

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

**OTOİMMÜN HEPATİT HASTALARINDA SERUM HLA-G PROFİLİNİN**  
**TEDAVİ YANITI VE PROGNOZ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Araş. Grv. Dr. Filiz Cemre TAŞGÖZ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA**  
**2018**

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

**OTOİMMÜN HEPATİT HASTALARINDA SERUM HLA-G PROFİLİNİN**  
**TEDAVİ YANITI VE PROGNOZ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Araş. Grv. Dr. Filiz Cemre TAŞGÖZ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak Hazırlanmıştır**

**Tez Danışmanı**  
**Prof. Dr. Taylan KAV**

**ANKARA**  
**2018**

## TEŞEKKÜR

Öncelikle uzmanlık eğitimim ve tez çalışmamın tüm aşamalarındaki katkıları ve desteği için, değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Taylan Kav'a teşekkür ederim.

Biyokimyasal ölçümlerdeki destek ve danışmanlık konusundaki katkılarından ötürü Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Alpaslan Alp'e teşekkür ederim .

Hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini esirgemeyen; herşeyimi borçlu olduğum aileme teşekkür ederim.

Son olarak desteklerini esirgemeyen ne olursa olsun her konuda yardım eden değerli iş arkadaşlarıma teşekkür ederim.

## ÖZET

**Taşgöz, FC. Otoimmün hepatit hastalarında serum HLA-G profilinin tedavi yanıtı ve prognoz üzerine etkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi. Ankara, 2018. Amaç:** Bu araştırmada otoimmün hepatit hastalarının tanı anında alınmış olan plazma örneklerinden HLA-G profil düzeyinin belirlenmesi ve bu molekülü tedaviye iyi yanıt veren, tedaviye iyi yanıt vermeyen hastalar ve kontrol grupları arasında karşılaştırmayı amaçladık. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 2010-2015 tarihleri arasında otoimmün hepatit tanısı almış olan hastalar dahil edildi. Bu hastaların altı aylık kontrolleri dosyalarından incelenerek hastalar tedaviye iyi yanıt veren ve tedaviye iyi yanıt vermeyen olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubunu ise bilinen dahili hastalığı olmayan hasta grubu ile benzer yaştaki erişkinler oluşturdu. Hastaların plazma HLA-G molekülü ELISA (Enzime-Linked ImmunoAbsorbent Assay) yöntemi ile değerlendirilerek bulgular ng/ml cinsinden kaydedildi. **Bulgular:** Çalışmaya 29 hasta 30 kontrol olmak üzere toplam 59 kişi dahil edildi. Hasta ve kontrol gruplarının plazma örnekleri ve verileri analiz edildi. Hasta ve kontrol gruplarının plazma HLA-G molekül düzeyi karşılaştırıldığında hasta grubunda molekül düzeyinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu [ hasta median: 62,6 ng/mL (14,7-231); kontrol median: 34ng/mL (1,43-137); p=0,001] saptandı. Tedaviye iyi yanıt veren 18 (%30,5) hasta ve tedaviye iyi yanıt vermeyen 11 (%18,6) hasta karşılaştırıldığında tedaviye iyi yanıt veren grupta HLA-G molekülünün istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptandı. [ tedaviye iyi yanıt veren: 71,1 ng/mL (16,6-231); tedaviye iyi yanıt vermeyen: 41,6ng/mL (14-131); p=0,001], tedaviye iyi yanıt veren grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tedaviye iyi yanıt veren grupta HLA-G düzeyinin istatistiksel açıdan daha yüksek olduğu (p=0,004) saptanırken; tedaviye iyi yanıt vermeyen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı (p=0,750). HAİ skoru ve HLA-G molekülü arasındaki ilişki değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı, orta derecede, negatif yönde korelasyon saptandı (p=0,005; rho= -0,519). HLA-G titresinin hastalığın tedaviye iyi yanıt vereceğini predikte edebiliyor olup olmadığı, molekülün sınır değeri 52,5ng/ml olarak seçildiğinde sensitivite: 72,2 spesivite: 78 eğri altında kalan alan ise 0,768 olarak belirlendi. **Sonuç:** Araştırmamızda, otoimmün hepatit hastalarında HLA-G molekül düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu ve yüksek HLA-G düzeylerinin iyi tedavi yanıtı ile ilişkili olduğunu saptadık. Aynı zamanda HAİ skoru ve HLA-G düzeyi arasında negatif yönde bir korelasyon saptadık. Bu bulgular HLA-G molekülünün otoimmün hepatitin tedavi yanıtı ve prognozunu önceden belirlemede kullanılabilecek bir parametre olduğunu göstermesi ve gelecekteki çalışmalara veri sağlıyor olması nedeni ile önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Otoimmün hepatit, HLA-G molekülü

## ABSTRACT

**Taşgöz, FC. Effect of serum HLA-G profile on treatment response and prognosis in autoimmune hepatitis patients. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine Department, Ankara, 2018.**

**Aim:** In this study, we aimed to determine the HLA-G profile level of plasma samples which was taken at the time of diagnosis of autoimmune hepatitis patients and to compare HLA-G molecule with patients who respond well to treatment, who did not respond well to treatment and control group. **Material and Method:** Patients who were diagnosed with autoimmune hepatitis between 2010 and 2015 were included in the study. According to examination notes held every six months which obtained from patient files, the patients were divided into two groups one with good response to treatment and the other with poor response the treatment. We chose healthy adults who are similar ages with patients for control group. We determined plasma HLA-G molecule level using by ELISA (Enzyme-Linked ImmunoAbsorbent Assay) method. The findings were recorded as ng/ml. **Results:** A total of 59 subjects including 29 patients and 30 controls were included in the study. Plasma samples and data of patients and control groups were analyzed. We compared plasma HLA-G molecule level of the patient and control groups we found that the molecule level was significantly higher in the patient group [ patient median: 62,6 ng/mL (14,7-231); control median: 34ng/mL (1,43-137); p=0,001]. The HLA-G molecule was found to be significantly higher in the patients who respond well to treatment when compared with 18 (30.5%) patients who respond well to treatment and 11 (18.6%) who did not not response well to treatment [good response to treatment: 71,1 ng/mL (16,6-231); poor response to treatment: 41,6ng/mL (14-131); p=0,001] . When we compared plasma HLA-G molecule level of patients who respond well to treatment with control subjects, we found that the molecule level was significantly higher in patient who respond well to treatment (p=0,004). We also compared plasma HLA-G levels of patients who did not response to treatment well with control group. We didn't find any differences (p=0,750). When the relationship between HAI score and HLA-G molecule was evaluated, statistically significant, moderate, negative correlation was detected (p=0,005; rho= -0,519). We selected 52.5ng / ml as cut off value for indicating the HLA-G titre can predict whether the disease will respond well to treatment or not. Sensitivity was determined as 72.2 specificity was determined as 78 and the area under the curve was found to be 0.768. **Conclusion:** In our study, we found that HLA-G molecule levels in autoimmune hepatitis patients were higher than control group, and that high HLA-G levels were associated with good treatment response. We also found a negative correlation between HAI score and HLA-G level. These findings show that HLA-G molecule may be used for predicting response to treatment and prognosis of autoimmune hepatitis. And they also provide data for further studies.

**Keywords:** Autoimmune Hepatitis, HLA-G molecule

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotrasferaz
AMA	Anti-mitokondrial antikor
ANA	Anti-nükleer antikor
ANCA	Anti- nötrofil sitoplazmik antikor
ASGPR	Anti-asiloglikoprotein reseptör antikor
AST	Aspartat aminotransferaz
BSEP	Bile- salt expote pump
CMV	Cytomegalovirus
CTLA	Cytotoxic T lymphocyte antigen
CYP2D6	Cytochrome P 450 2D6
DILI	Drug induce liver injury
ELISA	Enzime- Linked immunosorbent assay
FGF	Fibroblast growth factor
HAİ	Histolojik aktivite indeksi
HBV	Hepatit B virüs
HCC	Hepatoselüler karsinoma
HCV	Hepatit C virüs
HIV	Human immunodeficiency virus
HLA	Human leukocyte antigen
HPV	Human papilloma virus
IAIHG	International Autoimmune Hepatitis Group
Ig	Immunoglobulin
IL	Interleukin
ILT	Immunoglobuline like transkript
INF $\gamma$	Interferone gamma
INR	International normalized ratio
INS/DEL	Insertion/ Deletion
LKM	Liver kidney microsomal antibody
MHC	Major histocompatibility complex
NK	Natural killer

ng/ml	Nanogram/ mililitre
NÜL	Normal üst limit
OİH	Otoimmün hepatit
pANNA	Anti nötrofil nükleer antikor
PBS	Primer bilier siroz
PSK	Primer sklerozan kolanjit
RNA	Ribonükleik asit
sHLA	Soluble human leukocyte antigen
SLA/LP	Soluble liver antigen / Liver pancreas antibody
SMA	Smooth muscle antibody
SPSS	Statistical Packages for Social Sciences
TCR	T cell reseptor
TLR	Toll like reseptor
TNF $\alpha$	Tümör nekroz faktör alfa
UDP	Uridine diphosphate

## TABLolar VE ŞEKİLLER

Tablo ve Şekiller	Sayfa
Tablo 2-1 Tip-1 ve Tip-2 otoimmün hepatit .....	12
Tablo 2 -2 Otoimmün hepatitin epidemiyolojisi .....	13
Tablo 2-3 Otoimmün Hepatitte Hücree Değişimleri.....	16
Tablo 2-4 Otoimmün hepatit sitokin profili .....	17
Tablo 2-6 İlaç ilişkili otoimmün hepatit indüksiyonu .....	23
Tablo 2-7 OİH ile ilişkili otoimmün hastalıklar .....	25
Tablo 2-10 İmmunosupresif tedavi endikasyonları .....	31
Tablo 2-12 Kortikosteroid ve Azatiopurine alternatif tedaviler .....	34
Şekil 3-1 Standart Eğri .....	40
Tablo 4-1 Demografik Veriler.....	41
Şekil 4-1 Hasta ve kontrol gruplarında HLA-G antijen titrelerinin karşılaştırılması.....	42
Şekil 4-2 Tedaviye yanıt veren, tedaviye iyi yanıt vermeyen ve kontrol gruplarında HLA-G antijen titrelerinin karşılaştırılması.....	43
Tablo 4-2 Eşlik eden otoimmün hastalığı olan ve olmayan hasta gruplarında ve cinsiyetlerde HLA-G antijen titresinin karşılaştırılması.....	44
Tablo 4-3 HLA-G antijen titresi ve tanı sırasındaki HAI skoru ile diğer veriler arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi .....	45
Şekil 4-3 HAI puanı ve HLA-G antijen titresinin karşılaştırılması .....	45
Tablo 4-4 Tedaviye iyi yanıt veren grup ve tedaviye iyi yanıt vermeyen gruplarda ALT , IgG , HAI skorları düzeylerinin karşılaştırılması .....	46
Tablo 4-5 Kadın ve erkek hastalar, tanı sırasındaki ANA titresi, eşlik eden otoimmün hastalığı olan ve olmayan hastaların tedaviye yanıtı iyi olan ve tedavi yanıtı iyi olmayan gruplarda değerlendirilmesi.....	47
Şekil 4-5 Hastalığın tedaviye yanıtını öngörmede HLA-G antijen titresi ROC eğrisi.....	48

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vi
TABLolar VE ŞEKİLLER .....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
1-GİRİŞ VE AMAÇLAR.....	10
2-GENEL BİLGİLER.....	11
3-MATERYAL-METOD .....	36
4-BULGULAR .....	41
5- TARTIŞMA .....	49
6-SONUÇ VE ÖNERİLER .....	54
KAYNAKLAR .....	55
ETİK KURUL ONAYI .....	66

## 1-GİRİŞ VE AMAÇLAR

Otoimmün hepatit nadir görülen bir hastalık olmasına karşılık nedeni tam olarak anlaşılamamıştır; gerek çevresel gerek genetik birçok nedeni olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır. HLA gen varyantlarının otoimmün hepatit etiyojisinde önemli bir yeri olduğu yapılmış olan birçok çalışmada gösterilmiştir; bu konu ile ilgili çalışmalar daha çok HLA- D allelleri üzerine yapılmış çalışmalardır (1).

HLA-G geni ve bu genetik yapının ürettiği moleküller; immün sistem üzerindeki her çeşit hücre ile etkileşim göstererek immüntoleransın artırılmasını sağlamaktadır. Normal karaciğer dokusunda HLA-G gen moleküllerine rastlanmakla birlikte bu genler doğrudan ifade edilmemektedir. Ancak HLA-G gen proteinlerinin hepatoselüler karsinoma, hepatit B, hepatit C, visseral leishmaniyazis veya karaciğer transplant alıcılarının karaciğer doku ve/veya plazmalarında saptandığı yani bu tarz hastalıklarda bu genetik yapının doğrudan ifade edildiğine dair kanıtlara rastlanmıştır (2).

Portal ven aracılığı ile taşınan çok fazla sayıda antijenik yüke maruz kalan karaciğer tolerojenik özellikleri olan bir organdır. Otoimmün hepatit ise immüntoleransının bozulması ile ilişkili bir durumdur. Diğer otoimmün hastalıklarda (sistemik lupus eritomatozus, psöriazis, romatoid artrit gibi) HLA-G molekülünün rolü olduğu gösterilmişken; karaciğerin otoimmün hastalıklarında bu molekülün rolü olup olmadığı henüz araştırılmamıştır (2).

Hastalığın moleküler ve hüresel mekanizmalarının anlaşılması; hedefe yönelik tedavilerin tasarlanmasına, tedavi kaynaklı advers olayların daha nadir görülmesine, risk değerlendirme ve prognozun hastalık bazında kişiselleştirilmesine katkı sağlayacaktır. Aynı zamanda standart immunsupresif tedaviye yanıt vermeyen hastalar için yeni tedavi yöntemlerinin oluşturulmasına, ve bu yeni tedavi yöntemleri ile birlikte post-transplant rekürens de önlenebileceğine inanılmaktadır (3) .

Çalışmamıza; OIH tanısı almış bireylerin tanı sırasında alınmış plazma örneklerinden HLA-G düzeyini belirleyip, tedavi yanıtı üzerine etkisini araştırmayı amaçlamaktayız. Böylece hastalık etiyojisinin aydınlatılmasına bir adım daha yaklaşmış olacağız.

## 2-GENEL BİLGİLER

Otoimmün hepatit; hepatositlerin immün aracılı hasarı ile karakterize, tipik olarak otoantikör, transaminaz ve gamma globülin yüksekliğinin eşlik ettiği nadir görülen; nedeni bilinmeyen bir hastalıktır (4). Hastalık etiyojisi tamamen anlaşılammıştır. Ancak hastalığın kadın cinsiyet, çevresel etkenler, HLA ve non-HLA genetik varyantları ile net bir ilişki içinde olduğu bilinmektedir (4).

İlk olarak 1950 yılında Jan Waldenström tarafından; sıklıkla genç kadınları etkileyen; akneiform döküntüler, örümcek anjiomalar, anovulatuvar amenore, ve serum immunoglobülinlerinde önemli yükseklikle seyreden bir seri ciddi persistan hepatit olgusu raporlanmıştır (5). Süregelen gözlemlerde hastaların bir kısmında lupus erimatosus hücrelerinin ve ANA yüksekliğinin saptanmış olması bu duruma yol açan temel sebebin immünolojik tolerans kaybı olabileceğini düşündürmüştü; nitekim bu durum 1956 yılında Mackay tarafından ‘‘lupoid hepatit’’ olarak adlandırılmıştır (6). 1960’lı yılların erken dönemlerinde üç adet klinik kontrollü çalışma yayınlanmış ve bu çalışmalarda HbsAg-negatif hepatiti olan bireylerde kortikosteroid tedavisinin hayat kurtarıcı bir öneme sahip olduğu ortaya konulmuştur (7-9).

Takip eden yıllarda OIH ‘‘*kronik aktif otoimmün hepatit*’’ olarak tanımlanmış olup (9): Bu terim 1980’lerin sonuna kadar kullanılmaya devam edilmiştir. Ardından biri 1992 (Brighton, UK) diğeri 1994 (Los Angeles, USA) yıllarında olmak üzere iki adet uluslararası çalışma toplantıları düzenlenmiştir. Bu toplantılarda hastalığın her zaman aktif olmadığı, alevlenmelerle seyrettiği; tedavinin indüklediği veya kendiliğinden remisyona girebildiği ortaya konuldu. Bu nedenlerle hastalığın ismi ‘‘otoimmün hepatit’’ olarak yeniden değiştirildi. Bu çalışma toplantılarının sonunda Uluslararası Otoimmün Hepatit Grubu (IAIHG) oluşturuldu. IAIHG hastalığın tanısını destekleyen bir skorlama sistemi geliştirdi (10). Bu skorlama sistemi 1999 yılında revize edildi (11). Son yıllarda ise klinik pratikte kullanılmak üzere basitleştirilmiş bir skorlama sistemi yine aynı grup tarafından geliştirildi (5). Bu basitleştirilmiş kriterlerin farklı toplumlarda geçerliği araştırıldı ve yaygın bir kabul gördü (12).

Serum otoantikörlerinin doğasına dayanarak iki tip otoimmün hepatit tanımlanmıştır. Tip-1 (AIH-1)’de ANA ve/veya Anti-SMA için pozitiflik saptanırken; Tip-2 (AIH-2)’de ise Anti-LKM-1 ve Anti-LC-için pozitiflik saptanmaktadır. Tip-1 ve Tip-2 otoimmün hepatit ayrımı (**Tablo2-1**)’de gösterilmiştir (1). OIH aynı zamanda; biyokimyasal olarak serum transaminazlarında yükseklik, histolojik olarak arayüz hepatiti ve serolojik olarak serum IgG düzeyinde artış ile karakterizedir (5). Otoimmün hepatit genellikle immunosupresif tedaviye iyi yanıt vermektedir. Ancak tedaviye tanı ile birlikte başlanmalıdır, tedavi edilmeyen veya tedavisi geciken otoimmün hepatit vakaları, genellikle organ nakli gerektiren, karaciğer yetmezliğine ilerlemektedir (1). Hastalığın etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. Ancak hem çevresel hem de genetik faktörlerin etiyojide rol oynadığı düşünülmektedir. Karaciğer hasarı gelişimindeki temel mekanizmanın ise; karaciğer hücre antijenlerine karşı gelişen immün reaksiyonun düzenleyici T hücreleri tarafından yeterince kontrol edilememesi olduğuna inanılmaktadır (5).

**Tablo 2-1 Tip-1 ve Tip-2 otoimmün hepatit**

Karakteristik	Tip-1	Tip-2
Vakaların Oranı	%90	%10
Coğrafya	Dünya çapında	Kuzey Avrupa'lılar arasında daha yaygın
Cinsiyet oranı kadın/erkek	3:1	9:1
Hastalığın ortaya çıkma yaşı	Beşinci-altıncı dekat	İkinci dekat
Hastalığın başlangıcı	Değişken	Sıklıkla akut, başlangıçta, başlangıçta siroz gelişmiş olması sıklıkla mevcut.
Otoantikörler	ANA, anti-SMA, F-Actin	LKM-1, LKM-3, LC-1
HLA	HLA-DRB1*03:01, DRB1*04:01	HLA-DRB1*03:01, DRB1*07:01
İmmunoglobulinler	Yüksek IgG	Yüksek IgG, izole IgA eksikliği daha sık görülür
Prognoz	İmmunosupresif tedaviye iyi yanıt verir	Daha saldırgan seyreder, siroza ilerleme daha sık görülür
Tedavi	Büyük çoğunluğunda biyokimyasal belirteçler steroidle normale döner	Bazı hastalar ikinci seçenek immunosupresif tedavi gerektirir. Ancak çoğu tedaviye yanıt vermez
İlaç Kesildikten sonra relaps	%70	Neredeyse tamamı

ANA: Antinuclear antibody; HLA: human leukocyte antigene IGA: immunoglobulin A; IgG: Immunoglobulin G; SMA: smooth muscle antibody; LKM: Liver- kidney microsome; LC: Liver cytosol Bu tablo; Webb G, Hirschfield G, Krawitt E, Gershwin M. Cellular and Molecular Mechanisms of Autoimmune Hepatitis. 2018.'dan alınmıştır.

## 2-1- Epidemiyoloji

Otoimmün hepatit sık görülen bir hastalık değildir, insidansı ve prevalansı net olarak bilinmemektedir. Ancak, yıllık insidansının 100.000 kişide 0,67 ile 2,0 arasında; prevalansının ise 100.000 kişide 4 ile 42,9 arasında değişim gösterdiği düşünülmektedir. Kuzey Avrupa'da yakın zamanda yapılmış olan iki çalışmada; insidans 100,000 yetişkinde 1-1,6 prevalans ise 100.000 yetişkinde 18-24 olarak raporlanmıştır (13, 14). Japonya'da ise insidansın, 100.000 yetişkinde 0,08-0,15 olması ile, daha düşük olduğu dikkat çekmektedir (15). ABD'de yapılmış çalışmalar eski olmakla ve vakalar tam olarak viral hepatitlerden ayrılmamış olmakla birlikte insidans 100.000 yetişkinde 0,4 olarak saptanmıştır (16, 17). Alaska da yapılmış bir çalışmada ise yüksek oranlar bildirilmiştir (18) . Genel olarak coğrafik bölgeler ve insidans arasında geniş bir değişkenlik olduğu görülmektedir (4).

1995'den 2014'e kadar İngiltere ve ABD'de karaciğer transplantasyonlarının %3,2- %3,6'sını Otoimmün hepatitin oluşturduğu gösterilmiştir. Bu rakamlar her yıl

popülasyonun milyonda 0,84 ve 0,44'ünü temsil etmektedir (4) . Kohortların insidans ve mortalite oranları (**Tablo2-2**) 'de listelenmiştir (12).

