

VİRAL HEPATİTLERDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN VE İNHİBİTÖRLERİNİN EKSPRESYON PATERNLERİ VE BUNLARIN FİBROZİS İLE İLİŞKİLERİ

F. Pınar Uyar GÖÇÜN^{1*}, Banu BİLEZİKÇİ²

ÖZ

Amaç: Bu araştırmanın amacı, kronik viral hepatitli hastaların karaciğer biyopsilerinde MMP ve TIMP ekspresyonlarının şiddeti ve yaygınlığı ile fibrozis evresinin ve nekroinflamatuvar derecesinin ilişkisini saptamaktır.

Gereç ve Yöntem: 67 kronik viral hepatitli hastanın karaciğer biyopsilerinde MMP'lerin ekspresyon yaygınlığını, şiddetini ve lokalizasyonunu değerlendiren, TIMP-1 ve TIMP-2 ile korelasyonunu araştırdık. Yirmiyedi kronik B hepatitli, 40 kronik C hepatitli hastanın karaciğer biyopsileri ve 5 normal kontrol karaciğer biyopsisi immünohistokimyasal olarak MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 ile boyandı. Hastalara ait klinik bilgiler dosyalarından elde edildi.

Bulgular: HBV veya HCV ile ilişkisinden bağımsız olarak MMP-9 ekspresyonu hepatositlerde çok az oranda (%3) iken, MMP-2 olguların %43'ünde hepatositlerde ve portal alanlardaki iğsi hücrelerde eksprese oldu. TIMP-1 ve TIMP-2 ile hepatositlerde, sinüzoidal hücrelerde ve portal alanlardaki iğsi hücrelerde değişen oranlarda (sırasıyla %12 ve 21) boyanma görüldü. Sadece TIMP-1 ekspresyonu MMP-2 ekspresyonu ile korelekti ($p=0.01$). Diğer yandan ne MMP-2 ve MMP-9 ne de TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonları inflamasyonun ve fibrozisin yaygınlığı ile korelasyon göstermedi.

Sonuç: MMP ve TIMP'lerin kan seviyeleri ile siroz gelişiminin korele olduğu birçok grup tarafından gösterilmiş olsa da bizim bulgularımıza göre viral hepatit örneklerindeki MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyon paternlerindeki değişiklikler serumdaki konsantrasyon değişikliklerini açıklamaz ve hastalığın ilerlediğini göstermez. Bu nedenle kandaki seviyelerinin karaciğere spesifik olduğu net değildir.

Anahtar Kelimeler: Kronik Viral Hepatit, Fibrozis, Evreleme, MMP, TIMP.

EXPRESSION PATTERNS OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND THEIR INHIBITORS IN VIRAL HEPATITIS AND THEIR RELATION WITH FIBROSIS

ABSTRACT

Purpose: To determine the association between the expression patterns of matrix metalloproteinases (MMPs) and extent of fibrosis and inflammation in chronic viral hepatitis.

Materials and Methods: We examined the expression and localization of MMP-2 and MMP-9 and correlated the data with their main inhibitors, tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1 and TIMP-2), in 67 chronic viral hepatitis patients. Immunohistochemistry was performed for MMPs and TIMPs in liver biopsies of 5 normal controls, 27 patients with chronic hepatitis B, and 40 patients with chronic hepatitis C.

Results: In viral hepatitis, MMP-9 expression in hepatocytes was very small (3%), whereas MMP-2 was expressed in hepatocytes and in some spindle cells in the portal tracts in 43% of the cases. Variable degrees of staining were observed in hepatocytes, sinusoidal cells, and spindle cells in the portal tract for TIMP-1 and TIMP-2 (12% and 21%, respectively). Only TIMP-1 expression correlated with the expression of MMP-2 ($p=0.01$). On the other hand, neither MMP-2 and MMP-9 nor TIMP-1 and TIMP-2 expressions showed any correlation with the extent of inflammation and fibrosis. Conclusion: Our findings showed that alterations in the expression patterns of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the samples of viral hepatitis do not explain the changes in serum concentrations and do not mirror the progression of the disease. Thus, it is still unclear whether their circulating levels are liver specific.

Key Words: Chronic Viral Hepatitis, Fibrosis, Staging, MMPs, TIMPs.

Geliş Tarihi: 18/10/2007

Kabul Tarihi: 13/11/2007

Received: October 18, 2007

Accepted: November 13, 2007

GİRİŞ

Kronik viral hepatit, hepatit B, C ve D virüslerinden en az bir tanesi ile ilişkili biyokimyasal, klinik ve histopatolojik bulgular paterni olarak tanımlanmaktadır.¹ Kronik viral hepatit inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hepatosit ölümü, atrofi, rejenerasyon ve fibrozisin karışımı ile karakterizedir.²

Kronik hepatitte prognoz sadece fibrozisin ilerlemesi ile değil, aynı zamanda nekroinflamatuvar grade ile de ilişkilidir. Bunlardan fibrozis, siroz gelişiminde rolü olduğu için daha önemlidir. Fibroproliferatif aktivitenin tanısal değerlendirmesi zordur ve halen altın standart olarak kabul edilebilecek non invaziv testler veya markerler yoktur. Karaciğer biyopsisi fibrozisin değerlendirilmesinde hala altın standart olarak kabul edilmektedir ancak histolojik aktivite skorları prognozun belirlenmesinde yine de sınırlıdır.^{3,4}

