

---

# Hepatit C Virüs İnfeksiyonu Bulunan Hastaların Lenfositlerinde Glutatyon Peroksidaz ve Nitrik Oksit Aktiviteleri

Aysun BAY KARABULUT\*, Yaşar BAYINDIR\*\*, Çetin ÖZTÜRK\*,  
Emine SÖNMEZ\*\*\*, Nurzen SEZGİN\*, Engin GÖZÜKARA\*

\* İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,  
\*\* İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MALATYA  
\*\*\* Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

## ÖZET

Hepatit C virüsü (HCV) infeksiyonu bulunan hastaların lenfositlerinde glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve nitrik oksit düzeyini araştırdık. Bu amaçla Turgut Özal Tıp Merkezi'ne gelen 10 sağlıklı, gönüllü birey kontrol grubu (grup I), akut HCV infeksiyonu bulunan 10 hasta (grup II), tedavi almamış kronik HCV'li 10 hasta (grup III) ve 6 aylık interferon tedavisini (3 milyon U x 3/hafta) tamamlamış kronik HCV'li 10 hasta (grup IV) olmak üzere toplam 40 kişide lenfosit içi GSH-Px ve total nitrit düzeyini (nitrik oksit metaboliti= NO) ölçtük. Lenfosit GSH-Px aktivitelerinin ortalama değerleri; grup I'de  $548.5 \pm 46.96$  U/mg; grup II'de  $382.65 \pm 42.2$  U/mg, grup III'de  $736.01 \pm 57.47$  U/mg, grup IV'te  $592.03 \pm 56.74$  U/mg idi. Gruplar arasındaki fark anlamlıydı ( $p < 0.0001$ ). Lenfosit içi nitrik oksit değerlerini ise şöyle bulduk: Grup I'de  $25 \mu\text{mol/dL}$ , grup II'de  $23 \mu\text{mol/dL}$ , grup III'te  $13 \mu\text{mol/dL}$ , grup IV'te  $23 \mu\text{mol/dL}$ . Kontrol grubu (grup I), akut HCV grubu (grup II), tedavi gören kronik HCV grubu (grup IV)'nda nitrik oksit düzeyleri birbirine yakın iken tedavi almamış kronik HCV grubu (grup III)'nda nitrik oksit düzeyi diğerlerine göre düşük seviyede bulundu ( $p < 0.0001$ ). Sonuç olarak, lenfosit içi GSH-Px akut HCV infeksiyonlarında, nitrik oksit metabolitleri ise tedavi görmemiş kronik HCV'li-lerde düşük düzeydedir. Her 2 antioksidan seviyesi interferon tedavisi alan grupta (grup IV) normale yakın bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: HCV infeksiyonu, Lenfosit, Glutatyon peroksidaz, Nitrik oksit

## SUMMARY

### Glutathion Peroxidase and Nitric Oxide Activities in the Lymphocytes of Patients with Hepatitis C Virus Infection

We searched glutathion peroxidase (GSH-Px), and nitric oxide levels in the lymphocytes of patients with hepatitis C virus (HCV) infection. For this purpose we measured intralymphocyte glutathion peroxidase (GSH-Px) and total nitrite levels (nitric oxide metabolites= NO) in 40 patients [10 healthy individuals selected as a control group (group I), 10 patients with acute HCV infection (group II), 10 patients with chronic HCV infection (group III) and 10 patients with chronic HCV infection who were treated with interferon alpha (3 million Ux 3/week) for 6 months (group IV)] in Turgut Özal Medical Center. We found GSH-Px activity to be  $548.5 \pm 46.96$  U/mg,  $382.65 \pm 42.2$  U/mg,  $736.01 \pm 57.47$  U/mg, and  $592.03 \pm 56.74$  U/mg in

study groups, respectively. The difference between the groups was statistically significant ( $p < 0.0001$ ). Total nitrite level in lymphocytes was 25  $\mu\text{mol/dL}$ , 23  $\mu\text{mol/dL}$ , 13  $\mu\text{mol/dL}$ , and 23  $\mu\text{mol/dL}$  in study groups, respectively. Nitric oxid levels were similar in groups I, II, and IV; but it was low in untreated patients with chronic HCV infection (group III) ( $p < 0.0001$ ). In conclusion; intralymphocyte GSH-Px was lower in the patients with acute HCV infection, whereas nitric oxide metabolites were lower in the untreated patients with chronic HCV infection. Both GSH-Px and NO levels were found to be nearly normal, in the patients who received interferon therapy (group IV).