**Tablo 2 -2 Otoimmün hepatitin epidemiyolojisi**

Ülke	Prevalans/100.000	İnsidans /100.0000	Sağkalım oranı veya kötü sonuçlar
Norveç 1998	16,9	1,9	NM
Singapur 2001	4,0	NM	5 yıllık sağkalım oranı: %71
USA (Alaska) 2002	42,9	NM	NM
İspanya 2004	11,6	0,85	NM
İsveç 2004	10,7	0,83	NM
Bruney Sultanlığı 2009	5,61	NM	Mortalite: %15,8 progresif karaciğer hasarı: %10,53
Yeni Zelanda 2010	24,5	2,0	NM
Avustralya 2010	8,0	NM	Mortalite %2,4 ortalama sürdürülen zaman: 9,5 yıl
İsrail 2013	11,0	0,67	10 yıllık sağkalım oranı: %89,7
Hollanda 2014	18,3	1,1	HCC: %1 LT: %3 ortalama sürdürülen zaman: 10 yıl
Danimarka 2014	23,9	1,68	10 yıllık mortalite: 24,6 yıl

NM: belirtilmemiş HCC: hepatoselüler kanser LT: karaciğer transplantasyonu (1)

## 2-2 Patofizyoloji ve Genetik

### *İmmünite ve Tolerans*

Karaciğer immün olarak tolerojenik bir yapıya sahiptir; barsaklardan portal ven aracılığıyla gelen yoğun bir antijenik yüke maruz kalan karaciğerde görece bir immünolojik toleransın olması beklenen bir durumdur; bu nedenle karaciğerde immün aracılı bir hasar meydana gelmesi beklenmedik bir durumdur (1). Toleransın sağlanmasında özel antijen sunucu hücreler (dentritik hücreler, kupfer hücreleri, karaciğer sinüzoidal epitel hücreleri, karaciğer stellat hücreleri) görev almaktadır (19). Ayrıca bu toleransı vurgulayan erken transplant çalışmalarında; özellikle domuzlar üzerinde yapılmış olanlarda; bu hayvanlara böbrek, karaciğer eş zamanlı nakli yapılmış ve böbrek rejeksiyonun daha az olduğu görülmüştür; böyle bir çalışma insanlarda kombine böbrek ve karaciğer nakli yapılması halinde ve özellikle de ikisinin aynı donörden yapılması durumunda böbrek rejeksiyonun ve bu rejeksiyonu önlemek için immunosupresif gereksiniminin daha az olacağını vurgulamaktadır (20). Ek olarak karaciğer MHC uyumu olmaksızın bile transplantasyonu gerçekleştirilebilen tek organdır (21). Ayrıca karaciğer transplantasyonu yapılmış olan hastaların önemli bir kısmında immunosupresif tedavi tamamen kesilebilmektedir (22).

Bu toleransın bir kısmının antijen spesifik düzenleyici T hücreleri tarafından uyarıldığı düşünülmektedir (23). Ek olarak hepatik kupfer hücrelerinin immün düzenleyici etkilere sahip PD-L (CD274) gibi bir takım moleküller ürettiği bilinmektedir; bu molekülün yüksek seviyelerinde ise immün baskılayıcı bir molekül olan IL-10'un da üretiminin indüklendiği; IL-10'un ise genellikle proinflatuvar özellikte olan TLR-4 lipopolisakkarid ligandına yanıt verdiği bilinmektedir (24).

Otoimmün hepatit hastalarında bu tolerans nasıl aşılabilmektedir? Hepatik virüsler tarafından salgılanan spesifik antijenlere karşı spesifik otoantikörler gelişmesi, ve karaciğer nakli yapılan hastalarda BSEP (bile-salt exporter pump) proteinlerine karşı gelişen antikörlerin BSEP yetmezliğine ve ikincil kolestaza neden olması; yeni antijenlere karşı adaptif immün yanıt gelişmesinin mümkün olduğunu göstermektedir (25-27). TCR (T cell receptor) transgenik farelerin kullanıldığı deneylerde ve karaciğer transplant dokularında CD-8+ T lenfositlerin olgunlaşmak için ikincil bir lenfoid dokuya göç etmeksizin aktive olup karaciğer dokusunu kaplayabileceği gösterilmiştir (28, 29). En azından bazı antijenler için bu durumun CD-4+ T lenfositler için de geçerli olduğu düşünülmektedir (30).

### ***Histoloji***

Histolojik analiz otoimmün hepatitin tanısında ve diğer hepatit etiyolojilerinin dışlanmasında önemli bir yere sahiptir. Otoimmün Hepatitin temel histolojik bulguları; lenfositler, plazma hücreleri, ve zaman zaman eozinofillerden oluşan özellikle portal alan çevresinde lokalize olan infiltrasyonlardır. Portal sistem ve karaciğer parenkimi arasında yer alan bu infiltrasyonlar arayüz hepatit olarak bilinmektedir (1).

İnfiltrat içinde plazma hücrelerinin varlığı otoimmün hepatiti desteklemektedir; bu durum viral nedenler için daha az tipiktir. Bu hücrelerin varlığı tanıyı desteklemekle birlikte; olmaması tanıyı ekarte ettirmektedir (31, 32). Nadiren granülomalar gözlemlenmektedir. Aynı zamanda lenfofagositoz görülebilmesi hepatit etiyolojisinin otoimmün bir yanıtın sonucu olabileceğini desteklemektedir. Lenfofagositoz yapan hücreler ise CD8+ T lenfositlerdir (33).

Periportal hepatoistlerde; nekroz, sitoplazmik şişkinlik veya multinükleasyon görülebilmektedir (34). Apoptozis; asidofilik veya apoptotik cisimler şeklinde görülebilir. Daha ciddi vakalarda nekroz yayılabilir ve/veya santral hepatik venler arasında devam eden köprüleşmeler gösterebilir. Rejenere olmakta olan hepatositlerin oluşturduğu rozetler görülebilir. Fibrozis otoimmün hepatitin tüm aşamalarında gözlemlenebilir ve bulgular: hafif fibrozisten siroza kadar değişebilmektedir; fibrozis genellikle periportal alandan başlamaktadır. Yağlanma otoimmün hepatite özgü bir bulgu değildir ancak gözlemlenebilir (31-35). Vakaların %10 kadarında yıkılım olmaksızın safra kanalı inflamasyonu görülebilmektedir. Bu sonuç genç vakalarda daha yaygın görülmektedir; ancak immunosupresif tedavi yanıtını etkilememektedir (36).

### ***İmmünopatoloji***

Karaciğer doku örneğinin immünolojik yönden analizi periferik kan analizinden daha önemlidir. (Tablo 2-3) 'de bu değişiklikler detaylı bir şekilde gösterilmektedir.

OIH'de karaciğer dokusundaki mononükleer infiltratları genellikle CD4+ T lenfositler oluşturmaktadır. Ayrıca CD4+ T lenfositlerin CD8+ T lenfositlere oranı OIH'te primer biliyer kolanjit veya kronik viral hepatitte olduğundan daha yüksektir (37, 38). CD4+ T lenfositlerin sıklıkla periportal alanda lokalize olduğu gösterilmiştir (39). CD8 + T lenfositler ise daha az sıklıkta özellikle "interface hepatitis" alanlarında izlenmektedir (38, 39). Bu durumda otoimmün hepatit ve primer biliyer kolanjitteki infiltrasyon gösteren hücreler diğer durumlara nazaran daha fazla IL-4 ve IL-10 salgılamaktadır. İnterferon  $\gamma$ , TNF $\alpha$ , ve IL-2 gibi diğer uyarıcı sitokinlerin salgılanması daha az farklılık göstermektedir (**Tablo 2-4**) (1).

T hücre reseptör klonalitesinin gösterilmiş olması; hem CD4+ T lenfositler hem de CD8+ T lenfositler için spesifik T hücre yanıtının olduğunu desteklemektedir (40, 41). B lenfositler infiltratın küçük bir kısmını oluşturmaktadır, ancak hastalıklar arasında belirgin farklılık göstermemektedir (42). Plazma hücreleri hepatit yapan diğer durumlarda olduğu (viral nedenler için daha az tipik) gibi otoimmün hepatitte de izlenmektedir; ancak bu hücreler büyük çoğunlukta IgG sentezlemektedir. Primer biliyer kolanjit gibi durumlarda ise IgM sekrete eden plazma hücreleri daha sık izlenmektedir (43).

### ***Otoantikolar***

Otoimmün hepatitte çok çeşitli otoantikolar tespit edilebilmektedir ve bunlar hastalığın tanısında önemli role sahiptir (**Tablo 2-5**). Daha önceden de belirtildiği üzere otoantikolar Tip-1 ve Tip-2 otoimmün hepatit arasında farklılık göstermektedir ayrıca ilaç ilişkili otoimmün hepatitin bazı formlarında spesifik otoantikolar görülebilmektedir. Klinik pratikte otoantikoların saptanabilmesi için indirekt immunofloresan IgG, immunblotlama veya ELİSA yöntemleri (prufiye edilmiş veya rekombinant antijenlere karşı) kullanılmaktadır (44).

Otoantikoların ortaya çıkış zamanı net olarak bilinmemektedir. Diğer majör otoimmün hastalıklarda olduğu gibi klinik olarak hastalık ortaya çıkmadan çok önceden ortaya çıkıp çıkmadığı tam olarak bilinmemektedir (45, 46). Otoantikoların birçoğu immunosupresif tedavi sonrası tedaviye yanıt olarak kaybolabilir (47); ve hastalık aktivitesi ile ilişkilidir (48). Ancak başlangıçtaki serum titreleri hastalığın prognozunu belirlemede veya immunosupresif tedavinin başarılı bir biçimde kesilebileceğini göstermekte yetersiz kalmaktadır (49).

**Tablo 2-3 Otoimmün Hepatitte Hücre Değişimleri**

	Periferel Kan a		Karaciğer	
	Otoimmün hepatit/Normal karşılaştırması	Otoimmün hepatit/Kronik viral hepatit ile karşılaştırması	Otoimmün hepatit/Normal karşılaştırması	Otoimmün hepatit/Kronik viral hepatit ile karşılaştırması
Hücre Tipi	↑	↑	↑	↑
CD4+ T hücreler	analiz yok	analiz yok	↑ ↑	analiz yok
Th 1 CD+ T hücreler	↑	↑	↑	↑
CD4 düzenleyici T hücreler b	↓ ↔	↓	↔ ↑	↔ ↑
CD8 + T hücreler	↑	↑	↑	↓
Y T hücreler	↑	analiz yok	↑(primer sklerozan kolanjitile fark yok)	↔
Natural killer T hücreler	↓	↓	↑	↑
B hücreler	↔	↔	↔	↔
Plazma hücreleri	analiz yok	analiz yok	↑ [IgG ağırlıklı ]	↑
Monositler	↑	analiz yok	↑	↓

a: periferel lökosit sayıları otoimmün hepatit tedavisi ve portal hipertansiyondan ciddi bir biçimde etkilenmektedir.

b:Düzenleyici T hücrelerinin tedaviden etkilenip etkilenmediği tartışma konusudur. (1)

**Tablo 2-4 Otoimmün hepatit sitokin profili**

Sitokin	Periferal		Hepatik	
	Otoimmün hepatit/Normal karşılaştırması	Otoimmün hepatit/Kronik viral hepatit ile karşılaştırması	Otoimmün hepatit/Normal karşılaştırması	Otoimmün hepatit/Kronik viral hepatit ile karşılaştırması
IL-4	↓ ↑	↑	↑	↑
IL-2	↓	↓	Analiz yok	Analiz yok
IL-6	↑	↑	↑	↑
IL-17	↑	Analiz yok	↑	↑
IL-10	↑, ↔	↑	Analiz yok	Analiz yok
INF $\gamma$	↑, ↔	↔	↑	↔
TNF $\alpha$	↑, ↔	↔	↑	Analiz yok

INF $\gamma$ : interferon- $\gamma$ , IL:interleukin, TNF $\alpha$ : Tümör nekroz faktör  $\alpha$  (1)

Otoantikorlar ile ilgili bir diğer belirsizlik de bu otoantikorların hedeflediği antijenlerin karaciğere özgü olmamasıdır: Örneğin Anti-SMA antikorları böbrek hastalıklarında da saptanabilmektedir. Özellikle tübül, glomerul veya damar duvarına tutunabilir (50). ANA, F-Aktin, LKM-2 antikorlarının da aynı şekilde karaciğer dışındaki antijenik yapılara tutunabildiği bildirilmiştir (50).

Otoantikorların karaciğerde immün reaksiyonu nasıl tetiklediği net olarak bilinmemektedir. En olası teori; CYP2D6 (LKM-1 otoantikorlarının antijenik hedefidir) molekülü insan karaciğer hücrelerinin yüzeyinde ifade edilmektedir, diğer dokularda ise hücre içinde bulunmaktadır (51). Aynı şekilde otoimmün hepatit hastalarından in-vivo otoantikorlar ile kaplanmış hepatositler izole edilmiş; ve bunların sitotoksiste deneylerinde otolog lenfositler tarafından öldürüldüğü gözlemlenmiştir (52-54). Benzer şekilde LKM-1 otoantikorunun *in-vitro* ortamda CYP2D6 aktivitesini inhibe ettiği gözlemlenmiştir (55). Ancak hayvan deneylerinde; hayvanlarda otoimmün hepatit oluşturmak için otoantikor içeren serum transferi yapıldığında; bu durum hastalık oluşturma konusunda başarısızlıkla sonuçlanmıştır (56).

### ***Genetik: HLA ve Non-HLA Antijenler***

Otoimmün hepatit gelişme riskinin; monozigotik ikizlerde uyum gösterdiğinin gözlemlendiği çalışmalar; bu hastalığın gelişiminde genetik komponentin oldukça önemli bir rol üstlendiğini düşündürmektedir (14). Ayrıca hastalığın etnik kökenler arasında gelişim sıklığının farklılık göstermesi, herediter hastalık riskinin ortaya çıkması, ülkeler arasında hastalık sıklığı ve yaş dağılımının farklılık göstermesi, yine bu hastalık üzerinde genetik faktörlerin önemli bir rol oynadığını göstermektedir (57).

Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok HLA gen allellerinin tek varyantlarının normalin üzerinde veya altında ifade edilmesinin hastalık ile ilişki olup olmadığına yönelik çalışmalardır. Monogenik sendromlarla ilgili yapılmış çalışmalar da mevcuttur ancak en güçlü ilişkinin HLA genleri ile ilgili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (1).

HLA'lar ilk olarak organ transplantasyon uyumluluğu ile olan ilişkileri nedeni ile gündeme gelmiştir. Bu antijenler insan kromozomu 6 üzerine yayılmış, oldukça değişken bölgelerde kodlanmaktadır; bu bölgeler HLA-A, HLA-B, HLA-Cw bölgeleri olarak adlandırılmaktadır. Bu bölgeler MHC sınıf I molekülünü kodlamaktadır. Ayrıca HLA-D bölgeleri (DR, DQ ve DP) MHC-sınıf II molekülünü kodlamaktadır. MHC sınıf II molekülü CD8 (+) veya sitotoksik T lenfositler ile etkileşime girerek adaptif immün yanıtın bir parçası olarak rol oynamaktadır; MHC sınıf II molekülü ise; peptidleri CD4 (+) T lenfositlerine sunmakla görevlidir (1). Diğer birçok otoimmün hastalıkta olduğu gibi otoimmün hepatit gelişme riski ve klinik yöneliminin HLA-D tipi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (57, 64). Bu nedenle birçok çalışma belirli HLA-D allellerinin otoimmün hepatit hastaları ve kontrol gruplarında farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu da hastalık gelişiminin bu allellerle ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

**Tablo 2-5 Otoimmün hepatitte gözlenen otoantikorlar**

Antikor	Hedef	Notlar	Kaynak
AMA	Prüvat dehidrogenaz kompleks	Primer biliyer kolanjit ile daha yakından ilişkili otoimmün hepatitin az bir kısmında izlenir	(58)
ANA	Histon, sentromer, DNA ve kromatin gibi nükleer antijenler	Özellikle yüksek titreleri Tip-1 otoimmün hepatit tanısını destekler. Primer biliyer kolanjitte ise ANA'nın farklı zincirli paterni izlenir; yaşla birlikte hastalık için daha az spesifiktir	(44)
ASGPR	Karaciğer-spesifik lipoprotein; karaciğer hücre zarından sentezlenen makromoleküler bir kompleksin bileşeni	Hastalık ciddiyeti ile koreledir. Spesifik değildir. Karaciğer inflamasyonunun immün olmayan nedenlerinde de yükselir	(48)
F-Aktin	Düz kas ve hücre iskeletinin filamentöz aktin komponenti	Tip-1 otoimmün hepatit tanısını destekler. SMA'dan daha spesifiktir	(44)
LC-1	Forminino-transferaz siklodeaminaz	Kötü prognozu gösterir	(59)
LKM-1	Sitokrom P450 2C6	Tip-2 otoimmün hepatit tanısını destekler	(44)
LKM-2	Sitokrom P450 2C9	Tienilik asid ilişkili otoimmün hepatitte gözlenir; modern pratikte nadiren kullanılır	(60)
LKM-3	Sitokrom P450 1A2 UDP-glukronozil transferaz	Tip-2 otoimmün hepatit tanısını destekler	(61)
ANCA	Nötrofil içindeki lamina proteinleri	Tip-1 otoimmün hepatit ve primer sklerozan kolanjitin az bir kısmında gözlenir	(62)
SLA/LP	Karaciğer ve pankreas sitoplazmasındaki çözünebilen antijenler aynı zamanda Sep (O-fosfoserin) tRNA: Sec (selenosistein) tRNA sentaz veya SEPSECS	Kötü prognozu gösterir; otoimmün hepatite spesifiktir; moleküler hedefin saptanabilmesi için ELISA veya immüblotlama gerekmektedir	(63)
SMA	Aktin içeren düz kas hücre komponenti	Tip-1 otoimmün hepatit tanısını destekler böbrek tubul ve glomerülüne damar düz kasından daha spesifiktir.	(44)

Kısaltmalar: AMA:Antimitokondrial antibodies AMA, antimitochondrial antibodies; ANA, antinuclear antibodies; ANCA, antineutrophil cytoplasmic antibodies; ASPGR, asialoglycoprotein receptor; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; F-actin, filamentous actin antibodies; LC-1, liver cytosol antibody type 1; LKM, liver kidney microsomal antibody; pANNA, peripheral antineutrophil nuclear antibody; SLA/LP, soluble liver antigen/liver-pancreas; SMA, smooth muscle antibodies; UDP, uridine diphosphate. (1)

Daha önceden de belirtildiği gibi risk teşkil eden allellerin görülmesi toplumlar arasında farklılık göstermektedir. Kuzey Avrupa soyundan gelen insanlarda HLA-DRB1\*01:01 ve HLA-DR4\*4 genlerinin tip-1 otoimmün hepatit hastalarında aşırı ifade edildiği gözlemlenirken (65), Arjantinli yetişkinlerde HLA DRB-1\*04:05; çocuklarda ise HLA-DRB1\*13:2 genlerinin aşırı ifade edildiği gözlemlenmiştir (66). Brezilyalılar arasında yapılan çalışmada Tip-1 otoimmün hepatitin DRB1\*03 ile; Tip-2'nin ise DRB1\*3 ve aynı zamanda DRB1\*07 ile ilişkili olduğu; aynı çalışmada DQB1\*03:01'in koruyucu etkisinin olduğu ortaya konulmuştur (67) .

HLA allellerinin bireylerde hastalık riskini etkilediği gibi; hastalığın davranışını da etkilediği bilinmektedir: HLA-DRB1\*0301'in serum IgG seviyesinde artış ile ilişkili olduğu, HLA DRB1\*04:01 'in ise daha yaşlı hastalarda hastalığın iyi formu ile birlikte ortaya çıktığı gösterilmiştir (68). Farklı bir çalışmada DRB1\*04:01 taşıyan Tip-1 otoimmün hepatit hastalarında hastalığın daha selim seyrettiği siroz ve/veya karaciğer nakline gidişin daha az olduğu gösterilmiştir (69). Bir diğer çalışmada; HLA-D allellerinin CYP2D6 antijenik bölgelerine CD4+ T lenfositlerin yanıt vermesini indüklediği gösterilmiştir (70). "SLA/ liver –pankreas (anti-SLA/LP) taşıyan hastaların ciddi inflamatuvar aktivite göstermekte olduğu ve steroid tedavisinin kesilmesi ile birlikte relapsa eğilimli oldukları ve bu antikörlerin DRB1\*03:01 ile ilişkili olduğu ayrıca gösterilmiştir (71).

Çeşitli gözlemler sonucunda HLA allellerinin birçok otoimmün hastalıkta mekanizması net olarak anlaşılammış olsa da rol oynadığı bilinmektedir (48). Olası mekanizma teorileri; "self-peptid" lere karşı aktive olan timik T hücrelerinin düzenlenmesinde bozukluk olabileceği yönündedir ve bu durum; uygun düzenleyici T hücrelerinin seçim bozuklukları ile ilişkilidir; nitekim deneysel sistemlerde MHC-sınıf II molekülündeki değişikliklerin anormal self-antijen sunumu ile sonuçlandığı gözlemlenmiştir (72).

Non-HLA antijenlerin de hastalığın patofizyolojisinde rol oynadığı yakın zamanda yapılmış olan bir çalışmada belirtilmektedir: Bu çalışmaya: Hollanda ve Almanya'dan Tip-1 otoimmün hastaları katılmış olup otoimmün hepatit gelişiminde SHB2B3 molekülü (tek genom) araştırılmıştır. SHB2B3 aynı zamanda Lnk olarak bilinmektedir hepatik otoimmün hepatitin tüm çeşitleri ile ilişkili olduğu aynı zamanda diğer otoimmün hastalıkların gelişimi ile de bağlantılı olduğu (çölyak hastalığı, romatoid artrit ve Tip-1 diyabetes mellitus) raporlanmıştır (57) .

### ***HLA-G Antijeni***

HLA-G ( human leukocyte antigene) molekülü 6. Kromozomun kısa kolunda HLA bölgesinde HLA-A ve HLA-F genlerinin arasında yer almaktadır (73). Bu molekülün ürünü aynı zamanda klasik olmayan MHC sınıf 1b molekülü olarak da bilinir

(74). En iyi bilinen rolü ise; maternal fetal yüzeylerdeki tolerojenik fonksiyonudur; fetüsü anne immün sisteminin yıkıcı etkisinden korumaktadır (75). HLA-G molekülünün tümörlerde, infeksiyon hastalıklarında otoimmünite ve transplantasyon kabulünde önemli rol üstlendiğine dair yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur (2) . Karaciğerin tolerojenik bir organ olduğu göz önünde bulundurulduğunda HLA-G molekülünün karaciğer hastalıklarında önemli bir rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

HLA-G molekülünün tolerojenik etkileri temelde; çözünebilir ve membran bağımlı iki reseptöre bağlanması ile ortaya çıkmaktadır. Molekülün ILT-2 (Immunoglobulin like transcript, CD85; LILRB1) olarak bilinen ve NK (Natural killer) ve T lenfositlerin yüzeyinde bulunan bu reseptöre bağlanması sonucunda bu hücrelerin aktivasyonunu, sitotoksitesini ve proliferasyonu engellemektedir (76) . B lenfositler üzerinde de bulunan bu reseptör ve HLA-G molekülünün etkileşimi B lenfositlerden antikor salınmasını engellemektedir (77). Çözünebilir HLA-G molekülünün CD8 reseptörü taşıyan NK hücreleri ve T8 lenfositlerde apoptozisi indüklediği gözlemlenmiştir (2). ILT-4 reseptörünün ise (Immunoglobulin like transcript receptor; CD85d, LILRB2) dentritik hücreler, makrofajlar ve monositler tarafından ifade edildiği bilinmektedir (78). Bu hücrelerin tamamı karaciğerde bulunmaktadır. HLA-G/ ILT-4 etkileşimi bu hücrelerin antijen sunucu etkisini inhibe etmekte ve adaptif immunitiyi zayıflatmaktadır (79). ILT-4 nötrofillerde de bulunmaktadır. HLA-G/ ILT-4 nötrofillerdeki etkileşimi nötrofillerin fagositozisini engellemektedir (80). CD160 endotel hücrelerinin ifade ettiği HLA-G reseptörüdür; çözünebilir HLA-G ile bu molekülün etkileşimi FGF-2 (fibroblast growth faktör-2)'yi inhibe ederek anjiyogenezisi engellemektedir (81) .

