T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI (NAFLD) İLE HUMAN ADENOVİRUS 36 İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

HARİKA ÖYKÜ DİNÇ

DANIŞMAN
PROF. DR. BEKİR S. KOCAZEYBEK

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI
MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

İSTANBUL-2021

TEZ ONAYI

Doküman No	İlk Yayın Tarihi	Revizyon No	Revizyon Tarihi	Sayfa No
414.1.17F	04.03.2020	00	00.00.0000	1 / 1

Bu çalışma 16.08.2021 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji Doktora Programı Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Prof. Dr. Bekir S. KOCAZEYBEK
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Sevgi ERGİN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Hüseyin YILMAZ
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi

Doç. Dr. Pelin YÜKSEL MAYDA
Bezmialem Vakıf Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi

Doç. Dr. Mehmet DEMİRCİ
Kırklareli Üniversitesi
Tıp Fakültesi

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Harika Öykü DİNÇ

İTHAF

Varlığıyla dünyayı güzelleştiren tüm kadınlara
ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım 2013 yılından itibaren engin bilgi ve tecrübelerini her daim paylaşarak yetişmemde büyük emeği geçen, akademik yolculuğumun tüm aşamalarında sabırla yol gösteren, mesleki hayatımda bana verdiği değerli bilgiler ile öğütlerini her zaman hatırlayacağım birlikte çalışmaktan, onur ve mutluluk duyduğum tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Bekir S. KOCAZEYBEK' e,

Eğitim ve öğrenimim boyunca değerli bilgi ve deneyimleriyle yardımcı olarak emek veren, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI ve Anabilim Dalı'mızın Değerli Öğretim Üyelerinden Sayın Prof. Dr. Arif Kaygusuz, Prof. Dr. Gökhan AYGÜN, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ, Prof. Dr. Kenan MİDİLLİ, Prof. Dr. Hrisi Bahar TOKMAN, Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR, Doç. Dr. Erdal POLAT ve Doç. Dr. Mert Ahmet Kuşkucu' ya,

Akademik gelişmemde büyük katkıları olan, her aşamamda yardımlarını esirgemeyen, manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim Sayın Prof. Dr. Sevgi ERGİN ve Doç. Dr. A. Suat SARIBAŞ'a,

Doktora eğitimim süresince çalıştığım kurumlarda her zaman bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen ve anlayış gösteren Anabilim Dalı Başkanlarım Sayın Prof. Dr. Demet KAYA ve Doç. Dr. Pelin YÜKSEL MAYDA' ya,

Tez çalışmam için gereken desteği esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Hüseyin YILMAZ, Prof. Dr. Abdullah SONSUZ, Prof. Dr. Kağan ZENGİN, Prof. Dr. Volkan KARA, Prof. Dr. Işıl BAVUNOĞLU, Doç. Dr. Günay CAN, Dr. Öğr. Üyesi Serhat SİREKBASAN, Uzm. Dr. Süleyman YILMAZ, Dr. Sezgin ULUDAĞ, Uzm. Dr. Cem SULU, Uzm. Dr. Başar TURGUT, Araş. Gör. Dr. Utku ÇİZMECİGİL, M.Sc. Doğukan ÖZBEY ve Dr. Tunahan DURMAN'a,

Moral desteğini ve yardımlarını asla esirgemeyen sevgili yol arkadaşlarım; Mehveş ERTAŞ, Zeynep TANER, Zeynep GÜNGÖRDÜ DALAR, Eylül Yağmur DOĞANTÜRK, Pınar GÜLTEPE, Perihan YALÇINKAYA, Aykut KURT ve Okan AYDOĞAN'a,

Çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Sevgili Tuba SOYSAL, Fatmagül AKTEMUR, Erdem GÜVEN, Orhan YATMAZ, Nihat DOĞAN, Yılmaz TAŞTEMİR, Hakan YAKAR, Şerife BOZYEL, Kenan KOÇ ve Havva GÜLERGÜZ'e,

Tüm akademik süreçlerimde yanımda olan ve yoğun çalışmalarım sırasında sonsuz tolerans gösteren Sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 33746

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİİ
TABLOLAR LİSTESİ X
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... XİV
ÖZET XV
ABSTRACT ..... XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Adenovirus 3
2.1.1. Sınıflandırma 3
2.1.2. Yapı ve Replikasyonu 5
2.1.3. Epidemiyoloji 9
2.1.4. Patogenez ve İmmünite 10
2.1.5. Klinik 11
2.1.5.1. Solunum Yolu Enfeksiyonları 11
2.1.5.2. Göz Enfeksiyonları 12
2.1.5.3. Gastrointesinal Sistem Enfeksiyonları 13
2.1.5.4. Diğer Hastalıklar 13
2.1.5.5. Obezite ile İlişkisi 14
2.1.6. Laboratuvar Tanısı 15
2.1.6.1. Mikroskobik İnceleme 15
2.1.6.2. Antijen Saptama 16
2.1.6.3. Nükleik asit saptama yöntemleri 19
2.1.6.4. Hücre Kültürü 20
2.1.6.5. Tiplendirme 23
2.1.7. Tedavi ve Korunma 25
2.2. Karaciğer ve Hastalıkları 26

2.2.1. Karaciğer Anatomisi 26
2.2.2. Karaciğer Hastalıklarına Genel Bakış 27
2.3. Non-Alkolik Karaciğer Yağlanması 29
2.3.1. Etiyoloji 30
2.3.2. Epidemiyoloji 32
2.3.3. Patogenez 35
2.3.4. Klinik Tanı 39
2.3.4.1. Non-invaziv tanı yöntemleri 40
2.3.4.2. İnvaziv tanı yöntemleri 42
2.3.5. Tedavi ve Korunma 44
3. GEREÇ VE YÖNTEM 45
3.1. Çalışma Alanı ve Tasarımı 45
3.2. Çalışma Gruplarının Tanımlanması 46
3.2.1. Çalışma Grubu 46
3.2.2. Kontrol Grubu 47
3.3. Çalışma Planı ve Süreci 48
3.4. Çalışmada Kullanılan Testler 48
3.4.1. Serolojik Testler 48
3.4.1.1. İnsan Leptin Testi 48
3.4.1.2. İnsan ADP/Acrp30 (Adiponektin) Testi 50
3.4.1.3. İnsan Interlökin-6 (IL-6) Testi 53
3.4.1.4. Serum Nötralizasyon Testi (SNT) 56
3.4.2. Moleküler Testler 59
3.4.2.1. HAdV-36 DNA Testi 59
3.4.3. Biyokimyasal Testler 63
3.5. İstatistiksel Analiz 64
4. BULGULAR 66
5. TARTIŞMA 91
6. KAYNAKLAR 102
7. HAM VERİLER 115
8. FORMLAR 116
9. ETİK KURUL KARARI 117
10. PATENT HAKKI İZNİ 118

11. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....119
12. ÖZGEÇMİŞ 120

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1 İnsan Adenoviruslarının yapısal özellikleri ve sınıflandırılması (26-28)..... 4
Tablo 2-2 İnsan Adenovirus (HAdV) gruplarına göre olışturduğu hastalıklar (23) 4
Tablo 2-3 Adenovirus kapsidindeki proteinlerin yeri ve fonksiyonları (31) 6
Tablo 2-4 Adenovirus genom bölgeleri ve fonksiyonları (31) 7
Tablo 2-5 Solunum ve göz enfeksiyonlarına neden olan Adenovirus Serotipleri 13
Tablo 2-6 NAFLD etiyolojisinde rol oynayan faktörler (115) 32
Tablo 2-7 Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı tanısında yardımcı biyokimyasal parametreler (137)..... 41
Tablo 2-8 Karaciğer yağlanmasının ultrasonografik olarak derecelendirilmesi (157) ... 42
Tablo 2-9 Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında histopatolojik bulgular ve sınıflandırma (100) 43
Tablo 3-1 PCR'da bir numune için gerekli reaktif karışımı 61
Tablo 3-2 Çalışılan primer setlerinin özellikleri..... 62
Tablo 3-3 Nested PCR çalışmasında kullanılan tampon ve çözeltiler 63
Tablo 4-1 Çalışma ve kontrol grubu olgularının demografik verileri..... 66
Tablo 4-2 Çalışma grubu olgularının demografik, biyokimyasal, adipokin ve serolojik test sonuçları..... 67
Tablo 4-3 Kontrol grubu olgularının demografik, biyokimyasal, adipokin ve serolojik test sonuçları..... 76
Tablo 4-4 HAdV-36 nötralizan antikor pozitifliğinin çalışma ve kontrol grubu olgularında karşılaştırılması..... 84
Tablo 4-5 Çalışma ve kontrol grubu olgularında HAdV-36 nötralizan antikor pozitifliliğinin cinsiyete göre dağılımı..... 84
Tablo 4-6 Çalışma ve kontrol gruplarındaki HAdV-36 nötralizan antikor pozitif olguların yaş gruplarına göre dağılımları 85
Tablo 4-7 Çalışma ve kontrol grubunda adipokin ve bazı biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması..... 85
Tablo 4-8 Çalışma grupları ile kontrol grubu arasında total kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması..... 88

Tablo 4-9 Çalışma grubundaki HAdV-36 nötralizan antikor pozitif ve negatif olguların demografik veriler, biyokimyasal parametreler ve adipokinler yönünden karşılaştırılması 89
Tablo 4-10 Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında risk faktörü olabilecek değişkenlerin binary lojistik regresyon analizi..... 90

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 Adenovirus yapısı (32) 5
Şekil 2-2 Adenovirus gen bölgeleri ve fonksiyonları (31) 8
Şekil 2-3 Adenovirus genomunun şematik gösterimi 9
Şekil 2-4Adenovirusun hücre içi replikasyon döngüsü(38) 9
Şekil 2-5 Normal kilolu ve obez bireylerde adipoz doku yapısı (31) 15
Şekil 2-6 Adenovirusların elektron mikroskobisindeki görüntüsü (31) 16
Şekil 2-7 IFA yönteminin çalışma prensibi (31) 17
Şekil 2-8 Adenovirus/Rotavirus Dışkıda Antijen Testi 18
Şekil 2-9 Hücre kültürünün mekanizması (84) 21
Şekil 2-10 Adenovirus ile enfekte hücrelerde görülen agregasyon tipi sitopatik etki (85). 22
Şekil 2-11 Shell-vial yönteminin mekanizması 23
Şekil 2-12 Hemaglütinasyon İnhibisyon Testi (84) 24
Şekil 2-13 Karaciğer Lobülünün Anatomik Yapısı 27
Şekil 2-14 Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının klinik spektrumu (103) 30
Şekil 2-15 NAFLD'ın Dünya Genelindeki Tahmini Prevalansı (118) 33
Şekil 2-16 Diabetes Mellitus hastaları arasında küresel ve bölgesel NAFLD prevalansı (128) 35
Şekil 2-17 Karaciğer Yağlanması ve Two Hit's Hipotezi (131) 36
Şekil 2-18 Artan adipoz dokunun sistemik etkileri (152) 38
Şekil 2-19 NAFLD Patogenezinde rol oynayan faktörler (152) 39
Şekil 2-20 NAFLD Tanısal Algoritma (164) 43
Şekil 3-1 Referans standartın seri dilüsyonu 51
Şekil 3-2 İnsan IL-6 ELISA testinin çalışma prensibi 54
Şekil 3-3 Referans standartın seri dilüsyonu 55
Şekil 3-4 Genomik DNA ekstraksiyon aşamaları 60
Şekil 4-1 Çalışma grubu olgularından HAdV36 nötralizan antikor pozitif hasta örneğinin hücre görüntüsü (A549 hücrelerinin 40x büyütmede mikroskop (EVOS) görünümü) 82
Şekil 4-2 Çalışma grubu olgularından HAdV36 nötralizan antikor negatif hasta örneğinin hücre görüntüsü (A549 hücrelerindeki sitopatik etki varlığının 40x büyütmede mikroskop (EVOS) görünümü) 82

Şekil 4-3 Opere grup olgularının Nested-PCR sonrası jel elektroforez görüntüsü 83
Şekil 4-4 Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum lipidlerinin karşılaştırılması 86
Şekil 4-5 Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum leptin medyan düzeyinin karşılaştırılması 87
Şekil 4-6 Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum adiponektin medyan düzeyinin karşılaştırılması 87
Şekil 4-7 Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum IL-6 medyan düzeyinin karşılaştırılması 88

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

BMI: Body Mass Index

CAR: Coxackie Adenovirus Reseptör

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

DM: Diabetes Mellitus

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EIA: Enzim Immün Assay

ELISA: Enzim Işaretli İmmun Sorbent Assay

EMEM: Eagle's Minimum Essential Medium

FDA: Food and Drug Administration

HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

HAdV-36: Human Adenovirus type 36

IEM: İmmun elektron mikroskopisi

IFA: İndirekt Floresan Antikor

IL: İnterlökin

LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

NAFLD: Nonalcoholic fatty liver disease

NASH: Nonalcoholic steatohepatitis

MHC: Major Histocompatibility Complex

PCR: Polymerase Chain Reaction

REA: Restrüksiyon Enzim Analizi

RIA: Radyoimmunassay

SPE: Sitopatik etki

TC: Total Kolesterol

TG: Trigliserid

TNF: Tümör nekroz faktörü

ÖZET

Dinç, H.Ö. (2020). Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAFLD) ile Human Adenovirus 36 İlişkisinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Doktora Tezi. İstanbul.

Günümüzde en sık görülen karaciğer hastalıkları arasında yer alan NAFLD, karaciğer hücrelerinde çeşitli nedenlerden dolayı lipid birikmesi sonucu gelişmektedir. HAdV-36'nın E4orf1 geni aracılığıyla adipoz dokuda, adiposit proliferasyonu ve farklılaşmasına yol açarak obezite ve ilişkili hastalıkların gelişmesine neden olduğu ileri sürülmektedir. Bu nedenle, HAdV-36-obezite ilişkisine dair araştırmalar son yıllarda obezite ile ilişkili NAFLD gibi hastalıklar üzerinde de devam etmektedir.

Bu kapsamda erişkinlerde olgu-kontrol temelli, klinik retrospektif olarak planlanan çalışmamızda 106 farklı metabolik profillere sahip karaciğer yağlanması olan çalışma grubu ve 81 normal kilolu sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda serum nötralizasyon yöntemiyle HAdV-36 nötralizan antikor varlığını ve ELISA yöntemiyle serum adipokin (leptin, adiponektin ve IL-6) düzeylerini saptayarak, "HAdV36-NAFLD" ilişkisini göstermeyi amaçladık. Bununla birlikte karaciğer yağ dokusu örneklerinde Nested-PCR yöntemiyle HAdV-36 DNA varlığını araştırmayı amaçladık.

106 hastanın 10'unda, 81 kontrol olgusunun ikisinde HAdV-36 nötralizan antikor varlığı belirlenmiş, aralarında anlamlı fark saptanmıştır (p=0.05). Çalışma grubunda total kolesterol, trigliserid ve adipokin serum düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.05). NAFLD olan çalışma grubu olgularında HAdV-36 nötralizan antikor pozitif olgularda, serum adipokinleri açısından anlamlı bir fark saptanmazken, LDL ve total kolesterol düzeyi anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.05). HAdV-36 OR=4,11 değeri ile bir risk faktörü olarak belirlenirken, binary lojistik regresyon analizinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi. Hastalardan alınan yağ dokusu örneklerinin hiçbirinde HAdV-36 DNA'sı saptanmamıştır.

Sonuç olarak, bu veriler multifaktöriyel etiyolojiye sahip olan NAFLD ile HAdV-36 etiyopatogenez ilişkisinde HAdV-36 varlığının karaciğer yağlanmasında bir rolünün olabileceğini düşündürebilir. Ancak, bu ilişkinin daha net ortaya konulması için geniş serili ve özellikle kohort temelli yeni çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: NAFLD, HAdV-36, Obezite, Serum Nötralizasyon, HAdV-36 DNA

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 33746

ABSTRACT

DINC, H.O. (2020). Investigation of the Relationship between Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Human Adenovirus 36. Istanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Department of Medical Microbiology. Doktora Tezi. İstanbul.

NAFLD, which is among the most common liver diseases today, develops as a result of lipid accumulation in liver cells for various reasons. It has been suggested that HAdV-36 leads to adipocyte proliferation and differentiation in adipose tissue through the E4orf1 gene, leading to the development of obesity and related diseases. Therefore, research on the relationship between HAdV-36 and obesity has been continuing on obesity-related diseases such as NAFLD in recent years.

In this context, in our study, which was planned as a case-control-based clinical retrospective in adults, we determined the presence of HAdV-36 neutralizing antibodies by serum neutralization method, and the presence of HAdV-36 neutralizing antibodies in the study group with 106 different metabolic profiles and the control group, which consisted of 81 normal weight healthy individuals. We aimed to show the "HAdV36-NAFLD" relationship by detecting serum adipokine (leptin, adiponectin and IL-6) levels. However, we aimed to investigate the presence of HAdV-36 DNA in liver adipose tissue samples using the Nested-PCR method.

The presence of HAdV-36 neutralizing antibodies was determined in 10 of 106 patients and two of 81 control subjects, and a significant difference was found between them ($p=0.05$). Total cholesterol, triglyceride and adipokine serum levels were found to be significantly higher in the study group ($p=0.05$). While there was no significant difference in serum adipokines in HAdV-36 neutralizing antibody positive patients in the study group with NAFLD, LDL and total cholesterol levels were found to be significantly higher ($p=0.05$). While HAdV-36 was determined as a risk factor with OR=4.11, it did not show a statistically significant difference in binary logistic regression analysis. HAdV-36 DNA was not detected in any of the adipose tissue samples taken from the patients.

In conclusion, these data may suggest that the presence of HAdV-36 may play a role in the etiopathogenesis relationship between NAFLD, which has a multifactorial etiology, and HAdV-36. However, we think that new studies with large series and especially cohort-based studies are needed to reveal this relationship more clearly.

Key Words: NAFLD, HAdV-36, Obesty, Serum Neutralization, HAdV-36 DNA

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University-Cerrahpasa. Project No. 33746

1. GİRİŞ VE AMAÇ

"Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; NAFLD)" küresel olarak en yaygın görülen kronik karaciğer hastalıklarının başında yer almaktadır (1-3). NAFLD patogenezi tam olarak anlaşılmamakla birlikte, karaciğer yağlanmasında hepatositlerdeki yağ birikiminin temel nedeninin insülin direnci olduğu bilinmektedir (4). Bununla birlikte NAFLD patogenezinde; yaş, cinsiyet, obezite, metabolik sendrom ve ya oksidatif stresin majör risk faktörü olarak rol oynayabileceği düşünülmektedir (5). Gelişmekte olan ülkelerde NAFLD prevalansı erişkinlerde %30 iken; çocuklarda %13'tür. Özellikle de obez bireylerin %95'inde NAFLD görülmektedir (4).

NAFLD için risk faktörü arasında yer alan obezitenin, dünyanın her tarafında olduğu gibi ülkemizde de hem erişkinlerde ve hem de çocuklarda morbidite ve mortalitesi hızla artmaktadır (6). Tıpkı NAFLD gibi, obezite de multifaktöriyel etiyolojiye bağlı olmakla birlikte; mevcut obezite epidemisinde enfeksiyöz ajanlar son zamanlarda sıklıkla olası bir etken olarak karşımıza çıkmıştır (7). Özellikle viral enfeksiyonlar obezitenin olası bir nedeni olarak öne sürülmüş ve "enfektobezite" adlı yeni bir terim ortaya çıkmıştır (8). Son 20 yıl içinde, deneysel olarak insan Adenovirus 36 (HAdV-36) ile enfekte edilmiş fare, tavuk ve insan olmayan primatlarda HAdV-36'nın yağlanmayı başlatma yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (8-10). HAdV-36'nın yağ hücrelerinde replikasyonu, proliferasyonu, lipid birikimini ve insülin duyarlılığını arttırdığı; aynı zamanda bu hücrelerin leptin salınımı ve ekspresyonunu azalttığı bilinmektedir (7, 9).

Bu konuda yapılan ulusal ve uluslararası birçok çalışmada HAdV-36 seropozitifliği ile obezite arasındaki ilişki erişkin ve çocuklarda gösterilmiştir (11-13). Ülkemizden Ergin ve arkadaşlarının (14) yapmış olduğu çalışmada, obez erişkin bireylerde HAdV-36 seropozitifliği non-obez bireylere göre yüksek bulunmuştur. Aynı şekilde yine ülkemizden Kocazeybek ve arkadaşlarının (15) çocuklarda yapmış olduğu çalışmada ise, HAdV-36 seropozitifliği olan obez çocuklarda IL-6 düzeyleri dâhil olmak üzere, çocuklarda HAdV-36 seropozitifliği normal kilolu çocuklara göre yüksek bulunmuştur ve obezite arasında bir ilişki olduğunu göstermişlerdir.

Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda; HAdV-36' nın hiperplazi ve hipertrofi yoluyla yağ dokusunu arttırarak "non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı

(NAFLD)", metabolik sendrom ve insülin duyarlılığına katkı sağladığı bildirilmiştir (16). Buna karşın insanlara yönelik klinik çalışma olarak 2010 yılında Trovato ve ark. (17)'nın çalışması dışında ulusal ve uluslararası düzeyde henüz bu ilişkiye yönelik başka bir çalışma da yapılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın klinik açıdan serolojik testlere ek moleküler yöntem destekli ikinci bir çalışma olması bakımından da literatüre katacağı önem fazladır.

Bu çalışmada; hem tıbbi izlem altındaki NAFLD varlığı olan farklı alt grup olguları (obez+NAFLD, diabetes mellitus+NAFLD ve sadece NAFLD) hem de obez+NAFLD olup hepatobiliyer operasyona maruz kalan olguların kan örneklerinde serum nötralizasyon yöntemi ile HAdV-36 nötralizan antikor varlığı ve ayrıca opere edilen olguların karaciğer yağ dokusu örneklerinden de Nested-PCR yöntemi ile HAdV-36 DNA varlığının saptanmasını amaçladık. Bununla birlikte; tüm olguların serum leptin, adiponektin, IL-6 ve lipid düzeylerinin belirlenmesiyle NAFLD olgularında HAdV-36'nın karaciğer yağlanmasına dönük olası tetikleyici rolünün olup olmadığı araştırılarak, multifaktöriyel ilişkiye sahip ve özellikle obeziteyle bağlantılı olduğu ileri sürülen NAFLD ile HAdV-36 etyopatogenez ilişkisine yönelik uluslararası düzeyde (sadece yağ dokusundan HAdV-36 DNA araştırılması ile) ve ülkemizden ilk kez bir bakış açısı sunulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Adenovirus

Adenoviruslar, Rowe W ve arkadaşları (18) tarafından ilk kez 1953 yılında adenoid hücre kültüründe izole edilmiştir. Bununla birlikte, 1954 yılında askeri birlikte çıkan atipik pnömoni salgınında alınan solunum örneklerinin kültüründe benzer bir ajan saptanmış ve "RI-67 (respiratory infection from recruit 67)" olarak adlandırılmıştır (19). Daha sonrasında bu iki ajanın birbiriyle ilişki olduğu gösterilmiş ve ilk izole edildiği dokudan dolayı ailenin adı "Adenoviridae" olarak belirlenmiştir (20). Adenovirusların göz, solunum yolu, gastrointestinal sistem enfeksiyonlarından sorumlu olmakla birlikte, son yıllarda obezite ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda, konakta geniş hücre spekturumuna sahip olmaları ve kolay üretilebilmeleri nedeniyle günümüzde gen tedavisi ve aşı çalışmalarında vektör olarak kullanılmaktadır (21).

2.1.1. Sınıflandırma

Adenoviridae'de Atadenovirus, Aviadenovirus, Ichtadenovirus, Mastadenovirus ve Siadenovirus olmak üzere beş cins yer almaktadır. Latince "mastos (meme)" kelimesinden gelen Mastadenovirus cinsinde memeleri enfekte eden adenoviruslar yer almakta olup; insan, maymun, sığır, at, domuz, yarasa, kedigiller gibi memelilerde çeşitli enfeksiyonlara yol açmaktadır. İnsan Adenovirusları (HAdV) DNA dizi homolojilerine göre yedi gruba (Serogrup A-G) ayrılmış olup, 67 tip içermektedir (22, 23) (Tablo 2.1). Klinik öneme sahip HAdV'lar Tablo 2.2' de gösterilmiştir. HAdV' lar, serogruplara göre farklı enfeksiyonlardan sorumludurlar (24). Genel olarak grup A, F, G türleri gastrointestinal sistem; grup B, C, E türleri solunum sistemi; D türleri göz enfeksiyonları ile ilişkilendirilmektedir (25) (Tablo 2.2). Ayrıca son yıllarda, bazı adenovirus serotiplerinin (özellikle HAdV-36) obezite ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Tablo 2-1 İnsan Adenoviruslarının yapısal özellikleri ve sınıflandırılması (26-28)

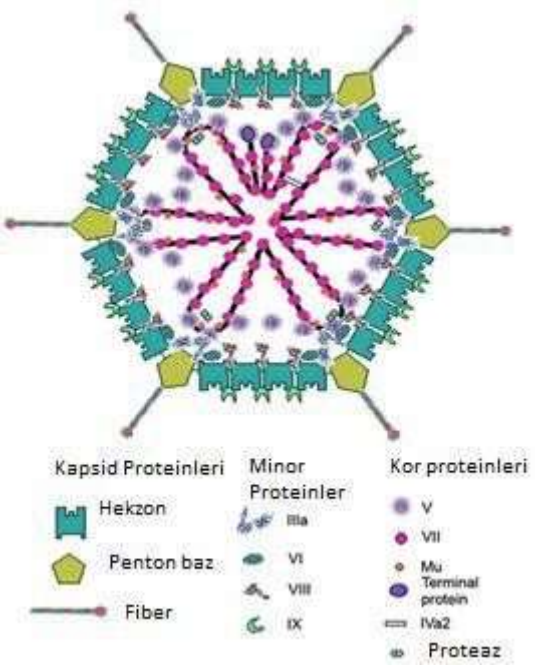
Grup	Serotip	Onkojenik Özellik	DNA' nın % G+C Oranı	Hemaglütinasyon		Fiber Uzunluğu (nm)
				Maymun	Sıçan	
A	12,18,31, 61	Yüksek	48-49	-	±	28-31
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50, 55, 66	Zayıf	50-52	+	-	9-11
C	1,2,5,6, 57	Yok	57-59	-	±	23-31
D	8–10, 13, 15, 17, 19, 20, 22–30, 32, 33, 36–39, 42–49, 51, 53, 54, 56, 58-60, 63-67	Yok	58	±	+	12-13
E	4	Yok	57-61	-	±	17
F	40,41	Yok	57-59	-	±	~29
G	52	Yok	Belirlenmedi	Belirlen-medi	Belirlen-medi	Belirlen-medi

Tablo 2-2 İnsan Adenovirus (HAdV) gruplarına göre olışturduğu hastalıklar (23)

HAdV Grupları	Serotip	Oluşturduğu Hastalıklar
A	12,18,31, 61	Solunum, Gastrointestinal, Üriner Sistem Enfeksiyonları
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50, 55, 66	Solunum, Gastrointestinal, Üriner Sistem Enfeksiyonları ve Keratokonjiktivit
C	1,2,5,6, 57	Solunum, Gastrointestinal, Üriner Sistem Enfeksiyonları
D	8–10, 13, 15, 17, 19, 20, 22–30, 32, 33, 36–39, 42–49, 51, 53, 54, 56, 58-60, 63-67	Keratokonjiktivit ve Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları
E	4	Keratokonjiktivit ve Solunum Sistemi Enfeksiyonları
F	40, 41	Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları
G	52	Gastrointestinal Sistem Enfeksiyonları

2.1.2. Yapı ve Replikasyonu

Adenoviruslar lineer çift zincirli DNA'ya sahip, ikozahedral simetrili, zarfsız viruslardır. Genom yaklaşık 36 kb büyüklüğünde olup, 30-40 adet protein kodlar ve bu proteinlerin yanlızca 12'si yapısaldır. DNA molekül ağırlığı 25-30x10^6 dalton olup, virus ağırlığının %13'ü DNA'dan oluşmaktadır (29). Çapı 70-90 nm olan ikozahedral simetrili kapsid, 252 yapısal kapsomerden oluşur. Bu yapısal kapsomerlerin 240'nı eşkenar üçgen şeklinde olan hezkonlar, 12'sini de hekzonların köşelerinde bulunan "penton" adlı yapılar oluşturmaktadır. Penton, ikozahedronların köşesinde yer alan "penton baz" ve buradan çıkan "fiber" adı verilen uzantılardan oluşur. Hekzonlar tüm adenovirus tiplerinde ortak yapıyken, pentonlar tipe özgüdür ve sitopatik etkiden sorumludur (27). Bununla birlikte, pentonların fiber yapıları konak hücreye bağlanmada rol oynarken, uzunlukları virusun tiplerine göre değişmektedir (30) (Şekil 2-1). Penton, hekzon ve fiber kapsomerlerinin yanı sıra kapsid yapısını sabitlemede görevli minör kapsid proteinleri de yer almaktadır (31) (Tablo 2.3).



Şekil 2-1 Adenovirus yapısı (32)

Tablo 2-3 Adenovirus kapsidindeki proteinlerin yeri ve fonksiyonları (31)

Protein Adı	Yeri	Bilinen Fonksiyonları
II	Hekzon monomeri	Yapısal
III	Penton Baz	Penetrasyon
IIIa	Penton bazla ilişkili	Penetrasyon, Stabilite
IV	Fiber=iplik	Hemaglütinasyon bağlanma reseptörü
V	Öz (kor): Penton baz ve DNA ile ilişkili	Histon benzeri, DNA paketleme
VI	Hekzon minör polipeptid	Parçaları topluluk haline dengede tutmak, Stabilite
VII	Öz (kor)	Histon benzeri, DNA paketleme
VIII	Hekzon minör polipeptid	Parçaları topluluk haline dengede tutmak, Stabilite
IX	Hekzon minör polipeptid	Parçaları topluluk haline dengede tutmak, Stabilite
TP (terminal protein)	Genom- 5' uç protein	Genom replikasyonu
Mu	Nukleoprotein	Histon benzeri viral kor protein, DNA paketleme
IV2a	Nukleoprotein	Genom paketlenmesi
Proteaz	Penton ile ilişkili	Hücre içi endozomdan kaçış

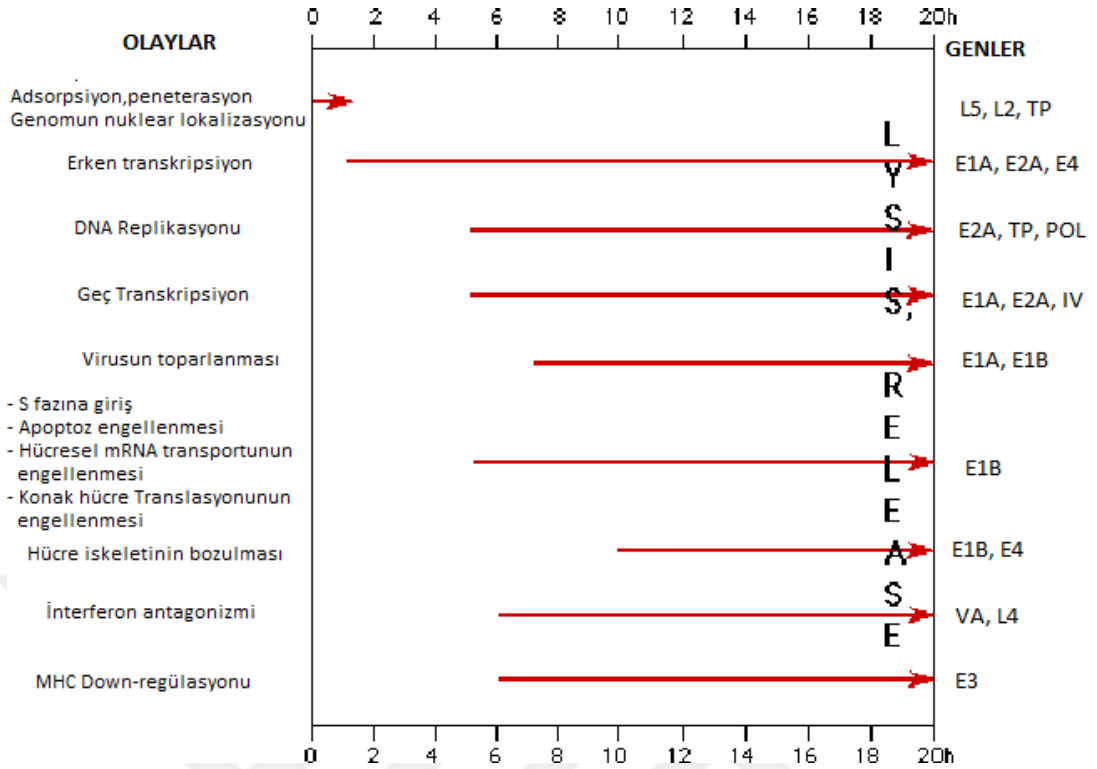
Adenoviruslar konak hücrenin ilgili reseptörlerine fiber proteinleri ile tutunurlar. Penton baz proteinlerinin konak αvβ3 ve αvβ5 integrin proteinleriyle etkileşime girmesiyle virus pinositoz yoluyla hücre içine girer (32). Adenoviruslar, konak hücrede birçok dokuda (akciğer, trakea, kornea, barsak, kalp, karaciğer gibi) bulunan Coxsackie-Adenovirus Reseptörlerine (CAR) tutunurlar (33). CAR aracılığıyla konak hücreye tutunamayan adenovirus grupları ise; CD46, CD80, CD80/86, sialisik asit, heperan sülfat gibi yüzey moleküllerini kullanırlar (34). Virus endozom içinde hücreye girdikten sonra soyulmaya başlar ve viryonlar konak hücre sitoplazmasına ulaşır. Adenoviruslar, replikasyon ve transkripsiyon aşamalarında gerekli replikaz ve transkriptaz gibi enzimlerin sentezi için konak hücrenin nukleusundan faydalanırlar. Bu nedenle, kapsid proteinlerinden ayrılan virus konak hücrenin mikrotübül yapıdaki transport sistemi ile taşınarak, viral DNA nukleusa ulaşır.

Adenovirus replikasyonu, viral DNA replikasyonunun gerçekleştiği "erken faz" ve viral kapsidin yapısal proteinlerinin sentezlendiği "geç faz" olmak üzere iki aşamada tamamlanır. Erken fazda ilk olarak viral genlerin (E1-E4) sentezi başlar. E1A bölgesi RNA sentez aktivasyonu, erken genlerin transkripsiyonunun aktivasyonu başlatmakla birlikte, replikasyonun düzenlenmesinden için gerekli olan bir bölge olup, replikasyonu

başlatır. E1B ise, enfekte konak hücresinin apoptozise gitmesini engeller (27). Enfeksiyon başlangıcının 7. saatinde, E2 bölgesi viral DNA replikasyonu için gerekli olan DNA polimeraz enzimini kodlar (35). E3 ve E4 bölgeleri ise, konağın savunma sistemi ile etkileşim halinde olup, modülasyondan sorumludur (36) (Tablo 2.3).

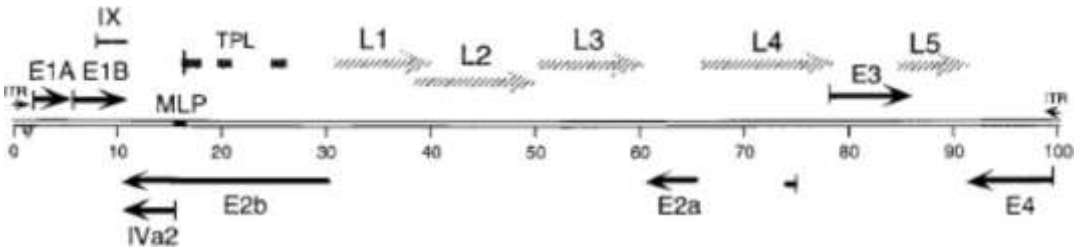
Tablo 2-4 Adenovirus genom bölgeleri ve fonksiyonları (31)

BÖLGE	ÜRÜNLERİ	FONKSİYONLARI
E1	E1A	Hücresel transformasyon ve onkojeniteden sorumludur. Viral ve bazı konakçı hücre genleri için transaktivatördür.
	E1B	Viral geç mRNA transportunu sağlar. Hücresel mRNA'nın sitoplazmaya ulaşmasını engellemede rolü vardır.
E2	E2A	Replikasyon için gerekli olan DNA-bağlayıcı bir proteinin sentezinden sorumludur.
	E2B	DNA polimeraz sentezinden sorumludur.
E3		Hücre kültürlerinde virüsün replikasyonunda gerekli değildir. İnsan makrofaj hücrelerinde "major histocompatibility complex" (MHC) polipeptidlerinin plazma zarına taşınmasını engeller. Ayrıca Ad ile enfekte hücreleri "tümör nekrozis faktör" (TNF) tarafından lizise karşı koruduğu gösterilmiştir.
E4		Adenovirus replikasyonu için gerekli değildir. Bütün alt gruplarda korunmuş bir bölgedir. Transformasyonda E1B ürünleri ile rol oynadığı gösterilmiştir.

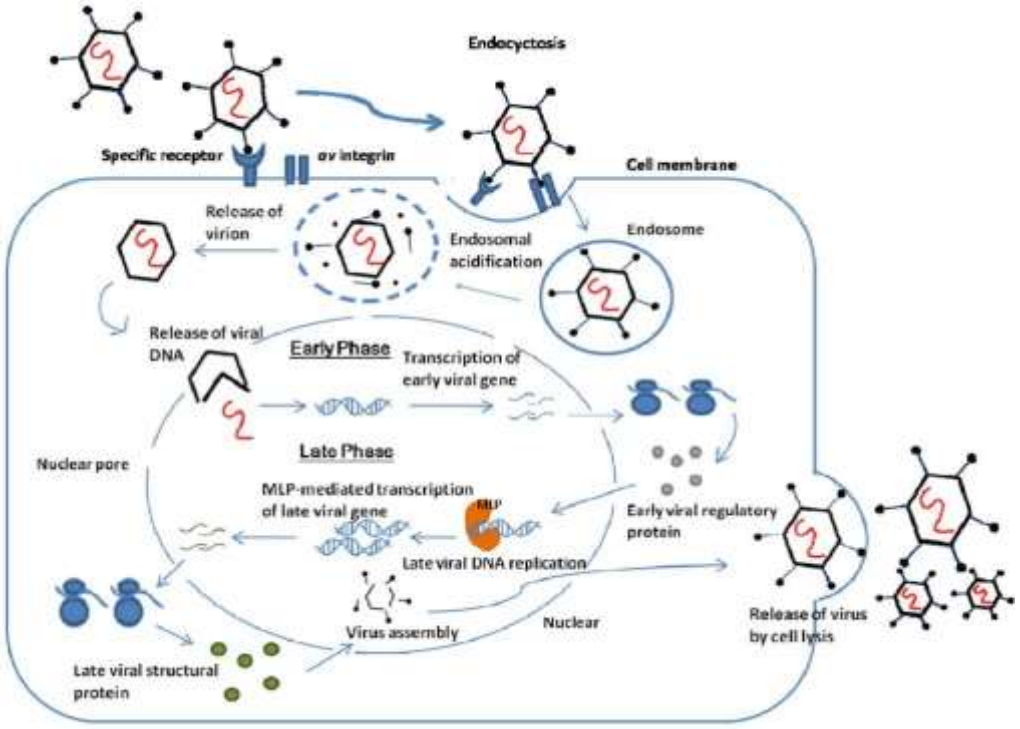


Şekil 2-2 Adenovirus gen bölgeleri ve fonksiyonları (31)

Viral DNA'nın replikasyonu için; DNA baglayıcı protein (DBP), prekürsör terminal protein (pTP) ve DNA polimeraz, nükleer faktör I,II ve III gibi hücresel proteinler kodlanır ve DNA ipliğinin 3'ucundan replikasyon başlar (35). Replikasyon sırasında oluşan tek iplikli halkasal DNA, daha sonra açılarak çif iplikli linear DNA haline gelir (37). DNA replikasyonu ile birlikte "Majör Geç Promoter (MLP)" aktive olarak, geç faz genleri eksprese edilir ve bu genler tarafından virusun yapısal proteinleri kodlanır (Şekil 2-3). Olgunlaşan viryonlar nukleusta agregatlar halinde toplanır ve hücreyi lizise uğratarak konak hücreden salınırlar (Şekil 2-4). Virusun konak hücredeki bir replikasyon döngüsü yaklaşık olarak 30 saatte tamamlanmakta olup, salınan viral partiküllerin sadece %1-5'i enfeksiyöz özelliktedir (27).



Şekil 2-3 Adenovirus genomunun şematik gösterimi



Şekil 2-4Adenovirusun hücre içi replikasyon döngüsü(38)

2.1.3. Epidemiyoloji

Adenoviruslar aerosol, fekal-oral yol, parmaklar, kontamine cisimler ve havuzlar aracılığıyla bulaşabilir. Fekal-oral yol, küçük çocuklar ve aileleri arasında en yaygın bulaşma şeklidir (39). Adenoviruslar birçok hayvanda enfeksiyona neden olur, ancak bu türler insan için patojen değildir. HAdV için bilinen bir hayvan rezervuarı bulunmamaktadır. Adenoviruslar kuruluğa, deterjanlara, gastrointestinal salgılara (asit, safra, pankreas proteazı) dirençlidirler ve cansız yüzeylerde 30 günden fazla enfeksiyöz olarak kalabilirler. Virüsün inaktivasyonu için 56ºC'de 30 dakika bekletilmesi, 0,5µg/ml konsantrasyonundaki serbest klor varlığı, UV ile ışınlama ya da %70 etanolle 1 dakika muamele edilmesi gerekmektedir (31).

