HBV-DNA düzeyi, ALT seviyesi, karaciğerde fibrozis düzeyi ve histolojik aktivite indeksi arasında korelasyon olduğu görülmüştür. Yine bu çalışmada HGF düzeylerinin değerlendirildiği diğer bir hasta grubu ise bakteriyel menenjit ve tüberküloz menenjit olgularındır. Tüberküloz ve bakteriyel menenjitte kontrol grubuna göre BOS'ta HGF yüksek, tüberküloz menenjit grubunda ise bakteriyel menenjit

grubuna kıyasla BOS HGF düzeyi daha yüksek saptanmıştır. Bu bulgular ayırıcı tanıda HGF'nin yardımcı parametre olabileceğini göstermiştir (61).

Metastatik prostat kanserli hastalarda HGF düzeyi prostat spesifik antijen ve hasta yaşından bağımsız olarak metastatik olmayanlara ve benign prostat biyopsisi saptanan kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada da HGF'nin metastatik prostat kanserinde önemli belirteç olduğu gösterilmiştir (62).

Gastroenterit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonu, üriner sistem enfeksiyonu, sepsis, grip, kronik hepatit C ve sağlıklı kontrol grubunda HGF ve CRP düzeyleri bir başka çalışmada karşılaştırılmıştır. Kronik hepatit C ve kontrol grubuna göre akut enfeksiyon hastalığı olan hastalarda HGF düzeyi yüksek bulunmuştur. Serum HGF ile CRP arasında belirgin ilişki saptanmış ve akut enfeksiyonda yükseldikleri gösterilmiştir (63).

Multipl myelomalı hastalarda HGF ve VEGF bakılmış, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Kemoterapi sonrası M protein seviyesi ile HGF ve VEGF seviyesi korele bulunmuştur. Kemoterapiye yanıtın yetersiz olduğu hastalar, anemi, hiperkalsemi, amiloidoz gibi komplikasyonlara sahip hastalarda komplikasyonsuzlara göre HGF yüksek bulunmuştur. Multipl myelomalı hastalarda HGF'ün hastalığın progresyonu ve kemoterapiye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılabileceği düşünülmüştür (64).

HGF'nin endotel için koruyucu rol oynadığı bilinmektedir. Konjenital kalp defektleri nedeniyle kardiyak cerrahi geçiren hastalarda yapılan çalışmalarda preoperatif değerlere göre postoperatif 3 ve 6. saatlerde HGF'nin arttığı ve sonrasında normale döndüğü görülmüştür (65).

Endometriozisli kadınların peritoneal sıvılarında HGF düzeyi endometriozis olmayanlara göre yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada bize mitojenik özellikteki HGF'nin endometrioziste hücre proliferasyonuna katkısını göstermiştir (66).

İnflamatuar akciğer hastalığı (pnömoni, tüberküloz, kronik obstruktif akciğer hastalığı) olan hastalarda kontrol grubuna göre HGF düzeyi yüksek bulunmuştur. Kronik obstruktif akciğer hastalığında tüberküloz ve pnömoniyeye göre HGF daha düşük saptanmıştır. HGF ile CRP arasında korelasyon saptanmış. İnflamatuar akciğer hastalığının düzelmesiyle HGF'de düşmüştür. Bu çalışmada HGF'nin solunum sistemi

inflamasyonu ve bronş epitel rekonstruksiyonunda önemli rolü olduğunu göstermiştir (67).

Non Hodgkin lenfomalı hastalarda serum HGF seviyesi tedavi öncesinde kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Serum HGF düzeyleri tedavi cevabına paralel değişiklik göstermiştir (68).

Malign glioma (anaplastik astrositom ve glioblastoma multiforme) ve meningioma olgularında beyin dokusunda HGF düzeyi adenom, oligodendrogliom gibi nonneoplastik hasta grupları ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. İntratümoral HGF düzeyi gliomanın malign potansiyeli ile ilişkili ancak prognozunu göstermede yetersizdir. Yine meningiomalarda yüksek HGF uzun dönemde rekürrensle ilişkili bulunmuştur (69).

Alzheimer hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz, Parkinson hastalığı, progresif supranükleer palsi, spinoserebellar dejenerasyon, akut demyelinizan ensefalomyelit , HTLV-1 ile ilişkili myelopati, multiple skleroz, aseptik menenjit, periferal nöropati ve miyopatide kontrol grubuna göre BOS HGF düzeyi yüksek bulunmuştur. HGF ile BOS protein, Ig ve albumin düzeyi arasında ilişki saptanmamıştır. Bu çalışmada özellikle demyelinizan hastalıklar olmak üzere santral sinir sistemi patolojilerinde BOS HGF düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir. (70).

MATERYAL VE METOD

T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Pediatrik Gastroenteroloji Polikliniğine başvuran hastalardan KHB tanısı alan 25 ve KHC tanısı alan 20 hasta ile kontrol grubu olarak sağlıklı 25 çocuk çalışmaya alındı.

KHB tanısı serumda HBsAg ve HBeAg'nin 6 aydan uzun süre bulunması, anti-Hbe (-), anti-HbcIgM (-), anti-HBc total (+) olması, birer ay arayla en az iki kez saptanan HBV-DNA pozitifliği (>5pg/ml) ve son 6 ay içinde yapılan karaciğer biyopsisinde KHB bulgularının saptanması ile konuldu. Bu grubu oluşturan olguların hiçbirinde hepatit C ve hepatit D enfeksiyonu, dekompanse karaciğer hastalığı, otoimmün hepatit, α_1 -antitripsin eksikliği, Wilson hastalığı gibi ek bir karaciğer hastalığı yoktu.

KHC tanısı 6 ay veya daha uzun süre ALT düzeylerinin yüksek olması, HCV RNA pozitifliği ve karaciğer biyopsisinde KHC bulgularının saptanması ile koyuldu.

Tüm hastalara tedavi öncesi dönemde karaciğer biyopsisi yapıldı. Tüm biyopsi materyallerinde karaciğer histopatolojisi, ilk kez Knodell ve ark. tarafından tanımlanan ve daha sonra modifiye edilen, karaciğerde izlenen fibrozis dışı nekroenflamasyon bulgularına dayanan HAI skorlama sistemi (grade) (Tablo.1) ve fibrozis skoru (stage) (Tablo.2) ile değerlendirildi (71).

TABLO.1 HİSTOLOJİK AKTİVİTE İNDEKSİ (HAI) (GRADE)

Komponent	Skor
Periportal nekroz ve/veya köprüleşme nekrozu	0-10
İntralobuler dejenerasyon ve fokal nekroz	0-4
Portal enflamasyon	0-4

TABLO.2 KRONİK HEPATİT FİBROZİS SKORU (STAGE)

Skor	Evre	Tanım
0	Yok	-
1	Hafif	Portal ekspansiyon
2	Orta	Portal-portal septa
3	Ağır	Distorsiyon ile giden köprüleşme
4	Siroz	Siroz

Kronik karaciğer hastalığı olan tüm olgulardan tedavi öncesinde serum HGF düzeyleri ile ALT, AST, γ -GT, ALP, total bilirubin, indirekt bilirubin, direkt bilirubin, albumin ve virolojik parametrelerin ölçümleri yapıldı. Kontrol grubunu oluşturan tüm çocuklardan ise serum HGF düzeyi çalışıldı.

Daha sonra KHB'li olgularda tedavi sonrası kontrol karaciğer biopsisi yapıldı, HBV DNA, ALT, AST, γ -GT, ALP, total bilirubin, indirekt bilirubin, direkt bilirubin, albumin ile serum HGF düzeyleri çalışıldı.