HLA-G molekülü reseptörlerinin karaciğerde bulunduğunu gösteren özel bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak tüm immün hücrelerin bu reseptörleri ifade ettiği ve CD160 reseptörünün tüm endotelial hücrelerde bulunduğu göz önünde bulundurulduğunda; karaciğerde bu reseptörlere sıklıkla rastlandığı sonucuna ulaşılabilmektedir. Bu reseptörlerin kupfer hücreleri, hepatositler, ve hepatik stellat hücrelerde bulunup bulunmadığına dair bir çalışma bulunmamaktadır (2).

HLA-G molekülü normal karaciğer dokusunda fizyolojik durumlarda ifade edilmemektedir. sHLA-G (çözünebilir HLA-G) periferik kanda bulunmaktadır ve hücrelerin transendotelial göçü yolu ile karaciğere ulaşabilmektedir. Bu molekül; karaciğer de homeostazisin sağlanması ve devam ettirilebilmesi için dentritik hücreler ve düzenleyici T lenfositler üzerinde tolerojenik etki göstermektedir (2) . Ancak bir takım karaciğer patolojilerinde bu molekülün doğrudan ifade edildiği bilinmektedir. İnsan HCC hücre serilerinde HLA-G mRNA molekülleri ve proteinleri saptanmıştır (2) . Kronik hepatit B olan vakalarda hepatositlerde ve safra hücrelerinde HLA-G molekülünün ifade edildiği ayrıca raporlanmıştır (2) . Plazma sHLA-G seviyesinin karşılaştırıldığı bir çalışmada hepatit B pozitif olan vakaların plazma sHLA-G seviyesi sağlıklı kontrollerine göre anlamlı bir şekilde daha yüksek bulunmuştur (82). Benzer sonuçlara hepatit-C pozitif olan vakalarda da ulaşılmıştır (83). Bir diğer çalışmada ise

sHLA-G seviyelerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında; *Leishmania Infantum* ile enfekte HIV(-) vakalarda %35; HIV(+) vakalarda ise %57 daha yüksek olduğu saptanmıştır (84) .

Multipl skleroz, romatoid artrit, sistemik lupus ertamatozus ve psöriazis gibi bir çok inflamatuvar hastalıkta HLA-G molekülünün rolü olduğu gösterilmiştir (85). Ancak karaciğerin otoimmün hastalıklarında bu molekülün rol oynayıp oynamadığına dair bir yayın henüz bulunmamaktadır (2).

### ***Viral Tetikleyiciler***

Hepatit virüslerinin otoimmün karaciğer hastalıklarında tetikleyici rol oynadığına dair birçok kanıt bulunmaktadır. Klasik otoimmün hepatit ve viral hepatitte özellikle Hepatit C’de görülen antikörlerin benzerliği bu durumun kanıtıdır; Hepatit C viral antijenleri ile ‘smooth muscle’ antijenleri birbirini taklit edebilmektedir (86, 87). HCV ile otoimmün hepatit arasındaki moleküler benzerliği vurgulayan bir diğer durum ise tedavi edilmemiş otoimmün hepatit hastalarında enfeksiyona dair herhangi bir kanıt olmaksızın HCV antikörlerinin yanlış pozitif olarak saptanabilmesidir (88). Transplantasyon öncesi veya sonrasında pegile interferon ile tedavi edilen HCV hastalarında immün-aracılı allograft disfonksiyonun sık görülmesi HCV’ye karşı gelişen immün reaktivitenin otoimmün hepatiti tetikleyebileceğini düşündürmektedir (89). Çeşitli yazarlar otoimmün hepatit ve diğer viral hepatit sebepleri ile ilişkileri içeren vaka veya vaka serileri yayınlamıştır bunlar: Hepatit A virüs (90-92), Epstein-Barr virüs (93, 94), Cytomegalovirüs (95), Hepatit E virüsü (96) içermektedir. Ancak yakın zamanda yapılan geniş sistematik çalışmalar otoimmün hepatit ve genel popülasyon karşılaştırıldığında viral seropozitivite açısından anlamlı fark saptanmaması viral etkenlerin otoimmün hepatit etiyojisindeki rolünün sorgulanmasına neden olmuştur (97, 98).

### ***Çevresel Maruziyet***

Hiçbir çevresel ajan otoimmün hepatit ile doğrudan ilişkilendirilememiştir . Bununla birlikte birçok ilaç uygulanmasının ardından hepatik otoimmün yanıtın ortaya çıkması henüz tanımlanmamış ajanların da otoimmün hepatit etiopatogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (99). Günümüzde büyük çoğunlukta uygulamadan kaldırılmış inhaler anestetik olan halotanının uygulaması sonrasında hepatositlere karşı oluşan otoantikörlerin gözleendiği bir akut hepatit tablosu olduğu rapor edilmiştir (100). Bu otoantikörler halotanının oksidatif metabolizması sonucu CYP2E1 antijenine karşı gelişmiştir (101).

Otoimmün hepatitin kimyasal tetikleyicileri olduğunu destekleyen bir diğer durum ise belli ilaç birleşimlerinin otoimmün hepatit ile birbirinden ayırt edilemeyen bir sendromu tetiklemeleridir: İlaç ilişkili otoimmün hepatit (**Tablo 2-6**)’da gösterilmiştir.

**Tablo 2-6 İlaç ilişkili otoimmün hepatit indüksiyonu**

İlaç	Yorumlar
Minosiklin	
Nitrofurantoin	Modern medikal uygulama ile daha çok ilişkili
Hidralazin	Anti sitokrom P450 1A2 otoantikörlerini uyandır
Metildopa	
$\alpha$ ve $\beta$ interferonlar	Sıklıkla HCV tedavisinde kullanılır. Sporadik olarak otoimmün hepatit otoantikörleri ile ilişkilidir tedavi sonrası hastalık tekrarlırsa şüphelenilmelidir.
İnflksimabi adalimumab etanersept	TNF $\alpha$ reseptör ve molekül blokajı sağlar. TNF $\alpha$ reseptör blokajı otoimmü hepatit tedavisinde de kullanılır.
İplimumab	CTLA4 blokajı ve düzenleyici T hücre tükenmesi sağlar
Nivolumab	PD-1 blokajı sağlar
Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar	
Halotan	Otoantikörler lipolize otoantijenlere karşı oluşur.
Tienelik asit	Sitokrom P450 2C9’a karşı otoantikörler oluşmaktadır.

Birçok ilaç ve bitkisel ürün; otoimmün hepatit dışında bir karaciğer hasarına neden olabilir. Bu durumlar genel olarak ilaç ilişkili karaciğer hasarı olarak sınıflandırılır. CLTA4: cytotoxic T lymphosite antigen 4; TNF  $\alpha$ : tumor necrosis factor (1)

Ancak ilaç ilişkili otoimmün hepatitin; ilaç ilişkili karaciğer hasarından ayırt edilmesi önemlidir. İlaç ilişkili karaciğer hasarında; otoimmün hepatitin klasik histolojik bulguları, otoantikörler ve kortikosteroide yanıt olmaksızın hepatitin kolestatik veya biyokimyasal bulguları görülmektedir. (102). Ayrıca bu iki durum arasındaki en önemli fark; ilaç ilişkili karaciğer hasarında; kronikleşme kanıtının (ilerlemiş fibrozis) olmaması ve bu tablodan sorumlu ilaç kesildikten sonra hepatit durumunun düzelmeye eğilimli olmasıdır (103).

## 2-3 Klinik Bulgular ve Tanı

### *Klinik Bulgular*

Otoimmün hepatitin heterojen ve dalgalanan bir doğası mevcuttur. Bu durumun klinik bulgularda çeşitliliğe yol açması kaçınılmazdır (104). Klinik spektrum asemptomatik hastalıktan akut veya kronik karaciğer yetmezliğine kadar uzanabilmektedir. (105). Hastaların %35-45’i tanı sırasında asemptomatiktir (106). Asemptomatik hastalar genellikle erkektir ve başlangıçtaki serum ALT düzeyleri önemli ölçüde düşüktür (106). Asemptomatik ve semptomatik hastalar arasında histolojik

bulgular ve siroza gidiş açısından anlamlı fark bulunmamaktadır; çünkü asemptomatik hastaların %70 kadarı hastalık seyirinde semptomatik hale gelmektedir (107). Fizik muayenede ise: bulgular normal olabileceği gibi; hepatomegali, splenomegali, sarılık, asit gibi bulgulara rastlanabilir bu durum hastalığın ilerleyen dönemlerini işaret edebileceği gibi akut bir başlangıcı da gösteriyor olabilir (108). Ayrıca, amenore kadınlarda sık rastlanılan bir başlangıç semptomu olabilir (109) .

OIH bazen; yeni gelişen karaciğer yetmezliği; derin sarılık, INR ve aminotransferaz yüksekliği (>1000 gibi değerleri bulabilen) ile seyreden akut, hızlı ilerleyen bir başlangıç ile kendini gösterebilir (110). Ancak hastalık nadiren bu şekilde ortaya çıkar (111). Patolojide portal alanda infiltrasyon olması ve bu infiltrasyon alanlarında plazma hücrelerinin varlığı; hastalığın akut hepatitin diğer olası nedenlerinden ayırt edilmesine yardımcı olabilir (112). Akut hepatit kliniği ile başvuran birçok hastada yapılan biyopsilerde siroz saptanmıştır; bu durum hastaların öncesinde subklinik hastalığı olabileceğini düşündürmektedir (113). Asemptomatik hastalık ve ani başlangıç gösteren hastalığa ek olarak OIH; bazı hastalarda spesifik olmayan bir takım semptomlar ile kendini gösterebilir; bu semptomlar hafif veya ciddi olabilir; halsizlik, yorgunluk, letarji, iştahsızlık, karın ağrısı ve kaşıntı bu semptomlar arasındadır (114).

Bu semptom ve bulgulara ek olarak hastalık diğer otoimmün hastalıklar ile birlikte seyredebilir ve karaciğer dışı bulgulara neden olabilir: Otoimmün hepatit seyri sırasında izlenen diğer hastalıklar ise; coombs pozitif hemolitik anemi, immün trombositopeni, tip-1 diyabetes mellitus, otoimmün tirodit, ülseratif kolit (sıklıkla primer sklerozan kolanjit ile ilişkilidir), çölyak hastalığı, olarak sıralanmaktadır; çocuklarda otoimmün poliglandular sendrom tip-2 otoimmün hepatit ile birliktelik gösterebilmektedir (109, 114) (**Tablo 2-7**)'de OIH ile ilişkili otoimmün hastalıklar gösterilmiştir.

### ***Komplikasyonlar***

Otoimmün hepatitin komplikasyonları herhangi bir ilerleyici karaciğer hastalığında olduğu gibidir; tedavi edilmeyen veya tedaviye yanıt vermeyen olgularda siroz ve hepatoselüler kansere ilerleme hastalığın doğal sonucu olarak gözlemlenmektedir (118). Ek olarak hastalığın tedavisinde kullanılan immunosupresif tedavilerin bir takım komplikasyonları bulunmaktadır; immunosupresif ajanlar ile tedavi edilen otoimmün hepatit hastalarında melanom olmayan cilt kanseri riskinin arttığı rapor edilmiştir (119).

**Tablo 2-7 OIH ile ilişkili otoimmün hastalıklar**

Durum	Yaklaşık Oranı
Tiroidit	%10-20
Tip-1 diyabetes mellitus	%2-5
İnflamatuvar barsak hastalığı	%2-5
Romatoid artrit	%2-5
Psöriazisi	%2
Sjögren sendromu	%1-2
Sistemik lupus eritomatosus	%1-2
Çölyak hastalığı	%1-2
Multipl skerozis	%1
Bir veya daha fazla karaciğer dışı otoimmün durum	%30-40

Sıklıklar yaklaşık değerleri belirtmektedir; bir veya daha fazla alandan elde edilmiştir (115-117).

### ***Tanı Yaklaşımı***

Otoimmün hepatit tanısı zordur; ancak tanının erken konulması ve hayat kurtarıcı immünosupresif tedaviye erken başlanması son derece önemlidir (120). Tanı temel olarak tipik klinik, serolojik, histolojik bulguların olması ve hepatit yapan diğer nedenlerin dışlanması baz alınarak konulur; ciddi şüphe uyandıran klinik ve serolojik bulguların olması durumunda histoloji her zaman tanı için gerekli olmayabilir (121).

Amerikan Karaciğer Hastalıkları Araştırma Derneği (American Association Study for Liver Disease) tarafından 2010 yılında yayınlanmış olan klavuza göre; tanı sırasında göz önünde bulundurulması gereken hususlar; aşağıdaki gibi sıralanmıştır (122):

- Klinik bulgular, semptomlar, laboratuvar anomalileri açısından otoimmün hepatit ile uyumlu olan hastalar tanı açısından değerlendirilmelidir. Uyumlu laboratuvar ve histolojik anomaliler; karaciğerin biyokimyasal testlerinin anormal olması, total IgG veya gamma-globulin seviyelerinde artış, serolojik belirteçlerin (ANA, ASMA, anti-LKM-1, veya anti-LC-1) bulunması, arayüz hepatit histolojisi bulunması olarak sıralanmaktadır. Ayrıca kronik hepatit yapan diğer durumların dışlanmış olması gerekmektedir.
- Atipik bulguları olan belirsiz vakalara karaciğer biyopsisi yapılmalı; standardize edilmiş skorlama sistemi değerlendirmenin bir parçası olarak kullanılmalıdır.
- Konvansiyonel otoantikolar için negatif sonuç gösteren vakalar diğer otoantikoların varlığı açısından değerlendirilmelidir. En azından anti-SLA/LP, pANCA otoantikoları değerlendirilmiş olmalıdır.
- Üç ay içerisinde kortikosteroid tedavisine yanıt alınamayan yetişkinlerde primer sklerozan kolanjit tanısını dışlamak amacı ile kolanjiyografik çalışmaların yapılması göz önünde bulundurulmalıdır.
- Çocuklarda kolanjiyografik çalışmaların yapılması; otoimmün sklerozan kolanjit tanısını dışlamak amacı ile göz önünde bulundurulmalıdır.
- Otoimmün hepatit ve inflamatuvar barsak hastalığı birliktelik gösteren tüm hastalarda primer sklerozan kolanjit tanısını dışlamak için kolanjiyografik çalışmalar göz önünde bulundurulmalıdır.

Ek olarak Avrupa Karaciğer Araştırmaları Derneği (European Association for the Study of The Liver) 2015 klavuzu karaciğer biyopsisini otoimmün hepatit tanı değerlendirmesinin bir parçası olarak önermektedir (123).

### ***Laboratuvar Bulguları***

Laboratuvar tetkikleri mutlaka transaminazları ALP, bilirubin (konjuge ve konjuge olmayan), albümin, total veya  $\gamma$  globülin ve IgG düzeylerini içermelidir (124). Kolestatik belirteçlerdeki (bilirubin, ALP) artışa nazaran serum transaminazlarında artış olması otoimmün hepatite daha uygun bir durumdur; bu artış bazen >1000 ünite/litre olabilir (114). Bazı vakalarda kolestatik belirteçlerde de artış olabilir; ancak bu durumda; karaciğer dışı tıkanma, viral hepatitlerin kolestatik formları, primer biliyer siroz, primer sklerozan kolanjit mutlaka dışlanmalıdır (114). Bir diğer karakteristik laboratuvar bulgusu; her zaman olmamakla birlikte serum globülinlerinde izlenen yüksekliktir. Özellikle gamma globülinlerde ve IgG düzeyinde yükseklik görülür (114). Hipergammaglobulinemi genellikle dolaşan otoantikolar ile ilişkilidir ve otoimmün

hepatit tanısını desteklemektedir (114). Diğer taraftan özellikle çocuk hastalarda ve tip-2 otoimmün hepatitte olmak üzere hastalığın her iki formunda da kısmi IgA eksikliği olabileceği gösterilmiştir (125).

### *Skorlama Sistemi*

Daha önceden de belirtildiği gibi Uluslararası Otoimmün Hepatit Grubu (IAIHG) tarafından geliştirilen ve sonrasında revize edilen bir skorlama sistemi geliştirilmiştir; bu skorlama sistemi toplum çalışmaları ve klinik çalışmalar için standardizasyon sağlaması için geliştirilmiş olup; bireysel düzeyde faydası sınırlıdır (10, 11). Ayrıca skorlama sisteminin basitleştirilmiş formu klinik pratikte kullanılmaktadır ve temel olarak otoantikör titreleri, IgG seviyesi, karaciğer histolojisi ve viral hepatitlerin dışlanması baz alan bir sistemdir (**Tablo 2-8**) (120).

On bir merkezin katıldığı ve basitleştirilmiş skorlama sisteminin değerlendirildiği bir çalışmada sınır değeri  $\geq 6$  olarak alındığında skorlama sisteminin duyarlılığı %88 özgüllüğü ise %97 olarak belirlenmiş; sınır değeri  $\geq 7$  olarak alındığında ise değerler %81 ve %99 olarak belirlenmiştir (120). Daha sonradan yapılan bir değerlendirme çalışmasında ise sınır değeri  $\geq 7$  olarak alındığında ise yine duyarlılığın düşük ; fakat özgüllüğün yüksek olduğu saptanmıştır (%70-%100) (118)

**Tablo 2-8 Otoimmün Hepatit için Basitleştirilmiş Tanı Kriterleri**

Değişken	Sınır	Puan
ANA veya SMA	$\geq 1:40$	1
ANA veya SMA	$\geq 1:80$	2*
LKM	$\geq 1:40$	
SLA	Pozitif	
IgG	>Normal üst limit	1
	>1,10 kat normal üst limit	2
Karaciğer biyopsisi (hepatitin histolojik kanıtının olması temel şart)	Otoimmün hepatit ile uyumlu Otoimmün hepatit için tipik**	1 2
Viral hepatit olmaması***	Evet	2

$\geq 6$  muhtemel OIH :  $\geq 7$  kesin OIH

\* Bu bulgulardan bir veya daha fazlasının en fazla 2 puan olarak değerlendirilmektedir. \*\* Tipik histolojik bulgular: "interface hepatitis" bulgularıdır. \*\*\* Toplum çalışmalarında viral hepatit olarak hepatit B ve hepatit C baz alınmıştır. (120)

Bu skorum sisteminin en önemli kısıtlaması bazı otoantikör testlerinin çeşitli merkezlerde standartlaştırılmasındaki eksikliklerdir; yapılan değerlendirme çalışmalarında ise her merkez kendi lokal standardizasyon yöntemini kullanmıştır (126). Ek olarak skorum sisteminin otoimmün hepatit ve örtüşen sendromları ayırt edebilirliği için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir (127). Son olarak 52 otoimmün hepatit hastasının katıldığı; skorum sisteminin değerlendirildiği bir çalışmada 10 hastanın seronegatif olduğu bildirilmiştir; bu çalışmada otoantikörlerin negatif olması; tedaviye yanıt olasılığının düşük olacağını göstermediği gibi; ve ANA veya ASMA otoantikörlerinin pozitif olması hastalığın klinik histolojik ciddiyeti veya immunosupresif tedaviye yanıtı ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (128).

Otoimmün hepatitin; kronik nekroinflamasyon ile seyreden fibrozis ve siroz ile sonuçlanan tüm durumlardan ayıt edilmesi gerekmektedir (**Tablo 2-9**) (114). Otoimmün hepatit ve diğer otoimmün karaciğer hastalıklarının (primer biliyer siroz, primer sklerozan kolanjit, örtüşme sendromları) ayırıcı tanısı diğer durumlarda olduğu gibi klinik, histolojik, ve immünolojik özellikler baz alınarak yapılmalıdır (127). Ancak diğer otoimmün karaciğer hastalıkları klinik, histolojik, genetik ve laboratuvar olarak otoimmün hepatit ile benzerlik gösterebilir (124), ve otoimmün hepatit; kolestatik

sendromların özellikleri ile kendini gösterebilir (129). Bu spesifik olmayan ortak özellikler tanı konulmasında karışıklığa neden olmaktadır (11). Ayrıca primer biliyer siroz ve primer sklerozan kolanjitin biyopsi sonuçları da bazı durumlarda otoimmün hepatitten ayırt edilemeyebilmektedir; yangı ve/veya hasarın safra kanallarına ilerlemesi ve safra kanalları çevresinde fibrozis olması otoimmün hepatitte sık görülen bulgular değildir (114).

Otoantikör profillerinin değerlendirilmesi de ayırıcı tanıya katkı sağlayacaktır; AMA diğer otoantikörler ile birlikte otoimmün hepatitte pozitif saptanmaktadır ancak AMA otoantikörünün izole olarak pozitif saptanması genellikle primer biliyer sirozu işaret eder; bazı nadir durumlarda AMA diğer biliyer özellikler olmaksızın otoimmün hepatit hastalarında da tek başına yükseklik gösterebilmektedir (serolojik örtüşme olarak adlandırılır) (32, 130, 131). AMA otoantikörlerinin pozitif olması hastalığın doğal seyri veya tedaviye yanıtını etkilememektedir (114). Diğer taraftan bir AMA pozitif olan otoimmün hepatit hasta grubunun ilerleyen dönemlerde primer biliyer siroz geliştirdiği raporlanmıştır (132).

Akut ve kronik viral hepatit, ilaç ilişkili kronik hepatit ve diğer birçok durum otoimmün hepatit ile benzer özellikler gösterebilmektedir (124). Örnek olarak kronik viral hepatitte hipergammaglobulinemi olması ve otoantikörlerin pozitif olarak saptanması; tanı açısından bir ikileme yol açabilir (114). Ayrıca çeşitli nedenlerle oluşan fulminan karaciğer yetmezliği durumlarında da çeşitli otoantikörler pozitif olarak saptanabilir (133, 134).

Akut başlangıç gösteren otoimmün hepatitin; hepatit A,B,C,D,E virüslerine bağlı olarak gelişen akut viral hepatit tablolarından; bazı bölgeler için ise CMV, EBV ve herpes virüslere bağlı olarak gelişen akut viral hepatit tablolarından ayırt edilmesi gerekmektedir, ayırıcı tanıda adı geçen virüslere karşı oluşan antikörler veya HCV için HCV-RNA düzeyi tayin edilmelidir (114).

Daha önceden de belirtildiği üzere (**bkz: Viral Tetikleyiciler**); otoimmün hepatit hastalarında spesifik olmayan antikör yanıtı hepatit-C için yapılan antikör testlerinin yanlış pozitif sonuç vermesine neden olabilmektedir (86, 88). Diğer taraftan kronik hepatit C olan vakalarda çeşitli otoantikörler pozitif olarak saptanabilmektedir: Bazı Avrupa ülkelerinde %5 hepatit C vakasında anti-LKM-1 otoantikörlerinin pozitif olduğu saptanmıştır (135). Akut ve/veya kronik hepatit-C tanısını doğrulamak için dolaşan HCV-RNA seviyelerinin ölçülmesi gerekmektedir (136).

Otoimmün hepatit tanısının konulması altta yatan non-alkolik steatohepatit tanısı olan hastalarda; özellikle ANA pozitif olan hastalarda zor olabilmektedir (137). Ayırıcı tanıda klinik özelliklere ek olarak histolojik farklılıklar da göz önünde bulundurulmalıdır, yağ infiltrasyonunun büyüklüğü, hepatositlerde balon dejenerasyonu, hepatic lobular inflamasyon ve fibrozisin bulunmaması non-alkolik steatohepatit lehine bulgulardır (138).

