Patoloji Bülteni 2000; 17(2): 84-89
Turkish Bulletin of Pathology 2000; 17(2) 84-89

Kronik Viral Hepatitlerde Histopatoloji ve Bağışık Yanıtın Değerlendirilmesi

The Evaluation of Immun Response and Histopathology of Chronic Viral Hepatitis

Ümit Çobanoğlu [1], Kadriye Yılmaz [1], Yavuz Özoran [1], Rahmet Çaylan [2], Yavuz Tekelioğlu [3], Kemalettin Aydın [2], Abdülhalim Baki [4]

[1] *Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Trabzon*
[2] *Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hast. ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon*
[3] *Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Trabzon*
[4] *Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Trabzon*

Kronik viral hepatitlerde karaciğerde doku hasarı oluşturan bağışık yanıtın niteliği, bu yanıtın hastalığın aktivitesi, serolojik ve biyokimyasal değerlerle ilişkisi hakkında bilgilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada kronik viral hepatit tanısı almış 62 olgunun iğne biyopsisi ile alınan karaciğer dokusu ve periferik kan örnekleri akım sitometrik olarak incelenmiş, lenfosit alt tipleri analiz edilmiştir. Yapısal değerlendirmede ise hepatit B ve Hepatit C için belirlenmiş kriterlere göre histolojik aktivite indeksi hesaplanarak hepatit şiddeti belirlenmiştir. Olgulara ait klinik, biyokimyasal ve serolojik bilgiler elde edilmiştir. Olgular hepatit B ve hepatit C olarak iki gruba ayrılmıştır. Akım sitometrik analizde, her iki grupta T lenfositlerin, B lenfosit ve "natural killer" lenfositlerine göre dokuda daha fazla birikim gösterdiği dikkat çekmiştir. İki grup arasında periferik kan ve dokuda tespit edilen lenfosit alt tipleri ve oranları açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Kronik hepatit C olgularında hepatit şiddetinde artışla birlikte dokuda CD4/CD8 oranında anlamlı artış saptanmıştır. Bu da histolojik aktivitesi yüksek kronik hepatit C olgularında CD4 lenfositlerin önemli rol oynadığı görüşünü desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Kronik viral hepatit, bağışık yanıt, akım sitometri

Them aim of this study is to obtain information about the characteristics of the immune response, which causes damage in liver tissue, and its relation with the activity of the disease, serological and biochemical values in chronic viral hepatitis.

In the study, needle biopsy of 62 cases diagnosed as chronic viral hepatitis and peripheral blood samples have been examined as flow cytometry and lymphocyte sub-types have alsol been analysed. And in the morphological evaluation, the hepatic activity has been defined by calculating the histological activity index. In addition, clinical, biochemical and serological data concerning cases has been found as well.

In the analysis of flow cytometry, it is seen that T lymphoytes has been accumulated more in tissues comp ared to B lymphocytes and natural killer cells. No statistically significant difference has been noticed between the two groups concern in lymphocyte sub-types and rates of them seen in peripheral blood and tissue. But our data suggest that active histological disease in chronic hepatitis C infection may be associated with an increase in CD4/CD8 ratio and suggest that CD4 lymphocytes may play an important role in hepatic injury in these patients.

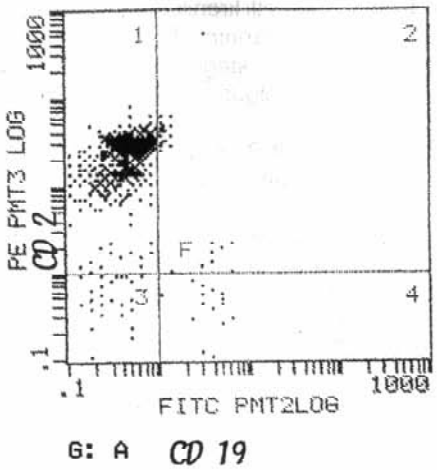
Key Words: Chronic viral hepatiti, immun response, flow cytometry.

Kronik karaciğer hastalığında viral etkenler önemli roy oynamaktadır. Özellikle Hepatit B ve Hepatit C virüsleri ile enfeksiyon sonrası kronikleşen olgulara, ülkemizde olduğu gibi dünya genelinde de raslanmaktadır [1]. Karaciğer hücreleri bu virüslerle enfekte olunca vücudun savunma sistemi bu hücrelere karşı bağışık yanıt oluşturmaktadır. Bağışık yanıt içinde, farklı özellikte alt gruplara sahip lenfositler geniş bir yer tutmaktadır. Olgulardan alınan karaciğer iğne biyopsilerinin rutin mikroskopi değerlendirmesinde de çoğunlukla hastalığın şiddetiyle paralellik gösterebilen lenfositik iltihabi hücre infiltrasyonu dikkat çeker [2]. Günümüzde akım sitometri (flow cytometry FCM) dokuda ve periferik kanda lenfosit alt gruplarını tespit etmekte güvenilir, hızlı ve duyarlı bir yöntemdir [3].