Ölçümler İçin Kan Alınması ve Saklanması

Tüm hastalardan ve kontrol grubunu oluşturan çocuklardan antekübital venden steril koşullarda 2 ml venöz kan alındı. Alınan venöz kan örnekleri pıhtılaştıktan sonra 1500 devir/dakika hızda 10 dakika santrifüj edilerek hücrelerden ayrıştırılıp serum elde edildi. Hemolizli veya lipemik örnekler çalışma için kullanılmadı. Örnekler 24 saat içinde çalışılacak ise 2-8 °C'de saklandı, daha uzun süre saklanacak örnekler -20 °C'de çalışma gününe kadar donduruldu. Tüm bu işlemler esnasında örnekler ışıktan korundu.

HGF Ölçümü

Çalışmaya katılanlardan alınan serumlar ABD’de üretilmiş, R and D Systems firmasının Hepatocyte Growth Factor kiti ile çalışıldı.

i.Kit Solüsyonun Hazırlanması

Tüm malzemeler kullanım öncesinde oda ısısına getirildi.

Yıkama tamponu – Oda ısısına kadar ısıtıldı. Konsantrede kristaller oluştuğunda, kristaller tamamen kaybolana kadar yavaşça çalkalandı. 500 ml yıkama tamponu hazırlamak için 20 ml yıkama tamponu konsantresi distile su ile seyreltildi.

Substrat solüsyonu – Kullanımdan önce 15 dakika içinde renkli A ve B kit solüsyonu eşit hacimlerde karıştırıldı. Işıktan korundu. Kuyu başına 200 µl karışım gerekiyordu.

Kalibratör seyreltici RD5P (1×) - 20 ml kalibratör seyreltici RD5P konsantresi (5×) 100 ml kalibratör seyreltici RD5P konsantresi (1×) elde etmek için 80 ml distile su ile seyreltildi.

HGF standardı – HGF standardını 5 ml kalibratör seyreltici RD6X (serum/plazma örnekleri için) ile hazırladık. Bu karışımın 8000 pg/mL’lik stok solüsyonu oluşturdu. Dilüsyon işlemleri öncesinde HGF standardı kullanıma hazır hale gelmesi için en az 15 dakika süreyle hafif hareketler ile çalkalandı.

Poliprolin tüpler – Her tüpe 500 µl uygun kalibratör seyrelticisi pipetlendi. Dilüsyon serileri oluşturmak için stok solüsyonunu kullandık. Bir sonraki transfer öncesi her tüpü iyice karıştırdık. Dilüe edilmemiş standard en yüksek konsantrasyonlu standard görevi gördü (8000 pg/ml). Uygun kalibratör seyrelticisi sıfır standard görevi gördü (0 pg/ml).

ii. Test İşlemi

Kullanım öncesi tüm kitleri ve örnekleri oda ısısına getirdik. Tüm örnek ve standartlar iki kez çalışıldı.

1. Tüm kitleri ve çalışma standartlarını hazırladık.
2. Fazla mikrotabak bantlarını (şeritlerini) tabak çerçevesinden uzaklaştırdık.
3. Kuyucuk başına 150 µl çalışma ayırıcı RD1W ekledik.
4. Kuyucuk başına 50 µl standard veya örnek ekledik. Kit eklenme işleminin kesintisiz yapılmasını ve 15 dakika içinde tamamlanmasını sağladık. Tabığa nazikçe vurarak karıştırdık. Mevcut yapıştırıcı bant ile kapladık. Oda ısısında 2 saat inkübe ettik.
5. Her kuyucuğu aspire ettik ve yıkadık, toplam 4 yıkama olmak üzere işlemi üç kez tekrarladık. Otoyıkayıcı kullanarak her kuyucuğu 400 µl yıkama tamponu ile doldurarak yıkadık. Her basamakta, iyi bir performans için sıvıyı tam olarak uzaklaştırdık. Son yıkama sonrası arta kalan yıkama solüsyonunu aspire ederek uzaklaştırdık. Tabığı ters çevirip temiz kağıt havlu ile kuruladık.
6. Her kuyucuğa 200 µl HGF konjugesi ekledik. Yeni bir yapışkan bant ile kapladık.
7. Serum/plazma örnekleri için: oda ısısında 2 saat inkübe ettik.
8. 5.basamakta olduğu gibi aspirasyon/yıkamayı tekrarladık.
9. Her kuyucuğa 200 µl substrat solüsyonu ekledik. Oda ısısında 30 dakika inkübe ettik. Işıktan koruduk.
10. Her kuyucuğa 50 µl stok solüsyonu ekledik. Renk değişimi tek tip olmazsa, tam karışımı sağlamak için tabığa hafifçe vurduk.
11. Mikrotabak okuyucusunu 450 nm'ye ayarlayarak, 30 dakika içinde her kuyucuğun optik dansitesini saptadık. Dalgaboyu düzeltme olanağı varsa 540 veya 570 nm'ye ayarladık. Dalgaboyu düzeltmesi yoksa 540 veya 570 nm'deki okumaları 450 nm'deki sonuçlardan çıkarttık. Bu işlem 450 nm'de düzeltme yapmaksızın yapılacak direk okumalarda sonuçların yüksek veya daha az doğru çıkma olasılığı nedeniyle yapıldı. Böylece tabaktaki optik kusur düzeltildi.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Tüm veriler ortalama \pm standart değer (ort. \pm SD) olarak gösterildi. Gruplar arası değerlendirmede kategorik verilerin analizi için ki-kare testi kullanıldı. Ölçümsel veriler ANOVA Testi ile yapıldı. Gruplar arası varyansların homojenliği Levene Yöntemi ile test edildi. Varyanslar homojen ise ($p >0,05$) Tukey Testi, varyanslar homojen değil ise ($p <0,05$) Tamhane Testi ile gruplar arası farkın anlamlılığı değerlendirildi. Korelasyon analizleri Pearson korelasyon testi ile yapıldı. Değerlendimelerde $p <0,05$ ise gruplar arasındaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi. Tüm istatistiksel işlemler “SPSS 10.0 for Windows” programı kullanılarak bilgisayar ortamında yapıldı.

BULGULAR

KHB grubunu oluşturan 25 olgunun yaş ortalaması $7,36\pm 3,86$ (minimum:1, maksimum:7 yaş), 11'i (%44) kız , 14'ü (%56) erkek, KHC'li 20 olgunun yaş ortalamaları $14,21\pm 3,72$ yıl (minimum:7, maksimum: 20 yaş), 9'u (%45) kız, 11'i (%55) erkek idi. Kontrol grubunu oluşturan 25 katılımcının yaş ortalaması $10,36\pm 3,86$ (minimum:1, maksimum:15 yıl) , 11'i (%44) kız, 14'ü (%56) erkek 25 çocuktan oluşmaktaydı (Tablo.3). KHB ve KHC grubunda yer alan olgular arasında anlamlı cinsiyet farkı yokken, KHB olgularının yaş ortalamasının KHC olgularına göre daha düşük olduğu saptandı. KHB ve KHC birlikte değerlendirdiğimiz karma gruba kronik viral hepatit grubu adını verdik. Bu kronik viral hepatit grubunun yaş ortalaması $9,82\pm 5,02$ (minimum:1, maksimum:20) saptandı. Kronik viral hepatit ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Olguların genel özellikleri Tablo 3'de özetlenmiştir.