Adenoviruslar tüm dünyada yaygın görülmekle birlikte, kış ve bahar aylarında daha sık olmak üzere yıl boyunca görülür. HAdV'nin dünya çapındaki tüm solunum yolu enfeksiyonlarının yaklaşık %2-5'ini, akut gastroenteritlerin %5-15'ini ve konjuktivitlerin %15-70'ini oluşturduğu tahmin edilmektedir (40, 41).

Adenoviruslar, sıklıkla göz ya da solunum yolu enfeksiyonu salgınlarına neden olurlar (42, 43). Salgınlar nozokomiyal olmak üzere, özellikle bakım evleri, kreş, askeri birlikler gibi kapalı ve bir arada yaşamın yoğun olduğu yerlerde görülebilir (25, 44, 45). Özellikle hastanelerde adenovirusa bağlı göz enfeksiyonlarında salgının atak hızı %25'e ulaşmaktadır. Bu nedenle, göz muayenesi esnasında el hijyeninin sağlanması, eldiven kullanılması, ve muayene sonrasında el, cihaz ve yüzeylerin dezenfekte edilmesi büyük önem taşır. Enfekte personelin saptanması halinde personelin derhal izole edilmesi ve duruma göre polikliniğin kapatılması gerekmektedir. Askeri birliklerde HAdV-3,4,7,14,21 serotipleri salgınlara neden olmaktadır. Okul öncesi çocuklarda, HAdV-1, 2,5,6 serotipleri solunum yolu enfeksiyonuna neden olmakla birlikte, bu yaş grubunda görülme sıklığı %2-14 arasındadır. Hijyenik koşulların yeterli olmadığı havuzlarda HAdV-8, 19, 37 serotipleri göz enfeksiyonlarına neden olmaktadır (46).

2.1.4. Patogenez ve İmmünite

Adenoviruslar mukozal epitel hücrelerde litik, lenfoid ve adenoid hücrelerde latent, rodent hücrelerde ise transforme edici enfeksiyonlara neden olabilirler. Virusun enfekte edeceği organ spesifitesinden fiber proteini sorumludur. Penton proteininin toksik aktivitesi sonucunda, hücresel mRNA hareketi ile protein sentezinin bozulmasıyla enfekte dokuda hasar meydana gelir (47). Virus, enfekte hücrede koyu intranükleer inklüzyon cisimcikleri oluşturmakla birlikte, enfeksiyon bölgesinde mononükleer hücre infiltrasyonu ve epitel hücre nekrozuna yol açabilir (47).

Virus çoğunlukla lokal enfeksiyonlara neden olmakla birlikte, lenfoid dokularda (adenoidler, tonsiller, peyer plakları gibi) dışında yayılım göstermez. Bununla birlikte, bu dokularda yıllarca latent olarak varlıklarını sürdürebilirler. Latent virus, immunsuprese ya da başka bir etkenle enfekte kişilerde reaktivasyona uğrayabilir. Adenoviruslar immunsuprese kişilerde, %50-70 mortalite ile seyreden viremiye neden olabilir (31).

Adenovirus enfeksiyonlarına karşı konakta gelişen nötralizan antikorlar, yanlızca enfeksiyondan sorumlu serotipe özgüdür, farklı serotiplere karşı etkisizdir. Konağın hücresel immün yanıtı, özellikle de sitotoksik T lenfositleri, virusun yayılımını sınırlandırmada önemli rol oynar. Ancak bazı adenoviruslar, MHC-I ekspresyonunu ve antijen sunum mekanizmalarını bozar ve CD8 T lenfosit aktivasyonunu inhibe ederek, immun yanıttan kaçar (47).

2.1.5. Klinik

Adenoviruslar, bağışıklık sistemi sağlıklı işleyen kişilerde çoğunlukla asemptomatik enfeksiyona neden olurlar. Semptomatik enfeksiyonlar, bilinen tüm adenovirus serotiplerinin yalnızca üçte biri ile ilişkili olup; üst ve alt solunum yolu hastalığı, konjonktivit, gastroenterit ve hemorajisistit gibi çeşitli klinik sendromlarla ortaya çıkabilir (30). Klinik seyri hafif olup, çoğunlukla sekelsiz düzelir. Nadir durumlarda hepatit, miyokardit, meningoensefalit veya nefrit gözlemlenir (48).

2.1.5.1. Solunum Yolu Enfeksiyonları

Akut Febril Farenjit: 0-5 yaş arasında sıklıkla farenjit ve tonsilit olarak görülen, serotip 1-7'nin sebep olduğu enfeksiyondur (49). Klinik olarak; nazal konjesyon, öksürük, burun akıntısı, halsizlik, ateş, baş ve kas ağrısının görüldüğü ateşli solunum yolu enfeksiyonu şeklinde seyreder. Özellikle üç yaş altı çocuklarda adenovirus kaynaklı farenjit tablosu, B grubu streptokokal farenjit tablosu ile oldukça benzerlik göstermektedir (37). Klinik bulgular 3-5 gün sürer ve kendiliğinden iyileşir.

Faringokonjunktival Ateş: Serotip 3, 4 ve 7'nin sorumlu olduğu; farenjit, ateş, konjoktival ödem, hiperemi ve iki taraflı preauriküler lenfadenopati şeklinde seyreden bir enfeksiyondur (50-52). Viral partiküller damlacık veya yüzme havuzu yoluyla bulaşır. Çocuk ve gençlerde sık görülmekte olup, salgınlara yol açabilir. Salgınlar genellikle yeterince klorlanmamış ya da kontamine yüzme havuzlarından kaynaklanmaktadır (51). Bulaşıcılığı yüksek olup, konjonktivit tablosu 1-2 hafta devam eder ve sekelsiz iyileşme görülür.

Akut Solunum Yolu Hastalığı: Serotip 3, 4, 7, 14 ve 21'in sorumlu olduğu, trakeobronşit ve pnömoni ile karakterize hastalıktır (53). Akut solunum yolu enfeksiyonu çoğunlukla küçük çocuklarda görülür. Yetişkinlerde sadece askeriye, bakımevleri, okul gibi toplu yaşanılan yerlerde salgın şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Özellikle askeri

kışlalarda 1953 yılından beri salgınlar halinde görülmekte olup, 1971 yılında aşı uygulaması başlatılmıştır (54).

2.1.5.2. Göz Enfeksiyonları

Adenoviruslar, epidemik keratokonjonktivit (EKK), foliküler konjonktivit (FK) ve faringokonjunktival ateşe (FKA) neden olmaktadırlar. Bulaş damlacık yoluyla, kontamine el ya da araç-gereç ile temas yoluyla gerçekleşir. Özellikle hastanede kullanılan malzemelerin adenovirus ile kontaminasyonu salgınlara yol açmaktadır. Adenovirus enfeksiyonları tüm keratokonjonktivit vakalarının %92'sinden sorumlu olup, foliküler keratokonjonktivitin en önemli ve en sık nedenidir. FK tablosuna sıklıkla serotip 11 neden olmaktadır. Enfeksiyon çoğunlukla kış sonu, ilkbahar ve yazın başlarında görülmektedir. Folikül; lenfositlerin kümelenmesi sonucu oluşmakta olup, kan damarlarının oluşturduğu ağın sardığı küçük, soluk, damarsız görünümdedir (51, 55). Bununla birlikte, preauriküler lenfadenopati, hiperemi, sulu akıntı, göz kapaklarında ödem de görülebilir (51). Enfekte kişilerde sıklıkla kaşıntı ve yabancı cisim hissi görülmektedir (52).

Serotip 8, 9 ve 17'nin neden olduğu EKK ise, diğer göz enfeksiyonları arasında en ciddi ve en bulaşıcı seyreden enfeksiyondur (27). Enfeksiyon tek taraflı olarak başlar ve birkaç gün sonra bilateral olarak görülür. Enfekte kişide; yabancı cisim hissi, fotofobi, konjonktival lenfoid dokuda foliküler reaksiyon görülmekle birlikte, ciddi seyreden olgularda konjonktival hemoraji ve fibrin pseudomembranlar oluşabilir (56). Belirtiler 3-5 gün sürer ve sekel bırakmadan kendini sınırlar (56). Ancak iki hafta boyunca bulastırıcılık devam eder (57).

Tablo 2-5 Solunum ve göz enfeksiyonlarına neden olan Adenovirus Serotipleri

HASTALIK	Sıklıkla	Nadiren	Olgu Grubu (Genellikle)
ÜSYE	1-3,5,7	4,6,11,14b,15,18,21,29,31	Bebekler, Çocuklar
Pnömoni, diğer ASYE	3,4,7,21	1,2,5,7,8,11,14,35	Bebekler, Çocuklar, immunsuprese kişiler
Akut solunum yolu Hastalığı	4,7	2,3,5,8,11,14,21,35	Askeri birlikler
Pertussis sendromu	5	1,2,3,12,19	Çocuklar
Faringokonjunktival ateş	3,4,7	1,2,5,6,8,11-17,19-21,29,37	Çocuklar
Akut konjonktivit	1-4,7	6,9-11,15-17,19,20,22,37	Çocuklar
Epidemik keratokonjonktivit	8,9,37	2-5,7,10,11,13-17,19,21,23,29	Her yaş bireyler

2.1.5.3. Gastrointesinal Sistem Enfeksiyonları

Akut gastroenterit, beş yaş altı çocuklarda en yaygın hastalıklardan biri olmakla birlikte, dünya genelinde morbidite ve mortalitenin önemli bir nedeni olmaya devam etmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde gastroenterit ile ilişkili ölüm oranının yılda 3 ila 5 milyon arasında vaka olduğu tahmin edilmektedir (58). 0-5 yaş arası dönemdeki akut gastroenteritlerin %70'inden viral etklenler sorumludur (59). Viral etkenler arasında adenoviruslar (özellikle de serotip 40 ve 41), en sık görülen ikinci etken olarak kabul edilmektedir. Adenoviral enfeksiyonlarda; mide bulantısı, kusma, ishal, iştahsızlık, kilo kaybı ve dehidrasyon en sık görülen semptomlardır. Hastalık genellikle 1-3 gün arasında kendini sınırlar ve iyileşme görülür. Ancak çocuk ve yaşlı hastalar ile immunsuprese kişilerde mortalite ve morbiditeye yol açabilir (60, 61). Adenoviral gastroenteritte klinik bulgular ortadan kalksa bile, virüs atılımı uzun süre devam ettiğinden dolayı salgın oluşturma potansiyeli bulunmaktadır (62).

2.1.5.4. Diğer Hastalıklar

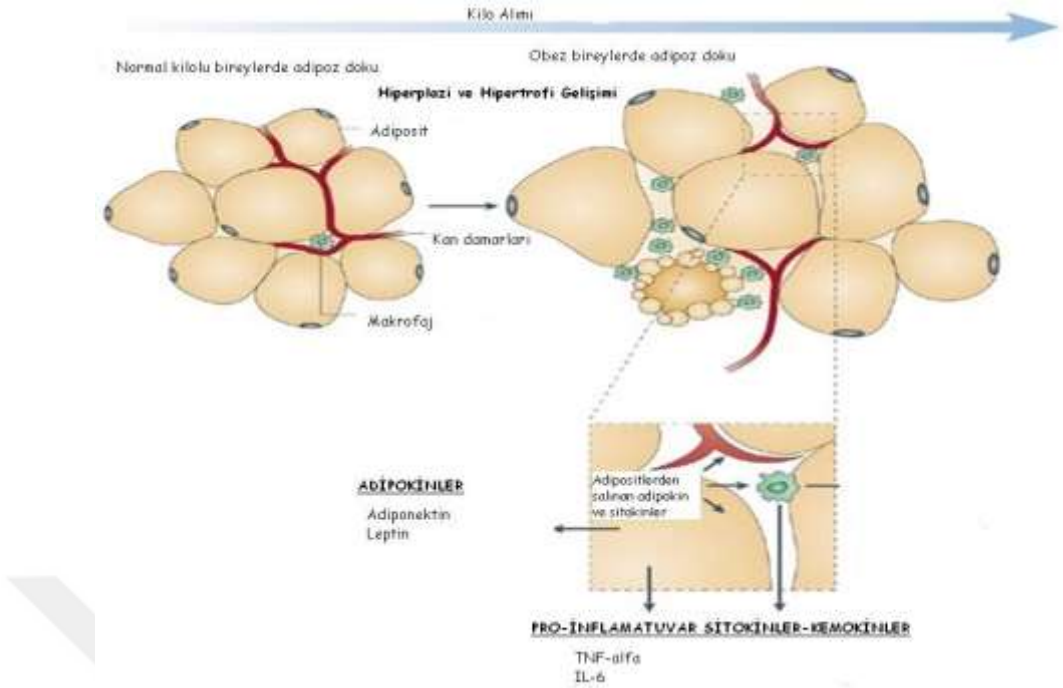
HAdV-11 ve 21, 6-15 yaş arası erkek çocuklarda hematüri, dizüri ve poliüri ile karakterize hemorajik sistitlere neden olabilmektedir (63). Kemik iliği ya da solid organ transplantasyonu sonrasında immun sistemin zayıflaması sonucunda hemarojik sistite neden olmaktadır. Bu hastalarda pnömoni, hepatit, kolit, pankreatit ve dissemine hastalıklar görülmüştür (31). Özellikle dissemine hastalığın mortalitesi %50-70'tir (64). HAdV- 2, 19 ve 37 herpes benzeri tablo oluşturmakla birlike, genital lezyonlardan izole

edilmektedir. Erkeklerde penil ülser, kadınlarda ise servisit ve labial ülsere sebep olmakla birlikte, hastalık yaklaşık 4 hafta sürmektedir (65). HAdV-5 ise ateş ile birlikte boğmacaya benzer öksürük ve kusma gibi belirtilerle "pertussis benzeri sendrom"a neden olmaktadır (31).

2.1.5.5. Obezite ile İlişkisi

HAdV-2 ve HAdV-5, adenovirüs replikasyon döngüleriyle ilgili birçok çalışmada kullanılmıştır. Bu serotipler, HeLa ve A549 hücreleri gibi permisif hücre hatlarını enfekte ederek laboratuvarda kolayca üretilebilir. Hücre kültürleri ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, Adv5 ve Adv37'nin hayvanlarda adipoziteyi arttırdığı ve artan obezite sorununa olası katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (66). Buna karşın, HAdV-2'nin hayvanlarda adipojenik etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir. Mevcut 67 serotip arasından HAdV-36, diğer insan adenovirüsleriyle minimum çapraz reaktivitesi nedeniyle en çok çalışılan serotip olmuştur (67-69). Virusların obezitenin gelişmesine yol açan kesinmekanizmaları henüz net olmamakla birlikte, yapılan çalışmalarda HAdV-36 enfeksiyonunun, 3T3-L1 insan preadipositlerinin adipositlere farklılaşmasını sağladığı ve proliferasyonunu hızlandırırarak yağ hücrelerindeki lipid konsantrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (69-71).

Adipoz dokuda beyaz yağ hücreleriyle birlikte çeşitli preadipositler, makrofaj, endotelyal hücre, fibroblast ve lökosit dahil olmak üzere birçok hücre tipi ile hormon benzeri peptitler, proinflamatuar kemokinler ve adipokinler bulunmaktadır (72). HAdV-36 enfeksiyonu sonucunda adipoz dokuda gelişen hiperplazi ve hipertrofi nedeniyle, bu dokuda proenflamatuvar sitokin artışıyla birlikte adipokin sekresyon düzeylerinde değişim görülmektedir. Bu adipokinlerden, açlık-tokluk mekanizmasında önemli bir role sahip olan leptinin plazmadaki düzeyinde artış görülmektedir. Plazmada serbest leptinin aşırı artışı; leptin direnci gelişmesiyle birlikte, hipotalamusa tokluk sinyalinin iletilememesi sonucu obezitenin devamlılığına katkı sağmaktadır. Leptinin aksine adiponektinin plazmadaki miktarı azalmakta olup, insülin direncinin gelişmesine katkı sağlamaktadır. Pro-inflamatuvar sitokinlerin normalden fazla salgılanması, obezite ile birlikte gelişen sekonder hastalıkların temelini oluşturduğu düşünülmektedir (31).



Şekil 2-5 Normal kilolu ve obez bireylerde adipoz doku yapısı (31)

2.1.6. Laboratuvar Tanısı

Adenoviral enfeksiyonlar klinik olarak diğer enfeksiyon ajanlarının klinik tabloları ile benzerlik gösterdiğinden dolayı laboratuvar testleri adenovirusların tanısıda önem kazanmaktadır. Bununla birlikte, epidemiyolojik açıdan virüsün tiplendirilmesi de önemlidir. Nazofarengeal aspirat, boğaz sürüntüsü, konjonktival sürüntü, gaita, BOS, idrardan, kan ve çeşitli dokulardan biyopsi gibi klinik örneklerden adenoviruslar izole edilebilir.

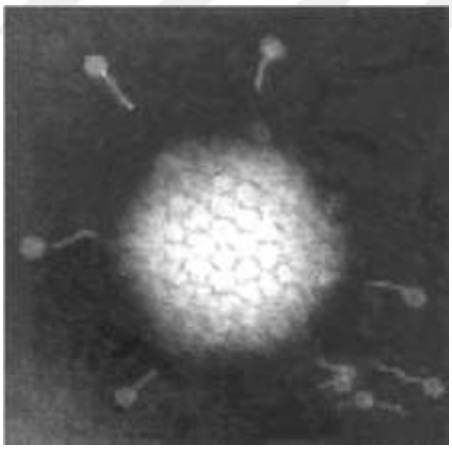
Konjonktivadan alınan örneklerin en kısa sürede (4 saat içinde) laboratuvara ulaştırılması gerekmektedir. Taşıma ortamında serum, albümin veya jelatin, antibiyotik/antimikotiklerin olması gerekmektedir (46). Klinik örnekten virusun tanısının yapılabilmesi için, örneğin hastalığın erken döneminde enfeksiyonun olduğu bölgeden alınması gerekmektedir. Virusun direkt veya indirekt yöntemlerle laboratuvar tanısı yapılabilir.

2.1.6.1. Mikroskobik İnceleme

Adenovirus ile enfekte hücreler, histolojik boyamayla birlikte ışık mikroskobunda duman lekesi şeklinde görülmektedir. Bununla birlikte, geç dönem enfekte hücrelerinde viral partikülden oluşan tek merkezi yerleşimli bazofilik nükleer inklüzyon cisimcik görülmektedir. Enfekte hücrelerde sitopatik etki sonucu oluşan bu inklüzyon cisimcikleri,

sitomegalovirus (CMV), herpes simplex virus (HSV) ve polyomavirus gibi viruslarla enfekte hücrelerde de görüldüğünden dolayı adenovirusların tanısında ayırt edici bir yöntem değildir (73).

Elektron mikroskopu (EM) ile klinik örnekte adenovirus partikülleri ya da adenovirusların hücre nukleusunda oluşturduğu karakteristik yapılar gösterilebilir. EM sık kullanılmamakla birlikte, daha çok patolojik çalışmalarda doku örneklerinin tanısında tercih edilmektedir. İncelenecek olan doku örneğinin tespit edilmesinden sonra ince kesitlere ayrılarak negatif boyaması yapılır ve nukleus içindeki virus partiküllerinin kristal dizilimleri incelenir (47). Santrifüj sonrasında elde edilen sıvıdan da, negatif boyama yapılarak partikül kümeleri EM ile saptanabilir (Şekil 2-7). Klinik örnekteki viral partiküllerin miktarına bağlı olarak bu yöntemin duyarlılığı farklılık göstermektedir. EM ile virusun saptanabilmesi için alınan klinik örneğin mililitresinde en az 105-106 virus partikülünün bulunması gerekmektedir (31). EM ile direkt ve hızlı bir şekilde adenovirus enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı yapılmaktadır. Ancak EM'nin pahalı, prosedürünün zahmetli olması ve her merkezde bulunmaması nedeniyle pratikteki kullanımı sınırlıdır. Sadece referans laboratuvarlarında kullanılmaktadır.

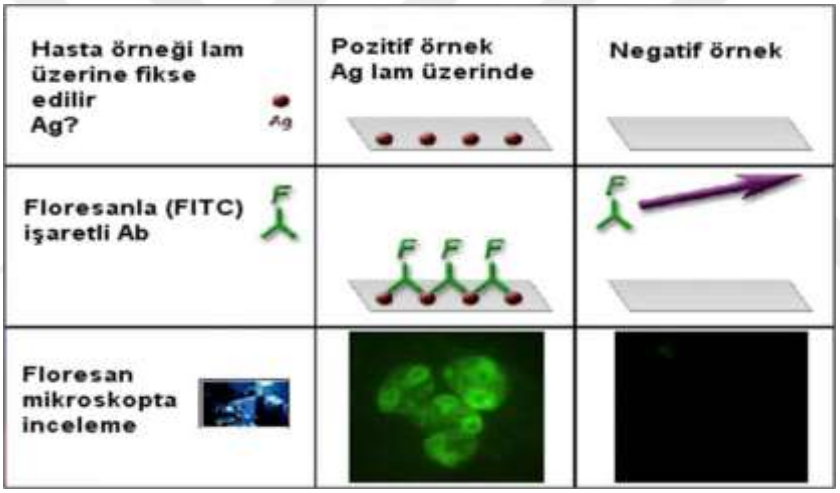


Şekil 2-6 Adenovirusların elektron mikroskobisindeki görüntüsü (31)

2.1.6.2. Antijen Saptama

Antijen saptama yöntemleri, hızlı ve duyarlı sonuç vermesi nedeniyle virusların tanısında sıklıkla tercih edilmektedir. Özellikle solunum ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarında adenovirus antijenleri klinik örnekten çeşitli yöntemler (immunfloresan antikor (IFA), enzim immunassay (EIA), radyoimmunassay (RIA) ve immunokromotografik (IK)) kullanılarak saptanabilir.

Solunum yolu enfeksiyonlarında viral etkenlerin tayini için, ideal klinik örnek olarak, sıklıkla posterior nazofarinksten silli kolumnar epitelyal hücreleri içeren yıkantı, aspirat ya da nazofarengiyal sürüntü örnekleri tercih edilmektedir. IFA yönteminde, incelenecek olan preparat taze örnekten olabildiği gibi, fikse edilen dokulardan da hazırlanabilir. Bu yöntemde dokudaki epitel hücrelerinin lama çöktürülmesi sağlanır ve aseton ile fiksasyon işlemi uygulanır. Fiksasyon sonrasında florokrom işaretli monoklonal antikorlar ile yarım saat muammele edilerek, floresan mikroskopta incelemeye hazır hale getirilir. Klinik örnekte viral antijenin bulunması halinde, florokrom işaretli monoklonal antikorlarla birleşerek, floresan mikroskopta enfekte hücrenin floresans verdiği gözlemlenebilir (Şekil 2-7) (37). Kültüre kıyasla IFA, solunum yolu örneklerinde özgüllüğü %99'un üzerinde olup, duyarlılığı ise %40-60 arasında değişmektedir (47).



Şekil 2-7 IFA yönteminin çalışma prensibi (31)

Gastrointestinal sistem enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında sıklıkla EIA ve IK yöntemleri tercih edilmektedir. EIA temelli testlerde kullanılan mikroplaklar antijen saptamaya yönelik olup, reaktif olarak adenovirusa spesifik monoklonal antikorları içermektedir (74). Bu testlerde, enzim substrat reaksiyonu sonucunda bir renk değişimi gerçekleşmekte olup, spektrofotometre aracılığıyla kantitatif ya da kalitatif sonuç elde edilir. EIA duyarlılığı %90, özgüllüğü %97'dir (75). EIA yöntemlerle adenoviral antijenin saptanabilmesi için viral yükün belli bir miktarda olması gerekir. Ancak immunsuprese hastalar gibi bazı özel gruplarda, viral saçılım daha az olduğundan EIA yöntemleri ile saptanamayabilir. Bu gibi durumlarda duyarlılığı daha yüksek olan PCR ya da hücre kültürü gibi yöntemler tercih edilmelidir.

Gastrointestinal sistem enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılan bir diğer immunolojik yöntem ise immunokromotografidir. Bu yöntemde, klinik örnek membran bir şerit boyunca lateral hareket eder ve antijen varlığında membranda bulunan virusa özgü antikora bağlanır. Bu reaksiyon 5-10 dakika içinde gerçekleşmekte olup, makroskobik olarak renkli çizgi oluşumu şeklinde görülür. IK yönteme dayalı antijen testlerinin duyarlılık ve özgüllükleri (%93-100) oldukça yüksektir. Bununla birlikte, hızlı sonuç vermeleri nedeniyle de, enterik adenovirusların (HAdV-40,41) rutin laboratuvar tanısında yaygın olarak kullanılan bir yöntem haline gelmiştir. Solunum örneklerinde bu prensipli testlerin duyarlılığı ise %72-90 arasında değişirken özgüllükleri oldukça yüksektir (76). Piyasada IK yöntemine dayanan Adenovirus testi Rotavirus ile kombine edilmiş olup, hızlı test olarak pek çok rutin merkez tarafından çalışılmaktadır (Şekil 2-8).



Şekil 2-8 Adenovirus/Rotavirus Dışkıda Antijen Testi

Radioimmun assay (RIA) yöntem; radyoaktif iyot (I125) kullanılarak klinik örnekteki hedefin (antijen ya da antikor) işaretlenmesi ve anti-serum ile birleşmesi sonucunda virus varlığını saptar. Polistren boncuklar veya mikrotitrasyonda kullanılan polivinil kuyucuklara işaretlenmiş antikorlar adsorbe ettirilir. Klinik örnekteki antijen varlığını saptamak amacıyla, örnek yüzeyi antikorla kaplı olan kuyucuklarda inkübasyona bırakılır. Böylelikle antijen-antikor kompleksinin oluşması sağlanır. İnkübasyon sonrasında, radyoaktif madde ile işaretlenmiş antikor eklenerek oluşan bu kompleksin işaretlenmesi sağlanır ve radyoktivite ölçümü yapılır (37). Bugün için tanıda RIA, radyoaktif madde kullanımı nedeniyle güvenilir bir yöntem olmasına karşın tercih edilmemektedir.

2.1.6.3. Nükleik asit saptama yöntemleri

Hibridizasyon (Southern, Dotblot gibi), amplifikasyon (PCR, ligaz zincir reaksiyonu) ve DNA dizi inceleme (sekanslama, restriksiyon enzim analizi gibi) yöntemleri gibi moleküler yöntemlerle adenovirusun nükleik asiti (DNA) saptanabilmektedir. Günümüzde bu moleküler yöntemler arasından PCR, en sık kullanılan yöntemdir. PCR testleri, virüse özgü korunmuş ya da değişken spesifik bölgeleri hedef almaktadır (76). Klinik örnekten Adenovirus DNA'sını saptamak dışında, son yıllarda özellikle epidemiyoloji ve patogenez çalışmalarında virusların serotiplendirmesi için de sıklıkla kullanılmaktadır.

Anenoviruslar için grup ya da tipe özgü primerler; E1A ve E1B, hekzon ve fiber proteinlerini hedef alarak hazırlanmaktadır (77, 78). Hekzon primerleri bütün adenovirus serotiplerinde reaksiyon verdiğinden dolayı, serotipleme çalışmalarında tercih edilmemelidir. Üç farklı segmentten oluşan hekzon genin segmentleri, yedi farklı çok değişken bölge (santral değişken bölge) içermektedir. Bununla birlikte, bu değişken bölgeyi çevreleyen yüksek düzeyde korunmuş bölge bulunmaktadır. Adenovirusun farklı serotipe özgü sekansları bu yedi farklı çok değişken bölgesinde (Hypervariable Region-HVB) yer almaktadır (79).

PCR'ın nested, anchored, inverse, in-situ, real-time, multipleks ve digital olmak üzere pek çok tipi vardır. Real-time PCR, son yıllarda en sık tercih edilen yöntem olmakla birlikte; nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresan sinyalin ölçülmesine dayanmaktadır ve kısa sürede kantitatif ya da kalitatif olarak sonuç vermektedir (80). Kontaminasyon riskinin düşük olması, elektroforeze ihtiyaç duyulmaması ve sonucun amplikasyon sırasında elde edilmesi avantajları arasındadır. Ancak kantitatif real-time PCR testleri için; kalibrasyon ve laboratuvarlar arasında karşılaştırılması bakımından uluslararası bir standardın olmaması, tüm serotiplerin tek tip olarak saptanması ve kantitasyonu için uluslararası kabul edilmiş bir primer-prob kombinasyonunun olmaması sınırlandırıcı faktörler olarak görülmektedir (27, 47). Bu sorunlar nedeniyle; sonucun raporlanmasında mutlak viral yükler yerine, viral kinetiklerinin raporlanması daha uygun olarak görülmektedir.

Nested PCR'da amplifikasyon iki aşamalı olmakla birlikte; hedeflenen viral DNA tek virüse ait olsa da çok sayıda DNA elde edilmektedir. Multipleks PCR'da ise hedef bölgeler için spesifik primer kullanılmakta ve çok sayıda DNA elde edilmektedir. Klasik

PCR yöntemi, DNA'nın saptanma aşamasının uzun sürmesi nedeniyle tanısal süreç 24 saati aşmaktadır. DNA'yı saptamak için; etidyum bromür ya da SYBR-green boyalı jeller, işaretli problara katı veya sıvı faz hibridizasyonu, time resolved florometre veya mikroplaklardaki problara hibridizasyon gibi çeşitli yöntemler tercih edilmektedir. Ancak elektroforezde özellikle etidyum bromürlü jelde, UV transillüminatörde görüntülenme aşamasında tecrübeli personele ihtiyaç duyulmaktadır. Bu aşamada, dikkatli davranılmazsa yanlış pozitiflik saptanabilmektedir (81).

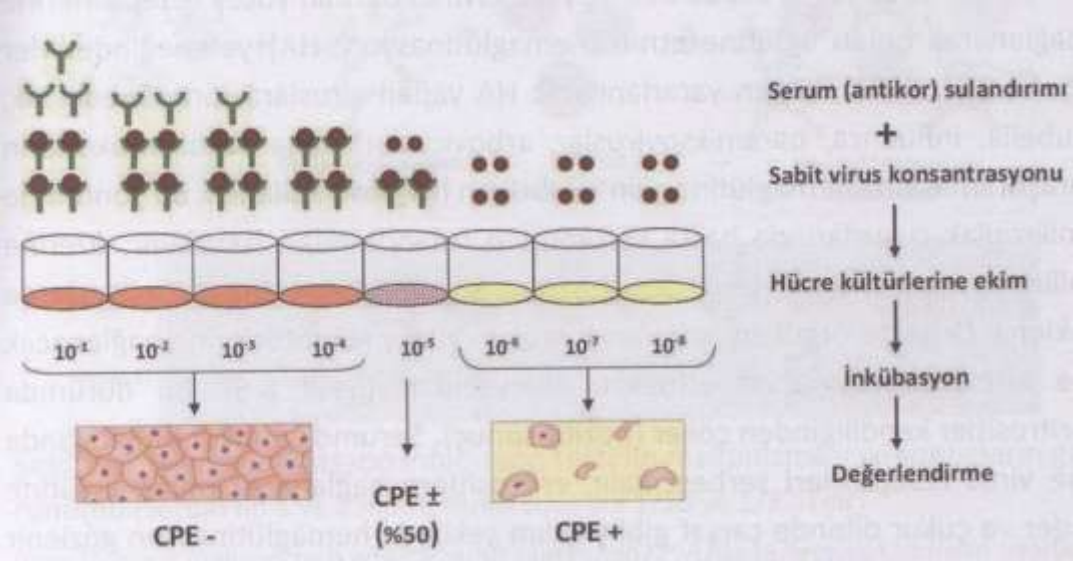
Moleküler yöntemlerle adenovirus DNA'sı tüm klinik örneklerden saptanabilir ancak, enfeksiyon bölgesine en yakın yerden örnek alınması gerekmektedir. Moleküler yöntemler, altın standart olan hücre kültürleriyle karşılaştırıldığında duyarlılık ve özgüllükleri %100'e yakındır (27). Bununla birlikte; aynı anda çok sayıda klinik örneğin çalışabilmesi, uygun koşullarda klinik örneğin uzun süre saklanabilmesi ve hücre kültürüne kıyasla çok kısa sürede hızlı ve duyarlı sonuç vermesi bu yöntemlerin avantajlı yönleridir. Özellikle multipleks real time yöntemi kullanılarak son yıllarda geliştirilen enfeksiyon panel (solunum, menenjit… gibi) testleriyle, tek bir klinik örnekten birçok mikroorganizmanın nükleik asitleri saptanmaktadır.

2.1.6.4. Hücre Kültürü

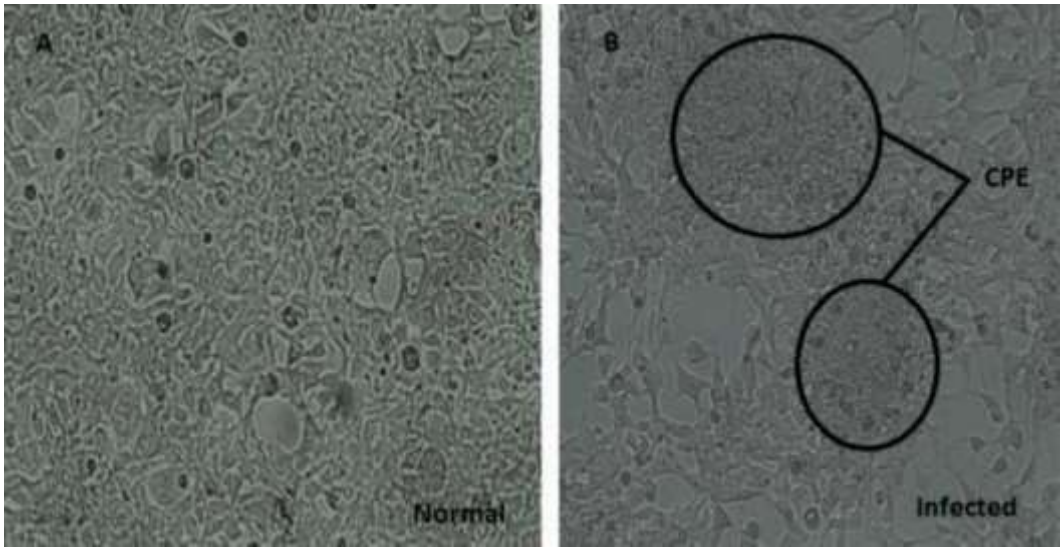
Zahmetli, uzun zaman alıcı ve pahalı bir yöntem olan hücre kültürü, virusların tanısında kesin altın standarttır. Tüm klinik örnekler, adenovirusun hücre kültüründe izolasyonuna uygundur. Hücre kültürü için, klinik örneğin zamanında alınmasına ve virüsü kaybetmeden uygun transport koşulları sonrasında saklanmasına dikkat edilmelidir. Adenoviruslar, konak hücreye girişinden 6 saat sonra replikasyona başlar ve 20-24 saatte tamamlar. Bu nedenle, enfeksiyonun ilk günlerde enfeksiyon bölgesinden örnek alınmalıdır. Sonraki günlerde antikor yanıtının oluşmasıyla birlikte virus miktarı azalmaktadır. Alınan klinik örnekteki aktif virusu korumak için "Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM)" da muhafaza edilmelidir. EMEM'in içinde %10 fetal sığır serum ve kontaminasyon riskini önlemek için bazı antimikrobiyal maddeler (penisilin, streptomisin, amfoterisin) yer almaktadır. EMEM içindeki klinik örnek uzun süre -80˚ C'de muhafaza edilebilmektedir. Adenovirus serotip 40 ve 41 dışındaki tüm serotipler hücre kültürlerinde üretilebilmektedir. Genellikle insan epitelyal hücre dizileri kullanılmakla birlikte; insan serviks karsinomu (HeLa), insan farinks epidermoit karsinomu (Hep-2) ve insan nazofarinks karsinomu (14) hücreleri de hücre kültüründe

tercih edilmektedir. HAdV-5 genomunun E1A ve E1B bölgelerinin transformasyonuyla elde edilen ve Graham 293 olarak adlandırılan insan embriyonik böbrek hücreleri(HEK) enterik adenovirusların üretilmesinde kullanılmaktadır (31, 82).

Adenoviruslar 2-4 hafta arasında hücre kültüründe üremekte olup, enfekte ettikleri hücrelerde sitopatik etki oluştururlar. Bu sitopatik etki agregasyon tipinde olup; hücrelerde yuvarlaklaşma, genişleme, üzüm salkımı şeklinde bir araya gelmeye neden olur (47). Bununla birlikte, hücrelerde glikolitik aktivitenin artmasından kaynaklı olarak asit salgılanmasıyla kültür ortamında renk değişimi görülebilmektedir (Şekil 2-10) (83). Hücrelerde sitopatik etkinin görülmesi sadece virusun ürediğinin göstergesidir. Virusun tipini belirlemek için, serotipe özgü antikorlar kullanılarak nötralizasyon ya da floresan antikor testleri kullanılmalıdır.

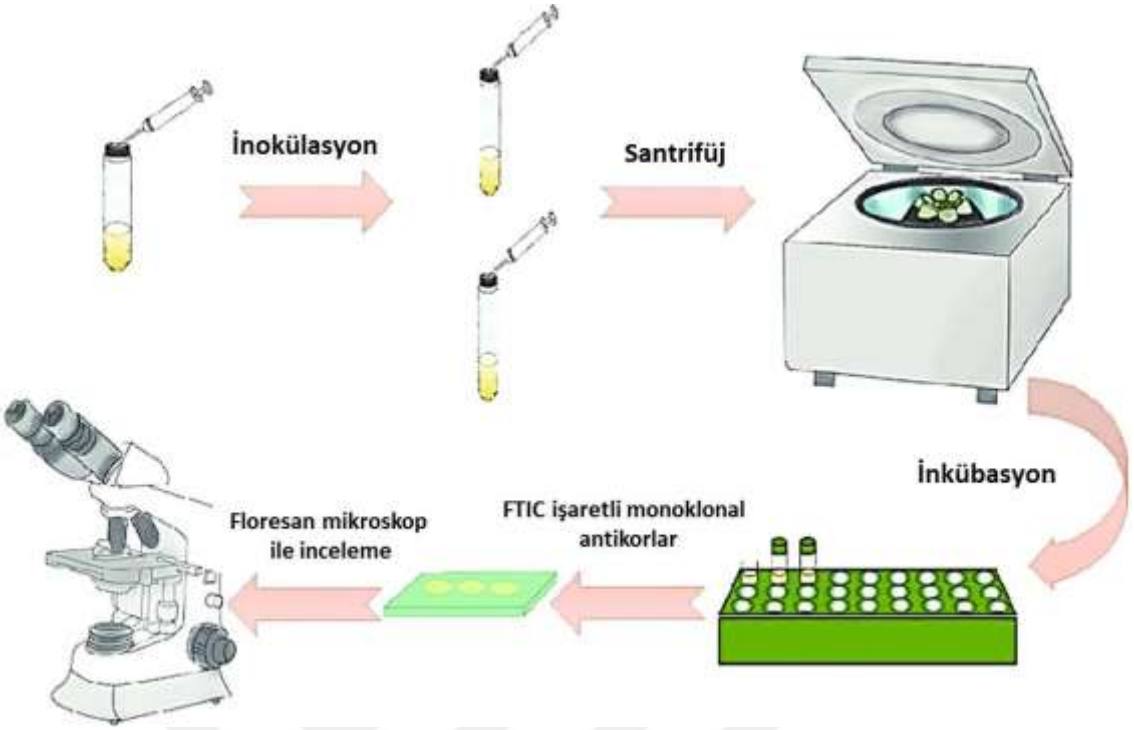


Şekil 2-9 Hücre kültürünün mekanizması (84)



Şekil 2-10 Adenovirus ile enfekte hücrelerde görülen agregasyon tipi sitopatik etki (85).

Konvansiyonel hücre kültürüne kıyasla, 24-72 saat gibi daha kısa zamanda sonuç veren "Shell-vial" yöntemi son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır. Özel bir lam içeren düz tabanlı tüpler kullanılarak, hücreler lam üzerinde üretilmektedir. Virusun hücre içine girişini kolaylaştırmak ve replikasyon süresini kısaltmak için santrifüj işlemi uygulanır ve 24 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrasında, lamlar immunfloresan ya da immunperoksidaz yöntemiyle boya ile işaretli moklonal antikorlarla muamele edilir ve sitopatik etkinin oluşması beklenmeden viral etken saptanmış olur. Konvansiyonel hücre kültürü ile shell-vial yönteminin duyarlılıkları aynıdır (86).