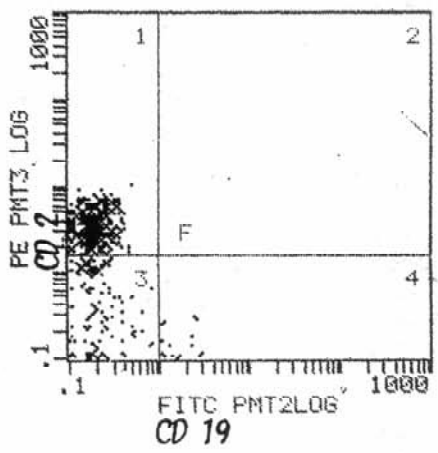
Bu çalışmada akım sitometri aracılığı ile kronik viral hepatit tanısı almış olguların karaciğerinde ve periferik kanında lenfosit alt tipleri (B lenfosit=CD 19,T lenfosit=CD2, helper lenfosit= CD 4, T sitotoksik lenfosit= CD 8, Naturel killer lenfosit= CD 56) analiz edilerek dokuda meydana gelen hasarda rol oynayan bağışık yanıtın niteliği, bunun hastalığın aktivitesi ile ilişkisi hakkında bilgilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma 1997-1998 yıllarını kapsamaktadır. Bu süre içinde Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda, hepatit C tanısı ile izlenen



Histogram 1: Hepatit B olgusunda dokuta CD2 artışını gösteren histogram (x ekseni üzerine CD19 ve y ekseni üzerinde CD2 yoğunluğu görülmekte)



Histogram 2: Hepatit C olgusunda dokuda CD2 artışını gösteren histogram (x ekseni üzerinde CD19 ve y ekseni üzerinde CD2 yoğunluğu görülmekte)

toplam 62 vakanın karaciğer iğne biyopsileri ve periferik kan örnekleri çalışmaya dahil edildi.

Biyopsi materyali alındıktan hemen sonra örnek uzunlamasına ikiye bölünerek nötral tampon solusyonu içinde olmak üzere örneğin bir yarısı ve periferik kan akım sitometrik incelemeye alınırken diğer yarısı %4'lük formaldehid içine konarak tespit edildi. Materyal rutin takip işlemlerinden geçerek, parafin bloklara gömüldü ve 4-5 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı. Bu kesitler hemotoksilen-eozin dışında, karaciğer biyopsileri için rutin olarak uygulanan Masson-trikrom, retikulin (gümüşleme), PAS ve demir için Prusya mavisi boya yöntemleri ile boyandı.

İncelenen karaciğer biyopsilerine ait klinik bilgi bölümümüze gönderilen biopsi değerlendirme istek formundan elde edildi. Bunlar yaş, cinsiyet, serolojik ve biyokimyasal değerleri kapsamaktaydı.

İğne biopsisinin değerlendirmesinde, hepatit B olgularında Desmet'in önerdiği ve fibrozisi (H. Aİ) fokal nekroz, portal iltihabi infiltrasyon 18 puan üzerinden skorlandı ve fibrozis bu skorlamaya dahil edilmeyerek ayrıca 4 puan üzerinden skorlandı. HCV olgularında ise 1995 yılında İstanbul'da kronik C hepatitini skorlamak için yapılan toplantıda belirlenen sisteme göre histolojik aktivite indeksi belirlendi [1]. Bu skorlamada portal/ periportal, lobüler nekroinflamasyon, safra yolları lezyonu, steatoz, demir birikimi ve fibrozis derecelendirilmektedir. Hepatit şiddeti; hesaplanan sayısal skorlara göre minimal kronik hepatik, hafif kronik hepatit, orta şiddette kronik hepatit ve şiddetli kronik hepatit şeklinde ifade edildi.

Olgulara ait serum örneklerinde; aspartat transaminaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri otoanalizatör ile enzimatik yöntemle çalışıldı. Bu çalışmada ALT'nin normal değerleri 5-40 U/lt, AST'nin 5-40 U/lt, kabul edilip, üzerindeki değerler yüksek olarak değerlendirildi.