Hepatik fibrozis, matriks sentezinin artışı ve bağ dokusu proteyin yıkımının azalması sonucu ekstraselüler matriksin artışıdır. Matriks metalloproteinazlar (MMP) ekstraselüler matriksi yıkan, fibrotik ve/veya inflamatuvar süreçlerde dokunun yeniden yapılmasında rol alan enzimlerdir.⁵ Normal şartlar altında MMP'lerin aktivitesi gen transkripsiyon düzeyinde inaktif zimojenlerin aktivasyonu ile ve metalloproteinazların doku inhibitörleri ile (TIMP) düzenlenmektedir.⁶ MMP üretimi ve TIMP'ler ile inhibisyonlarındaki dengesizlik pek çok patolojinin sebebi olabilir.⁷⁻¹⁰ MMP ve TIMP'ler ovulasyon, embriyonik gelişim, diferansiyasyon, tümör invazyonu ve metastazında görevleri vardır. Bu gruptan jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9) organ fibrozisinde özellikle önemli olabilir, çünkü bunlar tip 4 kollajeni yıkarlar, kronik karaciğer hastalığında dokunun yeniden yapılmasının erken döneminde görev alırlar.⁵

Bazı çalışmalarda periferik kanda değişik MMP ve TIMP'lerin konsantrasyonunun bir kısmının karaciğer kaynaklı olduğu belirtilmiştir.^{3,4,11-14} Ancak kan dolaşımındaki MMP ve TIMP'lerin kaynağı hakkında çok az bilgi mevcuttur.

Bu çalışmada, kronik viral hepatitte karaciğerde MMP-2, MMP-9'un ekspresyon yaygınlığını, şiddetini ve lokalizasyonunu inceledik ve esas inhibitörleri olan TIMP-1 ve TIMP-2 ile korelasyonuna baktık. Aynı zamanda hastaların yaşı, cinsiyeti, kronik böbrek yetmezliği öyküsü ve histopatolojik bulguları, hastalığın aktivitesi ve fibrozis ile MMP ve TIMP ekspresyonunun korelasyonuna bakıldı.

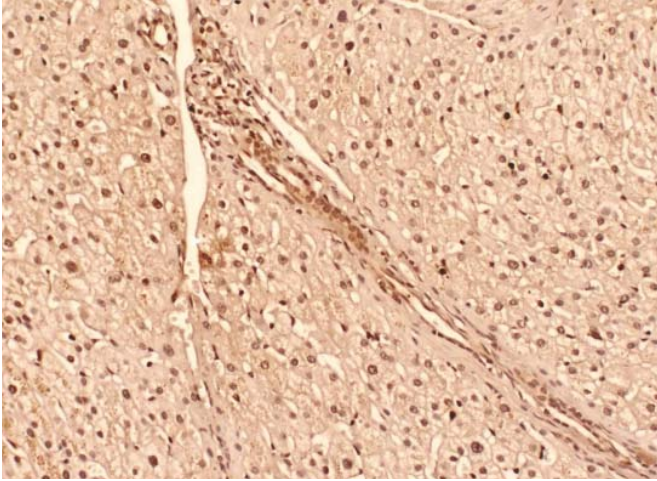
GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, 1994-2004 yılları arasında kronik viral hepatit tanısı almış 67 hasta dahil edildi.

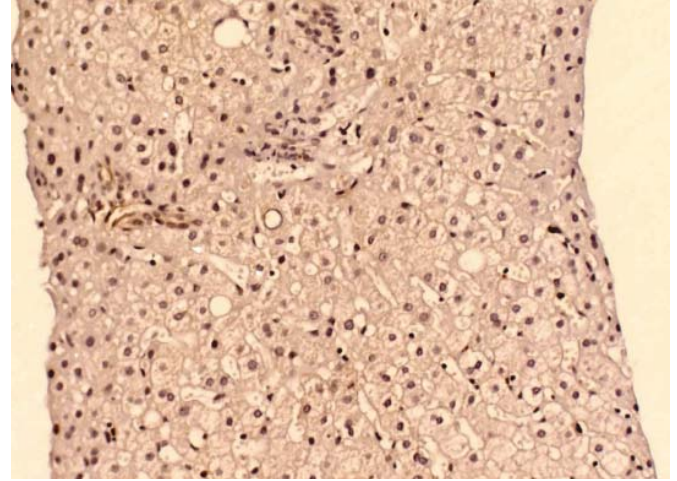
Histolojik olarak kronik hepatit B ile uyumlu 27 hasta, kronik hepatit C ile uyumlu 40 hasta ve karaciğer transplantasyon veri-

¹ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

² Baskent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye



Resim 1A: Normal karaciğerde portal alandaki safra duktuslarında MMP-2 ile zayıf boyanma, yaygınlık skoru: 2 (immünperoksidaz X 200).



Resim 1B: Normal karaciğerde portal alandaki safra duktuslarında MMP-9 ile zayıf boyanma, yaygınlık skoru: 2 (immünperoksidaz X 100).

