

# Hepatosteatoz ve insülin direnci olan hastalarda hepatit B virüs enfeksiyonu ile karşılaşma sıklığı ve serum adipokin düzeyleri arasındaki ilişki

Relationship between the frequency of hepatitis B virus infections and levels of serum adipokines in patients with hepatosteatosis and insulin resistance

Ayhan Balkan<sup>1</sup>, Murat Taner Gülşen<sup>1</sup>, Yasemin Balkan<sup>2</sup>, Seçil Kaya Çalı<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

<sup>2</sup>Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

<sup>3</sup>Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

## ÖZ

**Amaç:** Hepatit B virüsünün (HBV) steatojenik etkisi birçok çalışmada ortaya kalsa da, anti-HBc IgG (+)'liği olan hastalarda, hepatosteatoza yol açıp açmayacağı, henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, hepatosteatozu ve insülin direnci olan hastalarda, HBV ile karşılaşma sıklığı ve serum adipokin düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

**Yöntemler:** Çalışmaya polikliniğimize Temmuz 2011 ile Haziran 2012 tarihleri arasında çeşitli sebeplerle başvuran, ultrasonografi ile hepatosteatoz saptanan ve insülin direnci olan 80 hasta alındı. HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment-Insulin resistance) düzeyi 2,7 ve üzerinde olan değerler insülin dirençli olarak kabul edildi ve bu hastalarda anti-HBc IgG bakıldı. Anti-HBc IgG düzeyi ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi ile çalışıldı. Anti-HBc IgG (+) ve antiHBc IgG (-) olan vakalarda serum örneğinden adiponektin, resistin, leptin bakıldı.

**Bulgular:** 29 (%36,2) hastada anti-HBc IgG (+) ve 51 (%63,8) hastada anti-HBc IgG (-) bulundu. Anti-HBc IgG (+) hastalarda leptin düzeyleri (31569,72±14027,64 ng/mL), anti-HBc IgG (-) hastalara göre (25410,73±10978,26 ng/mL) anlamlı olarak daha yüksek saptandı (p=0,047). Ancak, hem Anti-HBc IgG (+) hastalarda, hem de anti-HBc IgG (-) hastalarda serum adiponektin ve resistin düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı.

**Sonuç:** Bu sonuçlar, hepatosteatoz ve insülin direnci etyolojisinde, anti-HBc IgG(+)'liğinin de yer alabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Hepatosteatoz, insülin direnci, adipokin, hepatit B virüsü

## ABSTRACT

**Objective:** Although the steatogenic effect of hepatitis B virus (HBV) has been established in several studies, it is not yet known whether it leads to hepatosteatosis in anti-HBc IgG-positive patients. This study aimed to investigate the relationship between the frequency of HBV and levels of serum adipokines in patients with hepatosteatosis and insulin resistance.

**Methods:** Eighty patients diagnosed with hepatosteatosis by ultrasonography, who were admitted to our polyclinic between July 2011 and June 2012 for various reasons, and who had insulin resistance were included. Homeostasis model assessment-insulin resistance of >2.7 was considered as insulin resistance, and these patients were investigated for anti-HBc IgG. The anti-HBc IgG level was analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay. Levels of adiponectin, resistin, and leptin in serum samples were analyzed in anti-HBc IgG (+) and anti-HBc IgG (-) groups.

**Results:** Anti-HBc IgG was positive in 29 (36.2%) patients and negative in 51 (63.8%). While the level of leptin in the anti-HBc IgG (+) group was 31569.72±14027.64 ng/mL, it was 25410.73±10978.26 ng/mL in the anti-HBc IgG (-) group. The levels of leptin in the anti-HBc IgG (+) and anti-HBc IgG (-) groups were statistically significant (p=0.047). However, levels of adiponectin and resistin were not different between the groups.

**Conclusion:** These results suggest that anti-HBc IgG positivity is involved in the etiology of hepatosteatosis and insulin resistance as well.

**Keywords:** Hepatosteatosis, insulin resistance, adipokine, hepatitis B virus

## GİRİŞ

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH), klinikte iki şekilde karşımıza çıkmaktadır: 1) Steatoz (nonalkolik karaciğer yağlanması). 2) Non alkolik steatohepatit (NASH). NASH hastalarının % 20'si siroza ilerlemektedir. NASH günümüzde,

kriptojenik sirozun önemli bir sebebi olarak tanımlanmaktadır (1-3).

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığında tarama yöntemi olarak ultrasonografi (USG) kullanıldığında hastalık prevalansının %20

'ler civarında olduğu, karaciğer biyopsisinin esas alındığı çalışmalarda ise bunun 2-3 kat üzerine çıkabildiği görülmektedir (4-6).

Pek çok ajan ve durum karaciğer yağlanması ile ilişkilidir. Kazanılmış insülin direnci (metabolik sendrom), doğuştan ve genetik metabolizma bozuklukları, kilo kaybı ile ilişkili medikal veya cerrahi durumlar, çeşitli ilaçlar ve toksinler gibi NAYKH'na sebep olabilir (7).

İnsülin direnci, insülinin endojen ve eksojen etkisinin azalması ve hedef organlarda glukoregülatör rolünü yapamaması olarak tanımlanmaktadır. Visseral adipoz dokudaki ve intrahepatik yağdaki artışlar, artmış glukoneogenesis, artmış serbest yağ asit seviyeleri ve insülin rezistansı ile birliktelik göstermektedir (8).