Periferik kan örneklerinin akım sitometrik değerlendirilmesi için EDTA'lı CBC tüpüne 2 cc periferik kan örneği alında, karışım sağlanarak pıhtılaşma önlendi. 10 ul çift renkli monoklonal antikorların konulduğu tüplerin üzerine kan örneğinden 100'er ml ilave yapıldı. Monoklonal antikorlar CD4FITC/CD8PE, CD19FITC/CD20PE ve CD56FITC olarak seçildi. Karışım, 20 dakikalık inkübasyon yapıldıktan sonra tüpler Q prep cihazından geçirilerek eritrositler lizise uğratıldı ve 15 dakikalık inkübasyon sonrası hazır hale getirildi. Kontrol ve olgulara ait tüpler sırasıyla cihazdan geçirilerek yaklaşık 5000 hücre sayımı yapıldı. Monoklonal antikor olarak CD4 lenfosit, CD lenfosit, CD lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfosit pozitiflikleri % olarak hesaplandı ve CD4CD8,CD2/CD19 ve CD56/CD2 oranları tespit edildi.

Taze olan karaciğer doku örnekleri FCM analizi için fosfat buffer salin içerisine alında ve bekletilmeden mekanik parçalanmaya maruz bırakılarak taze doku suspansiyon haline getirlid. Suspansiyon DNA "match" denilen süzgeçten geçirilerek kalıntılar ve artıklardan arındırıldı. Önceden hazırlanmış ve 10 ul monoklonal antikor ilaverelir yapılmış tüplerin içerisine hazırlanan suspansiyondan 100'er ul konuldu, karışım sağlanarak 20 dakika inkübasyon edildi. Q prepten geçirilerek antikor ile hücre suspansiyonunun stabilizasyonu sağlandı ve 15 dakika inkübe edildi. Akım sitometrik analize hazır hale getirilen karışımda 4000 hücre sayımı yapılarak, CD4 lenfosit, CD8 lenfosit, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfosit pozitiflikleri % olarak hesaplandı ve CD/CD8, CD2/CD19 ve CD56/CD2 oranları tespit edildi.

İstatistiksel analizde ölçümsel ve parametrik varsayımları yerine getiren ölçütler yönünden iki grup karşılaştırılırken t-testi kullanıldı. Parametrik koşulların yerine getirilmediği durumlarda Mann Whitney-U testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alındı. Bu değerden küçük olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı

kabul edildi. Veriler ortalama+ standart sapma olarak ifade edildi.

BULGULAR

Çalışma grubuna dahil edilen 62 viral orjinli kronik hepatit olgusu incelendiğinde, 25'inin kadın, 37'sinin erkek, kadın oranının 148/1 olduğu saptandı. Virüs tipi Serolojik + immünhistokimya veya sadece seroloji dikkate alındığında 42 vakada hepatit B, 18 vakada hepatit C ve 2 vakada hepatit B+C pozitifliği saptandı. Tüm çalışma grubunda en genç olgu 13, en yaşlı olgu 66 yaşındaydı. Yaş olarak kıyaslandığında HCV grubunda HBV grubuna göre vakaların daha ileri yaşta olduğu dikkat çekmekteydi.

Laboratuvar bulgularından hastalığın aktivitesini, reaktivasyonunu ve tedaviye cevabı yansıttığı bilinen transaminaz düzeyleri 15 vakada normal sınırlar içinde, geri kalan 47 vakada yüksek seviyede idi. Her iki enzim (ALT, AST) için, normal değerin üst sınırı 40U/lt'dir. Buna göre 34 olguda, hafif derecede (<100U/lt), 12 olguda orta derecede (100-200u/lt) yükselme gösteren ve 1 olguda 200U/lt'nin üzerinde değerler saptandı. Histolojik aktivite indeksine göre orta ve şiddetli derecede kronik viral hepatit tanısı alan 11 vakanın tümünde karaciğer enzim düzeyleri normal seviyenin üzerinde idi.

Kronik hepatit B olgularının iğne biyopsisinin değerlendirmesinde, Desmet'in önerdiği ve fibrozisi HAİ dışında bırakan modifikasyon uygulandı. Bu uygulamada, periportal güve yeniği nekrozu, lobüler dejenerasyon ve fokal nekroz, portal iltihabi infiltrasyon 18 puan üzerinden skorlandı ve derecelendirme minimal kronik hepatit, hafif kronik hepatit, orta şiddette kronik hepatit ve şiddetli kronik hepatit şeklinde yapıldı. Fibrozis bu skorlamaya dahil edilmeyerek ayrıca 4 puan üzerinden skorlandı.

Hepatit C olgularında portal iltihap, lobuler nekroinflamasyon, safra yolları lezyonu, steatoz portal demir birikimi, güveyeniği nekrozu ve lobül içi değişiklikler değerlendirildi ve 18 puan üzerinden sorlandı ve dereelendirme minimal kronik hepatit, hafif kronik hepatit, orta şiddete kronik hepatit ve şiddetli kronik hepatit şeklinde yapıldı. Fibrozis bu skorlamaya dahil edilmeyerek 4 puan üzerinden skorlandı.