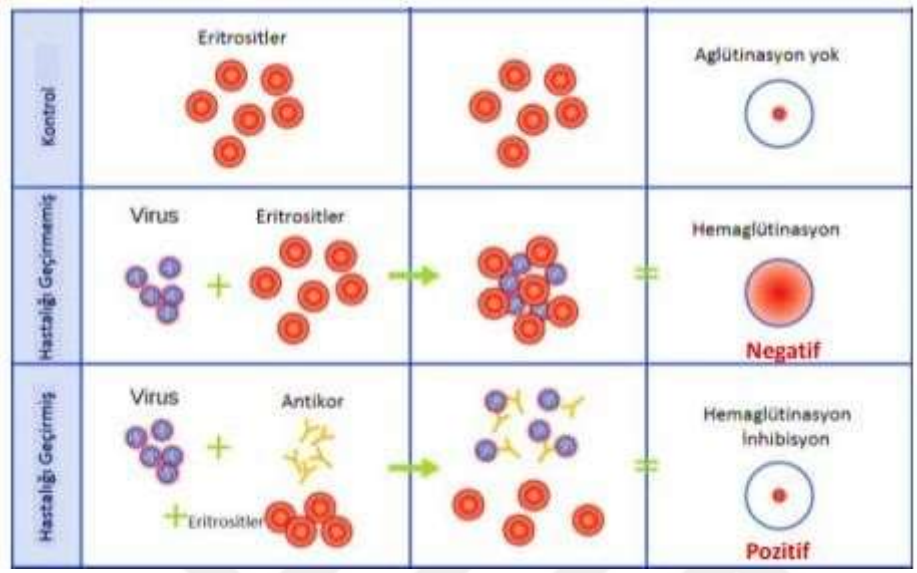
Şekil 2-11 Shell-vial yönteminin mekanizması

2.1.6.5. Tiplendirme

Nötralizasyon: Virus ile daha önceden karşılaşmış olan kişilerin serumunda nötralizan antikor bulunmaktadır. Bu antikorlar türe özgüdür ve nötralizasyon testi bu antikorları saptayarak, virusun tiplendirilmesine olanak sağlar. Hasta serumu dilüe edilir ve standart miktarda virus ile birlikte inkübasyona bırakılır. Hasta serumunda tipe özgü nötralizan antikor varsa, standart miktarda hücrelerde bulunan virüs replike olamaz, bloke edilir. Böylelikle hücre kültürlerinde sitopatik etki görülmez (84). Nötralizasyon testi serolojik tanıda "altın standart" olmasına karşın, zaman alıcı ve zahmetli olduğundan dolayı sıklıkla araştırma amaçlı tercih edilmektedir.

Hemaglütinasyon (HA) ve Hemaglütinasyon İnhibisyon (Hİ) Testi: Adenovirusların bazı serotipleri, eritrositlerin yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanarak aglütine ederler. Hemaglütinasyon ve hemaglütinasyon inhibisyon testlerinin temeli, adenovirusların bu özelliğine dayanmaktadır. Adenovirusların serogruplarının tanımlanmasında, hemaglütinasyon testi kullanılırken, serotip tanımlanmasında hemaglütinasyon inhibisyon testi kullanılmaktadır. Bu yöntemde akut ya da konvalesans dönemde alınan hasta serumu mikroplak kuyucuklarda dilüe edilir ve bilinen virüs antijeniyle birlikte standart miktarda eritrosit süspansiyonu eklenir. Hasta serumunda bilinen viral antijene özgü antikor olması halinde, viral antijenin yüzey reseptörlerine bağlanır ve eritrositlerin

aglütine olmasını engeller. Bunun sonucunda, mikroplaklarda eritrositler kendiliğinden çöker. Hasta serumunda viral antijene özgü antikor yoksa, virüs reseptörleri eritrositlere bağlanarak aglütine eder ve hemaglütinasyon meydana gelir (84) (Şekil 2-11).



Şekil 2-12 Hemaglütinasyon İnhibisyon Testi (84)

Restriksiyon Enzim Analizi (REA): Virusların aile, serogrup ve serotipleri arasında genomik açıdan yapısal ve dizilimsel farklılıklar yer almaktadır. Bu farklılıklar restriksiyon endonukleaz (RE) enzimleri aracılığıyla gösterilebilmektedir. Restriksiyon endonükleaz enzimleri, kısa DNA dizilerini spesifik olarak tanıyan ve bu dizilere yakın bölgelerden ya da bu dizilimler içindeki spesifik bölgelerden DNA'yı kesen enzimlerdir (31). Restriksiyon endonukleaz seçimi yaparken, kesim sonrasında ortaya çıkacak olan parça uzunluğunun 1-15 kb arası olmasına dikkat edilmelidir (87). Daha uzun olması, kesilen parçanın analiz edilmesine olanak sağlayamaz.

Özellikle nükleik asit tabanlı tiplendirmede "Restriction Fragment Lenght Polymorphism (RFLP)" ya da "Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE)" kullanılmaktadır (88). Restriksiyon enzim analizi ve PCR kombinasyonu ile birçok virus yeni bir alt grup olarak sınıflandırılmıştır. Adenovirus serotip 43-49, 50 ve 51 restriksiyon enzim analizi ve PCR kombinasyonu ile saptanarak, sınıflandırılmıştır (89). PFGE ise; büyük DNA moleküllerinin (tüm genomik DNA) restriksiyon enzimleriyle kesilip, periyodik olarak yön değiştiren elektrik alan altındaki bir jelde kesilen parçaların ayrılması için kullanılan bir genotipleme tekniğidir. PFGE, geleneksel restriksiyon enzim analizindekinden daha büyük DNA dizilerinin analizine izin veren bir agaroz jel elektroforez varyasyonudur.

Tiplendirmede altın standart olarak kabul edilir ve sıklıkla epidemiyolojik amaçla kullanılır.

DNA Dizi Analizi: DNA'nın nükleotid dizilerinin saptanmasına yönelik; Maxam-Gilbert degradasyon yöntemi ile günümüzde daha yaygın olarak kullanılan Sanger'ın 2-3 dideoksi enzimatik yöntemi olmak üzere iki temel teknik kullanılmaktadır (54, 55). Sanger DNA dizi analizinde; amplifikasyonda elde edilen tek iplikli DNA, DNA polimeraz enzimi, dideoksinukleotid (ddNTP), deoksinükleotid (dNTP) ve substrat olarak da deoksiribozun 3' noktasında hidroksil (OH^-) grubu bulunmayan ddNTP'ler kullanılmaktadır (31). DNA ipliği sentezlenirken, dNTP eklenmesi halinde uzama devam ederken, ddNTP zincir uzamasını durdurmaktadır. Kalıp DNA, primer, dNTP ve enzimin eklendiği dört reaksiyon tüpünün her birine farklı ddNTP eklenmesi sonrasında bağlanma ve uzama işlemleri uygulanmaktadır. Farklı ddNTP eklenmesi sonucunda farklı DNA parçaları oluşmaktadır ve bu DNA parçaları poliakramid jelde- yürütülmektedir. Elde edilen nükleotid dizileri gen bankasında bulunan gruplara özgü gen dizileri ile karşılaştırılarak eldeki PCR ürününün identifikasyonu yapılmaktadır (90).

2.1.7. Tedavi ve Korunma

Adenovirus enfeksiyonların çoğu kendiliğinden iyileşmekle birlikte, tedavisinde spesifik olarak kullanılan anti-viral bulunmamaktadır. Yüksek riskli gruplarda ve solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde ribavirin, vidarabin, sidofovir ya da gansiklovir kullanımı tercih edilmektedir. Pürin nükleozid analoğu olan ribavirin; RNA capping aktivitesinin inhibisyonunu, viral polimeraz inhibisyonunu ve sentezlenen yeni DNA'nın mutasyonunu sağlayarak etki gösterir (84). Bir nükleozid analoğu olan sidofovir, geniş antiviral etki spektrumuna sahip olmakla birlikte adenovirusun tüm serotiplerine karşı en etkin ajandır. Nükleozit analoglarından farklı olarak bir fosfonat grubu içerir. Viral DNA polimerazı inhibe ederek, zincir uzamasını engeller ve virüstatik etki gösterir (84). Sık kullanımda doz bağımlı lokal toksik etkiler olmasına karşın, transpalantasyon sonrasında gelişen enfeksiyonlarda sidofovir tercih edilmektedir. Sentetik nükleozit analoğu olan gansiklovir, guanozin türevidir. Viral DNA'ya entegre olarak, çoğalmayı engeller ve virüstatik etki gösterir. Özellikle Herpesviruslar gibi DNA viruslarına karşı etkili olan gansiklovir, adenoviruslara karşı çok etkili olmasa da, viral yükü azalttığı ve hastalık süresini kısaltabileceği belirtilmiştir (91).

Adenoviruslara karşı aşı, solunum yolu enfeksiyon salgınlarına yol açması nedeniyle farklı ülkelerde sadece askeri personele uygulanmaktadır. 1971 yılında ABD'de serotip 4 ve 7'ye karşı uygulanan canlı aşı sayesinde, adenovirus enfeksiyonlarında %95'in üzerinde azalma olduğu görülmüştür (32).

Tüm enfeksiyon etkenlerinde olduğu gibi, adenoviruslara karşı da korunmada en etkili yol el hijyeninin sağlanmasıdır. Enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasını ve toplu yaşam alanlarında hijyenik koşullara dikkat edilmesini sağlamak enfeksiyon riskini azaltır. Özellikle; hastane kökenli salgınlara karşı sık temas edilen yüzeylerin ve kullanılan tıbbi cihazların dezenfeksiyonu büyük önem taşımaktadır.

2.2. Karaciğer ve Hastalıkları

2.2.1. Karaciğer Anatomisi

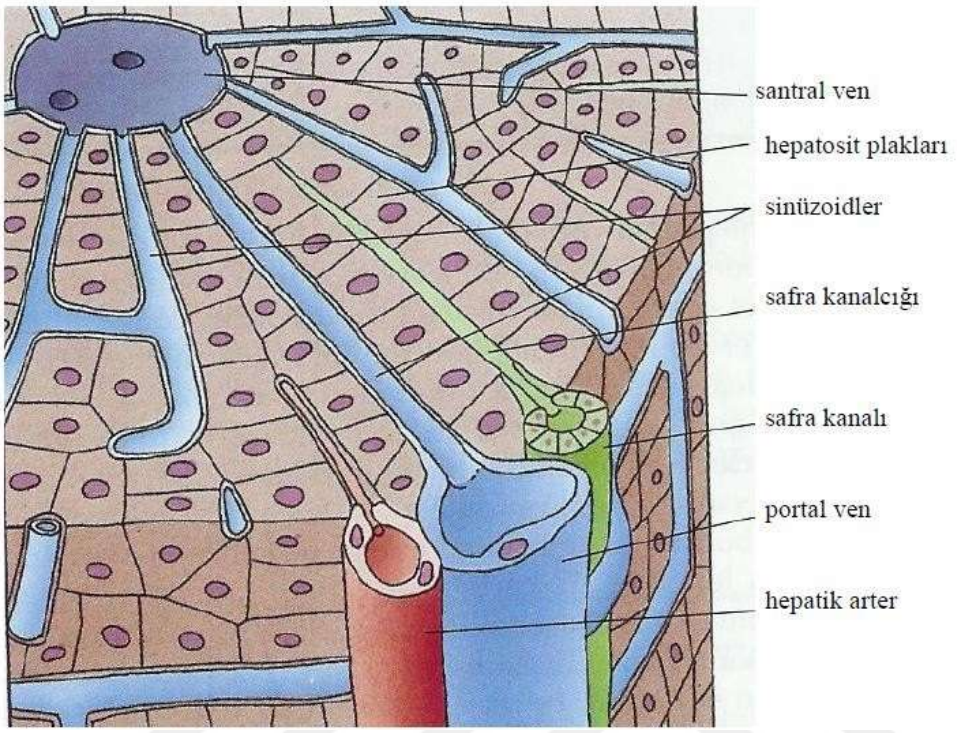
Karaciğer, yetişkinlerde vücut ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır. Bu ağırlık, kadınlarda yaklaşık 1400 g, erkeklerde 1800 g'dır. Dört loba sahip olan karaciğere, portal ven ve hepatik arter olmak üzere iki büyük damar bağlıdır. Kan akışının %80'ni portal ven tarafından sağlanırken, %20'sini hepatik arter sağlar.

Hepatik parankim doku; hepatosit, biliyer epitel hücreleri ve kupffer hücreleri olmak üzere üç ana hücre grubundan meydana gelmektedir (92). Karaciğerin en küçük birimi, 0,8-2 milimetre çapında lobül adı verilen yapıdır. Karaciğerde 50.000-100.000 arasında bulunan lobüller, hekzagonal şeklindedir. Hekzagonal yapının her köşesinde portal ven, hepatik arter ile interlobüler safra kanal yer alır ve bu üç temel yapı 'portal triad' olarak adlandırılır. Santral ven ise, lobüllerin merkezinde yer alır.

Sinüzoidler endotel tabakası ile çevrilidir ve hepatositler arasındaki mesafeye disse aralığı adı verilir (93). Bu aralıkta bazal membrandan süzülen plazma hücreleri, tip I ve tip IV kollajenler, fibronektin ve proteoglikanlar yer almakta olup; karaciğer lenf sistemini oluşturmaktadır. Bununla birlikte; disse aralığındaki kollajen fibrilleri hepatositlere destek olan retikülin çatıyı oluşturur. Retikülin çatının bozulması karaciğer fibrozisi ile sonuçlanabilir. Yağ depolayıcı hücreler (ito hücreleri) disse aralığına yerleşen yıldız benzeri hücrelerdir. Endotel tabakası hücreleri arasında aktif fagositoz görevi olan kupffer hücreleri bulunur.

Bağırsaklardan gelen kanın depolanması ve filtrasyonu (vasküler fonksiyon), metabolik sisteminin koordinasyonu ve regülasyonu (metabolik fonksiyon), safra üretimi

ve gastrointestinal sisteme iletilmesi (sekretuvar ve ekskretuvar fonksiyon) karaciğerin temel görevleri arasında yer almaktadır (94).



Şekil 2-13 Karaciğer Lobülünün Anatomik Yapısı

2.2.2. Karaciğer Hastalıklarına Genel Bakış

Karaciğer; ağırlığı 1200-1600 gr arasında değişen, karın boşluğunun sağ üstünde, diyaframın altında yer alan vücudun en büyük organı ve salgı bezidir. Birçok maddenin sentezinde ve metabolizmasında (karbonhidrat, protein, lipid, bilirübin metabolizması) rol oynar (95). Safra üretimi ve salınımı ile metabolik atıkların ve ilaç gibi toksik maddelerin vücuttan atılmasıyla detoksifikasyonda rol almakla birlikte; ince bağırsağa salgılanan safra ile sindirime yardımcı olur. Aynı zamanda glikojeni depo ederek, kan şekeri düzeyinin dengelenmesinde rol oynar.

Karaciğer hastalıklarında en sık viral hepatit ve siroz görülmekle birlikte; karaciğer kistleri, karaciğer yağlanması ve karaciğer kanseri de diğer hastalık tabloları arasındadır.

Hepatit: Virus, otoimmun sistem, ilaç, alkol ve karaciğer yağlanmasına bağlı olarak karaciğerde gelişen enflamasyondur. Viral hepatitlerde Hepatit A, B ve C virusları rol oynamaktadır. Hepatit A virüsü fekal-oral yol ile kontamine gıda ya da su aracılığıyla bulaşmakta olup, çoğunlukla hafif seyreder. Hepatit B virusu perkütan ya da parenteral, horizontal, cinsel veya perinatal yol ile bulaşmaktadır. Hepatit B kliniğinde immün yanıtın etkisi oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Sağlıklı bir immün yanıtla akut hepatit B enfeksiyonunda düzelme sağlanabilirken, akut hepatit B hastalarında immün yanıtın şiddetli etkisiyle karaciğer hasarı ve yetmezliği (fulminan hepatit) gelişebilir. Hepatit C virüsü ise, kan ve cinsel yol ile bulaşmakta olup, enfeksiyon akut ve kronik olarak seyreder. Kronik hepatit C enfeksiyonunda hastalık ilerleyen dönemde siroza dönüşebilir. Hepatit A ve B'nin aksine, hepatit C için koruyucu bir aşı günümüzde bulunmamaktadır (96).

Karaciğer kistleri: Doğuştan ya da daha önce geçirilen enfeksiyonlara bağlı olarak karaciğerde basit kistler gelişebilir. Büyümeyen ve sessiz seyreden kistler için bir tedavi uygulanmaz. Ancak, aksi durumda cerrahi müdahale ile kistlerin alınması gerekmektedir. Basit kistlerin yanı sıra, karaciğerde parazit enfeksiyonundan kaynaklanan hidatik kist görülebilir. *Echinococcus granulosus* yumurtasıyla kontamine gıda ve suyun oral yolla alınması bağırsaklardan kan yolu aracılığıyla karaciğere yerleşebilir.

Karaciğer kanseri: Dünyada en sık görülen beşinci kanser olup, kansere bağlı ölümlerde ise karaciğer kanseri üçüncü sıradadır (97). Karaciğer kanseri sıklıkla siroza bağlı olarak gelişmektedir. Özellikle hepatit B ve C enfeksiyonlarının ilerleyen dönemlerde siroz gelişmesi nedeniyle, ülkemizde viral hastalıklara bağlı karaciğer kanseri görülmektedir. Ancak son yıllarda, viral enfeksiyonlara karşı tedavi seçeneklerinin gelişmesi ve eş zamanlı olarak toplumlardaki obezitenin giderek artması nedeniyle, önümüzdeki yıllar içinde karaciğer yağlanması ile oluşan sirozlara bağlı karaciğer kanserleri ile daha sık karşılaşılabileceği düşünülmektedir (97). Karaciğer kanseri tedavisinde siroza bağlı olmayan hastalarda ilk seçenek cerrahi müdahale iken, siroza bağlı hastalarda tek seçenek karaciğer naklidir.

Karaciğer yağlanması: Karaciğerin kendi ağırlığının %5'inden fazla yağ içermesi durumudur. Karaciğer yağlanması alkol ve alkole bağlı olmayan nedenlerden dolayı gelişebilir. Alkole bağlı karaciğer yağlanması kadınlarda >20 cc/gün, erkeklerde ise

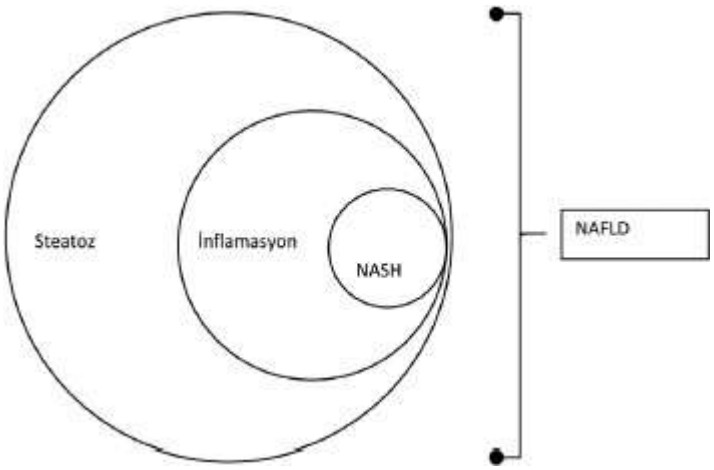
>30cc/gün etanol kullanımına bağlı olarak gelişen histopatolojik bir tablodur (98). Alkol tüketimine bağlı olarak karaciğerde ilerleyen dönemlerde alkolik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinom gibi ağır klinik tablolar görülebilir. Non-alkolik karaciğer yağlanması ise insülin direnci, obezite, metabolik sendrom, hiperlipidemi, ilaçlar gibi multifaktöriyel etiyolojiye sahip olup; bölüm 2.3'de ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

2.3. Non-Alkolik Karaciğer Yağlanması

Uzun yıllar boyunca hepatik steatoz varlığı nadir görülen ya da klinik öneme sahip olmayan benign bir klinik tablo olarak görülmüştür. 1980 yılında, Mayo Klinik'ten Ludwig ve arkadaşları (99) tarafından histopatolojik bulgular ortaya konmuştur. Bu kapsamda, karaciğer fonksiyon testleri yüksek olan ve histopatolojik olarak alkole bağlı karaciğer yağlanması hastalığında görülen bulgular içeren 20 hasta sunulmuş olup, bu hastalarda tablo nonalkolik steatohepatit (NASH) olarak adlandırılmıştır. Son yıllarda, alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanmalarının büyük bir kısmını hepatit bulgusu olmayan hastalardan oluşması nedeniyle, bu tanım "Nonalcholic fatty liver disease (NAFLD)" olarak güncellenmiştir (100).

Karaciğer yağlanması; alkol ya da alkol dışı nedenlere bağlı olarak hepatositlerin içerisinde %5'ten fazla trigliserid birikmesi ve histopatolojik incelemelerde %5'ten fazla yağ vakuollerinin olması durumudur (101). "Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD)", alkol alımına bağlı olmayan (erkeklerde haftada 140 g, kadınlarda ise 70 g etanol alımı normal sınırlardır) nedenlerden dolayı oluşan karaciğer yağlanmasıdır. Bu tanım kendi içinde, nonalkolik steatoz ve nonalkolik steatohepatit kavramlarını barındırır (Şekil 2-13). Nonalkolik steatoz hastalarında sadece yağlanma görülmekte olup, iltihabi infiltrasyon bulunmamaktadır. Nonalkolik steatohepatit hastalarında ise; alkolik yağlı karaciğer hastalarına benzer şekilde hepatositlerde balonlaşma ve iltihabi infiltrasyon görülmektedir. Bununla birlikte, bazı olgularda Mallory cisimcikleri, megamitokondria ve fibrozis gibi bulgular da görülebilmektedir.

NAFLD; komplikasyonsuz basit yağlanmadan steatohepatit, fibrozis ve siroza kadar ilerleyebilen spekturumu geniş bir karaciğer hasarı oluşturabilmektedir (102).



Şekil 2-14 Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının klinik spektrumu (103).

2.3.1. Etiyoloji

NAFLD etiyolojisi net olmamakla birlikte, oldukça geniş bir spekturuma dayanmaktadır. Diabetes mellitus, obezite, hiperlipidemi, metabolik sendrom başta olmak üzere; konjenital nedenler, çevresel faktörler ve bazı ilaç ve toksinler de NAFLD gelişimine katkı sunmaktadır (Tablo 2.6). Hem erişkin hem de çocuk yaş gruplarındaki obez bireylerde, NAFLD'ın da eşlik ettiği görülmektedir. Morbid obez olgularında ise NAFLD prevalansının %90 olduğu ve bunların %3-11'inde siroz geliştiği görülmektedir (104). Bel çevresinin erkeklerde >102cm, kadınlarda ise >88cm olması, metabolik olarak risk faktörüdür. İntraabdominal ve viseral yağlanma, metabolik sendrom ile birlikte NAFLD göstergesi olarak kabul edilmektedir (105).

NAFLD prevalansının yaşla birlikte artmakla birlikte, en sık 40-65 yaş arası erkeklerde görülmektedir (106). Afrika kökenli Amerikanlarda görülme sıklığı düşükken, hispaniklerde daha yüksektir (107, 108). NAFLD prevalansının, ırksal farklılığa göre gösterdiği değişiklik tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak farklılığın, genetik ve metabolik faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (109). Hispanikler bireylerdeki yüksek NAFLD prevelansının, daha fazla yağ dokusu ve insülin direncine sahip olduğundan kaynaklandığı görülmektedir (110).

Morbid obez hastalarda, tip 2 diyabet ve NAFLD arasında güçlü bir ilişki olmakla birlikte, NAFLD normal kilolu bireylerde de hiperinsülinemi ve insülin direnci ile ilişkili olarak karşımıza çıkmaktadır (111). Diabetes Mellitus (DM) ise, NAFLD hastalarında steatohepatit, fibrozis ve siroz gibi komplikasyonlara yol açabilmektedir (112).

NAFLD olgularında ciddi oranda hiperlipidemi görülmektedir. Dallas Heart Study çalışmasında, hiperlipidemili hastaların %60'ında NAFLD saptanmıştır (113). Bazı NAFLD hastalarında ise; tip 2 diyabet, hiperlipidemi ve santral obezite gibi multifaktöriyel risklerin hiçbiri bulunmamaktadır. Bu hastalarda NAFLD gelişimi; anormal yağ metabolizması, oksidatif stres, mitokondriyal hasar ya da disfonksiyona neden olan ilaçlar, toksinler, metabolik, cerrahi ve genetik durumlarla ilişkilidir.

Hiperlipidemi, glikoz intoleransı, obezite ve hipertansiyon metabolik sendromun komponentleri olarak tanımlanmaktadır. Metabolik sendrom komponentlerindeki artış NAFLD açısından da risk oluşturmakta ve şiddetini artırmaktadır (111, 114).

Uzun süreli total parenteral beslenme, hızlı kilo kaybı, jejunoileal bypass, uzun süreli amiodaron kullanımı, stilbestrol tamoksifen, yüksek doz kortikosteroid, metotrexat, kalsiyum kanal blokerlerinden nifedipin ve diltiazem, lipodistrofi ve insülin reseptör mutasyonları, abetalipoproteinemi, çölyak hastalığında diyet sonrası hızlı kilo alımı ve Wilson hastalığı sekonder NAFLD nedenleri arasında sayılabilir (106) (Tablo 2.6).

Tablo 2-6 NAFLD etiyolojisinde rol oynayan faktörler (115)

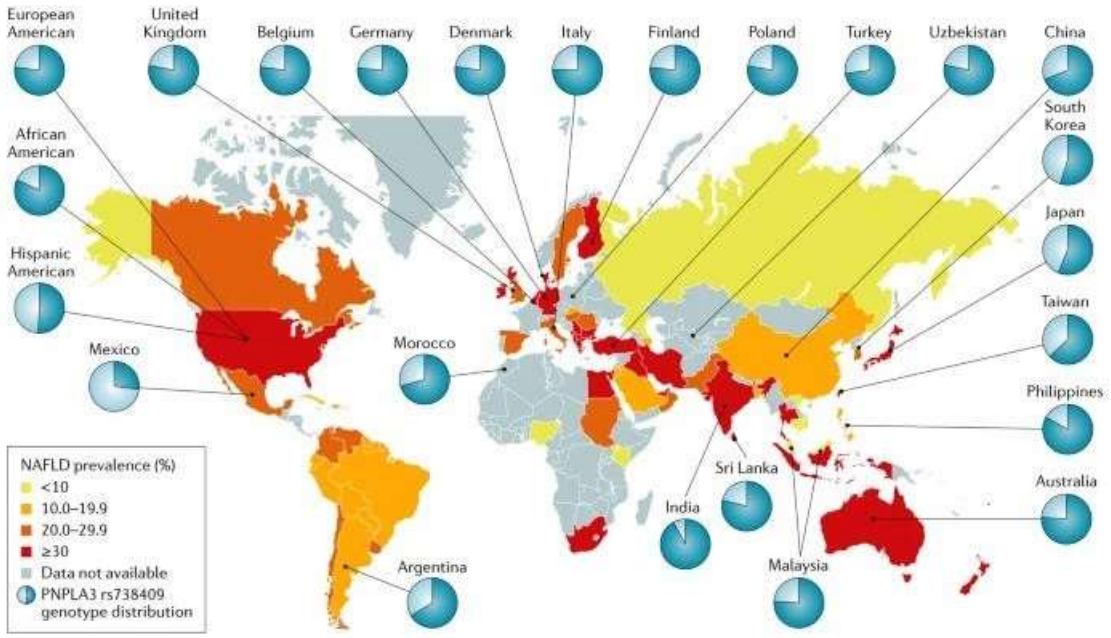
Metabolik ve Genetik	İlaç ve Toksinler	Cerrahi İşlemler	Diğerleri
Diabetes Mellitus	Glikokortikoidler	Biliyopankreatik diversiyon	Total paranteral nütrisyon
İnsülin Direnci	Aspirin	İnce bargısak rezeksiyonu	İnflamatuvar bağırsak Hastalıkları
Obezite	Tetrasiklin	Gastrik by-pass	Ciddi anemi
Hiperlipidemi	Valproik asit	Jejunoileal bypass	Mikrobiyota
Malnütrasyon	Östrojenler		İnce bağırsak divertikülleri
Abetalipoproteinemi	Amiodaron		Lipodistrofi
Ailede hepatosteatoz varlığı	Metotreksat		HBV
Glaktozemi	Tamoksifen		HCV
Tirozinemi	Retroviral ilaçlar		Gebelik
Homosistinüri	Petrokimyasallar		Hızlı kilo kaybı
Wilson Hastalığı	Mantar toksinleri		
Glikojen Depo Hastalıkları			
Weber-Christian Sendromu			

2.3.2. Epidemiyoloji

NAFLD, tüm dünyada yaygın olarak görülen karaciğer hastalığıdır. NAFLD'dan etkilenen bireylerin hızla artması nedeniyle, son yıllarda hastalık salgın niteliği kazanmaktadır. Buna karşın; NAFLD'ın gerçek prevalansı ve yıllar içersindeki değişime dair veri bulunmamaktadır. Bildirilen NAFLD prevalansı, çalışılan popülasyona ve kullanılan tanı kriterlerine göre farklılık göstermektedir (116, 117). Diğer kronik karaciğer hastalıklarından farklı olarak, NAFLD tanısı esasen serolojik ya da biyokimyasal belirteçler yerine histolojiye dayanmaktadır. Ancak, tanıda en yaygın yöntem ultrasonografik görüntülemedir. Bununla birlikte ultrasonografi, karaciğer biyopsisindeki yağ %33'ü aştığında etkin bir duyarlılık ve özgüllük ile orta ve şiddetli

steatozu tespit edebilmektedir. Karaciğer yağlanması için sınırın %5'in üzeri olduğu düşünüldüğünde, ultrasonografi ile bildirilen gerçek NAFLD prevalansı muhtemelen daha da yüksektir.

Genel popülasyondaki NAFLD prevalansı, genellikle otopsi çalışmaları, vaka serileri ya da obez popülasyonlarda yapılan çalışmalarla tahmin edilmektedir. 22 ülkeye ait genel NAFLD prevalansının %25,24 olduğu bildirilmiştir. Bu olgularda fibrozis gelişiminin %40,76, NALFD'a bağlı HCC insidansının ise yılda 1000 kişide 0,44 olduğu belirtilmiştir (118).



Şekil 2-15 NAFLD'ın Dünya Genelindeki Tahmini Prevalansı (118)

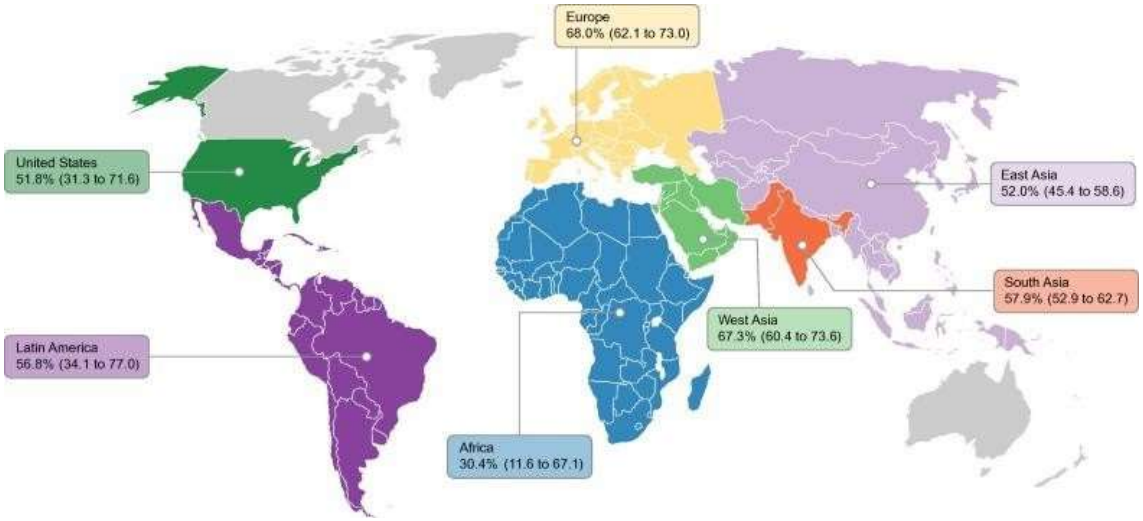
ABD'deki NAFLD prevalansı etnik kökenlerden kaynaklı olarak farklılık göstermektedir. Afrikalı Amerikalılar daha fazla hipertansiyon ve obezite oranına sahip olmasına rağmen, Hispanik Amerikalılara göre düşük NAFLD prevalansına sahip olduğu bildirilmektedir. ABD nüfusunun üçte birinden fazlası obezdir ve NAFLD obezite ile de ilişkili olduğundan dolayı, Amerikalı yetişkinlerin yaklaşık üçte birinin NAFLD olduğu düşünülmektedir (107). Güney Amerika'da NAFLD prevalansı %30,7 ile ABD için bildirilen orandan daha yüksek görünmektedir (119).

Avrupa'da NAFLD prevelansı %23,7 olarak bildirilmiştir. Ancak, farklı ülkelerde %5 ile %44 arasında değişmektedir (119). Son yıllarda yapılan araştırmalara göre, Japonya ve Çin'deki NAFLD yaygınlığı (sırasıyla %20-30 ve % 15-30) Avrupa verilerine

benzer olduğunu göstermiştir (120, 121). Hindistan Yarımadası'nda ise, kentsel popülasyonlarda NAFLD prevalansı %16 ile %32 arasında değişmektedir. Ancak, çoğu insanın geleneksel diyet ve yaşam tarzına sahip olduğu kırsal kesimde prevalans daha düşüktür (~%9) (122). Hareketsiz bir yaşam tarzının benimsenmesi ve küreselleşen dünyada aşırı gıda tüketiminin artması, gelişmekte olan ülkelerde NAFLD prevelansındaki artışla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Özellikle önümüzdeki yıllarda bu artışın, Asya'da gözlemlenmesi muhtemeldir. Ultrason ile yapılan incelemede, ülkemizde hepatosteatoz oranının %48 olduğu bildirilmiştir (123). Normal kilolu sağlıklı bireylerde ise, %10,6 olarak bildirilmiştir (124). Erişkinlerde, asemptomatik transaminaz yüksekliği NAFLD'ın en sık nedenidir. Ancak, olguların çoğunlukla asemptomatik olması nedeni ile gerçek prevalans bilinmemektedir.

Belli hasta gruplarında, NAFLD prevalansı oldukça yüksektir. Özellikle metabolik sendromu olan kişilerde, açıklanamayan karaciğer enzim yükselmesi prevalansının iki kat daha yüksek olduğunu göstermiştir (125). Metabolik sendromun çeşitli bileşenlerine sahip kişilerde prevalans, diyabetiklerde %63'ten, morbid obez ve bariatrik cerrahi geçiren kişilerde %96'ya kadar yükselmektedir (126, 127). Bariatrik cerrahi geçiren hastalarda ise, NASH prevalansı %12 ile %25 arasında değişmektedir.

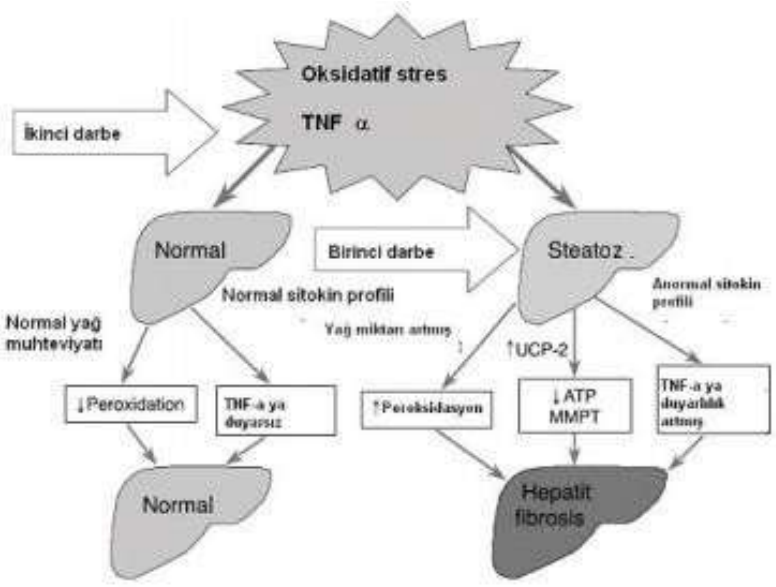
Obezite gibi, tip II diyabet prevalansı da NAFLD ile ilişkilidir. Diabetes Mellitus (DM) hastaları arasında tahmini küresel NAFLD prevalansı %55,4 iken; ABD'de %51,7, Latin Amerika'da %56,8, Avrupa'da %67,9, Doğu Asya'da %52,0, Güney Asya'da %57,8, Batı Asya'da %67,2 ve Afrika'da %30,3 olarak bildirilmiştir (Şekil 2-16)(128).



Şekil 2-16 Diabetes Mellitus hastaları arasında küresel ve bölgesel NAFLD prevalansı (128).

2.3.3. Patogenez

Sağlıklı bir karaciğerde fosfolipid, trigliserid, serbest yağ asitleri ve kolesterol yapıdaki lipidler %5 oranındadır. Hepatositlerde trigliserid birikimiyle birlikte, karaciğerdeki lipid oranı artmaktadır ve NAFLD gelişir. NAFLD başlangıcı, trigliserid sentezi ile yıkımı arasındaki dengenin bozulması olarak kabul edilse de hastalığın patogenezi net değildir. Bununla birlikte; insülin direnci, sitokin regülasyonundaki anormallikler, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, adipoz doku disfonksiyonu, lipid metabolizmasındaki anormallikler, diyet alışkanlıkları gibi birçok faktör bu patogeneze eşlik etmektedir (129). Basit yağlanmadan başlayarak, steatohepatit, fibrozis ve siroza kadar ilerleyen NAFLD'ın patofizyolojik süreci ilk olarak "Two Hit's Hipotezi" (çift vuruş hipotezi) ile açıklanmaya çalışılmıştır (130) (Şekil 2-17).



Şekil 2-17 Karaciğer Yağlanması ve Two Hit's Hipotezi (131)

Two hit's hipotezine göre, ilk vuruş hepatositlerde trigliserid birikiminden sorumlu olan insülin direncinden kaynaklanmaktadır. İnsülin direnci, yağ birikimine neden olmakla birlikte; trigliserid ve kolesterol esterlerinin hepatositlerden perifere taşınmasında görevli olan Apolipoprotein B-100 sentezini baskılamaktadır. Ayrıca hepatositlerde, de novo lipogenezisi artırmasına neden olmaktadır (132, 133). Açlık halinde depo halindeki trigliseridler, adipoz dokuda yağ asitlerine dönüştürülüp karaciğere taşınmaktadır. Bu yağ asitleri fosfolipid ve kolesterol esterlerinin yapımında kullanılmakla birlikte, ekstrahepatik dokularda enerji kaynağı olarak kullanılan ketona dönüştürülürler. İnsülin direnci; adipoz dokudan serbest yağ asidi salınımının artışına, karaciğerde serbest yağ asidi sentezinde artışa, yağ asitlerinin karaciğerden azalan LDL ve VLDL salımına neden olmaktadır. Bunun sonucunda, karaciğerde yağ birikimi meydana gelmektedir (134). İkinci vuruş ise, karaciğerde inflamasyon ve fibrozise neden olan oksidatif stresi ifade etmektedir. Hepatositlerdeki aşırı lipid birikimi toksik etki göstererek, hepatositlerde enflamasyon ve oksidatif strese neden olmaktadır. Karaciğerde gelişen bu stres yanıtı sonucunda apoptozis, nekroz, fibrozis ve NASH gelişmektedir (135). Oksidatif stres mitokondriyal, peroksizmal ve mikrozomal reaktif oksijen türleri (ROS) indükleyerek DNA' da hasar oluşturur ve hücre apoptozise gider (136). İnsülin direnci ve oksidatif stres gelişimi sonucunda, NAFLD hastalarının çoğunda metabolik sendromla ilişkili diğer klinik tabloların varlığı da gözlenmektedir (137).

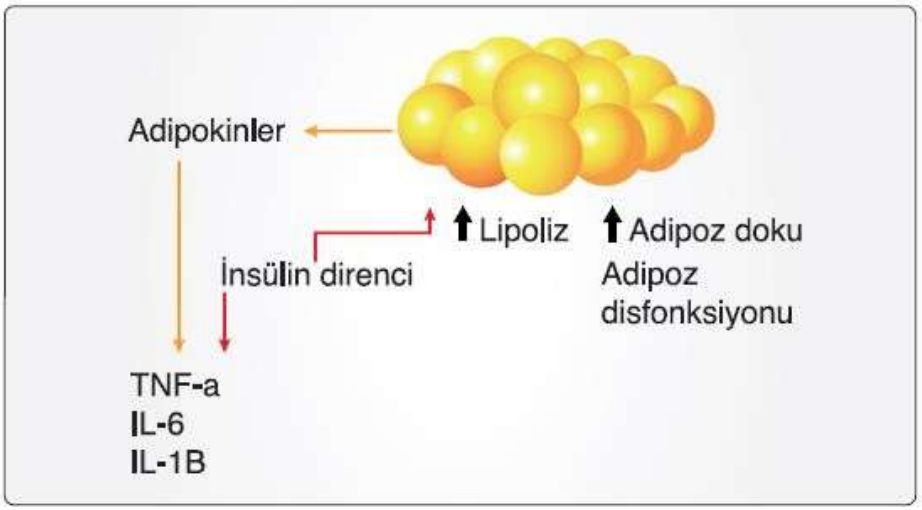
Son yıllarda NAFLD patogenezinde rol oynayan çeşitli moleküler ve metabolik değişiklikleri açıklamak için, two hit's hipotezi yetersiz görülmektedir. Bunun yerine, "Multiple Hit's hipotezi (Çoklu vuruş hipotezi)" NAFLD patogenezi daha doğru bir şekilde açıklamaktadır (138-141). Adipoz doku, pankreas, bağırsak ve karaciğer gibi çoklu organ arasında gerçekleşen çapraz etkileşim, karaciğerde biriken lipid miktarını indüklediği düşünülmektedir. Bu çoklu vuruş unsurları arasında insülin direnci, adipoz salgılanan hormonlar, beslenme faktörleri, bağırsak mikrobiyotası ve genetik ve epigenetik faktörler yer almaktadır (Şekil 2-19).