**Key Words:** HCV infection, Lymphocyte, Glutathion peroxidase, Nitric oxide

Hepatit C virüsünün (HCV) meydana getirdiği karaciğer hücre hasarı, genellikle virüse karşı oluşan immünyanıt ile ilişkilidir<sup>[1]</sup>. Hepatit virüslerinin, hepatositleri ve diğer hücreleri infekte etmelerinden sonra viral proteinlere yönelik özgün immünyanıtlar gelişmektedir. B lenfositler tarafından birçok viral antijene karşı geliştirilen antikor yanıtı, viral enfeksiyonun önlenmesi ve virüslerin opsonizasyonunda rol oynamaktadır<sup>[2]</sup>. Fakat virüsün yayılımının önlenmesi esas olarak CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T-lenfositler tarafından sağlanmaktadır. Kupffer hücreleri ve B-lenfositler, majör doku uygunluk veya histokompatibilite kompleks (MHC) class II molekülleri ile birlikte viral peptidleri CD4<sup>+</sup> T-lenfositlere sunmaktadır. Bu hücrelerden salınan sitokinler ise, B-lenfositleri ve CD8<sup>+</sup> T-hücrelerinin aktivitesini düzenlemektedir<sup>[3]</sup>. CD4<sup>+</sup> T-lenfositler, antiviral immünyanıtı başlatan hücrelerdir. Bu hücrelerden salınan sitokinlerin, hem virüsün oluşturacağı hastalık tipini hem de viral enfeksiyonun sonucunu belirlemede oldukça önemli oldukları düşünülmektedir<sup>[4]</sup>.

Kronik HCV enfeksiyonlarında interferon alfa (IFN- $\alpha$  2a ve IFN- $\alpha$  2b) tedavi protokolleri tek veya kombine tedaviler şeklinde uygulanmaktadır. Fakat kalıcı yanıt oranları %30-50 olup tedavi kesildikten sonra relaps oranları %50-70 civarındadır<sup>[5,6]</sup>. İnterferon etkisini arttıracak ajanlar denenmektedir<sup>[7]</sup>.

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) hidroperoksitletiren indirgenmesinden sorumlu bir antioksidan enzim olup hücre içi savunma mekanizmasında rol alan bir yapıdır. Yine nitrik oksit metabolitleri de aynı sistemin elementleridir<sup>[8]</sup>. Biz de HCV enfeksiyonlu hastalarda lenfosit içi GSH-Px ve NO aktivitelerinin nasıl olduğu ve interferon tedavisi alanlarda nasıl etkilendiğini ölçmek amacıyla bu çalışmayı planladık.

## **MATERYAL ve METOD**

### **Hastalar**

**Grup I:** Kontrol grubu; Turgut Özal Tıp Merkezi'ne gelen antioksidan tedavi almayan alkol kullanmayan, ilave bir hastalığı bulunmayan, 30  $\pm$  15 yaşları arasındaki 10 sağlıklı bireyden oluşturulmuştur.

**Grup II:** Akut HCV'li hasta grubu; klinik ve laboratuvar olarak akut HCV enfeksiyonu tanısı konmuş, 2-4 haftadır sarılık, halsizlik, idrar renginde koyulaşma, hepatomegali ve karaciğer enzimlerinde yükselme, HCV RNA pozitifliği bulunan ve enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji servisinde yatan veya polikliniğine müracaat eden 10 hastadan oluşturulmuştur.

**Grup III:** Kronik HCV'li hasta grubu; 6 aydan uzun süredir anti-HCV pozitif, HCV RNA pozitif ve minimal ALT-AST yüksekliği bulunan, halsizlik ve yorgunluk gibi hafif semptomları olan 10 hastadan oluşturulmuştur.

**Grup IV:** Kronik HCV'li olup 3 milyon ünite x 3/hafta olmak üzere 6 aylık IFN- $\alpha$  tedavisini tamamlamış 10 hastadan oluşturulmuştur.