HAİ sonuçları dikkate alındığında, HBV ile enfekte toplam 42 olgunun 6 tanesinde iğne biyopsisinde patolojik bulgu tespit edilmedi. 15 olguda minimal kronik hepatit, 16 olguda hafif kronik hepatit, 4 olguda orta şiddette kronik hepatit ve 1 olguda şiddetli kronik hepatit mevcuttu. Toplam 18 adet hepatit C olgusunun 1 tanesinde iğne biyopsisinde yağlanma dışında patolojik bulgu tespit edilmedi 6 olguda minimal kronik hepatit, 5 olguda hafif kronik hepatit, 5 olguda orta şiddete kronik hepatit ve 1 olguda şiddetli kronik hepatit mevcuttu. (Tablo I).

Toplam 18 adet hepatit C olgusunun 1 tanesinde iğne biyopsisinde yağlanma dışında patolojik bulgu tespit edilmedi 6 olguda minimal kronik hepatit, 5 olguda hafif kronik hepatit, 5 olguda orta şiddete kronik hepatit ve 1 olguda şiddetli kronik hepatit mevcuttu. Tüm hepatit B ve C olgularının 28 tanesinde fibrozis görülmemiştir. 15 olguda stage I 11 olguda stage II, 4 olguda stage III ve 2 olguda stage IV (siroz) fibrozis tespit edildi (Tablo II).

CD2 lenfosit, hepatit B ve C olgularında dokuda en yüksek oranda bulunan lenfosit tipi idi (Tablo II-IV) (Histogram 1,2).

Hepatit B ile hepatit C olgularının serum enzim düzeyleri, periferik kan lenfosit alt tipleri (CD4 lenfosit, CD8 lenfosit, CD2, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfositler) ve bu alt tipler arası olanların (CD4/CD8, CD2/CD19 ve CD56/CD2) karşılaştırılmasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hepatit B olgularının periferik kan ve dokudaki lenfosit alt tipleri (CD4 lenfosit, CD8 lenfosit, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfositler) ve bu alt tipler arasında bulunan (CD4/CD8, CD2/CD19 ve CD56/CD2) karşılaştırılmasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Hepatit c olgularını periferik kan ve dokudaki lenfosit alt tipleri (CD4 lenfosit, CD8 lenfosit, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfosit) ve bu alt tipler arası oranların (CD4/CD8, CD2/CD19 ve CD56/CD2) karşılaştırılmasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Hepatit B olgularında viral replikasyonu gösteren HBeAg'nin (+) ve (-) olmasına göre oluşturulan iki grup arasında serum karaciğer enzim düzeyleri, periferik kan ve dokudaki lenfosit alt tipleri (CD4 lenfosit, CD8 lenfosit, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfosit) ve bu alt tipler arası oranların (CD4/CD8, CD2/CD19 ve CD56/CD2) karşılaştırılmasında her iki grup arasında istatisel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hepatit B olgularında serum ALT seviyesi ile hepatit şiddetinin karşılaştırmasında istatissel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Hepatit C olgularında serum ALT seviyesi ile hepatit şiddetinin karşılaştırılmasında istatiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Hepatit B olgularında hepatit şiddeti ile serum enzim düzeyi, periferik kan lenfosit alt tipleri (CD4 lenfosit, CD8 lenfosit, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfosit) ve bu alt tipler arası oranların 8CD4/CD8, CD2/CD19 VE CD56/CD2) karşılaştırmasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Hepatit C olgularında hepatit şiddeti ile serum enzim düzeyi, periferik kan lenfosit alt tipleri (CD4 lenfosit, CD8 lenfosit, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfosit) ve bu alt tipler arası oranların (CD4/CD8, CD2/CO19 ve CD56/CD2) karşılaştırılmasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Hepatit B olgularında hepatit şiddeti ile doku lenfosit alt tipleri (CD4 lenfosiz, CD8 lenfosit, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfosit) ve bu alt tipler arais oranların (CD/4CD8, CD2/CD19 ve CD56/CD2) karşılaştırılmasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Hepatit B olgularında hepatit şiddeti ile doku lenfosit

Hepatit şiddeti	Hepatit B (n:42)		Hepatit C (n:18)		Hepatit B+C (n:2)	
	n	%	n	%	n	%
Normal	6	15	1	5	1	50
Minimal	15	34	6	34	1	50
Hafif	16	38	5	28	-	-
Orta	4	10	5	28	-	-
Şiddetli	1	3	1	5	-	-

Tablo 1 : Olguların hepatit şiddetine göre dağılımı

Fibrozis Şiddeti	Hepatit B (n:42)		Hepatit C (n:189		Hepatit B+C (n:2)	
	n	%	n	%	n	%
Stage 0	20	48	8	43	2	100
Stage 1	14	34	1	6	-	-
Stage 2	5	12	6	34	-	-
Stage 3	2	4	2	11	-	-
Stage 4	1	2	1	6	-	-

Tablo 2 : Olguların fibrozis şiddetine göre dağılımı.