Adipoz doku ve Adipokinler: Aşırı karbonhidrat alımı, bozulmuş yağ asidi metabolizması, karaciğere gelen yağ asidi miktarındaki artış, obezite gibi nedenler de karaciğerde başlıca yağlanma nedenleri arasında yer almaktadır (142). Artan viseral yağ dokusu, serbest yağ asitleri üretmenin yanı sıra bir endokrin organ olarak görev görür ve salgıladığı adipokinlerle insülin direnci gelişimine katkı sunmaktadır. Obezite tablosunda, artan adipoz dokudan leptin, adiponektin ve rezistin gibi adipokinler ile TNF-a ve IL-6 gibi proenflamatuvar sitokinler salgılanmaktadır. Adiponektinin obez ve tip II diyabetli hastalarda serum düzeyinin düşük olduğu bilinmektedir. Bariatrik cerrahi uygulanan hastaların doku örneklerinde de, karaciğerdeki adiponektin ve adiponektin reseptör II düzeylerinin düşük olduğu bildirilmiştir (143). Karaciğer yağlanması olan hastalarda, serum adiponektin düzeyi düşüklüğü spesifik olmamakla birlikte, daha çok adiponektin reseptör II ekspresyonundaki azalma ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (100). Ob geninin bir ürünü olan leptinin, NASH olgularında serumdaki düzeylerinin yüksek olduğuna dair veriler bulunmaktadır(144-146). Ancak NAFLD olguları, çoğunlukla serum leptin düzeyi ile değil leptin rezistansı ile ilişkili olduğu görülmektedir(100). Obez bireylerde serum rezistin düzeyi yüksek olup, glukoz tolerans mekanizmasını etkileyerek insülin direncine neden olduğu düşünülmektedir (147). NAFLD olgularında da artan resistin düzeyi ile BMI korelasyon göstermektedir (147, 148). Obez hastalarda adipoz dokudan salgılanan pro-inflamatuar sitokinler (TNFα, IL-6, IL-1β), patolojik durumlarda karaciğer de bu sitokinlerin salınımı yaparak, sistemik enflamasyon gelişimine katkıda bulunmaktadır (Şekil 2-18). Adipoz dokudaki artan TNF-α üretimi, karaciğer yağlanmasında ilk vuruştan sorumlu olan insülin direnci gelişimine neden olmaktadır. İlk vuruş sonrasında hepatositler, oksidatif stres gibi hasar oluşturabilecek diğer etkenlere karşı duyarlı hale gelmektedir (149, 150). Oksidatif stres; TNF-α, IL-6, resistin gibi sitokinler endotel hücrelerini uyararak çeşitli adezyon moleküllerinin salınmasını, hasarlı

dokuya göç eden lökositleri uyararak, onların yeni sitokinler ve reaktif oksijen molekülleri salgılamalarına neden olmaktadır (151). Karaciğer yağlanmasından NASH sürecine giden yolda, enflamasyon ve fibrozis gelişiminde oksidatif stres kaynaklı mitokondride biriken reaktif oksijen türleri ikinci vuruştan sorumludur.

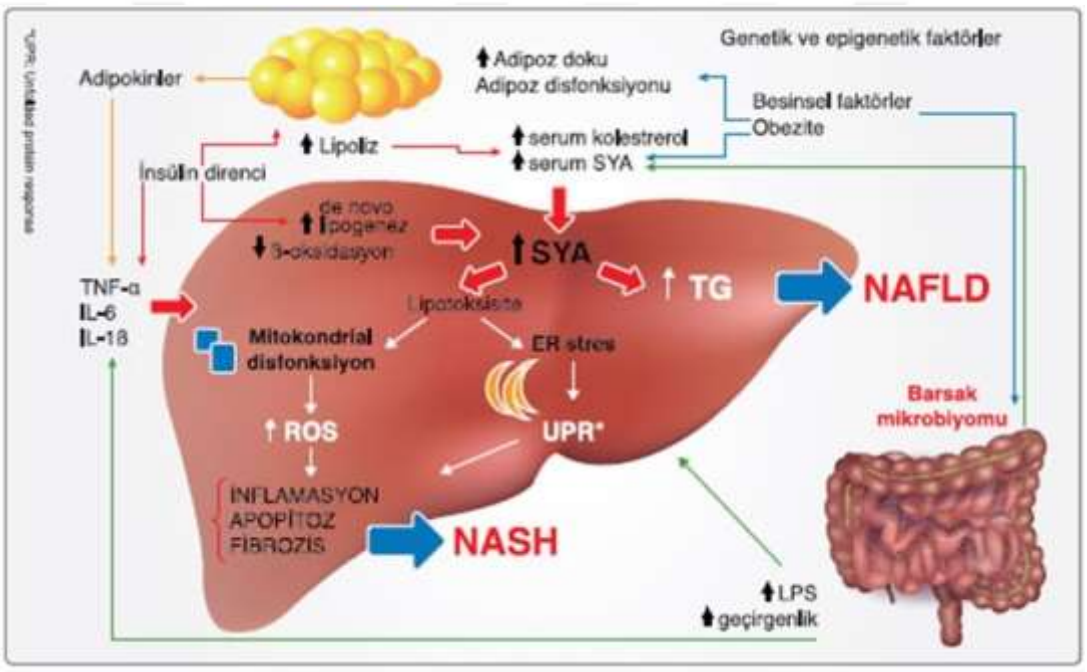
Mitokondriyal disfonksiyon: Serbest yağ asidi metabolizmasındaki bozukluklar (beta oksidasyon), artan serbest yağ asidi sentezi ve hepatositlerde serbest yağ asidi esterleşmesindeki artış da mitokondriyal disfonksiyonla ilişkilidir (152). Mitokondriyal disfonksiyonun NAFLD patofizyolojisinde anahtar bir role sahip olup olmadığı ya da değişen lipid metabolizmasının sonucu etkisinin olup olmadığı konusu halen belirsizliğini korumaktadır.

PPAR-α ve PPAR-γ fonksiyon bozukluğu: PPAR; insülin duyarlılığını arttırarak glukoz intoleransı ve lipid disfonksiyonuna karşı antagonist etki gösterebilmektedir. PPAR-γ, Sterol regularotory element-binding protein 1-c (SREBP-1c) düzeyini azaltarak, karaciğere lipid girişini engeller. Bu nedenle, PPAR-α ve PPAR-γ fonksiyon bozukluğu karaciğer yağlanmasına katkıda bulunmaktadır (152).



Şekil 2-18 Artan adipoz dokunun sistemik etkileri (152)

Aşırı fruktoz alımı: Fruktoz GLUT-5 yolağı ile karaciğere doğrudan ulaşmaktadır. Aşırı alımında krebs döngüsünde sitrat artar. SREBP 1-c artışıyla birlikte de novo lipogenez artarak karaciğer yağlanmasına katkı sunmaktadır. Aşırı fruktoz tüketimi; obezite gelişimi ile, serum yağ asitleri ve kolesterol seviyelerinde artışa, insülin direncinin gelişmesine, adiposit proliferasyonuna ve bağırsak mikrobiyotasında disbiyozise yol açmaktadır. Artan intestinal permiabilite ile bakteriler tarafından salgılanan endoksinler, karaciğer kupffer hücrelerini aktive etmekte ve enflamatuvar yanıt oluşturmaktadır. Ayrıca, artan ince bağırsak geçirgenliği, ER stresinin aktivasyonuna ve pro-enflamatuar sitokinlerin salınmasına katkıda bulunarak, dolaşımdaki molekül seviyelerini de arttırmaktadır (152).



Şekil 2-19 NAFLD Patogenezinde rol oynayan faktörler (152)

2.3.4. Klinik Tanı

Genelde popülasyonun NAFLD açısından taranması önerilmemektedir. Ancak; tip 2 diyabet, metabolik sendrom ve obezite gibi risk grubundaki hastalarda klinik tanıya gidilmektedir. NAFLD nedeniyle ileride gelişebilecek siroz ve HCC komplikasyonlarında karşı, bu hasta gruplarında ileri tetkiklerin yapılması önemlidir. Tanıda genellikle tıbbi muayene, biyokimyasal değerlendirme ve görüntüleme yöntemlerinin bir arada değerlendirildiği non-invaziv yöntem kullanılmaktadır. İnvaziv

tanı yöntemlerinden karaciğer biyopsisi, referans yöntem olsa da rutin tanıdaki kullanımı sık değildir.

2.3.4.1. Non-invaziv tanı yöntemleri

Tıbbi öykü ve Fiziki Muayene: NAFLD genellikle asemptomatik seyreden bir hastalıktır. Bazı olgularda sağ üst kadran ağrısı, halsizlik gibi spesifik olmayan semptomlar olabilir. Fiziki muayenede hepatomegali (%25), sağ üst kadranda palpasyonla ağrı gibi muayene bulguları ile tespit edilebilmektedir. Fibrozis ya da siroz gelişen NAFLD olgularında, semptom ve bulgular daha belirgindir (153). Klinik incelenirken dikkat edilmesi gereken hususlardan biri alkol tüketimidir. "Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı" için 140 g/hafta alkol tüketimi sınır olarak kabul edilmektedir (137). Bununla birlikte; iyi bir anamnez alarak NAFLD ile ilişkili olabilecek metabolik sendrom komponentleri ve kronik Hepatit C, otoimmün karaciğer hastalığı, Wilson hastalığı varlığı ve kullanılan ilaçlar sorgulanmalıdır.

Biyokimyasal Değerlendirme: NAFLD olguları genellikle artan karaciğer fonksiyon testleri, hiperglisemi, hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridemi sonucunda rastgele olarak saptanmaktadır. NAFLD olgularında genellikle, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinin normal üst sınırının ~1.5-2 katı üzerinde hafif yükselmesi görülmektedir. Diğer hastalıkların (viral hepatitler, otoimmun hepatit, alkolik hepatit, Wilson hastalığı, hemakromatozis, alfa-1 antitripsin eksikliği, kortikosteroidler, antiretroviral tedavi, tamoksifen kullanımı) dışlanması halinde, karaciğer transaminazlarındaki 2-3 kat artış NASH ile kuvvetli olarak ilişkilidir (137). İleri derece fibrozisli ve sirotik hastalarda, AST/ALT oranı 1'in üzerinde görülmektedir (152). Ancak, NAFLD tanısı için tek başına AST ve ALT düzeylerini değerlendirmek, hastalığın seyri boyunca dalgalanma gösterebileceğinden dolayı yanıltıcı olabilmektedir (154). NAFLD'ın tüm histolojik etkilerini taşıyan olgularda ALT düzeyleri normal sınırlarda olabilmektedir (155). NAFLD açısından hastalarda yapılması önerilen biyokimyasal paramatreler Tablo 2.7' de özetlenmiştir (137).

Tablo 2-7 Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı tanısında yardımcı biyokimyasal parametreler (137)

Karaciğer hastalıkları için	Metabolik bozukluklar ve ayırıcı tanı için
ALT / AST	Glikoz
Alkali fosfataz	Kolesterol (HDL, LDL)
GGT	Trigliserid
Bilirubin	OGTT
Albumin / Globulin	Açlık insülin düzeyi
PT	Tiroid testleri (T3, T4, TSH)
	Demir, Demir bağlama, Ferritin
	Seruloplazmin
	Hepatit serolojisi (HBsAg, Anti-HBc, Anti-HCV)
	Otoantikorlar
	Diğer

Görüntüleme Yöntemleri: NAFLD olgularının tanı ve takibinde; ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yöntemleri kullanılmaktadır. Ucuz ve kolay erişilebilir olması nedeniyle USG, tanıda en çok tercih edilen yöntemdir. Hepatositlerde biriken yağ, ses dalgalarını yansıtır ve USG incelemesinde karaciğer ekojenitesindeki artış ile karakterizedir. Hepatik ve portal ven duvarlarının net olarak seçilmesine karşın, böbrek ya da dalağa kıyasla karaciğer parankiminde ekojenite artışı hafif yağlanma varlığını göstermektedir. Ekojenite artışı ile birlikte hepatik ve portal ven duvarının seçilememesi orta; karaciğerin posterior kesimlerinin sonografik olarak yoğun gölgelenme sebebiyle değerlendirilememesi ise ağır yağlanma varlığını göstermektedir (156). USG inceleme sonucunun kullanıcıya bağımlı olması, obez olgularda duyarlılığının azalması ve yağ miktarının kantitatif ölçülememesi bu yöntemin dezavantajları arasında yer almaktadır. Karaciğer yağlanmasındaki derecelendirmede yaygın olarak kullanılan “grade I-III” tanımları tablo 2.8’de verilmiş olup, bu derecelendirme klinik açıdan önem arz etmemektedir.

Tablo 2-8 Karaciğer yağlanmasının ultrasonografik olarak derecelendirilmesi (157)

Grade I	Hafif difüz ekojenite artışı Diyafragm ve intrahepatitk damarların duvar görünümü normal
Grade II	Orta derecede ekojenite artışı, diyafragm ve intrahepatik damar duvar görüntüsünde hafif silinme
Grade III	Belirgin eko artışı, diyafragm, intrahepatik damar duvarları ve sağ lob posterioru görüntüsünde ileri derecede veya tamamen silinme

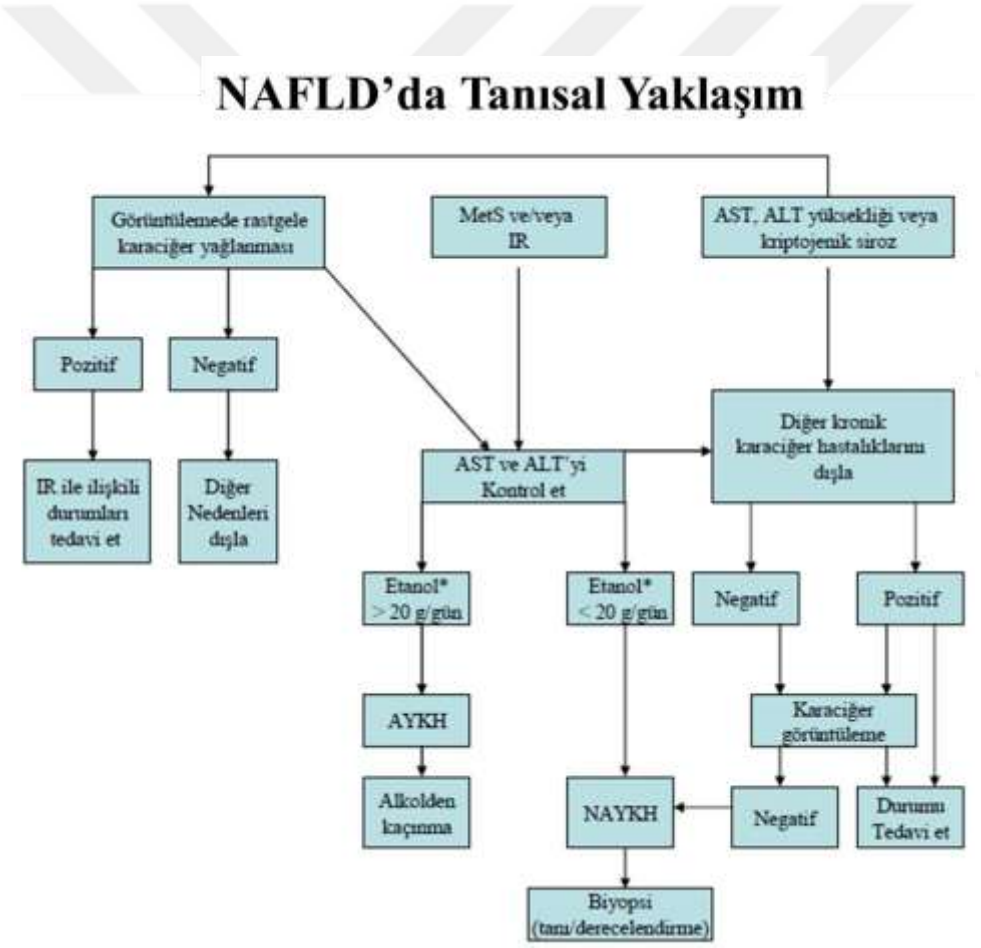
Bilgisayarlı tomografide yağlanma; karaciğer dansitesinin azalması ve karaciğer-dalak dansite farkının artmasıyla karakterizedir (100). Bu yöntemde de karaciğerdeki yağ miktarının kantitasyonu zayıf olmakla birlikte, yağlamanın histopatolojik yorumu (fibrozis ya da siroz) da yapılamamaktadır. Manyetik Rezonans Spektroskopi (MRS) ise, hepatik yağlanmayı kantitatif olarak göstermesiyle diğer görüntüleme yöntemlerine kıyasla daha avantajlıdır (158). Biyopsi ile karşılaştırmalı yapılan çalışmalarda, MRS'nin yağ miktarı açısından biyopsi sonucu ile uyumlu olduğu gösterilmiştir (159). Ancak, MRS'nin pahalı olması ve erişimin kolay olmaması bu yöntemin dezavantajları arasında yer almaktadır (160). NAFLD için kullanılan görüntüleme yöntemleri arasında en duyarlı yöntemin MRS olmasına karşın, hiçbiri NASH ya da NASH fibrozis ayırımı yapamamaktadır.

2.3.4.2. İnvaziv tanı yöntemleri

NAFLD tanısında invaziv yöntem karaciğer biyopsisi olmakla birlikte, histopatolojik inceleme ile değerlendirme yapılmaktadır. Basit karaciğer yağlanmasından, NASH ve NASH derecelendirmesine olanak sağlayan biyopsi, tanıda altın standart olarak kabul edilmektedir (161, 162). Histopatolojik inceleme için, ideal biyopsi örneğinin en az 20mm uzunluğunda ve en az 11 portal alan içermesi gerekmektedir. Histopatolojik bulgular ve sınıflandırma açısından birçok tanımlama olmakla birlikte, sıklıkla Matteoni ve arkadaşlarının (163) tanımlaması kullanılmaktadır (Tablo 2.9). Karaciğer biyopsi incelemesi görüntüleme yöntemlerine kıyasla daha duyarlı olmasına karşın, medikal tedaviye etkisinin az olması ve invaziv olması nedeniyle rutin tanıda tercih edilmemektedir.

Tablo 2-9 Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığında histopatolojik bulgular ve sınıflandırma (100)

Tip 1	Sadece yağlanma bulunanlar (hepatosteatoz)
Tip 2	Yağlanma + lobuler inflamasyon
Tip 3	Yağlanma + Balonlaşma dejenerasyonu
Tip 4	Yağlanma + Balonlaşma dejenerasyonu + Mallory cisimciği veya fibrozis



Şekil 2-20 NAFLD Tanısal Algoritma (164)

2.3.5. Tedavi ve Korunma

Günümüzde NAFLD için spesifik ruhsatlandırılmış herhangi bir ilaç bulunmamaktadır. NAFLD patogenezinde rol oynayan obezite, diabetes mellitus ve hiperlipidemi gibi hastalıklar dikkate alınarak tedavi rejimi belirlenmektedir. Tüm hastalarda tedaviye öncelikle diyet ve egzersiz ile kilo kontrolünün sağlanarak başlanması önerilmektedir. İlaç tedavisi; basit yağlanmanın NASH'a dönüştükten sonra siroz ve kansere ilerleme riski göz önüne alınarak verilmektedir (164). İnsülin direnci NAFLD etiyopatogenezinde en etkin role sahip olması nedeniyle, tedavide kullanılan ilaçlar insülin direncini hedeflemektedir. İnsülin duyarlılığını arttıran ilaçlar (biguanidler (metformin), glitazonlar (roziglitazon, pioglitazon), orlistat), lipid düşürücüler (fibratlar ve statinler) ve hepatoprotektif (ursodeoksikolik asit (UDCA), betain, vitamin E, lesitin, beta-karoten ve selenyum) ilaçlar NAFLD tedavisinde kullanılmaktadır (100). Bu ilaçların uzun süreli kullanımlarındaki sorunlar dikkate alınarak, NAFLD tedavisinde yapılması gereken en önemli unsur eşlik eden metabolik bozuklukların tedavisini sağlamaktır (100).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Alanı ve Tasarımı

Nisan 2019-Temmuz 2020 tarihleri arasında kesitsel ve olgu-kontrol temelli planlanmış ve klinik olarak yürütülen "***Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAFLD) ile Adenovirus 36 İlişkisinin Araştırılması***" başlıklı çalışmamız İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa , Cerrahpaşa Tıp Fakültesi (CTF) Dekanlığı, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 04.04.19 tarihli 53670 no'lu onay kararı doğrultusunda İÜC Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından 30.05.19 tarihli 33746 no'lu, doktora tez projesi kapsamında desteklendi. Çalışma ve kontrol grubuna dahil olan olgulardan örnekler, çalışma kriterlerinin uygunluğuna göre alınmıştır.

Başlığı yukarıda verilen ve 04.04.19 tarihli Etik Kurul kararı olan, İÜC-BAP 33746 no'lu projeye katılan tüm olgular verdikleri örneklerin diğer çalışmalarda kullanılabileceklerini imzaladıkları Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formuyla beyan etmişlerdir. Çalışmamıza katkıda bulunan veya bulunacak merkezler ve görevleri aşağıdaki şekilde planlanmıştır;

1) Grade II non-alkolik karaciğer yağlanması olan obez hastalardan, hepatobiliyer cerrahi işlem sırasında yağ dokusu ve kan örneği alımı**; İÜC, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı**

2) Grade II non-alkolik karaciğer yağlanması olan normal kilolu ve Grade II non-alkolik karaciğer yağlanması olan obez hastaların saptanması; **İÜC, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı**

3) Grade II non-alkolik karaciğer yağlanması olan Diabetes mellitus'lu ve obez hastaların saptanması; **İÜC, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı**

4) Farklı klinikler tarafından çalışma gruplarına dâhil edilen olgularının rutin serum örneklerine erişilmesi ve serum örneklerinin saklanması; **İÜC, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Seroloji Birimi**

5) Karaciğer yağlanması ve herhangi bir metabolik sendrom bulgusu olmayan normal kilolu sağlıklı bireylerin saptanması; **İÜC, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı,**

6) Çalışma ve kontrol grubuna ait serum örneklerinde ELISA yöntemi ile serum leptin, adiponektin ve IL-6 düzeylerinin saptanması; **İÜC, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Ekrem Kadri Unat Araştırma Laboratuvarı**

7) Çalışma ve kontrol grubuna ait serum örneklerinden serum nötralizasyon yöntemi ile HAdV-36 nötralizan antikor varlığının araştırılması; **İÜC, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Hücre Kültürü Laboratuvarı**

8) Grade II non-alkolik karaciğer yağlanması olan obez hastalardan, hepatobiliyer cerrahi işlem sırasında yağ dokusu örneklerinden Nested-PCR yöntemi ile viral DNA'nın saptanması; **İÜC, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Ekrem Kadri Unat Araştırma Laboratuvarı**

9) Elde edilen verilerin istatistiksel analizlerinin yapılması; **İÜC, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı** ve **Çankırı Karatekin Üniversitesi, Eldivan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü**

3.2. Çalışma Gruplarının Tanımlanması

Araştırmamızda üç farklı klinik duruma sahip (Obez+NAFLD, Diabetis Mellitus+NAFLD, NAFLD) çalışma ve kontrol grubu olmak üzere iki ana grup üzerinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Çalışma Grubu

Obez+NAFLD Grup: İÜC, CTF, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Polikliniği'ne başvuran ALT/AST düzeyleri normal, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre fazla kilolu (BMI: 25-30) ya da obez (BMI>30) ve karaciğer USG sonucunda NAFLD (Grade II) tanısı almış ve ilgili poliklinik tarafından takibi yapılan 23-78 yaş aralığında (yaş ortalaması: 51,2) 17 kadın, 13 erkek olmak üzere 30 hasta serumu çalışmaya alındı.

Diabetis Mellitus (DM) +NAFLD Grup: İÜC, CTF, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Polikliniği ile Diyabet Polikliniği'ne başvuran ALT/AST düzeyleri normal, DSÖ kriterlerine göre fazla kilolu (BMI: 25-30) ya da obez (BMI>30) ve karaciğer USG sonucunda NAFLD (Grade II) tanısı alan ve Türk Diyabet Cemiyeti, Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi'nde (165) yer alan kriterlere göre tip 2 diyabet tanısı almış, ilgili poliklinik tarafından takibi yapılan 26-65 yaş aralığında (yaş ortalaması: 50,9) 22 kadın, 8 erkek olmak üzere 30 hasta serumu çalışmaya alındı.

Non-Alkolik Karaciğer Yağlanması (NAFLD) Grup: İÜC, CTF, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Polikliniği'ne başvuran ALT/AST düzeyleri normal, DSÖ kriterlerine göre fazla kilolu (BMI:25-30) ya da normal kilolu (BMI<25) karaciğer USG sonucunda NAFLD (Grade II) tanısı almış 32-65 yaş aralığında (yaş ortalaması: 45,8) 9 kadın, 7 erkek olmak üzere takipli 16 hasta serumu çalışmaya alındı.

Opere Obez Grup: İÜC, CTF, Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvuran primer hastalığından dolayı izlem altında olup, bariatrik cerrahiye maruz kalan ve karaciğer USG sonucunda NAFLD (Grade II) tanısı almış, DSÖ kriterlerine göre fazla kilolu (BMI:25-30) ya da obez (BMI>30) 21-75 yaş aralığında (yaş ortalaması; 44,73) 19 kadın, 11 erkek olmak üzere 30 hasta serumu ve bu hastalara ait karaciğer yağ dokusu örnekleri çalışmaya alındı.

Çalışma grubundaki olguların yaş dağılım frekansları göz önüne alındı ve dört yaş grubuna ayrılarak değerlendirmeye alındı. Bununla birlikte; çalışma grubundaki tüm olguların son 2 hafta içinde üst solunum yolu veya gastrointestinal sistem enfeksiyonuna maruz kalmamış olmasına, morbid obez grubuna dâhil olmamasına, metabolik sendrom, oto-immün hastalık, kronik kalp/böbrek yetmezliği ya da maligniteye sahip olmamasına dikkat edildi. Bu kriterlerin en az birine sahip olan hastalar çalışmadan dışlandı.

3.2.2. Kontrol Grubu

İÜC, CTF, İç Hastalıkları Anabilim Dalı'na herhangi bir nedenle başvuran, sağlıklı (Metabolik sendrom, kronik rahatsızlığı, malignite, oto-immün hastalığı ve NAFLD olmayan), DSÖ kriterlerine göre normal kiloya sahip (BMI<25) olan ve hasta grubu ile yaş/cinsiyet yönünden eşleştirilen 81 gönüllü serumu çalışmaya alındı. 19-81 yaş aralığında (yaş ortalaması: 46,84) olan bu grubun, 30'u erkek (%37,5), 51'i kadın (%62,5) idi ($p>0.05$).

3.3. Çalışma Planı ve Süreci

İÜC, CTF, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Polikliniği ile Diyabet Polikliniği'ne ve Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvuran çalışma ve kontrol olgu kriterlerine uygun olan 19-81 yaş arası erişkin bireylerden rutin biyokimyasal tetkikler için alınan kan örnekleri kullanıldı. Steril vakumlu anti-koagülan içermeyen (sarı kapaklı, jelli) tüplere alınan 5 mLkan örnekleri hemen 5000 rpm hızda 5 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örneklerinde biyokimyasal tetkikleri (HDL: High Density Lipoprotein, LDL: Low Density Lipoprotein, TC: Total Kolesterol, TG: Trigliserid) çalışıldıktan sonra serum örnekleri uygun şartlarda Fakültemizin Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ekrem Kadri Unat Araştırma Laboratuvarı'na en kısa sürede ulaştırıldı. Serumlar leptin, adiponektin ve IL-6 düzeylerini kantitatif olarak belirlemek ve HAdV-36 nötralizan antikor varlığının saptamak üzere 0,5 µL'lik ependorf tüplere porsiyonlanarak çalışma gününe kadar -80˚C'de muhafaza edildi. Bununla birlikte; İÜC, CTF, Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvuran, herhangi bir nedenle hepatobiliyer cerrahiye maruz kalan hastaların operasyon sırasında atılacak olan karaciğer yağ dokusu örnekleri HAdV-36 varlığını araştırmak amacıyla kullanıldı. Steril, DNAz-RNAz free su içeren 15 ml'lik falkon tüplerine alınan karaciğer yağ dokusu örnekleri, Nested PCR yöntemi ile HAdV-36 DNA varlığını saptamak üzere çalışma gününe kadar -80˚Cde saklandı.

3.4. Çalışmada Kullanılan Testler

3.4.1. Serolojik Testler

3.4.1.1. İnsan Leptin Testi

Çalışmamıza alınan serum örneklerindeki leptin düzeyini belirlemek amacıyla, sandviç prensipli katı faz ELISA yöntemine dayanan ticari kit (Leptin Sandwich ELISA, DRG Instruments GmbH, Marburg, ALMANYA) kullanıldı. Mikroplaktaki kuyucuklar, leptin molekülünde bulunan spesifik antijenik bölgeye yönelik bir monoklonal antikor ile kaplıdır. Leptin içeren hasta serumu, spesifik bir biyotinlenmiş monoklonal anti-leptin antikoru ile kaplı kuyucuklarda inkübe edildi ve kompleks oluşması için beklendi. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış materyal yıkandı ve bağlanan leptin molekülünün saptanması için bir streptavidin peroksidaz enzim kompleksi eklendi. Substrat çözeltisini ekledikten sonra, enzimatik reaksiyon sonucunda meydana gelen rengin yoğunluğu hasta numunesindeki leptin konsantrasyonu ile orantılı olarak gerekli hesaplamalar yapıldı.

Serum Örneklerinin Hazırlanması: Serum örnekleri 5000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra, porsiyonlara bölünerek -70°C'de muhafaza edildi. Teste başlamadan bir gün önce tüm serum örnekleri +4°C'de bekletildi ve çalışma günü oda sıcaklığına getirildi. Serum örneklerinin dilüsyonu, kitte bulunan test tamponu kullanılarak mikroplaktaki kuyucuklar içinde yapıldı.

Reaktiflerin Hazırlanması: Liyofize olarak flakon içerisinde bulunan 0,5 mL'lik standart solüsyonun herbiri 500 µL deiyonize su ile sulandırıldı. Oda sıcaklığında tamamen karışmasını sağlamak amacıyla 10 dakika bekletildi. Kullanımdan önce içeriği köpürtülmeden hafifçe karıştırıldı.

Liyofilize olarak flakon içerisinde bulunan kontroller 500 µL deiyonize su ile sulandırıldı. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Hazırlanan kontroller, kullanımdan önce birkaç kez karıştırıldı ve çalışma sonuçlanıncaya kadar +4°C'de bekletildi.

Kit içerisinde x40 konsantre olarak bulunan yıkama solüsyonu, 1170 mL deiyonize su ile son hacim 1200 mL olacak şekilde seyreltildi.

Testte kullanılacak olan diğer reaktifler (11mL test tamponu, 11mL Anti-serum, 11mL enzim kompleks, 14mL substrat solüsyonu ve 14mL stop solüsyonu) kit içerisinde kullanıma hazırdı.

Test Prosedürü: Kit içerisinde yer alan tüm reaktifler ve örnekler, üretici firma talimatları doğrultusunda çalışmaya başlamadan önce oda sıcaklığına getirildi ve tüm reaktifler kullanılmadan önce köpürtülmeden karıştırıldı. Test prosedürü ile ilgili olan basamaklar, işlem sırasına göre altta ayrıntılı olarak açıklandı.

- Kit içerisinde yer alan 96 kuyucuklu mikroplak, çerçeve tutucuyla sabitlendi.
- Standart, kontrol ve örneklerin her birinden yeni tek kullanımlık plastik pipet uçları kullanılarak 15 µL uygun kuyucuklara konuldu. Daha sonra, her kuyucuğa 100 µL test tamponu eklendi ve 10sn süre ile pipetaj yapılarak iyice karışması sağlandı. İnkübasyon için oda sıcaklığında 120 dk bekletildi. Bu süre zarfında kit talimatlarına göre mikroplağın üzerinin kapatılmamasına dikkat edildi.
- İnkübasyon sonrasında her kuyucuğa seyreltilmiş olan yıkama solüsyonundan 300 µL eklendi ve bu işlem 3 kez tekrarlandı. Testin duyarlılık ve özgüllüğü, yıkama prosedürünün doğru performansı ile önemli ölçüde ilişkili olduğundan dolayı, kuyucuklarda damlacık kalmamasına dikkat edildi. Kalan damlacıkları

gidermek için emici kâğıt üzerinde mikroplaktaki kuyucuklara hasar vermeden plak keskin bir şekilde vuruldu.

- Yıkama sonrasında kuyucuklara 100 µL anti-serum eklendi ve oda sıcaklığında 30 dk inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında her kuyucuğa yıkama solüsyonundan 300 µL eklendi ve bu işlem 3 kez tekrarlandı. Yıkama sonrasında, kuyucuklarda damlacık kalmamasına dikkat edildi.
- Kuyucuklara 100 µL enzim kompleks eklendi ve oda sıcaklığında 30 dk inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında her kuyucuğa yıkama solüsyonundan 300 µL eklendi ve bu işlem 3 kez tekrarlandı. Yıkama sonrasında, kuyucuklarda damlacık kalmamasına dikkat edildi.
- Kuyucuklara 100 µL substrat solüsyonu (tetrametilbenzidin-TMB) eklendi ve oda sıcaklığında 15 dk inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında enzimatik reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu (0,5M H_2SO_4) eklendi. Stop solüsyonu eklendikten sonra, 10 dk içerisinde mikroplak 450 ± 10 nm dalga boyunda okutularak, her kuyucuğun absorbansını (OD) belirlendi.

Sonuçların Yorumlanması: Her standart seti, kontrol ve hasta numunesi için ortalama absorbans değerlerini hesaplandı. Standart eğri her bir standart solüsyonun relatif OD450 (Relatif OD450= (her kuyucuğun OD450)-(kontrol kuyucuğunun OD450)) olarak (Y), standart solüsyonların ayrı ayrı konsantrasyonları olarak (X) çizilerek oluşturuldu. Örneklerin leptin konsantrasyonları standart eğriden eklendi. Sonuçlar kantitatif olarak ng/mL cinsinden değerlendirildi. Testin analitik duyarlılığı 0,7 ng/mL, referans aralığı 0.7 - 100 ng/mL'dir.

3.4.1.2. İnsan ADP/Acrp30 (Adiponektin) Testi

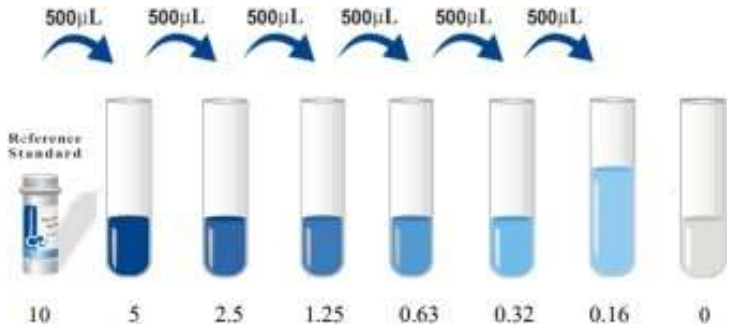
Çalışmamıza alınan serum örneklerindeki adiponektin düzeyini belirlemek amacıyla, sandviç prensipli katı faz ELISA yöntemine dayanan ticari kit (Human ADP/Acrp30 ELISA, Elabscience Biotechnology Inc, ABD) kullanıldı. Mikroplaktaki kuyucuklar, İnsan ADP / Acrp30'a özgü bir antikor ile kaplıdır. Hasta serumu

kuyucuklara eklendi ve spesifik antikor ile birleşmesi beklendi. Daha sonra, İnsan ADP / Acrp30 ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü biyotinlenmiş antikor, her bir kuyucğa eklendi ve inkübe edildi. Substrat çözeltisini ekledikten sonra, enzimatik reaksiyon sonucunda meydana gelen renk değişimi (maviden sarıya) gözlemlendi. Optik yoğunluk (OD), 450 ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hasta serumlarında saptanan OD, standart eğri ile karşılaştırarak İnsan ADP / Acrp30 konsantrasyonu hesaplandı.

Serum Örneklerinin Hazırlanması: Serum örnekleri 5000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra, porsiyonlara bölünerek -70°C'de muhafaza edildi. Teste başlamadan bir gün önce tüm serum örnekleri +4°C'de bekletildi ve çalışma günü oda sıcaklığına getirildi. Kit talimatları içerisinde yer alan serum ya da plazma örneklerinin 500-2000 kat dilüsyon önerisi dikkate alınarak, serum örnekleri 1000 kat dilüe edildi. Bunun için öncelikle, 5µL hasta serumu 95µL çözücüde dilüe edildi. Ardından, hazırlanan bu dilüsyondan 5µL alındı ve 245µL çözücüye eklenerek, hasta örneğinin 1000 kat dilüsyonu elde edildi.

Reaktiflerin Hazırlanması: Kullanılmadan önce kitte yer alan tüm reaktifler, oda sıcaklığına (18-25 ℃) getirildi. 30 mL konsantre olarak bulunan yıkama solüsyonuna, 720 mL deiyonize su eklendi ve 750 mL total hacim elde edildi.

Referans Standart solüsyonu, 10.000 devirde 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Dilüsyon için yedi tüp alındı ve her bir tüpe 500µL dilüent eklendi. Referans standarttan 500 µL alınarak ilk tüpe konuldu ve seri dilüsyonu yapıldı. Son tüpe gelindiğinde, pipetle çekilen 500 µL dışarı atıldı (Şekil 3-1).



Şekil 3-1 Referans standartın seri dilüsyonu

Konsantre olarak kitte yer alan Biotinlenmiş antikor solüsyonu (x100), kullanımdan önce 800 devirde bir dakika boyunca santrifüjlendi. Sonrasında 1:99 oranında seyreltildi. Benzer şekilde; konsantre olarak kitte yer alan HRP konjugat (x100), kullanımdan önce 800 devirde bir dakika boyunca santrifüjlendi. Sonrasında 1:99 oranında seyreltildi. Testte kullanılacak olan diğer reaktifler (10mL substrat solüsyonu ve 10mL stop solüsyonu) kit içerisinde kullanıma hazırdı.

Test Prosedürü: Kit içerisinde yer alan tüm reaktifler ve örnekler, üretici firma talimatları doğrultusunda çalışmaya başlamadan önce oda sıcaklığına getirildi ve tüm reaktifler kullanılmadan önce köpürtülmeden karıştırıldı. Test prosedürü ile ilgili olan basamaklar, işlem sırasına göre altta ayrıntılı olarak açıklandı.

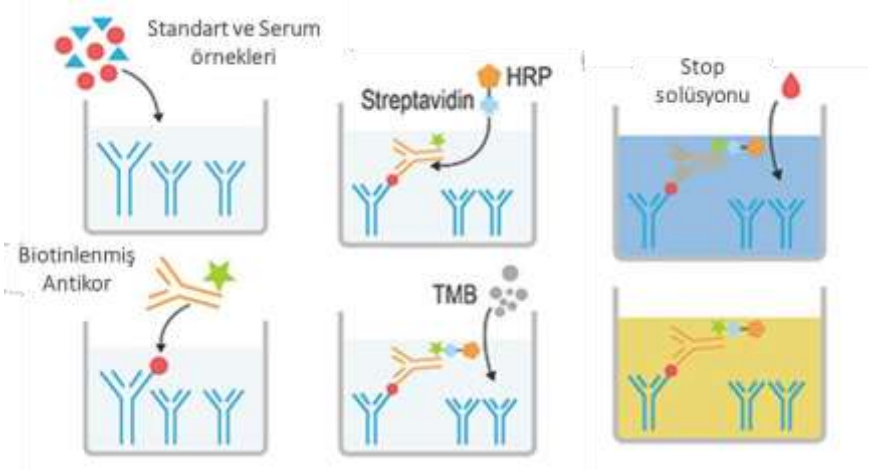
- Standart, kör ve numune için kuyucuklar belirlendi ve dilüe edilen standart ile hasta örneklerinden 100µL eklendi. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, standart çift çalışıldı. Mikroplağın üzeri yapışkan bant ile kapatıldı ve 37° C'de 90 dk inkübe edildi
- İnkübasyon sonrasında, kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Yıkama işlemi yapılmadan, hemen her kuyucuğa 100 µL Biotinlenmiş Antikor solüsyonu eklendi. Mikroplağın üzeri yapışkan bant ile kapatıldı ve 37° C'de 60 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında, kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Her kuyucuğa 350µL yıkama solüsyonu eklendi ve 1-2 dk beklendikten sonra solüsyon kuyucuklardan boşaltıldı. Bu yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Son yıkama işleminden sonra, kalan damlacıkları gidermek için emici kâğıt üzerinde mikroplaktaki kuyucuklara hasar vermeden plak keskin bir şekilde vuruldu. Kuyucuklarda damlacık kalmamasına dikkat edildi.
- Her kuyucuğa 100µL HRP Konjugat solüsyonu eklendi. Mikroplağın üzeri yapışkan bant ile kapatıldı ve 37° C'de 30 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında, kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Her kuyucuğa 350µL yıkama solüsyonu eklendi ve 1-2 dk beklendikten sonra solüsyon kuyucuklardan boşaltıldı. Bu yıkama işlemi beş kez tekrarlandı. Kuyucuklarda damlacık kalmamasına dikkat edildi.

- Her kuyucuğa 90µL Substrat Reaktifi eklendi. Mikroplağın üzeri yapışkan bant ile kapatıldı ve 37° C'de 15 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında, her kuyucuğa 50µL Stop solüsyonu eklendi. Stop solüsyonu eklendikten sonra, 10 dk içerisinde mikroplak 450 ± 10 nm dalga boyunda okutularak, her kuyucuğun absorbansını (OD) belirlendi.

Sonuçların Yorumlanması: Her standart ve numuneler için çift okumaların ortalamasını alındı. Ardından ortalama sıfır standart optik yoğunluğu çıkartıldı. Log-log grafik kağıdına, x ekseninde standart konsantrasyon ve y ekseninde OD değerleri ile dört parametreli bir lojistik eğri çizildi. Gerçek konsantrasyon, seyreltme faktörü ile çarpılan hesaplanmış konsantrasyon olarak elde edildi. Testin analitik duyarlılığı 0.10 ng/mL, referans aralığı ise 0.16-10 ng/mL'dir.