### **Lenfosit Numunelerinin Hazırlanması**

Hastalardan ve kontrol grubundan 10 mL heparinize kan kübital medyan venlerden alındı. Lenfositler Boyum tarafından tarif edilmiş olan yöntemle Histopaq-1077 aracılığıyla ayrıldı<sup>[9]</sup>. Alınan kanlar cam tüplere önce 2 mL Histopaq-1077 konarak üzerine yavaşça 45° açı ile ilave edildi. Kanlar 400 x g'de +4°C'de 30 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki plazma kısmı pastör pipeti ile ayrı bir eppendorf tüpüne alınarak -40°C'de saklandı. Alttaki mononükleer hücre tabakası Histopaq'ın içine girilerek temiz bir tüpe alındı. Yeni lenfosit tabakası üzerine 10 mL PBS'den ilave edildikten sonra 250 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Üzerindeki kısım atılarak alttaki kısmın üzerine yine PBS ilave edilerek 2 defa daha santrifüj edildi. Lenfositler 0.5 mL PBS ile saklandı. Çalışma sırasında 30 siklus (30 mW/cm<sup>2</sup>, 2MHz'de 72 MS/D'de 10 saniye aralıklarla 3 defa sonifikasyon) sonrası 10.000 x g'de ultrasantrifüj yapıldı. Üstteki kısım alınarak çalışıldı. Lenfositlerde protein tayini için Lowry yöntemi kullanıldı<sup>[10]</sup>.

### **GSH-Px Enzim Aktivitesi Ölçümü<sup>[11]</sup>**

**a. Kullanılan reaktifler:** EDTA'lı fosfat tamponu; 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 L ha-

zırlayıp içerisine 5 mL'lik EDTA ilave edildi.  $\text{NaN}_3$  (sodyum azid): 1 mM, redükte glutasyon (GSH): 2 mM,  $\text{H}_2\text{O}_2$ : 0.25 mM, NADPH: 0.2 mM, GSSG redüktaz: 1.2 U/mL.

**b. Deneyin yapılışı:** Lenfosit numuneleri için 5 kat sulandırılmış örnekler kullanıldı. Kör tüpüne 2.67 mL EDTA'lı PBS, test tüplerine 2.65 mL EDTA'lı PBS, bütün tüplere 100  $\mu\text{L}$  GSH, 100  $\mu\text{L}$  NADPH, 10  $\mu\text{L}$  GSH redüktaz, 10  $\mu\text{L}$   $\text{NaN}_3$  ilave edildikten sonra test tüplerine 20  $\mu\text{L}$  numune eklenip 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. Spektrofotometre 340 nm'de distile su ile sıfırlanıp, süre sonunda her tüpe 100  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  ilave edilip reaksiyon başlatılarak hemen 3 dakika süresince absorbans azalması takip edilecek şekilde okunmaya başlandı. GSH-Px spesifik aktivitesinin hesaplanmasında lenfosit için bulunan sonuçlar mg/proteine bölündü, böylece sonuç U/mg protein olarak bulundu.

#### Nitrat ve Nitrit Ölçümü<sup>[12]</sup>

**a. Kullanılan reaktifler:** Kadmiyum granülleri (0.1 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  içinde saklanır), glisin-NaOH buffer (pH= 9.7), sülfanilamid, N-naphthylethylene diamine (NNDA), çinko sülfat ( $\text{ZnSO}_4$ ) (75 mol/L), bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4$ ) (5 mmol/L), sodyum hidroksit (NaOH) (55 mmol/L).

$\text{NaNO}_2$  standardı; 10 mmol/L'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlandı.

$\text{KNO}_3$  standardı; 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lük 100 mL sodyum tetra borat içinde çözüldü.

**b. Deneyin yapılışı:** Numuneler,  $\text{ZnSO}_4$  ve NaOH ilave edilip 10 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 4000 x g'de 20 dakika santrifüj edilerek deproteinize edildi.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu; granüller 3 defa distile su ile yıkandı. Bir-iki dakika içinde  $\text{CuSO}_4$  içinde çalkalayarak bekletilip, 3 defa da glisin-NaOH ile yıkayıp 10 dakika içinde kullanılmak üzere kurutma kağıdı ile kurutuldu.

**Nitrat ölçümü:**  $\text{KNO}_3$ 'ün 10 milimolar'lık çözeltisinden 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200  $\mu\text{mol}$ 'lük seri dilüsyonlar hazırlandı ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulandı.