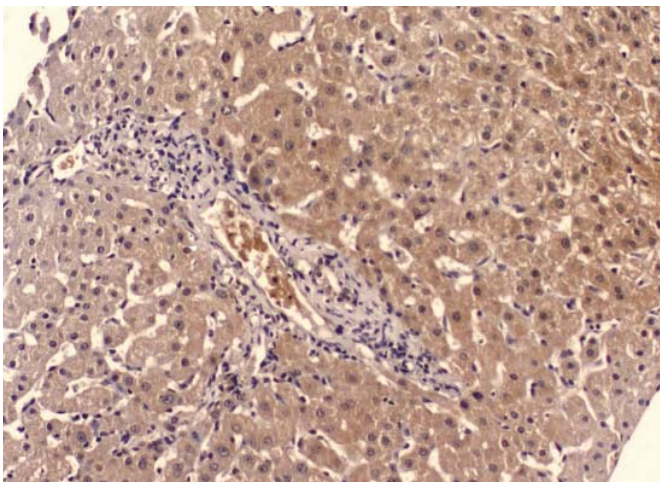
cilerine ait 5 adet normal karaciğer dokusu çalışmaya alındı. Tanı aldıkları zaman hastaların ortalama yaşı 44,39 (12 – 73 yaş) olup, erkek / kadın oranı 1,8 idi.

Çalışmaya dahil edilen biyopsi materyalleri %10'luk formalin solusyonunda fikse edilip, takip işleminden sonra parafin bloklara gömüldü. Tüm olguların hematoksilin-eozin (H&E), Masson Trikrom, retikülin ve PAS boyalı kesitleri değerlendirildi. Kesitler, Ishak ve arkadaşları tarafından önerilen Modifiye Knodell'e göre grade'lendirme ve evrelendirme yapılarak yeniden değerlendirildi ve histopatolojik tanıları verildi.¹⁵ (Tablo 1, 2)

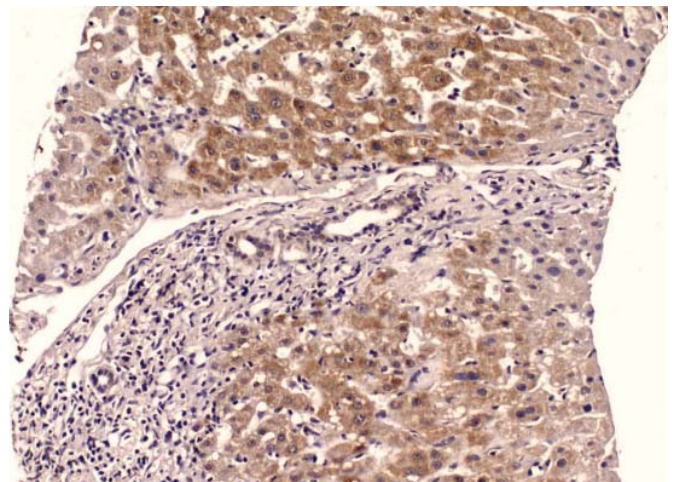
Karaciğer iğne biyopsisi içeren bloklardan hazırlanan kesitler deparafinize ve rehidrate edildikten sonra, MMP-2 (Ab-3, monoclonal mouse, clone: 42-5D11, Oncogene), MMP-9 (Ab-3, monoclonal mouse, clone: 56-2A4, Oncogene), TIMP-1 (Ab-2, monoclonal mouse, clone: 147-6D11, Oncogene) ve TIMP-2 (Ab-2, monoclonal mouse, clone: 67-4H11, Oncogene)' e karşı monoklonal antikorlar ile standart avidin – biotin

kompleks yöntemi kullanılarak immünohistokimyasal boyanma yapıldı. MMP-9 için 10mM sitrat buffer (pH 6,0) içinde 15 dakika mikrodalga fırında anijen retrieval yapıldı. Endojen peroksidaz aktivitesi %0,3' lük H2O2 içinde 15 dakikada bloke edildi. Nonspesifik bağlanmayı önlemek için 10 dakika boyunca Tris-buffered solusyonunda (TBS:50mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, pH 7,4) %5' lik bovin serum albumin ile muamele edildi. Daha sonra TBS içinde 1:50 oranında dilue edilmiş olan primer antikorlar ile oda sıcaklığında 2 saat boyunca inkübasyona bırakıldı (TIMP-1 ve TIMP-2 için gece boyunca, 4°C). Daha sonra kesitler peroksidazlı polimerde 30 dakika, takiben DAB + substrat kromojen solusyonunda inkübasyona bırakıldı. Hematoksilin ile zemin boyaması yapılarak, lamel ile kapatıldı. Basamakların arasında kesitler TBS içinde ikişer defa yıkandı.