3.4.1.3. İnsan Interlökin-6 (IL-6) Testi

Çalışmamıza alınan serum örneklerindeki IL-6 düzeyini belirlemek amacıyla, sandviç prensipli katı faz ELISA yöntemine dayanan ticari kit (Human IL-6 ELISA, Elabscience Biotechnology Inc, ABD) kullanıldı. Mikroplaktaki kuyucuklar, İnsan IL-6'ya özgü bir antikor ile kaplıdır. Hasta serumu kuyucuklara eklendi ve spesifik antikor ile birleşmesi beklendi. Daha sonra, İnsan IL-6 ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü biyotinlenmiş antikor, her bir kuyucğa eklendi ve inkübe edildi. Substrat çözeltisini ekledikten sonra, enzimatik reaksiyon sonucunda meydana gelen renk değişimi (maviden sarıya) gözlemlendi (Şekil 3-2). Optik yoğunluk (OD), 450 ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hasta serumlarında saptanan OD, standart eğri ile karşılaştırarak İnsan ADP / Acrp30 konsantrasyonu hesaplandı.

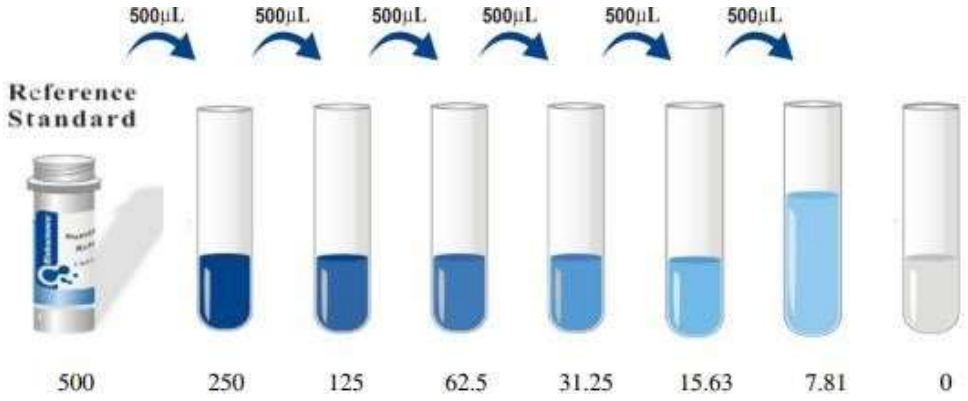


Şekil 3-2 İnsan IL-6 ELISA testinin çalışma prensibi

Serum Örneklerinin Hazırlanması: Serum örnekleri 5000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra, porsiyonlara bölünerek -80°C'de muhafaza edildi. Teste başlamadan bir gün önce tüm serum örnekleri +4°C'de bekletildi ve çalışma günü oda sıcaklığına getirildi.

Reaktiflerin Hazırlanması: Kullanılmadan önce kitte yer alan tüm reaktifler, oda sıcaklığına (18-25 °C) getirildi. 30 mL konsantre olarak bulunan yıkama solüsyonuna, 720 mL deiyonize su eklendi ve 750 mL total hacim elde edildi.

Referans Standart solüsyonu, 10.000 devirde 1 dakika boyunca santrifüjlendi. 1 mL referens standarta örnek seyreltici eklendi ve 10 dk beklendi. 500 pg / mL olarak elde edilen bu dilüsyon seri dilüsyona tabii tutuldu. Dilüsyon için yedi tüp alındı ve her bir tüpe 500µL dilüent eklendi. Referans standarttan 500 µL alınarak ilk tüpe konuldu ve seri dilüsyonu yapıldı. Altıncı tüpe gelindiğinde, pipetle çekilen 500 µL dışarı atıldı (Şekil 3-3).



Şekil 3-3 Referans standartın seri dilüsyonu

Konsantre olarak kitte yer alan Biotinlenmiş antikor solüsyonu (x100), kullanımdan önce 800 devirde bir dakika boyunca santrifüjlendi. Sonrasında 1:99 oranında seyreltildi. Benzer şekilde; konsantre olarak kitte yer alan HRP konjugat (x100), kullanımdan önce 800 devirde bir dakika boyunca santrifüjlendi. Sonrasında 1:99 oranında seyreltildi. Testte kullanılacak olan diğer reaktifler (10mL substrat solüsyonu ve 10mL stop solüsyonu) kit içerisinde kullanıma hazırdı.

Test Prosedürü: Kit içerisinde yer alan tüm reaktifler ve örnekler, üretici firma talimatları doğrultusunda çalışmaya başlamadan önce oda sıcaklığına getirildi ve tüm reaktifler kullanılmadan önce köpürtülmeden karıştırıldı. Test prosedürü ile ilgili olan basamaklar, işlem sırasına göre altta ayrıntılı olarak açıklandı.

- Standart, kör ve numune için kuyucuklar belirlendi ve dilüe edilen standart ile hasta örneklerinden 100µL eklendi. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda, standart çift çalışıldı. Mikroplağın üzeri yapışkan bant ile kapatıldı ve 37° C'de 90 dk inkübe edildi
- İnkübasyon sonrasında, kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Yıkama işlemi yapılmadan, hemen her kuyucuğa 100 µL Biotinlenmiş Antikor solüsyonu eklendi. Mikroplağın üzeri yapışkan bant ile kapatıldı ve 37° C'de 60 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında, kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Her kuyucuğa 350µL yıkama solüsyonu eklendi ve 1-2 dk beklendikten sonra solüsyon kuyucuklardan boşaltıldı. Bu yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Son yıkama işleminden sonra, kalan damlacıkları gidermek için emici kâğıt üzerinde mikroplaktaki kuyucuklara

hasar vermeden plak keskin bir şekilde vuruldu. Kuyucuklarda damlacık kalmamasına dikkat edildi.

- Her kuyucuğa 100µL HRP Konjugat solüsyonu eklendi. Mikroplağın üzeri yapışkan bant ile kapatıldı ve 37° C'de 30 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrasında, kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Her kuyucuğa 350µL yıkama solüsyonu eklendi ve 1-2 dk beklendikten sonra solüsyon kuyucuklardan boşaltıldı. Bu yıkama işlemi beş kez tekrarlandı. Kuyucuklarda damlacık kalmamasına dikkat edildi.
- Her kuyucuğa 90µL Substrat Reaktifi eklendi. Mikroplağın üzeri yapışkan bant ile kapatıldı ve 37° C'de 15 dk inkübe edildi. Mikroplak, ışıktan uzak yerde muhafaza edildi.
- İnkübasyon sonrasında, her kuyucuğa 50µL Stop solüsyonu eklendi. Stop solüsyonu eklendikten sonra, 10 dk içerisinde mikroplak 450 ± 10 nm dalga boyunda okutularak, her kuyucuğun absorbansını (OD) belirlendi.

Sonuçların Yorumlanması: Her standart ve numuneler için çift okumaların ortalamasını alındı. Ardından ortalama sıfır standart optik yoğunluğu çıkartıldı. Log-log grafik kağıdına, x ekseninde standart konsantrasyon ve y ekseninde OD değerleri ile dört parametreli bir lojistik eğri çizildi. Gerçek konsantrasyon, seyreltme faktörü ile çarpılan hesaplanmış konsantrasyon olarak elde edildi. Testin analitik duyarlılığı 4.69 pg/mL, referans aralığı ise 7.81-500 pg/mL'dir.

3.4.1.4. Serum Nötralizasyon Testi (SNT)

Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan toplam 187 serum örneğine altın standart olarak kabul gören mikro-nötralizasyon yöntemi uygulandı. Serum nötralizasyon testi sabit virus-azalan serum mikro-nötralizasyon yöntemiyle gerçekleştirildi. Mikro-nötralizasyon yöntemiyle çalışılan porsiyonlanarak -80°C'ye kaldırılmış olan serum örnekleri, soğuk zincirde çözdürülmeden İÜC, CTF, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Hücre Kültürü Laboratuvarı'na ulaştırıldı ve serum örnekleri çalışıldı.

Referans Virusun Üretimi ve Stoklanması: Ticari olarak temin edilen HAdV-36 (Human Adenovirus 36, ATCC® VR-1610™, Manassas, ABD), A549 hücreleri içeren 25 cm^2'lik steril hücre kültür flasklarına ekimi yapıldı. Virusun hücrelere absorbe olmasını sağlamak için, ekimi yapıkan flasklar 37˚C'de %5 CO_2'li ortamda 2 saat

inkübasyona bırakıldı. Daha sonra flasklara; 100 mL Ham's F-12 (Kaighn's) Medium (Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, ABD), 10 mL Fetal Bovine Serum (FBS) (Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, ABD), 2 mL L-glutamin (200 Mm) (Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, ABD), 1 mL HEPES (1M) (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya), 1 mL penisilin-streptomisin solüsyonu (10.000 mg/mL) (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya), 0.4 mL amfoterisin-B solüsyonu (250 mg) (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ile hazırlanan sıvıdan 5 mL eklenerek 37˚C'de %5 CO2'li ortamda 2 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresince belli aralıklarla flasklardaki pH değişimi ve kontaminasyon durumu, hücreler ise sitopatik etki (SPE) varlığı açısından kontrol edildi. Hücrelerin %80-90'nda SPE görüldüğünde, flasklar -80˚C'ye kaldırıldı. Hücrelerin parçalanması ve viral partiküllerin vasat içinde kalması için, ertesi gün flasklar oda sıcaklığında çözünmeye bırakıldı ve bu işlem (dondurma-çözme) iki kez tekrarlandı. Flasklardaki hücre süspansiyonu pipetaj ile homojenize edilerek, 50 mL'lik falkon tüplere aktarıldı ve 3000 rpm hızda 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra virusun bulunduğu üstte kalan sıvı alınarak, ependorflara 1 mL olacak şekilde konuldu. Porsiyonlanan ependorfların üzerine hücre tipi, virus suşu ve tarih yazılarak -80˚C'ye kaldırıldı.

Virus Titrasyonu: Enfektif titre; virusun canlı hücrelerde oluşturduğu %50 pozitifliğin görüldüğü dilüsyondur. Bu amaçla; Doku Kültürü Enfektif Doz 50 (Tissue Infective $Dose_{50}$-ID_{50}) değeri hesaplandı. Frey ve Liess (166)'in bildirdikleri yöntem kullanılarak virus mikro-titrasyon testine tabii tutuldu. Virusun log10'a göre Minimum Essential Medium Eagle (MEM) ile dilüsyonu yapıldı. 96'lık mikroplakların her kuyucuğuna MEM ile dilüe edilmiş farklı virus konsantrasyonlarından ve A549 hücresinden 100'er µL eklendi. 37˚C'de %5 CO2'li ortamda 7 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında mikroplaklardaki SPE iki uzman tarafından değerlendirilerek, enfektif virus titresi Spearmann-Kärber methoduna göre hesapladı (167, 168).

A549 Hücrelerinin Hazırlanması: İÜC, CTF, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Hücre Kültürü Laboratuvarı'nda uygun koşullarda muhafaza edilen A549 hücre kültürü kullanıldı. Hücrelerin çoğaltılması için, çalışma sırasında kullanılacak olan tüm besiyeri ve solüsyonlar 37˚C'ye getirildi. Flasklarda tam tabaka halindeki A549 hücrelerinin üzerindeki besiyeri boşaltılarak pH 7.2 olan Phosphate Buffer Saline Fosfat Tampon (PBS) ile flasklar yıkanarak, besiyerinin tamamen uzaklaştırılması sağlandı.

Sonrasında PBS atıldı. Hücrelerin monolayer (tek tabaka) haline gelmesi için tripsin kullanılarak, hücrelerin üzerini örtecek şekilde hücreler yıkadı. Tripsin ile yıkama işlemi iki kez tekrarlandı. Tripsin ile muammele edilen flasklar 37˚C'de %5 CO2'li ortamda 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında hücrelerin ayrılmış olduğu bu süspansiyon 50 mL'lik falkon tüplere konuldu. Falkonlara 100 µL MEM eklenerek 1200 rpm hızda 15 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan besiyeri atılarak, mL'sinde 300.000 hücre olacak şekilde süspanse edildi.

Serum Örneklerinin Hazırlanması: Çalışma grubu ve kontrol grubuna ait serum örnekleri -70˚C'den çıkarılarak çözdürüldü. Serumların inaktive olması için benmaride 56˚C'de 30 dk bekletildi. İnaktive edilen serumlar ¼ (200µL serum, 600µL MEM) oranında dilüe edildi.

Serum Nötralizasyon Testi: Mikro-nötralizasyon yöntemiyle yapılan serum nötralizasyon testi için 96 kuyucuklu mikroplaklar kullanıldı. Nötralizan antikor varlığı açısından araştırılacak olan her bir serum örneği için, mikroplağın üç kuyucuğu kullanıldı. Bununla birlikte, her plak için pozitif (virus var, hücre var, serum yok) ve negatif (sadece hücre var) kontrolleri hazırlandı. İlk aşamada, her kuyucuğa 100 µL MEM konuldu. Üstteki ilk sıraya ise; ¼ oranında dilüe edilmiş hasta serumundan 100 µL eklendi. Daha sonra üstteki kuyucuktan 100 µL alınıp, alt kuyucuğa pipetleme yapılarak homojenize edildikten sonra son kuyucuğa kadar aynı işlem uygulanarak, hasta serumunun seri dilüsyonu yapıldı. Mikroplağın en alttaki kuyucuğuna gelindiğinde, pipete çekilen 100 µL dışarı atıldı ve her kuyucuktaki hacim eşitlendi. Yapılan pipetlemeler sırasında, kuyucuklarda bulunan sıvıların köpürtülmemesine dikkat edildi. Farklı serum dilüsyonlarının (1:4- 1:512) hazırlandığı kuyucukların her birine referans virus çözeltisinden 100 µL konuldu. Serumlarda var olan nötralizan antikorun, virusa etki etmesi için 37˚C'de bir saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında plaklardaki her kuyucuğa 100 µL A549 hücresinden eklendi. Nötralizan antikorun olmadığı kuyucuklardaki sitopatik etkiyi görmek amacıyla, plaklar 37˚C'de %5 CO2'li ortamda 8-10 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücrelerdeki üzüm salkımı şeklinde görülen SPE varlığı saptandı. 1/8 titrasyon pozitif olarak değerlendirildi.

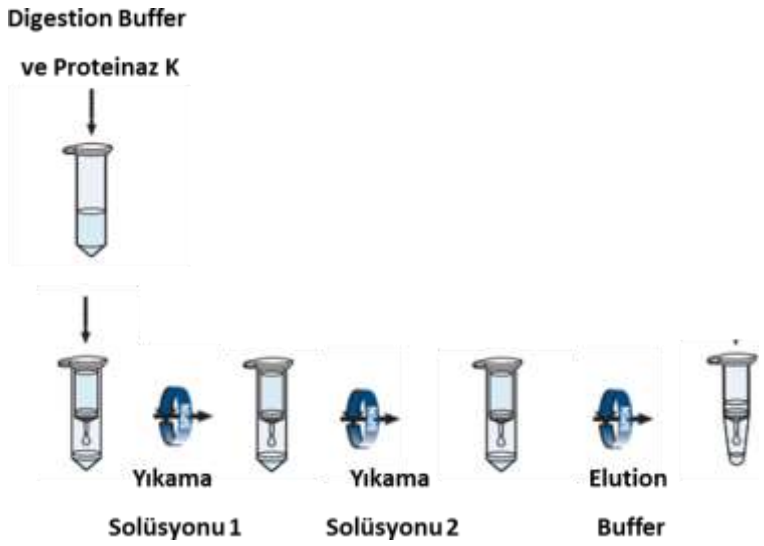
3.4.2. Moleküler Testler

3.4.2.1. HAdV-36 DNA Testi

İki ayrı ardışık reaksiyonda iki çift primer (inner ve outter) kullanılan ve geleneksel bir PCR türü olan Nested-PCR yöntemi ile karaciğer yağ dokusundan HAdV-36 DNA varlığı araştırıldı. Bu test, tekli amplifikasyon testlerinden daha iyi duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olduğu için tercih edildi. Bununla birlikte, PCR ürününün birinci reaksiyondan ikinciye taşınmasından dolayı kontaminasyona daha yatkın olduğundan dolayı, tüm aşamalar Sınıf II Biyogüvenlik Kabininde gerçekleştirildi. İlk aşama, DNA'nın bir hedef bölgesi bir dış primer çifti ile gerçekleştirildi. Elde edilen PCR ürünü, ikinci aşama için kalıp DNA olarak kullanıldı. İkinci aşama sonrasında elde edilen PCR ürünü, agaroz jel elektroforez yöntemi ile değerlendirildi.

Doku Örneklerinin Hazırlanması: Karaciğer yağ dokusu örnekleri, sınıf II biyogüvenlik kabininde steril koşullar altında cerrahi bistüri kullanılarak ufak parçalara ayrıldı. Parçalanan dokular, yaklaşık 1 g olacak şekilde ekstraksiyon aşamasına kadar kadar -80 °C'de saklandı.

Doku Örneklerinin Ekstraksiyonu: Ekstraksiyon öncesinde karaciğer yağ dokusu örnekleri, -80°C'den alınarak oda ısısına getirildi. Yağ dokusu örneğindeki DNA'nın saflaştırılması için, genomik DNA izolasyon kiti (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, ABD) kullanıldı. 1.5 mL'lik santrifüj tüplerinde bulunan doku örneklerinin üzerine 180 µL PureLink® Genomic Digestion Buffer ve 20 µL Proteinase K eklendi. Dokunun tamamen eklenen sıvılarla karışmasını sağlamak için, vortekslendi. 55 °C'ye ayarlanan su banyosunda bir gece boyunca bekletildi. Lizat oda sıcaklığında maksimum hızda üç dakika santrifüjlendi. Lizata 20 µL RNase A eklendi ve vortekslendikten sonra, oda ısısında iki dakika bekletildi. Sonrasında, 200 µL PureLink® Genomik Lizis / Bağlama Tamponu eklendi ve kısa süre santrijüjlendi. Lizata 200 µL%96–100 etanol eklendi ve 10.000 rpm hızda bir dakika santrifüjlendi. Lizat manifold pcr tüplerine aktarıldı. Üst rezervuara 1mL yıkama solüsyonu-1 eklendi ve 10.000 rpm hızda bir dakika santrifüjlendi. Ardından, 1 mL yıkama solüsyonu-2 eklendi ve 10.000 rpm hızda bir dakika santrifüjlendi. Filtre tüpünü temiz, steril 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve filtre Tüpünün üst rezervuarına 200 µl önceden ısıtılmış Elüsyon Tamponu eklendi. 10.000 rpm hızda bir dakika santrifüjlendi. Mikrosantrifüj tüpünde elde edilen saflaştırılmış DNA, sonraki analizler için +4°C'de saklandı (Şekil 3-4).



Şekil 3-4 Genomik DNA ekstraksiyon aşamaları

PCR: HAdV-36'nın E4 orf1 gen bölgesine spesifik primer setleri PCR için primer seti I ve primer seti II) kullanılarak tek aşamalı ve Nested polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirildi (10, 169). Nested-PCR yönteminin ilk reaksiyon aşaması için; 5 µl KCI ile 10×Taq buffer, 3 µl 25 mM $MgCl_2$, 1 µl dNTP (200 mM each dATP, dTTP, dCTP and dGTP), 1.25 µl Taq DNA polimeraz, 28.75 µl nuclease-free su ve 1'er µl forward ve reverse primer ependorfda bir araya getirilerek miks hazırlandı (Tablo 3-1).

Tablo 3-1 PCR'da bir numune için gerekli reaktif karışımı

PCR KARIŞIMI	MİKTAR (µl)	SON KONSANTRASYON
DNaz-RNaz içermeyen su	28,75	-
10X Reaksiyon tamponu	5	1X
$MgCl_2$	3	1,5 mM
dATP	1	200 mM
dCTP		200 mM
dGTP		200 mM
dTTP		200 mM
Primer foward	1	0,25 µM
Primer reverse	1	0,25 µM
Taq DNA polimeraz	0,25	0,625 U
Toplam	40	
Hedef DNA	10	
Toplam Reaksiyon hacmi	50	

10 µl ekstraksiyon örneği ile 40 µl miks çözeltisi bir araya getirildi. 95°C'de 2 dakika süreyle ilk denatürasyondan sonra, 94°C'de 1 dakika, 58°C'de 1 dakika C ve 72 ° C'de 2 dakika olacak şekilde 35 siklus uygulandı. Final uzatma 8 dakika 72°C'de yapıldı. Amplifikasyonun ikinci aşamasında ise, ilk aşama ürününden 3 µl alınarak yukardaki ile aynı miktarlara sahip olan ve E4 OF1 ve E4 OR1 primerlerinin ve 35,75 µl DNaz-RNaz içermeyen suyun kullanıldığı nested PCR miksine ilave edildi. İkinci aşamadaki siklus koşulları da aynı şekilde uygulandı. Amplifikasyon, PTC-100 Thermal Cycler'da gerçekleştirildi (MJ Research Inc, ABD). Amplifikasyon ürünleri 10 µl/ml etidium bromür ilave edilmiş, %1,5 agaroz jelde yürütülerek UV-ışığı altında transilüminatörde (Gel Doc XR+, BioRad, A.B.D.) görüntülendi. İnhibitör varlığını araştırmak üzere tüm örnekler beta-globulin primerleri kullanılarak ayrı ayrı çalışıldı (Tablo 3-2).

Tablo 3-2 Çalışılan primer setlerinin özellikleri

	Özellik	**Sekans (5′–3′)**	**Boyut (bp*)**
Primer Set I			
HAdV-36 E4 F	Sense	5'ggc ata cta acc cag tcc gat g 3′	~138
HAdV-36 E4 R	Anti-Sense	5'aat cac tct cag cag cag cag g 3′	
Primer Set II			
HAdV-36 OF1	Outer Sense	5'gtc tgg aaa act gag tgt gga ta 3′	
HAdV-36 OR2	Outer Anti-Sense	5′ atc caa aat caa atg taa tag agt 3′	~650
HAdV-36 IF2	Inner Sense	5′ tta act gga aaa gga ata ggt a 3′	
HAdV-36 IR2	Inner Anti-Sense	5′ ggt gtt gtt ggt tgg ctt agg ata 3′	
Primer set III			
Beta-globin	Sense	5′ aca caa ctg tgt tca cta gc 3′	251
	Anti-sense	5′ gga aaa tag acc aat agg ctg 3′	

*__bp__: base pair

PCR Ürünlerinin Analizi: Elektroforez tamponu 10 kat sulandırıldı ve içerisine %1,5 oranında agaroz karıştırılarak tampon hazırlandı (Tablo 3-3). 40-50°C'ye soğutulduktan sonra içine 1 µl syber green ilave edildi. Jelin yüksekliği 6,5 mm olacak şekilde gerekli hacimler ayarlandı. Taraklar yerleştirildikten sonra jel döküldü. Jel donduktan sonra taraklar çıkarılıp tampon ilave edildi ve örnekler jele yüklendi. Hazırlanan jelde bir kuyucuğa hasta örnekleri ile elektroforeze tabi tutmak için 5 µl DNA marker (ladder) yüklendi. Pozitif kontrol olarak HAdV-36 (ATCC-VR-1610) kullanıldı. Her bir PCR ürününden 10 µl ile 2 µl loading dye (yükleme boyası) karıştırılarak, jele yüklendi. 100 Volt'ta 30 dk yürütülmesinden sonra, görüntüleme cihazında (Gel Doc XR+, BioRad, A.B.D.) görüntülendi.

Çoğaltılan PCR ürünleri yatay agaroz jel elektroforezi ile incelendi. Ürünler moleküler ağırlık belirteci (DNA 100bp ladder, Promega, A.B.D) ve pozitif kontrol

olarak kullanılan HAdV-36 (ATCC-VR-1610) ile negatif kontrollerimiz örneklerle beraber jele yüklendikten sonra 100-150V' da 20 dakika yürütüldü (Minnie the Gel Cicle HE33, Hoefer Scientific Instruments, San Francisco). Ürünler, kontrollerle karşılaştırılarak UV transilluminatörde (Gel Doc XR+ (BioRad, A.B.D.) değerlendirilerek örneklerin görüntüleri kaydedildi. Her beş örnekte bir negatif ve bir pozitif kontrol numunesi kullanıldı ve 138 bp büyüklüğündeki ürünler pozitif olarak değerlendirildi.

Tablo 3-3 Nested PCR çalışmasında kullanılan tampon ve çözeltiler

Elektroforez Tamponu- 10X TBE- (Jel ve tanklar için tampon)	Tris base…..... 108 g Borik Asit..... 55 g EDTA 0.5 M, pH 8.0 .....40 ml
Syber Green	
Yükleme Tamponu	Bromfenol mavisi Griserol Hazırlanan tampon +4°C'de saklandı.

3.4.3. Biyokimyasal Testler

Çalışmamıza dahil edilen çalışma ve kontrol grubu olgularının rutin biyokimyasal testleri (HDL, LDL, total kolesterol, TG) İÜC, CTF, Fikret Biyal Merkez Biyokimya Biyokimya Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Laboratuvar verileri; İSHOP Doktor ve Laboratuvar Bilgilendirme Sistemi veri tabanından elde edildi. HDL kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit ve total kolesterol tayini için enzimatik-kolorimetrik yöntem kullanıldı (Roche Cobas c702, sırasıyla katalog no: 07528582, 07005768, 05171407, 05168538). Belirtilen testler oto-analizörlerde (Roche Diagnostics GmbH, Almanya, cobas 8000 modüler sistemler, c702) ticari olarak temin edilebilen reaktifler ile çalışıldı. Yapılan testlerin referans değerleri Tablo 3.2'de gösterildiği gibidir.

Tablo 3.2 Bazı biyokimyasal testlerin erişkinlerdeki referans aralıkları

Serum Lipidleri	Referans Aralık
HDL	40 – 60 mg/dL
LDL	10 – 40 mg/dL
Total Kolesterol	120 – 200 mg/dL
Trigliserid	35 – 150 mg/dL

HDL; High Density Lipid, **LDL;** Low Density Lipid.

3.5. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler SPSS 25.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, ABD) programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile test edildi. Normal dağılım gösteren parametrik verilerin analizi Student-t Testi, normal dağılıma uymayan verilerin analizi Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. Çalışma ve kontrol grubu olguların, yaş, cinsiyet ve BMI gibi demografik verileri Tablo 4-1'de kategorik değişkenler olarak, frekans ve oran değerleri ile (n, %) gösterildi. HAdV-36 nötralizan antikor pozitifliğinin çalışma ve kontrol grubu olgularında karşılaştırılmasında için Fisher's Exact testi uygulandı ve sonuçlar Tablo 4-4'te gösterildi. HAdV-36 nötralizan antikor pozitifliğinin kadın ve erkek cinsiyet açısından karşılaştırılmasında ise yine Fisher's Exact testi uygulandı ve sonuçlar Tablo 4-5'te gösterildi. HAdV-36 nötralizan antikor pozitifliğinin yaş gruplarındaki dağılımına göre karşılaştırılmasında, ikiden daha fazla grup olması nedeniyle Kruskal Wallis testi uygulandı ve sonuçlar Tablo 4-6'da gösterildi. Çalışma ve kontrol grubunda adipokin ve bazı biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı ve sonuçlar Tablo 4-7'da gösterildi. Parametrelerden sadece total kolesterol düzeyleri normal dağılım gösterdiği için iki bağımsız grup arasında ortalamalara bakılarak, Student- t Testi uygulandı ve Tablo 4-8'de gösterildi. Çalışma grubu içerisinde HAdV-36 nötralizan antikor pozitifliğine göre, adipokin ve bazı biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılmasında ise yine Mann-Whitney U testi kullanıldı ve sonuçlar Tablo 4-9'de gösterildi. NAFLD gelişimde rol oynayabileceği düşünülen parametreleri saptamak için uygulanan binary lojistik regresyon (multivaryet lojistik regresyon analizi Enter metodu

kullanılarak yapıldı ve sonuçlar Tablo 4-10’da gösterildi. Değişkenler %95 güven düzeyinde incelenmiş olup p=0,05 anlamlı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışma ve kontrol gruplarındaki olguların demografik veri dağılımları (yaş, cinsiyet, BMI) Tablo 4-1'de görülmektedir.

Tablo 4-1 Çalışma ve kontrol grubu olgularının demografik verileri

	ÇALIŞMA GRUBU				**KONTROL GRUBU**	**p**
	NON-OPERE GRUP			**OPERE GRUP**		
	DM+NAFLD	**OBEZ+NAFLD**	**NAFLD**	**OBEZ+ NAFLD**		
Olgu Sayısı	30	30	16	30	81	-
Cinsiyet Dağılımı (Erkek/Kadın)	8:22	13:17	7:9	11:19	30:51	0,451
Mean Yaş±SD (En Küçük-En Büyük)	51,3±2,71 (23-78)	50,93±1,98 (26-68)	45,88±2,57 (32-65)	44,73±2,50 (20-75)	46,84±1,79 (19-81)	0,389
Median Yaş (IQR; %25-75)	53,5 (39-64,25)	51 (43,75-61,25)	46,5 (36,25-53,5)	44 (33-54,5)	46 (33,5-59)	-
BMI (mean±SD)	33,15±0,81	36,73±0,95	25,37±0,42	37,93±0,75	22,67±0,20	<0,001

Çalışma ve kontrol grubu olgularının demografik verileri, leptin, adiponektin ve IL-6 gibi adipokinlerin düzeyleri ile biyokimyasal moleküllerden HDL, LDL, total kolesterol ve trigliseritin serumdaki düzeyleri ve HAdV-36 mikronötralizasyon test sonuçları Tablo 4-2 ve Tablo 4-3' de gösterilmiştir.

Tablo 4-2 Çalışma grubu olgularının demografik, biyokimyasal, adipokin ve serolojik test sonuçları

No	Çalışma Grubu	Çalışma Alt Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
1	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	O.Y.	E	55	31,96	54	182	220	84	2,06	17,97	0,001	**1/8 (+)**
2	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	E.D.	K	34	32,60	63	129	191	54	6,18	19,83	0,001	1/4
3	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	G.G.	K	42	35,80	56	140	181	73	20,87	16,49	0,002	1/4
4	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	H.K.	E	67	38,40	31	69	111	153	3,42	11,91	10,52	1/4
5	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	A.G.	E	43	31,90	34	99	163	74	3,02	18,14	0,001	1/4
6	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	F.A.	E	62	38,87	36	83	138	195	8,12	14,64	29,12	1/4
7	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	H.D.	K	54	32,27	67	149	259	163	9,58	21,96	16,73	**1/32 (+)**
8	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	K.T.	E	65	35,01	43	205	265	199	3,63	24,70	1,83	1/4
9	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	Ö.T.	E	23	42,70	24	118	158	103	8,55	3,11	19,21	1/4
10	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	Ç.İ.	K	51	38,10	64	125	194	121	15,52	16,08	6,79	1/4
11	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	L.T.	K	55	36,50	43	149	207	220	27,30	15,19	32,83	1/4
12	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	Y.K.	K	58	33,90	61	117	176	111	17,74	23,31	947,56	1/4
13	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	F.K.	K	54	31,22	53	118	166	109	5,67	31,50	292,89	1/4

No	Çalışma Grubu	Çalışma Alt Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
14	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	B.D.	E	33	31,56	38	250	193	509	3,94	17,50	11,76	1/4
15	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	E.S.	K	24	29,76	50	97	158	57	8,45	16,95	0,001	1/4
16	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	P.Y.M.	K	47	32,10	45	97	150	66	5,40	17,12	0,001	1/4
17	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	E.E.	E	43	27,55	39	131	184	140	3,71	7,71	0,001	1/4
18	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	D.Ö.	E	29	28,09	61	82	140	62	5,37	23,90	135,82	1/4
19	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	İ.M.	E	53	29,39	39	175	230	238	3,74	21,91	3,07	**1/32 (+)**
20	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	Y.L.	K	78	46,00	69	130	204	67	36,47	27,28	11,76	1/4
21	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	S.Ç.	K	39	37,00	58	110	174	83	9,18	16,24	3,07	**1/16 (+)**
22	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	B.Ö.	K	66	27,55	81	98	182	116	11,62	17,16	5,56	1/4
23	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	K.D.	K	75	28,89	67	117	188	118	4,52	27,39	8,04	1/4
24	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	G.A.	E	52	30,04	50	173	265	257	4,24	2,22	0,001	1/4
25	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	S.K.	E	39	29,40	58	173	93	249	17,60	21,14	5,07	1/4
26	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	A.S.	E	37	30,48	40	198	117	252	12,90	17,87	4,86	1/4

No	Çalışma Grubu	Çalışma Alt Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
27	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	N.Ö.	K	71	33,12	42	96	70	144	22,34	6,78	9,86	1/4
28	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	N.Ç.	K	64	30,86	55	131	283	215	2,66	6,06	19,59	1/4
29	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	A.İ.	K	60	33,30	54	187	164	266	4,12	16,60	8,64	1/4
30	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	H.T.	K	66	30,12	41	122	274	184	17,15	17,89	5,68	1/4
31	NON-OPERE	OBEZ+NAFLD	Ü.G.	K	46	36,80	52	143	216	182	6,81	16,95	19,21	1/4
32	NON-OPERE	DM+NAFLD	N.S.	E	57	42,40	50	146	237	390	3,38	14,02	32,83	1/4
33	NON-OPERE	DM+NAFLD	S.A.	K	65	39,20	34	122	182	178	26,29	25,31	35,30	**1/256 (+)**
34	NON-OPERE	DM+NAFLD	Z.Ö.	K	62	34,16	45	109	181	250	13,10	19,33	8,04	1/4
35	NON-OPERE	DM+NAFLD	M.N.M.	E	68	37,80	59	96	158	92	6,27	18,89	21,69	1/4
36	NON-OPERE	DM+NAFLD	A.B.	K	39	39,30	36	119	163	172	4,27	10,63	83,32	1/4
37	NON-OPERE	DM+NAFLD	C.İ.B.	E	36	31,60	53	66	116	106	6,15	14,40	21,69	1/4
38	NON-OPERE	DM+NAFLD	H.D.	K	51	27,34	42	119	174	154	7,51	20,97	0,001	1/4
39	NON-OPERE	DM+NAFLD	N.Ö.	K	71	33,12	42	96	70	144	22,34	6,78	9,86	1/4

No	Çalışma Grubu	Çalışma Alt Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
40	NON-OPERE	DM+NAFLD	M.T.	K	57	29,69	46	153	205	111	5,24	21,58	4,32	1/4
41	NON-OPERE	DM+NAFLD	A.B.	K	50	32,50	35	225	282	273	9,18	25,26	4,32	1/4
42	NON-OPERE	DM+NAFLD	S.Y.	K	58	34,90	54	105	171	198	5,67	26,86	0,001	1/4
43	NON-OPERE	DM+NAFLD	S.K.Ç.	K	40	34,50	43	147	212	103	13,38	27,76	15,49	1/4
44	NON-OPERE	DM+NAFLD	S.Ö.	E	45	32,50	42	141	203	205	4,85	23,80	14,25	1/4
45	NON-OPERE	DM+NAFLD	A.K.	E	43	32,49	41	136	195	164	3,83	11,38	3,07	1/4
46	NON-OPERE	DM+NAFLD	M.K.	E	50	30,08	39	119	163	100	3,09	20,51	0,001	1/4
47	NON-OPERE	DM+NAFLD	H.B.T.	K	58	30,50	66	115	181	75	9,55	10,90	20,45	1/4
48	NON-OPERE	DM+NAFLD	H.D.	K	61	42,00	56	116	203	343	35,03	20,83	26,64	1/4
49	NON-OPERE	DM+NAFLD	K.K.	K	51	42,10	69	131	208	99	26,29	18,71	16,73	**1/16 (+)**
50	NON-OPERE	DM+NAFLD	H.D.	E	30	45,70	36	75	168	433	7,22	24,50	25,4	1/4
51	NON-OPERE	DM+NAFLD	S.N.D.	K	48	40,00	43	76	131	90	30,28	23,90	0,001	1/4
52	NON-OPERE	DM+NAFLD	N.Ö.	K	64	45,00	67	109	171	83	17,83	30,71	8,04	1/4

No	Çalışma Grubu	Çalışma Alt Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
53	NON-OPERE	DM+NAFLD	Z.L.	K	44	32,50	58	140	205	88	29,71	27,28	26,64	1/4
54	NON-OPERE	DM+NAFLD	N.Ö.	K	26	43,00	66	108	170	73	13,83	17,50	4,31	1/4
55	NON-OPERE	DM+NAFLD	H.K.	E	47	37,02	46	165	241	160	4,93	14,09	0,001	1/4
56	NON-OPERE	DM+NAFLD	E.A.	K	53	34,96	44	112	183	182	10,11	23,12	25,40	1/4
57	NON-OPERE	DM+NAFLD	G.Ş.	K	38	43,41	56	94	155	60	13,50	23,51	59,97	1/4
58	NON-OPERE	DM+NAFLD	A.Ö.	K	52	41,00	50	78	134	100	20,20	21,58	30,35	1/4
59	NON-OPERE	DM+NAFLD	F.Ö.	K	65	32,05	64	62	146	152	16,65	30,32	4,31	1/4
60	NON-OPERE	DM+NAFLD	A.T.	K	62	43,56	41	123	177	168	5,94	27,81	8,04	**1/8 (+)**
61	NON-OPERE	NAFLD	G.S.	K	62	33,70	40	85	143	169	8,82	18,84	0,001	1/4
62	NON-OPERE	NAFLD	S.K.	E	34	25,48	65	114	145	118	2,57	22,44	39,01	1/4
63	NON-OPERE	NAFLD	Z.A.	K	40	23,03	52	126	154	84	9,60	14,17	0,001	1/4
64	NON-OPERE	NAFLD	I.A.	K	37	22,65	62	103	162	84	8,12	18,40	11,46	1/4
65	NON-OPERE	NAFLD	K.C.	K	36	25,61	44	116	174	100	8,74	17,97	0,001	1/4
66	NON-OPERE	NAFLD	Ş.B.	K	49	25,71	91	130	223	82	3,09	29,82	14,25	1/4

No	Çalışma Grubu	Çalışma Alt Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
66	NON-OPERE	NAFLD	Ş.B.	K	49	25,71	91	130	223	82	3,09	29,82	14,25	1/4
67	NON-OPERE	NAFLD	H.Y.A.	K	47	24,03	69	142	217	106	4,65	13,22	8,04	1/4
68	NON-OPERE	NAFLD	K.B.	E	58	25,60	54	135	194	139	3,08	23,07	20,45	1/4
69	NON-OPERE	NAFLD	E.G.	E	33	25,80	24	104	172	270	3,47	10,10	0,001	**1/8 (+)**
70	NON-OPERE	NAFLD	Z.T.	K	32	22,89	70	98	142	57	3,57	17,20	0,001	1/4
71	NON-OPERE	NAFLD	K.B.	E	65	25,80	85	98	178	51	4,23	25,87	0,001	1/4
72	NON-OPERE	NAFLD	K.K.	E	46	26,40	31	137	193	142	2,41	22,68	0,001	1/4
73	NON-OPERE	NAFLD	M.T.	E	47	26,80	67	128	157	182	4,44	16,08	0,001	1/4
74	NON-OPERE	NAFLD	F.D.	K	46	24,20	62	174	250	150	4,52	25,62	0,59	1/16 (+)
75	NON-OPERE	NAFLD	F.D.	K	55	25,78	104	151	238	55	5,79	21,91	0,001	1/4
76	NON-OPERE	NAFLD	E.C.	K	47	27,28	75	141	204	41	4,85	27,81	0,001	1/4

BMI; Body Mass Index değeri, **HDL;** High Density Lipid, **LDL;** Low Density Lipid**, TC:** Total Kolesterol **TG;** Trigliserid, **HAdV-36 nAb;** Human Adenovirus 36 Nötralizan Antikor

No	Çalışma Grubu	Çalışma Alt Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb	HAdv-36 DNA
77	OPERE	OBEZ+NAFLD	A.Ç.	K	39	40,10	55	138	207	120	3,07	24,55	0,001	1/4	NEGATİF
78	OPERE	OBEZ+NAFLD	B.S.	K	44	42,40	58	142	215	86	5,30	11,63	214,29	1/4	NEGATİF
79	OPERE	OBEZ+NAFLD	Z.Y.A.	K	27	35,10	66	89	155	86	15,59	13,52	27,88	1/4	NEGATİF
80	OPERE	OBEZ+NAFLD	E.T.	K	49	36,80	50	101	168	74	4,47	12,02	94,35	1/4	NEGATİF
81	OPERE	OBEZ+NAFLD	S.Y.	E	65	44,50	36	126	205	309	5,88	19,38	31,59	1/4	NEGATİF
82	OPERE	OBEZ+NAFLD	D.Y.	E	62	32,40	38	119	181	226	2,57	20,01	146,75	1/4	NEGATİF
83	OPERE	OBEZ+NAFLD	U.D.	E	33	36,40	58	121	195	299	5,57	28,24	13,007	1/4	NEGATİF
84	OPERE	OBEZ+NAFLD	A.T.	K	38	40,90	35	129	173	182	9,80	25,77	22,925	1/4	NEGATİF
85	OPERE	OBEZ+NAFLD	A.B.	K	35	35,40	43	142	195	87	6,73	32,18	129,74	1/4	NEGATİF
86	OPERE	OBEZ+NAFLD	B.K.	E	44	32,90	38	137	186	127	2,46	17,54	0,001	1/4	NEGATİF
87	OPERE	OBEZ+NAFLD	E.A.	E	31	38,50	42	115	175	120	5,39	13,82	14,25	1/4	NEGATİF
88	OPERE	OBEZ+NAFLD	E.K.	E	44	40,70	26	100	189	428	2,35	29,11	112,68	1/4	NEGATİF
89	OPERE	OBEZ+NAFLD	S.S.	K	52	36,40	86	105	198	107	22,72	29,11	0,001	1/4	NEGATİF