Adiponektin, başlıca adipoz dokudan salınan bir hormondur. Adiponektin, hem plazmadan yağların temizlenmesini sağlayıp hem de kaslarda yağ asitlerinin beta oksidasyonunu uyarır. Dolaşımdaki adiponektin miktarının azalması, NAYKH hastalarında görülen karaciğer histolojisinin ağırlığı ile korelasyon göstermektedir (9). Bir çalışmada, plazma adiponektin seviyeleri, hepatik insülin sensitivitesi ile anlamlı derecede bağlantılı olarak bulunmuştur. Ayrıca, dışarıdan pioglitazon verilmesi adiponektin seviyelerini arttırmakta ve bunun sonucunda da hepatik steatozda, nekroinflamasyonda ve fibroziste düzelmeler görülmektedir (10).

Rezistin, insülin rezistansının gelişiminde önemli bir fizyolojik rolü olduğu düşünülen adipoz doku kaynaklı bir proteindir (11).

Leptin, başlıca adipoz dokuda üretilen bir peptittir. Leptinin NAYKH'da fibrozis gelişimine katkı sağladığı düşünülmektedir. Leptin, insülin-reseptör substratı 1'in defosforilasyonunu uyarmak suretiyle hepatositlerin insülin rezistansını arttırmaktadır. Kronik hepatit C hastalarında, kan leptin seviyeleri fibrozis derecesi ile korelasyon göstermektedir (12).

Non alkolik yağlı karaciğer hastaları, karaciğer hastalığının biyokimyasal bulguları yönünden incelenirken aynı zamanda eşlik eden metabolik bozukluklar bakımından da araştırılmalıdır. Hastalarda açlık kan şekeri ile birlikte açlık insülin düzeyi de ölçülerek "Homeostasis Model Assessment-Insulin resistance" (HOMA-IR)'nin araştırılması yararlıdır. Bu yöntemde insülin direnci;

$IR = \text{açlık insülin değeri } (\mu\text{IU/mL}) \times \text{Açlık glukoz değeri } (\text{mg/dL}) / 405$  formülü ile hesaplanır. Bu değer  $\geq 2,7$  olması (IR) ve karaciğer yağlanması varlığında destekler (13).

Hepatit B virüsünde steatoz prevalansı ile ilgili çok az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalarda kronik HBV'li hastalarda steatoz prevalansı genel popülasyonla benzer bulunmuştur. Steatozun varlığı, metabolik sendrom tanı kriterleri ve BKİ (beden kitle indeksi) ile korele bulunurken, viral genotip ve viral yük ile ilişkili bulunmamış ve hatta steatozun fibrozis ile de ilişkisi bulunmamıştır (14).

İzole anti HBc varlığının klinik önemi tam olarak açık değildir. Ancak, anti HBc pozitif olan hastaların serumları PCR yöntemi ile incelendiğinde HBV DNA'nın saptanma oranı %0-20 arasında değişmektedir (15). İzole anti-HBc (+) olan hastalara karaciğer biyopsileri ile değerlendirildiğinde, bu hastaların %70'inden faz-

lasının karaciğer dokusunda HBV DNA saptanmaktadır. İzole anti HBc (+) olan donörlerin kan ya da başka organ için verici olarak detaylı incelemeleri yapıldığında aslında HBV enfeksiyonunu taşıdıkları ve bu durumun insidansının %0,4 ile 78 arasında değişebileceği öngörülmektedir (16).

Bu çalışmada, hepatosteatozu ve insülin direnci olan hastalarda, HBV ile karşılaşma sıklığı ve serum adipokin düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

## YÖNTEMLER

Bu çalışmaya, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji polikliniğine Temmuz 2011 ile Haziran 2012 tarihleri arasında çeşitli sebeplerle başvuran ve USG'de hepatosteatoz saptanan 195 hasta alındı. Fakat bu hastalardan insülin direncine sahip olan [HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment-Insulin resistance)  $\geq 2,7$ ] ve çalışmayı kabul eden 80 hasta çalışmaya alındı. Bu hastalara bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı. Bu hastaların demografik bilgileri alındı, biyokimyasal ve serolojik testleri yapıldı. Çalışma, 2008 yılında revize edilen 1975 Helsinki Bildirgesi ilkelerine ve Etik Kurulu Komisyonunun 30.06.2011/140 numaralı onayına istinaden yürütüldü. Tüm hastalara bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı ve hastaların onayı alındı.

### Hastalar

Çalışmaya dahil edilme kriterleri şunlardı: 1) 18 yaş üstü olgular 2) USG sinde yağlanma tespit edilen hastalar 3) İnsülin direnci olan hastalar (HOMA IR  $\geq 2,7$ ).

Çalışmadaki dışlanma kriterleri ise şunlardı: 1) Akut hepatit 2) HBsAg (+) ve anti-HCV (+) 3) Bilinen karaciğer sirozu 4) Alkol kullanımı (>20 gr/gün) 5) Diyabetes Mellitus (DM) 6) Gebelik 7) Metabolik ve genetik nedenli karaciğer hastalıkları (Wilson hastalığı, herediter hemokromatozis, alfa-1 antitripsin eksikliği) 8) Otoimmün karaciğer hastalıkları 9) Malignite tanısı almış hastalar 10) Hali hazırda hepatosteatoza yol açabilecek ilaç kullanımları (tetrasiklin, metotreksat, valproik asit v.b.).

### Laboratuvar İnceleme

Hastaların boy ve kiloları alınarak vücut kütle indeksi (VKİ) (kg/m<sup>2</sup>) hesaplandı. Hikâyede alkol kullanımı ve ilaç öyküsü sorgulandı. Hastalardan sabah alınan kandan tam kan sayımı, ayrılan serumdan ise biyokimyasal (AST, ALT, bilirubinler, albumin, lipid profili (total kolesterol, LDL, HDL, trigliserid), açlık kan şekeri (AKŞ), PT/INR) seruloplazmin, ANA, ASMA, alfa-1 antitripsin, protein elektroforezi, serum demiri, demir bağlama kapasitesi, ferritin) parametrelere bakıldı. Bunun yanı sıra alınan serum örneğinden adiponektin (ng/mL), resistin (ng/mL), leptin (ng/mL) ve insülin (IU/mL) bakıldı. İnsülin direnci açlık kan şekeri (mg/dL) ve insülin (IU/mL) düzeylerine bakılarak, HOMA-IR skoru ile hesaplandı.