1 mL glisin-NaOH buffer tüm tüplere kondu. Birer mL deproteinize numunelerden ve standartlardan alındı. Kadmiyumlar 2.5 g tartıldı ve aktivasyon işleminden geçirilen tüm tüplerin üzerine kondu. Oda ısısında 90 dakika karıştırıcıda karıştırılarak beklendi. Süre sonunda nitrit ölçümü için bu tüpler-

den 2'şer mL alınarak üzerine 1 mL sülfanilamid ve 1 mL NNDA ilave edildi. Karıştırıldı ve 45 dakika beklendikten sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

**Direkt nitrit ölçümü:**  $\text{NaNO}_2$  standartlarından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200  $\mu\text{mol}$ 'lük seri dilüsyonlar hazırlandı ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan direkt olarak 2'şer mL alınarak ayrı tüplere kondu. Üzerine 1 mL sülfanilamid ile 1 mL NNDA eklendi ve 45 dakika sonra 545 nm'de okuma yapıldı.

**Nitrat aktivitesinin hesaplanması:** Bulunan nitrat değerlerinden nitrit değerlerini çıkardıktan sonra sulandırma faktörü olan 20 ile çarpıldı, yine nitrat standardından elde edilen faktör ile çarpma işlemi yaptıktan sonra çıkan sonuç  $\mu\text{mol/L}$  olarak hesaplandı.

#### BULGULAR

Tablo 1'de görüldüğü gibi GSH-Px aktivite değerleri grup I'de  $548.5 \pm 46.96$  U/mg, grup II'de  $382.65 \pm 42.2$  U/mg, grup III'te  $736.01 \pm 57.47$  U/mg, grup IV'te  $592.03 \pm 56.74$  U/mg olarak tespit edildi. One-Way ANOVA ile yapılan istatistiksel karşılaştırmada gruplar arasındaki farkın hangi ikili karşılaştırmalarından ortaya çıktığını anlamak için Post Hoc testlerden LSD testi uygulandı. Tüm gruplar arasında  $p < 0.0001$  bulundu. Buna göre lenfosit içi GSH-Px aktivitesini akut HCV'li hastalarda kontrole göre düşük bulurken kronik HCV'li hastalarda kontrole göre yüksek bulduk; kronik HCV'li olup interferon tedavisi alan hastalarda ise kontrole göre yüksek fakat normale yakın bulduk (Grafik 1). Lenfosit içi total nitrit aktivitelerinin ortalama değerleri ise grup I'de 25  $\mu\text{mol/dL}$ , grup II'de 23  $\mu\text{mol/dL}$ , grup III'te 13  $\mu\text{mol/dL}$ , grup IV'te 23  $\mu\text{mol/dL}$  olarak bulundu. Grup III nitrik oksit seviyesi diğer gruplardan anlamlı bir şekilde düşüktü ( $p < 0.0001$ ) (Grafik 2).

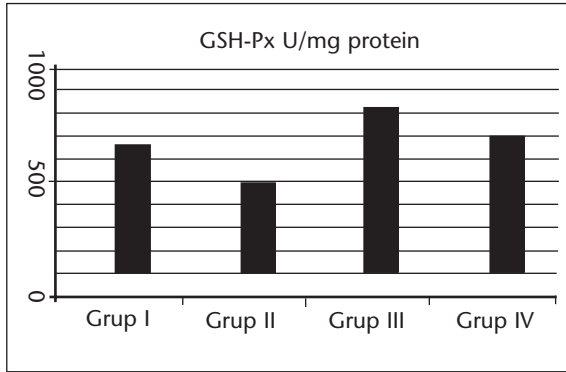
#### TARTIŞMA

Hepatit C enfeksiyonları kronikleşmesi ve karaciğerde irreversibl değişiklikler yapması nedeniyle önemli enfeksiyonlardır. Kronik enfeksiyonlar için interferon tedavileri tekli veya değişik ajanlarla kombine olarak uygulanır. Hücre içi savunma mekanizmalarının elemanlarından antioksidanlarla ilgili çalışmalar günümüzde yoğunluk kazanmış olup bu antioksidanların tedavilerde yer alması ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır.