No	Çalışma Grubu	Çalışma Alt Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb	HAdv-36 DNA
90	OPERE	OBEZ+NAFLD	L.K.	K	56	32,00	46	121	169	50	17,74	25,06	0,001	1/4	NEGATİF
91	OPERE	OBEZ+NAFLD	D.Ç.	K	60	42,20	74	73	152	102	6,46	36,43	21,69	1/4	NEGATİF
92	OPERE	OBEZ+NAFLD	L.D.	K	33	31,90	31	115	182	281	16,65	35,94	22,92	1/4	NEGATİF
93	OPERE	OBEZ+NAFLD	B.H.Ç.	E	52	44,30	49	130	251	660	2,09	36,13	318,84	1/4	NEGATİF
94	OPERE	OBEZ+NAFLD	N.D.	K	43	39,40	39	156	220	161	11,35	41,78	209,50	1/4	NEGATİF
95	OPERE	OBEZ+NAFLD	S.U.	K	65	37,80	58	131	199	110	18,38	15,55	231,06	1/4	NEGATİF
96	OPERE	OBEZ+NAFLD	M.K.	K	20	39,30	53	98	149	78	12,70	27,92	16,73	1/4	NEGATİF
97	OPERE	OBEZ+NAFLD	H.Ç.	K	43	31,70	36	140	198	281	6,94	21,68	41,48	**1/8 (+)**	NEGATİF
98	OPERE	OBEZ+NAFLD	U.G.	E	31	39,60	40	125	146	227	10,25	29,54	84,55	1/4	NEGATİF
99	OPERE	OBEZ+NAFLD	E.Ö.	K	21	35,80	64	74	138	58	18,30	32,98	16,73	1/4	NEGATİF
100	OPERE	OBEZ+NAFLD	H.İ.Ü.	E	35	32,10	59	87	156	147	6,46	36,49	0,001	1/4	NEGATİF
101	OPERE	OBEZ+NAFLD	H.D.	K	75	35,00	19	101	160	194	3,74	39,53	27,88	1/4	NEGATİF
102	OPERE	OBEZ+NAFLD	G.K.	E	31	38,90	62	87	120	109	6,05	46,18	17,97	1/4	NEGATİF

No	Çalışma Grubu	Çalışma Alt Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb	HAdv-36 DNA
103	OPERE	OBEZ+NAFLD	R.A.	K	50	44,20	43	94	118	92	26,23	14,71	117,56	1/4	NEGATİF
104	OPERE	OBEZ+NAFLD	P.U.	E	56	42,90	91	120	191	149	13,54	32,58	80,88	1/4	NEGATİF
105	OPERE	OBEZ+NAFLD	S.K.	K	54	34,60	56	114	199	140	19,50	31,84	0,001	1/4	NEGATİF
106	OPERE	OBEZ+NAFLD	M.K.	K	54	43,70	69	176	184	232	2,46	32,75	614,06	1/4	NEGATİF

BMI; Body Mass Index değeri, **HDL;** High Density Lipid, **LDL;** Low Density Lipid**, TC:** Total Kolesterol **TG;** Trigliserid, **HAdV-36 nAb;** Human Adenovirus 36 Nötralizan Antikor

Tablo 4-3 Kontrol grubu olgularının demografik, biyokimyasal, adipokin ve serolojik test sonuçları

No	Çalışma Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
1	KONTROL	H.T.	E	27	21,60	39	41	98	90	0,70	9,22	17,97	1/4
2	KONTROL	Ü.K.	K	70	23,10	38	88	141	73	0,65	25,49	22,92	1/4
3	KONTROL	P.Y.	E	67	20,40	46	112	169	56	0,20	15,69	0,001	1/4
4	KONTROL	D.D.	K	47	24,60	37	88	132	66	2,84	14,09	10,52	1/4
5	KONTROL	B.K.A.	E	77	24,00	45	121	180	71	1,62	40,55	0,001	1/4
6	KONTROL	P.G.	K	40	22,40	66	101	183	80	2,16	22,15	0,001	1/4
7	KONTROL	P.Y.S.	K	49	20,80	29	143	216	119	0,34	12,43	6,79	1/4
8	KONTROL	K.D.	E	21	21.	71	75	160	69	0,35	8,72	10,52	1/4
9	KONTROL	S.P.	E	59	24,00	50	136	207	103	0,81	18,68	1,83	1/4
10	KONTROL	F.K.	K	61	23,40	62	132	217	115	6,99	30,18	0,001	1/4
11	KONTROL	H.D.	K	37	21,50	70	122	211	95	2,49	15,12	15,49	1/4
12	KONTROL	Y.V.	E	29	22,40	55	103	147	73	2,14	13,91	35,30	1/4
13	KONTROL	M.V.	K	63	24,90	45	126	190	95	11,46	20,29	27,88	1/4

No	Çalışma Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36nAb
14	KONTROL	F.K.	E	67	24,90	33	101	155	107	0,30	19,03	0,001	1/4
15	KONTROL	N.T.	E	68	25,00	38	102	160	102	2,16	13,00	0,59	**1/8 (+)**
16	KONTROL	F.G.G.	K	40	22,04	44	76	45	125	24,14	24,78	4,43	1/4
17	KONTROL	E.Ç.	K	33	21,56	42	92	159	155	3,48	14,56	7,34	1/4
18	KONTROL	A.K.	E	22	20,20	65	164	136	251	2,30	26,56	4,05	1/4
19	KONTROL	S.Ş.B.	K	30	23,38	40	111	210	172	12,96	22,84	5,01	1/4
20	KONTROL	İ.İ.	E	56	21,80	34	131	81	180	1,53	2,98	4,05	1/4
21	KONTROL	F.İ.	K	52	23,23	68	99	206	185	8,63	14,13	6,16	1/4
22	KONTROL	S.G.	K	41	22,23	44	200	146	264	1,35	11,05	5,65	1/4
23	KONTROL	F.G.	E	19	19,59	48	53	81	108	1,21	13,87	4,24	1/4
24	KONTROL	S.K.	E	70	21,26	61	166	154	243	2,68	20,84	10,28	1/4
25	KONTROL	Ç.C.	K	33	21,51	53	117	74	177	1,52	12,29	4,05	1/4
26	KONTROL	K.Ö.	E	66	22,53	35	117	202	182	1,27	11,83	9,67	1/4
27	KONTROL	M.C.	E	35	21,22	39	89	108	135	2,43	14,85	5,39	1/4

No	Çalışma Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
28	KONTROL	N.Ö.	K	42	24,46	85	96	59	179	12,56	26,62	4,62	1/4
29	KONTROL	A.K.	K	28	20,94	47	110	144	109	4,26	1,17	3,55	1/4
30	KONTROL	A.I.	K	35	21,30	46	116	89	166	5,37	57,73	3,93	1/4
31	KONTROL	S.D.	K	32	19,53	64	65	43	134	2,56	22,78	3,80	1/4
32	KONTROL	E.K.	K	21	18,42	51	108	71	160	1,32	13,93	3,93	1/4
33	KONTROL	G.G.	K	42	22,60	42	75	112	138	2,10	40,74	0,001	1/4
34	KONTROL	Z.G.D.	K	34	21,60	91	120	191	49	3,77	42,50	0,001	1/4
35	KONTROL	H.Ö.D.	K	30	24,00	106	114	199	40	5,77	52,46	0,001	1/4
36	KONTROL	S.K.	K	31	20,00	62	201	189	78	8,90	43,88	0,001	1/4
37	KONTROL	P.G.	K	33	21,50	57	102	96	108	8,05	20,37	0,001	1/4
38	KONTROL	H.G.	K	55	23,80	52	225	289	220	7,78	19,74	0,001	**1/8 (+)**
39	KONTROL	G.B.	K	57	24,98	72	130	104	209	2,98	16,25	4,750	1/4
40	KONTROL	A.T.	E	68	26,23	58	138	85	214	4,20	12,27	4,814	1/4
41	KONTROL	Ş.A.	K	48	21,51	33	102	148	131	3,93	6,62	5,06	1/4

No	Çalışma Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
42	KONTROL	G.D.	K	48	21,51	33	102	148	131	3,93	12,31	6,23	1/4
43	KONTROL	A.N.Ç.	K	43	22,94	33	102	124	131	2,19	20,67	3,99	1/4
44	KONTROL	M.K.	E	23	20,2	51	102	140	101	2,11	18,09	7,27	1/4
45	KONTROL	İ.U.	E	47	23,35	53	114	171	175	9,2	20,43	4,50	1/4
46	KONTROL	M.E.	K	25	22,03	49	136	177	206	1,21	32,43	6,62	1/4
47	KONTROL	Ç.B.	K	81	25	26	135	210	104	1,99	85,30	3,24	1/4
48	KONTROL	E.D.	K	25	17,30	82	115	209	73	4,25	11,95	6,36	1/4
49	KONTROL	N.S.	K	43	20,83	52	124	190	182	2,76	32,55	3,61	1/4
50	KONTROL	H.K.	E	38	21,70	80	136	208	97	2,11	17,47	11,72	1/4
51	KONTROL	S.Ö.	K	52	22,34	31	136	168	49	9,9	8,34	6,88	1/4
52	KONTROL	K.Y.	E	77	24,6	76	163	218	53	30,46	8,29	4,24	1/4
53	KONTROL	K.C.	K	45	24,33	54	148	208	47	3,89	23,02	3,55	1/4
54	KONTROL	B.B.	E	59	26,23	69	123	147	74	7,82	9,31	15,69	1/4
55	KONTROL	A.T.	K	56	24,28	48	127	175	64	1,51	25,80	12,55	1/4

No	Çalışma Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
56	KONTROL	H.Ö.	K	36	25,71	62	165	231	130	23,04	32,47	3,68	1/4
57	KONTROL	Y.K.	E	56	23,88	60	128	221	171	3,73	4,42	4,88	1/4
58	KONTROL	E.D.	E	38	25,25	48	166	243	261	2,84	8,18	4,24	1/4
59	KONTROL	M.Ç.	K	51	24,41	58	173	249	93	17,6	21,14	5,07	1/4
60	KONTROL	M.C.	E	26	25,56	35	151	200	217	1,74	3,94	4,18	1/4
61	KONTROL	S.E.	E	41	22	23	87	140	65	8,16	18,28	3,551	1/4
62	KONTROL	T.H.	E	59	23	61	100	210	94	6,8	15,8	3,927	1/4
63	KONTROL	C.B.	E	60	21	37	55	175	73	5,4	22,02	3,802	1/4
64	KONTROL	Ş.Ö.	E	60	24	32	98	153	120	8,5	18,44	3,927	1/4
65	KONTROL	Z.T.	K	36	21	27	74	195	84	9,6	11,46	0,001	1/4
66	KONTROL	A.K.	K	40	24	34	72	163	72	3	10,82	0,001	1/4
67	KONTROL	H.D.	E	45	25	29	131	130	56	0,8	60,25	0,001	1/4
68	KONTROL	A.F.K.	E	56	24	46	120	210	109	0,97	22,15	0,001	1/4
69	KONTROL	E.S.	K	48	24	37	85	190	175	3,3	18,43	0,001	1/4

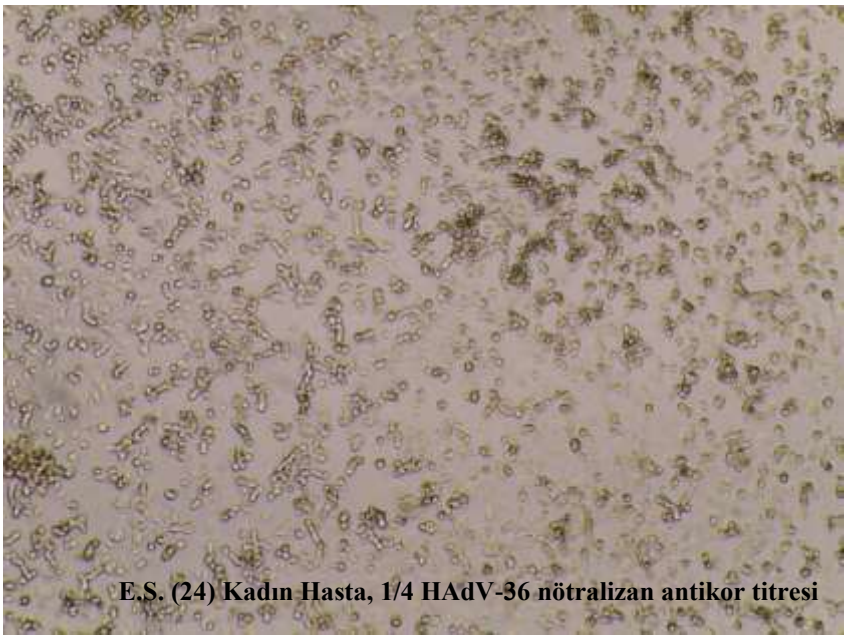
No	Çalışma Grubu	Ad-Soyad	Cinsiyet	Yaş	BMI	HDL	LDL	TC	TG	Leptin	Adiponektin	IL-6	HAdv-36 nAb
70	KONTROL	B.K.	E	46	23	64	82	154	103	3,4	16,45	0,001	1/4
71	KONTROL	Ö.K.	E	27	21.6	39	41	98	90	0.70	9.22	5.67	1/4
72	KONTROL	H.Y.	K	70	23.1	38	88	141	73	0.65	25.49	5.30	1/4
73	KONTROL	Z.P.	E	67	20.4	46	112	169	56	0.20	15.69	4.62	1/4
74	KONTROL	A.C.	K	47	24.6	37	88	132	66	2.84	14.09	3.55	1/4
75	KONTROL	N.E.	E	77	24	45	121	180	71	1.62	40.55	3.93	1/4
76	KONTROL	N.G.	K	40	22.4	66	101	183	80	2.16	22.15	3.80	1/4
77	KONTROL	G.A.	K	49	20.8	29	143	216	119	0.34	12.43	4.49	1/4
78	KONTROL	M.K.	K	55	24	23	93	128	59	0.97	61.65	6.62	1/4
79	KONTROL	O.Y.	E	21	21	71	75	160	69	0.35	8.72	0.001	1/4
80	KONTROL	F.D.	E	59	24	50	136	207	103	0.81	18.68	4.88	1/4
81	KONTROL	E.C.	K	61	23.4	62	132	217	115	6.99	30.18	4.24	1/4

BMI; Body Mass Index değeri, **HDL;** High Density Lipid, **LDL;** Low Density Lipid**, TC:** Total Kolesterol **TG;** Trigliserid, **HAdV-36 nAb;** Human Adenovirus 36 Nötralizan Antikor

Çalışma grubunun DM+NAFLD alt grubunda bir kadın hastanın pozitif SNT sonucunun hücre görüntüsü Şekil 4-1'de görülmektedir. Yine çalışma grubunun OBEZ+NAFLD alt grubunda bir kadın hastanın negatif SNT sonucunun hücre görüntüsü Şekil 4-2'de gösterilmiştir.

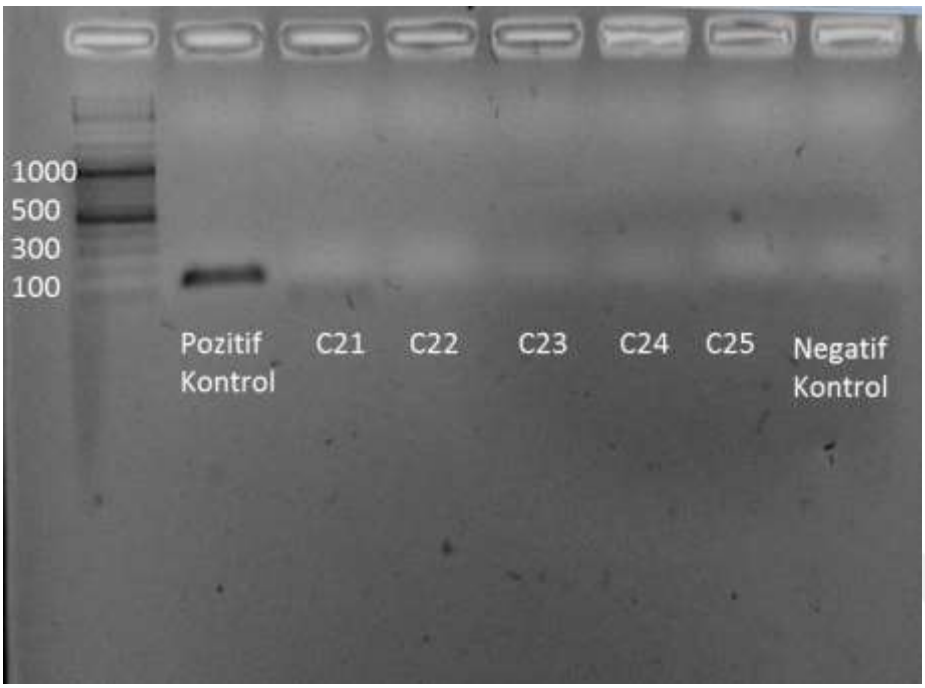


Şekil 4-1 Çalışma grubu olgularından HAdV36 nötralizan antikor pozitif hasta örneğinin hücre görüntüsü (A549 hücrelerinin 40x büyütmede mikroskop (EVOS) görünümü)



Şekil 4-2 Çalışma grubu olgularından HAdV36 nötralizan antikor negatif hasta örneğinin hücre görüntüsü (A549 hücrelerindeki sitopatik etki varlığının 40x büyütmede mikroskop (EVOS) görünümü)

Çalışma grubunda yer alan ve Obez+NAFLD profiline sahip, opere grup olgularından alınan karaciğer yağ dokusu örneklerinin hiçbirinde HAdV-36 DNA'sı saptanamadı. Bu gruptaserum nötralizasyon testi ile HAdV-36 nötralizan antikor varlığı yalnızca bir (1) olguda saptanırken, bu olgunun yağ dokusu örneğinde viral DNA varlığı gösterilemedi. Serum nötralizasyon testinde pozitif saptanan olgunun (serum kodu: C23) Nested-PCR sonrası jel elektroforez görüntüsü Şekil 4-3'de gösterilmiştir.



Şekil 4-3 Opere grup olgularının Nested-PCR sonrası jel elektroforez görüntüsü

Çalışma grubundan 106 ve kontrol grubundan 81 olgunun mikro-nötralizasyon yöntemiyle HAdV-36 nötralizan antikor varlığı incelendiğinde; çalışma grubundaki 10 olguda HAdV-36 nötralizan antikoru saptanırken, kontrol grubunda iki (2) olguda HAdV-36 nötralizan antikoru saptandı (Tablo 4-4). Bir başka ifadeyle, çalışma grubunda yer alan non-opere grupta; DM+NAFLD olgularında üç (3), OBEZ+NAFLD olgularında dört (4) ve NAFLD olgularında iki (2) HAdV-36 nötralizan antikoru saptanırken, opere grupta bir (1) olguda HAdV-36 nötralizan antikoru saptandı. Çalışma ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken, OR değeri 4.115 olarak saptanmıştır ($p=0.05$) (Tablo 4-4).

Tablo 4-4 HAdV-36 nötralizan antikor pozitifliğinin çalışma ve kontrol grubu olgularında karşılaştırılması

HAdV-36 Nötralizan Antikor Varlığı	**ÇALIŞMA GRUBU n:106**	**KONTROL GRUBU n:81**	**OR**	**%95 CI (min-max)**	**p**
Pozitif (%)	10 (83,3)	2 (16,7)	4,115	1,141-2,023	0,048
Negatif (%)	96 (54,9)	79 (45,1)			
Toplam	106 (56,7)	81 (43,3)			

OR; Odds Ratio, **CI;** Confidence Interval

HAdV-36 nötralizan antikor pozitifliliğinin dağılımı çalışma ve kontrol grubu olgularında cinsiyet yönünden değerlendirildiğinde, çalışma grubunda kadın olgularda seropozitiflilik yönünden daha fazla olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4-5).

Tablo 4-5 Çalışma ve kontrol grubu olgularında HAdV-36 nötralizan antikor pozitifliliğinin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	**ÇALIŞMA GRUBU n:106**	**KONTROL GRUBU n:81**	**p**
KADIN	**7**	**1**	**0.091**
ERKEK	**3**	**1**	**0.349**

Çalışma ve kontrol grubu olgularında HAdV-36 nötralizan antikor pozitiflik dağılımı yaş grupları açısından değerlendirildiğinde, gruplararasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05) (Tablo 4-6).

Tablo 4-6 Çalışma ve kontrol gruplarındaki HAdV-36 nötralizan antikor pozitif olguların yaş gruplarına göre dağılımları

YAŞ GRUPLARI	ÇALIŞMA GRUBU n:106	KONTROL GRUBU n:81	p
18-35	-	-	0,229
36-50	4		
51-65	6	1	
+65	-	1	

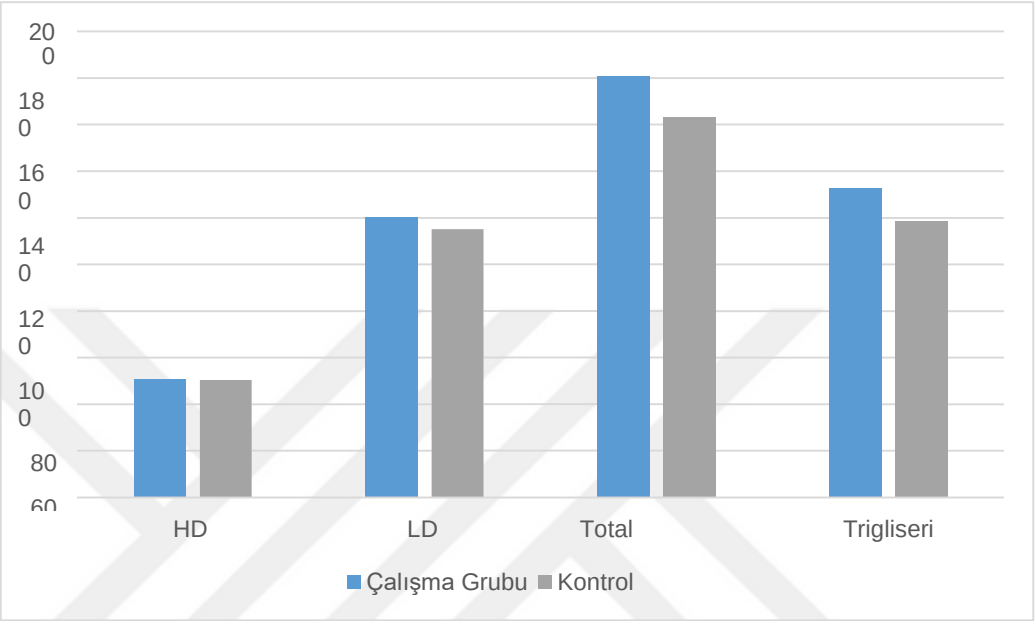
Çalışma ve kontrol grubu olguları serum HDL, LDL, total kolesterol, trigliserid leptin, adiponektin ve IL-6 düzeyleri yönünden incelendiğinde; gruplar arasında total kolesterol, trigliserid, leptin, adiponektin ve IL-6 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir (p=0.05). Buna karşın; HDL ve LDL düzeyi gruplar arasında anlamlı bir fark göstermemiştir (p>0.05) (Tablo 4-7).

Tablo 4-7 Çalışma ve kontrol grubunda adipokin ve bazı biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması

	ÇALIŞMA GRUBU (n: 106)		KONTROL GRUBU (n:81)		p
	Mean ± SD	Median (IQR;%25-75)	Mean ± SD	Median (IQR;%25-75)	
BMI	34,34 (0,582)	33,8 (30,07-39,23)	22,67 (0,204)	22,60 (21,28-24)	**0,000**
HDL	51,96 (1,497)	51 (40,75-62)	50,42 (1,833)	48 (37,5-62)	0,399
LDL	123,67 (3,184)	120,5 (100,75-140)	115,11 (3,791)	114 (92,5-135,5)	0,098
TOTAL KOLESTROL	182,37 (3,772)	181 (158-204)	163,47 (5,576)	169 (134-207)	**0,038**
TRİGLİSERİD	158,48 (9,877)	133 (86,75-195,75)	118,41 (6,220)	103 (73-163)	**0,005**
LEPTİN	9,82 (0,761)	6,46 (4,2-13,51)	4,59 (0,609)	2,68 (1,34-6,29)	**0,000**
ADİPONEKTİN	21,56 (0,788)	21,06 (16,43-27,28)	21,18 (1,606)	18,28 (12,30-25,13)	**0,038**
IL-6	45,60 (11,699)	11,61 (0,001-27,88)	5,38 (0,669)	4,24 (2,53-6,19)	**0,000**

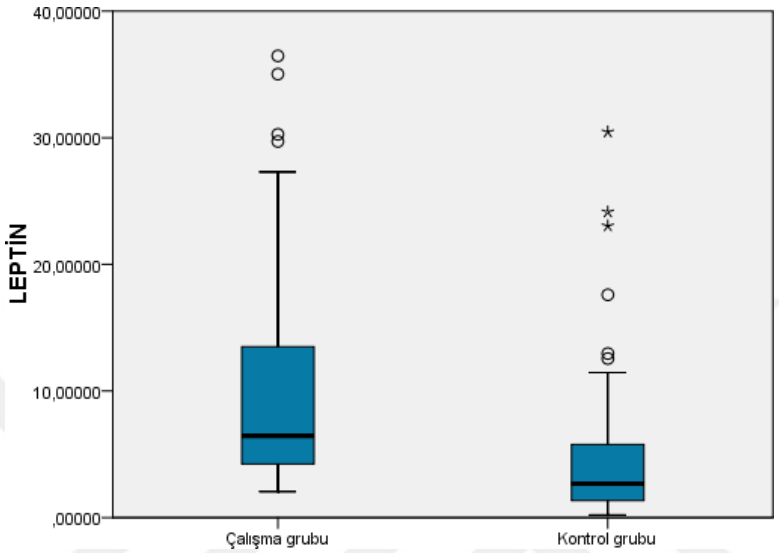
BMI; Body Mass Index, **HDL;** High Density Lipoprotein, **LDL;** Low Density Lipoprotein

Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum lipidlerinin medyan değeri yönünden karşılaştırıldığı grafik şekil 4-4'de gösterilmiştir.

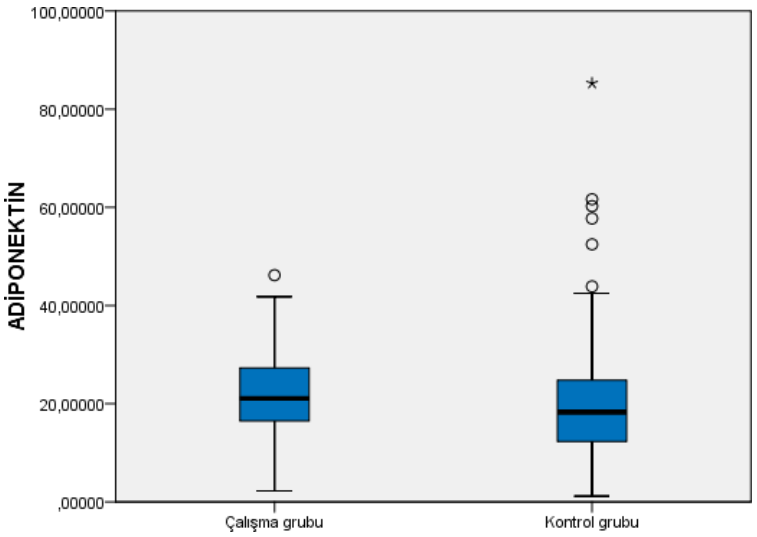


Şekil 4-4 Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum lipidlerinin karşılaştırılması

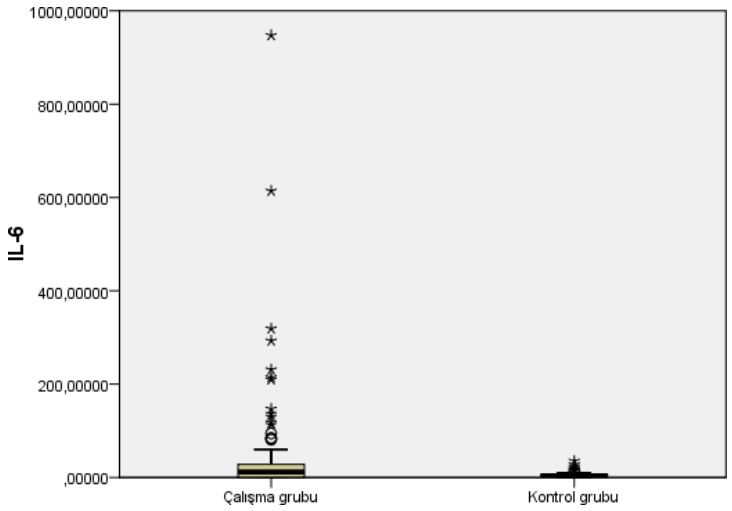
Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum leptin, adiponektin ve IL-6 medyan düzeylerinin Whiskey box ile karşılaştırılması sırasıyla Şekil 4-5, Şekil 4-6 ve Şekil 4-7'de gösterilmiştir.



Şekil 4-5 Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum leptin medyan düzeyinin karşılaştırılması



Şekil 4-6 Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum adiponektin medyan düzeyinin karşılaştırılması



Şekil 4-7 Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında serum IL-6 medyan düzeyinin karşılaştırılması

Çalışma grupları kendi arasında ve kontrol grubuyla birlikte değerlendirildiğinde, sadece total kolesterol düzeyleri normal dağılım göstermiş olup, çalışma alt gruplarında total kolesterol düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksektir (p=0.05) (Tablo 4-8).

Tablo 4-8 Çalışma grupları ile kontrol grubu arasında total kolesterol düzeylerinin karşılaştırılması

BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	GRUP KARŞILAŞTIRMASI (ÇGx KG)		Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% CI	
						Min	Max
TOTAL KOLESTEROL	DM+NAFLD	KONTROL	-18,899	6,732	0,006	-32,203	-5,595
	OBEZ+NAFLD						
	NAFLD						
	OPERE						

Çalışma grubu içerisinde HAdV-36 nötralizan antikoru pozitif olguların ortalama serum LDL ve total kolesterol düzeyleri, HAdV-36 nötralizan antikoru negatif olgulara göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (p=0.05). Çalışma grubunda HAdV-36 nötralizan antikoru pozitif olan olgular ile negatif olan olgular arasında ortalama serum HDL, adiponektin ve IL-6 düzeylerinde istatistiksel fark saptanmamıştır (p>0.05). (Tablo 4-9).

Tablo 4-9 Çalışma grubundaki HAdV-36 nötralizan antikor pozitif ve negatif olguların demografik veriler, biyokimyasal parametreler ve adipokinler yönünden karşılaştırılması

	HAdV-36 Nötralizan Antikor Varlığı		
Parametreler	**HAdV-36 (+)** (n=10)	**HAdV-36 (-)** (n=96)	***p***
BMI	33,72±2,079	34,40±0,608	0,669
LDL	141±8,886	121,86±3,351	***0,043***
HDL	48,40±4,920	52,33±1,575	0,506
Total Kolesterol	207±10,095	179,8±3,952	***0,026***
Trigliserid	171,40±22,961	157,14±10,661	0,325
Leptin	9,80±2,852	9,82±0,791	0,833
Adiponektin	20,73±1,646	21,64±0,854	0,935
IL-6	12,50±4,769	49,04±12,865	0,526

HAdV-36; Adenovirus 36, **BMI;** Body Mass Index, **LDL;** Low Density Lipoprotein, **HDL;** High Density Lipoprotein.

Çalışmamızda NAFLD olgularında; HAdV-36 ile cinsiyet ve yaş demografik, HDL, LDL, total kolesterol, trigliserit, leptin, adiponektin ve IL-6 gibi biyokimyasal değişkenlerin birlikte binary lojistik regresyon analizinde değerlendirilmesi yapıldığında; HAdV-36 nötralizan antikor varlığı, HDL, LDL ve adiponektin açısından anlamlı bir fark ve OR saptanmamıştır. Buna karşın, total kolesterol, trigliserit, leptin ve IL-6 yönünden anlamlı fark belirlenmiştir (Sırasıyla; p=0,34, OR=1,011; p=0,36, OR=1.007; p=0,001, OR=1,157; p=0,007, OR=1,056) (Tablo 4-10).

Tablo 4-10 Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında risk faktörü olabilecek değişkenlerin binary lojistik regresyon analizi

Değişkenler	B	S.E.	p	OR	%95 CI	
					Lower	Upper
CİNSİYET	0,189	0,206	,368	,690	,308	1,546
YAŞ	0,002	0,013	,855	,998	,973	1,023
HDL	-0,010	0,012	,428	1,010	,986	1,034
LDL	0,006	0,007	,418	,994	,980	1,009
TOTAL KOLESTREROL	-0,011	0,005	**,034**	1,011	1,001	1,021
TRİGLİSERİT	-0,007	0,003	**,036**	1,007	1,000	1,014
LEPTİN	-0,146	0,037	**,000**	1,157	1,076	1,245
ADİPONEKTİN	0,000	0,017	,978	1,000	,968	1,034
IL-6	-0,055	0,020	**,007**	1,056	1,015	1,100
HADV-36 nAb	10,602	6,393	,115	4,031	,713	22,795
Constant	1,190	2,030	,014	,042		

B; Beta regression coefficient, **SE;** Standart Error, **OR;** Odds Ratio, **CI;** Confidence Interval, **HAdV-36 nAb;** Human Adenovirus 36 nötralizan antikor, **TG;** Trigliserid, **HDL;** High Density Lipoprotein, **LDL;** Low Density Lipoprotein, **TC;** Total Kolesterol.

5. TARTIŞMA

Vücutta bulunan adipositlerin hiperplazi ve hipertrofi değişimi ile karakterize obezitede önceleri enerji fazlasının lipid olarak depolandığı basit bir doku olarak görülen adipoz doku, günümüzde endokrin görevi gören bir organ olarak tanımlanmaktadır (170). Adipoz dokudaki olgun adipositlerden çeşitli enzimler, büyüme faktörleri, proenflamatuvar ve anti-enflamatuvar sitokinler, kemokinler salgılanmaktadır. Salgılanan proenflamatuar sitokinler ve kemokinler enflamasyon, alternatif komplement sistem aktivasyonu ve akut-faz yanıtlarının düzenlenmesine katkı sağlamaktadır (171). Yağ asidi oksidasyonu, de-novo lipogenez, glukoneogenez, glukoz alımı, insülin sinyalizasyonu, vasküler homeostazis, anjiojenezis ve karaciğer, iskelet kası ve beyin gibi metabolik olarak aktif dokularda enerji tüketimi gibi çeşitli metabolik süreçlerde etkin rol oynayan adipokinler (bir başka ifadeyle; adipositokinler) adipoz dokudan salgılanmakta olup, obezite ve obeziteyle ilişkili hastalıklarda leptin, adiponektin ve IL-6 etkili bir rol oynamaktadır (172). Merkezi sinir sistemi yoluyla iştahı bastırmada rolü olan leptinin, fazla kilo ve obezite durumunda serumdaki düzeyinde artış görülmektedir (173). Buna karşın adiponektin, leptinin tam aksine, fazla kilo ve obezite durumunda azalan serum düzeyi ile birlikte insülin direncinin gelişmesine katkı sunmaktadır (174). Ayrıca; yine adipoz dokudan salınan bir proenflamatuvar sitokin olan IL-6 ise, leptinle benzer şekilde artan yağlanma ile dolaşımdaki konsantrasyonu artmakla olup, insülin direnci ile yüksek oranda ilişkilidir (175).

Obezitenin enfektif etiyolojisi, yeni bir disiplin olan enfektobezitenin alanıdır. Bu hipotez, obezitenin oluşumunda, mikroorganizmaların neden olduğu sistemik enflamasyonun belirleyici bir rol oynadığını varsaymaktadır. Sistemik enflamasyonun obezite ile ilişkili olduğu çok iyi bilinmesine rağmen, sistemik enflamasyonun obezitenin bir nedeni mi yoksa bir sonucu mu olduğu halen tartışılmaktadır. Fakat bu enflamatuvar durumdan hangi faktör sorumlu olabilir? Bunun viral bir enfeksiyon olabileceğini düşündüren birçok kanıt bildirilmiştir. Altı virusun hayvanlarda obeziteye yol açtığı bilinmektedir. Köpek distemper virusu, farelerde obeziteye neden olduğu bildirilen ilk virus olup, ardından bir kuş retrovirusu olan Rous-ilişkili virus-7'nin tavuklarda hiperlipidemiye ve obeziteye yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca, Borna hastalığı virusunun da sıçanlarda obeziteyi neden olabileceği bildirilmiştir. Küçük scrapie viruslarının da farelerde ve hamsterlarda obeziteye neden olabileceği gösterilmiştir. Son olarak, bir kuş

virüsü adenovirusu olan SMAM-1 ve bir insan adenovirusu olan adenovirus-36 ((HAdV-36)'nın hayvanlarda ve insanlarda obezite oluşumu ile ilişkili olabileceği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (8). Her ne kadar genetik, metabolizma, sosyal, kültürel ve çevresel faktörler arasındaki multifaktöriyel etkileşimin obeziteye neden olduğu bilinse de son 20 yıl içerisinde yapılan araştırmalarda Adenovirus tip 36 (HAdV-36)'nın obezitenin gelişmesinde etkili bir rolünün olabileceği bildirilmiştir. 2000 yılında, Dhurandhar ve ark. (176) tarafından yapılan çalışmada, bir insan adenovirusunun hayvan modellerinde obeziteye neden olabildiği ilk kez gösterilmiştir. Tavuk ve fareler üzerinde yapılan bu araştırmada, HAdV-36 ile aşılanan hayvanlarda artan yağ dokusu ve paradoksal olarak düşük serum kolesterol ve trigliserit seviyeleri bildirilmiştir (176). Benzer şekilde, rhesus maymunları ve marmosetlerde de HAdV-36 enfeksiyonu artan yağ dokusu ve azalan kolesterol ve trigliserit seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir (10). İnsanlarda HAdV-36 ve obezite ilişkisi ilk kez Atkinson ve ark. (11) tarafından bildirilmiş olup, obez bireylerde HAdV-36 pozitifliğinin normal kilolulara kıyasla üç kat fazla (%30'a karşın %10) olduğu gösterilmiştir. HAdV-36 ve obezite arasındaki ilişki hem erişkin hem de adelosan yaş gruplarında yapılan birçok çalışmada ortaya konulmuştur. Fernandes ve ark. (177)'nın, sistematik derleme verilerine göre; erişkinlerde HAdV-36 prevalansı %22,9 (%5,5-49.8), adolesan ve çocuklarda ise %28,9 (%7,5-73,9) olduğu bildirilmiştir. HAdV-36 prevalansı erişkin obez bireylerde %5,7-64,7 aralığında iken, normal kilolularda %0-51,4 aralığında olduğu gösterilmiştir (178-181). Çocuk ve adelosan yaş grubunda ise, HADV-36 prevalansı obezlerde %12,7-63,6 aralığında, normal kilolularda %1,6-51,6 aralığında olduğu bildirilmiştir (15, 182).

Yapılan birçok araştırma HAdV-36 ve obezite arasındaki ilişkiyi gösterirken, HAdV-36'nın obezite gelişimdeki patofizyolojisi henüz net değildir. HAdV-36'nın dört farklı yolak ile etki ederek obeziteye neden olduğu ileri sürülmektedir (183). Bunlardan ilki kök hücrelerin adipozitlere farklılaşmasını teşvik eden peroksizom proliferatör ile aktive olan reseptör gama (PPAR-gama) sinyal yolunun aktivasyonudur (184). FoxO1 ve PPARγ adipositlerin farklılaşmasını etkileyen önemli transkripsiyon faktörleri olarak bilinmektedir. Normal koşullarda FoxO1, PPARy promoterine bağlanarak PPARy ekspresyonunu inhibe etmekte olup, adipositlerin farklılaşmasını önlemektedir (185). HAdV-36'nın E4orf1 gen aracılığıyla sentezlenen E4orf1 proteinin C-terminal bölgesi, kompleks oluşturmaya yardımcı PDZ domain bağlama motifine (PBM) sahiptir (186). Oluşan bu kompleksin PI3K / Akt sinyal yolunu etkinleştirerek, birbiriyle yakın ilişkili

olan FoxO1 ve PPARγ sinyal yolaklarını düzenlediği ve pre-adipositlerin olgun adipositlere farklılaşmasıyla hiperplazi ve hipertrofiye neden olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte; belirtilen sinyal yolaklarının glikoz ve lipid metabolizmasındaki değişikliklere sebep olduğu ileri sürülmektedir (187). Bir diğer etki; glikoz transporter 1 (GLUT1) ve glikoz transporter 4 (GLUT4) etkisiyle glikoz alımının artması olarak görülmektedir (15, 188). HAdV-36 E4orf1 geninin, insülinden bağımsız olarak hücrelerin daha fazla glikoz alımını teşvik eden bir GLUT4 aktivatörü görevi gördüğü gösterilmiştir. Azalan insülin duyarlılığına eklenen bu etki, glikoz seviyelerinde azalmaya yol açsa da hücre içi enerji birikiminin artmasıyla aşırı kiloya yol açabilmektedir (189, 190). Bununla birlikte; HAdV-36' nın glikozun yağ asitlerine farklılaşmasını sağladığı ve yağ asitlerin adipositlere transportunu sağladığı düşünülmektedir (183).