### USG ile Değerlendirme

Hastaların hepatobiliyer ultrasonografisi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalında, "Siemens ACUSON Antares adlı cihaz" ile CH4-1 MHz Prob yardımıyla yapıldı. Yağlanmanın USG'de tanısı "parlak karaciğer" in görülmesi ve/veya glisson kapsülünde ekojenite kaybı olarak konuldu.

Hepatosteatozun USG ile derecelendirilmesinde aşağıdaki kriterler esas alındı: Grade 1: Hafif yağlanma. Hepatik ekojenitede minimal diffüz artma, intrahepatik (portal ven) damar sınırları ve diyafragmanın net şekilde izlenmesi. Grade 2: Orta derecede yağlanma. Hepatik ekojenitede orta derecede diffüz olarak artma, intrahepatik damar sınırları ve diyafragma görünümünün netliğini kaybetmesi. Grade 3: Şiddetli yağlanma. Hepatik ekojenitede belirgin derecede artma. Karaciğer posterior segmenti, intrahepatik damarlar ve diyafragmanın görülememesi.

#### İnsülin Direncinin Hesaplanması

İnsülin direnci ölçümü için (HOMA-IR) gerekli olan açlık insülin düzeyi Abbott Architect i2000 SR cihazında CMIA (chemiluminescent microparticle immunassay) yöntemi ile çalışıldı. Daha sonra HOMA-IR skorunu hesaplamak için aşağıdaki formül kullanıldı.

$HOMA-IR = \text{açlık insülin değeri } (\mu\text{IU/mL}) \times \text{Açlık glikoz değeri } (\text{mg/dL}) / 405$ . HOMA-IR düzeyi 2,7 ve üzerinde olan değerler insülin direnci olarak kabul edildi. HOMA-IR  $\geq 2,7$  olan hastalarda anti-HBc IgG bakıldı. Anti-HBc IgG (+) vakalarda anti-HBs, ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi ile çalışıldı.

#### Adiponektin, Resistin ve Leptin Düzeyleri

Anti-HBc IgG (+) ve antiHBc IgG (-) olan vakalarda aşağıdaki işlemler sırasıyla yapılarak plazma örnekleri değerlendirildi: Hastadan aynı anda alınan 2 mL EDTA'lı kan örnekleri 30-60 dakika süreyle oda ısısında bekletildi. Bekletilmiş kan, 4000 rpm de 5-10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen plazma örnekleri epandrof tüplere konuldu. Epandrof tüplerdeki plazma örnekleri, daha sonra adipokinler çalışılmak üzere  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuya yerleştirildi. Tüm örnekler biriktirildikten sonra derin dondurucudan çıkartılarak  $-80^{\circ}\text{C}$ 'den, önce  $-20^{\circ}\text{C}$ 'ye alındı, daha sonra  $-20^{\circ}\text{C}$ 'deki plazma örnekleri oda ısısında bekletilerek  $+4^{\circ}\text{C}$ 'ye

gelmesi sağlandı. Bu süre yaklaşık olarak 60 dakika kadar sürdü. Daha sonra ELISA yöntemi ile adipokinler (adiponektin, resistin, leptin) çalışıldı. Adiponektin düzeyi (ng/mL), ELx800 (Biotek Inc.; Ca, USA) cihazında Invitrogen ELISA kiti ile çalışılarak elde edildi. Resistin düzeyi (ng/mL), ELx 800 (Biotek Inc.; Ca, USA ) cihazında AssayMa ELISA kiti ile çalışılarak elde edildi Leptin düzeyi (ng/mL), ELx 800 (Biotek Inc.; Ca, USA) cihazında Invitrogen ELISA kiti ile çalışılarak elde edildi.

#### İstatistiksel Analiz

Çalışma sonunda elde edilen verilerin istatistiksel analizinde Statistical Package for Social Sciences 16,0 (SPSS Inc.; versiyon 16,0, Chicago, IL, ABD) istatistik paket programı kullanıldı. Çıkan sonuçlar, ortalama değer ( $\pm$ ) standart sapma ve yüzdelik olarak verildi. Kategorik değişkenler için ki-kare testi, ortalaması alınabilen değişkenler için student-t testi, korelasyon analizlerinde Pearson korelasyon testi uygulandı. Grupların kendi içerisindeki kategorik değerlendirilmesinde nonparametrik ki kare testi kullanıldı. Tüm testler için  $p \leq 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### BULGULAR

Çalışmamıza, hepatosteatoz ve insülin direnci tespit edilen 80 hasta alındı. Tüm hastaların yaş ortalaması  $44,73 \pm 13,17$  (21-78 yıl) ve VKİ ( $\text{kg/m}^2$ ) ortalamaları  $30,15 \pm 3,15$  olarak saptandı. Hastaların 47'si kadın (%58,75) ve yaş ortalamaları  $47,31 \pm 12,99$  iken, erkeklerin yaş ortalaması ise  $41,06 \pm 12,72$  olarak bulundu.