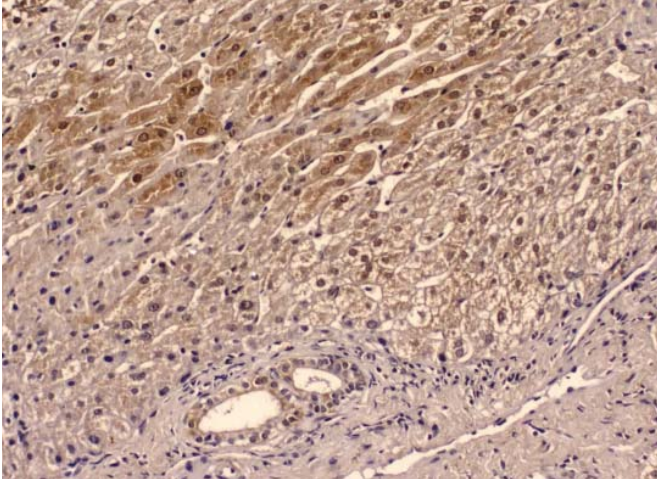
Negatif kontrol için primer antikorlar yerine immün olmayan serum kullanıldı. Pozitif kontrol için uygun dokulardan (üretici talimatlarında yazılana uygun şekilde) kesitler boyandı.



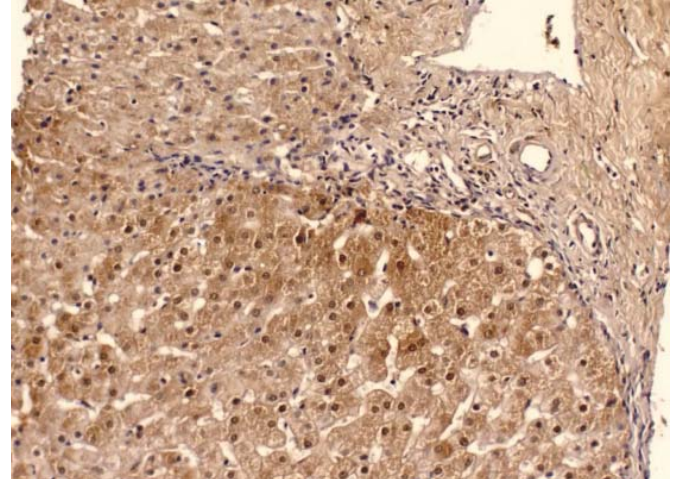
Resim 2: Kronik viral B hepatitte hepatositlerde ve safra duktus epitel hücrelerinde MMP-9 ile orta-kuvvetli boyanma, yaygınlık skoru: 2 (immünperoksidaz X200).



Resim 3: Kronik viral B hepatitte hepatositlerde ve safra duktus epitel hücrelerinde MMP-2 ile orta-kuvvetli boyanma, yaygınlık skoru: 2 (immünperoksidaz X100).



Resim 4: Kronik viral C hepatitte hepatositlerde ve safra duktus epitel hücrelerinde ortakuvvetli boyanma, yaygınlık skoru: 2 (immünperoksidaz X200).



Resim 5: Kronik viral C hepatitte hepatositlerde, safra duktus epitel hücrelerinde ve portal alandaki işçi hücrelerde orta-kuvvetli boyanma, yaygınlık skoru: 2 (immünperoksidaz X200).

Tablo 1: Hastalara ait klinik, histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular (Antikorlardan en az biri ile boyanan grup).

Vaka	Yaş	Cinsiyet	Klinik	Aktivite şiddeti	Fibrozis skor	MMP-2 Skor	MMP-9 Skor	TIMP-1 Skor	TIMP-2 skor
6	46	E	HBV	Minimal	0	0	0	0	0
7	28	E	HBV	Minimal	3	0	0	0	0
9	60	K	HCV	Hafif	1	0	0	0	0
15	29	E	HBV	Minimal	1	0	0	0	0
16	42	E	HBV	Minimal	1	0	0	0	0
17	33	E	HBV	Minimal	1	0	0	0	0
18	51	K	HCV	Hafif	2	0	0	0	0
19	20	K	HCV	Minimal	1	0	0	0	0
20	40	E	HCV	Hafif	1	0	0	0	0
21	70	K	HCV	Minimal	1	0	0	0	0
22	38	E	HBV	Minimal	3	0	0	0	0
23	37	E	HBV	Minimal	1	0	0	0	0
25	65	E	HBV	Minimal	0	0	0	0	0
27	39	K	HCV	Minimal	1	0	0	0	0
28	49	K	HCV	Hafif	3	0	0	0	0
29	50	E	HBV	Orta	2	0	0	0	0
31	13	E	HBV	Minimal	1	0	0	0	0
34	56	K	HCV	Orta	3	0	0	0	0
35	53	E	HBV	Hafif	1	0	0	0	0
36	52	E	HBV	Orta	3	0	0	0	0
37	41	E	HCV	Orta	3	0	0	0	0
38	73	E	HCV	Hafif	1	0	0	0	0
45	48	E	HBV	Minimal	0	0	0	0	0
46	42	K	HCV	Minimal	0	0	0	0	0
47	42	E	HBV	Hafif	3	0	0	0	0
48	70	K	HCV	Hafif	1	0	0	0	0
49	50	K	HCV	Minimal	0	0	0	0	0
51	50	E	HCV	Minimal	0	0	0	0	0
55	34	E	HCV	Hafif	2	0	0	0	0
56	37	E	HBV	Orta	1	0	0	0	0
58	45	K	HCV	Hafif	1	0	0	0	0
62	27	E	HBV	Orta	4	0	0	0	0

MMP: Matris metalloproteinaz; TIMP: Matris metalloproteinazın doku inhibitörü; HBV: Hepatit B virüsü; HCV: Hepatit C virüsü.