**Tablo 2-9 Otoimmün Hepatit Ayırıcı Tanısı**

<b>Diğer otoimmün karaciğer hastalıkları</b>
Primer biliyer kolanjit Primer sklerozan kolanjit Otoimmün hepatit/primer biliyer kolanjit örtüşme sendromu Otoimmün hepatit primer sklerozan kolanjit örtüşme sendromu Otoimmün kolanjiyopati
<b>Kronik viral hepatitler</b>
Kronik hepatit B Kronik hepatit C Kronik hepatit Delta Diğer virüslere bağlı gelişen diğer kronik hepatitler
<b>Diğer</b>
Kronik ilaç ilişkili hepatitler Alfa-1 antitripsin eksikliği Wilson hastalığı AIDS ilişkili kolanjiopati Steatohepatitler Non-alkolik Alkolik Granulomatöz hepatitler Sistemik Lupus Eritomatozus Graft-versus-host hastalığı Kriptojenik kronik hepatit veya siroz Demir aşırı yüklenmesi/hemokromatozis

Bu tablo; Michael A Haneghan M. Autoimmune hepatitis: Clinical manifestations and diagnosis. In: Sanjiv Chopra M, MACP, editor. Up to date. Walters Cluver 2017.'dan alınmıştır.

Bazı ilaç ilişkili karaciğer hasarı (DILI) durumları da histolojik olarak otoimmün hepatit ile karışabilmektedir; belirli histolojik özellikler bu iki durumun ayırt edilmesine katkı sağlayabilir (örnek olarak; portal nötrofiller DILI'de daha yaygın) (139).

## 2-4 Tedavi

### Tedavi Endikasyonları

Üç adet randomize kontrollü klinik çalışmanın sonucunda; Serum AST seviyeleri normal sınır üst limitinin en az 10 kat üzerinde olan veya normal sınır üst limitinin 5 kat üzerinde olup; serum gamma globülin seviyesi normal sınır üst limitinin 2 katının üzerinde olan OIH hastalarının mutlaka tedavi edilmesi gerekmektedir; aksi takdirde mortalite yüksek olacaktır (140-142). Aynı zamanda tanı sırasında köprüleşme nekrozu veya multilobular nekrozu bulunan hastaların tedavi edilmemeleri durumunda bu hastaların %82 oranında siroza ilerledikleri ve 5 yıllık mortalitenin %45 olduğu kaydedilmiştir (140-142). Bu laboratuvar ve histolojik bulgular kortikosteroid tedavisi için kesin endikasyonları oluşturmaktadır (113, 143); hepatik inflamasyon ile ilgili hayatı kısıtlayan semptomları ( artralji, halsizlik gibi) olan hastalar da tedavi açısından kesin endikasyon oluşturmaktadır (**Tablo 2-10**) (124).

**Tablo 2-10 İmmunosupresif tedavi endikasyonları**

Kesin	Rölatif	Yok
Serum AST $\geq$ 10 kat NÜL	Semptomlar (halsizlik, artralji, sarılık)	Normal veya normale yakın serum AST ve $\gamma$ globülin seviyeleri ile birlikte hastanın asemptomatik olması
Serum AST $\geq$ 5 kat NÜL ve gamma globülin seviyesi $\geq$ 2 kat NÜL	Serum AST ve/veya $\gamma$ globülin seviyesinin kesin kriterlerden düşük ancak yüksek olması	İnaktif siroz veya hafif portal yangı olması (portal hepatitis)
Histolojik çalışmada köprüleşme nekrozu veya multiasinar nekroz olması	“Interface hepatitis” olması	Ciddi sitopeni (BK sayısı $<$ 2,5X10 <sup>9</sup> veya platelet sayısı $<$ 50X10 <sup>9</sup> /L ) veya TPMT aktivitesinin bilinen mutlak eksikliği
Hayatı kısıtlayıcı semptomların olması	Osteopeni, duygusal instabilite, hipertansiyon, diyabet veya sitopeni ( BK sayısı $\leq$ 2,5X10 <sup>9</sup> /L veya platelet sayısı $\leq$ 50X10 <sup>9</sup> /L	Vertebral kompresyon, psikoz, oynak diyabet, kontrolsüz hipertansiyon, azatiopurin veya prednizona karşı bilinen intolerans olması

NÜL: Normal aralığın üst limiti BK: Beyaz küre (124)

Otoimmün hepatitin doğal seyri bulunmayan hastaların; (hafif semptomları olan veya semptomatik olmayan, hafif laboratuvar bulguları ve hafif histolojik bulguları olanlar) tedavi endikasyonu olup olmadığına dair randomize kontrollü çalışma bulunmamaktadır. Ancak tedavinin kişiselleştirilmesi gerekmektedir (122, 144). Eğer bu tarz bulguları olan hastalar tedaviyi tolere edebilecek genç bireylerse kortikosteroid tedavi başlanması göz önünde bulundurulabilir (122). Ancak bu tarz hastalar tedavi yan etkilerini kaldıramayacak durumda ise ( ilerlemiş inaktif siroz, postmenopozal osteopeni veya vertebral kompresyon , emosyonel dengesizlik veya psikoz, kötü kontrollü hipertansiyon, oynak diyabet, düşük metilen transferaz aktivitesi) kortikosteroid tedavisi ile sonuçlar daha kötü olabilmektedir (145).

Hastalık aktivitesi olmayan veya minimal olan hastalar veya inaktif sirozu bulunan hastalar tedaviden fayda görmemektedir bu hastalar tedavi başlanmaksızın 3-6 ayda bir izlenmelidirler (107).

### ***Tedavi Protokolleri***

Otoimmün hepatit tedavisinde genel hedef; remisyona ulaşmak (ALT, AST, IgG seviyelerinin normale dönmesi) ve remisyona ulaşıldıktan sonra da hastalığın remisyonunda olduğu dönemin sürdürülmesidir (108). Temel amaç daha yüksek dozlarda kortikosteroid tedavi ile remisyon sağladıktan sonra; kortikosteroid tedavisi mümkün olan en düşük doza indirilerek idame tedaviye geçilmek olmalıdır (108). Eğer komplet remisyon ulaşırsa ve en az 2-3 yıl kortikosteroid tedavisi verildikten sonra karaciğer histolojisinde herhangi bir aktivite bulgusuna rastlanmazsa tedavinin kesilmesi göz önünde bulundurulabilir (124). Ancak immunosupresif tedavi tamamen kesildikten sonra hastaların sadece %20 'si uzun süreli remisyonu (dökümanite edilmiş normal transaminaz seviyeleri takip eden biyopsilerde inflamatuvar aktivitenin olmaması) sürdürebilmektedir . (125, 146)

Medikal remisyon indüksiyonu için; tek başına yüksek doz kortikosteroid veya azatiyopurin ve kortikosteroid kombinasyonu birlikte kullanılabilir (**Tablo 2-11**) (108). Bu amaçla tek başına yüksek doz prednizon/prednizolon (60mg/gün) veya daha düşük doz prednizon/prednizolon (30mg/gün) ve azatiopurin (ABD'de 50mg/gün Avrupa da 1-2 mg/kg/gün olarak verilmektedir.) kombinasyonu kullanılmaktadır (126, 147). Daha sonra kortikosteroid remisyonu devam ettirecek en düşük düzeye indirilmelidir. Kortikosteroid dozu 20mg'a düşürüldükten sonra haftada 5 mg azaltılmalı; 10mg dozuna düşürüldüğü zaman ise haftada 2,5 mg azaltılarak 5mg idame dozundan tedaviye; hastalık düzeline kadar, tedavi başarısızlığı gelişene kadar veya ilaç intoleransı gelişene kadar devam edilmelidir (148). Azatiopurin ve prednizon/prednizolon kombinasyon tedavisinde tek başına yüksek doz prednizon/prednizolon tedavisine göre; kortikosteroid ilişkili yan etkiler daha az açığa çıkmaktadır; bu nedenle tercih edilen tedavi kombinasyonudur (%10'a karşılık %44) (147). Ancak bazı durumlarda kortikosteroid tedavi tek başına uygulanabilmektedir.

Lokal etkili kortikosteroid olan budesonid; kortikosteroid ilişkili yan etkileri azaltmak amacı ile prednizon/prednizolon tedavisine alternatif olarak kullanılabilir (149). Budesonidin non-sirotik hastalarda kullanımı Avrupa Birliği Ülkeleri de dahil olmak üzere bir çok ülkede onaylanmıştır (108). Budesonid ve azatiyopurin kombinasyonunun konu edildiği geniş randomize kontrollü bir çalışmanın verileri bulunmaktadır (150). Bu çalışmada; budesonidin azatiopurin ile birlikte remisyon indüksiyonu sağlayabildiği gözlemlendiği gibi daha az steroid ilişkili yan etkiye rastlandığı raporlanmıştır (150). Ancak budesonid prednizon/prednizolon ile aynı reseptör üzerinden etki göstermektedir, bu nedenle steroid bazlı tedavilerle başarısız olduğunda budesonid kullanılmamalıdır (108). Topikal kortikosteroidlerin

farmakokinetik yararları portal hipertansiyon ve portokaval şantı olan hastalarda azaldığı için; budesonid sadece sirozu olmayan hastalarda onaylanmıştır (151) Remisyona ulaşıldıktan sonra bunu devam ettirmek için prednizon/prednizolon veya azatiopurin monoterapisi veya prednizon/prednizolon azatiopurin kombinasyonu tedavilerinden biri kullanılabilir; steroid dozları prednizon/prednizolon için günlük en az 5mg budesonid için ise günlük en az 3 mg'a indirilmelidir (108)

**Tablo 2-11 Otoimmün hepatit için standart tedavi**

Monoterapi		Kombinasyon tedavisi			
	Prednizon/prednizolon (mg/gün)	Steroid		Azatiopurin	
		Prednizon/Prednizolon (mg/gün)	Budesonid ; siroz olmayan hastalarda (mg/gün)	ABD (mg/gün)	Avrupa (mg/kg/gün)
Hafta 1	60	30	9	50	1-2
Hafta 2	40	20	9	50	1-2
Hafta 3-4	30	15	6	50	1-2
İdame tedavisi	≤20	10	≤6	50	1-2
Tercih edilme nedenleri	Sipopeni Tiopurin metiltransferaz eksikliği Gebelik Malignensi Beklenen tedavi süresi, <6 ay	Postmenopozal durum Osteoporoz KontROLSÜZ diyabet, hipertansiyon, obezite Akne Duygusal dengesizlik			

Bu tablo; Manns MP, Lohse AW, Vergani D. Autoimmune hepatitis—update 2015. Journal of hepatology. 2015;62(1):S100-S11. 'dan alınmıştır.

### ***Tedavi Başarısızlığı Yönetimi***

Standart immunosupresif tedaviler ile tam remisyona ulaşılamaması durumunda alternatif immunosupresif ajanların araştırılması gerekmektedir; bu konu ile ilgili prospektif çalışmalar çok fazla bulunmamakta; tedaviler genellikle uzman görüşüne dayanmaktadır (108). İkincil tedavi olarak kalsinörin inhibitörleri (siklosporin, takrolimus) veya mikofenolat mofetil (MMF) kullanılmaktadır (**Tablo 2-12**) ; son zamanlarda MMF remisyon indüksiyonu ve tedavi idamesinde azatiopurin bazlı tedaviler tolere edilemediğinde kullanılabilir; eğer başlangıçtaki azatiopurin tedavisi başarısızlıkla sonlandıysa MMF tedavisinin faydaları; etkisizlik nedeni ile kısıtlı olacaktır (120). MMF'in remisyon indüksiyonu ile ilgili cesaret verici sonuçları ayrıca raporlanmıştır (152).

Hastaların büyük bir çoğunluğunda birincil tedavilerle remisyon sağlanmaktadır; ancak azınlıkta olan bir grupta birincil tedavilerle remisyon sağlanamamaktadır ve bu

hastalar için alternatif tedavi rejimlerine ihtiyaç duyulmaktadır (108). Son zamanlarda az sayıda hasta içeren ve genellikle kontrolsüz çalışmalarda sinyal iletim yollarına müdahale eden; biyolojik ajanlar araştırılmaktadır (38, 153). Bunlara örnek olarak anti-TNF antikoları (infliksimab gibi) ve B hücre reseptörü olan CD20 antikoları (rituksimab gibi) gösterilebilir (154, 155). Bu tedaviler insan bağışıklık sistemini önemli derece baskılayacağı için; tedavilerin uygulanacağı hastalara mutlaka fayda ve risk değerlendirmesi yapılmalıdır (108). Örneğin rituksimab tedavisine başlamadan önce hastalar HBV açısından mutlaka değerlendirilmelidir; hastalar anti-hbc açısından pozitif ise proflaktik oral anti-HBV tedavi (tenofovir veya entekavir) rituksimab altında veya son uygulamadan sonra en az altı ay süre ile verilmelidir (108). OIH için oluşturulan zenoimmünize fare modellerine uygulanan düşük doz anti-CD3 antikolarının remisyon indüksiyonunda başarılı olduğu raporlanmıştır (156).

**Tablo 2-12 Kortikosteroid ve Azatiopurine alternatif tedaviler**

Tedavi	Doz	Major yan Etkiler
Siklosporin A	3-5 mg/kg qd	Hipertansiyon Böbrek yetmezliği
Takrolimus	3-5 mg bid	Hipertansiyon Böbrek yetmezliği Diyabet Polinöropati
Mikofenolat mofetil	750-1000mg bid	Gastrontestinal semptomlar İshal Lökopeni
Anti-TNF-mAb (infliksimab)	5 mg/kg 2-8 haftada bir	Enfeksiyon İmmün aracılı karaciğer hasarı indüksiyonu
Anti-CD20 mAb (Rituximab)	2X1000mg infüzyon/gün 1 ve 15. Günler	Enfeksiyon reaktivasyonu (hepatit-B gibi)

Qd: Günde bir defa; bid: günde iki defa (108)

### ***Transplantasyon***

Karaciğer nakli tüm karaciğer hastalıklarında kurtarıcı rol üstlenmektedir: Ancak OIH tedavisinde çok az bir rolü bulunmaktadır (157). Hem Avrupa hem Amerika'da OIH'e bağlı karaciğer nakli tüm nedenlere bağlı karaciğer nakillerinin yaklaşık %4 kadarını oluşturmaktadır (108). Otoimmün hepatite tedavinin köşe taşını zamanında tanı ve yeterli immünosupresif tedavi ile karaciğer naklinden mümkün olduğunca kaçınmak oluşturmaktadır (108).

Fulminan seyreden otoimmün hepatit vakalarına özellikle çocuk ve genç erişkin hasta grubunda acil nakil gerekmektedir; bu hastalarda karaciğerin geri dönüşümüne olanak sağlayan medikal tedavi cevabı çok yavaş olmaktadır (158). Fulminan otoimmün hepatit için başlangıç tedavisi yüksek doz damar içi prednizolon (100 mg/gün üzerinde) olmalıdır, tedaviye cevap veren hastalar için destek tedaviye devam edilmelidir, fakat vaka serilerinin birçoğu tedaviye yanıt vermeyen hastalarda acil nakil kararı alınmasının son derece önemli olduğunu göstermektedir; 2 haftadan uzun süreli karaciğer yetmezliği

ile birlikte verilen yüksek doz kortikosteroid kabul edilemez ölümcül enfeksiyonlara davetiye çıkarmaktadır (158). İleri evre siroz ile tanı alan OIH hastalarının büyük bir çoğunluğu immunosupresif tedavi ile azalmış karaciğer fonksiyonlarına dönmekte ve karaciğer nakline gerek kalmamaktadır; ancak tedaviye yanıt vermeyen dekompanse sirotik hastalarda nakil gerekebilir (meld skoru $\geq$ 15) ayrıca HCC geliştirmiş olan vakalarda da transplantasyon göz önünde bulundurulabilir (124). Erişkinlerde ilerleyici siroza gidişin bir nedeni de tedavi uyumsuzluğu ve/veya yetersiz tedavi olabilir bu da nakil nedeni olabilir (159).

Nakil gerektiren OIH vakalarında cerrahi sonrası erken dönemde en önemli risk enfeksiyondur (160).

Postoperatif sürecin daha geç dönemlerinde ise akut rejeksiyona OIH nedeni ile yapılan transplantasyonlarda diğer nedenlerle yapılan transplantasyonlardan daha sık rastlanmaktadır; bu durum sıkı bir takip gerektirmekte ve gerektiğinde immunosupresif tedavi dozu arttırılmalıdır. Ayrıca Karaciğer nakli yapılan hastalarda OIH'in tipik hiperbilirubinemi ve otoantikörlerin açığa çıkması ile seyreden De novo OIH tablosu ortaya çıkabilmektedir. Bu durum ayrıca diğer nedenlerle yapılan karaciğer transplantasyonlarında da görülebilmektedir. Bu tablonun akut rejeksiyon durumundan ayırt edilmesi son derece zordur ancak her iki durumda da tek tedavi seçeneği immunosupresif tedavilerdir (108).

### 3-MATERYAL-METOD

#### 3-1 Örnekler ve Verilerin Toplanması

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda yapıldı. Çalışmaya 18 yaşın üzerinde 29 adet hasta, 30 adet kontrol alındı. Gastroenteroloji Bilim Dalı'nın takibinde seksen adet otoimmün hepatit ve otoimmün hepatit, primer biliyer siroz örtüşme sendromu tanısı olan hastalar bulunmaktadır. 2010-2015 tarihleri arasında tanı almış olan bu hastaların tanı anında kanları alınıp santrifüj edilerek (15dk 1000Xg) elde edilen plazma örneği -80 derecede gerektiğinde kullanılmak üzere saklanmaktadır. 18 yaşın üzerinde olup otoimmün hepatit (21 adet hasta) veya örtüşme sendromu (8 adet hasta) tanısı almış olan 29 adet hasta çalışmaya dahil edildi, bununla birlikte saf PBS, saf PSK tanısı olan hastalar; takiplerinde HCC geliştirmiş olan hastalar, hepatit B yüzey antijeni pozitif olan anti HCV antikoru pozitif olan hastalar ve otoimmün hepatit, örtüşme sendromu dışındaki nedenlere bağlı hepatit geliştirmiş olan hastalar çalışmadan dışlandı. Kontrol grubunu ise bilinen hiçbir dahili hastalığı olmayan, ilaç kullanmayan, 18 yaşın üzerinde olan 30 adet erişkin oluşturdu. Bu kişilerin kanları alınarak ivedilikle Gastroenteoloji Laboratuvarı'na götürüldü ve kanlar aynı şekilde santrifüj edilerek elde edilen plazma örnekleri -80 derecede saklandı.

Kontrol grubu hastaları; mümkün olduğunca hasta grubundaki hastalara benzer yaşlarda olan kişilerden seçilmeye çalışıldı.

Hastaların ve kontrol grubunun demografik bilgileri, aldıkları tedaviler ve bu tedavilere yanıt durumları hasta dosyalarından elde edilerek kaydedildi. Hastaların son tedavi ve tedaviye yanıt durumları ise rutin poliklinik kontrolleri sırasında öğrenilerek kaydedildi. Bu sırada katılımcılardan aydınlatılmış onam alındı. Aynı şekilde kontrol grubunu oluşturan bireylerden aydınlatılmış onam alınarak adları, soyadları, yaşları ve cinsiyetleri öğrenilerek kaydedildi.

#### *Hastalar ve Tanı*

Tüm hastalar uluslararası otoimmün hepatit grubunun belirlediği basitleştirilmiş tanı kriterlerine göre seçildi (**Tablo 2-8**) (120). Bu kriterlere göre tanı anında hastalarda serolojik olarak ANA veya ASMA veya LKM-1 veya SLA pozitifliği aranırken; aynı zamanda IgG düzeyinin normal üst sınırın üzerinde olması; otoimmün hepatiti kanıtlayan veya kuvvetle tahmin ettiren histolojik bulguların varlığı arandı. Bununla birlikte seçilmiş olan vakaların hiçbirinde hepatit B yüzey antijeni ve HCV antikoru pozitif değildi. Tüm otoankorlar ve diğer serolojik testler Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı tarafından standart yöntemlerle çalışıldı,

sonuçlar hastaların elektronik dosyalarından bulunarak kaydedildi. Otoantikörler için 1/40 ve üzerindeki titreler pozitif olarak kabul edilirken; serum IgG ve tansaminaz seviyeleri normal üst sınırdan kaç kat yüksek olduğu belirlendi. ANA için ise 1/100 ve üzerindeki titreler pozitif olarak kabul edilirken; değerlendirme yapılırken ayrıca titre belirtildi.

Bu bulgulara ek olarak histolojik olarak safra kanalı hasarı olan ve/veya AMA pozitifliği olan hastalar örtüşme sendromu olarak kabul edildi.

### ***Histopatolojik Değerlendirme***

Tanı anında tüm hastaların karaciğer biyopsisi mevcuttu ve Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Klinik Patoloji Birimince raporlanmıştı. Bir hastanın biyopsi örneğinin histolojik değerlendime açısından uygun olmadığı belirtilmişti; bunun dışında diğer tüm hastaların biyopsi örnekleri histolojik değerlendirme açısından uygundu.

Hastaların biyopsi örneklerinin derecelendirilmesinde kronik hepatit histolojik aktivite indeksi kullanıldı (161). Buna göre hastaların biyopsi örnekleri; arayüz hepatiti derecesi, intralobular dejenerasyon ve fokal nekrozun derecesi, portal inflamasyonun derecesi, fibrozisin derecesine göre derecelendirildi. 6 adet hastaya kontrol biyopsi uygulanmış olduğu görüldü. Bu hastaların kontrol biyopsi örnekleri aynı şekilde derecelendirilerek tedavi yanıtı açısından değerlendirildi.

Safra kanalı lezyonları nondestrüktif kolanjit, destrüktif kolanjit, duktopeni olarak sınıflandırıldı.

### ***Tedavi Remisyon Relaps ve Eşlik eden otoimmün hastalıklar***

Remisyon indüksiyonu sırasında; başlangıçta siroz olan hastalar (2 adet hasta) yüksek doz kortikosteroid ile tedavi edilirken; diğer hastalar yüksek doz kortikosteroid ve azatiopurin ile tedavi edildi. Semptomu olmayan, serum transaminazları normal olan hastalar remisyonuna girmiş olarak kabul edildi. Standart protokole göre steroid dozu azaltılarak; en düşük doz ile idame tedaviye geçildi. Hastalar idame tedaviye geçildikten sonra; 2 yıl boyunca 6 ayda bir kontrol edildi, sonrasında ise yıllık kontrol edildi. Takipleri sırasında hastaların serum ALT, AST, ALP, IgG, bilirubin, albümin, INR ve trombosit düzeyleri hasta dosyalarından bulunarak kaydedildi. Anormal transaminaz seviyesi ve/veya klinik semptomlar nedeni ile tedavi dozunun artırılması gereken; hitolojik skorlarında kötüleşme olan hastalar relaps olarak kabul edildi.