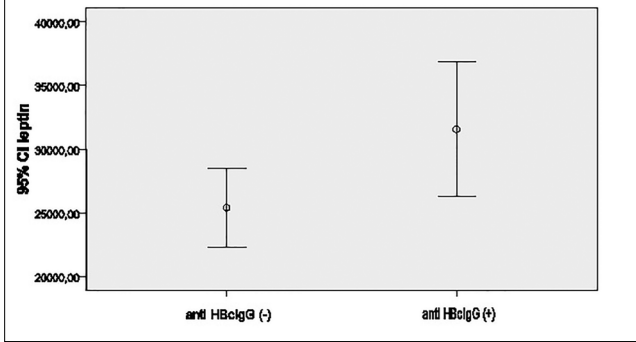
Ultrasonografik incelemede hastalar steatoz açısından grade 1 (hafif), grade 2 (orta), grade 3 (ileri) yağlanma olarak değerlendirildi. Ultrasonografide 31 hasta grade 1, 43 hasta grade 2 ve 6 hasta grade 3 olarak tespit edildi. Anti-HBc IgG (+) olan hastalar USG'ye göre karaciğer yağlanması açısından incelendiğinde 10 hasta grade 1, 17 hasta grade 2, 2 hasta grade 3 olarak saptanırken, anti-HBc IgG (-) olan hastalara bakıldığında USG'ye göre

**Tablo 1.** Anti-HBc IgG (+) ve anti-HBc IgG (-) grupta demografik ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması

	Anti HBc IgG (+)	Anti HBc IgG (-)	p
VKİ ( $\text{kg/m}^2$ )	$30,67 \pm 4,33$	$29,86 \pm 3,00$	ns
Yaş (yıl)	$45,96 \pm 12,19$	$44,03 \pm 13,76$	ns
HOMA-IR	$3,63 \pm 1,18$	$3,92 \pm 2,12$	ns
Adiponektin (ng/mL)	$26229,44 \pm 8497,45$	$26149,73 \pm 6868,67$	ns
Resistin (ng/mL)	$38,13 \pm 17,14$	$32,91 \pm 14,46$	ns
Leptin (ng/mL)	$31569,72 \pm 14027,64$	$25410,73 \pm 10978,26$	0,047
İnsülin (IU/mL)	$16,37 \pm 5,42$	$17,31 \pm 8,28$	ns
HDL (mg/dL)	$46,55 \pm 19,95$	$43,45 \pm 10,71$	ns
LDL (mg/dL)	$132,76 \pm 23,37$	$126,08 \pm 35,96$	ns
T.kolesterol (mg/dL)	$201,14 \pm 29,07$	$197,04 \pm 40,66$	ns
Trigliserid (mg/dL)	$177 \pm 52,19$	$204,45 \pm 143,69$	ns
ALT (U/L)	$49,31 \pm 57,28$	$40,92 \pm 31,78$	ns
AKŞ (mg/dL)	$91,82 \pm 6,97$	$92,54 \pm 8,64$	ns

ALT: alanine aminotransferase; AKŞ: açlık kan şekeri; HDL: high density lipoprotein; HOMA-IR: homeostasis model assesment-insulin resistance; LDL: low density lipoprotein; T.kolesterol: total kolesterol; VKİ: vücut kitle indeksi

Şekil 1. Anti-HBc IgG (+) ve anti-HBc IgG (-) grupta leptin düzeyleri



21 hasta grade 1, 26 hasta grade 2, 4 hasta grade 3 olarak tespit edildi.

Hastalar serolojik açıdan incelendiğinde ise 29 (%36,2)'unda anti-HBc IgG (+)'liği saptandı. Anti-HBc IgG (+) olanların 18'i kadın, 11'i erkek idi. Geri kalan 51 (%63,8) hasta anti-HBc IgG (-) idi. Anti-HBc IgG (-) grupta 29 kadın, 22 erkek vardı. İki grup arasında cinsiyet bakımından farklılık yoktu ( $p=0,327$ ).

Anti-HBc IgG (+) olan 29 hastanın 8 (%27,5)'inde anti-HBs (-) olup izole anti-HBc IgG (+) liği olarak kabul edildi. Bu hastaların 21 (%72,5)'inde anti-HBs (+) idi. Öte yandan anti-HBc IgG (-) olan 51 hastanın 35'inde (%68,6) anti-HBs (-) idi. Ancak 16 (%31,4) hastada anti-HBs (+) bulunmuş ve bu hastaların aşı ile anti-HBs oluşturduğu kabul edildi.

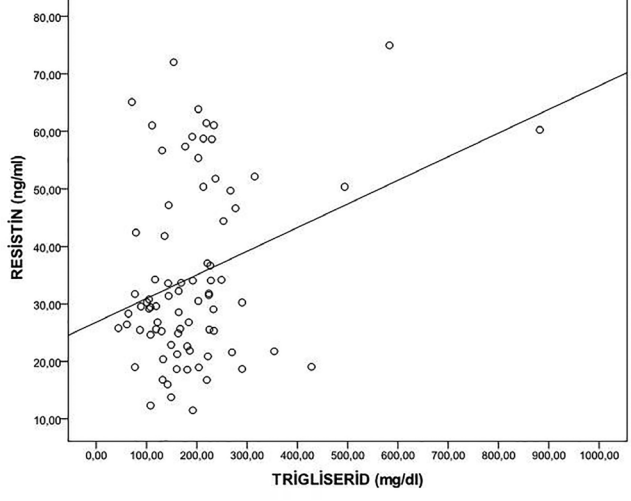
Her iki gruptaki hastaların, VKİ ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), HOMA-IR, AKŞ ( $\text{mg}/\text{dL}$ ), trigliserid ( $\text{mg}/\text{dL}$ ), total kolesterol ( $\text{mg}/\text{dL}$ ), LDL, HDL, insülin ( $\text{IU}/\text{mL}$ ), resistin ( $\text{ng}/\text{mL}$ ), adiponektin ( $\text{ng}/\text{mL}$ ), ALT ( $\text{U}/\text{L}$ ) değerlerinin ortalamaları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 1). Ancak Anti-HBc IgG (+) grupta leptin değerleri  $31569,72 \pm 14027,64$  bulunurken, anti-HBc IgG (-) grupta  $25410,73 \pm 10978,26$  saptandı. Her iki grup arasında leptin ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdi ( $p=0,047$ ) (Şekil 1).