Ekspresyon yaygınlığı semikantitatif olarak değerlendirildi. Bir büyük büyütme alanında (400x) pozitif boyanan hücreler sayıldı ve 3 grupta skorlandı.¹⁶

0: ekspresyon yok, 1: 1-10 hücrede ekspresyon var, 2: >10 hücrede ekspresyon var. Boyanmanın şiddeti zayıf, orta ve kuvvetli olarak belirtildi.

MMP ve TIMP ekspresyonunun yaygınlığı ve şiddeti ile hastalığın evresi arasındaki ilişki istatistiksel olarak araştırıldı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 11.0 paket programı ile yapıldı. Mann Whitney-U testi kullanılarak birçok para-

Tablo 2: Hastalara ait klinik, histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular (Hiçbir antikorla boyanmayan grup).

Vaka	Yaş	Cinsiyet	Klinik	Aktivite şiddeti	Fibrozis Skor	MMP-2 skor	MMP-9 skor	TIMP-1 Skor	TIMP-2 Skor
1	61	K	HCV	Hafif	1	2	0	1	1
2	20	K	HBV	Minimal	0	2	1	1	0
3	22	E	HCV	Minimal	1	1	0	0	1
4	34	E	HCV	Minimal	0	2	0	0	1
5	52	E	HBV	Hafif	0	2	0	0	0
8	40	E	HCV	Orta	3	1	0	0	0
10	66	E	HCV	Hafif	1	2	0	0	1
11	57	K	HCV	Minimal	1	0	0	1	1
12	16	K	HCV	Minimal	1	1	0	1	0
13	25	E	HCV	Minimal	1	2	0	1	0
14	60	K	HCV	Hafif	2	0	0	0	1
24	58	K	HCV	Minimal	1	0	0	0	1
26	68	E	HBV	Minimal	2	0	0	0	1
30	60	E	HCV	Minimal	1	1	0	0	0
32	48	K	HCV	Minimal	0	0	0	0	1
33	24	E	HCV	Hafif	0	0	0	0	2
39	29	E	HCV	Minimal	1	1	0	0	0
40	47	E	HBV	Orta	3	1	0	0	0
41	41	K	HCV	Minimal	1	1	0	0	0
42	26	E	HBV	Hafif	1	2	1	0	1
43	12	K	HBV	Hafif	3	1	0	0	1
44	69	K	HCV	Hafif	1	1	0	0	0
50	70	E	HBV	Minimal	3	1	0	1	0
52	46	K	HCV	Minimal	1	1	0	1	0
53	31	E	HBV	Hafif	0	1	0	0	0
54	42	E	HCV	Hafif	1	1	0	0	0
57	56	E	HBV	Hafif	5	1	0	0	0
59	56	K	HCV	Orta	1	1	0	0	0
60	27	E	HBV	Şiddetli	1	2	0	0	0
61	50	E	HCV	Şiddetli	2	1	0	0	0
63	57	E	HCV	Orta	1	1	0	0	1
64	48	E	HCV	Orta	3	1	0	0	1
65	43	E	HBV	Orta	1	1	0	0	0
66	37	E	HCV	Orta	1	0	0	1	0
67	46	K	HCV	Orta	3	1	0	0	0

MMP: Matriks metalloproteinaz; TIMP: Matriks metalloproteinazın doku inhibitörü; HBV: Hepatit B virüsü; HCV: Hepatit C virüsü.

metre karşılaştırıldı. Ortalama değer, standart deviasyon (SD) ve p değerleri hesaplandı.

Rank korelasyonu Spearman' a göre hesaplandı. Analizler sonucunda $p < 0,05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Normal karaciğerde MMP-2 ve MMP-9' un sinüzoidal hücreler tarafından ekspresye edildiği görüldü. Kapiller endotel hücreleri ve portal alanlardaki safra duktusları her iki antikorla zayıf boyandı (Resim 1a, 1b). TIMP-2 ile kapiller endotel hücrelerinde ve portal alanlardaki safra duktus epitel hücrelerinde belirsiz boyanma mevcuttu, TIMP-1 ile normal karaciğerde hiç boyanma saptanmadı. Normal karaciğerde hepatositlerde hiçbir antikor ile boyanma görülmedi.

Viral hepatitlerde; hepatit B veya C' ye bağımlı olmaksızın MMP-9 hepatositlerde çok az oranda (vakaların %3'ünde) ekspresye olurken (Resim 2), MMP-2 vakaların %43'ünde portal alanlardaki işi hücrelerde ve hepatositlerde ekspresye

oldu (Resim 3). TIMP-1 ve TIMP-2 ile değişen derecelerde, hepatositlerde, sinüzoidal hücrelerde ve portal alanlardaki işi hücrelerde, sırasıyla %12 ve %21 oranında boyanma görüldü (Resim 4, 5). Sadece TIMP-1 ekspresyonu MMP-2 ekspresyonu ile korelasyon gösterdi ($p=0.01$). Diğer yandan ne MMP-2 ve MMP-9, ne de TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonları inflamasyonun ve fibrozisin yaygınlığı ile korele değildi. 67 vakanın 32' sinde hiçbir antikor ile boyanma saptanmadı (Tablo 1, 2, 3).