TABLO 3 : KATILIMCILARIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ

Katılımcılar	Sayı (n)	Yaş (yıl) (ortalama \pm SD)	Cinsiyet (Kız/Erkek) (%)
KHB	25	$7,36\pm 3,86$	11 (%44)/14 (%56)
KHC	20	$14,21\pm 3,72$	9 (%45)/11 (%55)
Kontrol	25	$10,36\pm 3,86$ yıl	11 (%44)/14 (%56)

Serum HGF düzeyleri; KHB hastalarında 2316 ± 1017 pg/ml (1095-4512), KHC hastalarında 2290 ± 1364 pg/ml (1097- 6357) ve kontrol grubunda 1352 ± 820 pg/ml (322-4209) olarak bulundu. Kontrol grubu ile KHB arasında serum HGF düzeyleri bakımından istatistiksel açıdan anlamlı fark bulundu ($p<0,05$) , kontrol grubu ile KHC'li olgular arasında da serum HGF düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p< 0,05$) . KHB ile KHC olgularının ortalama serum HGF düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4, Şekil 1).

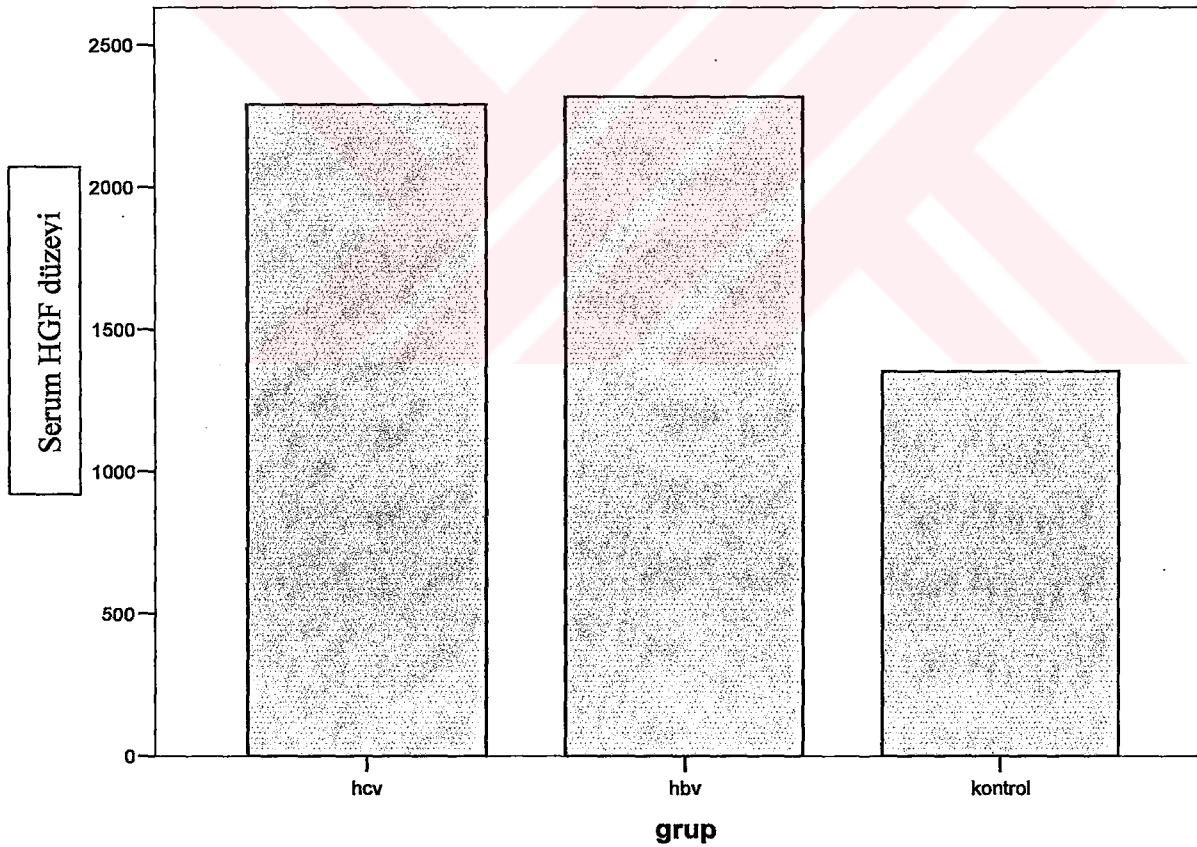
TABLO 4: KRONİK VİRAL HEPATİT HASTALARI VE KONTROL GRUBUNUN TEDAVİ ÖNCESİ SERUM HGF DÜZEYLERİ

	Sayı	Ort. \pm SD (pg/ml)	Minimum (pg/ml)	Maksimum (pg/ml)
KHB	25	2316 \pm 1017*	1095	4512
KHC	14	2290 \pm 1364**	1097	6357
Kontrol	25	1352 \pm 820***	322	4209

(*) Kronik hepatit C (KHC)'li hastalar ile anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$), kontrol grubu ile fark anlamlı saptandı ($p<0.05$).

(**) Kronik hepatit B (KHB)'li hastalar ile anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$), kontrol grubu ile fark anlamlı saptandı ($p<0.05$)

(***) KHB'li hastalar ile ($p<0.05$) ve KHC'li hastalar ile fark anlamlı saptandı ($p<0.05$)



ŞEKİL 1:KRONİK VİRAL HEPATİT HASTALARI VE KONTROL GRUBUNUN HGF DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

KHB grubuna tedavi öñü ve tedavi sonu HGF değerleri açısından bakacak olursak; KHB'li grubun tedavi öñü serum HGF düzeyi 2316 ± 1017 pg/ml (1095- 4512), tedavi sonu serum HGF düzeyleri 893 ± 437 pg/ml (327 -2048) olarak bulundu. Tedavi öñü ve tedavi sonu HGF değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($p < 0,001$). Sonuçlar tablo 5'de özetlenmiştir.

TABLO 5: KHB'LI OLGULARIN TEDAVI ÖNÜ VE TEDAVI SONU HGF DÜZEYLERİNİN İSTATİSTİKSEL DEğERLENDİRMESİ

	Ort. \pm SD (pg/ml)	Minimum	Maximum
KHB tedavi öñü	2316 ± 1017 *	1095	4512
KHB tedavi sonu	893 ± 437 *	327	2048

* KHB tedavi öñü ve tedavi sonu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0,001$).

KHB'li olguların tedavi öñü serum HGF düzeyleri ile histolojik ve biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon ilişkisi Tablo 6'da gösterilmiştir. Tedavi öñü HGF düzeyleri ile albumin değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon ($r: -0,398$; $p < 0,05$) saptanmıştır. Tedavi sonu HGF düzeyleri ile alkalen fosfataz arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır.

Kronik viral hepatit olgularını birlikte değerlendirince olguların tedavi öncesi serum HGF düzeyleri ile histolojik ve biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon değerleri Tablo 7'te gösterilmiştir. Olguların HGF düzeyleri ile serum albumin ($r: -0,389$, $p: 0,014$) arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon çıkmıştır. Yine kronik viral hepatit olgularını birlikte değerlendirince HGF düzeyleri ile alkalen fosfataz ($r: 0,345$, $p: 0,031$), T. bilirubin ($r: 0,389$, $p: 0,014$), D.bilirubin ($r: 0,486$, $p: 0,002$), fibrozis skoru ($r: 0,335$, $p: 0,037$) arasında pozitif korelasyon saptanmıştır.