Tamamen remisyona giren, (Bir hasta hariç tüm hastalar tamamen remisyona girdi), tedavi altında veya tedavi kesildikten sonra serum transaminaz ve IgG seviyeleri normal sınırlarda olan , tamamen asemptomatik hale gelen , kontrol biyopsilerinde histolojik aktivite indeksi skorları gerilemiş olan hastalar tedavi yanıtı iyi olan hastalar olarak değerlendirildi.

Remisyona girmeyen, klinik olarak semptomatik olan, takiplerinde asemptomatik iken semptomatik hale gelen, siroz geliştiren, tedavi altında veya tedavisiz bir defa bile relaps olan, kontrol biyopsilerinde, histolojik aktivite indeksi derecesi artmış olan hastalar; tedavi yanıtı iyi olmayan hastalar olarak değerlendirildi.

Hastaların 18 (%30,5)'i tedavi yanıtı iyi olan hastalar olarak değerlendirilirken 11 (%18,6)'i ise tedavi yanıtı iyi olmayan hastalar olarak değerlendirildi.

Hastaların 10 tanesinde eşlik eden en az bir otoimmün hastalık bulunmaktaydı. Dört hastanın 1 adet eşlik eden otoimmün hastalığı mevcutken altı hastanın birden fazla eşlik eden otoimmün hastalığı bulunmaktaydı. Eşlik eden otoimmün hastalıklar arasında ; ülseratif kolit, romatoid artrit, sjögren, hashimato tiroidit, ankilozan spondilit, çölyak hastalığı, immün trombositopeni ve immün hemolitik anemi bulunmaktaydı.

### **3-2 ELISA ( Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) Yöntemi**

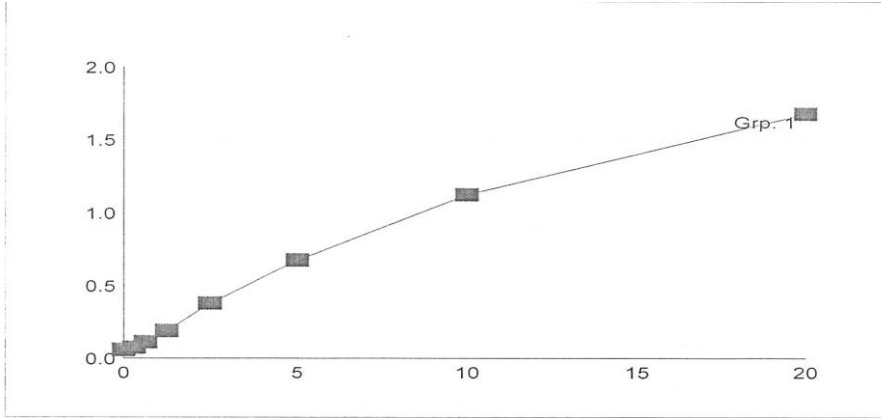
Çalışma örnekleri çalışmadan 12 saat önce Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı Mikro-ELISA ünitesine ulaştırıldı. Örnekler +4 dereceye alınarak çözümleri sağlandı; bu örnekler işlemiden 2 saat önce oda sıcaklığına alındı. Çalışma için "Elabscience HLA-G (leucocyte antigen G) ELISA" kitleri kullanıldı. Üretici talimatlarına uygun olarak prosedür gerçekleştirildi. Prosedür aşağıda belirtilen protokole göre gerçekleştirildi.

1. Örnekler kullanmadan 15 dakika önce 1 dakika santrifüj edildi. (10.000xg) ve 1,0 mL referans standart örnek solüsyonu ile dilüe edilerek birkaç defa ters çevrilerek karıştırıldı. Daha sonra tek kullanımlık pipetler aracılığı ile doğrudan karıştırıldı. Sonrasında seri dilüsyonlar yapılarak örnekler 1:4 oranında dilüe edildi.
2. Her bir örneğin 100 µl' si daha önceden insan spesifik HLA-G antijenlerine özel antikorlarla kaplı mikro ELISA plakalarındaki kuyulara eklendi. Daha sonra plakalar kapatılarak 37 derecede 90 dakika inkübe edildi.

3. İnkübasyon sonrası her bir kuyudan sıvılar uzaklaştırıldı; kuyular yıkanmadan 100µl biotinlenmiş antikor saptama çalışma sıvısı her bir kuyuya eklenerek plakalar kapatıldı ve 37 derecede 1 saat tekrar inkübe edildi.
4. İkinci inkübasyon sonrasında kuyulardaki sıvılar aspire edilerek deiyonize distile yıkama tamponu kullanılarak; otomatik yıkayıcı ile yıkandı. Bu işlem 3 defa tekrarlandı (her bir işlem için 350µL yıkama tamponu kullanıldı). Son yıkama işleminden sonra yıkama tamponu tamamen uzaklaştırıldı. Plakalar kalın, temiz emici kağıtlara ters çevrildi.
5. Sonrasında 100µL HRP (Avidin-Horseradish Peroxidase) konjugat çalışma solüsyonu her bir kuyuya eklendi. Plakalar kapatılarak 37 derecede 30 dakika boyunca inkübe edildi.
6. Yıkama işlemi 5 defa olacak şekilde tekrarlandı.
7. 90µL substrat solüsyonu her bir kuyuya eklendi. Plakalar yeni bir plaka kapatıcı ile kapatıldı. 37 derecede inkübe edildi. Enkübasyon süresi gerçek renk değişikliği görülene kadar 15 dakika olarak belirlendi.
8. Standart kuyularda görünür gradient belirlediğinde 50µL sonlandırma solüsyonu her bir kuyuya eklendi. Rengin hızlıca sarıya döndüğü görüldü.
9. 450nm'ye ayarlanmış mikroparka okuyucu kullanılarak her bir kuyunun optik dansitesi tek seferde belirlendi.

Her bir örnek için çift okumalar ortalanarak sıfır standart optik dansite belirlendi. Y ekseninde her bir standart için ortalama optik dansite değerleri; X ekseninde de konsantrasyon olacak şekilde standart bir eğri çizildi. X eksenini için grafikteki en iyi uyan noktalar birleştirilerek en uygun eğri oluşturuldu (**Şekil 3-1**). Eğri oluşturulması ve hesaplamaların yapılması için Microsoft Exel 2016 Elektronik Tablo Uygulama yazılımı kullanıldı. Örneklerin OD değerleri standart eğri ile karşılaştırılarak konsantrasyon değerleri ng/mL cinsinden hesaplandı. Elde edilen konsantrasyon değerleri dilüsyon katsayısı ile çarpılarak sonuçlar elde edildi.

Şekil 3-1 Standart Eğri



### 3-3 İstatistiksel Analiz

Araştırmanın analizinde, Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 24 programı kullanıldı. Varyansların normal dağılıma uygunlukları; Kolmogorov Smirnov ve Shapiro-Wilk analiz testi ve histogramlar ile değerlendirildi. Normal dağılan değişkenler ortalama ve standart sapma (ss) ile değerlendirilirken; normal dağılmayan değişkenler ortanca (medyan) ve minimum-maksimum değerleri ile ifade edildi. Hasta ve kontrol gruplarında HLA-G antijen titresini karşılaştırmak amacı ile Mann-Whitney-U testi ve çapraz tablolar kullanıldı. Tedaviye yanıt veren vermeyen hastaların karşılaştırılması amacı ile yine Mann-Whitney-U ve Ki-kare testleri; bunların kontrol grupları ile karşılaştırılması amacı ile Kruskal Wallis testi kullanıldı; ikişerli karşılaştırmalar için Tamhane testi kullanıldı. Histolojik aktivite indeksi skoru, başlangıçtaki ANA titresini, başlangıçtaki IgG seviyesi (XNÜL), başlangıçtaki ALT seviyesi (XNÜL), hasta yaşı değişkenleri ile HLA-G antijen titresini arasında ilişki olup olmadığını belirlemek amacı ile Spearman Testi uygulanarak korelasyon katsayısı hesaplandı. Belirtilen parametrelerin tedavi yanıtı ile olan ilişkilerini belirlemek amacı ile Mann-Whitney U, bağımsız örneklem T testi, Ki-kare ve Fisher testleri kullanıldı. HLA-G antijen titresini cinsiyetler arasında ve eşlik eden otoimmün hastalığı olan ve olmayan gruplar arasında karşılaştırmak için Mann-Whitney-U ve Ki-kare testleri kullanıldı. P değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi. Plazma HLA-G antijen düzeyinin otoimmün hepatit tedavi yanıtını öngörmeye tanısal karar verdirici özellikleri Receiver Operating Characteristics (ROC) eğrisi analizi ile incelendi. Anlamlı sınır değerlerinin varlığında bu sınırların sensitivite, spesifite, pozitif prediktif ve negatif prediktif değerleri hesaplandı. Spearman korelasyon analizi ve ROC analizinde eğri altında kalan alanın değerlendirilmesinde, Tip-1 hata düzeyinin %5'in altında olduğu durumlar testlerin tanısal değerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu şeklinde yorumlandı.

## 4-BULGULAR

### 4-1 Demografik Veriler

Çalışmaya 29 (%49,2) hasta 30 (%50,8) kontrol olacak şekilde toplam 59 katılımcı dahil edildi. Hasta grubunda 26 (%63,4) adet kadın, 3 (%16,7) adet erkek katılımcı bulunmaktaydı. Kontrol grubunda ise 15 adet (%36,6) kadın, 15 (%83,3) adet erkek bulunmaktaydı. Hasta grubunun ortanca yaşı 48 (24-74) iken kontrol grubunun ortanca yaşı 41,5 (27-68) olarak değerlendirildi. Hasta ve kontrol gruplarının yaşlarının benzer olduğu görüldü. ( $p=0,084$ ) (**Tablo 4-1**) .

**Tablo 4-1 Demografik Veriler**

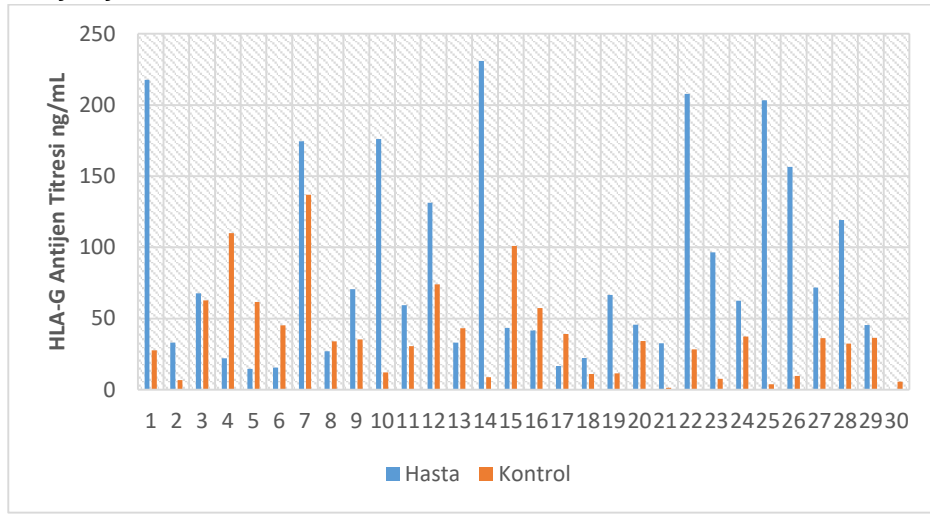
	Hasta	Kontrol	Toplam
Sayı (%)	29 ( %49,2)	30 (%50,8)	59 (%100)
Cinsiyet			
Kadın n (%)	26 (%63,4)	15 (%36,6)	41 (%69,5)
Erkek n (%)	3 (%16,7)	15 (%83,3)	18 (%30,5)
Yaş*	48 (24-74)	41,5 (27-68)	

\*Hasta ve kontrol grubu yaşlarının benzer olduğu görüldü ( $p=0,084$ )

### 4-2 HLA-G Antijen Titresi İnceleme Sonuçları

Hasta grubunda HLA-G antijen titresi ortanca değeri 62,6 ng/mL (14,7-231) olarak belirlenirken; kontrol grubunda ise 34ng/mL (1,43-137) olarak belirlendi. Hasta ve kontrol grubunda HLA-G titreleri istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında anlamlı fark olduğu görüldü. ( $p=0,001$ ) (**Şekil 4-1**).

**Şekil 4-1 Hasta ve kontrol gruplarında HLA-G antijen titrelerinin karşılaştırılması**

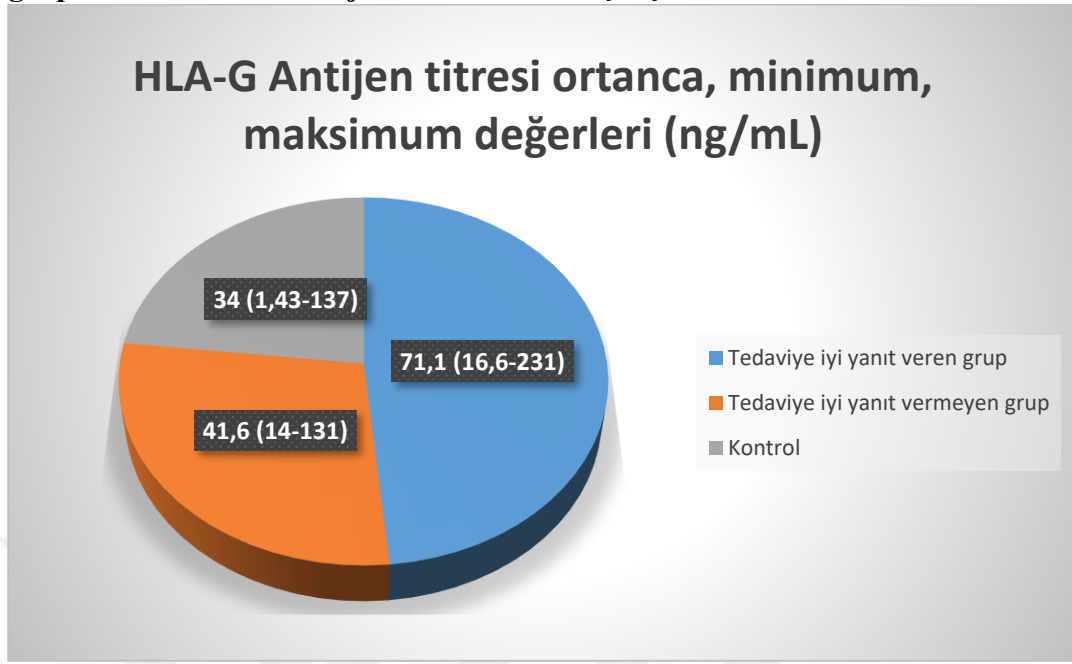


Hasta (n=29) ve kontrol (n=30) grupları HLA-G antijen titreleri (ng/mL) karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görüldü (p= 0,001). Kısaltmalar: HLA-G: Human leukocyte antigen

Hasta grubu tedaviye iyi yanıt veren grup ve tedaviye iyi yanıt vermeyen grup olarak iki gruba ayrıldığında; 18 (% 30,5) hastanın tedaviye iyi yanıt verdiği; 11 (%18,6) hastanın ise tedaviye iyi yanıt vermediği gözlemlendi. Tedaviye iyi yanıt veren grubunun HLA-G antijen titreleri ortanca değeri 71,1 ng/mL (16,6-231); tedaviye iyi yanıt vermeyen grubun ise 41,6ng/mL (14-131) olarak değerlendirildi. Tedaviye iyi yanıt veren, tedaviye iyi yanıt vermeyen ve kontrol grupları HLA-G antijen titreleri açısından karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (p=0,001);

Tedaviye iyi yanıt veren grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yine istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanırken (p=0,004); tedaviye iyi yanıt vermeyen grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı (p=0,750) (Şekil 4-2).

**Şekil 4-2 Tedaviye yanıt veren, tedaviye iyi yanıt vermeyen ve kontrol gruplarında HLA-G antijen titrelerinin karşılaştırılması**



Tedaviye iyi yanıt veren grup, tedaviye iyi yanıt vermeyen grup ( $p=0,036$ ) ve kontrol grubu ( $p=0,004$ ) ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı. Tedaviye iyi yanıt vermeyen grup kontrol grubu ( $p=0,750$ ) ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı.

Kısaltmalar: HLA-G: Human leukocyte antigen-G

Cinsiyetlerin HLA-G antijen titreleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı ( $p=0,004$ ). Erkeklerde HLA-G antijen titresi median değeri 13,4 ng/mL (1,43-36,2) saptanırken; kadınlarda ise 61,6 ng/mL (7,6-231) saptandı (**Tablo 4-5**).

Hasta grubunda 10 (%34,5) kişide eşlik eden en az bir otoimmün hastalık bulunurken; 19 (%65,5) kişide eşlik eden otoimmün hastalık bulunmamaktaydı. Eşlik eden otoimmün hastalığı olan ve olmayan gruplarda HLA-G antijen titreleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0,463$ ). Eşlik eden otoimmün hastalığı olanlarda HLA-G antijen titre ortalama değeri 43,5 ng/mL (15,6-231); eşlik eden otoimmün hastalığı olmayanlarda HLA-G antijen titre ortalama değeri 66,5 ng/mL (14,7-217,7) olarak değerlendirildi (**Tablo 4-5**).

**Tablo 4-2 Eşlik eden otoimmün hastalığı olan ve olmayan hasta gruplarında ve cinsiyetlerde HLA-G antijen titresinin karşılaştırılması**

	<b>HLA-G antijen titresini (ortanca, min, maks)</b>	<b>P değeri</b>
<b>Kadın (n=41; %69,5)</b>	61,6 ng/mL (7,6- 231)	<b>p=0,004</b>
<b>Erkek (n=18; %30,5)</b>	13,4 ng/mL (1,43- 36,2)	
<b>Eşlik eden Oİ hastalığı olan grup (n=10; %34,5)</b>	43,5 ng/mL (15,6- 231)	p=0,463
<b>Eşlik eden Oİ hastalığı olmayan grup (n=19; %65,5)</b>	66,5 ng/mL (14,7- 217,7)	

HLA-G: Human leukocyte antigen-G Oİ: Otoimmün

HLA-G antijen titresini ve hastaların mevcut yaşları, tanı sırasındaki HAİ puanı, tanı sırasındaki IgG (XNÜL) düzeyi, tanı sırasındaki ANA titresini, tanı sırasındaki ALT (NÜL) düzeyi arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; HLA-G antijen titresini düzeyi ile, tanı sırasındaki HAİ puanı arasında negatif yönde ve orta derecede istatistiksel açıdan anlamlı korelasyon saptandı ( $p=0,005$ ;  $\rho=-0,519$ ) (**Şekil 4-3**). HLA-G antijen titresini düzeyi ile hasta yaşları karşılaştırıldığında pozitif yönde orta derecede istatistiksel açıdan anlamlı korelasyon saptandı ( $p<0,001$ ;  $\rho=+0,402$ ). HLA-G antijen titresini düzeyi ile tanı sırasındaki ALT (XNÜL) düzeyleri arasında negatif yönde düşük- orta düzeyde istatistiksel açıdan anlamlı korelasyon saptandı ( $p=0,042$   $\rho=-0,379$ ). HLA-G antijen titresini düzeyi ile; tanı sırasındaki ANA titresini düzeyi ( $p=0,108$   $\rho=+0,305$ ) ve tanı sırasındaki IgG düzeyi ( $p=0,516$ ;  $\rho=-0,086$ ) arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı.

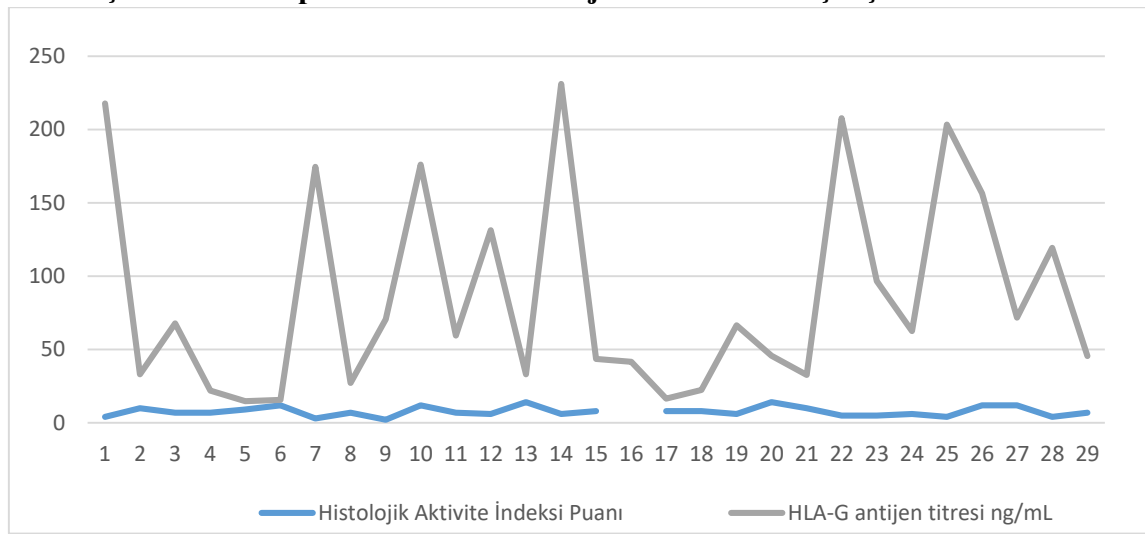
Tanı sırasındaki HAİ puanı ile; tanı sırasındaki ANA titresini düzeyi ( $p=0,425$ ;  $\rho=-0,161$ ) ve tanı sırasındaki IgG düzeyi ( $p=0,516$ ;  $\rho=-0,128$ ) arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmazken; tanı sırasındaki HAİ skoru ve tanı sırasındaki ALT düzeyi ( $p=0,008$ ;  $\rho=+0,490$ ) arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel açıdan anlamlı korelasyon saptandı (**Tablo 4-3**).

**Tablo 4-3 HLA-G antijen titresi ve tanı sırasındaki HAI skoru ile diğer veriler arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi**

	HLA-G	HAI
<b>ALT (XNÜL)</b>		
<b>rho</b>	rho= -0,379	rho= 0,409
<b>p</b>	(p= 0,042)	(p= 0,008)
<b>IgG(XNÜL)</b>		
<b>rho</b>	rho= -0,086	rho= -0,128
<b>p</b>	(p= 0,657)	(p= 0,516)
<b>ANA</b>		
<b>rho</b>	rho= -0,161	rho=-0,161
<b>p</b>	(p= 0,108)	(p=0,425)
<b>Mevcut Hasta Yaşı</b>		
<b>rho</b>	rho= 0,402	
<b>p</b>	(p= 0,002)	
<b>HAI</b>		
<b>rho</b>	rho= -0,516	
<b>p</b>	(p= 0,005)	

Kısaltmalar: HLA-G: Human leukocyte antigen-G HAI:Histolojik aktiviteindeksi ALT: Alanin aminotransferaz ANA: Antinükleer antikor NÜL: Normal üst limit

**Şekil 4-3 HAI puanı ve HLA-G antijen titresinin karşılaştırılması**



HLA-G antijen titresi ve HAI puanı arasında negatif yönde istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon saptandı. (rho= -0,516 p=0,005) Kısaltmalar: HAI: Histolojik aktivite indeksi HLA-G:Human Leukocyte Antigen-G

### 4-3 Tedavi Yanıtı Açısından İnceleme

Tedaviye iyi yanıt veren grup ile tedaviye iyi yanıt vermeyen grubun HAI skorları karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,546$ ). Tedaviye iyi yanıt veren grupta ( $n=18$ ) HAI skoru ortalama değeri  $7,61 \pm 3,80$  olarak değerlendirildi. Tedaviye iyi yanıt vermeyen grupta ( $n=11$ ) ise HAI skoru ortalama değeri  $7,80 \pm 2,20$  saptandı (**Tablo 4-4**).