VKİ  $<30 \text{ kg}/\text{m}^2$  olan hastalarda leptin düzeyleri incelendiğinde, anti-HBc IgG (+) olan grupta leptin değerleri ( $31909 \pm 14618,63$ ), anti-HBc IgG (-) gruba göre ( $24072 \pm 10240,53$ ) anlamlı olarak daha yüksek saptandı. Anti-HBc IgG (+) olan grupta leptin düzeyleri anlamlı olarak daha yüksekti ( $p<0,05$ ). VKİ  $>30 \text{ kg}/\text{m}^2$  olan hastalarda leptin düzeyleri incelendiğinde, anti-HBc IgG (+) ve anti-HBc IgG (-) grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,695$ ).

Her iki grupta, adipokin düzeyleri ile, diğer biyokimyasal parametreler arasında korelasyon analizleri yapıldı. Her iki gruptaki hastaların serum resistin ve trigliserid düzeyleri arasında anlamlı derecede pozitif korelasyon saptandı ( $r=0,314$ ,  $p=0,005$ ) (Şekil 2).

Resistin trigliserid ile karşılaştırılmasında pozitif korelasyon saptanmasına rağmen, resistin, AKŞ, HDL, LDL, T.kolesterol, insu-

Şekil 2. Hepatosteatozlu hastalarda resistin ile trigliserid düzeyleri arasında pozitif korelasyon ( $p=0,005$ )



lin, HOMA-IR, ALT düzeyleri ile herhangi bir korelasyon gözlenmedi.

Hastalar anti-HBc IgG (+) ve anti-HBc IgG (-) olarak gruplara ayrıldıktan sonra adipokin düzeyleri ile, diğer biyokimyasal parametreler arasında korelasyon analizleri yapıldı.

Anti-HBc IgG (+) grupta, adiponektin düzeyleri ile VKİ arasında anlamlı negatif korelasyon gözlenirken, leptin ile AKŞ arasında anlamlı negatif korelasyon gözlemlendi ( $p=0,049$ ), ( $p=0,017$ ). Anti-HBc IgG (-) grupta ise, resistin ile trigliserid düzeyleri arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlenirken, leptin ve insülin düzeyleri arasında anlamlı negatif korelasyon gözlemlendi ( $p=0,001$ ), ( $p=0,0419$ ).

## TARTIŞMA

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, uzun zamandan beri bilinmekte ve farklı etiyolojilerle birlikte karşımıza çıkmaktadır. NAYKH'nın kesin tanısı karaciğer biyopsisi ile konulsa da, bu yöntem invaziv, pahalı ve özel koşullar gerektirmesi nedeni ile elverişli olarak görülmemektedir. Bu nedenle tanıda radyolojik yöntemler ve biyokimyasal testler daha çok tercih edilmektedir (17).

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığında etyopatogeneze bakıldığında insülin direncinin anahtar bir role sahip olduğu görülür. İnsülin direnci, neden olduğu inflamatuvar süreç sonucunda steatohepatit ve fibrozis gelişimine neden olmaktadır. Bu nedenle insülin direncine neden olan sitokin ve adipokinlerin son derece önemli olduğu görülmektedir. Adipokinler; adipositlerden ve adipositler arasında bulunan bağ dokusu hücrelerinden salgılanan proteinlerdir. Bu proteinlerin proinflamatuvar süreçte, artmış immün aktivitede, sistemik insülin direncinde rol aldıkları bilinmektedir. Literatürde NAYKH ile insülin direncini araştıran noninvaziv yöntemler arasında sayılabilecek olan adipokin seviyesi ile ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır. Bunlar arasında birçok klinik tablo ile leptin, adiponektin, TNF-alfa, resistin, IL-6 düzeyi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmada resistin, karaciğer yağlanmasında

yüksek bulunmuş ve rezistinin insülin direncine yol açarak NAYKH gelişimine neden olabileceği düşünülmüştür (18).

Klinik pratikte trigliseride biyokimyasal metotlarla bakılması oldukça pratikken, resistinin laboratuvar testi olarak bakılması gerek kit temini, gerekse yaygın kullanımının olmaması nedeniyle zorluk teşkil etmektedir. Bizim çalışmamızda trigliserid ile resistin arasındaki pozitif korelasyon olması trigliseridin bu bağlamda rezistinin yerine kullanılabilmesi umudunu doğurmuştur. Adiponektin ise başlıca adipoz dokuda salınan bir hormon olup antiinflamatuvar etkisi bulunmaktadır; bu hormon karaciğerde TNF-alfa üretimini baskılamakta ve böylece adiponektin artışı NAYKH gelişimini azaltmaktadır. IL-6 ise şu ana kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde yine serum seviyesindeki artışı ile NAYKH açısından anlamlı bulunmuştur. TNF-alfa ve IL-6'nın serum seviyesinin diğer adipokinlerle paralellik göstermesi göz önünde bulundurulurken, çalışmamızda TNF-alfa ve IL-6 yerine serum adiponektin, resistin, leptin seviyelerini araştırdık. Leptin seviyesini, anti-HBc IgG (+) olan grupta anlamlı olarak yüksek tespit ettik. Bununla ilgili bir çalışmada, NAYKH'nın patolojik derecelendirilmesinde kullanılan brunt sınıflaması ile leptin düzeyi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Brunt sınıflamasına göre patolojik derecelenme yükseldikçe leptin seviyesinin de arttığı tespit edilmiştir (19).

Kronik viral hepatitlerde inflamatuvar süreçte artmış leptin üretiminin, CD4 T lenfositleri ve makrofajları uyarak sitokin salınımına yol açtıkları öne sürülmüştür (20). Bazı hayvan modellerinde ise leptinin aktive ettiği T hücrelerinin ya direkt hepatosit üzerine sitotoksik etki göstererek ya da aktif haldeki T hücrelerinin saldırdıkları mediatörler sayesinde hepatositleri hasara uğrattıkları tespit edilmiştir (21). Yine bir başka çalışmada, kronik viral hepatitli hastalarda leptin sisteminin, immunpatogeneze rolü olduğu gösterilmiştir (22).