TABLO 6: KHB OLGULARININ TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI SERUM HGF DÜZEYİ İLE HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLER

Dönem	Tedavi öncesi (r;p)	Tedavi sonrası (r;p)
ALT	r: - 0.038; p: 0.856	r: - 0,153; p: 0,519
AST	r: - 0.08; p: 0.705	r: 0,101; p: 0,673
GGT	r: - 0.059; p: 0.78	r: 0,252; p: 0,297
ALP	r: 0.295; p: 0.152	r: 0,484*; p: 0,031*
Albumin	r: - 0.398*; p: 0.049*	r: 0,292; p: 0,211
T. Bilirubin	r: - 0.267; p: 0.198	r: 0,130; p: 0,586
D. Bilirubin	r: 0.117; p: 0.579	r: 0,203; p: 0,391
PPGN	r: 0.094; p: 0.654	r: 0,035; p: 0,884
LDN	r: 0,127; p: 0,546	r: - 0,104; p: 0,663
PIİ	r: 0,081; p: 0,701	r: 0,201; p: 0,396
HAİ	r: 0,147; p: 0,482	r: 0,039; p: 0,869
FS	r: 0,346; p: 0,091	r: 0,126; p: 0,596
HBV DNA	r: - 0,106; p: 0,613	r: 0,133; p: 0,617

* Korelasyon 0,05 düzeyinde anlamlıdır

TABLO 7: KRONİK VİRAL HEPATİTLİ OLGULARIN HGF DÜZEYLERİ İLE HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ARASINDAKİ KORELASYON DEĞERLERİ

	R	p
ALT	0,074	0,653
AST	0,104	0,527
GGT	- 0,068	0,679
ALP	0,345 *	0,031 *
Albumin	- 0,389 *	0,014 *
T Bilirubin	0,389 *	0,014 *
D. Bilirubin	0,486 **	0,002 **
PPGN	0.05	0.977
LDN	- 0.021	0.898
Pİİ	0.117	0.477
HAİ	0.091	0.581
FS	0,335 *	0,037 *

* Korelasyon 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

** Korelasyon 0,01 düzeyinde anlamlıdır.

TARTIŞMA

HbsAg taşıyıcılığı sıklığı coğrafyaya bağlı olarak büyük değişiklikler göstermektedir. İngiltere, Amerika Birleşik Devletleri ve İskandinavya'da %0.1-0.2, Yunanistan ve Güney İtalya'da >%3 ve Afrika ve Uzak Doğu'da %10-15 sıklıkta izlenmektedir (72). Erişkinlerde akut Hepatit B enfeksiyonu genellikle tam bağışıklık ile sonuçlanır. Akut hepatit B enfeksiyonu geçirenlerin yaklaşık %1'inde fulminan hepatit gelişir. İleri yaş hastalarda hepatit B taşıyıcılığı %1-10 arasında değişmektedir. Okul öncesi çocuklarda ise akut hepatit B enfeksiyonundan sonra taşıyıcılık sıklığı %20'ye kadar çıkmaktadır. HBsAg (+) anneden doğup immunizasyon uygulanmayan yenidoğanlarda taşıyıcılık yaklaşık %90'lara çıkmaktadır. Taşıyıcılarda kronik karaciğer hastalığı gelişimi yaygındır (73). Kronik hepatit C %0.1-5 sıklıkta görülmektedir. HCV enfeksiyonunda ise HBV enfeksiyonu ile karşılaştırıldığında kronikleşme oranı daha yüksektir. Hepatit C enfeksiyonu geçiren hastaların %50'sinde kronik hepatit gelişmektedir. (74)

HGF karaciğerde Kupffer hücresi, endotel hücresi ve İto hücresi gibi nonparankimal hücrelerden salınır (4). Karaciğer HGF'nin kandan uzaklaştırılmasında temel sorumlu olduğundan, karaciğer hastalıklarında hepatik klirensin azalması ya da HGF üretiminde artış nedeniyle serum HGF düzeyi artma eğilimindedir (14).

Çalışmamızda kronik viral hepatit (kronik hepatit B ve kronik hepatit C enfeksiyonu) hastalarını ve sağlıklı kontrol grubunu serum HGF düzeyleri, histolojik ve biyokimyasal parametreler açısından karşılaştırdık. Ayrıca kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda IFN tedavisi öncesi ve sonrasında serum HGF düzeyleri değerlendirilerek tedavinin biyokimyasal ve histolojik parametreler ile viral yük üzerine etkisi araştırdık. Literatürde pediatrik yaş grubunda kronik viral hepatit olgularında serum HGF düzeylerinin değerlendirildiği ve erişkin yaş grubunda ise kronik hepatit B hastalarında tedavinin serum HGF düzeylerine etkisinin araştırıldığı çalışmaya rastlamadık.

Çalışmamıza gastroenteroloji polikliniğimize başvuran ve daha önce ifade edilen uygunluk kriterlerini taşıyan tüm kronik B ve kronik C hepatiti olguları dahil edildi. Pediatrik yaş grubunda rastlanan kronik hepatit B olgularında ön planda maternal geçiş, kronik hepatit C hastalarında ise kan ve kan ürünü transfüzyonları rol oynamaktadır. Öte yandan pediatrik yaş grubunda erişkinlere oranla akut hepatit B enfeksiyonunun kronikleşme riski daha yüksektir. Sayılan nedenlerle kronik hepatit B grubunda yer alan hastaların yaşları kronik C hepatiti olanlara göre anlamlı olarak düşüktü. Ancak iki grup arasında anlamlı cinsiyet farkı saptanmadı. Öte yandan kronik hepatit B ve C olgularının birlikte değerlendirildiği kronik viral hepatit grubu ile sağlıklı kontrol grubu katılımcılarının yaş ve cinsiyet açısından benzer olduğu izlendi.

Tedavi öncesi kronik hepatit B ($p<0.05$) ve kronik hepatit C ($p<0.05$) olgularının serum HGF düzeyleri sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksekti. Hepatoselüler disfonksiyonda serum HGF düzeylerinin artışı erken dönemde karaciğerin HGF klirensinde azalma ve uzun dönemde ise karaciğer dokusunun rejenerasyonu için gerekli olan HGF'nin sentezinin artışı ile ilişkilidir. Sıçanlarda CC14 entoksikasyonu ve parsiyel hepatektomi sonrası serum HGF düzeylerinin 1-2 saat gibi çok kısa bir süre içinde zirve yapması karaciğerin HGF klirensinde belirleyici organ olduğunu ortaya koymaktadır (28). Yine sıçanlarda parsiyel hepatektomi sonrası 3-6 saatte HGF mRNA artar ve 20.saatte zirve yapar (30,31). Karaciğer dokusu kaybı sonrası hepatik monoamin oksidaz tarafından parçalanan norepinefrinin serum düzeyi artar. Serum düzeyi artan norepinefrin ise EGF ve HGF'nin hepatosit üzerindeki mitojenik etkisini kuvvetlendirir (28). Osamu (34) ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada akut hepatit, fulminan hepatit, subakut hepatit, kronik hepatit, karaciğer sirozu, hepatosellüler karsinom (HCC) hastalarında serum hHGF düzeyi akut karaciğer hastalığı olanlarda sağlıklı gruba göre belirgin derecede yüksek bulunması kendi verilerimiz ile uyumludur. Aynı çalışmada fulminan hepatit hastalarında başlangıç döneminde karaciğer dokusundaki nekrozu yansıtan serum SGPT düzeyi artışına hHGF seviyesi artışının eşlik etmesi ve ileri dönemde karaciğer rejenerasyonu ile birlikte serum hHGF düzeylerinin normale gelmesi karaciğerin hHGF klirens ve sentezindeki belirleyici rolüne işaret etmektedir.

