

## Non alkolik steatohepatitli hastalarda antinükleer antikor prevalansı ve önemi

Prevalence and significance of antinuclear antibodies in patients with non-alcoholic steatohepatitis

Selim AYDEMİR<sup>1</sup>, İshak Özel TEKİN<sup>2</sup>, Hüseyin ENGIN<sup>2</sup>, Erdem KOÇAK<sup>3</sup>, Ayşe Semra DEMİR<sup>4</sup>, Yücel ÜSTÜNDAĞ<sup>1</sup>

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı<sup>1</sup>, Immunoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>, İç Hastalıkları Anabilim Dalı<sup>3</sup>, Aile Hekimliği Anabilim Dalı<sup>4</sup>, Zonguldak

**Giriş ve amaç:** Non alkolik steatohepatitli (NASH) hastalarda anti nükleer antikor (ANA) pozitifliği gösterilmiş olmasına rağmen, ANA pozitifliğinin prevalansı ve önemi halen tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı NASH hastalarında ANA prevalansı ve ANA pozitifliğinin biyokimyasal parametreler ile ilişkisini incelemektir. **Gereç ve yöntem:** Histolojik olarak NASH tanısı almış toplam 55 hastanın laboratuvar verileri retrospektif olarak değerlendirildi. ANA Hep2 hücreleri ve maymun karaciğer dokusu kullanılarak indirek immunfloresan tekniği ile araştırıldı. 1:100 ve üzeri pozitif olarak değerlendirildi. **Bulgular:** Hastaların yaş ortalaması 43.1±10.4 yıl idi. Toplam 55 NASH hastasının 21'i (%38) kadındı. Hastaların ortalama vücut kitle indeksi (VKİ) 29.9±3.1 kg/m<sup>2</sup> idi. ANA 55 hastanın 14'ünde (%25) pozitif bulundu. ANA pozitif ve negatif gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında yaş, cinsiyet dağılımı, VKİ, ALT, AST, GGT, ALP, albumin, total kolesterol, trigliserid ve ferritin açısından gruplar arasında istatistiksel fark saptanmazken (p>0.05) globulin seviyesi ANA pozitif grupta istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (p<0.5). **Sonuç:** Çalışmamızda NASH'li hastaların dörtte birinde ANA pozitif saptanmıştır. ANA pozitif hastalarında anlamlı olarak yüksek saptanan globulin değerleri NASH hastalığının seyrinde konakçı ile immün etkileşimi düşündürmektedir.

**Anahtar sözcükler:** Non alkolik steatohepatit, anti nükleer antikor

**Background/aim:** Antinuclear antibodies (ANA) have been shown in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH), although their prevalence and significance are uncertain. The aim of this study was to evaluate the prevalence and to determine whether their presence has any biochemical significance. **Materials and methods:** Laboratory data from 55 patients with a histologic diagnosis of NASH were reviewed retrospectively. ANA were detected by indirect immunofluorescence on HEp2 cells and monkey liver tissue, with a dilutional titer of 1:100 and above considered positive. **Results:** The mean age of the study population was 43.1±10.4 years. Thirty-eight percent (21/55) of subjects were women. The mean body mass index (BMI) was 29.9±3.1 kg/m<sup>2</sup>. Twenty-five percent (14/55) of patients with NASH had positive ANA titers. Age, gender, BMI, ALT, AST, GGT, ALP, albumin, total cholesterol, triglycerides and ferritin levels were similar between ANA-positive and negative cases (p>0.05). ANA-positive patients were associated with higher levels of globulin (p<0.5). **Conclusions:** In our study, ANAs were present in one-fourth of the patients with NASH. High globulin levels detected in ANA-positive patients in our study suggests host immune interactions during the disease process of NASH.

**Key words:** Non-alcoholic steatohepatitis, antinuclear antibodies

### GİRİŞ VE AMAÇ

Yağlı karaciğer hastalığı basit steatozdan non alkolik steatohepatite (NASH) uzanan geniş spektrumunu içeren klinikopatolojik bir sendromdur (1-4). NASH ilk olarak 1980 yılında Ludwig ve arkadaşları tarafından alkol kullanmayanlarda alkol kullananlarda görülen histolojik değişikliklerle karakterize kronik hepatit olarak tanımlanmıştır (5). NASH'li hastaların yaklaşık %20'si siroza ilerleyebilmesine rağmen (6-8), basit steatozlu hastalarda ileri histolojik değişiklikler görülmemektedir (3, 4, 8). NASH'in en önemli risk faktörleri obezite, tip 2 diyabetes mellitus ve hiperlipidemi (1-4). Günümüzde obezitenin giderek artan

bir sorun olması ile birlikte toplumda yağlı karaciğer hastalığı ve NASH prevalansı artmaktadır. Yağlı karaciğer hastalığının toplum prevalansı %20, NASH prevalansı ise %2-3 olduğu tahmin edilmektedir (4).