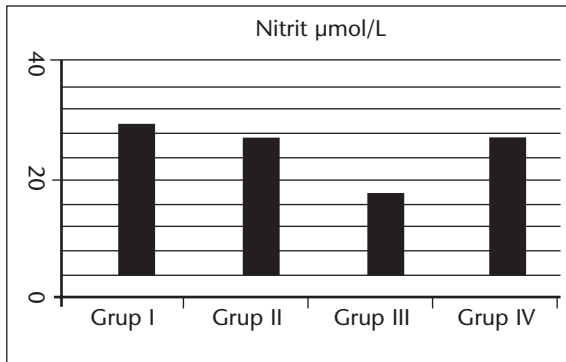
Kronik hepatit C ve B enfeksiyonunda plazma içi ve lenfosit içi glutasyon eksikliği olduğu, interferon ile birlikte glutasyon prekürsörü ajanların kullanılması

**Tablo 1. Gruplarda GSH-Px ve nitrik oksit düzeyleri**

|            | GSH-Px U/mg protein | p        | Nitrit µmol/dL | p        |
|------------|---------------------|----------|----------------|----------|
| • Grup I   | 548.5 ± 46.96       | -        | 25             | -        |
| • Grup II  | 382.65 ± 42.2       | < 0.0001 | 23             | > 0.0001 |
| • Grup III | 736.01 ± 57.47      | < 0.0001 | 13             | < 0.0001 |
| • Grup IV  | 592.03 ± 56.74      | < 0.0001 | 23             | > 0.0001 |



**Grafik 1. Gruplarda GSH-Px düzeyi.**



**Grafik 2. Gruplarda total nitrit düzeyi.**

sının tedavi etkinliğini arttırabileceği söylenmektedir<sup>[7,13]</sup>. Biz çalışmamızda akut HCV'lilerde düşük, kronik HCV'lilerde yüksek, interferon tedavisi alan grupta normale yakın GSH-Px seviyesi tespit ettik ( $p < 0.0001$ ). Kronik HCV'lilerdeki farklı sonuçlar, hastaların farklı evrelerde olmalarından kaynaklanabilir. Aynı zamanda enzim ölçümünde kullanılan metod farklılıkları da sonuçları etkileyebilir. Yapılan bir başka çalışmada da kronik HCV enfeksiyonlarında mononükleer hücrelerde GSH-Px değeri kontrole yakın bulunurken, bu hücrelerin sitozölü içinde ise kontrole göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Bu durum kronik HCV'li hastalarda yüksek glutasyon döngüsüne bağlanmıştır<sup>[14]</sup>.

Nitrik oksitler hücre içi serbest radikallerden olup özellikle viral enfeksiyonlarda rolü olan elementlerdir. İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz (İNOS) normalde hücre içinde olmayan virüs, bakteri vb. ile karşılaşınca salınan sitotoksik maddelerdir<sup>[8]</sup>. Ahn B ve arkadaşları, viral hepatit B ve C'de nitrik oksit ve peroksinitrit düzeyinin aşırı derecede artarak, tümör oluşumunu ve karaciğer hasarını arttırdığını yaptıkları çalışmada göstermişlerdir<sup>[15]</sup>. Yine yapılan bir başka çalışmada, İNOS'un viral hepatitte arttığı gösterilmiştir<sup>[16]</sup>. Amaro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, nitrik oksit ( $\text{NO}_2$ ) düzeyi kronik karaciğer hasarında düşük bulurken, kronik hepatit B enfeksiyonu nedeni ile interferon tedavisi alanlarda NO düzeyinde anlamlı farklılık bulunmamıştır. Kronik HCV enfeksiyonunda interferon tedavisi alanlarda ise NO düzeyi artmış olarak bulunmuştur<sup>[17]</sup>. Yapılan bir çalışmada, interferon-gama'nın T-hücrelerinde İNOS'u arttırdığı gözlenmiştir<sup>[18]</sup>. Bizim çalışmamızda total nitrit düzeylerini kontrol grubu, akut HCV grubu, tedavi alan kronik HCV grubunda normale yakın bulunurken tedavi almayan kronik HCV grubunda düşük bulundu ( $p < 0.0001$ ). Bu düşüklük kronik HCV vakalarında NO tüketimine veya İNOS aktivitesinde azalmaya bağlı olabilir, düşüncesindeyiz.