Kronik hepatit B enfeksiyonu olan grupta yapılan tedavi öntü ve tedavi sonu değerlendirmede IFN tedavisiyle HGF düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşme saptanmıştır. Literatürde kronik hepatit B hastaları üzerinde yapılmış söz konusu verimizi karşılaştırabileceğimiz bir çalışma yoktur. Bunun temel nedeni son zamanlarda hepatit B aşısının rutin aşılama programına alınması nedeniyle özellikle gelişmiş ülkelerde kronik hepatit B prevalansının azalması olabilir. Bu nedenle gelecekte de konu ile ilgili çalışmaların gelişmiş ülkelerden ziyade aşılama programlarının henüz yeterince etkin ve yaygın uygulanmadığı gelişmekte olan ülkelerden çıkması olasıdır. Öte yandan Mitsuhiko M. ve arkadaşları kronik hepatit C grubunda IFN tedavisi öncesi değerlere göre tedavi sonu HGF düzeyinde azalma görüldüğünü bildirmişlerdir. Yine bu çalışmada HGF düzeyi ile karaciğerde nekroinflamatuvar yanıt bakımından güçlü bir ilişki olduğu vurgulanmıştır. HGF düzeyindeki bu düşüş IFN tedavisiyle karaciğerde inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunun kontrol edilmesine ve böylece nekroinflamatuvar yanıtta azalmaya bağlanmış ve böylece HGF düzeyindeki bu düşmenin tedavi cevabını yansıttığı belirtilmiştir (35). Kendi çalışmamızda KHC olgularında tedavi sonrası HGF değerlendirmesi olmamasına karşın, Mitsuhiko ve ark. tarafından KHC hastaları üzerinde yapılan çalışmanın verileri, KHB olgularımızda elde ettiğimiz sonuçları dolaylı olarak desteklemektedir.

Yine çalışmamızda kronik hepatit B grubunda tedavi öncesinde serum HGF düzeyi ile histolojik, biyokimyasal ve viral yük parametrelerini karşılaştırdık. Yalnızca serum HGF düzeyi ile serum albumin değeri arasında negatif korelasyon saptadık ($p<0,049$). Osamu H ve arkadaşları benzer şekilde hepatosellüler karsinom eşlik eden ve etmeyen sirozlu vakalarda serum albumin ile HGF arasında negatif korelasyon olduğunu göstermişlerdir (34). Bu durum kronik karaciğer hastalığı zemininde görülen ve karaciğer disfonksiyonunu yansıtan hipoalbuminemi varlığında HGF'ün hepatik klirensinde azalma ve sağlam karaciğer dokusu tarafından rejenerasyon amacı ile HGF sentezinin artışı ile ilişkili gözükmektedir. Literatürde serum HGF ile serum albumin düzeyleri arasında saptadığımız ilişkiyi karşılaştırabileceğimiz bir başka çalışmaya rastlamadık.

Kronik hepatit B grubunda tedavi sonu HGF düzeyleri ile histolojik, biyokimyasal ve viral yük parametrelerini karşılaştırdık. Çalışmamızda HGF düzeyleri ile alkalen fosfataz arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Alkalen fosfataz enzimi de karaciğer karaciğer enflamasyonunun belirteçlerinden biri olduğundan KHB'li olgulardaki enflamasyon zemininde serum HGF ve alkalen fosfataz düzeylerinin ilişkili olması beklenir. Ancak literatürde bu hipotezimizi destekleyecek bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda kronik viral hepatitleri tek bir grup olarak değerlendirdiğimizde tedavi öncesi HGF düzeyleri ile alkalen fosfataz, total bilirubin, direkt bilirubin ve fibrosis skoru arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu pozitif korelasyonu karaciğerin inflamasyonunu yansıtan fibrosis skoru ve artan HGF arasındaki ilişkiyle açıklayabiliriz. Aynı ilişkiyi karaciğer inflamasyonunda artan parametreler olan alkalen fosfataz, total ve direkt bilirubin ile HGF arasında da görmekteyiz. Bulgularımızı doğrudan karşılaştırabileceğimiz bir başka çalışmaya rastlamadık. Ancak Ozden M ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada akut hepatit B, kronik hepatit B, bakteriyel ve tüberküloz menenjit gruplarında serum HGF düzeyine bakılmıştır. Kronik hepatit B grubunda HGF düzeyi ile fibrosis skoru arasında benzer bir korelasyon bulunmuştur. Yine aynı çalışmada HGF düzeyi ile fibrosis skoru yanında HBV DNA , ALT, histolojik aktivite indeksi arasında korelasyon saptanmıştır. Ancak buradaki olgular HbeAg (+), yüksek serum HBV-DNA ve ALT seviyelerine sahip replikatif fazdaki hastalardan seçilmiştir (61). Çalışmamızda KHC olgularında tedavi sonrası karaciğer biyopsisi ve serum HGF düzeyi değerlendirmesi yapılmamıştır. Bu nedenle sadece KHB olgularında antiviral tedaviye yanıt ile HGF düzeyleri arasındaki ilişki değerlendirilebilmiştir. KHB olgularında tedavi öncesi ve sonrası dönemde HGF düzeyleri ile karaciğer fibrozisi arasında korelasyon bulunmamasına karşın, KHB ve KHC olguları birlikte değerlendirildiğinde tanı anında karaciğer fibrosis skoru ile HGF arasında pozitif korelasyon bulunması, KHB olgularının sayısının düşük olması ile ilişkili olabilir. KHB olgularımızda tedavi sonrası serum HGF düzeylerindeki anlamlı azalma, Mitsuhiko ve ark. tarafından KHC hastaları üzerinde yapılan ve tedavi sonrası KHC hastalarında başlangıç ile karşılaştırıldığında serum HGF düzeylerinde anlamlı düşmenin gösterildiği çalışmanın verileriyle birlikte değerlendirildiğinde, tedaviye yanıt olarak HGF

düzeylerindeki değişmeler açısından kronik viral hepatit grubunun bir bütün olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda çalışmamızda kronik viral hepatit hastalarımızın tümü değerlendirildiğinde tanı anındaki karaciğer fibrozis skoru ile HGF düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon göz önüne alındığında, KHC olgularımıza da tedavi sonrası karaciğer biyopsisi ve HGF-düzeyi değerlendirmesi yapmamız halinde kronik viral hepatit olgularımızda tedavi sonrası dönemde de fibrozis skoru ile HGF düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanması olasıdır.

Bildiğimiz kadarı ile gerek erişkin gerekse pediatrik hasta grubunda kronik viral hepatit olgularında tedaviye yanıt olarak karaciğer histopatolojisi ile serum HGF düzeylerinde meydana gelen değişiklikler arasındaki ilişkiyi konu edinen yayın sayısı sınırlıdır. Bu durum özellikle kronik hepatit B hastaları için geçerlidir. Gelişmiş ülkelerde etkin ve yaygın HBV aşı programlarının uygulanması ve akut HBV enfeksiyonunun özellikle çocukluk çağlarında yüksek kronikleşme riski taşıması nedeniyle kronik B hepatiti özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaşayan çocukların sorunudur. Çocukluk çağında kronik hepatit B enfeksiyonu gelişen hastaların erişkin popülasyona kıyasla çok daha genç yaşlarda HCC riski ile karşı karşıya buldukları dikkate alındığında özellikle pediatrik yaş grubunda KHB enfeksiyonunun etkin tedavisi büyük önem taşımaktadır. Kronik viral hepatitlerde tedavi yanıtı ve en korkulan komplikasyon olan HCC gelişiminin takibi polimeraz zincir reaksiyonu kantitatif viral yük analizi, görüntüleme metodları, AFP takibi ve gereğinde karaciğer biyopsisi ile yapılmaktadır. Hasta grubumuzda tanı anında HGF düzeyleri ile karaciğer fibrozis skoru arasında ilişki bulunması, KHB olgularımızda tedavi sonrası serum HGF düzeylerinde anlamlı düşme izlenmesi HGF düzeyinin kronik viral hepatit olgularında tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde noninvaziv bir test olarak kullanılabilceğini konusunda ipucu vermektedir. Mevcut bulgularımızın daha geniş olgu serileri ile desteklenmesi halinde gelecekte kronik viral hepatit olgularında antiviral tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde invaziv bir işlem olan karaciğer biyopsisi yerine serum HGF düzeyinin tayini gündeme gelebilir. Yine HCC hastalarında klinik tanı ve metastaz takibinde HGF düzeyinin kullanılabilceği ile ilgili veriler ışığında kronik viral hepatit olgularında özellikle ileri dönemde belirli periodlarda serum HGF analizi HCC sürveysinde kullanılabilir (45).