Otoantikolar konakçı antijenlerine karşı oluşan immunoglobulinlerdir (9-11). Anti nükleer antikolar (ANA) otoimmün hepatitlerin önemli bulgularından biridir. Hipergamaglobulinemi, tipik histolojik bulgularla beraber ANA pozitifliği otoimmün hepatitin önemli tanısal kriterlerindedir. Hepatosellüler inflamasyon ve nekroza bağlı olarak ANA pozitifliği non-viral, non-immunolojik

karaciğer hastalıklarında da görülebilmektedir (10, 12).

NASH'li hastalarda tanı sırasında yapılan tetkiklerde otoantikörler sıklıkla bakılmasına rağmen prevalansı ve klinik önemi halen bilinmemektedir. NASH'li hastalarda ANA prevalansını sistematik olarak inceleyen az sayıdaki çalışmada ANA prevalansı %12-34 arasında bildirilmektedir (9, 12-15). Biz bu çalışmada histopatolojik olarak tanı almış NASH'li hastalarda ANA prevalansını araştırdık ve ANA pozitifliğinin biyokimyasal parametreler ile ilişkisini inceledik.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Histolojik olarak NASH tanısı almış toplam 55 hasta çalışmaya alındı. NASH tanısı AST ve/veya ALT yüksekliği olması, karaciğer biyopsisinde hepatositlerin en az %10'unu tutan yağlanma olması, hastaların alkol kullanımı olmaması ve karaciğer hastalığı yapabilecek diğer sebeplerin anamnez, fizik muayene, laboratuvar ve görüntüleme tetkikleri ile elenmesi sonrasında konuldu.

Vücut kitle indeksi (VKİ); ağırlık (kilogram) / boy<sup>2</sup> (metre) formülü ile hesaplandı.

Klinik ve laboratuvar verileri retrospektif olarak değerlendirildi. Tüm hastalara ayrıntılı anamnez ve fizik muayene yapıldı. Karaciğer biyopsisi yapıldığı dönemdeki ANA, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transpeptidaz (GGT), alkalın fosfataz (ALP), albumin, globulin, total kolesterol, trigliserid ve ferritin değerleri incelenmeye alındı.

Serum AST (normal <37 IU/ml), ALT (normal <42 IU/ml), GGT (normal <50 IU/ml), ALP (normal <125 IU/ml), albumin (normal: 3.4-5.4 mg/dl), globulin (normal: 1.9-3 mg/dl), total kolesterol (normal: 0-200 mg/dl), trigliserid (normal: 0-150 mg/dl) ve ferritin (normal: 5-148 ng/ml) ölçümleri rutin laboratuvarında otomatik analizör kullanılarak yapıldı.

ANA ise Hep2 hücreleri ve maymun karaciğer dokusu kullanılarak indirekt immunfloresan tekniği ile araştırıldı. 1:100 ve üzeri değerler pozitif olarak değerlendirildi.

Grupların verileri ± standart sapma olarak belirtildi. Verilerin istatistiksel analizinde uygunluğuna göre Student t testi veya Mann-Whitney U testleri kullanıldı. p<0.05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

## SONUÇLAR

Total 55 NASH hastasının 21'i kadın, 34'ü erkekti. Hastaların yaş ortalaması 43.1±10.4 yıl idi. Hastaların 29'u (%53) obezdi (VKİ 30 kg/m<sup>2</sup> ve üzeri). Otuz üç (%60) hastada total kolesterol seviyesi 200 mg/dl'nin üzerindeydi. Yirmi altı (%47.3) hastada trigliserid seviyesi 170 mg/dl'nin üzerindeydi.

ANA 55 hastanın 14'ünde (%25) pozitif bulundu. Üç hastada ANA titresi 1/400'ün üzerindeydi.