Sonuç olarak, akut HCV enfeksiyonlularında lenfosit içi GSH-Px seviyesi düşük iken, tedavi almamış kronik HCV'lilerde NO düzeyleri düşüktür. Glutasyon gibi antioksidanların interferon tedavi protokollerine dahil edilerek yeni klinik çalışmaların yapılması; bu antioksidanların HCV enfeksiyonları tedavisinde kalıcı yanıt oluşturmada rollerini daha iyi açıklayacak, düşüncesindeyiz.

#### KAYNAKLAR

1. Zignego AL, Maccia D, Monti M, et al. Infection of peripheral blood mononuclear cells by hepatitis C virus. *J Hepatol* 1992;15:382-6.
2. Kozie IM. Immunology of viral hepatitis. *Am J Med* 1996;100:98-104.
3. Eckels DD, Flomenberg P, Gill JC. Hepatitis C virus: Models of immunopathogenesis and prophylaxis. *Transfusion* 1996;36:836-44.

4. Tsai SL, Huang SN. T-cell mechanisms in the immunopathogenesis of viral hepatitis B and C. *J Gastroenterol Hepatol* 1997;12:227-35.
5. Davis GL, Balart LA. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alpha. *N Engl J Med* 1989; 321:1501-6.
6. Camps J, Castilla A, Ruiz J, Civera MP, Prieto J. Randomized trial of lymphoblastoid alpha interferon in chronic hepatitis C: Effects on inflammation, fibrogenesis and viremia. *J Hepatol* 1993;17:390-6.
7. Beloqui O, Preito J, Suarez MGB, et al. N-acetyl cysteine enhances the response to interferon- $\alpha$  in chronic hepatitis C: A pilot study. *Journal of Interferon Research* 1993;13:279-82.
8. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993;268:1231-5.
9. Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand J Clin Lab Invest* 1968;21:77-80.
10. Lowry O, Rosebrough NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurements with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1956;193:265-75.
11. Paglia DE, Valentina WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathion peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-69.
12. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;3618:1440-3.
13. Weiss L, Hildt E, Hofschneider PH. Antihepatitis B virus activity of N-acetyl-L-cysteine (NAC): New aspects of a well-established drug. *Antiviral Research* 1996;32:43-53.
14. Matiushin BN, Loginov AS, Iakimchuk GN, Tkachev VD. Activity of blood antioxidant enzymes in chronic liver damage. *Vopr Med Khim* 1995;41:54-6.
15. Ahn B, Han BS, Kim DJ, Ohshima H. Immunohistochemical localization of inducible nitric oxide synthase and 3-nitrotyrosine in rat liver tumors induced by N-nitrosodiethylamine. *Carcinogenesis* 1999;20:1337-44.
16. Majano PL, Garcia-Monzon C, Lopez-Cabrera M, et al. Inducible nitric oxide synthase expression in chronic viral hepatitis. Evidence for a virus-induced gene upregulation. *J Clin Invest* 1998;101:1343-52.
17. Amaro MJ, Bartolome J, Pardo M, Cotonat T, Lopez-Farre A, Carreno V. Decreased nitric oxide production in chronic viral hepatitis B and C. *J Med Virol* 1997; 51:326-31.
18. Schweyer S, Mihm S, Radzun HJ, Hartmann H, Fayyazi A. Liver infiltrating T lymphocytes express interferon gamma and inducible nitric oxide synthase in chronic hepatitis C virus infection. *Gut* 2000;46:255-9.

#### Yazışma Adresi:

Dr. Aysun BAY KARABULUT

Necip Fazıl Kısakürek Cad.

8. Sok. Bulut Apt. A Blok Kat: 4 No: 10

MALATYA

Makalenin Geliş Tarihi: 09.04.2001

Kabul Tarihi: 22.08.2001

## 17. ANKEM KLİNİKLER VE TIP BİLİMLERİ KONGRESİ

[www.ankemdernegi.org.tr](http://www.ankemdernegi.org.tr)

26-30 Mayıs 2002

Merit Limra Hotel

Kiriş, ANTALYA

### Bilimsel Sekreteryaya

Prof. Dr. Tansu SALMAN

Tel ve Faks: 0212 635 11 81

e-mail: tsalman@istanbul.edu.tr