SONUÇ

- Çalışmamıza KHB tanılı 25, KHC tanılı 20 hasta ve sağlıklı 25 olgu dahil edilmiştir.
- Tedavi öncesi kronik hepatit B ($p<0.05$) ve kronik hepatit C ($p<0.05$) olgularının serum HGF düzeyleri sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu.
- KHB grubunda tanı anında serum HGF düzeyi ile serum albumin değeri arasında negatif korelasyon saptandı ($p<0,049$). Bu durumun kronik karaciğer hastalığı zemininde görülen ve karaciğer disfonksiyonunu yansıtan hipoalbuminemi varlığında HGF'nin hepatik klirensinde azalma ve sağlam karaciğer dokusu tarafından rejenerasyon amacı ile HGF sentezinin artışı ile ilişkili olduğu düşünüldü.
- KHB grubunda tedavi sonu HGF düzeyleri ile alkalen fosfataz arasında pozitif korelasyon saptandı.
- KHB enfeksiyonu olan grupta yapılan tedavi öni ve tedavi sonu değerlendirmede IFN tedavisiyle HGF düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşme saptanmıştır.
- Kronik viral hepatitleri tek bir grup olarak değerlendirdiğimizde tedavi öncesi HGF düzeyleri ile alkalen fosfataz, total bilirubin, direkt bilirubin ve fibrozis skoru arasında pozitif korelasyon bulunmuştur.

ÖZET

HGF Kupffer hücresi, endotel hücresi ve İto hücresi gibi karaciğerin nonparankimal hücrelerinden salınır. HGF proteini yalnızca karaciğer için değil böbrek, plesanta, beyin, akciğer, pankreas ve hematopoietik dokular için de büyüme faktörüdür. Karaciğer HGF'nin proteolitik aktivasyonu ve temizlenmesinde önemli rol oynar.

Pediyatrik yaş grubunda kronik hepatit viral hepatit hastalarında tanı anında hepatocyte growth faktör (HGF) düzeyleri ölçüldü ve kronik hepatit B'li hastalarda interferon tedavisinin HGF üzerine etkisi değerlendirildi. Diğer yandan HGF'nin HBV hastalarının takibindeki yeri araştırıldı.

Çalışmaya Gastroenteroloji polikliniğimizden kronik hepatit B (KHB) tanısı alan 25 hasta ve kronik hepatit C (KHC) tanısı alan 20 hasta ve kontrol grubu olarak sağlıklı 25 çocuk dahil edildi. Tüm kronik viral hepatit olgularda tanı anında karaciğer biyopsisi yapıldı. Tüm biyopsi materyalleri ilk kez Knodell ve ark. tarafından tanımlanan ve sırası ile grade ve stage tanımlamakta kullanılan, üç nekroenflamasyon ve bir fibroz kategorisine dayanan skorlama sistemine göre değerlendirildi. Sadece KHB olgularında tedavi sonu karaciğer biyopsisi yapıldı.

KHC olgularda tedavi öncesi, KHB olgularında tedavi öncesi ve sonrası kan örneklerinde serum HGF düzeyleri ile ALT, AST, γ -GT, ALP, total bilirubin, indirekt bilirubin, direkt bilirubin, albumin ve virolojik parametrelerin ölçümleri yapıldı. Kontrol grubunu oluşturan tüm çocuklarda ise serum HGF ölçümleri yapıldı.

Kronik hepatit B ($p<0.05$) ve kronik hepatit C ($p<0.05$) olgularında serum HGF düzeyleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek saptandı. Kronik hepatit B ile kronik hepatit C olguları arasında HGF düzeyleri bakımından istatistiksel açıdan anlamlı fark izlenmedi ($p>0.05$). Kronik hepatit B hastalarında serum HGF düzeyleri tedavi sonrası anlamlı azaldı ($p<0,01$). Kronik viral hepatit (KHB ve KHC) olgularını birlikte değerlendirince tanı anında HGF düzeyleri ile fibrozis skoru ($r:0,335$, $p:0,037$) arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu bulgular ışığında kronik viral hepatit hastalarında HGF düzeyi ile karaciğerde nekroinflamatuvar yanıt bakımından güçlü bir ilişki olduğunu söyleyebiliriz.

ABSTRACT

Hepatocyte growth factor (HGF) is released by nonparenchymal liver cells like Kupffer, endothelial and Ito cells. HGF is not only a growth factor for liver but also promotes growth of renal, placental, brain, lung, pancreas and hematopoietic tissues. The liver plays important role in proteolytic activation and clearance of HGF.

Serum HGF levels of chronic viral hepatitis patients in pediatric age group were measured and the effect of interferon therapy on HGF levels in chronic hepatitis B (CHB) patients were evaluated. On the other hand the role of HGF in the follow-up of CHB patients was analysed.

Our study included 25 CHB, and 20 chronic hepatitis C (CHC) patients who were followed-up by our gastroenterology outpatient clinic and 25 healthy controls. Liver biopsies were performed in all chronic viral hepatitis patients at diagnosis. All biopsy materials were evaluated according to a modified scoring system which was first introduced by Knodell and based on three categories for necro-inflammation and one for fibrosis for defining grade and stage, respectively. Posttherapy liver biopsies were performed only in CHB patients.

Serum HGF, ALT, AST, GGT, ALP, total bilirubin, indirect bilirubin, direct bilirubin, albumin levels and viral load parameters were measured in pretherapy samples of CHC, and pre and posttherapy blood samples of CHB patients. Serum HGF measures were taken in all healthy controls.

Serum HGF levels were found to be significantly higher in CHB ($p < 0.05$) and CHC ($p < 0.05$) patients than healthy controls. No difference was observed in view of serum HGF levels between CHB and CHC patients ($p > 0.05$). Serum HGF levels were decreased following antiviral therapy in CHB patients ($p < 0.01$). We observed significant positive correlation ($r: 0.335$, $p: 0.037$) between serum HGF levels and hepatic fibrosis score in chronic viral hepatitis patients (CHB and CHC patients) at diagnosis. In view of these findings we can conclude that there is a strong correlation between serum HGF levels and necroinflammatory response of liver in chronic viral hepatitis patients.

KAYNAKLAR

- 1) Taşyaran M.A. Hepatit B Virus İnfeksiyonu Epidemiyolojisi. Viral Hepatit 2003;121-128. Viral Hepatitli Savaşım Derneği 2003
- 2) Çullu F. Çocukluk Çağında A,B,C Hepatitleri. Viral Hepatit 2003; 287-308. Viral Hepatitli Savaşım Derneği 2003
- 3) Akkız H. Hepatit C Enfeksiyonu Epidemiyoloji ve Korunma. Viral Hepatit 2003; 199-221. Viral Hepatitli Savaşım Derneği 2003
- 4) Noji S, Tashiro K, Koyama E, Nohno T, Ohyama K, Taniguchi S, Nakamura T. Expression of hepatocyte growth factor gene in endothelial and Kupffer cells of damaged rat livers, as revealed by in situ hybridization. Biochem Biophys Res Commun 1990;173:42-47
- 5) Zioncheck TF, Richardson L, De Guzman GG, Modi NB, Hansen SE, Godowski PJ. The pharmacokinetics, tissue localization and netabolic processing of recombinant human hepatocyte growth factor after intravenous administration in rats. Endocrinology 1994;134:1879-87
- 6) Sakaguchi H, Seki S, Tsubouchi H, Daikuhara Y, Niitani Y, Kobayashi K. Ultrastructural location of human hepatocyte growth factor in human liver. Hepatology 1994;19:1157-63
- 7) Nakamura T, Nawa K, Ichihara A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. Biochem Biophys Res Commun 1984;122:1450-1459
- 8) Nakamura T, Teramoto H, Ichihara A. Purification and characterization of a growth factor from rat platelets for mature parenchymal hepatocytes in primary culture. Proc Natl Acad Sci U S A 1986;83: 6489-6493
- 9) Nakamura T, Nawa K, Ichihara A, Nishino T. Subunit structure of hepatocyte growth factor from rat platelets. FEBS Lett 1987;224:311-318