ANA pozitif ve negatif gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında yaş, cinsiyet, VKİ, ALT, AST, GGT, ALP, albumin, total kolesterol, trigliserid ve ferritin açısından istatistiksel fark saptanmadı (p>0.05) (Tablo 1). Bununla birlikte, globulin seviyesi ANA pozitif grupta istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (p<0.5).

**Tablo 1.** Hastaların demografik ve biyokimyasal verileri

	ANA negatif	ANA pozitif	p
Hasta sayısı	41	14	
Yaş	41.1±10.3	43.7±12.2	0.4
Cinsiyet (kadın/erkek)	13/28	8/6	0.09
Vücut kitle indeksi	30.2±3.2	29.1±2.9	0.2
ALT	88.9±44.7	80.1±39.9	0.5
AST	48.2±27.2	48.6±27.8	0.9
GGT	60.3±32.6	82.2±61.1	0.09
ALP	93.4±42.5	120.4±67.8	0.09
Albumin	4.6±0.7	4.7±0.4	0.6
Globulin	2.7±0.5	3.1±0.6	0.048
Total kolesterol	211.9±56.1	189.4±62.9	0.2
Trigliserid	164.5±81.4	185.1±151.5	0.5
Ferritin	136.3±108.7	158.7±117.2	0.5

## TARTIŞMA

Çalışmamızda NASH'li hastalarda ANA pozitifliği %25 olarak bulunmuştur. ANA pozitif ve negatif gruplar birbiri ile karşılaştırıldığında yaş, cinsiyet, VKİ, ALT, AST, GGT, ALP, albumin, total kolesterol, trigliserid ve ferritin açısından gruplar arasında istatistiksel fark bulunmazken ANA pozitif grupta globulin seviyesi ANA negatif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu.

ANA otoimmün hepatitlerde önemli nonspesifik immunolojik markırlarından biridir. Otoimmün hepatitli hastaların yaklaşık %71'inde ANA pozitifliği bulunmaktadır (16). Bununla birlikte bu otoantikör pozitifliği otoimmün karaciğer hastalığının varlığı anlamına gelmemektedir (9). Karaciğer hücrelerinin herhangi bir komponenti otoantikör oluşumunu tetikleyebildiğinden değişik

sebeplere bağlı kronik karaciğer hastalığı olanların yaklaşık %7-52 sinde serum otoantikörleri pozitif bulunmaktadır (9-11, 17-20). PBS, PSK, kronik viral hepatit, alkolik karaciğer hastalığı gibi pek çok inflamatuvar karaciğer hastalığında ANA pozitif bulunabilmektedir (12).

Ülkemizde sağlıklı toplumda ANA pozitifliğinin prevalansı bilinmemekle birlikte değişik toplumlarda serum ANA pozitifliği yaklaşık %2.9-16.9 arasında bildirilmektedir (21-24). Çalışmamızda NASH'li hastalarda bulduğumuz %25 ANA pozitifliği, genel sağlıklı toplumda saptanan ANA pozitifliği oranlarına göre oldukça yüksek olarak bulunmuştur.

NASH'li hastalarda ANA prevalansını araştıran yeterli çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca NASH hastalarında ANA pozitifliğinin önemi tam olarak bilinmemektedir. Yapılan az sayıda çalışmada ANA pozitif NASH hastalarında negatif olanlara göre bazı laboratuvar farklılıkları vurgulanmakla birlikte bu konuda çelişkili sonuçlar bildirilmektedir. Cotler ve arkadaşları (15) 74 NASH hastasında ANA pozitifliğini %34 bulmuşlardır. ANA pozitif ve negatif NASH hastaları arasında laboratuvar parametreleri açısından fark bulmamışlar, ancak kadınlarda ANA pozitifliğini daha yüksek bulmuşlardır. Loria ve arkadaşları (12) yaptıkları çalışmada 84 NASH hastasının 18'inde

(%21.4) ANA pozitif bulmuşlardır. ANA pozitifliği olan hastalar ANA negatiflere göre daha yaşlı bulunurken biyokimyasal parametreler açısından iki grup arasında fark bulmamışlardır. Adams ve arkadaşları (9) ise 225 NASH hastasının 46'sında (%20) ANA pozitif bulmuşlar. ANA pozitif grupta globulin seviyesini ANA negatif NASH hastalarına göre daha yüksek bulmuşlardır.