Değişken	Periferik kan (ort±SD)	Doku (ort±SD)
CD4	34,8±9,4	4,8±4,5
CD8	27,1±7,8	6,1±8,1
CD2	68,2±7,3	10,2±13,2
CD19	12,7±3,6	3,4±2,6
CD 56	12,1±5,4	3,6±2,3
CD4/CD8	1,4±0,4	1,1±0,5
CD2/CD19	5,9±2,4	3,1±2,2
CD56/CD2	0,2±0,1	0,5±0,3

Tablo 3 : Hepatit B olgularında periferik kan ve doku değerleri.

alt tipleri (CD4 lenfosit, CD8 lenfosit, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD56 lenfosit) ve bu alt tipler arası oranların (CD4/CD8, CD2/CD19 ve CD56/CD2) karşılaştırılmasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Hepatit C olgularında hepatit şiddeti ile doku lenfosit alt tipleri (CD4 lenfosit, CD8 lenfosit, CD2 lenfosit, CD19 lenfosit, CD,56 lenfosit) ve bu alt tipler arası oranların (CD4/CD8, CD2/CD19 ve CD56 CD2) karşılaştırılmasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). CD4/CD8 oranında ise iki grup arasında istatiskitsel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$). CD4/CD8 oranında ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo V).

TARTIŞMA

Kronik hepatit, çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişebilen ve bunların her biri için az çok karakteristik histopatolojik bulguların ortaya çıktığı bir hastalık tablosudur [5]. Bu tablo içinde viral etkenler önemli rol oynamaktadır. Karaciğer hücreleri virüsle enfekte olunca vücudun savunma sistemi bu hücreler karşı bağışık yanıt oluşturmaktadır. Bu çalışma kapsamı içinde HBV ve HCV kökenli kronik hepatit olguların akım sitometrik bulguları literatür bilgisi eşliğinde tartışıldı.

Serum aminotransferaz düzeyleri, inflamatuar aktiviteyi gösteren en önemli biyokimyasal göstergedir. HBV ve HCV'ye bağlı kronik hepatitlerde transaminazlar hafif derecede yüksektir ve genellikle normalin 5 katının üzerine çıkmaz [1]. Çalışmalarda kronik viral hepatitlerde ALT düzeyinin inflamatuar aktiviteyi değerlendirmede bir kriter olarak kullanılabileceği yanısıra buna aksi görüş olarak enzim düzeyinin her zaman hepatit şiddeti ile korelasyon göstermediği rapor edilmiştir [6-8]. Çalışmamızda 34 olguda, hafif derecede (<100U/lt), 12 olguda orta derecede (100-200U/lt) yükselme gösteren ve 1 olguda 200U/lt'nin üzerinde değerler saptandı. Yapılan değerlendirmede ALT seviyesi ile hepatit şiddetinin karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Bu yüzden tek başına enzim düzeylerine bakarak hastalığın aktivitesini belirlemek doğru olmayacaktır. Biyopsinin önemi burada ortaya çıkmaktadır.

Grubumuzda en düşük transaminaz düzeyleri, 21/21

Değişken	Periferik kan (ort±SD)	Doku (ort±SD)
CD4	34,6±9,4	8,3±10,9
CD 8	28,5±8,1	8,11±10,7
CD 2	65,7±7,8	16,2±22,1
CD 19	12,6±3,2	4,1±3,5
CD 56	11,8±5,0	5,4±4,3
CD4/CD19	5,8±2,5	3,6±2,8
CD56/CD2	0,2±0,1	0,6±0,5

Tablo 4 : Hepatit C olgularında periferik kan ve doku değerleri.

Değişken	Hepatit Şiddeti normal+minimal (n:7) (ort±SD)	hafif+orta+şiddetli (n:11) (ort±SD)	*P
CD 4	4,1±1,3	10,9±13,4	0,891
CD 8	2,7±1,6	11,4±12,7	0,134
CD 2	8,7±9,6	21,0±26,7	0,618
CD 19	3,6±2,9	4,2±0,4	0,963
CD 56	3,0±2,1	6,9±4,7	0,751
CD4/CD8	4,1±0,5	7,0±0,3	0,007
CD2/CD19	2,8±1,6	4,1±3,3	0,618
CD56/CD2	0,5±0,4	0,7±0,6	0,751

Tablo 5 : Hepatit C olgularında hepatit şiddeti ile doku değerlerinin karşılaştırılması

*İstatistiksel karşılaştırma yapılırken gruplar normal-minimum ve diğerleri olarak birleştirilerek hesaplanmıştır.

ile 24 yaşındaki bir kadın hastada saptandı; biyopsi tanısı orda şiddete kronik hepatit idi. En yüksek değerler ise 239/343 ile 61 yaşında erkek hastada saptandı ve biyopsi tanısı hafif şiddete kronik hepatit idi.