- 10) Nakamura T, Nishizawa T, Hagiya M, Seki T, Shimonishi M, Sugimura A, Tashiro K, et al. Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature* 1989;342:440-443
- 11) Yoshiyama Y, Arakaki N, Naka D, Takahashi K, Hirono S, Kondo J, Nakayama H, et al. Identification of the N-terminal residue of the heavy chain of both native and recombinant human hepatocyte growth factor. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;175:660-667
- 12) Hernandez J, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Characterization of the effects of human placental HGF on rat hepatocytes. *J Cell Physiol.* 1992;150(1):116-121
- 13) Rubin JS, Chan AM, Bottaro DP, Burgess WH, Taylor WG, Cech AC, Hirschfield DW, et al. A broad-spectrum human lung fibroblast-derived mitogen is a variant of hepatocyte growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:415-419
- 14) Michalopoulos GK, Zarnegar R. Hepatocyte growth factor. *Hepatology* 1992;15:149-155
- 15) Seki T, Hagiya M, Shimonishi M, Nakamura T, Shimizu S. Organization of the human hepatocyte growth factor-encoding gene. *Gene* 1991;102:213-219
- 16) Weidner M, Arakaki N, Hartmann G, Vandekerckhove J, Weingart S, Rieder H, Fonatch C, et al. Evidence for the identity of human scatter factor and human hepatocyte growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:7001-7005
- 17) Peter B, Charles M. Hepatocyte growth factor: a multifunctional cytokine. *Lancet* 1995;345:293-295
- 18) Matsumoto K, Tajima H, Hamanoue M, Kohno S, Kinoshita T. Identification and characterization of "injurin", an inducer of expression of the gene for hepatocyte growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:3800-3804
- 19) Okazaki H, Matsumoto K, Nakamura T. Partial purification and characterization of 'injurin-like' factor which stimulates production of hepatocyte growth factor. *Biochim Biophys Acta* 1994;220:291-298

- 20) Matsunaga T, Gohda E, Takebe T, et al. Expression of hepatocyte growth factor is up-regulated through activation of a cAMP-mediated pathway. *Exp Cell Res* 1994;210:326-335
- 21) Bottaro DP, Rubin JS, Faletto DL, Chan AM, Kmieciak TE, Vande Woude GF, Aaronson SA. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met protooncogene product. *Science* 1991;251:802-804
- 22) Jucker M, Gunther A, Gradl G, et al. The met/hepatocyte growth factor receptor (HGFR) gene is overexpressed in some cases of human leukemia and lymphoma. *Leuk Res* 1994;18:7-16
- 23) Miller SB, Martin DR, Kissane J, Hammerman MR. Hepatocyte growth factor accelerates recovery from acute ischemic renal injury in rats. *Am J Physiol* 1994;266:F129-134
- 24) Kawaida K, Matsumoto K, Shimazu H, Nakamura T. Hepatocyte growth factor prevents acute renal failure and accelerates renal regeneration in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:4357-4361
- 25) Watanabe S, Hirose M, Wang XE, et al. Hepatocyte growth factor accelerates the wound repair of cultured gastric mucosal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;199:1453-1460
- 26) Rosen EM, Grant DS, Kleinman HK, et al. Scatter factor (hepatocyte growth factor) is a potent angiogenesis factor in vivo. *Symp Soc Exp Biol* 1993;47:227-234
- 27) Zarnegar R, Michalopoulos G. Purification and biological characterization of human hepatopoietin A, a polypeptide growth factor for hepatocytes. *Cancer Res* 1989;49:3314-3320
- 28) Lindroos PM, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Hepatic growth factor (hepatopoietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administration. *Hepatology* 1991;13:743-750

- 29) Kost DP, Michalopoulos GK. Effect of 2% dimethyl sulfoxide on the mitogenic properties of epidermal growth factor and hepatocyte growth factor in primary hepatocyte culture. *J Cell Physiol* 1991;147:274-280
- 30) Zarnegar R, DeFrances MC, Kost DP, Lindroos P, Michalopoulos GK. Expression of hepatocyte growth factor mRNA in regenerating rat liver after partial hepatectomy. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;177:559-565
- 31) Kinoshita T, Hirao S, Matsumoto K, Nakamura T. Possible endocrine control by hepatocyte growth factor of liver regeneration after partial hepatectomy. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;177:330-335
- 32) Francavilla A, Starzl TE, Porter K, Scotti-Foglieni C, Michalopoulos GK, Carrieri G, Trejo J, et al. Screening for candidate hepatic growth factors by selective portal infusion after canine Eck's fistula. *Hepatology* 1991;14:665-670
- 33) Kuwashima Y, Aoki K, Kohyama K, Ishikawa T. Hepatocyte regeneration after partial hepatectomy occurs even under several thrombocytopenic conditions in the rat. *Jpn J Cancer Res* 1990;81:607-612
- 34) Osamu H, Akiharu W, Masami M, Toshihiro T. Clinical significance of serum hepatocyte growth factor levels in liver diseases. *Journal of Medicine*. 1993;24:35-46
- 35) Mitsuhiko M, Hiroshi M, Azuma W, Suhu O, Hiroshi A, Toshihiro S, Kazuhiko N, Hiroaki Y, Miki K, Atsuo S, Naohide T, Yasuyuki A. Evaluation of serum concentrations of human hepatocyte growth factor during interferon therapy for chronic hepatitis C. *Intervirology*. 2005;48:223-229
- 36) Parr C, Watkins G, Mansel RE, Jiang WG. The hepatocyte growth factor regulatory factors in human breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2004;10:202-211
- 37) Nayeri F, Almer S, Brudin L, Nilsson I, Akerlind B, Forsberg P. High hepatocyte growth factor levels in faeces during acute infectious gastroenteritis. *Scand J Infect Dis*. 2003;35:858-862
- 38) Hu RH, Lee PH, Yu SC, Ho MC. Profile of hepatocyte growth factor in patients with obstructive jaundice. *Hepatogastroenterology*. 2003;50:1987-1990

- 39) Jin M, Chen Y, He S, Ryan SJ, Hinton DR. Hepatocyte growth factor and its role in the pathogenesis of retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:323-329
- 40) Ozden M, Kalkan A, Demirdag K, Kiliç SS, Denk A, Yuce P. Hepatocyte growth factor (HGF) in patients with acute brucellosis. *Scand J Infect Dis.* 2004;36:109-113
- 41) Marchand-Adam S, Marchal J, Cohen M, Soler P, Gerard B, Castier Y, Leseche G, Valeyre D, Mal H, Aubier M, Dehoux M, Crestani B. Defect of hepatocyte growth factor secretion by fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:1156-1161
- 42) Ohno T, Yuge T, Kariyazono H, Igarashi H, Joh-o K, Kinugawa N, Kusuhara K, Hara T. Serum hepatocyte growth factor combined with vascular endothelial growth factor as a predictive indicator for the occurrence of coronary artery lesions in Kawasaki disease. *Eur J Pediatr.* 2002;161:105-111
- 43) Srivastava M, Zurakowski D, Cheifetz P, Leichtner A, Bousvaros A. Elevated serum hepatocyte growth factor in children and young adults with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2001;33:548-553
- 44) Efimova EA, Glanemann M, Liu L, Schumacher G, Settmacher U, Jonas S, Langrehr Jm, Neuhaus P, Nussler AK. Effects of human hepatocyte growth factor on the proliferation of human hepatocytes and hepatocellular carcinoma cell lines. *Eur Surg Res.* 2004;36:300-307
- 45) Junbo H, Li Q, Zaide W, Yunde H. Increased level of serum hepatocyte growth factor/scatter factor in liver cancer is associated with tumor metastasis. *In Vivo* 1999;13:177-180
- 46) Niki M, Isozaki H, Toyoda M, Ishibashi T, Fujii K, Nomura E, Mabuchi H, Nakamura M, Nishiguchi K, Tanigawa N. Serum human hepatocyte growth factor (hHGF) is elevated in patients with metastatic gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology.* 1999;46:568-573