Yaş, cinsiyet, kronik böbrek yetmezliği gibi parametreler de MMP' lerin ve TIMP' lerin ekspresyonları ile istatistiksel olarak ilişkili görülmedi. (Tablo 3)

TARTIŞMA

Kronik viral hepatitli karaciğerlerin bir kısmında fibröz skarlaşma bulunmazken, çoğunda bir miktar mevcuttur. Fibrozis arttıkça hastalığın evresi de ilerler. Genellikle skarlaş-

Tablo 3: Hastalara ait klinik ve histopatolojik özelliklere göre MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2 antikorları ile boyanma oranları.

	MMP-2 (+)	MMP-2 (-)	MMP-9 (+)	MMP-9 (-)	TIMP-1 (+)	TIMP-1 (-)	TIMP-2 (+)	TIMP-2 (-)	N
Yaş									
≤50	19(%42,2)	26(%57,8)	2 (%4,4)	43(%95,6)	5(%11,1)	40(%88,9)	7(%15,5)	38(%84,5)	45
>50	9(%40,9)	13(%59,1)	0	22(%100)	3(%13,6)	19(%86,4)	7(%31,8)	15(%68,2)	22
Cinsiyet									
F	9(%37,5)	15(%62,5)	1(%4,2)	23(%95,8)	5(%20,8)	19(%79,2)	6 (%25)	18(%75)	24
M	19(%44,2)	24(%55,8)	1(%2,3)	42(%96,7)	3(%7)	40(%93)	8 (%18,3)	35(%81,7)	43
Kronik böbrek yetmezliği									
+	11 (%52,4)	10(%47,6)	0	21(%100)	4(%19)	17(%81)	5(%23,8)	16(%76,2)	21
-	17 (%37)	29(%63)	2 (%4,3)	44(%95,7)	4(%8,7)	42(%91,3)	9(%19,6)	37(%80,4)	46
Etyoloji									
HBV	10 (%37)	17(%63)	2 (7,4)	25(%62,6)	2(%7,4)	25(%62,6)	3(%11,1)	24(%88,9)	27
HCV	18 (%45)	22(%55)	0	40(%100)	6 (%15)	34(%85)	11(%27,5)	29(%72,5)	40
Nekroinflamatuvar skor									
Minimal	10(%33,3)	20(%66,6)	1 (%3,3)	29(%96,7)	6 (%20)	24(%80)	6(%20)	24(%80)	30
Hafif	9(%42,8)	12(%57,2)	1 (%4,7)	20(%95,3)	1 (%4,7)	20(%95,3)	6(%28,5)	15(%71,5)	21
Orta	7 (%50)	7(%50)	0	14(%100)	1(%7,1)	13(%92,9)	2 (%14,2)	12(%85,8)	14
Şiddetli	2 (%100)	0	0	2 (%100)	0	2(%100)	0	2(%100)	2
Evreleme									
0	4(%33,3)	8(%66,6)	1 (%8,3)	11(%91,7)	1 (%8,3)	11(%91,7)	3(%25)	9(%75)	12
1	16 (%47)	18(%53)	1(%2,9)	33(%97,1)	6 (%17,6)	28(%82,8)	7(%20,5)	27(79,5)	34
2	1 (%16,6)	5(%73,4)	0	6(%100)	0	6(%100)	2 (%33,3)	4(66,6)	6
3	6 (%46,1)	7(%53,9)	0	13(%100)	1(%7,6)	12(%92,4)	2(%15,3)	11(%84,7)	13
4	0	1(%100)	0	1(%100)	0	1(100)	0	1(%100)	1
5	1 (%100)	0	0	1(%100)	0	1(%100)	0	1(%100)	1
6	-		-		-		-		0

ma portal alanların genişlemesi ile kendini gösterir, ancak bazen perivenüler ve periselüler fibrozis de görülebilir.¹⁷ Karaciğerin ekstraselüler matriksinde kollajenler, proteoglikanlar ve glikoproteinler mevcuttur.¹⁸ Bugün gösterilmiştir ki; karaciğerin matriks proteinlerini üretiminden hepatik stellat hücreleri (HSH) sorumludur.^{5,19,20} Kronik karaciğer hasarı sürecinde aktive HSH myofibroblast benzeri hücrelere diferansiyasyon olurlar ve çoğalırlar. Bu olay fibrozis ve sonuçta siroz için anahtardır.⁴ HSH' ler MMP-1, MMP-2, MT1-MMP gibi yıkıcı enzimleri ürettikleri gibi metalloproteinazların doku inhibitörlerini de (TIMP) üretirler. Fibrozis süresince HSH' ler tarafından yıkıcı enzimlerle birlikte TIMP' lerin üretiminin de göreceli olarak artışı ile matriks proteinleri birikmeye başlar.¹⁹ Tüm bu faktörlerin birbiri ile etkileşiminin anlaşılması ile kronik viral hepatitin siroza ilerlemesi yavaşlatılabilir hatta belki durdurulabilir.