Hepatit C olgularında ışık mikroskopik incelemede çoğunlukla minimal veya hafif kronik hepatit tablosu görülür [9,10]. Çalışmamızda bu bilgilerle uyumlu olarak hepatit C olguların %5'inde normal histolojik bulgular, %34'ünde minimal kronik hepatit, %28'sinde ise hafif şiddette kronik hepatit saptanmıştır. Hepatit B olgularında da dağılım bu aranlara benzerlik göstermekteydi.

Karaciğer iğne biyopsilerinin histopatolojik incelemeleri temel alındığında, kronik viral hepatitlerde patogenezde lenfositlerin rol aldığı belirlenmiştir. Dokuda hasar oluşturan lenfositlerin tiplendirilmesinde immünhistokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntem; hassasiyetinin düşük olması, gözlemciler arası değerlendirme farklılıkları ve neden olduğu zaman kaybı nedeniyle bazı olumsuz özelliklere sahiptir. Bu açıdan uygun monoklonal antikor kullanımı ile lenfositlerin tiplendirilmesinde akım sitometri önemli yer tutmaktadır.

Akım sitometri sayesinde hızlı ve güvenilir bir şekilde kantitatif sonuçlar elde edilebilmektedir [11]. Bu amaca uygun olarak çalışmamızda periferik kan ve dokuda lenfosit alt tiplerini belirlemede akım sitometri kullanıldı.

Hepatit B direkt sitopatik etkiye sahip değildir. Karaciğerde oluşan hasarda virüse karşı oluşan bağışık yanıt önemli rol oynamaktadır. T lenfositler esas hücreler olup daha az oranda B lenfosit ve "natural killer" hücreleri izlenir. T lenfosit alt grubu olarak CD8 lenfositler dokuda daha fazla bulunur [12-14]. Benzer şekilde kronik hepatit B olgularının periferik kanları incelendiğinde CD8 lenfositlerinin CD4 lenfositlerden daha fazla olduğu rapor edilmiştir [15]. Bazı araştırmalarda ise iki hücre grubu arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir [16]. Ayrıca periferik kanın doku içinde oluşan bağışıklığı yansıtmadığı bilinmektedir. Bu yüzden direkt olarak dokuda immünhistokimyasal çalışma yapılmıştır. Lobül içinde nekrotik hepatositlerle esas olarak CD8 lenfositlerin, portal alanlarda ise CD8 ,CD4 veya her ikisinin aynı oranda yer aldığı bildirilmiştir [17,18]. Çalışmamızda hepatit B grubu olguların dokularında CD8 lenfositlerin sayıca CD4 lenfositlerden daha fazla, periferik kanında ise CD4 lenfositlerin sayıca CD8 lenfositlerin daha fazla olduğu saptandı. Doku analizinde CD2 lenfositlerin, CD19 ve "natural killer" lenfositlerinden sayısal fazlalık gösterdiği tespit edilmiştir.

Hepatit B olgularında hepatit şiddetinin artmasıyla periferik kanda C2 oranında azalma, CD19 ve CD4/CD8 oranında ise belirgin değişiklik olmadığı bildirilmiştir [19,20]. Çalışmamızda hepatit B grubunda hastalığın şiddeti ile periferik kan ve dokuda lenfosit alt tiplerine ait değerlerde anlamlı bir fark saptamadık.

Serolojik olarak HBeAg pozitifliği viral replikasyonu göstermektedir. Viral replikasyonla birlikte CD4/CD8 değerinin arttığını bildiren yayınlar mevcuttur. Bu sonuç repliklasyon aşamasında, CD4 lenfositlerin CD8 lenfositleri reqüle etmek amacıyla arttığı şeklinde yorumlanmıştır [15,21]. Bazı çalışmalarda ise replikasyon döneminde portal alanlarda biriken CD8 lenfositler nedeniyle bu oranın replikasyon içermeyen olgulardaki orandan daha düşük olduğu bildirilmektedir [10,17,20,21]. Çalışmamızda HBeAg(+) ve HBeAg(-) olgular kıyaslandığında periferik kan ve dokuda CD4/CD8 ve diğer lenfosit alt tipleri ile bunların oranları arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

C hepatit patogenezinde rol alan mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır [21]. Karaciğer hasarında virüsün direkt sitopatik etkisi, konağın bağışık yanıtı veya her ikisinin etken olduğu düşünülmüştür [22]. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda hepatit B'ye benzer şekilde direkt sitopatik etkiden ziyade bağışık yanıtın doku hasarı oluşturduğu görüşü ağırlık kazanmıştır [22,23].