- 47) Fukuura T, Miki C, Inoue T, Matsumoto K, Suzuki H. Serum hepatocyte growth factor as an index of disease status of patients with colorectal carcinoma. *Br J Cancer*. 1998;78:454-459
- 48) Lassus P, Nupponen I, Kari A, Pohjavuori M, Andersson S. Early postnatal dexamethasone decreases hepatocyte growth factor in tracheal aspirate fluid from premature infants. *Pediatrics*. 2002;110:768-771
- 49) Tjoa ML, Mulders MA, van Vugt JM, Blankenstein MA, Oudejans CB, van Wijk IJ. Plasma hepatocyte growth factor as a marker for small-for-gestational age fetuses. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;110:20-25
- 50) Okazaki M, Yoshimura K, Suzuki Y, Uchida G, Kitano Y, Harii K, Imokawa G. The mechanism of epidermal hyperpigmentation in cafe-au-lait macules of neurofibromatosis type 1 (von Recklinghausen's disease) may be associated with dermal fibroblast-derived stem cell factor and hepatocyte growth factor. *Br J Dermatol*. 2003;148:689-697
- 51) Walker F, Kermorgant S, Darai E, Madelenat P, Cremieux AC, Henin D, Lehy T. Hepatocyte growth factor and c-met in cervical intraepithelial neoplasia: overexpression of proteins associated with oncogenic human papillomavirus and human immunodeficiency virus. *Clin Cancer Res*. 2003;9:273-284
- 52) Itoh H, Itakura A, Kurauchi O, Okamura M, Nakamura H, Mizutani S. Hepatocyte growth factor in human breast milk acts as a trophic factor. *Horm Metab Res*. 2002;34:16-20
- 53) Lassus P, Nupponen I, Kari A, Pohjavuori M, Andersson S. Early postnatal dexamethasone decreases hepatocyte growth factor in tracheal aspirate fluid from premature infants. *Pediatrics*. 2002;110:768-771
- 54) Nishimura M, Ushiyama M, Nanbu A, Ohtsuka K, Takahashi H, Yoshimura M. Elevated hepatocyte growth factor in sera from patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Hypertens*. 1997;15(10):1137-1142
- 55) Rosen EM, Joseph A, Jin L, Yao Y, Chau MH, Fuchs A, Gomella L, Hastings H, Goldberg ID, Weiss GH. Urinary and tissue levels of scatter factor in transitional cell carcinoma of bladder. *J Urol*. 1997;157:72-78

- 56) Taha AS, Curry GW, Morton R, Park RH, Beattie AD. Gastric mucosal hepatocyte growth factor in *Helicobacter pylori* gastritis and peptic ulcer disease. *Am J Gastroenterol.* 1996;91:1407-1409
- 57) Verghese GM, McCormick-Shannon K, Mason RJ, Matthay MA. Hepatocyte growth factor and keratinocyte growth factor in the pulmonary edema fluid of patients with acute lung injury. Biologic and clinical significance. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:386-394
- 58) Nishida M, Kawakatsu H, Ishiwari K, Tamai M, Sawada T, Nishimura M, Yoshimura M. Serum hepatocyte growth factor levels in Henoch-Schonlein purpura. *Pediatr Int.* 1999;41:474-476
- 59) Morishita R, Moriguchi A, Higaki J, Ogihara T. Hepatocyte growth factor (HGF) as a potential index of severity of hypertension. *Hypertens Res.* 1999;22:161-167
- 60) Tsukinoki K, Yasuda M, Asano S, Karakida K, Ota Y, Osamura RY, Watanabe Y. Association of hepatocyte growth factor expression with salivary gland tumor differentiation. *Pathol Int.* 2003;53:815-822
- 61) Ozden M, Kalkan A, Demirdag K, Denk A, Kiliç SS . Hepatocyte growth factor (HGF) in patients with hepatitis B and meningitis. *J Infect.* 2004;49:229-235
- 62) Naughton M, Picus J, Zhu X, Catalona WJ, Vollmer RT, Humphrey PA. Scatter factor-hepatocyte growth factor elevation in the serum of patients with prostate cancer. *J Urol.* 2001;165:1325-1328
- 63) Nayeri F, Nilsson I, Brudin L, Fryden A, Soderstrom C, Forsberg P. High serum hepatocyte growth factor levels in the acute stage of community-acquired infectious diseases. *Scand J Infect Dis.* 2002;34:127-130
- 64) Iwasaki T, Hamano T, Ogata A, Hashimoto N, Kitano M, Kakishita E. Clinical significance of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor in multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2002;116:796-802
- 65) Schoedel KE, Tyner VZ, Kim TH, Michalopoulos GK, Mars WM. HGF, MET, and matrix-related proteases in hepatocellular carcinoma, fibrolamellar variant, cirrhotic and normal liver. *Mod Pathol.* 2003;16:14-21

- 66) Osuga Y, Tsutsumi O, Okagaki R, Takai Y, Fujimoto A, Suenaga A, Maruyama M, Momoeda M, Yano T, Taketani Y. Hepatocyte growth factor concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod.* 1999;14:1611-1613
- 67) Huang MS, Tsai MS, Wang TH, Chong IW, Hou JJ, Lin YJ, Hwang JJ. Serum hepatocyte growth factor levels in patients with inflammatory lung diseases. *Kaohsiung J Med Sci.* 1999;15:195-201
- 68) Hsiao LT, Lin JT, Yu IT, Chiou TJ, Liu JH, Yen CC, Wang WS, Chen PM. High serum hepatocyte growth factor level in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol.* 2003;70:282-289
- 69) Arrieta O, Garcia E, Guevara P, Garcia-Navarrete R, Ondarza R, Rembao D, Sotelo J. Hepatocyte growth factor is associated with poor prognosis of malignant gliomas and is a predictor for recurrence of meningioma. *Cancer.* 2002;94:3210-3218
- 70) Tsuboi Y, Kakimoto K, Akatsu H, Daikuhara Y, Yamada T. Hepatocyte growth factor in cerebrospinal fluid in neurologic disease. *Acta Neurol Scand.* 2002;106:99-103
- 71) Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19(6): 1513-1520
- 72) Sherlock S and Dooley J. Hepatitis B virus and Hepatitis Delta virus. In: *Diseases of the liver and biliary system.* 11th ed. Milan: Blackwell Publishing Ltd; 2002. p.285-304.
- 73) Novak DA, Suchy FJ, Balistreri WF. Disorders of the liver and biliary system. In: *McMillan JA, Feigin RD, DeAngelis C, Jones MD (Ed.) Oski's Pediatrics.* 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2006. p.2013-2040
- 74) Sheila Sherlock and James Dooley. Hepatitis C virus. In: *Diseases of the liver and biliary system.* 11th ed. Milan: Blackwell Publishing Ltd;2002.p.305-320