Kronik viral hepatitli hastalarda fibroproliferasyon belirteci olarak çok sayıda biyokimyasal parametre tartışılmıştır. Bunlardan MMP ve TIMP' ler'in siroz gelişimi ve inflamatuvar aktivite ile korele olduğu bir çok grup tarafından gösterilmiştir.^{3,4,11-14} Lichtinghaen ve ark. 2000 yılında yayınlanan

bir çalışmada kronik hepatitte hastalık ilerledikçe kanda proMMP-2, TIMP-1 ve TIMP-2 konsantrasyonlarının arttığını ve MMP-9' un azaldığını bildirmişlerdir.⁴ Benzer şekilde Murawaki ve ark. sağlıklı insanlardan kronik hepatit C'nin son evrelerine doğru serum TIMP-1 seviyelerinde artış olduğunu bulmuşlardır.³ Başka bir çalışmada ise sirotik hastalarda serum MMP-2 seviyelerinin daha yüksek olduğunu ve serum MMP-2 seviyelerinin ölçümünün karaciğer sirozu tanısında kullanılabilir bir test olduğunu bildirmişlerdir.²¹ Walsh ve ark. kronik hepatit C'de serumda MMP-2 ve TIMP-1 konsantrasyonlarının arttığını bildirmişler, ancak MMP-2 konsantrasyonları ile histopatoloji arasında korelasyon olmadığını da söylemişlerdir.¹² Diğer yandan hem MMP' ler hem de TIMP' ler diğer birçok doku tarafından da eksprese olmaktadır ve bunların hücresel kaynağı bilinmemektedir. Literatür taramamızda çok az sayıda araştırmanın viral hepatitlerde karaciğerde MMP ve TIMP ekspresyonu ile ilişkili olduğunu gördük. Takahara ve ark. kronik hepatit ve karaciğer sirozunda immünohistokimyasal olarak MMP-2 ve MT1-MMP ekspresyonunu incelemişler ve MMP-2 ile MT1-MMP' nin sinüzoidal hücrelerde, fibroblastlarda, kapiller endotel hücrelerinde, lenfositlerde ve safra duktus epitel hücrelerinde eksprese ol-

duğunu göstermişlerdir.¹⁹ Başka bir çalışmada Yata ve ark. hepatik fibroziste TIMP-1 ekspresyonunun arttığını immünohistokimyasal olarak göstermişlerdir.²⁰ Ancak her iki çalışmada da kronik hepatit vakalarının sayısı çok azdır. Son yıllarda yayınlanan çalışmalarda karaciğer fibrozisinin değerlendirilmesinde non invaziv bir test olan Fibrotest' e ilginin arttığını görmekteyiz.^{22,23} Fibrotest kanda ALT, GGT, alfa-2 makroglobin, bilirubin, haptogloblin ve apolipoprotein A1 seviyelerine bakılarak karaciğer fibrozisinin evrelendiği bir testtir. Fibrotik sürecin başlaması ile haptogloblin ve apolipoprotein A1 azalırken, alfa 2 makroglobin molekülü artar. Morali ve ark. tarafından 2007' de yayınlanan bir çalışmada fibrotestin vakaların %98' inde biyopsi ile uyumlu sonuç verdiği bildirilmiştir.²² Ancak bilinmektedir ki fibrotestin bazı zayıf yanları da mevcuttur. Hemoliz ve Gilbert hastalığı olan insanlarda serumdaki haptogloblin ve bilirubin seviyeleri etkilendiği için Fibrotest sonuçları yanıltıcı olabilir. Yine aynı şekilde akut inflamatuvar sendromlu hastalarda serum alfa-2 makroglobulin ve haptogloblin seviyeleri etkilendiğinden bu hastalara Fibrotest uygulanmamalıdır.²¹

Bizim çalışmamızda, normal karaciğerde TIMP-1 ekspresyonu yokken, kronik hepatitli olguların %12' sinde HBV veya HCV ile ilişkisinden bağımsız olarak TIMP-1 ekspresyonu mevcuttu. MMP-9 ile hepatositlerde çok az vakada (%3), az sayıda hücrede pozitiflik mevcutken, MMP-2, TIMP-1 ve TIMP-2 ile hepatositlerdeki ekspresyon daha belirgindi. Ancak inflamasyonun ve fibrozisin yaygınlığı ve şiddeti ile MMP ve TIMP' lerin ekspresyon paternleri arasında korelasyon bulamadık. Çalışmamızdaki vakaların fibrotik evrelerinin genellikle 1, 2 ve 3 olması nedeniyle MMP ve TIMP' lerin ekspresyon yaygınlığı beklenenden az olmuş olabilir. Sonuç olarak, serumdaki MMP ve TIMP seviyelerinin kronik hepatit gelişimi ile korele olduğu bir çok grup tarafından gösterilmiş olsa da bizim bulgularımıza göre viral hepatitlerde MMP-2, MMP-9, TIMP-1 ve TIMP-2' nin ekspresyon paternleri hastalığın ilerleyişini ve serum konsantrasyonlarındaki değişikliği açıklamamaktadır. Bu nedenle bunların serumdaki seviyelerinin karaciğere spesifik olduğu kesin değildir. Karaciğer biyopsisi invaziv bir test olmasına rağmen kronik viral hepatitlerde hastalığın inflamatuvar aktivitesinin ve fibrotik evresinin belirlenmesinde hala altın standarttır.