Kronik karaciğer hastalıklarında otoantikör pozitifliğinin önemi halen tam olarak bilinmemektedir. Otoantikörler doğrudan karaciğer hastalığı süreci ile ilişkili olabilir. Hepatit C hastalarında ANA pozitifliği nekroinflamatuvar değişikliklerin şiddeti ile ilişkilidir (9, 25). Çalışmamızda, Adams ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile uyumlu olarak ANA pozitif NASH hastalarında globulin seviyesini, ANA negatif NASH hastalarına göre yüksek bulduk. Bu durum NASH hastalığının seyrinde konakçı ile immun etkileşimi düşündürmekle birlikte NASH ile otoimmün hastalıklar arasında doğrudan bir ilişki olup olmadığı bilinmemektedir (9).

Sonuç olarak bölgemizde NASH'li hastaların dörtte birinde ANA pozitifliği bulunmuştur. ANA pozitif NASH'li hastalarda globulin seviyeleri ANA negatiflere göre daha yüksek olmakla birlikte NASH'li hastalarda ANA pozitifliğinin klinik önemi bilinmemektedir.

## KAYNAKLAR

1. Fong DG, Nehra V, Lindor KD, et al. Metabolic and nutritional considerations in nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2000; 32: 3-10.
2. Kumar KS, Malet PF. Nonalcoholic steatohepatitis. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 733-9.
3. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-9.
4. Yu AS, Keeffe EB. Nonalcoholic fatty liver disease. *Rev Gastroenterol Disord* 2002; 2: 11-9.
5. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 434-8.
6. Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis: a study of 49 patients. *Hum Pathol* 1989; 20: 594-8.
7. Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, et al. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11: 74-80.
8. Teli MR, James OF, Burt AD, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology* 1995; 22: 1714-9.
9. Adams LA, Lindor KD, Angulo P. The prevalence of autoantibodies and autoimmune hepatitis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1316-20.
10. Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, et al. Genetic predispositions for immunological features in chronic liver diseases other than autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1996; 24: 52-9.
11. Czaja AJ, Homburger HA. Autoantibodies in liver disease. *Gastroenterology* 2001; 120: 239-49.
12. Loria P, Lonardo A, Leonardi F, et al. Non-organ-specific autoantibodies in nonalcoholic fatty liver disease: prevalence and correlates. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 2173-81.
13. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107: 1103-9.
14. Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, et al. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999; 29: 664-9.
15. Cotler SJ, Kanji K, Keshavarzian A, et al. Prevalence and significance of autoantibodies in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: 801-4.
16. Czaja AJ, Nishioka M, Morshed SA, et al. Patterns of nuclear immunofluorescence and reactivities to recombinant nuclear antigens in autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1994; 107: 200-7.
17. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-38.
18. Bell TM, Bansal AS, Shorthouse C, et al. Low-titre auto-antibodies predict autoimmune disease during interferon-alpha treatment of chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 419-22.
19. Homburger HA, Cahen YD, Griffiths J, et al. Detection of antinuclear antibodies: comparative evaluation of enzyme immunoassay and indirect immunofluorescence methods. *Arch Pathol Lab Med* 1998; 122: 993-9.

20. Lenzi M, Bellentani S, Saccoccio G, et al. Prevalence of non-organ-specific autoantibodies and chronic liver disease in the general population: a nested case-control study of the Dionysos cohort. *Gut* 1999; 45: 435-41.
21. Craig WY, Ledue TB, Johnson AM, et al. The distribution of antinuclear antibody titers in "normal" children and adults. *J Rheumatol* 1999; 26: 914-9.
22. de Vlam K, De Keyser F, Verbruggen G, et al. Detection and identification of antinuclear autoantibodies in the serum of normal blood donors. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 11: 393-7.
23. Fritzler MJ, Pauls JD, Kinsella TD, et al. Antinuclear, anticytoplasmic, and anti-Sjogren's syndrome antigen A (SS-A/Ro) antibodies in female blood donors. *Clin Immunol Immunopathol* 1985; 36: 120-8.
24. Spiewak R, Stojek N. Antinuclear antibodies among eastern-Polish rural inhabitants. *Ann Agric Environ Med* 2003; 10: 207-9.
25. Cassani F, Cataleta M, Valentini P, et al. Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile. *Hepatology* 1997; 26: 561-6.