Marrogi ve ark. hepatit C olgularının iğne biyopsilerinin incelenmesinde oluşan iltihabi infiltrasyonda immünhistokimyasal olarak T lenfositlerin baskın olduğunu, B lenfositlerin ise sadece portal alanda lenfoid folliküllerin germinal merkezinde sınırlı kaldığını bildirmiştir. Aynı çalışmada CD4 lenfositlerinin portal alanda, CD8 lenfositlerinin lobül içinde daha fazla bulunduğu ve ayrıca CD4 değerinin periferik kanda, CD8 değerinin ise karaciğerde yüksek olduğu rapor edilmiştir [22]. Çalışmamızda dokuda en fazla birikim gösteren lenfosit alt tipi CD2 lenfositlerdi ve dokuda birikim gösteren CD4 ve CD8 seviyeleri eşit miktarda idi.

C hepatitinde karaciğer dokusunda CD4/CD8 oranının hastalığın şiddetine paralel olarak artış gösterdiği ancak bu değerin serum enzim düzeylerinden bağımsız olduğu gösterilmiştir. Diğer lenfosit alt grupları ise hepatit şiddeti ile anlamlı bir değişiklik göstermemektedir [12,24]. Çalışmamızda literatür bilgisiyle uyumlu olarak C hepatitinde hastalığın şiddetine paralel olarak dokuda CD4/CD8 oranında istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. Hata ve ark. hepatit C'de diğer hepatit gruplarına (hepatit B dahil) kıyasla dokuda CD4 lenfositlerinin daha fazla bulunduğunu bildirmiştir [25]. Çalışmamızda hepatit B ve hepatit C gruplarının karşılaştırılmasında; istatistiksel anlamlılık bulunmamakla birlikte hepatit C olgularında doku değerlerinin bir miktar yüksek olduğu görülmüştür. Periferik kan değerleri birbirine çok yakın düzeydedir.

Natural killer hücreleri daha çok akut hepatit patogenezinde ön plana çıkmaktadır ve virüs eliminasyonunda önemli yer tutmaktadır [20]. Hata ve ark. kronik hepatit C'de doku hasarında natural killer hücrelerin de etkisi olduğu yönünde bulgular elde etmiştir [26]. Diğer bir çalışmada ise Hepatit C olgularında periferik kanda karaciğere oranla daha fazla natural killer saptanmıştır. Westjal ve ark. yaptığı bir çalışmada ise interferon tedavisi sonrası bu hücre tipinin periferik kan değerinde düşüş saptarken, karaciğer dokusundaki düzeyinde anlamlı değişiklik bulmamıştır [20]. Çalışmamızda hepatit B ve hepatit C gruplarının karşılaştırılmasında natural killer lenfositlerin periferik kan ve dokudaki dağılımları arasında istastiksel anlamlılık bulunmamıştır. Ayrıca her iki grupta hepatit şiddeti ve hepatit B de replikasyon varlığı açısından NK lenfosit değerleri farklılık göstermemiştir.