Yazışma Adresi

F. Pınar Uyar GÖÇÜN

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
Tel: 3122025489

uyarpinar@yahoo.com

KAYNAKLAR

1. DiBisceglie AM, Hoofnagle JH. Chronic Viral Hepatitis. In: Zakim D, Boyer TD, eds. Hepatology: a textbook of liver disease. 4th edn: W.B. Saunders Co, 2002;1299-1329.
2. MacSween RNM, Burt AD, Portmann BC, Ishak KG, Scheuer PJ, Anthony PP: Acute and chronic viral hepatitis. In: Ferrell LD, Theise ND, Scheuer PJ, eds. Pathology of The Liver, 4th edn, Philadelphia: Elsevier Science, 2003;313-362.
3. Murawaki Y, Ikuta Y, Okamoto K, et al. Diagnostic value of serum markers of connective tissue turnover for predicting histological staging and grading in patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol 2001;36(6):399-406.

4. Lichtinghagen R, Huegel O, Seifert T, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 and their inhibitors in peripheral blood cells of patients with chronic hepatitis C. Clin Chem 2000; 46(2):183-92.
5. Arthur MJP. Degradation of matrix proteins in liver fibrosis. Path Res Pract 1994; 190: 825-33.
6. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. Annu Rev Cell Dev Biol 2001; 17:463-516.
7. Lampert K, Machein U, Machein MR, et al. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors in human brain tumors. Am J Pathol 1998; 153:429-37.
8. Yantiss RK, Bosenberg MW, Antonioli DA, et al. Utility of MMP-1, p53, E-cadherin, and collagen IV immunohistochemical stains in the differential diagnosis of adenomas with misplaced epithelium versus adenomas with invasive adenocarcinoma. Am J Surg Pathol 2002; 26(2): 206-15.
9. Simonetti O, Lucarini G, Brancorsini D, et al. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 in cutaneous melanocytic lesions. Cancer 2002;95(9):1963-70.
10. Siel W, Hellers J, Morresi-Hauf A, et al. Prognostic impact of matrix metalloproteinase-9 in operable non-small cell lung cancer. Int J Cancer 2003;103(5):647-51.
11. Murawaki Y, Ikuta Y, Kawasaki H. Clinical usefulness of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-2 assays in patients with chronic viral liver diseases in comparison with serum TIMP-1. Clin Chim Acta 1999; 281:109-20.
12. Walsh KM, Timms P, Campbell S, et al. Plasma levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitors of metalloproteinases -1 and -2 (TIMP-1 and TIMP-2) as noninvasive markers of liver disease in chronic hepatitis C: comparison using ROC analysis. Dig Dis Sci 1999; 44(3):624-30.
13. Kuo WH, Chou FP, Lu SC, et al. Significant differences in serum activities of matrix metalloproteinase-2 and -9 between HCV- and HBV-infected patients and carriers. Clin Chim Acta 2000; 294(1-2):157-68.
14. Boeker KH, Haberkorn CI, Michels D, et al. Diagnostic potential of circulating TIMP-1 and MMP-2 as markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. Clin Chim Acta 2002; 316(1-2):71-81.
15. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. J Hepatol 1995; 22: 696-699.
16. Yang Q, Xie RJ, Geng XX et al. Effect of Danshao Huaxian capsule on expression of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in fibrotic liver of rats. World J Gastroenterol 2005; 11(32): 4953-4956.
17. Thung SN, Gerber MA. The formation of elastic fibers in livers with massive hepatic necrosis. Arch Pathol Lab Med. 1982; 106(9):468-9.
18. MacSween RNM, Burt AD, Portmann BC, Ishak KG, Scheuer PJ, Anthony PP. Liver cirrhosis. In: Crawford JM, eds. Pathology of The Liver, 4th edn, Philadelphia: Elsevier Science, 2003; 575-619.
19. Takahara T, Furui K, Yata Y, et al. Dual expression of matrix metalloproteinase-2 and membrane-type 1-matrix metalloproteinase in fibrotic human livers. Hepatology 1997; 26(6):1521-1529
20. Yata Y, Takahara T, Furui K, et al. Spatial distribution of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 mRNA in chronic liver disease. J Hepatol 1999; 30: 425-432
21. Murawaki Y, Yamada S, Ikuta Y, et al. Clinical usefulness of serum matrix metalloproteinase-2 concentration in patients with chronic viral liver disease. J Hepatol 1999; 30(6):1090-8.
22. Morali G, Maor Y, Klar R, et al. Fibrotest-Actitest: The biochemical marker of liver fibrosis-The Israeli Experience. IMAJ 2007; 9: 588-591.
23. Munteanu M. Non-invasive biomarkers Fibrotest-Actitest for replacing invasive liver biopsy: The need for change and action. J Gastrointest Liver Dis 2007; 16(2):173-174