Tanı sırasındaki ALT (XNÜL) düzeyi tedaviye yanıt açısından değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,702$ ). Tanı sırasındaki IgG (NÜL) düzeyi de tedaviye yanıt açısından değerlendirildiğinde yine istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,072$ ). Tedaviye iyi yanıt alınan grupta ALT (XNÜL) düzeyi ortanca değeri 4,6 (2,01-35,30) olarak değerlendirilirken; tedaviye iyi yanıt vermeyen grupta ise 5,1 (3,05- 18,8) olarak değerlendirildi. IgG düzeyi ortanca değeri ise tedaviye iyi yanıt veren grupta 1,04 (0,67- 2,10) olarak değerlendirilirken; tedaviye iyi yanıt vermeyen grupta 1,14 (1,01- 1,55) olarak değerlendirildi (**Tablo 4-4**).

**Tablo 4-4 Tedaviye iyi yanıt veren grup ve tedaviye iyi yanıt vermeyen gruplarda ALT , IgG , HAI skorları düzeylerinin karşılaştırılması**

	Tedaviye iyi yanıt veren grup (n=18)	Tedaviye iyi yanıt vermeyen grup (n=11)	P değeri
<b>ALT XNÜL (ortanca, min, maks)</b>	4,6 (2,01- 35,30)	5,1 (3,05- 18,8)	0,702
<b>IgG XNÜL (ortanca, min, maks)</b>	1,04 (0,97- 2,10)	1,14 (1,01- 1,55)	0,072
<b>HAI (ortalama <math>\pm</math> standart sapma)</b>	$7,61 \pm 3,80$	$7,80 \pm 2,20$	0,546

Kısaltmalar: ALT: Alanin aminotransferaz IgG: İmmunoglobulin G, HAI: Histolojik Aktivite İndeksi, NÜL: Normal Üst Limit

Kadın ve erkek hastalar tedaviye iyi yanıt veren ve tedaviye iyi yanıt vermeyen gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,316$ ). Kadın hastaların 17 (%65,4)'si tedaviye iyi yanıt veren grupta yer alırken; 9 (%36,16)'u

tedaviye iyi yanıt vermeyen grupta yer aldı. Erkek hastaların ise 1 (%33,3)'i tedaviye iyi yanıt veren grupta yer alırken 2 (%66,7)'si tedaviye iyi yanıt vermeyen grupta yer aldı (**Tablo 4-5**).

Tanı sırasındaki ANA titresi tedaviye yanıt açısından değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,181$ ). ANA titresi 1/100 ve 1/320 arasında olan 7 (%50,0) hasta tedaviye iyi yanıt veren grupta yer alırken; 7 (%50,0) hasta ise tedaviye iyi yanıt vermeyen grupta yer aldı. ANA titresi  $\geq 1/320$  olan 11 (%73,3) hasta tedaviye iyi yanıt veren grupta yer alırken; 4 (%37,9) hasta tedaviye iyi yanıt vermeyen grupta yer aldı (**Tablo 4-5**).

Eşlik eden en az bir otoimmün hastalığı olan hastalar ve eşlik eden otoimmün hastalığı olmayan hastalar tedavi yanıtı açısından değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,733$ ). Eşlik eden otoimmün hastalığı olan hastaların 4 (%40,0)'ü tedavi yanıtı iyi olan grupta yer alırken; 6 (%60,0)'sı tedavi yanıtı iyi olmayan grupta yer almaktaydı. Eşlik eden otoimmün hastalığı olmayan hastaların ise 14 (%73,3)'ü tedaviye iyi yanıt alınan grupta yer alırken 5 (%26,3)'i tedaviye iyi yanıt alınmayan grupta yer aldı (**Tablo 4-5**).

**Tablo 4-5 Kadın ve erkek hastalar, tanı sırasındaki ANA titresi, eşlik eden otoimmün hastalığı olan ve olmayan hastaların tedaviye yanıtı iyi olan ve tedavi yanıtı iyi olmayan gruplarda değerlendirilmesi**

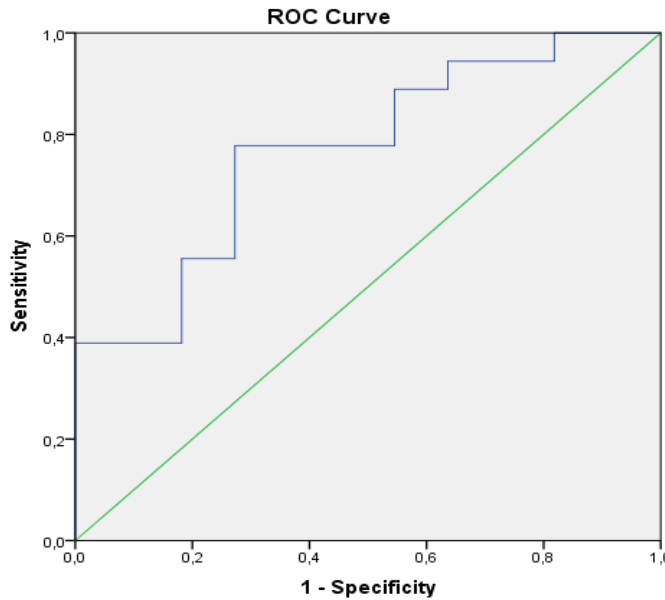
	Tedaviye iyi yanıt veren grup (n=18)	Tedaviye iyi yanıt vermeyen grup (n=11)	P değeri
<b>Kadın n (%)</b>	17 (%65,4)	9 (%34,16)	p=0,316
<b>Erkek n (%)</b>	1 (%33,3)	2 (66,7)	
<b>ANA: 1/100 – 1/320 n (%)</b>	7 (%50,0)	11 (%73,3)	p=0,181
<b>ANA<math>\geq</math>1/320 n (%)</b>	7 (%50,0)	4 (%37,9)	
<b>Eşlik eden Oİ hastalığı olan grup n (%)</b>	4 (%40,0)	6 (%60,0)	p=0,733
<b>Eşlik eden Oİ hastalığı olmayan grup n (%)</b>	14 (%73,7)	5 (%26,3)	

ALT: Alanin aminotransferaz Oİ: Otoimmün

#### 4-4 ROC analizi

HLA-G titresinin hastalığın tedaviye iyi yanıt vereceğini predikte edebiliyor olup olmadığı, HLA-G sınır değeri 45,5 ve 52,5 olarak belirlendiği zaman oluşan sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif predikif değerler (**Tablo 4-6**)’da gösterilmektedir. Otoimmün hepatit hastalık yanıtını öngörmeye HLA-G antijen titresi sınır değeri belirleyebilmek için yapılan ROC analizinde Area Under Curve (AUC) 0,768 (% 95 Güven Aralığı 0,592 – 0,943) olarak saptanmıştır. ROC analizinde HLA-G antijeni sınır değeri 45,5 ng/mL olarak seçildiğinde sensitivite % 77,8, spesifite % 72,7, negatif prediktif değer (NPD) % 63,6, pozitif prediktif değer (PPD) % 77,8 olarak hesaplanmaktadır. HLA-G sınır değeri 52,5 ng/mL olarak seçildiğinde ise sensitivite % 72,2, spesifite % 78, NPD % 61,5, PPD % 81,3 olarak saptanmaktadır (**Şekil 4-5**).

**Şekil 4-5** Hastalığın tedaviye yanıtını öngörmeye HLA-G antijen titresi ROC eğrisi



**Tablo 4-6** ROC Analizinde Önerilen Sınır Değerler ve Hastalık Yanıtını Öngörme Güçleri

	Sınır Değer	
	45,5ng/mL	52,5 ng/mL
<b>AUC</b>	0,768	0,768
<b>%95 GA</b>	0,592-0,943	0,592-0,943
<b>Sensitivite</b>	77,8	72,2
<b>Spesifite</b>	72,7	78
<b>PPD</b>	77,8	81,3
<b>NPD</b>	63,6	61,5

AUC:Area Under Curve (Eğri altındaki alan), GA:Güven Aralığı, NPD:Negatif Prediktif Değer, PPD:Pozitif Prediktif Değer, SH:Standart Hata

## 5- TARTIŞMA

Otoimmün hepatit nadir görülen bir sendrom olmasına karşılık nedeni tam olarak anlaşılamamıştır; gerek çevresel gerek genetik bir çok nedeni olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır. HLA gen varyantlarının otoimmün hepatit etiyolojisinde önemli bir yeri olduğu yapılmış olan birçok çalışmada gösterilmiştir; bu konu ile ilgili çalışmalar daha çok HLA- D allelleri üzerinde yapılmış çalışmalardır (1).

HLA-G molekülünün tolerojenik fonksiyonlarının iyi bilindiği göz önünde bulundurulduğunda; bu molekülün tümör hücreleri ve virüslerle kronik enfekte hücrelerden salınmasının zararlı etkileri olabileceği düşünülebilir. Ancak bu molekülün otoimmün hastalıklarda dokular ve periferik kan hücrelerince salgılanmasının avantajlı bir durum oluşturması beklenmektedir (162).

Yapılan çalışmalar HLA-G antijenin çok çeşitli tümör hücrelerinde varlığını ortaya koymaktadır; bu durum tümör hücrelerinin konak immün sisteminden kaçış mekanizmalarından biri olabileceğini düşündürmektedir (163). Ayrıca birçok vaka serisi HLA-G ekspresyonunun artmasının tümör yayılımı ve kötü prognozla ilişkili olduğunu göstermektedir (162). Aynı şekilde kronik viral enfeksiyonlar da immün sistemden kaçabilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir; HLA-G gen ekspresyonunun özellikle tümöral dönüşümle ilişkili olan bir çok virüste (HIV, HPV, hCMV, hepatit virüsleri) arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (164).

HLA-G molekülü birçok otoimmün hastalıkta da araştırılmış olup bu molekülün ifadesinin artması azalması ve çeşitli sekanslarındaki polimorfizmi ve bu hastalıklarda tedavi ve hastalığın prognozu üzerine olan etkileri gündeme getirilmiştir. Ancak literatürde HLA-G molekülünün karaciğerin otoimmün hastalıkları ile olan ilişkisini gündeme getiren herhangi bir yayın bulunmamaktadır. HLA-G molekülünün tolerojenik etkilerinin bulunması bu molekülün karaciğerin otoimmün hastalıkları üzerinde pozitif bir rol üstleneceğini düşündürmektedir.

Biz bu çalışmada sHLA-G molekülünün karaciğerin otoimmün hastalıkları (otoimmün hepatit ve örtüşme sendromu) üzerine olan etkilerini tedavi yanıtı ve hastalığın prognozu ile ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık. Öncelikle HLA-G antijen titresini hasta ve kontrol grupları ile karşılaştırdığımızda hasta grubunda anlamlı olarak yüksek olduğu sonucuna ulaştık, tedaviye iyi yanıt veren ve tedaviye iyi yanıt vermeyen hasta gruplarını karşılaştırdığımızda ise; tedaviye iyi yanıt veren grupta anlamlı olarak yükseklik saptadık, tedaviye iyi yanıt vermeyen grupla kontrol grubunu karşılaştırdığımızda ise anlamlı bir fark saptamadık. Bu durum HLA-G antijen düzeylerinin tedavi öncesinde değerlendirilmesinin hastalık prognozunu ve tedavi yanıtı önceden tahmin ettirebileceğini düşündürmektedir. Bu durum daha geniş kapsamlı çalışmalarla desteklenirse; kötü prognoz göstereceği düşünülen hastaların önceden

belirlenmesi bu hastaların daha erken ve daha agresif bir şekilde tedavi edilebilmesine olanak sağlayabilir.

Bu konu ile ilgili bir çalışmada erken romatoid artrit hastalarında metotreksat yanıtının HLA-G molekülü ve bu molekülün alt tipleri ile olan ilişkileri değerlendirilmiş olup; hastaların bizim çalışmamızla benzer şekilde tedavi öncesi plazma örnekleri alınmış ve hastalar metotreksat ile 6 ay tedavi edilmiş. Tedavi sonrası hastalar; tedaviye yanıt veren (n=12) ve tedaviye yanıt vermeyen (n=8) olmak üzere iki gruba bölünmüş. Tedaviye yanıt veren grupta sHLA-G seviyesi anlamlı bir şekilde daha yüksek saptanırken tedaviye yanıt vermeyen grupta ise sHLA-G plazma seviyesi daha düşük saptanmış (165). Metotreksat ve diğer DMARD grubu ilaçlar RA tedavisinde kullanılan ilaçlardır bu ilaçlar aracılığı ile özellikle tedavi yanıtı iyi olan hastalarda IL-10 üretimi artmaktadır. IL-10 molekülü ise HLA-G antijen sentezini periferik kan mononükleer hücreler aracılığıyla uyarabildiği bilinmektedir (166).

Bir diğer çalışmada JIA tanısı olan 106 kadın hastanın serum sHLA-G konsantrasyonlarının kontrolleri ile karşılaştırılınca daha düşük olduğu ve bu durumun kronikleşme ve inflamasyon artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (167). Başka bir çalışmada ise SLE hastalarında hastalık aktivite indeksi ile plazma sHLA-G düzeyleri arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (168). Yirmi bir sistemik skleroz hastasının cilt biyopsi örneğinin 28 sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada HLA-G molekülünün vasküler cilt ülserleri, telenjiaktaziler ve artraljilerle seyreden hasta grubunda daha iyi seyreden hasta grubuna oranla daha az sıklıkla ifade edildiği gösterilmiş olup; kontrol grubundan alınan örneklerin hiç birinde HLA-G molekülünün ifade edilmediği gözlemlenmiştir (169). Bir diğer otoimmün cilt hastalığı olan psöriaziste yapılmış bir çalışmada ise psöriazsin klinik ve histopatolojik özelliklerini temsil eden cilt biyopsi örneklerinde HLA-G molekülünün ifade edildiği ancak kontrol grubundan alınan örneklerde ve hastalık özelliği barındırmayan cilt biyopsi örneklerinde molekülün daha az ifade edildiği gözlemlenmiştir (170). Bu durum düşük HLA-G molekül seviyeleri ile kötü hastalık seyri arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim bizim çalışmamızda da plazma HLA-G antijen düzeyi tedaviye iyi yanıt veren (tedavi ile birlikte hastalık seyri iyi olan) hastalarda tedaviye iyi yanıt vermeyen hastalara göre daha yüksek olarak değerlendirilmiştir.

HLA-G molekülünün otoimmün hastalıklarda koruyucu özelliğinin bulunduğunu gösteren bir diğer çalışma multipl skleroz hastalarında yapılmış olup; görüntüleme ve klinik olarak stabil olan hastalarda serebrospinal sıvı ve serum sHLA-G düzeylerinin; aktif hastalığı olan grup ve kontrol gruplarından daha yüksek olduğu saptanmıştır (171).

Ancak tüm bu durumların aksini gösteren bir çalışma Behçet hastalarında yapılmıştır. Behçet hastalığı otoimmün bir vaskülit olup; vücuttaki tüm organ ve sistemleri etkileyebilmektedir. Behçet tanısı olan 119 vaka aktif hastalığı olan ve

olmayan olmak üzere iki gruba ayrılmış ve plazma sHLA-G konsantrasyonları 170 sağlıklı bireyin plazma sHLA-G konsantrasyonu ile karşılaştırılmış. Aktif hastalığı olan bireylerde plazma sHLA-G ortalamasının aktif hastalığı olmayan bireyler ( $p=0,023$ ) ve sağlıklı kontrol bireylerinden ( $p= 0,004$ ) daha yüksek olduğu saptanmıştır (172). Bu durum farklı mekanizmalarla oluşan otoimmün hastalıklarda HLA-G molekülünün farklı bir şekilde ifade edildiğini düşündürmektedir.

Bu durumu destekleyen çalışmalar Ülseratif kolit ve Crohn hastalıklarında yapılmış olup sHLA-G ifade paterninin bu iki hastalıkta da farklılık arzettiği gösterilmiştir. Crohn hastalığı olan vakalarda aktive olmamış periferik kan mononükleer hücrelerinden spontan sHLA-G molekülü sekrete edildiği; UK ve sağlıklı bireylerde ise bu molekülün sekrete edilmediği gösterilmiştir (173). Ek olarak bu iki hastalıkta tedavi cevabının sHLA-G sentezini farklı şekillerde uyardığı gösterilmiştir. İmmunosupresif tedavi Crohn hastalarında sHLA-G molekül üretimini normal sınırlara çekerken; UK hastalarında bu molekülün salınımının artmasına neden olduğu gösterilmiştir (174).

Gastrointestinal sistemin bir diğer hastalığı olan çölyak hastalığı gluten hassasiyeti nedeni ile ince barsakta villus hasarı ile seyreden genetik ve çevresel birçok nedeni bulunan bir hastalıktır. Torres ve arkadaşlarının çocuk hastalar üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada çölyak hastalarından alınan inflamasyonun çeşitli safhalarında olan biyopsi örneklerinin tamamında sHLA-G molekülünün ifade edildiği gösterilirken; kontrol gruplarında HLA-G molekülünün ifade edildiğine dair bir bulguya rastlanmamış. Aynı çalışmada serum sHLA-G düzeyi değerlendirildiğinde çölyak hastalığı ve eşlik eden hastalığı olan grupta (trizomi 21 otoimmün tiroidit, alerji) çok yüksek sHLA- G seviyelerine rastlanırken; 5 yıldan daha uzun süre diyet yapan grupta ve kontrol grubunda düşük ve çok düşük sHLA-G seviyeleri saptanmış. Diyetine uymayan çölyak hastalarında ise orta seviyelerde s-HLA-G seviyeleri saptanmış ve ilk grupta diğer gruplar arasındaki fark anlamlı olarak kabul edilmiş ( $p<0,001$ ) (175).

HBV enfeksiyonu HLA-G düzeyinin değerlendirildiği bir çalışmada plazma sHLA-G düzeyinin HBV hastalarında sağlıklı kontrolleri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmış; ayrıca HLA-G düzeyinin hastalığın evreleri arasında da farklılık gösterdiği gözlemlenmiş. En yüksek seviyeler kronik HBV vakalarında saptanırken (  $n=131$  median, 324.6 U/mL;  $p < 0.00$  ), değerler sırası ile akut HBV (  $n=90$  median, 193.1 U/mL;  $p < 0.001$ ), çözülmüş HBV( $n=152$  median, 14.8 U/mL;  $p = 0.006$ ) ve kontrol gruplarında(  $n=129$  median, 9.0 U/mL) şeklinde değerlendirilmiş (82). Aynı şekilde HCV ile enfekte hastaların ( $n=67$ ), kontrol grubu ( $n=129$ ) ile karşılaştırıldığı bir çalışmada hasta grubunda s HLA-G molekülü anlamlı olacak şekilde yüksek olarak değerlendirilmiş (83). Ayrıca kronik HBV ve kronik HCV ile enfekte karaciğer biyopsi örneklerinde HLA-G molekülünün ifade edildiği gözlemlenmiştir (162, 176).

HCV ile ilişkili kronik karaciğer hastalığı biyopsi örneklerinin değerlendirildiği bir çalışmada HLA-G boyanmasının fibröz septalara yakın hücrelerde güçlü bir şekilde gerçekleştiği, ancak hepatosit nodüllerinde gerçekleşmediği gözlemlenmiştir. Bu durumun HLA-G molekülünün HCV ilişkili kronik karaciğer hastalığında fibrozisi kötüleştirdiği belirtilmiştir (177). Biz çalışmamızda HAİ puanı ve HLA-G seviyeleri arasında negatif bir korelasyon saptadık. Tüm bu bilgiler ışığında kronik viral hepatitlerin HLA-G molekülünü kullanarak immün yanıtı kaçtığı bu nedenle HLA-G molekülünün karaciğerin kronik viral hepatitleri üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu; ancak karaciğerin otoimmün hastalıklarında HLA-G molekülü immüntoleransa müsaade ettiği için hastalık üzerinde olumlu etkilerinin olduğu düşünülmektedir.

Tümör hücrelerinin de kronik virüslerle enfekte hücreler gibi immün sistemden kaçmak için HLA-G molekülünü kullandığı bilinmektedir. HCC hastalarında HLA-G molekülünün hastalık prognozu üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada ; HLA-G molekülü ifadesinin hastalık prognozu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. HLA-G molekülünün yüksek ifadesinin bağımsız olarak kısalmış ortalama sağkalım ve artmış tümör rekürrensi ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (178). Bir diğer çalışmada kan sHLA-G konsantrasyonunun HCC hastalarında (n=36), siroz hastalarından (n=25) ve sağlıklı kontrollerden (n= 25) anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmış ancak tümör HLA-G boyanması ile kan konsantrasyonları arasında fark saptanmamıştır (179)

Biz çalışmamızda HLA-G molekülünün kadın ve erkeklerde kıyaslandığında kadınlarda anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu; ve yine HLA-G düzeyinin hasta yaşı ile pozitif yönde anlamlı bir korelasyon gösterdiğini tesbit ettik. Literatürde yapılan çalışmalarda bu konuya çok fazla değinilmemiş olmakla birlikte yapılan bir çalışmada HLA-G molekülünün hasta yaşı ve cinsiyetinden bağımsız olduğu gösterilmiştir (180). Otoimmün hastalıklar bilindiği üzere kadın cinsiyette daha fazla görülmektedir. HLA-G molekülünün kadınlarda belirgin olarak daha yüksek olması ve bazı otoimmün hastalıklarda kontrol gruplarına göre daha yüksek saptanmış olması bu durumun otoimmüniteye yatkınlığı gösteriyor olabileceğini düşündürmektedir. Bu konu ile ilgili daha geniş hasta gruplarında daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kronik hepatit histolojik aktivite indeksi ve yüksek serum transaminaz ile gamma globülin seviyeleri arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur; otoimmün hepatitte biyopsi yapılabilmesi her zaman mümkün olmadığından dolayı hastalığın aktif olup olmadığını belirlemede, tedavide doz değişikliği veya tedaviye devam edip etmeme kararı gibi konularda genellikle transaminaz ve gammaglobulin seviyeleri baz alınmaktadır. Bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmada histolojik olarak remisyona giren otoimmün hepatit hastaları histolojik olarak remisyona girmeyen otoimmün hepatit hastaları ile karşılaştırıldıklarında serum transaminaz seviyelerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır. (181) Biz çalışmamızda serum ALT (XNÜL) seviyesi ile HAİ arasında anlamlı pozitif korelasyon saptadık ve beklendiği üzere serum ALT (XNÜL) seviyesi ile serum HLA-G antijeni arasında ise negatif yönde anlamlı bir

korelasyon saptadık. Ancak ilginç bir şekilde HLA-G antijen düzeyi ve serum IgG (XNÜL) arasında herhangi bir ilişki saptayamadık. Yine aynı şekilde HAI, serum ALT düzeyi, serum IgG düzeyi, ANA titresi ile tedavi yanıtı arasında bir ilişki saptayamadık.