Metabolik sendromun yaygınlaşmasıyla birlikte, dünya çapında büyüyen ve bir halk sağlığı sorunu haline gelen NAFLD'ın patofizyolojisinde rolü olan konvansiyonel faktörler şöyle sıralanmaktadır. spesifik genetik polimorfizmler ve epigenetik modifikasyonlar, beslenme tarzı (aşırı lipid ve fruktoz alımı) ve fiziksel aktivite eksikliği, obezite ve insülin direnci, adipokinlerin düzensizliği, lipotoksisite, oksidatif stres, mikrobiyota disbiyozisi ve endokrin sistem disfonksiyonu gibi çeşitli faktörler rol oynamaktadır (191, 192). Bu faktörlerin her biri birbiri ile ilişkili olmakla birlikte, hepatositlerde lipid birikimiyle kağaciğerde basit yağlanmanın başlaması NAFLD patogenezinde dinamik süreci başlatan ilk adımdır (4). Bu kapsamda obezitenin; karaciğerde basit yağlanmadan NASH'a kadar ilerleyen süreçte etkili rol oynadığı düşünülmektedir. Obez bireylerde NAFLD prevalansının %51 oranında olması da bu düşünceyi desteklemektedir (141).

Sağlıklı bireylerde adipositlerden salgılanan sitokin, kemokin ve adipokinler, adipoz dokuda homeostaziyi oluşturur. Ancak HAdV-36'nın etkisiyle gelişen obezite sonucunda, akut-faz proteinleri ile enflamatuar sitokinlerin dolaşımdaki düzeyleri artmakta ve kronik enflamasyon ile karakterize olmasıyla obezitenin devamlılığını sağlamaktadır (171). HAdV-36'nın etkisiyle adipoz dokudan kaynaklanan bu kronik enflamasyon insülin direnci, metabolik sendrom, tip 2 diyabet, gestasyonel diyabet, NAFLD ve kanser gibi hastalıkların patofizyolojisine katkı sunmaktadır. Obezite ve NAFLD her ne kadar iki farklı hastalık olarak görülse de patofizyolojik olarak birbiriyle oldukça ilişkilidir. Obezitede sayıca ve hacimce artan adipoz doku sonucunda,

dolaşımdaki leptin ve serbest yağ asitleri artmakta ve adiponektin azalmaktadır. Bu durum intrahepatik yağ birikimi ve *de novo* lipogeneze neden olmaktadır. Artan adipoz dokuda, çeşitli sitokin ve interlökinler infiltre olmaktadır. Gelişen bu enflamatuar yanıtın etkisiyle, karaciğerde kronik intrahepatik enflamatuvar süreç de başlamaktadır. Lipotoksisite ve glukotoksisite gelişimi ile oluşan mitokondriyal hasar, endoplazmik retikulum stresi ve oksidatif stres hepatik steatozdan NASH ve siroza kadar ilerleyen klinik tabloyu oluşturmaktadır (193).

Obezitenin olağandışı bir nedensellik/tetikleyici faktörü olarak ileri sürülebilen ve son zamanlarda çok ilgi çeken ve bilimsel araştırmaları giderek artan enfektobezitenin NAFLD gibi kronik karaciğer hastalığındaki rolü de tartışılmaktadır. NAFLD-HAdV36 enfektobezite olası ilişki fenomeninin merkezinde rol oynayan faktörler olarak başta HAdV-36 olmak üzere Influenza a, HIV, CMV gibi kronik persistan viral enfeksiyonların etkisi altında konak immün yanıt ile metabolik sistemin adaptasyonunun yer alabildiği ileri sürülmektedir (194).

Çalışmamızda HAdV-36 nötralizan antikor varlığı incelendiğinde; çalışma grubundaki 10/106 olguda ve sağlıklı kontrol grubunda iki (2/81) olguda HAdV-36 nötralizan antikoru saptanmış olup, aralarında bivaryant analize göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p=0.05). Yapılan bivaryant analizde OR değeri 4,115 saptanmış olup, bu sonuç HAdV-36 ile enfekte olmanın NAFLD gelişimi bakımından yaklaşık 4 kat ile risk faktörü olduğunu göstermiştir. Buna karşın; NAFLD gelişiminde önemli bir role sahip olabileceğini düşündüğümüz HAdV-36'yı diğer biyokimyasal ve adipokinlerle birlikte binary lojistik regresyon analizinde değerlendirdiğimizde; HAdV-36 nötralizan antikor varlığı bakımdan anlamlı bir fark saptanmayıp, NAFLD için anlamlı bir risk faktörü olarak belirlenememiştir (p>0.05). Çalışma ve kontrol grubu olguları arasında biyokimyasal parametreler ile adipokinler bivaryant analizde değerlendirildiğinde; total kolesterol, trigliserid, leptin, adiponektin ve IL-6 düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlılık saptanmasına karşın (p=0.05); HDL ve LDL düzeyi gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (p>0.05). Buna karşın; çalışmamızda NAFLD gelişiminde bir diğer risk faktörü olarak değerlendirdiğimiz biyokimyasal parametreler ve adipokinlerin verileriyle binary lojistik regresyon analizi yapıldığında ise; ortalama total kolesterol, trigliserit, leptin ve IL-6 düzeyleri, anlamlı olarak bağımsız risk faktörleri olarak belirlenmiştir, sırasıyla OR: 1.011, OR= 1.007,

OR= 1.157, OR= 1.056 (p=0.05). Çalışma grubundaki verilerimiz bir başka yönüyle; HAdV-36 nötralizan antikor varlığına ve yokluğuna göre adipokinler ve biyokimyasal parametreler bakımından değerlendirildiğinde; HAdV-36 nötralizan antikoru pozitif olguların serum LDL ve total kolesterol düzeyleri, HAdV-36 nötralizan antikoru negatif olgulara göre anlamlı olarak yüksek saptanırken (p=0.05), ortalama serum HDL, adiponektin ve IL-6 düzeyleri için istatistiksel fark saptanmamıştır (p>0.05). NAFLD'lı opere olguların tümünün hiçbirinde HAdV-36 DNA'sı saptanamamıştır.

HAdV36-NAFLD ilişkisine dönük klinik çalışma erişkinlerde ilk kez Trovato ve ark.(17) tarafından 2010 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada 65 NAFLD ve 114 fazla kilolu non-NAFLD özelliğe sahip kontrol grubu ile serum nötralizasyon yöntemiyle yapılan çalışmada HAdV-36 nötralizan antikor seroprevalansı NAFLD grubunda %32, kontrol grubunda %47 olarak saptanmıştır. Araştırmacılar, çalışma grubundaki toplam 179 olgu değerlendirdiklerinde HAdV-36 nötralizan antikor seroprevalansını %41 olarak saptamış olup, erişkin yaş grubunda bildirilen prevalanslarla kıyaslandığında bu oranın oldukça yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, NAFLD patogenezinde önemli bir role sahip olan insülin düzeyi ve insülin direncini de NAFLD hastalarında, NAFLD olmayan hastalara kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Ancak, HAdV-36 nötralizan antikoru açısından değerlendirildiğinde bizim çalışmamızın sonuçlarından farklı olarak gruplar arasında anlamlı bir fark göstermememiştir. Bununla birlikte, NAFLD hastalarında HADV-36 nötralizan antikor pozitif olgularda, HADV-36 nötralizan antikor negatif olgulara kıyasla anlamlı olarak daha yüksek BMI saptanmış olup, serum HDL, LDL, total kolesterol ve trigliserit düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmadığını belirtmişlerdir. Her ne kadar Trovato ve ark.'nın çalışmasında leptin, adiponektin ve IL-6 gibi adipokinler değerlendirilmiş olmasa da; bizim çalışmamızda bu araştırma sonuçlarından farklı olarak, çalışma ve kontrol grupları arasında, kolesterol, trigliserid, leptin, adiponektin ve IL-6 düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmuş olup (p=0.05), bu araştırmanın sonuçlarına benzer şekilde; HDL ve LDL düzeyi gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (p>0.05). Bu çalışmanın sonucu olarak araştırmacılar, HAdV-36 ve obezite arasındaki doğrusal ilişkinin aksine, HAdV-36 enfeksiyonunun NAFLD'a karşı koruyucu bir etkisinin olabileceğini ve HAdV-36 enfeksiyonunun karaciğer fonksiyonunun iyileşmesine katkı sağlayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bizim binary lojistik regresyon analizinde risk faktörü olarak bulamadığımız ancak bivaryant analizde anlamlı bulduğumuz HAdV-36 nötralizan

antikor varlığı, Trovato ve ark.(17)'nın bulgularının aksine HAdV-36'nın NAFLD patogenezinde direkt olarak olmasa bile indirekt yollarla obeziteye neden olarak NAFLD patogenezine katkıda bulunabileceğini düşünmemize neden olmuştur. Ancak, NAFLD-HAdV36 ilişkisine dönük klinik çalışma olarak, Trovato'dan sonra bizim çalışmamız ikinci çalışma olmakla birlikte, elde edilen veriler yetersiz ve tartışmalıdır. Bu hususla ilgili yeni, geniş serili yapılacak çalışmalarla bu ilişkiye dönük bir kanaatin oluşabileceği ve daha da netliğe kavuşacağını düşünmekteyiz.

HAdV-36 ile obezite ilişkinin bulunduğunu öne süren birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birisinde, intranazal yolla HAdV-36 ile enfekte olan sıçanlarda artan yağ dokusuyla birlikte, enfeksiyondan dört gün sonra yağ dokusu başta olmak üzere karaciğer, böbrek, dalak ve beyinde HAdV-36 DNA varlığı gösterilmiştir (169). Benzer şekilde, HAdV-36 ile enfekte edilen marmosetlerin kalp, karaciğer, böbrek, dalak, beyin ve yağ dokusunda HAdV-36 DNA varlığı gösterilmesiyle, HAdV-36'nın çeşitli organlarda yayıldığı bildirilmiştir (10). Farelerde yapılan birbaşka çalışmada intranazal enjeksiyondan sonra sadece akciğerde, intraperitoneal enjeksiyondan sonra ise akciğer, karaciğer, pankreas ve epididimal yağ dokusunda HAdV-36 DNA'sın tespit edilmiştir (195). Krishnapuram ve ark. (196) tarafından HAdV-36 ile enfekte farelerde, ilk enfeksiyondan en az 12 hafta sonrasına kadar viral DNA'yı saptamakla birlikte, deney hayvanları arasında HAdV-36'nın horizontal yayılımı gösterilmiştir. Buna karşın bir başka çalışma, intranazal enjeksiyon yoluyla ilk enfeksiyondan 90 gün sonra viral DNA'nın tespit edilemediğini bildirilmiştir (195). İnsanlarda ise ilk kez 2010 yılında Salehian ve ark. (197) tarafından 62 yaşında bir erkek hastada HAdV-36 DNA'sı saptanmış olup, anormal yağ dokusu birikimlerinin HAdV-36 enfeksiyonundan kaynaklı olabileceği bildirilmiştir. Barrera-Alcocer ve ark.(198)'nın çalışmasında ise abdominal liposuction ve/veya lipektomi uygulama sırasında, 52 kadın hastadan alınan yağ dokusu örneklerinin 16'sında HAdV-36 DNA'sı saptanmıştır. Bu kişilerin 7'si normal kilolu, 9'u ise fazla kilolu ve/veya obez olmakla birlikte, HAdV-36 pozitif normal kilolu bireylerde daha yüksek LDL düzeyi saptanmıştır (198). Ponterio ve ark. (199) tarafından yapılan çalışmada ise 21 fazla kilolu ya da obez hastanın dördünde Nested-PCR yöntemiyle HAdV-36 DNA'sının varlığı bildirilmiştir. Ülkemizden ise ilk kez 2015 yılında Ergin ve ark. (14) tarafından yapılan bir çalışmada, plastik, rekonstrüktif ve estetik cerrahi bölümüne başvuran 49 hastadan alınan yağ dokusu örneklerinde HAdV-36 DNA'sı Nested-PCR yöntemiyle araştırılmış olup, hastaların hiçbirinde viral DNA

saptanamamıştır. Buna karşın, aynı çalışmada obez hastalarda HAdV-36 nötralizan antikor varlığı sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Bugüne kadar, insan yağ dokusunda HAdV36'nın varlığını tanımlayan oldukça az sayıda çalışma bulunmakla birlikte, inceleyebildiğimiz kadarıyla insanlarda karaciğer yağ dokusunda HAdV-36 DNA'sının araştırıldığı çalışma henüz bulunmamaktadır. Bu kapsamda, çalışmamızda hepatobiliyer cerrahiye herhangi bir nedenden dolayı maruz kalan 30 obez ve NAFLD olan hastaların karaciğer yağ dokusu örneklerinde Nested-PCR yöntemiyle HAdV-36 DNA varlığı araştırılmış olup, hiçbir hastada viral DNA saptanmamıştır. Hepatobiliyer cerrahiye maruz kalan bu 30 hastanın yalnızca birinde HAdV-36 nötralizan antikor varlığının saptanmasına karşın, aynı hastanın yağ dokusu örneğinde viral DNA tespit edilememiştir. Bu durumun, moleküler tespit yöntemindeki analitik duyarlılık yetersizliği ve HAdV-36 enfeksiyonun adipogenezis gelişim süreciyle ilişkili olarak rolü olan etkenin uygun bölgeden alınamamasına bağlı farklılıklarından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışma ve sağlıklı kontrol grubu olguları cinsiyet temelli değerlendirildiğinde, hem kadın hem erkek gruplar arasında HAdV-36 seropozitifliliği açısından anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p>0.05$). HAdV-36 seropozitifliğinin yaş gruplarına dönük karşılaştırılmasında da, gruplar arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p>0.05$). HAdV-36 enfeksiyonu cinsiyet farketmeksizin her yaş grubunda görülmekle birlikte, literatürde "NAFLD-HAdV36" ve "Obezite-HAdV36" ilişkisinde cinsiyet ve yaş gruplarının rolüne yönelik inceleyebildiğimiz kadarıyla herhangi bir veri bulunmamaktadır.

Son derece kompleks mekanizmalarla gelişen "non-alkolik yağlı karaciğer hastalığının (NAFLD)" meydana gelen enflamasyonun nedenleri halen araştırılmakta ve tartışılmaktadır. HAdV-36 enfeksiyonunun hayvanlarda adipogenezi (hiperplazi ve hipertrofi) arttırdığı ve insanlarda obezite ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, HAdV-36 enfeksiyonunun hayvanlarda ve insanlarda glisemik kontrolü sağladığı, akut ve kronik inflamasyona neden olarak yağ dokularında anjiyogeneze katkıda sağladığı gösterilmiştir. HAdV-36 tarafından kodlanan E4orf1 proteini ise, insülin sinyalleşme yolaklarında değişikliğe neden olmasının sonucunda artan glikoz alımından sorumlu tutulmaktadır. NAFLD obezite ile ilişkili bir hastalık olduğundan dolayı, son yıllarda enfeksiyon etkenlerinin artan yağ dokusuyla ilişkilendirilmesiyle

birlikte bu enfeksiyon etkenlerinin NAFLD'a katkısı da araştırılmaya başlanmıştır. Günümüzde HAdV36-NAFLD ilişkisini açıklanmaya yönelik sınırlı sayıda (yalnızca bir adet) çalışma olmakla birlikte, bu çalışmalarda HAdV-36 ile obezite arasındaki ilişkisi gösterilmekte ve HAdV-36'nın NAFLD'a karşı koruyucu bir rolü olduğu ileri sürülmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarla HAdV36-obezite arasındaki kuvvetli ilişki ve olası patogenez mekanizmaları açıklık kazanmasına karşın, HAdV-36'nın hangi mekanizmalarla NAFLD'a karşı koruduğu henüz tam olarak açıklanamamaktadır. Bununla birlikte, önceki paragraflarda gözden geçirilen veriler, NAFLD ve viral enfeksiyonlar arasında immun-aracılı enflamasyon yoluyla potansiyel bir bağlantının bulunabileceğini düşündürmektedir. Fakat bu senaryoda HAdV-36'nin rolü acaba nedir? NAFLD'li olgularda HAdV-36 seroprevalansını inceleyen sadece bir insan ve kısıtlı sayıda hayvan modelli çalışma bulunmaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan araştırmanın sonuçları, bizim sonuçlarımızın aksine, HAdV-36'nın NAFLD için bir risk faktörü olarak değerlendirilmesinden ziyade koruyucu olabileceği ileri sürülmüştür. Benzer şekilde, HAdV-36'nın sıçanlarda in-vivo açlık serum insülin seviyesini ve HOMA insülin duyarlılığını iyileştirdiği bildirilmiştir (16). Aynı araştırıcılar, deneysel olarak HAdV-36 ile enfekte olmuş farelerin serumlarında çeşitli sitokinlerin önemli ölçüde daha düşük olarak bulunduğunu da göstermişlerdir (169). Artam serum leptin düzeyleri, NAFLD'ın bir özelliği olarak hepatosit steatozun gelişmesine bağlı olarak artıyor gibi görünmektedir. Gelişmiş bir leptin salınımına, periferik dokuların leptinin etkisine doğru daha yüksek direnç gösterdiğini düşündürecak şekilde çözünür leptin reseptörü (sOB-R) konsantrasyonunda bir azalmanın eşlik edebileceği bildirilmiştir. NAFLD hastalarında görülen düşük sOB-R seviyelerinin, leptin artışına karşı koymayı amaçlayan bir geri bildirim mekanizmasının parçası olabileceği düşünülmektedir (200). Şimdiye kadar gözden geçirilen verilerin ışığında, HAdV-36'nın, hepatik steatozis/NAFLD oluşumunda bir rolü olabileceğini iddia eden ilgi çekici bir hipotez, HAdV-36'nın geri besleme mekanizması yoluyla leptin gen ekspresyonunu azaltarak, glukoz alımını arttırma suretiyle adipoz dokuda lipojenik ve proinflamatuar yolakları aktive etmek suretiyle insülin duyarlılığını arttırarak ve makrofaj kemoatraktan protein-1 (MCP-1)'in düzeyini arttırarak, kronik inflamasyona ve değiştirimiş lipid metabolizmasına yol açabileceği öne süren hipotezdir (201). HAdV-36, leptin üzerine etki ederek NAFLD üzerinde dolaylı olarak etki gösteriyor olsa da bu virüsler doğrudan karaciğer üzerine de etki yapabilirler. Bu perspektifte, karaciğer-barsak ekseni olarak

adlandırılan barsak ve karaciğer arasındaki sıkı bağlantının ışığında, insan adenoviruslarının kalıcılığı ve reaktivasyonu için intestinal lenfositler bir rezervuarı görevi görüyor olabilirler. İntestinal epitelinin, virusların yayılmadan önceki viral proliferasyonun ana bölgesi olduğu bilinmektedir (202). HAdV-36'nın "metabolik" etkilerinden potansiyel olarak sorumlu olan birkaç moleküler mekanizma tanımlanmıştır. HAdV-36, cAMP, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) ve p38 sinyal yollarının up-regülasyonuna, Wnt10b ekspresyonunun down- regülasyonuna ve CCAAT/arttırıcı bağlayıcı protein-beta ve "peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör (PPAR) gamma-2'nin" artan ekspresyonuna neden olarak sonuçta lipid birikimine neden olmaktadır. Paradoksal olarak, HAdV-36 yağ asidi ve trigliserit sentezini de desteklemekle birlikte, PI3K/Akt/FoxO1/PPAR-gamma sinyal yolağını etkileyerek insülin duyarlılığını da artırmaktadır (187). Wistar sıçanlarında HAdV-36 enfeksiyonunun, TNF-α, IL-6 ve MCP-1 de dahil olmak üzere enflamasyon biyobelirteçlerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı, ancak glisemik ve lipid kontrolü üzerinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (169). Bu etkiler, E4ORF1'e bağlı olabilir, çünkü E4ORF1'nin, yüksek yağlı diyete maruz kalan genç farelerde hiperinsülinemiyi azalttığı, glikoz klirensini düzelttiği ve hepatik steatozdan koruduğu gösterilmiştir (203). Hücresel metabolizmanın arayüzünde virüs ve konak arasında meydana gelen karmaşık ağ iletişiminde, IFN ile uyarılan genlere karşı bir odaklanma söz konusudur. Bu genler; kolesterol-25- hidroksilaz, spermidin/spermin asetiltransferaz 1, indoleamin-2,3-dioksijenaz ve steril bir alfa motifinin yanı sıra histidin/aspartik asit içeren protein 1'dir. Obezitenin çeşitli etiyolojileri olmasına rağmen, gözden kaçan bir olasılık obezitenin enfeksiyöz orijinli olabileceğidir. Buna göre, obezite ile ilişkili NAFLD'nin viral bir hastalığın sonucu olarak ortaya çıkma olasılığının dolaylı bir kanıtı acaba var mıdır? Artan kanıtlar, NAFLD oluşumunda kilit oyuncu olarak Tip I IFN'ları işaret etmektedir. Tip I IFN'ların hastalık gelişimindeki önemli rolü, hem genetik kanıtlar hem de hayvan çalışmaları ile desteklenmektedir (204). Viral enfeksiyonda rol oynayan önemli bir sitokin olan IFNnin serum konsantrasyonları, komorbiditeleri düşük prevalanslı olan ancak hepatik steatozlu obez deneklerde artmıştır. IFN-2β tedavisi, farelerde, diyete bağlı obeziteye karşı koruyucu olmakta ve NAFLD'ı hafifletmektedir. Ayrıca, hem IFN-1'in aşırı ekspresyonu hem de IFN-2 β'nın yüksek yağlı diyete bağlı obez fare modellerinde uygulanması, farelerde kilo alımını ve adipozitlere immun hücre infiltrasyonunu önlemekte adipoz doku iltihabını azaltmakta ve adipozitlerin

genişlemesine engel olmaktadır. Ayrıca, karaciğerde obezite ile indükte edilmiş tip I IFN ekspresyonu/yanıtlarının, metabolik sendromu oluşturmak üzere intrahepatik CD8+ T hücrelerinin birikimini ve aktivasyonunu da yönlendirdiği bildirilmiştir. Bir antiviral ajan olan IFN tau ile yapılan tedavi sonucunda, makrofaj aktivitesi kontrol edilerek obezite ile ilişkili sistemik insülin direncini ve doku inflamasyonunu önemli ölçüde azaltabilir. Ayrıca, IFN tau'nun oral yoldan verilmesi, diyabetik ve şişman sıçanlarda enerji substratlarının oksidasyonunu arttırmakta ve yağlanmayı azaltmaktadır. Obezite veya NAFLD gelişiminde belirli enflamatuvar yanıtların katkısının vurgulanmasının, bu enflamatuvar yanıtların her zaman bir enfeksiyon sonucu olduğu anlamına gelmeyebileceğini de vurgulamak gerekmektedir (205-207). Bu tip NAFLD gibi multifaktöriyel patolojilerde çok az çalışma ile neden-sonuç ilişkisini kurmak çok zordur. Her ilişkinin nedensellik anlamına gelmeyeceği göz önünde bulundurulmalıdır. NAFLD, viral enfeksiyonların yanısıra genetik yatkınlık, obezite, dislipidemi ve T2DM ile de oluşuyor olabilir. NAFLD oluşumunda, HAdV-36'nın rol oynadığı olası mekanizmaların, leptin gen ekspresyonunda ve insülin duyarlılığında azalma, glikoz alımında artma, adipoz dokudaki lipojenik ve pro-enflamatuvar yolakların aktive olması sonucunda oluşan kronik enflamasyon ve lipid metabolizmasının etkilenmesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, leptin ekspresyonunu ve salgısını azaltan HAdV-36, sonuç olarak değişen yağ metabolizması vasıtasıyla artan gıda alımı veya azalan enerji harcanması ile obeziteye neden olabilir. Bağırsak ve karaciğer arasındaki sıkı bağlantının ışığında bağırsak lenfositlerinin, insan adenoviruslarının persistans ve reaktivasyonu için bir rezervuarı temsil ettiği bildirilmiş olup, bu rezervuarın NAFLD'ın başlaması ve ilerlemesi için bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmanın limitasyonları olarak; çalışma grubunda yer alan alt gruplardaki olgu sayılarının az olması, örneklerin hastalıkların hangi fazında alındığının ve HAdV-36 ile enfekte olunulan zamanın tam olarak bilinememesi, ayrıca karaciğer yağ dokusu örneklerinde HAdV-36 DNA'sı araştırılırken maliyet sebebiyle real-time PCR yerine daha az duyarlı olan nested-PCR yönteminin kullanılmasını sayabiliriz.

Sonuç olarak; HAdV-36 ile NAFLD'ın ilişkili olabileceğini göstermeye çalıştığımız ve uluslararası düzeyde klinik olarak ikinci, moleküler yöntem destekli olarak ilk olma özellikleriyle literatüre katkı sunmayı amaçladığımız bu araştırmamızda, NAFLD-HAdV36 ilişkisine dönük olarak bivaryant analizimizde anlamlı olarak NAFLD

olgularında, kontrol grubuna göre HAdV-36 nötralizan antikor pozitiflik oranı yüksek saptansa da, olgu-kontrol örneklem sayısının azlığı, yağ dokularında HAdV-36'nın saptanamaması ve binary lojistik regresyon analizinde HAdV-36'nın bağımsız risk faktörü olarak belirlenememesi gibi nedenlerden dolayı bu ilişkiye dönük net bir kanaat bildirmek için çok erken olabilir. Ancak obezite-HAdV36 enfektobezite ilişkisine dönük in-vitro, hayvan ve klinik araştırmaların nicelik ve niteliği göz önüne alındığında az sayıdaki hayvan deneyleriyle bizim çalışmamızdaki bivaryant analizimiz, NAFLD sürecinde HAdV-36'nın bir rolü olabileceğini az da olsa düşündürebilir. Bununla birlikte; HAdV-36 gibi mikroorganizmalarla obezite ve metabolik sendromla ilişkili NAFLD gibi klinik patolojiler arasında adiposit temelli kronik enflamatuvar süreçler daha net ortaya konulabilirse yaygınlığı gün geçtikçe artan obezite ve obezite ile ilişkili hastalıkların yayılma hızının kesilmesi mümkün olabilir. Bunun için gerek obezite gerekse metabolik sendromlarla ilişkili patogenez süreçlerinin kuvvetli ve net olarak ortaya konulabilmesi için olgu-kontrol ve özellikle kohort temelli, geniş serili ve ayrıca farklı metabolik hastalıkları olan bireylerin katıldığı, sekanslama gibi daha duyarlı moleküler yöntemlerin yer aldığı yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir. Bununla birlikte; HAdV-36'nın obezite ve NAFLD patogenezinden sorumlu viral proteininin belirlenmesi, yeni terapötik ajanların geliştirilmesine yardımcı olabilir. Her yeni çalışma verisi NAFLD etiyopatogenezinin ve enfeksiyonun olası tetikleyici ya da koruyucu rolünün daha net açıklanmasına açıklık getirecektir.

6. KAYNAKLAR

Uncategorized References

1. Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, Hespenheide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999; **29**(3): 664-669.
2. Poonawala A, Nair SP, Thuluvath PJ. Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case-control study. *Hepatology* 2000; **32**(4): 689-692.
3. Charlton M, Kasparova P, Weston S, Lindor K, Maor-Kendler Y, Wiesner RH, ve ark. Frequency of nonalcoholic steatohepatitis as a cause of advanced liver disease. *Liver transplantation* 2001; **7**(7): 608-614.
4. Basaranoglu M, Kayacetin S, Yilmaz N, Kayacetin E, Tarcin O, Sonsuz A. Understanding mechanisms of the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology: WJG* 2010; **16**(18): 2223.
5. Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases* 2010; **28**(1): 155-161.
6. Berköz M, YALIN S. Yağ Dokusunun İmmünolojik ve İnflamatuvar Fonksiyonları. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2008; **1**(1).
7. Atkinson RL. *Viruses as an etiology of obesity*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 2007. Elsevier.
8. Dhurandhar NV. Infectobesity: obesity of infectious origin. *The Journal of nutrition* 2001; **131**(10): 2794S-2797S.
9. Dhurandhar N, Israel B, Kolesar J, Mayhew G, Cook M, Atkinson R. Transmissibility of adenovirus-induced adiposity in a chicken model. *International journal of obesity* 2001; **25**(7): 990-996.
10. Dhurandhar NV, Whigham LD, Abbott DH, Schultz-Darken NJ, Israel BA, Bradley SM, ve ark. Human adenovirus Ad-36 promotes weight gain in male rhesus and marmoset monkeys. *The Journal of nutrition* 2002; **132**(10): 3155-3160.
11. Atkinson R, Dhurandhar N, Allison D, Bowen R, Israel B, Albu J, ve ark. Human adenovirus-36 is associated with increased body weight and paradoxical reduction of serum lipids. *International journal of obesity* 2005; **29**(3): 281-286.
12. Atkinson RL, Lee I, Shin H-J, He J. Human adenovirus-36 antibody status is associated with obesity in children. *International Journal of Pediatric Obesity* 2010; **5**(2): 157-160.
13. Parra-Rojas I, Moral-Hernández D, Salgado-Bernabé AB, Guzmán-Guzmán IP, Salgado-Goytia L, Muñoz-Valle JF. Adenovirus-36 seropositivity and its relation with obesity and metabolic profile in children. *International journal of endocrinology* 2013; **2013**.
14. Ergin S, Altan E, Pilanci O, Sirekbasan S, Cortuk O, Cizmecigil U, ve ark. The role of adenovirus 36 as a risk factor in obesity: the first clinical study made in the fatty tissues of adults in Turkey. *Microbial pathogenesis* 2015; **80**: 57-62.
15. Kocazeybek B, Dinc HO, Ergin S, Saribas S, Ozcabi BT, Cizmecigil U, ve ark. Evaluation of Adenovirus-36 (Ad-36) antibody seropositivity and adipokine levels in obese children. *Microbial pathogenesis* 2017; **108**: 27-31.

16. Pasarica M, Shin AC, Yu M, Yang HMO, Rathod M, Jen KLC, ve ark. Human adenovirus 36 induces adiposity, increases insulin sensitivity, and alters hypothalamic monoamines in rats. *Obesity* 2006; **14**(11): 1905-1913.
17. Trovato GM, Martines GF, Garozzo A, Tonzuso A, Timpanaro R, Pirri C, ve ark. Ad36 adipogenic adenovirus in human non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International* 2010; **30**(2): 184-190.
18. WP Rowe, Huebner R, Gilmore L, Parrott R, Ward T, Medicine. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *J Proceedings of the Society for Experimental Biology* 1953; **84**(3): 570-573.
19. Hllleman M, Werner JJ. Recovery of new agent from patients with acute respiratory illness. *Proceedings of the Society for Experimental Biology Medicine* 1954; **85**(1): 183-188.
20. John F Enders, Joseph A Bell, John H Dingle, THOMAS Francis Jr, MR Hllleman, Robert J Huebner, ve ark. " Adenoviruses": Group name proposed for new respiratory-tract viruses. *Science* 1956; **124**: 119-20.
21. Lundstrom K, Boulikas T. Viral and non-viral vectors in gene therapy:technology development and clinical trials. *Technol Cancer Res Treat* 2003; **2**(5): 471-486.
22. Davison AJ, Benkő M, Harrach B. Genetic content and evolution of adenoviruses. *JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY* 2003; **84**(11): 2895-2908.
23. Ghebremedhin B. Human adenovirus: Viral pathogen with increasing importance. *Eur J Microbiol Immunol* 2014; **4**(1): 26-33.
24. Thomas L. Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients. *Clinical microbiology reviews* 2014; **27**(3): 441-462.
25. Sui-YuanChang, Chun-Nan Lee, Pi-Han Lin, Hsueh-Hung Huang, Luan-Yin Chang, Wilson Ko, ve ark. A community-derived outbreak of adenovirus type 3 in children in Taiwan between 2004 and 2005. *Journal of medical virology* 2008; **80**(1): 102-112.
26. Morris Saffold Jones, Balázs Harrach, Robert D Ganac, Mary MA Gozum, Wilfred P dela Cruz, Brian Riedel, ve ark. New adenovirus species found in a patient presenting with gastroenteritis. *Journal of virology* 2007; **81**(11): 5978-5984.
27. Echavarria M. Adenoviruses. Içinde AJ Z, ve ark., Editors. *Principles&Practice of Clinical Virology*. Wiley-Blackwell Press: United Kingdom; 2009. pp. 463-489.
28. WC Russell. Adenoviruses: update on structure and function. *Journal of General Virology* 2009; **90**(1): 1-20.
29. Akan E. *Genel ve Özel Viroloji*, ed. 3.Baskı. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık San ve Tic Ltd Şti; 1994.
30. Liesbeth Lenaerts, Erik De Clercq, Lieve Naesens. Clinical features and treatment of adenovirus infections. *J Reviews in medical virology* 2008; **18**(6): 357-374.
31. Dinç HÖ. Obez çocuklarda adenovirus tip 36 seropozitifliği ve adipokin düzeyleri. içinde *Tıbbi Mikrobiyoloji*. 2015. İstanbul Üniversitesi: İstanbul.
32. Bozkaya E, Us D. Viral Solunum Yolu Enfeksiyonları. Içinde D U, K E, Editors. *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. Bilimsel Tıp Yayınevi: Ankara; 2012.
33. *Adenoviral Vectors for Gene Therapy*. 2nd ed. USA: Elsevier Science; 2002.
34. Arnberg N. Adenovirus receptors: implications for tropism, treatment and targeting. *J Reviews in medical virology* 2009; **19**(3): 165-178.

35. Lenaerts L, De Clercq E, Naesens LJRimv. Clinical features and treatment of adenovirus infections. 2008; **18**(6): 357-374.
36. Doerfler W. Adenoviruses. *Medical Microbiology. 4th edition*. University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
37. S T. Adenoviruslar. Içinde Ş U, Editor. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi: Ankara; 1999.
38. Karki G. *Adenovirus: Structure and genome, Replication, Pathogenesis, Infection, laboratory diagnosis, Prevention and Treatment*. 2020 [cited 2020 08.09.2020]; Available from: https://www.onlinebiologynotes.com/adenovirus-structure-genome-replication-pathogenesis-infection-laboratory-diagnosis-prevention-treatment/.
39. Levison W. *Revew of Medical Microbiology and Immunology*. McGraw-Hill Education; 2014.
40. Langley JM. Adenoviruses. *J Pediatrics in review* 2005; **26**(7): 244.
41. Maranhão A, Soares C, Albuquerque M, Santos N. Molecular epidemiology of adenovirus conjunctivitis in Rio de Janeiro, Brazil, between 2004 and 2007. *J Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 2009; **51**(4): 227-229.
42. Jacqueline E Tate, Michel L Bunning, Lisa Lott, Xiaoyan Lu, John Su, David Metzgar, ve ark. Outbreak of severe respiratory disease associated with emergent human adenovirus serotype 14 at a US air force training facility in 2007. *The Journal of infectious diseases* 2009; **199**(10): 1419-1426.
43. Lewis PF, Schmidt MA, Lu X, Erdman DD, Campbell M, Thomas A, ve ark. A community-based outbreak of severe respiratory illness caused by human adenovirus serotype 14. *The Journal of infectious diseases* 2009; **199**(10): 1427-1434.
44. Kajon AE, Moseley JM, Metzgar D, Huong H-S, Wadleigh A, Ryan MAK, ve ark. Major Articles-Molecular Epidemiology of Adenovirus Type 4 Infections in US Military Recruits in the Postvaccination Era (1997–2003). *J The Journal of infectious diseases* 2007; **196**(1): 67-75.
45. Kandel R, Srinivasan A, D'Agata E, Lu X, Erdman D, Jhung M. Outbreak of adenovirus type 4 infection in a long-term care facility for the elderly. *J Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; **31**(7): 755-757.
46. A SA. Çeşitli Antiviral Ajanlarin Adenovirüse Karşi Etkinliğinin İn Vitro Olarak Değerlendirilmesi. içinde *Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı*. 2020. Çukurova Üniversitesi: Adana.
47. PR Murray , HJ Jorgensen, JE Baron, Pfaller. M. *Klinik Mikrobiyoloji*. İstanbul: Atlas Kitapçılık; 2009.
48. S.Horwitz M. Adenoviruses. *Field Virol* 2001; **2**: 2149-2171.
49. Russell W. Update on adenovirus and its vectors. *Journal of general virology* 2000; **81**(11): 2573-2604.
50. *Ocular Infections*. 6th ed. Textbook of pediatric infectious diseases, ed. Ralph D Feigin, ve ark. Vol. 1. Philadelphia: WB Saunders: Elsevier Health Sciences; 2009.
51. Carol Martinez Weber, Joseph W Eichenbaum. Acute red eye: differentiating viral conjunctivitis from other, less common causes. *J Postgraduate medicine* 1997; **101**(5): 185-196.
52. NA Syed, RA Hyndiuk. Infectious conjunctivitis. *J Infectious disease clinics of North America* 1992; **6**(4): 789-805.

53. Koneman E, SD Allen, WM Janda, PC Schreckenberger, Winn W. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott; 1997.
54. Evelyn M. Barraza, Sharon L. Ludwig, Joel C. Gaydos, Brundage JF. Reemergence of Adenovirus Type 4 Acute Respiratory Disease in Military Trainees: Report of an Outbreak during a Lapse in Vaccination. *The Journal of Infectious Diseases* 1999; **179**: 1531-1533.
55. Muhittin Taşkapılı, Melike Balıkoğlu Yılmaz. Çocuklarda konjonktivitler. *J Turkish Pediatrics Archive/Turk Pediatri Arsivi* 2012; **47**(4).
56. Ramazan Yağci, Alper Akçali, Server Yağcı, Tsunetada Konno, Hiroaki Ishiko, Sunay Duman, ve ark. Molecular identification of adenoviral conjunctivitis in Turkey. *J European journal of ophthalmology* 2010; **20**(4): 669-674.
57. Jorma B Mueller, Christopher M McStay. Ocular infection and inflammation. *J Emergency medicine clinics of North America* 2008; **26**(1): 57-72.
58. Guerrant RL, Hughes JM, Lima NL, Crane J. Diarrhea in developed and developing countries: magnitude, special settings, and etiologies. *Reviews of infectious diseases* 1990; **12**(Supplement_1): S41-S50.
59. Sibylle Koletzko, Stephanie Osterrieder. Acute infectious diarrhea in children. *J Deutsches Ärzteblatt International* 2009; **106**(33): 539.
60. Nathan M Thielman, Richard L Guerrant. Acute infectious diarrhea. *J New England Journal of Medicine* 2004; **350**(1): 38-47.
61. Richard L Guerrant, Thomas Van Gilder, Ted S Steiner, Nathan M Thielman, Laurence Slutsker, Robert V Tauxe, ve ark. Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. *J Clinical infectious diseases* 2001; **32**(3): 331-351.
62. Norberto Rodriguez-Baez, Rebbeca O'Brien, Shi-Qiang Qiu, Dorsey M Bass. Astrovirus, adenovirus, and rotavirus in hospitalized children: prevalence and association with gastroenteritis. *Journal of pediatric gastroenterology nutrition* 2002; **35**(1): 64-68.
63. Gregory F Murphy, David P Wood, J William Mcroberts, P Jean Henslee-Downey. Adenovirus-associated hemorrhagic cystitis treated with intravenous ribavirin. *The Journal of urology* 1993; **149**(3): 565-566.
64. Marcela Echavarría. Adenoviruses in immunocompromised hosts. *J Clinical microbiology reviews* 2008; **21**(4): 704-715.
65. Paul D Swenson, Michael S Lowens, Connie L Celum, John C Hierholzer. Adenovirus types 2, 8, and 37 associated with genital infections in patients attending a sexually transmitted disease clinic. *Journal of clinical microbiology* 1995; **33**(10): 2728-2731.
66. Nikhil V Dhurandhar. A framework for identification of infections that contribute to human obesity. *Journal of Diabetes* 2011; **11**(12): 963-969.
67. Nikhil V Dhurandhar. Insulin sparing action of adenovirus 36 and its E4orf1 protein. *Journal of Diabetes its Complications* 2013; **27**(2): 191-199.
68. Emily J Dhurandhar, Olga Dubuisson, Nazar Mashtalir, Rashmi Krishnapuram, Vijay Hegde, Nikhil V Dhurandhar. E4orf1: a novel ligand that improves glucose disposal in cell culture. *PLoS One* 2011; **6**(8): e23394.
69. Miloni A Rathod, Pamela M Rogers, Sharada D Vangipuram, Emily J McAllister, Nikhil V Dhurandhar. Adipogenic cascade can be induced without adipogenic media by a human adenovirus. *Obesity* 2009; **17**(4): 657-664.
70. SD Vangipuram, M Yu, J Tian, KL Stanhope, M Pasarica, Peter J Havel, ve ark. Adipogenic human adenovirus-36 reduces leptin expression and secretion and

increases glucose uptake by fat cells. *International journal of obesity* 2007; **31**(1): 87-96.