Leptinin karaciğer yağlanması da kronik viral hepatitlerde de artabileceği bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda, kronik hepatit yapan etkenin leptin seviyesini artırarak karaciğer hasarını oluşturacağı ve leptin artışının virüs nedeni olabileceği göz önüne alınarak biz kronik HBV ve HCV olan hastaları çalışma dışı bıraktık. Anti-HBc IgG varlığına bakarak hastaları çalışmaya dahil ettik. Anti-HBc IgG (+) hastaların HBV ile karşılaştığı fakat sadece antijen (HBsAg) oluşturmadığı ve bu nedenle kronik hepatit kapsamında değerlendirilmediği bilinmektedir. Anti-HBc IgG (+) hastalara bu nedenle ne karaciğer biyopsisi yapılmakta, ne de tedavi verilmektedir. Dolayısıyla, HBV yokluğunda, fakat belki de saptanamaz düzeyde varlığında, ya da rutin tetkiklerle bulunmayan bölgelerde gizlenmiş olması durumunda (HBsAg (-) olup karaciğer biyopsisinde PCR ile saptanan HBV DNA'lar gibi), leptinin yüksek bulunması, leptin ile HBV arasında olduğu gibi leptin ile anti-HBc IgG (+)'liği arasında da bir ilişki olabileceğini akla getirmektedir. Burada leptinin, yine HBV'de kullandığı yolları, anti-HBc IgG (+)'liği durumunda da kullanarak karaciğer hasarı ve hepatosteatoza yol açtığı kanaatindeyiz.

Bununla birlikte leptinin, kronik karaciğer hastalığı gelişiminde ve hepatik fibrojenekte rolü olduğunu gösteren çalışmalar varken, beklenenin aksine bir çalışmada leptin seviyesinin kronik hepatitlerde azaldığı gösterilmiştir (23). Başka bir çalışmada ise

kronik HCV'li hastalarda yüksek serum leptin düzeyi bulunmuştur (24). Ancak bu konunun aydınlatılması için daha ileri araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Kronik HCV'nin hepatosteatozdaki fizyopatogeneze yönelik yapılan çalışmalarda HCV core proteini ve NS3 (Non structural HCV protein 3) üzerinden oksijen radikallerinin artmasıyla kupfer hücrelerinde lipid peroksidasyonu meydana gelmektedir. Bunun sonucunda, adiponektin azalması, TNF-alfa ve leptin artışıyla insülin direnci ortaya çıkmaktadır (25). Diğer taraftan serbest radikallerin artışı sonucu trigliserid kümelenmesi, apo b lipoprotein azalmasıyla steatoz gerçekleşmektedir. Leptin eğer sadece yağlanma nedeniyle artmış olsaydı, o zaman leptin arttıkça insülin direnci de artmalıydı ve beraberinde insülin seviyesi de artmalıydı. Oysa ki çalışmamızda anti-HBc IgG (-) grupta leptin arttıkça insülin miktarı ters orantılı olarak anlamlı düzeyde azalırken ve negatif korelasyon gösterirken, anti-HBc IgG (+) grupta da benzer bir negatif korelasyon görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu durum anti-HBc IgG (+) grupta leptin artışının doğrudan yağlanma nedeniyle değil de, belki saklı duran virüsün buna yol açtığı düşüncesini akla getirmektedir.

Hepatit B virüsü ile karşılaşmış olmanın delili olan anti-HBc IgG (+)'liğinin hepatosteatoza yol açıp açmayacağı, eğer açarsa ne derece etkili olabileceği henüz bilinmemektedir. HBV ile karşılaşan ve iyileşen hastalarda, hepatosteatoz ve insülin direncine yönelik yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu soruya cevap vermek için tasarladığımız bu çalışmada anti HBc IgG (+) olan hastalarda leptin düzeyini, anti-HBc IgG (-) olan hastalara göre anlamlı olarak yüksek tespit ettik. Leptin düzeyinin obezite ile ilişkili olarak yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (26). Bizim çalışmamızda her iki grup arasında VKİ açısından fark bulunamadı. Her iki gruptaki hastalar VKİ>30 kg/m<sup>2</sup> olarak karşılaştırıldığında, anti-HBc IgG (+) gruptaki hastalarda daha yüksek leptin oranı saptanmasına rağmen bu sonuç, istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bununla birlikte, VKİ<30 kg/m<sup>2</sup> göre gruplar karşılaştırıldığında, anti-HBc IgG (+) olan grupta leptin düzeyleri, anti-HBc IgG (-) olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Bu durum leptinin, obezite dışı bir sebeple anti-HBc IgG (+) olan grupta artışını akla getirmektedir.

Karaciğer biyopsisi ile hepatosteatozu kanıtlanmış kronik HBV'li hastalarda yapılan bir çalışmada, HBV DNA düzeyi ile adiponektin düzeyi arasında pozitif yönde ilişki saptanırken, insülin direnci (HOMA-IR ile değerlendirilerek) ve adiponektin arasında ise negatif yönde ilişki saptanmış. İnsülin direnci ile leptin ve IL-6 arasında ise pozitif yönde korelasyon bulunurken, HBV DNA ile leptin ve IL-6 arasında herhangi bir ilişki saptanmamış. HBeAg (+) ve HBeAg (-) olması ile adipokin düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmamış (27). Buradaki leptin artışının HBV'den kaynaklandığını söylemek iddialı olabilir. Bu çalışmada karaciğeri eşit düzeyde yağlanmış HBV taşıyan ve taşımayan iki grup ele alınarak leptin bakılıysaydı, HBV kolunda leptindeki artışın daha fazla olması halinde HBV'nin doğrudan leptin ile ilişkili olabileceği düşünülebilirdi. Literatürde maalesef böyle bir çalışma bulunmamaktadır. Literatür ışığında yağlı karaciğerlerde zaten leptin ile insülin direncinin pozitif yönde korele olduğu bilinmektedir. Ayrıca ülkemizden yapılan bir