Eşlik eden bir veya daha fazla otoimmün hastalığı olan hastalarla, eşlik eden otoimmün hastalığı olmayan hasta grupları karşılaştırıldığında ise HLA-G düzeyleri ve tedavi yanıtı açısından bir fark saptayamadık.

Çalışmamızın belli kısıtlılıkları mevcuttu. Bunlardan birincisi hasta sayısıydı, özellikle hastaları gruplara ayırdığımızda grup başına düşen hasta sayısı belirgin olarak azalmaktaydı. İkincisi ise sekiz adet hastada patolojide primer biliyer siroz örtüşme sendromu ile uyuşan bulguların olmasıydı; ancak tüm hastalar benzer şekilde tedavi edildiği için hastalar ayrı olarak kategorize edilmedi. Çalışmamızla ilgili bir diğer kısıtlılık ise çözünebilir ve membran bağımlı HLA-G moleküllerinin dokudan çalışılmamış olmasıydı. HLA-G dokuda boyanarak HAI skorları ve plazma HLA-G antijen düzeyleri ile birlikte eş zamanlı olarak değerlendirilebilirdi; böylece otoimmün hepatit hastalarında HLA-G molekülü doku düzeyinde de değerlendirilmiş olurdu.

HLA- G gen yapısı “ 3’ un-translated region” ve “ 5’ upstream regulatory region” bölgelerinde polimorfizm göstermektedir ve bu bölgeler gen ekspresyonunu düzenlemekte olup otoimmün hastalıklar ile viral enfeksiyonlara duyarlılıkla ilişkilidir (182). Ayrıca HLA-G gen 14bp sekans INS/DEL polimorfizminin otoimmün hastalıklarda saptanabildiğini bunun ifade ettiği antijen seviyesi ile ilişkisini; otoimmün hastalığın tedaviye olan yanıtı ve prognozuyla ilişkili olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (167, 183). Bu bağlamda çalışmamızla ilgili bir diğer kısıtlılık genetik düzeyde polimorfizm çalışmamış olmamamızdır. Tedaviye iyi yanıt veren ve vermeyen hastalarda HLA-G antijen titrelerinin farklılık gösteriyor olması; genetik bir farklılıktan kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak çalışmamız HLA-G molekülü ile otoimmün hepatit arasındaki ilişkiyi gösteren ilk çalışmadır. HLA-G antijen titresinin tedavi yanıtı olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olarak saptanmış olması bu konu ile ilgili gelecekte yapılacak olan klinik ve prospektif çalışmalar için veri sağlıyor olması nedeni ile önemlidir.

## 6-SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız immünotoleransla ilişkili bir molekül olan HLA-G molekülünün plazma antijen düzeyinin otoimmün hepatitte tedavi yanıtı ve hastalığın prognozu ile olan ilişkisini incelemeyi hedeflemektedir.

- 1- Çalışma sonucunda HLA-G plazma düzeyinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek olduğu sonucuna ulaştık. Ayrıca kadınlarla erkekleri karşılaştırdığımızda, kadınlarda plazma sHLA-G düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu sonucuna ulaştık. Yapılmış olan çalışmalarda bazı otoimmün hastalıklarda sHLA-G düzeyinin yüksek olarak saptanması bu durumun otoimmüniteye yakınlıkla ilişkili olabileceğini düşündürebilir.
- 2- Tedaviye iyi yanıt veren grupla tedaviye iyi yanıt vermeyen grup ve kontrol grubunu karşılaştırdığımızda sHLA-G düzeyinin tedaviye iyi yanıt veren grupta diğer iki gruba oranla anlamlı olarak daha yüksek olduğu sonucuna ulaştık. Bu bağlamda çalışmamız sHLA-G molekülünün hastalığın gidişatını öngörmede kullanılabilecek bir belirteç olabileceği konusunda gelecekte yapılabilecek daha geniş kapsamlı prospektif çalışmalar için fikir oluşturmaktadır.
- 3- Eğer bu durum daha geniş kapsamlı prospektif çalışmalar ile desteklenirse kötü prognoz göstereceği düşünülen hastaların daha erken dönemde ve daha agresif tedavi edilebilmesine olanak sağlayacaktır.
- 4- Histolojik aktivite indeksi ve tedavi öncesi ALT düzeyi ile negatif yönde anlamlı bir korelasyon gösteriyor olması sHLA-G düzeyinin hastalığın başlangıcındaki histolojisi hakkında bilgi verebileceği fikrini gündeme getirmektedir. Bu bulguların daha fazla çalışma ile desteklenmeye ihtiyacı vardır.
- 5- Otoimmün hepatit ve HLA-G molekülü arasında ilişki olduğunu saptamış olmamız; HLA-G molekülünün bu hastalıklarda doku bazında da değerlendirilmesini ve genetik polimorfizmlerini araştırmayı konu alan çalışmalar için veri oluşturmaktadır.
- 6- Diğer otoimmün hastalıklarda da bu molekülün çalışılması açısından veri oluşturmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Webb G, Hirschfield G, Krawitt E, Gershwin M. Cellular and Molecular Mechanisms of Autoimmune Hepatitis. 2018.
2. Amiot L, Vu N, Samson M. Biology of the immunomodulatory molecule HLA-G in human liver diseases. *Journal of hepatology*. 2015;62(6):1430-7.
3. Dyson JK, Webb G, Hirschfield GM, Lohse A, Beuers U, Lindor K, et al. Unmet clinical need in autoimmune liver diseases. *Journal of hepatology*. 2015;62(1):208-18.
4. Webb GJ, Hirschfield GM, Krawitt EL, Gershwin ME. Cellular and Molecular Mechanisms of Autoimmune Hepatitis. *Annual review of pathology*. 2018;13:247-92.
5. Liberal R, Grant CR, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis: a comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2013;41:126-39.
6. Mackay I, Taft L, Cowling D. Lupoid hepatitis. *The Lancet*. 1956;268(6957):1323-6.
7. Conn H, Poynard T. Corticosteroids and peptic ulcer: meta-analysis of adverse events during steroid therapy. *Journal of internal medicine*. 1994;236(6):619-32.
8. Cook G, Mulligan R, Sherlock S. Controlled prospective trial of corticosteroid therapy in active chronic hepatitis. *QJM: An International Journal of Medicine*. 1971;40(2):159-85.
9. Gurian LE, Rogoff TM, Ware AJ, Jordan RE, Combes B, Gilliam JN. The immunologic diagnosis of chronic active "autoimmune" hepatitis: distinction from systemic lupus erythematosus. *Hepatology*. 1985;5(3):397-402.
10. Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting report: international autoimmune hepatitis group. *Hepatology*. 1993;18(4):998-1005.
11. Alvarez F, Berg P, Bianchi F, Bianchi L, Burroughs A, Cancado E, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 1999;31(5):929-38.
12. Wang Q, Yang F, Miao Q, Krawitt EL, Gershwin ME, Ma X. The clinical phenotypes of autoimmune hepatitis: a comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2016;66:98-107.
13. Grønbaek L, Vilstrup H, Jepsen P. Autoimmune hepatitis in Denmark: incidence, prevalence, prognosis, and causes of death. A nationwide registry-based cohort study. *Journal of hepatology*. 2014;60(3):612-7.
14. van Gerven NM, Verwer BJ, Witte BI, van Erpecum KJ, van Buuren HR, Maijers I, et al. Epidemiology and clinical characteristics of autoimmune hepatitis in the Netherlands. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2014;49(10):1245-54.
15. Toda G, Zeniya M, Watanabe F, Imawari M, Kiyosawa K, Nishioka M, et al. Present status of autoimmune hepatitis in Japan-correlating the characteristics with international criteria in an area with a high rate of HCV infection. *Journal of hepatology*. 1997;26(6):1207-12.
16. Cooper GS, Stroehla BC. The epidemiology of autoimmune diseases. *Autoimmunity reviews*. 2003;2(3):119-25.
17. Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, Graham NM. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clinical immunology and immunopathology*. 1997;84(3):223-43.
18. Hurlburt KJ, McMahon BJ, Deubner H, Hsu-Trawinski B, Williams JL, Kowdley KV. Prevalence of autoimmune liver disease in Alaska Natives. *The American journal of gastroenterology*. 2002;97(9):2402.

19. Doherty DG. Immunity, tolerance and autoimmunity in the liver: A comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2016;66:60-75.
20. Simpson N, Cho YW, Cicciarelli JC, Selby RR, Fong T-L. Comparison of renal allograft outcomes in combined liver-kidney transplantation versus subsequent kidney transplantation in liver transplant recipients: Analysis of UNOS Database. *Transplantation*. 2006;82(10):1298-303.
21. Navarro V, Herrine S, Katopes C, Colombe B, Spain CV. The effect of HLA class I (A and B) and class II (DR) compatibility on liver transplantation outcomes: an analysis of the OPTN database. *Liver transplantation*. 2006;12(4):652-8.
22. Devlin J, Doherty D, Thomson L, Wong T, Donaldson P, Portmann B, et al. Defining the outcome of immunosuppression withdrawal after liver transplantation. *Hepatology*. 1998;27(4):926-33.
23. Carambia A, Freund B, Schwinge D, Heine M, Laschtowitz A, Huber S, et al. TGF- $\beta$ -dependent induction of CD4+ CD25+ Foxp3+ Tregs by liver sinusoidal endothelial cells. *Journal of hepatology*. 2014;61(3):594-9.
24. Heymann F, Peusquens J, Ludwig-Portugall I, Kohlhepp M, Ergen C, Niemiets P, et al. Liver inflammation abrogates immunological tolerance induced by Kupffer cells. *Hepatology*. 2015;62(1):279-91.
25. Chang JJ, Sirivichayakul S, Avihingsanon A, Thompson AJ, Reville P, Iser D, et al. Impaired quality of the hepatitis B virus (HBV)-specific T-cell response in human immunodeficiency virus type 1-HBV coinfection. *Journal of virology*. 2009;83(15):7649-58.
26. Jara P, Hierro L, Martínez-Fernández P, Alvarez-Doforno R, Yáñez F, Diaz MC, et al. Recurrence of bile salt export pump deficiency after liver transplantation. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(14):1359-67.
27. Kubitz R, Dröge C, Kluge S, Stross C, Walter N, Keitel V, et al. Autoimmune BSEP disease: disease recurrence after liver transplantation for progressive familial intrahepatic cholestasis. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2015;48(2-3):273-84.
28. Derkow K, Loddenkemper C, Mintern J, Kruse N, Klugewitz K, Berg T, et al. Differential priming of CD8 and CD4 T-cells in animal models of autoimmune hepatitis and cholangitis. *Hepatology*. 2007;46(4):1155-65.
29. Klein I, Crispe IN. Complete differentiation of CD8+ T cells activated locally within the transplanted liver. *Journal of Experimental Medicine*. 2006;203(2):437-47.
30. Tay SS, Wong YC, Roediger B, Sierro F, Lu B, McDonald DM, et al. Intrahepatic activation of naive CD4+ T cells by liver-resident phagocytic cells. *The Journal of Immunology*. 2014;193(5):2087-95.
31. Brown RM. Autoimmune hepatitis and chronic biliary tract disease in childhood. *Diagnostic Histopathology*. 2015;21(6):232-8.
32. Czaja AJ, Carpenter HA. Sensitivity, specificity, and predictability of biopsy interpretations in chronic hepatitis. *Gastroenterology*. 1993;105(6):1824-32.
33. Miao Q, Bian Z, Tang R, Zhang H, Wang Q, Huang S, et al. Emperipolesis mediated by CD8 T cells is a characteristic histopathologic feature of autoimmune hepatitis. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2015;48(2-3):226-35.
34. Bach N, Thung SN, Schaffner F. The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis: a comparative analysis. *Hepatology*. 1992;15(4):572-7.
35. De Luca-Johnson J, Wangenstein KJ, Hanson J, Krawitt E, Wilcox R. Natural history of patients presenting with autoimmune hepatitis and coincident nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases and sciences*. 2016;61(9):2710-20.

36. Czaja AJ, Carpenter HA. Autoimmune hepatitis with incidental histologic features of bile duct injury. *Hepatology*. 2001;34(4):659-65.
37. Löhr HF, Schlaak JF, Gerken G, Fleischer B, Dienes HP, Büschenfelde KHM. Phenotypical analysis and cytokine release of liver-infiltrating and peripheral blood T lymphocytes from patients with chronic hepatitis of different etiology. *Liver International*. 1994;14(3):161-6.
38. Senaldi G, Portmann B, Mowat AP, Mieli-Vergani G, Vergani D. Immunohistochemical features of the portal tract mononuclear cell infiltrate in chronic aggressive hepatitis. *Archives of disease in childhood*. 1992;67(12):1447-53.
39. De Biasio MB, Periolo N, Avagnina A, de Dávila MG, Ciocca M, Goñi J, et al. Liver infiltrating mononuclear cells in children with type 1 autoimmune hepatitis. *Journal of clinical pathology*. 2006;59(4):417-23.
40. Arenz M, zum Büschenfelde K-HM, Löhr HF. Limited T cell receptor V $\beta$ -chain repertoire of liver-infiltrating T cells in autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 1998;28(1):70-7.
41. Yoshizawa K, Ota M, Katsuyama Y, Ichijo T, Inada H, Umemura T, et al. T cell repertoire in the liver of patients with autoimmune hepatitis. *Human immunology*. 1999;60(9):806-15.
42. Purswani S, Reynolds G, Smith R, Davies S, Triantafyllou E, Petrovic K, et al. B-cell subpopulations in the human liver are distinct from blood, can be expanded locally and vary among liver diseases. *Immunology*. 2014;143:70-1.
43. Daniels JA, Torbenson M, Anders RA, Boitnott JK. Immunostaining of plasma cells in primary biliary cirrhosis. *American journal of clinical pathology*. 2009;131(2):243-9.
44. Vergani D, Alvarez F, Bianchi FB, Cançado EL, Mackay IR, Manns MP, et al. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *Journal of hepatology*. 2004;41(4):677-83.
45. Deane KD, El-Gabalawy H. Pathogenesis and prevention of rheumatic disease: focus on preclinical RA and SLE. *Nature Reviews Rheumatology*. 2014;10(4):212.
46. Leslie D, Lipsky P, Notkins AL. Autoantibodies as predictors of disease. *The Journal of clinical investigation*. 2001;108(10):1417-22.
47. Czaja AJ. Behavior and significance of autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 1999;30(3):394-401.
48. Jensen DM, McFarlane IG, Portmann BS, Eddleston A, Williams R. Detection of antibodies directed against a liver-specific membrane lipoprotein in patients with acute and chronic active hepatitis. *New England Journal of Medicine*. 1978;299(1):1-7.
49. Zachou K, Rigopoulou E, Dalekos GN. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. *Journal of autoimmune diseases*. 2004;1(1):2.
50. Bottazzo G-F, Florin-Christensen A, Fairfax A, Swana G, Doniach D, Groeschel-Stewart U. Classification of smooth muscle autoantibodies detected by immunofluorescence. *Journal of clinical pathology*. 1976;29(5):403-10.
51. Loeper J, Descatoire V, Maurice M, Beaune P, Belghiti J, Houssin D, et al. Cytochromes P-450 in human hepatocyte plasma membrane: recognition by several autoantibodies. *Gastroenterology*. 1993;104(1):203-16.
52. Cochrane A, Thomson A, Moussouros A, Eddleston A, Williams R. Antibody-dependent cell-mediated (K cell) cytotoxicity against isolated hepatocytes in chronic active hepatitis. *The Lancet*. 1976;307(7957):441-4.

53. Vergani D, Mieli-Vergani G, Mondelli M, Portmann B, Eddleston A. Immunoglobulin on the surface of isolated hepatocytes is associated with antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity and liver damage. *Liver International*. 1987;7(6):307-15.
54. Vergani GM, Vergani D, Jenkins P, Portmann B, Mowat A, Eddleston A, et al. Lymphocyte cytotoxicity to autologous hepatocytes in HBsAg-negative chronic active hepatitis. *Clinical and experimental immunology*. 1979;38(1):16.
55. Manns M, Zanger U, Gerken G, Sullivan KF, Meyer KH, Meyer UA, et al. Patients with type ii autoimmune hepatitis express functionally intact cytochrome P-450 db1 that is inhibited by LKM-1 autoantibodies in vitro but not in vivo. *Hepatology*. 1990;12(1):127-32.
56. Hardtke-Wolenski M, Fischer K, Noyan F, Schlue J, Falk CS, Stahlhut M, et al. Genetic predisposition and environmental danger signals initiate chronic autoimmune hepatitis driven by CD4+ T cells. *Hepatology*. 2013;58(2):718-28.
57. Webb G, Hirschfield G. Using GWAS to identify genetic predisposition in hepatic autoimmunity. *Journal of autoimmunity*. 2016;66:25-39.
58. Hirschfield GM, Gershwin ME. The immunobiology and pathophysiology of primary biliary cirrhosis. *Annual review of pathology: Mechanisms of disease*. 2013;8:303-30.
59. Martini E, Abuaf N, Cavalli F, Durand V, Johanet C, Homberg JC. Antibody to liver cytosol (anti-LC1) in patients with autoimmune chronic active hepatitis type 2. *Hepatology*. 1988;8(6):1662-6.
60. Homberg J, Andre C, Abuaf N. A new anti-liver-kidney microsome antibody (anti-LKM2) in tienilic acid-induced hepatitis. *Clinical and experimental immunology*. 1984;55(3):561.
61. Strassburg CP, Obermayer-Straub P, Alex B, Durazzo M, Rizzetto M, Tukey RH, et al. Autoantibodies against glucuronosyltransferases differ between viral hepatitis and autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 1996;111(6):1576-86.
62. Zauli D, Ghetti S, Grassi A, Descovich C, Cassani F, Ballardini G, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in type 1 and 2 autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 1997;25(5):1105-7.
63. Ma Y, Okamoto M, Thomas MG, Bogdanos DP, Lopes AR, Portmann B, et al. Antibodies to conformational epitopes of soluble liver antigen define a severe form of autoimmune liver disease. *Hepatology*. 2002;35(3):658-64.
64. Fernando MM, Stevens CR, Walsh EC, De Jager PL, Goyette P, Plenge RM, et al. Defining the role of the MHC in autoimmunity: a review and pooled analysis. *PLoS genetics*. 2008;4(4):e1000024.
65. Strettell M, Donaldson PT, Thomson LJ, Santrach PJ, Moore SB, Czaja A, et al. Allelic basis for HLA-encoded susceptibility to type 1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 1997;112(6):2028-35.
66. Pando M, Larriba J, Fernandez GC, Fainboim H, Ciocca M, Ramonet M, et al. Pediatric and adult forms of type I autoimmune hepatitis in Argentina: evidence for differential genetic predisposition. *Hepatology*. 1999;30(6):1374-80.
67. Bittencourt PL, Goldberg AC, Caçado EL, Porta G, Carrilho FJ, Farias AQ, et al. Genetic heterogeneity in susceptibility to autoimmune hepatitis types 1 and 2. *The American journal of gastroenterology*. 1999;94(7):1906-13.
68. van Gerven NM, de Boer YS, Zwiars A, Verwer BJ, Drenth JP, van Hoek B, et al. HLA-DRB1\* 03: 01 and HLA-DRB1\* 04: 01 modify the presentation and outcome in autoimmune hepatitis type-1. *Genes and immunity*. 2015;16(4):247.

69. Kirstein MM, Metzler F, Geiger E, Heinrich E, Hallensleben M, Manns MP, et al. Prediction of short-and long-term outcome in patients with autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2015;62(5):1524-35.
70. Ma Y, Bogdanos DP, Hussain MJ, Underhill J, Bansal S, Longhi MS, et al. Polyclonal T-cell responses to cytochrome P450IID6 are associated with disease activity in autoimmune hepatitis type 2. *Gastroenterology*. 2006;130(3):868-82.
71. Czaja AJ, Donaldson PT, Lohse AW. Antibodies to soluble liver antigen/liver pancreas and HLA risk factors for type 1 autoimmune hepatitis. *The American journal of gastroenterology*. 2002;97(2):413-9.
72. Simmonds M, Gough S. The HLA region and autoimmune disease: associations and mechanisms of action. *Current genomics*. 2007;8(7):453-65.
73. Koller B, Geraghty DE, DeMars R, Duvick L, Rich SS, Orr H. Chromosomal organization of the human major histocompatibility complex class I gene family. *Journal of Experimental Medicine*. 1989;169(2):469-80.
74. Geraghty DE, Koller BH, Orr HT. A human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1987;84(24):9145-9.
75. Kovats S, Main EK, Librach C, Stubblebine M, Fisher SJ, DeMars R. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science*. 1990;248(4952):220-3.
76. Colonna M, Navarro F, Bellón T, Llano M, García P, Samaridis J, et al. A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoid and myelomonocytic cells. *Journal of Experimental Medicine*. 1997;186(11):1809-18.
77. Naji A, Menier C, Morandi F, Agaugué S, Maki G, Ferretti E, et al. Binding of HLA-G to ITIM-bearing Ig-like transcript 2 receptor suppresses B cell responses. *The Journal of Immunology*. 2014;192(4):1536-46.
78. Colonna M, Samaridis J, Cella M, Angman L, Allen RL, O'Callaghan CA, et al. Cutting edge: human myelomonocytic cells express an inhibitory receptor for classical and nonclassical MHC class I molecules. *The Journal of Immunology*. 1998;160(7):3096-100.
79. Bastürk B, Karakayalı F, Emiroglu R, Sözer O, Haberal A, Bal D, et al., editors. *Human leukocyte antigen-G, a new parameter in the follow-up of liver transplantation. Transplantation proceedings; 2006: Elsevier.*
80. Baudhuin J, Migraine J, Faivre V, Loumagne L, Lukaszewicz A-C, Payen D, et al. Exocytosis acts as a modulator of the ILT4-mediated inhibition of neutrophil functions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(44):17957-62.
81. Fons P, Chabot S, Cartwright JE, Lenfant F, L'Faqihi F, Giustiniani J, et al. Soluble HLA-G1 inhibits angiogenesis through an apoptotic pathway and by direct binding to CD160 receptor expressed by endothelial cells. *Blood*. 2006;108(8):2608-15.
82. Shi W-W, Lin A, Xu D-P, Bao W-G, Zhang J-G, Chen S-Y, et al. Plasma soluble human leukocyte antigen-G expression is a potential clinical biomarker in patients with hepatitis B virus infection. *Human immunology*. 2011;72(11):1068-73.
83. Weng P-J, Fu Y-M, Ding S-X, Xu D-P, Lin A, Yan W-H. Elevation of plasma soluble human leukocyte antigen-G in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Human immunology*. 2011;72(5):406-11.
84. Donaghy L, Gros F, Amiot L, Mary C, Maillard A, Guiguen C, et al. Elevated levels of soluble non-classical major histocompatibility class I molecule human leukocyte antigen (HLA)-G in the blood of HIV-infected patients with or without visceral leishmaniasis. *Clinical & Experimental Immunology*. 2007;147(2):236-40.