62 kronik viral hepatit olgusu üzerinde yaptığımız

çalışmada klinik, serolojik bulgular, karaciğer biyopsisi ve akım sitometrik inceleme sonuçları değerlendirildiğinde; biyokimyasal ve serolojik sonuçlar hepatit şiddetini tam olarak yansıtmamakta, biyopsi değerlendirmesi bu konuda en objektif yaklaşım olmaktadır Karaciğer dokusunda hasar oluşturan bağışık yanıt içinde T lenfositler en fazla oranda yer almaktadır. Viral etkenler karşılaştırıldığında hepatit B ve hepatit C olguları arasında periferik kan ve dokuda birikim gösteren lenfosit tipleri ve oranları açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Hepatit C olgularında hepatit şiddetine paralel olarak dokuda CD4/CD8 oranında anlamlı artış saptanmıştır. Lenfosit tiplerinin ağırlıklı olarak da T lenfositlerin etkinliğinin daha fazla sayıdaki olguda değerlendirilmesi gereklidir. İlerki çalışmalarda hepatit şiddet ve evresi ile DNA ploidi arasındaki ilişki prognostik açıdan değerlendirilmeli, karsinom ile olan olası ilişkisi araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Akyol G, Çevikbaş U, Ökten A, Özbay G, Yalçın S, Yüce G.Kronik Hepatitler: Meslek içi eğitim kurs kitabı, 1999.
2. Koziel MJ. Immunology of viral hepatitis. The American Journal O Medicine 1996;100:98-1109
3. Hata K, Van Thiel DH, Herberman RB, Whiteside TL. Phenotpic and functional characteristics of lymphocytes isolated from liver biopsy specimens from patients with active liver disease. Hepatology 1992;5:816-823.
4. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle J, Mann M, Scheuer P: Classification of chronic hepatitis. Diagnosis, grading snd staging. Hepatology 1994;19:1513-1530.
5. Sherlock S, Dooley J. Chronic hepatitis. In Disease of the Liver and Biliary System, Sherlock S, Dooley J (Eds), London, Blackwell Scientific Publications, 9 th ed. 1993;293-321.
6. Cahen DIL, Leeuwen DJ, Kate FJ, Blok Ap, Oosting J, Chamuleau RA: Do serum ALAT values reflect the inglammatory activity in the liver of patients with chronic viral hepatitis? Liver 1996;2:105-109.
7. Goldstein NS, Blue DE, Hankin R, Hunter S, Bayati N, Silverman AL, et al Serum alpha-fetoprotein levels in patients with chronic hepatitis C. Ralationships with serum alanine aminotransferase values, histologic activity index, and hepatocyte MIB-1 scores. am J. Clin Pathol 1999;6:811-816.
8. Luo JC, Hwang SJ, Lai CR, Lu CL, Li CP, Tsay SH et al: Ralationships between serum aminotransferase levels, liver histologies and virological status in patients with chronic hepatitis C in Taiwan. J Gastroenterol 1998;7:685-690.
9. Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, Brown D, Dushciko GM The pathology of hepatitis C. Hepatology 1992;4:567-571.
10. Bach N, Thung SN, Schafnner F: The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis A comperati ve analysis. Hepatology 1992;15:572-577.
11. Xiuming L, Lennox J, Jeffers K, Rajender R, Maria M, Marcello S et al. Immunphenotyping of lymphocytes in liver tissue of patients with chronic liver diseases by flow cytometry. Hepatolgy 1991:1121-127.
12. Lohr HF, Gerken G, Schlicht J, Meyer KH, Fleischer B: Low freguency of cytotoxic liver infiltrating T lymphocytes spesific for endogenous processed surface and core proteins in chronic hepatitis B. The J Infec Dis 1993;168:1133-1139.
13. Carmelo GM, Ricardo MO, Lusia GB, Miguel LP et al. Functional analysisof peripheral blood lymphocytes isolated from patients with chronic hepatitis type B. Diges Dis Sci 1992;1:73-78.
14. Pham BN, Mosnier JF, Walker F, Njapoum C, Bougy F et al: Flow cytometry CD4/CD8 ratio of liver deriverd lympocytes correlates with viral replication in chronic hepatit B. Clin Exp Immunol 1994;97:403-410.
15. Robaeys G, De Groote J, Vandeputte M: Supressor cell function in chronic liver disease. Lancet 1983;2:342.
16. Yang PM, Su IJ, Lai MY et al Immunohistochemical studies on intrahepatic Lymphocye ingiltrates in chnoric type B hepatitis, with special emphasis on the activation status of the lymphocytes. Am J Gastrol 1988 83:948-953.
17. Pape GD, Rieber EP, esineberg J et al Involvement of the cytotoxic/supressor T-cell subset in liver tissue injury of patients with acute and chronic liver disesaes. Gastroenterology 1983;35:657-662.
18. Fargion S, Sangalli G, Ronchi G, Fiorelli G Evaluation of T and b lymphocytes in liver infiltrates of patiens with chronic active hepatitis. J Clin Pathol1979;4:344-350.
19. WejstallR, NokransG, WeilandO,SchvarczR, Fryden A Peripheral blood lymphocyte subsets in patents with chronic hepatitis C-effects of interferon treatment. Liver 1992;12:161-167.
20. Dienes H: Immunelectron microscopic observations on the inflammatory infiltrates and HLA antigens in Hepatitis B and non-A non B. Hepatol 1997;7:1317-1325.
21. Colucci G, Colombo M, Del Ninno e, Paroretta F: In situ characterization by monoclonal antibodies of the mononuclear cell infiltrate in chronic active hepatitis. Gastroenterol 1983;85:1138-1145.
22. Marrogi AJ, Cheles MK, Gerber MA Chronic hepatitis C. Analysis of host immune response by immunohistochemistry. Arch Pathol Lab Med 1995;3:232-237.
23. Tran a, Yang G, Doglio A, ticchioni M et al. Phenotyping of intrahepatic and peripheral blood lymphocytes in patients with chronic hepatitis C. Dig Dis Sci 1997;12:2495-2500.
23. Khakoo SI, Soni PN, Savage G, Brown D, Dhillon AP, Poulter LW et al Lymphocyte and macrophage phenotypes in chronic hepatitiz C infection. Correlation with disease activity. A J Pathol 1997;3:963-970.
24. Hata K, Zhang XR, Iwatsuki S, Van Thiel DH, Herberman RB, Whiteside TL Isolation, Pnenotyping and functional analysis of lympocytes from human liver. Clin Immunol Immunopathol 1990;56:401-419.
25. Hata K, Van Thiel DH, Herberman RB, Whiteside TL Natural killer activity in human liver derived lymphocytes in various liver diseases. Hepatology 1991;11:495-503.