çalışmada, obezitenin temel nedeninin, serum leptinin kan-beyin bariyerinden transportundan kaynaklandığı ortaya konmuştur (28). Son yıllarda ülkemizde yapılan bir çalışmada kronik hepatit B'li ve karaciğer biyopsisinde yağlanma olan 119 hasta incelenmiş ve karaciğer yağlanmasının, oral antiviral tedavide virolojik cevabı etkilemediği tespit edilmiştir (29). Bizim çalışmamızda karaciğer biyopsisi yapılamadığından USG ile saptanan yağlı karaciğerlerin eşit düzeyde yağlanma gösterdiğini söylemek güçtür. Fakat yine de USG'deki yağlanma düzeyleri, VKİ ve kan yağ profili açısından her iki grup arasında anlamlı bir farklılık olmadığından, bu iki grubun karşılaştırılabilir düzeyde benzer yağlandığı söylenebilir. Bu nedenle çalışmamızda anti-HBc IgG (+) olan grupta, leptin düzeylerinin yüksek oluşunu, HBV ile karşılaşmış olma durumuna bağlıyoruz. Dolayısı ile Leptin artışını tek başına yağlanmaya atfedemeyiz. Öyleyse leptindeki bu artış, HBV ile karşılaşmış olma durumu ile ilişkilidir diye iddia edilebilir.

Bu bulgular neticesinde çalışmamızda USG ile hepatosteatozu bulunan HBV ile karşılaşmış hastalarda leptin seviyesinin yüksek bulunması NAYKH etyolojisinde anti-HBc IgG (+)'liğinin de yer alabileceğini düşündürmektedir. Anti-HBc IgG (+)'liği olan hastalarda HBV DNA seviyelerine bakılarak HBV yükünün leptin seviyesi, dolayısıyla yağlanma düzeyi ile ilişkisi daha net olarak ortaya konabilirdi. Ancak bizim hastalarımızda HBV DNA seviyesine bakılmadı. Çünkü kanda bakılıp negatif bulunan HBV DNA'nın karaciğer biyopsisinde pozitif bulunma ihtimali vardı. Etik nedenlerle yapılamayan karaciğer biyopsisi, karaciğer dokusunda bakılacak HBV DNA'ya da engel teşkil etmekteydi.

Non alkolik yağlı karaciğer hastalığı etyopatogenezinde, leptin faydalı bir test olarak gözükse de endüstriyel kullanımının sınırlı olması, tetkik olarak pahalı ve pratik olmaması kullanılabilirliğini sınırlamaktadır. Oysaki poliklinikte USG ile steatoz saptanmış bir hastada anti-HBc IgG bakmak oldukça pratik bir yoldur. Bu hastalarda saptanan anti-HBc IgG (+)'liği ve leptin seviyesi yüksekliği, leptinin hepatosteatoz etyopatogenezinde rol oynayan bir molekül olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle çalışmamız NAYKH etyopatogenezinde anti-HBc IgG bakmanın önemli bir laboratuvar tetkiki olabileceğini gözler önüne sermektedir. Klinik pratikte steatoz bakılan hastalarda anti HCV, HBsAg bakıldığı gibi anti-HBc IgG'nin de bakılması rutin tetkikler arasına girebilir. Fakat bu tip hastaların ne takibinde ne de tedavisinde steatozun gidişatı hakkında yorum yapmak mevcut bilgiler ile pek mümkün gözükmemektedir.

## SONUÇ

Sonuç olarak, hepatosteatoz ve insülin direnci etyolojisinde, anti-HBc IgG (+)'liği de gözönünde bulundurulmalıdır. Ayrıca hepatosteatoz ve insülin direnci olup, anti-HBc IgG (+) olan hastalarda siroza ilerleme açısından, anti-HBc IgG (-) olan hastalara göre uzun vadede bir fark olup olmadığını göstermek için daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için etik komite onayı Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Komisyonu'ndan alınmıştır (30.06.2011/140).

**Hasta Onamı:** Yazılı hasta onamı bu çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış Bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - M.T.G.;Tasarım - M.T.G., S.K.Ç.; Denetleme - A.B., Y.B.; Kaynaklar - TF.11.35; Malzemeler - S.K.Ç.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - S.K.Ç.; Analiz ve/veya Yorum - M.T.G., Y.B.; Literatür Taraması - A.B.; Yazıyı Yazan - A.B.; Eleştirel İnceleme - A.B.

**Teşekkür:** Yazarlar; araştırmacılara, koordinatörlere, hemşirelere, hastalara ve ailelerine katkılarından dolayı teşekkür ederler.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma, TF.11.35 proje numarası ile Gaziantep Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) birimi tarafından desteklenmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was received for this study from Gaziantep University School Medicine Clinical Research Ethics Committee (30.06.2011/140).

**Informed Consent:** Written informed consent was obtained from patients who participated in this study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author contributions:** Concept - M.T.G.; Design - M.T.G., S.K.Ç.; Supervision - A.B., Y.B.; Resource - TF.11.35; Materials - S.K.Ç.; Data Collection and/or Processing - S.K.Ç.; Analysis and/or Interpretation - M.T.G., Y.B.; Literature Search - A.B.; Writing - A.B.; Critical Reviews - A.B.

**Acknowledgements:** The authors thank to researchers, coordinators, nurses, patients and their families.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Financial Disclosure:** This study was supported by the Gaziantep University BAP (Scientific Research Projects) unit of with project number TF.11.35.