71. Magdalena Pasarica, Nazar Mashtalir, Emily J McAllister, Gail E Kilroy, Juraj Koska, Paska Permana, ve ark. Adipogenic human adenovirus Ad-36 induces commitment, differentiation, and lipid accumulation in human adipose-derived stem cells. *Stem Cells* 2008; **26**(4): 969-978.
72. Susan E Wozniak, Laura L Gee, Mitchell S Wachtel, Eldo E Frezza. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Digestive diseases sciences* 2009; **54**(9): 1847-1856.
73. Marie L Landry, Caroline KY Fong, Kim Neddermann, Lawrence Solomon, GD Hsiung. Disseminated adenovirus infection in an immunocompromised host: Pitfalls in diagnosis. *The American journal of medicine* 1987; **83**(3): 555-559.
74. John E Herrmann, Dorothy M Perron-Henry, Neil R Blacklow. Antigen detection with monoclonal antibodies for the diagnosis of adenovirus gastroenteritis. *Journal of Infectious Diseases* 1987; **155**(6): 1167-1171.
75. Curt A Gleaves, Julie Militoni, Rhoda L Ashley. An enzyme immunoassay for the direct detection of adenovirus in clinical specimens. *Diagnostic microbiology infectious disease* 1993; **17**(1): 57-59.
76. Fujimoto T, Okafuji T, Okafuji T, Ito M, Nukuzuma S, Chikahira M, ve ark. Evaluation of a bedside immunochromatographic test for detection of adenovirus in respiratory samples, by comparison to virus isolation, PCR, and real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; **42**(12): 5489-5492.
77. Avellón A, Pérez P, Aguilar JC, ortiz de Lejarazu R, Echevarría JE. Rapid and sensitive diagnosis of human adenovirus infections by a generic polymerase chain reaction. *Journal of virological methods* 2001; **92**(2): 113-120.
78. Sarantis H, Johnson G, Brown M, Petric M, Tellier R. Comprehensive detection and serotyping of human adenoviruses by PCR and sequencing. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; **42**(9): 3963-3969.
79. Imai Y, Kameya S, Ohkoshi M, Yamaki K, Sakuragi S. Identification of the hexon region of an adenovirus involved in a new outbreak of keratoconjunctivitis. *Journal of clinical microbiology* 2001; **39**(8): 2975-2977.
80. Yapar M, Aydogan H, Pahsa A, Besirbellioglu BA, Bodur H, Basustaoglu AC, ve ark. Rapid and quantitative detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by one-step real-time reverse transcriptase-PCR. *Japanese journal of infectious diseases* 2005; **58**(6): 358.
81. Lin B, Vora GJ, Thach D, Walter E, Metzgar D, Tibbetts C, ve ark. Use of oligonucleotide microarrays for rapid detection and serotyping of acute respiratory disease-associated adenoviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; **42**(7): 3232-3239.
82. Takiff H, Straus S, Garon CJTL. Propagation and in vitro studies of previously non-cultivable enteral adenoviruses in 293 cells. *The Lancet* 1981; **318**(8251): 832-834.
83. Lipson SM, Poshni IA, Ashley RL, Grady LJ, Ciamician Z, Teichberg S. Presumptive identification of common adenovirus serotypes by the development of differential cytopathic effects in the human lung carcinoma (A549) cell culture. *FEMS microbiology letters* 1993; **113**(2): 175-182.
84. Us D, Ustaçelebi Ş. *Genel Viroloji*. İstanbul: Pelikan Yayınları; 2008.

85. Thounaojam A, Mun A, Balakrishnan A. A case report of fatality associated with adenovirus type 2 infection in a young child, Kerala. *Case Study Case Rep* 2015; **5**: 105-108.
86. Percivalle E, Sarasini A, Torsellini M, Bruschi L, Antoniazzi E, Revello MG, ve ark. A comparison of methods for detecting adenovirus type 8 keratoconjunctivitis during a nosocomial outbreak in a neonatal intensive care unit. *Journal of Clinical Virology* 2003; **28**(3): 257-264.
87. Kant JA. DNA restriction enzymes and RFLPs in medicine. *Methods of biochemical analysis* 1992; **36**: 129-149.
88. Herschleb J, Ananiev G, Schwartz DC. Pulsed-field gel electrophoresis. *Nature protocols* 2007; **2**(3): 677.
89. Jones MS, Harrach B, Ganac RD, Gozum MM, dela Cruz WP, Riedel B, ve ark. New adenovirus species found in a patient presenting with gastroenteritis. *Journal of virology* 2007; **81**(11): 5978-5984.
90. Durmaz R. *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. 242; 2001.
91. Yabiku ST, Yabiku MM, Bottós KM, Araújo AL, Freitas Dd, Belfort Jr R. Ganciclovir 0.15% ophthalmic gel in the treatment of adenovirus keratoconjuntivitis. *Arquivos brasileiros de oftalmologia* 2011; **74**(6): 417-421.
92. Yeo CJ. *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract, E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2017.
93. A E. *Karaciğerin Cerrahi Anatomisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002.
94. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y, Kohno H, Nakamura T. Human liver regeneration after major hepatic resection. A study of normal liver and livers with chronic hepatitis and cirrhosis. *Annals of surgery* 1987; **206**(1): 30.
95. M. K. Hepatobiliyer Anatomi ve Fizyoloji Içinde Değertekin H YK, Editor. *Karaciğer Hastalıklarına Klinik Yaklaşım*: İstanbul; 2009. pp. 49-53.
96. DERNEĞİ TKA. VİRAL HEPATİTLER HASTA BİLGİLENDİRME KİTABI 2018.
97. Vatansever S, Karasu Z. KARACİĞER KANSERİ. *Türk Karaciğer Araştırmaları Derneği*
98. Toprak D. Hepatosteatoz (Yağlı Karaciğer Hastalığı). *The Journal of Turkish Family Physician* 2011; **2**(2): 50-57.
99. Ludwig J, Viggiano TR, Mcgill DB, Oh B. *Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 1980.
100. SONSUZ A, BAYSAL B. Karaciğer yağlanması ve non alkolik steatohepatit. *Güncel gastroenteroloji* 2011; **15**(2): 98-106.
101. Cairns S, Peters T. Biochemical analysis of hepatic lipid in alcoholic and diabetic and control subjects. *Clinical Science* 1983; **65**(6): 645-652.
102. Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Crocè LS, Brandi G, Sasso F, ve ark. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. *Annals of internal medicine* 2000; **132**(2): 112-117.
103. McCullough AJJJocg. Update on nonalcoholic fatty liver disease. 2002; **34**(3): 255-262.
104. Chitturi S, Farrell GC. *Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis*. in *Seminars in liver disease*. 2001. Copyright© 2001 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New ….

105. Stranges S, Dorn JM, Muti P, Freudenheim JL, Farinaro E, Russell M, ve ark. Body fat distribution, relative weight, and liver enzyme levels: A population-based study. *Hepatology* 2004; **39**(3): 754-763.
106. Kara M, Erdal MJTPMB. Sıklığı Artan Bir Halk Sağlığı Sorunu: Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı. *taf preventive medicine bulletin* 2011; **10**(5).
107. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, ve ark. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; **40**(6): 1387-1395.
108. Weston SR, Leyden W, Murphy R, Bass NM, Bell BP, Manos MM, ve ark. Racial and ethnic distribution of nonalcoholic fatty liver in persons with newly diagnosed chronic liver disease. *Hepatology* 2005; **41**(2): 372-379.
109. Caldwell SH, Ikura Y, Iezzoni JC, Liu Z. Has natural selection in human populations produced two types of metabolic syndrome (with and without fatty liver)? *Journal of gastroenterology*
hepatology 2007; **22**: S11-S19.
110. Zoratti R. A review on ethnic differences in plasma triglycerides and high-density-lipoprotein cholesterol: is the lipid pattern the key factor for the low coronary heart disease rate in people of African origin? *European journal of epidemiology* 1998; **14**(1): 9-21.
111. Moucari R, Asselah T, Cazals–Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault MP, ve ark. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008; **134**(2): 416-423.
112. Powell EE, Ali A, Clouston AD, Dixon JL, Lincoln DJ, Purdie DM, ve ark. Steatosis is a cofactor in liver injury in hemochromatosis. *Gastroenterology* 2005; **129**(6): 1937-1943.
113. Powell EE, Jonsson JR, Clouston AD. Steatosis: co-factor in other liver diseases. *Hepatology* 2005; **42**(1): 5-13.
114. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 2005; **42**(1): 44-52.
115. Çolak Y, Tuncer İ. NONALKOLİK KARACİĞER YAĞLANMASI VE STEATOHEPATİT. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi* 2010; **73**(3): 85-91.
116. Adams LA, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *J Annals of epidemiology* 2007; **17**(11): 863-869.
117. Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *J Alimentary pharmacology therapeutics* 2007; **25**(8): 883-889.
118. Zobair Younossi, Quentin M. Anstee, Milena Marietti, Timothy Hardy, Linda Henry, Mohammed Eslam, ve ark. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *nature reviews gastroenterology & hepatology* 2018; **15**: 11-20.
119. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 2016; **64**(1): 73-84.
120. Eguchi Y, Hyogo H, Ono M, Mizuta T, Ono N, Fujimoto K, ve ark. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study. *Journal of gastroenterology* 2012; **47**(5): 586-595.

121. Farrell GC, Wong VW-S, Chitturi S. NAFLD in Asia—as common and important as in the West. *Nature reviews gastroenterology & hepatology* 2013; **10**(5): 307-318.
122. Amarapurkar D, Kamani P, Patel N, Gupte P, Kumar P, Agal S, ve ark. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease: population based study. *Annals of hepatology* 2007; **6**(3): 161-163.
123. Demir M, Aydogan T, Pamukcu M, Ulas T, Eren M. Ultrasound evaluation of metabolic syndrome patients with hepatosteatosis. *Journal of clinical Experimental Investigations* 2013; **4**: 153-8.
124. Okur G, Karacaer Z. The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in healthy young persons. *Northern clinics of Istanbul* 2016; **3**(2): 111.
125. Liangpunsakul S, Chalasani N. Unexplained elevations in alanine aminotransferase in individuals with the metabolic syndrome: results from the third National Health and Nutrition Survey (NHANES III). *The American journal of the medical sciences* 2005; **329**(3): 111-116.
126. Kemmer NM, McKinney KH, Xiao S-Y, Singh H, Murray R, Abdo B, ve ark. High prevalence of NASH among Mexican American females with type II diabetes mellitus. *Gastroenterology* 2001; **120**(5): A117.
127. Dixon JB, Bhathal PS, O'brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 2001; **121**(1): 91-100.
128. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, ve ark. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Journal of hepatology* 2019; **71**(4): 793-801.
129. J.McClaina C, Mokshagundama SPL, S.Barvea S, Songa Z, Theresa DBH, Deaciuca C. Mechanisms of non-alcoholic steatohepatitis. *Alcohol* 2004; **34**(1): 67-79.
130. Raman M, Allard J. Nonalcoholic fatty liver disease: a clinical approach and review. *Canadian journal of gastroenterology* 2006; **20**.
131. Day C. Pathogenesis of steatohepatitis. *Best practice research Clinical gastroenterology* 2002; **16**(5): 663-678.
132. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, ve ark. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *The American journal of medicine* 1999; **107**(5): 450-455.
133. Kim SP, Ellmerer M, Van Citters GW, Bergman RN. Primacy of hepatic insulin resistance in the development of the metabolic syndrome induced by an isocaloric moderate-fat diet in the dog. *Diabetes* 2003; **52**(10): 2453-2460.
134. Rao MS, Reddy JK. *Peroxisomal β-oxidation and steatohepatitis*. in *Seminars in liver disease*. 2001. Copyright© 2001 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New ….
135. Perry RJ, Kim T, Zhang X-M, Lee H-Y, Pesta D, Popov VB, ve ark. Reversal of hypertriglyceridemia, fatty liver disease, and insulin resistance by a liver-targeted mitochondrial uncoupler. *Cell metabolism* 2013; **18**(5): 740-748.
136. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Molecular mechanisms and new treatment strategies for non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *International journal of molecular sciences* 2014; **15**(5): 7352-7379.
137. Sonsuz A. Nonalkolik karaciğer yağlanması. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri* 2007; **58**: 91-98.

138. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism* 2016; **65**(8): 1038-1048.
139. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *Journal of hepatology* 2015; **62**(1): S47-S64.
140. Nobili V, Svegliati-Baroni G, Alisi A, Miele L, Valenti L, Vajro P. A 360-degree overview of paediatric NAFLD: recent insights. *Journal of hepatology* 2013; **58**(6): 1218-1229.
141. Başaranoğlu M, Örmeci N. Nonalcoholic fatty liver disease: diagnosis, pathogenesis, and management. *Turk J Gastroenterol* 2014; **25**(2): 127-32.
142. Neuschwander-Tetri BA. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites. *Hepatology* 2010; **52**(2): 774-788.
143. Kaser S, Moschen A, Cayon A, Kaser A, Crespo J, Pons-Romero F, ve ark. Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2005; **54**(1): 117-121.
144. Uygun A, Kadayifci A, Yesilova Z, Erdil A, Yaman H, Saka M, ve ark. Serum leptin levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *The American journal of gastroenterology* 2000; **95**(12): 3584-3589.
145. Canbakan B, Tahan V, Balci H, Hatemi I, Erer B, Ozbay G, ve ark. Leptin in nonalcoholic fatty liver disease. *Annals of hepatology* 2008; **7**(3): 249-254.
146. Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Liddle C, ve ark. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity? *Hepatology* 2002; **36**(2): 403-409.
147. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, ve ark. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; **409**(6818): 307-312.
148. Pagano C, Soardo G, Pilon C, Milocco C, Basan L, Milan G, ve ark. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *The journal of clinical endocrinology metabolism* 2006; **91**(3): 1081-1086.
149. Lancaster GI, Febbraio MA. The immunomodulating role of exercise in metabolic disease. *Trends in immunology* 2014; **35**(6): 262-269.
150. Manne V, Handa P, Kowdley KVJCild. Pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. 2018; **22**(1): 23-37.
151. Çevik T. Nonalkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı'nda Egzersiz Uygulamalarının Karaciğer Yağlanmasi Ve Fiziksel Uygunluk Üzerine Etkisi. içinde *Fizyoterap ve rehabilitasyon programı*. Medipol Üniversitesi: İstanbul.
152. Kaya A, Güllü S, Başçıl Tütüncü N, Dağdelen S, Bayraktar F, Oşar Siva Z. NASH Çalıştayı Sonuç Raporu. Kaya A, Editor.: İstanbul.
153. Akif A. Non alkolik yağlı karaciğer hastalığında güncel medikal tedavi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2015; **16**(1): 67-76.
154. Ipekci SH, Basaranoglu M, Sonsuz A. The fluctuation of serum levels of aminotransferase in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of clinical gastroenterology* 2003; **36**(4): 371.
155. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, ve ark. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003; **37**(6): 1286-1292.
156. İdilman İS, Karçaaltıncaba M. Karaciğer yağlanması tanısında ve yağlanma miktarının belirlenmesinde radyolojik tanı yöntemleri. *Güncel Gastroenteloji* 2014; **18**(1): 112-118.

157. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, ve ark. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002; **123**(3): 745-750.
158. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, ve ark. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2005; **288**(2): E462-E468.
159. Cho SG, Kim MY, Kim HJ, Kim YS, Choi W, Shin SH, ve ark. Chronic hepatitis: in vivo proton MR spectroscopic evaluation of the liver and correlation with histopathologic findings. *Radiology* 2001; **221**(3): 740-746.
160. Lomonaco R, Chen J, Cusi K. An endocrine perspective of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism* 2011; **2**(5): 211-225.
161. Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *The American journal of the medical sciences* 2005; **330**(6): 326-335.
162. Marchesini G, Marzocchi R, Agostini F, Bugianesi E. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. *Current opinion in lipidology* 2005; **16**(4): 421-427.
163. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; **116**(6): 1413-1419.
164. Trappoliere M, Tuccillo C, Federico A, Di Leva A, Niosi M, D Alessio C, ve ark. The treatment of NAFLD. *European review for medical and pharmacological sciences* 2005; **9**(5): 299.
165. Grubu UDK. Türk Diyabet Cemiyeti, Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi 2017. Temel YILMAZ, ve ark., Editors. 2017.
166. Frey HR, Liess B. Vermehrungskinetik und Verwendbarkeit eines stark zytopathogenen VD-MD-Virusstammes für diagnostische Untersuchungen mit der Mikrotiter-Methode. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B* 1971; **18**(1): 61-71.
167. G K. Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. *Archiv f experiment Pathol u Pharmakol* 1931; **162**: 480-483.
168. C S. The Method of "Right and Wrong Cases" (Constant Stimuli) without Gauss's Formula. *Br J Psychol* 1908; **2**: 227-242.
169. Pasarica M, Loiler S, Dhurandhar NV. Acute effect of infection by adipogenic human adenovirus Ad36. *Archives of virology* 2008; **153**(11): 2097.
170. Medina-Gómez G. Mitochondria and endocrine function of adipose tissue. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2012; **26**(6): 791-804.
171. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British journal of nutrition* 2004; **92**(3): 347-355.
172. Ahima RS, Lazar MA. Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance. *Molecular endocrinology* 2008; **22**(5): 1023-1031.
173. Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1996; **81**(9): 3419-3423.
174. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, ve ark. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nature medicine* 2002; **8**(7): 731-737.

175. Bastard J-P, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, ve ark. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000; **85**(9): 3338-3342.
176. Dhurandhar N, Israel B, Kolesar J, Mayhew G, Cook M, Atkinson R. Increased adiposity in animals due to a human virus. *International journal of obesity* 2000; **24**(8): 989-996.
177. da Silva Fernandes J, Schuelter-Trevisol F, Cancelier ACL, e Silva HCG, de Sousa DG, Atkinson RL, ve ark. Adenovirus 36 prevalence and association with human obesity: a systematic review. *International Journal of Obesity* 2021: 1-15.
178. Zhou Y, Pan Q, Wang X, Zhang L, Xiao F, Guo L. The relationship between human adenovirus 36 and obesity in Chinese Han population. *Bioscience reports* 2018; **38**(4).
179. Kocazeybek B, Saribas S, Ergin S. The role of Ad-36 as a risk factor in males with gynecomastia. *Medical hypotheses* 2015; **85**(6): 992-996.
180. Trovato G, Castro A, Tonzuso A, Garozzo A, Martines G, Pirri C, ve ark. Human obesity relationship with Ad36 adenovirus and insulin resistance. *International journal of obesity* 2009; **33**(12): 1402-1409.
181. Goossens VJ, de Jager SA, Grauls GE, Gielen M, Vlietinck RF, Derom CA, ve ark. Lack of evidence for the role of human adenovirus-36 in obesity in a European cohort. *Obesity* 2011; **19**(1): 220-221.
182. Laing EM, Tripp RA, Pollock NK, Baile CA, Della-Fera MA, Rayalam S, ve ark. Adenovirus 36, adiposity, and bone strength in late-adolescent females. *Journal of Bone and Mineral Research* 2013; **28**(3): 489-496.
183. Cancelier ACL, Rezin GT, Fernandes J, e Silva HCG, Trevisol DJ, Atkinson R, ve ark. Adenovirus-36 as one of the causes of Obesity: the review of the pathophysiology. *Nutrition Research* 2020.
184. Wang Z, Yu Y, Zhang X, Floyd E, Cefalu W. Human adenovirus 36 decreases fatty acid oxidation and increases de novo lipogenesis in primary cultured human skeletal muscle cells by promoting Cidec/FSP27 expression. *International journal of obesity* 2010; **34**(9): 1355-1364.
185. Kiu H, Nicholson SE. Biology and significance of the JAK/STAT signalling pathways. *Growth factors* 2012; **30**(2): 88-106.
186. Dhurandhar EJ, Dubuisson O, Mashtalir N, Krishnapuram R, Hegde V, Dhurandhar NV. E4orf1: a novel ligand that improves glucose disposal in cell culture. *PLoS One* 2011; **6**(8): e23394.
187. Jiao Y, Liang X, Hou J, Aisa Y, Wu H, Zhang Z, ve ark. Adenovirus type 36 regulates adipose stem cell differentiation and glucolipid metabolism through the PI3K/Akt/FoxO1/PPARγ signaling pathway. *Lipids in health and disease* 2019; **18**(1): 1-12.
188. Vangipuram S, Yu M, Tian J, Stanhope K, Pasarica M, Havel PJ, ve ark. Adipogenic human adenovirus-36 reduces leptin expression and secretion and increases glucose uptake by fat cells. *International journal of obesity* 2007; **31**(1): 87-96.
189. Na H-N, Dubuisson O, Hegde V, Nam J-H, Dhurandhar NV. Human adenovirus Ad36 and its E4orf1 gene enhance cellular glucose uptake even in the presence of inflammatory cytokines. *Biochimie* 2016; **124**: 3-10.

190. McMurphy TB, Huang W, Xiao R, Liu X, Dhurandhar NV, Cao L. Hepatic expression of adenovirus 36 E4ORF1 improves glycemic control and promotes glucose metabolism through AKT activation. *Diabetes* 2017; **66**(2): 358-371.
191. Ascha MS, Hanouneh IA, Lopez R, Tamimi TAR, Feldstein AF, Zein NN. The incidence and risk factors of hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2010; **51**(6): 1972-1978.
192. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, ve ark. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology* 2015; **148**(3): 547-555.
193. Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: from pathophysiology to therapeutics. *Metabolism* 2019; **92**: 82-97.
194. Tarantino G, Citro V, Cataldi M. Findings from Studies Are Congruent with Obesity Having a Viral Origin, but What about Obesity-Related NAFLD? *Viruses* 2021; **13**(7): 1285.
195. Hwang K, Park S, Ahn J, Nam J. Development of a standard protocol for quantitative polymerase chain reaction to detect adenovirus 36, which is associated with obesity. *Acta virologica* 2018; **62**(4): 350-359.
196. Krishnapuram R, Dhurandhar EJ, Dubuisson O, Kirk-Ballard H, Bajpeyi S, Butte N, ve ark. Template to improve glycemic control without reducing adiposity or dietary fat. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2011; **300**(5): E779-E789.
197. Salehian B, Forman SJ, Kandeel FR, Bruner DE, He J, Atkinson RL. Adenovirus 36 DNA in adipose tissue of patient with unusual visceral obesity. *Emerging infectious diseases* 2010; **16**(5): 850.
198. Barrera-Alcocer J, García-Benavides L, Muñoz-Valle JF, de la Cruz-Mosso U, González RA, Luquín S, ve ark. Presence of Adenovirus-36 DNA in Adipose Tissue of Women: Relationship with Adipocyte Morphology and the Expression of C/EBPβ and HIF-1α. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* 2021; **14**: 477.
199. Ponterio E, Cangemi R, Mariani S, Casella G, De Cesare A, Trovato F, ve ark. Adenovirus 36 DNA in human adipose tissue. *International Journal of Obesity* 2015; **39**(12): 1761-1764.
200. Huang X-D, Fan Y, Zhang H, Wang P, Yuan JP, Li M-J, ve ark. Serum leptin and soluble leptin receptor in non-alcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology: WJG* 2008; **14**(18): 2888.
201. Sartaj Sohrab S, L Atkinson R, M Alawi M, I Azhar E. Viral infection and obesity: current status and future prospective. *Current drug metabolism* 2017; **18**(9): 798-807.
202. Kosulin K, Geiger E, Vécsei A, Huber W-D, Rauch M, Brenner E, ve ark. Persistence and reactivation of human adenoviruses in the gastrointestinal tract. *Clinical Microbiology and Infection* 2016; **22**(4): 381. e1-381. e8.
203. Mostofinejad Z, Akheruzzaman M, Siddik MAB, Patkar P, Dhurandhar NV, Hegde V. Antidiabetic E4orf1 protein prevents hepatic steatosis and reduces markers of aging-related cellular damage in high fat fed older mice. *BMJ Open Diabetes Research and Care* 2021; **9**(1): e002096.
204. Møhlenberg M, Terczynska-Dyla E, Thomsen KL, George J, Eslam M, Grønbæk H, ve ark. The role of IFN in the development of NAFLD and NASH. *Cytokine* 2019; **124**: 154519.

205. Chon TW, Bixler S. Interferon-τ: current applications and potential in antiviral therapy. *Journal of Interferon & Cytokine Research* 2010; **30**(7): 477-485.
206. Ying W, Kanameni S, Chang C-A, Nair V, Safe S, Bazer FW, ve ark. Interferon tau alleviates obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance by regulating macrophage polarization. *PloS one* 2014; **9**(6): e98835.
207. Tekwe CD, Lei J, Yao K, Rezaei R, Li X, Dahanayaka S, ve ark. Oral administration of interferon tau enhances oxidation of energy substrates and reduces adiposity in Zucker diabetic fatty rats. *BioFactors* 2013; **39**(5): 552-563.

7. HAM VERİLER

8. FORMLAR

9. ETİK KURUL KARARI

İÜC Tarih ve Sayı: 04/04/2019-53670

T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Doktora Öğrencisi M.Sc.Harika Öykü DİNÇ'in etik kurul kararı
A-23

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :11.03.2019 tarih, 64414572-604.01.01-39842 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Prof.Dr.Bekir S.KOCAZEYBEK'in** danışmanlığında **Doktora Öğrencisi M.Sc.Harika Öykü DİNÇ'in** yürütücülüğünde **Prof.Dr.Sevgi ERGİN, Prof.Dr.Abdullah SONSUZ, Prof.Dr.Abdullah Kağan ZENGİN'nin** yardımcılıklarında **"Non-Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı (NAFLD) ile Adenovirus 36 İlişkisinin Araştırılması"** başlıklı Doktora Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **02 Nisan 2019** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup,Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Emine Gülderen ŞAHİN
Bölüm Başkanı

NOT:Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun ve Bilimsel Araştırma Projeleri Desteği onay belgesinin Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak İçin:http://dogrulama.istanbulc.edu.tr/enVision.ecrguid/belgedogrulama.aspx?V=BBBPEDYUM
Ayrıntılı bilgi için irtibat : Okke SOYDANER Dahili : 22300
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL
Tel : 0 (212) 414 30 00 Faks : 0 (212) 632 00 33
e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbulc.edu.tr

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır

10. PATENT HAKKI İZNİ

11. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

NONALKOLİK YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI (NAFLD) İLE ADENOVİRUS 36 İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ORİJİNALLİK RAPORU

%10	%9	%3	%3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
2	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
3	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	%1
4	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
5	www.ctf.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	www.selcukkoksal.com İnternet Kaynağı	<%1
7	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	www.ejmanager.com İnternet Kaynağı	<%1
9	kocatepetipdergisi.aku.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1

ULUSLARARASI YAYINLAR

1. Ergin S., Altan E., Pilanci O., Sirekbasan S., Cortuk O., Cizmecigil U., Ersin I., Elbey H., Dinc H. Ö. , Habip Z., et al., "The role of adenovirus 36 as a risk factor in obesity: The first clinical study made in the fatty tissues of adults in Turkey", Microbial Pathogenesis, cilt.80, ss.57-62, 2015
2. Kocazeybek B. S. , Caliskan R., Cetin S. E. , Ergin S., Kuskucu M., Kepil N., Dinc H. Ö. , Erzin Y. Z. , Saribas S., Tokman H. B. , et al., "Patterns of epiya motifs among cagA-positive Helicobacter pylori strains: A case–control study in a turkish population with eurasian geographical features", Journal of Medical Microbiology, cilt.64, ss.1117-1123, 2015
3. Pilanci O., Ergin S., Sirekbasan S., Ersin I., Habip Z., Yuksel P., Kuvat N., Aslan M., Dinc O., Saribas S., et al., "Serum neopterin and procalcitonin levels in relationship with pediatric burn wound infections", Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, cilt.63, ss.47-56, 2016
4. Kocazeybek B. S. , Yuksel P., Keskin D., Sheikh S., Habip Z., Yavuzer S. S. , Caliskan R., Altun Y. M. , Kuskucu M., Cengiz M., et al., "Travel-associated infections caused by unusual serogroups of Legionella pneumophila identified using Legionella BIOCHIP slides in Turkey and Iraq", Travel Medicine and Infectious Disease, cilt.14, ss.248-254, 2016
5. Kocazeybek B., Dinc H. Ö. , Ergin S., Saribas S., Ozcabi B. T. , Cizmecigil U., Altan E., Atalik K., Yuksel P., Taner Z., et al., "Evaluation of Adenovirus-36 (Ad-36) antibody seropositivity and adipokine levels in obese children", Microbial Pathogenesis, cilt.108, ss.27-31, 2017
6. Sohrabi P., Habip Z., Saribas S., Vatan A., Dinc H. Ö. , Altun Y. M. , Ziver T., Caliskan R., Demirci M., Uysal O., et al., "Neopterin and soluble CD14 (sCD14) levels as immunoactivation markers in aHBc-only cases", Future Virology, cilt.12, ss.409-419, 2017
7. Yuksel P., Saribas S., Kuskucu M., Mutcali S. I. , Kosan E., Habip Z., Demirci M., Kara E. S. , Birinci I., Caliskan R., et al., "Problems encountered in conventional HIV 1/2 algorithms: Lack of necessity for immunoblot assays to confirm repeated ELISA reactive results", African Health Sciences, cilt.18, ss.407-416, 2018
8. Ergin S., Kocazeybek B., Caliskan R., Demiryas S., Dinc O., Gulergun R., Tokman H. B. , Ziver T., Saribas S., Yuksel P., et al., "Mutations in the 23S rRNA genes of Helicobacter pylori mediate resistance to clarithromycin (A preliminary study)", International Journal Of Infectious Diseases, cilt.73, ss.127-128, 2018
9. Demirci M., Saribas S., Ozer N., Toprak S., Caglar E., Ortakoylu G., Yuksel P., Ayaz G., Tokman H. B. , Uysal O., et al., "Diagnostic performance of the RT-qPCR method targeting 85B mRNA in the diagnosis of pulmonary Mycobacterium tuberculosis infection", Journal of Infection and Public Health, cilt.11, ss.662-666, 2018
10. Ergin S., Turan N., Gode S., Yilmaz H., Saribas S., Dinc O., Cizmecigil U., Bakir I., Keskin M., Sirekbasan S., et al., "Evaluation of the possible involvement of

Ad-36-induced adipogenesis and coronary artery disease development in mediastinal adipose tissue samples", Infezioni in Medicina, cilt.27, ss.290-298, 2019

11. Demiryas S., Kocazeybek B., Demirci M., Caliskan R., Kepil N., Uysal H. K. , Dinc H. Ö. , Saribas S., Ergin S., Erzin Y., et al., "Helicobacter pylori-miRNA interaction in gastric cancer tissues: First prospective study from Turkey", New Microbiologica, cilt.42, ss.210-220, 2019
12. Gode S., Sarp T. Z. , Saribas S., Ergin S., Kasnak G., Dinc H. Ö. , Caliskan R., Akkus S., Tokman H. B. , Kocak B. T. , et al., "The prevalence of periodontal pathogenic bacteria in atherosclerotic cardiovascular disease", Clinical Laboratory, cilt.66, ss.893-900, 2020
13. Atahan E., Saribas S., Demirci M., Babalık A., Akkus S., Balıkcı A., Satana D., Ziver T., Dinc H. Ö. , Keskin M., et al., "Evaluating the effectiveness of anti-tuberculosis treatment by detecting Mycobacterium tuberculosis 85B messenger RNA expression in sputum", Journal of Infection and Public Health, 2020
14. Kocak B., Saribas S., Demiryas S., Yilmaz E., Uysal Ö., Kepil N., Demirci M., Dınc H. Ö. , Akkus S., Gülergün R., et al., "Association between polymorphisms in HLA-A, HLA-B, HLA-DR, and DQ genes from gastric cancer and duodenal ulcer patients and cagL among cagA-positive Helicobacter pylori strains: The first study in a Turkish population", Infection, Genetics and Evolution, cilt.82, 2020
15. Saribas S., Demiryas S., Yilmaz E., Uysal O., Kepil N., Demirci M., Caliskan R., Dinc H. Ö. , Akkus S., Gareayaghi N., et al., "Association between human leukocyte antigen gene polymorphisms and multiple EPIYA-C repeats in gastrointestinal disorders.", World journal of gastroenterology, cilt.26, ss.4817-4832, 2020
16. Dinç H. Ö. , Ozdemir Y. E. , Alkan S., Dalar Z. G. , Gareayaghi N., Sirekbasan S., et al. Evaluation of the Diagnostic Performance of Different Principles of SARS-CoV-2 Commercial Antibody Tests in COVID-19 Patients. MIKROBIYOLOJI BULTENI, cilt.55, sa.2, ss.207-222, 2021

ULUSAL YAYINLAR

1. Dinç H. Ö. , Taner Z., Özbey D., Gareayaghi N., Sirekbasan S., Kocazeybek B. S. , "Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerinde Rotavirüs ve Adenovirüs Sıklığı: Ocak 2013-Aralık 2018 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Verileri", Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, cilt.49, ss.206-211, 2019
2. Dinç H. Ö. , Özbey D., Sirekbasan S., Gareayaghi N., Kocazeybek B. S. , "İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi 2015-2018 Dönemi HIV Tarama ve Doğrulama Verilerinin Seroepidemiyolojik Değerlendirilmesi", ANKEM Dergisi, cilt.33, ss.89-94, 2019
3. Demir E., Dinç H. Ö. , Özbey D., Akkuş S., Ergin S., Kocazeybek B. S. "Retrospective Evaluation of Toxoplasma gondii, Rubella and Cytomegalovirus Seropositivity and Avidity Test Results in Patients Admitted to İU-C Cerrahpaşa Medical Faculty Hospital Between 2013-2018", Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, cilt.50, ss.35-43, 2020

4. Sirekbasan S., Dinç H. Ö. , Özbey D., Akkuş S., Sarıbaş S., Kocazeybek B. S. The Frequency and Results of QuantiFERON-TB Gold Test in Parallel with the Place of the Clinical Usage in the Cerrahpaşa Medical Faculty Clinics: A 2-year Retrospective Evaluation. Journal of Ankara University Faculty of Medicine, cilt.73, sa.3, ss.203-207, 2020.
5. Dinç H. Ö. , Alkan S., Ozbey D., Sirekbasan S., Gareayaghi N., Cihan M., et al. HIV'le İnfekte Bireylerde Sifilis Koinfeksiyonunun Değerlendirilmesi. Klimik Dergisi, cilt.33, sa.3, 2020.
6. Ziver T., Dinç H. Ö. , Özbey D., Akkuş S., Aslan B., Cihan M., et al. Retrospective Evaluation of Helicobacter pylori Antigen Positivity in the Stool Samples of Patients with Gastroduodenal Complaints. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 2021.

ULUSLARARASI BİLDİRİLER

1. Bahar Tokman H., Taner Z., Özdemir S., Dinç H. Ö. , Öztürk Y., Sadunoğlu Güler M., Akkuş S., Ulutürk T., İskender S., Gönüllü N., et al., "Bacteria isolated from ulcers due to vascular insufficiency in non-diabetic patients receiving maggot therapy", 10th International Conference on Biotherapy, 4 - 09 Ekim 2017, ss.43-44
2. Bahar Tokman H., Taner Z., Özdemir S., Ulutürk T., Dinç H. Ö. , Gönüllü N., Demirpek U., Ağgez H., Sirekbasan S., Polat E., "Spectrum of bacteria isolated from chronic diabetic foot ulcers of patients receiving maggot therapy", 10th International Conference on Biotherapy, İstanbul, Türkiye, 4 - 09 Ekim 2017, ss.24
3. Kocazeybek B. S. , Ergin S., Çalişkan R., Demiryas S., Kepil N., Dinç H. Ö. , Dağ H. H. , Dağdeviren E., Bahar Tokman H., Sarıbaş S., et al., "The importance of the association of cagL with cagA, vacAs/m and babA gene regions in patients withgastric cancer, duodenal ulcer and non-ulcer dyspepsia related to H. pylori: First in vitro study fromTurkey", The 18th International Congress on Infectious Diseases (ICID), 1 - 04 Mart 2018
4. Kocazeybek B. S. , Gülergün R., Bahar Tokman H., Ergin S., Çalişkan R., Demiryas S., Dinç H. Ö. , Dağ H., Dağdeviren H. E. , Ziver T., et al., "Helicobacter pylori'nin 23S rRNA genlerindeki mutasyonlar klaritromisin direncine aracılık eder", V. BİLİM GÜNLERİ, Türkiye, 17 - 18 Mart 2018
5. Kocazeybek B. S. , Dağ H. H. , Bahar Tokman H., Çalişkan R., Demiryas S., Ergin S., Dinç H. Ö. , Ziver T., Saribas S., Kalayci F., et al., "Levofloxacin Reisstance and Mutations in the Genes gyrA and gyrB in Helicobacter pylori strains isolated from Dyspepsia", 26th International Medical Sciences Student Congress-IMSSC 4-6 May, 04 Mayıs 2018
6. Kocazeybek B. S. , Dağdeviren H. E. , Bahar Tokman H., Çalişkan R., Demiryas S., Kepil N., Yilmaz E., Ergin S., Dinç H. Ö. , Ziver T., et al., "Polymorphisms in HLA-DR genes, together with Helicobacter pylori infection could be a promising indicator for the risk of gastric cancer development", 26th International Medical Sciences Student Congress-IMSSC, 4 - 06 Mayıs 2018
7. Kocazeybek B. S. , Durman T., Bahar Tokman H., Sohrapi P., Habip Z., Sarıbaş S., Vatan A., Dinç H. Ö. , Altun Y. M. , Ziver T., et al., "Neopterin and soluble

CD14 (sCD14) levels as immunoactivation markers in aHBc only cases", 26th International Medical Sciences Student Congress-IMSSC, 4 - 06 Mayıs 2018

8. Kocazeybek B. S. , Şişman İ. T. , Bahar Tokman H., Gülergün R., Çalişkan R., Demiryas S., Kepil N., Ergin S., Dinç H. Ö. , Ziver T., et al., "Patterns of EPIYA motifs Among CagL and/or CagA Gene Positive Helicobacter pylori strains isolated from", 26th International Medical Sciences Student Congress-IMSSC 4-6 May, 4 - 06 Mayıs 2018
9. Bakır E., Dinç H. Ö. , Özbey D., Yüksel Mayda P., Ergin S., Kocazeybek B. S. , "İÜ-C. Cerrahpaşa Tip Fakültesi Hastanesi'nebaşvuran Hastalarda 2013-2017 yillari Arasinda *Toxoplasma Gondii* seropozitifliğinin Retrospektif Olarakdeğerlendirilmesi", Uluslararası 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 4 - 08 Kasım 2018
10. Dinç H. Ö. , Özbey D., Yüksel Mayda P., Kuşkucu M. A. , Midilli K., Kocazeybek B. S. , "2015-2018 Dönemi HIV Tarama ve Doğrulama Verilerinin Seroepidemiyolojik Değerlendirilmesi", XX. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya, Türkiye, 13 - 16 Mart 2019

ULUSAL BİLDİRİLER

1. Dinç H. Ö. , Bakır E., Yüksel Mayda P., Kocazeybek B. S. , "İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Seroloji/Elısa Ünitesine Gelen Serumlarda EBV Seropozitifliğinin Retrospektif Olarak 1,5 Yıllık Seroepidemiyolojik Değerlendirilmesi", 1.Viroloji Günleri, Türkiye, 25 Şubat 2016 - 26 Şubat 2016
2. Bakir E., Dinç H. Ö. , Aydoğan O., Yüksel Mayda P., Kocazeybek B. S. , "Cytomegalovirus (CMV) Seropozitif Olguların Demografik Verileri İle Birlikte Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi", 1.Viroloji Günleri, Türkiye, 25 - 26 Şubat 2016
3. Dinç H. Ö. , Kurt A., Balkan İ. İ. , Saltoğlu N., Cengiz S., Alisha L., Kuşkucu M. A. , Aygün G., "Bir Üniversite Hastanesinde Yatan Hastalarda Kolonizasyonun Araştırılması ve Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi", XVIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları (Klimik 2017) Kongresi, Antalya, Türkiye, 22 - 26 Mart 2017
4. Kurt A., Dinç H. Ö. , Küçük Aydın N., Balkan İ. İ. , Saltoğlu N., Cengiz S., Alisha L., Aygün G., "Bir Üniversite Hastanesinde Yatan Hastalarda infeksiyon/Kolonizasyon Yönünden Risk Faktörlerinin Dağilimi", XVIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları (Klimik 2017) Kongresi, Antalya, Türkiye, 22 - 26 Mart 2017
5. Dinç H. Ö. , Taner Z., Yüksel Mayda P., Kocazeybek B. S. , "Çocukluk yaş grubu gastroenteritlerinde rotavirus ve adenovirus sıklığı: Ocak 2013-Hazıran 2017 Cerrahpaşa Tıp Fakültesı verileri", 4. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Türkiye, 8 - 12 Kasım 2017
6. Taner Z., Dinç H. Ö. , Demirci M., Bahar Tokman H., "Anaerop Enfeksiyonlarin Laboratuvar Tanisinda Mikroskobik İnceleme Sonucununönemi: 5467 Örneği Kapsayan Retrospektif Bir Çalişma", 4. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Türkiye, 8 - 12 Kasım 2017
7. Aygün G., Dinç H. Ö. , Houssain N. A. , Balkan İ. İ. , Kamer K., Alisha L., Çarkı A., Saltoğlu N., "Vankomisin Dirençli Enterekok Sürveyansı Ile Mücadele Alanlarını Belirlemek: İç Hastalıkları Kliniklerinde Vankomisinie Dirençli

Enterokok Taşıyıcılığı", XIX. Türk Klinik Mikrobiyoloji Ve İnfeksiyon Hastaliklari Kongresi, Türkiye, 28 - 31 Mart 2018

8. Aygün G., Dinç H. Ö. , Tutan H., Balkan İ. İ. , Aygün P., Tayran N., Cengiz S., Saltoğlu N., "Hastanede Staphylococcusaureus Taşıyıcılığı Araştırılması: Nokta Prevelans Çalışması", XIX. Türk Klinik Mikrobiyoloji Ve İnfeksiyon Hastaliklari Kongresi, Türkiye, 28 - 31 Mart 2018
9. Dinç H. Ö. , Özbey D., Yüksel Mayda P. , Kuşkucu M. A. , Midilli K., Kocazeybek B. S. 2015-2018 Dönemi HIV Tarama ve Doğrulama Verilerinin Seroepidemiyolojik Değerlendirilmesi. XX. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Antalya, Türkiye, 13 - 16 Mart 2019.

KİTAPTA BÖLÜM

1. Dinç H. Ö., Genel İmmünoloji, "Sağlık Bilimleri için Mikrobiyoloji", Ömer Küçükbasmacı, Gökhan Aygün, Mert Ahmet Kuşkucu, Editör, Ankara Nobel Tıp Kitabevi, ss.21-47, 2019

Özel İlgi Alanları (Hobileri):