85. González Á, Rebmann V, LeMaout J, Horn PA, Carosella ED, Alegre E. The immunosuppressive molecule HLA-G and its clinical implications. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2012;49(3):63-84.
86. Clifford BD, Donahue D, Smith L, Cable E, Luttig B, Manns M, et al. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1995;21(3):613-9.
87. Gregorio GV, Choudhuri K, Ma Y, Pensati P, Iorio R, Grant P, et al. Mimicry between the hepatitis C virus polyprotein and antigenic targets of nuclear and smooth muscle antibodies in chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol*. 2003;133(3):404-13.
88. Nishiguchi S, Kuroki T, Ueda T, Fukuda K, Takeda T, Nakajima S, et al. Detection of hepatitis C virus antibody in the absence of viral RNA in patients with autoimmune hepatitis. *Annals of internal medicine*. 1992;116(1):21-5.
89. García-Buey L, García-Monzón C, Rodríguez S, Borque MJ, García-Sánchez A, Iglesias R, et al. Latent autoimmune hepatitis triggered during interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 1995;108(6):1770-7.
90. Huppertz H-I, Triechel U, Gassel AM, Jeschke R, zum Büschenfelde K-HM. Autoimmune hepatitis following hepatitis A virus infection. *Journal of hepatology*. 1995;23(2):204-8.
91. Skoog S, Rivard R, Batts K, Smith C. Autoimmune hepatitis preceded by acute hepatitis A infection. *The American journal of gastroenterology*. 2002;97(6):1568.
92. Vento S, Garofano T, Dolci L, Di Perri G, Concia E, Bassetti D. Identification of hepatitis A virus as a trigger for autoimmune chronic hepatitis type 1 in susceptible individuals. *The Lancet*. 1991;337(8751):1183-7.
93. Nobili V, Comparcola D, Sartorelli MR, Devito R, Marcellini M. Autoimmune hepatitis type 1 after Epstein-Barr virus infection. *The Pediatric infectious disease journal*. 2003;22(4):387.
94. Vento S, Guella L, Mirandola F, Cainelli F, Di Perri G, Solbiati M, et al. Epstein-Barr virus as a trigger for autoimmune hepatitis in susceptible individuals. *The Lancet*. 1995;346(8975):608-9.
95. Castellote J, Guell E, Porta F. Autoimmune hepatitis following cytomegalovirus infection. *Medicina clínica*. 2001;116(2):76.
96. Nagasaki F, Ueno Y, Mano Y, Igarashi T, Yahagi K, Niitsuma H, et al. A patient with clinical features of acute hepatitis E viral infection and autoimmune hepatitis. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 2005;206(2):173-9.
97. Lohse A, Gerken G, Mohr H, Löhr H, Treichel U, Dienes H. Relation between autoimmune liver diseases and viral hepatitis: clinical and serological characteristics in 859 patients. *Zeitschrift für Gastroenterologie*. 1995;33(9):527-33.
98. van Gerven NMF vdEA, Pas SD, Zaaijer HL, de Boer YS. Seroprevalence of hepatitis E virus in autoimmune hepatitis patients in the Netherlands. *J Gastrointest Liver Dis*. 2016;25:9-13.
99. Liberal R M-V, Vergani D. Contemporary issues and future directions in autoimmune hepatitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;10:1163.
100. Vergani D, Mieli-Vergani G, Alberti A, Neuberger J, Eddleston AL, Davis M, et al. Antibodies to the surface of halothane-altered rabbit hepatocytes in patients with severe halothane-associated hepatitis. *New England Journal of Medicine*. 1980;303(2):66-71.
101. Neuberger J, Mieli-Vergani G, Tredger J, Davis M, Williams R. Oxidative metabolism of halothane in the production of altered hepatocyte membrane antigens in acute halothane-induced hepatic necrosis. *Gut*. 1981;22(8):669-72.

102. Fontana RJ. Pathogenesis of idiosyncratic drug-induced liver injury and clinical perspectives. *Gastroenterology*. 2014;146(4):914-28. e1.
103. Björnsson E, Talwalkar J, Treeprasertsuk S, Kamath PS, Takahashi N, Sanderson S, et al. Drug-induced autoimmune hepatitis: Clinical characteristics and prognosis. *Hepatology*. 2010;51(6):2040-8.
104. Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *The New England journal of medicine*. 2006;354(1):54-66.
105. Liberal R, Boer Y, Andrade RJ, Bouma G, Dalekos GN, Floreani A, et al. Expert clinical management of autoimmune hepatitis in the real world. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2017;45(5):723-32.
106. Kogan J, Safadi R, Ashur Y, Shouval D, Ilan Y. Prognosis of symptomatic versus asymptomatic autoimmune hepatitis: a study of 68 patients. *Journal of clinical gastroenterology*. 2002;35(1):75-81.
107. Feld JJ, Dinh H, Arenovich T, Marcus VA, Wanless IR, Heathcote EJ. Autoimmune hepatitis: effect of symptoms and cirrhosis on natural history and outcome. *Hepatology*. 2005;42(1):53-62.
108. Manns MP, Lohse AW, Vergani D. Autoimmune hepatitis—update 2015. *Journal of hepatology*. 2015;62(1):S100-S11.
109. Lawrence S F, MD. Autoimmune Hepatitis. In: A papadakis MD JM, W.Rabow MD editor. *Current Medical Diagnosis and Treatment 2017* 2017. p. 692-3.
110. Kessler WR, Cummings OW, Eckert G, Chalasani N, Lumeng L, Kwo PY. Fulminant hepatic failure as the initial presentation of acute autoimmune hepatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2004;2(7):625-31.
111. Bower WA, Johns M, Margolis HS, Williams IT, Bell BP. Population-based surveillance for acute liver failure. *The American journal of gastroenterology*. 2007;102(11):2459.
112. Abe M, Onji M, Kawai–Ninomiya K, Michitaka K, Matsuura B, Hiasa Y, et al. Clinicopathologic features of the severe form of acute type 1 autoimmune hepatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2007;5(2):255-8.
113. Floreani A, Niro G, Rosa Rizzotto E, Antoniazzi S, Ferrara F, Carderi I, et al. Type I autoimmune hepatitis: clinical course and outcome in an Italian multicentre study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2006;24(7):1051-7.
114. Michael A Haneghan M. Autoimmune hepatitis: Clinical manifestations and diagnosis. In: Sanjiv Chopra M, MACP, editor. *Up to date*. Walters Cluver 2017.
115. Bittencourt PL, Farias AQ, Porta G, Cancado EL, Miura I, Pugliese R, et al. Frequency of concurrent autoimmune disorders in patients with autoimmune hepatitis: effect of age, gender, and genetic background. *Journal of clinical gastroenterology*. 2008;42(3):300-5.
116. Werner M, Prytz H, Ohlsson B, Almer S, Björnsson E, Bergquist A, et al. Epidemiology and the initial presentation of autoimmune hepatitis in Sweden: a nationwide study. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2008;43(10):1232-40.
117. Wong GW, Yeong T, Lawrence D, Yeoman AD, Verma S, Heneghan MA. Concurrent extrahepatic autoimmunity in autoimmune hepatitis: implications for diagnosis, clinical course and long-term outcomes. *Liver International*. 2017;37(3):449-57.
118. Yeoman AD, Al-Chalabi T, Karani JB, Quaglia A, Devlin J, Mieli-Vergani G, et al. Evaluation of risk factors in the development of hepatocellular carcinoma in autoimmune hepatitis: Implications for follow-up and screening. *Hepatology*. 2008;48(3):863-70.

119. Leung J, Dowling L, Obadan I, Davis J, Bonis PA, Kaplan MM, et al. Risk of non-melanoma skin cancer in autoimmune hepatitis. *Digestive diseases and sciences*. 2010;55(11):3218-23.
120. Hennes EM, Zeniya M, Czaja A, Parés A, Dalekos GN, Krawitt EL, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2008;48(1):169-76.
121. Björnsson E, Talwalkar J, Treeprasertsuk S, Neuhauser M, Lindor K. Patients with typical laboratory features of autoimmune hepatitis rarely need a liver biopsy for diagnosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2011;9(1):57-63.
122. Czaja AJ, Manns MP. Advances in the diagnosis, pathogenesis, and management of autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 2010;139(1):58-72. e4.
123. Liver EAftSot. EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2015;63(4):971.
124. Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, et al. AASLD practice guidelines. *HEPATOLOGY*. 2010.
125. Muratori P, Granito A, Quarneri C, Ferri S, Menichella R, Cassani F, et al. Autoimmune hepatitis in Italy: the Bologna experience. *Journal of hepatology*. 2009;50(6):1210-8.
126. Czaja AJ. Comparability of probable and definite autoimmune hepatitis by international diagnostic scoring criteria. *Gastroenterology*. 2011;140(5):1472-80.
127. Rust C, Beuers U. Overlap syndromes among autoimmune liver diseases. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2008;14(21):3368.
128. Mehendiratta V, Mitroo P, Bombonati A, Navarro VJ, Rossi S, Rubin R, et al. Serologic markers do not predict histologic severity or response to treatment in patients with autoimmune hepatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2009;7(1):98-103.
129. Czaja AJ. Frequency and nature of the variant syndromes of autoimmune liver disease. *Hepatology*. 1998;28(2):360-5.
130. Kenny RP, Czaja AJ, Ludwig J, Dickson ER. Frequency and significance of antimitochondrial antibodies in severe chronic active hepatitis. *Digestive diseases and sciences*. 1986;31(7):705-11.
131. Mishima S, Omagari K, Ohba K, Kadokawa Y, Masuda J-i, Mishima R, et al. Clinical implications of antimitochondrial antibodies in type 1 autoimmune hepatitis: a longitudinal study. *Hepato-gastroenterology*. 2008;55(81):221-7.
132. Dinani AM, Fischer SE, Mosko J, Guindi M, Hirschfield GM. Patients with autoimmune hepatitis who have antimitochondrial antibodies need long-term follow-up to detect late development of primary biliary cirrhosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2012;10(6):682-4.
133. Bernal W, Ma Y, Smith HM, Portmann B, Wendon J, Vergani D. The significance of autoantibodies and immunoglobulins in acute liver failure: a cohort study. *Journal of hepatology*. 2007;47(5):664-70.
134. Leung PS, Rossaro L, Davis PA, Park O, Tanaka A, Kikuchi K, et al. Antimitochondrial antibodies in acute liver failure: implications for primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2007;46(5):1436-42.
135. Bianchi FB. Autoimmune hepatitis: the lesson of the discovery of hepatitis C virus. *Journal of hepatology*. 1993;18(3):273-5.
136. Diseases AAftSoL, America IDSo. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. 2014.
137. Yatsuji S, Hashimoto E, Kaneda H, Taniai M, Tokushige K, Shiratori K. Diagnosing autoimmune hepatitis in nonalcoholic fatty liver disease: is the

- International Autoimmune Hepatitis Group scoring system useful? *Journal of gastroenterology*. 2005;40(12):1130-8.
138. Liver EAftSot, Diabetes EAftSo. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Obesity facts*. 2016;9(2):65-90.
139. Suzuki A, Brunt EM, Kleiner DE, Miquel R, Smyrk TC, Andrade RJ, et al. The use of liver biopsy evaluation in discrimination of idiopathic autoimmune hepatitis versus drug-induced liver injury. *Hepatology*. 2011;54(3):931-9.
140. Baggenstoss AH, Soloway RD, Summerskill W, Elveback LR, Schoenfield LJ. Chronic active liver disease: the range of histologic lesions, their response to treatment, and evolution. *Human pathology*. 1972;3(2):183-98.
141. Graham W, Cooksley E, Bradbear RA, Robinson W, Harrison M, Halliday JW, et al. The prognosis of chronic active hepatitis without cirrhosis in relation to bridging necrosis. *Hepatology*. 1986;6(3):345-8.
142. Schalm SW, Korman MG, Summerskill W, Czaja AJ, Baggenstoss AH. Severe chronic active liver disease. *The American journal of digestive diseases*. 1977;22(11):973-80.
143. Seo S, Toutounjian R, Conrad A, Blatt L, Tong MJ. Favorable outcomes of autoimmune hepatitis in a community clinic setting. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2008;23(9):1410-4.
144. Koretz R, Lewin K, Fagen N, Gitnick G. Chronic active hepatitis: Who meets treatment criteria? *Gastroenterology*. 1978;75(5):972.
145. Czaja AJ. Safety issues in the management of autoimmune hepatitis. *Expert opinion on drug safety*. 2008;7(3):319-33.
146. Muratori L, Muratori P, Lanzoni G, Ferri S, Lenzi M. Application of the 2010 American Association for the study of liver diseases criteria of remission to a cohort of Italian patients with autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2010;52(5):1857-.
147. Summerskill W, Korman MG, Ammon HV, Baggenstoss AH. Prednisone for chronic active liver disease: dose titration, standard dose, and combination with azathioprine compared. *Gut*. 1975;16(11):876-83.
148. Loza AJM, Czaja AJ. Current therapy for autoimmune hepatitis. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2007;4(4):202.
149. Danielsson Å, Prytz H. Oral budesonide for treatment of autoimmune chronic active hepatitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 1994;8(6):585-90.
150. Manns MP, Woynarowski M, Kreisel W, Lurie Y, Rust C, Zuckerman E, et al. Budesonide induces remission more effectively than prednisone in a controlled trial of patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 2010;139(4):1198-206.
151. Wiegand J, Schüler A, Kanzler S, Lohse A, Beuers U, Kreisel W, et al. Budesonide in previously untreated autoimmune hepatitis. *Liver international*. 2005;25(5):927-34.
152. Zachou K, Gatselis N, Papadamou G, Rigopoulou EI, Dalekos GN. Mycophenolate for the treatment of autoimmune hepatitis: prospective assessment of its efficacy and safety for induction and maintenance of remission in a large cohort of treatment-naive patients. *Journal of hepatology*. 2011;55(3):636-46.
153. Taubert R, Hardtke-Wolenski M, Noyan F, Wilms A, Baumann AK, Schlue J, et al. Intrahepatic regulatory T cells in autoimmune hepatitis are associated with treatment response and depleted with current therapies. *Journal of hepatology*. 2014;61(5):1106-14.
154. Burak KW, Swain MG, Santodomingo-Garzon T, Lee SS, Urbanski SJ, Aspinall AI, et al. Rituximab for the treatment of patients with autoimmune hepatitis who are

refractory or intolerant to standard therapy. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2013;27(5):273-80.

155. Weiler-Normann C, Schramm C, Quaas A, Wiegard C, Glaubke C, Pannicke N, et al. Infliximab as a rescue treatment in difficult-to-treat autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2013;58(3):529-34.

156. Marceau G, Yang R, Lapierre P, Béland K, Alvarez F. Low-dose anti-CD3 antibody induces remission of active autoimmune hepatitis in xenoinmized mice. *Liver International*. 2015;35(1):275-84.

157. Schramm C, Bubenheim M, Adam R, Karam V, Buckels J, O'grady JG, et al. Primary liver transplantation for autoimmune hepatitis: a comparative analysis of the European Liver Transplant Registry. *Liver Transplantation*. 2010;16(4):461-9.

158. Duclos-Vallee J, Sebah M, Rifai K, Johanet C, Ballot E, Guettier C, et al. A 10 year follow up study of patients transplanted for autoimmune hepatitis: histological recurrence precedes clinical and biochemical recurrence. *Gut*. 2003;52(6):893-7.

159. Kerkar N, Annunziato RA, Foley L, Schmeidler J, Rumbo C, Emre S, et al. Prospective analysis of nonadherence in autoimmune hepatitis: a common problem. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2006;43(5):629-34.

160. Lohse AW, Gil H. Reactivation of autoimmune hepatitis during budesonide monotherapy, and response to standard treatment. *Journal of hepatology*. 2011;54(4):837-9.

161. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1(5):431-5.

162. Dias FC, Castelli EC, Collares CV, Moreau P, Donadi EA. The role of HLA-G molecule and HLA-G gene polymorphisms in tumors, viral hepatitis, and parasitic diseases. *Frontiers in immunology*. 2015;6:9.

163. Rouas-Freiss N, Moreau P, Ferrone S, Carosella ED. HLA-G proteins in cancer: do they provide tumor cells with an escape mechanism? *Cancer research*. 2005;65(22):10139-44.

164. Donadi EA, Castelli EC, Arnaiz-Villena A, Roger M, Rey D, Moreau P. Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2011;68(3):369-95.

165. Rizzo R, Farina I, Bortolotti D, Galuppi E, Padovan M, Di Luca D, et al. The dimeric form of HLA-G molecule is associated with the response of early rheumatoid arthritis (ERA) patients to methotrexate. *Clinical rheumatology*. 2017;36(3):701-5.

166. Rudwaleit M, Yin Z, Siebert S, Grolms M, Radbruch A, Braun J, et al. Response to methotrexate in early rheumatoid arthritis is associated with a decrease of T cell derived tumour necrosis factor alpha, increase of interleukin 10, and predicted by the initial concentration of interleukin 4. *Annals of the rheumatic diseases*. 2000;59(4):311-4.

167. Veit TD, Vianna P, Scheibel I, Brenol C, Brenol JCT, Xavier RM, et al. Association of the HLA-G 14-bp insertion/deletion polymorphism with juvenile idiopathic arthritis and rheumatoid arthritis. *HLA*. 2008;71(5):440-6.

168. Chen C, Liang J, Yao G, Chen H, Shi B, Zhang Z, et al. Mesenchymal stem cells upregulate Treg cells via sHLA-G in SLE patients. *International immunopharmacology*. 2017;44:234-41.

169. Wastowski IJ, Sampaio-Barros PD, Amstalden EM, Palomino GM, Marques-Neto JF, Crispim JC, et al. HLA-G expression in the skin of patients with systemic sclerosis. *The Journal of rheumatology*. 2009;36(6):1230-4.

170. Cardili RN, Alves TG, Freitas JC, Soares CP, Mendes-Junior CT, Soares EG, et al. Expression of human leucocyte antigen-G primarily targets affected skin of patients with psoriasis. *The British journal of dermatology*. 2010;163(4):769-75.
171. Fainardi E, Rizzo R, Melchiorri L, Castellazzi M, Paolino E, Tola MR, et al. Intrathecal synthesis of soluble HLA-G and HLA-I molecules are reciprocally associated to clinical and MRI activity in patients with multiple sclerosis. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*. 2006;12(1):2-12.
172. Sakly K, Maatouk M, Hammami S, Harzallah O, Sakly W, Feki S, et al. HLA-G 14 bp insertion/deletion polymorphism and its association with sHLA-G levels in Behcet's disease Tunisian patients. *Hum Immunol*. 2016;77(1):90-5.
173. Rizzo R, Melchiorri L, Simone L, Stignani M, Marzola A, Gullini S, et al. Different production of soluble HLA-G antigens by peripheral blood mononuclear cells in ulcerative colitis and Crohn's disease: a noninvasive diagnostic tool? *Inflammatory bowel diseases*. 2008;14(1):100-5.
174. Zelante A, Borgoni R, Galuppi C, Cifala V, Melchiorri L, Gullini S, et al. Therapy modifies HLA-G secretion differently in Crohn's disease and ulcerative colitis patients. *Inflammatory bowel diseases*. 2011;17(8):E94-5.
175. Torres MI, Lopez-Casado MA, Luque J, Pena J, Rios A. New advances in coeliac disease: serum and intestinal expression of HLA-G. *International immunology*. 2006;18(5):713-8.
176. Souto F, Crispim J, Ferreira S, Da Silva A, Bassi C, Soares CP, et al. Liver HLA-G expression is associated with multiple clinical and histopathological forms of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of viral hepatitis*. 2011;18(2):102-5.
177. Gruber BL, Kew RR, Jelaska A, Marchese MJ, Garlick J, Ren S, et al. Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *The Journal of Immunology*. 1997;158(5):2310-7.
178. Cai M-Y, Xu Y-F, Qiu S-J, Ju M-J, Gao Q, Li Y-W, et al. Human leukocyte antigen-G protein expression is an unfavorable prognostic predictor of hepatocellular carcinoma following curative resection. *Clinical cancer research*. 2009;15(14):4686-93.
179. Lin A, Chen HX, Zhu CC, Zhang X, Xu HH, Zhang JG, et al. Aberrant human leucocyte antigen-G expression and its clinical relevance in hepatocellular carcinoma. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2010;14(8):2162-71.
180. Akin M, Aral LA, Yavuz A, Karabacak H, Dikmen K, Bostanci H. Plasma human leukocyte antigen-G (HLA-G) in patients with thyroid cancer. *Turkish journal of medical sciences*. 2017;47(4):1263-6.
181. Dhaliwal HK, Hoeroldt BS, Dube AK, McFarlane E, Underwood JC, Karajeh MA, et al. Long-term prognostic significance of persisting histological activity despite biochemical remission in autoimmune hepatitis. *The American journal of gastroenterology*. 2015;110(7):993.
182. Rizzo R, Bortolotti D, Bolzani S, Fainardi E. HLA-G molecules in autoimmune diseases and infections. *Frontiers in immunology*. 2014;5:592.
183. Rizzo R, Rubini M, Govoni M, Padovan M, Melchiorri L, Stignani M, et al. HLA-G 14-bp polymorphism regulates the methotrexate response in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenetics and genomics*. 2006;16(9):615-23.

**ETİK KURUL ONAYI**

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 635

Konu :

**ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU**

**Toplantı Tarihi** : 10 NİSAN 2018 SALI  
**Toplantı No** : 2018/10  
**Proje No** : GO 18/296 (Değerlendirme Tarihi: 20.03.2018)  
**Karar No** : GO 18/296-12

Üniversitemiz Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Taylan KAV' ın sorumlu araştırmacı olduğu ve Dr. Filiz Cemre TAŞGÖZ' ün uzmanlık tezi olan, GO 18/296 kayıt numaralı, "Otoimmün Hepatit Hastalarında Serum HLA G Profilinin Tedavi Yanıtı ve Prognoz Üzerine Etkisi" başlıklı proje önerisi araştırmacının gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- |                                    |          |                                 |       |
|------------------------------------|----------|---------------------------------|-------|
| 1. Prof. Dr. Nurten AKARSU         | (Başkan) | 10 Doç. Dr. Gözde GİRGİN        | (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU    | (Üye)    | 11 Doç. Dr. Fatma Visal OKUR    | (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım ŞARBA     | (Üye)    | İZİNLİ                          | (Üye) |
| 4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM         | (Üye)    | 12. Doç. Dr. Can Ebru KURT      | (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZÜOĞLU | (Üye)    | 13. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL | (Üye) |
| İZİNLİ                             |          | 14. Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ    | (Üye) |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL       | (Üye)    | İZİNLİ                          | (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN       | (Üye)    | 15. Yrd. Doç. Dr. Müge DEMİR    | (Üye) |
| 8. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL   | (Üye)    | 16. Öğr.Gör.Dr. Meltem ŞENGELEN | (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU    | (Üye)    | 17. Av. Meltem ONURLU           | (Üye) |