## KAYNAKLAR

- Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 434-8.
- Sheth SG, Gordon FD, Chopra S. Nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 137-45. [\[CrossRef\]](#)
- Yatsuji S, Hashimoto E, Tobari M, Taniai M, Tokushige K, Shiratori K. Clinical features and outcomes of cirrhosis due to non-alcoholic steatohepatitis compared with cirrhosis caused by chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 248-54. [\[CrossRef\]](#)
- McCullough AJ. The epidemiology and risk factors of NASH. In: Farrell GC, George J, dela M Hall P, McCullough AJ, editors. *Fatty Liver Disease: NASH and Related Disorders*. Malden, MA: Blackwell Publishing, 2005; 23-37.
- Fan JG, Zhu J, Li XJ, Chen L, Li L, Dai F, et al. Prevalence of and risk factors for fatty liver in a general population of Shanghai, China. *J Hepatol* 2005; 43: 508-14. [\[CrossRef\]](#)
- Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-95. [\[CrossRef\]](#)
- Sass DA, Chang P, Chopra KB. Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical review. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 171-80. [\[CrossRef\]](#)

8. Van der Poorten D, Milner KL, Hui J, Hodge A, Trenell MI, Kench JG, et al. Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology* 2008; 48: 449-57. [\[CrossRef\]](#)
9. Nazal L, Riquelme A, Solis N, Pizarro M, Escalona A, Burotto M, et al. Hypoadiponectinemia and its association with liver fibrosis in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2010; 20: 1400-7. [\[CrossRef\]](#)
10. Savvidou S, Hytioglou P, Orfanou-Koumerkeridou H, Panderis A, Frantzoulis P, Goulis J. Low serum adiponectin levels are predictive of advanced hepatic fibrosis in patients with NAFLD. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 765-72. [\[CrossRef\]](#)
11. Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, et al. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest* 2004; 114: 232-9. [\[CrossRef\]](#)
12. Crespo J, Rivero M, Fábrega E, Cayón A, Amado JA, García-Unzeta MT, Pons-Romero F. Plasma leptin and TNF-alpha levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 1604-10. [\[CrossRef\]](#)
13. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917-23. [\[CrossRef\]](#)
14. Peng D, Han Y, Ding H, Wei L. Hepatic steatosis in chronic hepatitis B patients is associated with metabolic factors more than viral factors. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1082-8. [\[CrossRef\]](#)
15. Chung HT, Lee JS, Lok AS. Prevention of posttransfusion hepatitis B and C by screening for antibody to hepatitis C virus and antibody to HBcAg. *Hepatology* 1993; 18: 1045-9. [\[CrossRef\]](#)
16. Dickson RC, Everhart JE, Lake JR, Wei Y, Seaberg EC, Wiesner RH, et al. Transmission of hepatitis B by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis B core antigen. The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Gastroenterology* 1997; 113: 1668-74. [\[CrossRef\]](#)
17. Lewis JR, Mohanty SR. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 560-78. [\[CrossRef\]](#)
18. Tsochatzis EA, Papatheodoridis GV, Archimandritis AJ. Adipokines in Nonalcoholic Steatohepatitis: From Pathogenesis to Implications in Diagnosis and Therapy. *Mediators Inflamm* 2009; 2009: 831670. [\[CrossRef\]](#)
19. Gordon A, McLean CA, Pedersen JS, Bailey MJ, Roberts SK. Hepatic steatosis in chronic hepatitis B and C: Predictors, distribution and effect on fibrosis. *J Hepatol* 2005; 43: 38-44. [\[CrossRef\]](#)
20. Koziel MJ. Cytokines in viral hepatitis. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 157-69. [\[CrossRef\]](#)
21. Sennello JA, Fayad R, Morris AM, Eckel RH, Asilmaz E, Montez J, et al. Regulation of T cell-mediated hepatic inflammation by adiponectin and leptin. *Endocrinology* 2005; 146: 2157-64. [\[CrossRef\]](#)
22. Stefanou N, Satra M, Papanikolaou V, Kalala F, Gatselis N, Germeis A, et al. Leptin receptor isoforms mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic viral hepatitis. *Exp Biol Med* 2006; 231: 1653-63.
23. Konstantinides S, Schafer K, Koschnick S, Loskutoff DJ. Leptin-dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism for atherothrombotic disease in obesity. *J Clin Invest* 2001; 108: 1533-40. [\[CrossRef\]](#)
24. Piche T, Gelsi E, Schneider SM, Hebuterne X, Giudicelli J, Ferrua B, et al. Fatigue is associated with high circulating leptin levels in chronic hepatitis C. *Gut* 2002; 51: 434-9. [\[CrossRef\]](#)
25. Persico M, Iolascon A. Steatosis as a co-factor in chronic liver disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1171-6. [\[CrossRef\]](#)
26. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentration in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334: 292-5. [\[CrossRef\]](#)
27. Wong VW, Wong GL, Yu J, Choi PC, Chan AW, Chan HY, et al. Interaction of adipokines and hepatitis B virus on histological liver injury in the Chinese. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 132-8. [\[CrossRef\]](#)
28. Hekimoğlu A. Role of Leptin on Physiopathologic Actions. *Dicle Tıp Dergisi* 2006; 33: 256-67.
29. Karaman A, Gürsoy Ş, Soyuer I, Karaman H, Torun ME, Yurci MA, et al. Effect of hepatic steatosis on virological response to nucleos(t)ide analogs therapy in patients with chronic hepatitis B. *Turk J Med Sci* 2013; 43: 70-4.

**How to cite:**

Balkan A, Gülşen MT, Balkan Y, Kaya Çalı S. Relationship between the frequency of hepatitis B virus infections and levels of serum adipokines in patients with hepatosteatoz and insulin resistance. *Eur J Ther* 2017; 23(2): 60–6.