

T.C.
Sağlık Bakanlığı
Atatürk Eğitim Hastanesi
Gastroenteroloji Kliniği
Şef: Doç.Dr. Belkıs Ünsal

KRONİK HEPATİT C'Lİ HASTALARDA İMMÜNOLOJİK GÖSTERGELER

Gastroenteroloji uzmanlık tezi

Dr. Tahir Buran

Mart 2001, İzmir

Gastroenteroloji asistanlığım süresince beni yönlendiren ve yetişmemde büyük emeği geçen Gastroenteroloji Kliniği Şefi sayın Doç.Dr. Belkis Ünsal'a; bu çalışmanın hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Gastroenteroloji Kliniği uzmanları Doç.Dr. Kadir Aksöz, Uz.Dr. Nafi Yazıcıoğlu ve Uz.Dr. Gazi Yörük'e; karaciğer biyopsilerinin değerlendirilmesini yapan Patoloji Kliniği Şef Yrd. Doç.Dr. Mine Tunakan'a teşekkürü borç bilirim.

Dr. Tahir Buran, Mart 2001

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Giriş	1
Genel Bilgiler	3
Materyel ve metod	15
Bulgular	18
Tartışma	24
Sonuçlar	34
Özet	35
Kaynaklar	36

GİRİŞ

Hepatit C virüsünün neden olduğu C tipi viral hepatit, dünyada başlıca sağlık problemlerinden biri olup yaklaşık 170 milyon insan Hepatit C virüsü(HCV) ile enfektedir. Avrupa'da prevalans % 0,5-2 arasında değişmektedir. HCV'nin en önemli özelliği %85 gibi yüksek oranlarda kronikleşmesidir. Dünyada kronik hepatit (KH) prevalansı %0,1-5 arasında değişmekte olup, ortalama % 3 civarındadır. Amerika'da 4 milyon, Batı Avrupa'da 5 milyon kronik HCV taşıyıcısı mevcuttur. Ülkemizde anti-HCV pozitifliği % 1 civarında olmasına rağmen, KH ve karaciğer sirozundaki katkısı yaklaşık %25 civarındadır.

Gelişmiş ülkelerde HCV akut hepatitin %20'sinden, KH'nin %70'inden, son dönem sirozun %40'undan, hepatosellüler karsinomunun %60'undan ve karaciğer transplantasyonunun %30'undan sorumlu tutulmaktadır(1). Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de viral hepatitlerle ilgili yeni gelişmeler olmakta ve araştırmalar devam etmektedir.

Blumberg ve arkadaşlarının 1965 yılında yaptıkları çalışmalarla Hepatit B virüsünün ilk viral hepatit etkeni olarak gösterilmesi sonrası hepatit ile ilgili çalışmalar hız kazanmış ve 1971 yılında hepatit A virüsü, 1976 yılında hepatit D virüsü, 1983 yılında hepatit E virüsü, 1988 yılında hepatit C virüsü ve son olarak 1995 yılında da hepatit G virüsü bulunmuştur. Virüslerin genomik yapılarının anlaşılması serolojik testlerin geliştirilmesinde ve aşı çalışmalarında yeni yöntemlerin kullanılmasında önemli rol oynamıştır. Sarılıkla ilgili tarihi kayıtların Babilli hekim Talmud zamanına kadar indiği göz önüne alınırsa, 1988 yılında HCV'nin saptanması ile geçen 12 yıllık sürede virüs hakkındaki bilgilerimiz, tanı testleri ve tedavide büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Ancak Hepatit C ile ilgili çözümlenmemiş sorunlar vardır. Bunlar kesin tedavinin söz konusu olamaması ve başarılı bir aşının bulunmamasıdır. Günümüzde ideal tedavinin kombine tedavi olduğu görüşü benimsenmekle birlikte, kesin tedavi yöntemi olmadığı ve bu konuda yoğun ve çeşitli araştırmaların yapıldığı bilinmektedir. Koruyucu bir aşı henüz söz konusu değildir. Hepatit C virusunun insan ve

şempanzeleri enfekte etmesinden dolayı aşı hazırlanmasında güçlüklerle karşılaşmaktadır. Bu nedenle daha iyi hayvan modellerine gereksinim vardır. İn vitro HCV replikasyonu iyi olmamaktadır. Virusun kılıf proteinleri (E1/E2) oldukça yüksek oranlarda mutasyonlar göstermektedir. Bu nedenle uzun süreli koruyucu bağışıklık sağlanamamaktadır.

Parenteral yolla bulaşan hepatit C virüsü %50-80 oranında kronik hepatite neden olmaktadır(2,3). HCV ve bu virusun neden olduğu enfeksiyonun klinik özellikleri 1988 yılından beri bilinmesine rağmen; olguların yaklaşık %50'sinde bulaşım yolu ve enfeksiyonun kaynağı kesin olarak belirlenemediği gibi, virüs ile immün sistem arasındaki etkileşim ve enfeksiyonun kronikleşme patogenezi de hala tam olarak anlaşılamamıştır(2,4).

Hepatit C enfeksiyonu seyrinde meydana gelen ekstrahepatik bulguların dolaşan immün komplekslere bağlı olduğu bildirilmiştir. Bunun direkt sitopatik ya da sitotoksik T hücre aracılığı ile olabileceği belirtilmişse de bugün için ortaya çıkan doku hasarının mekanizması hakkında çok az şey bilinmektedir(3). Ortaya çıkan ekstrahepatik bulgulardan esansiyel mikst kriyoglobulinemi (EMC), porfiriya kutana tarda (PCT), membranoproliferatif glomerulonefrit (MPG) ile HCV arasında güçlü; Mooren korneal ülser, otoimmün tiroidit ile muhtemel; Sjögren sendromu, liken planus, idiyopatik pulmoner fibrozis, idiyopatik trombositopenik purpura, aplastik anemi, romatoid artrit, diabetes mellitus, vaskülit ve astma ile zayıf bir ilişki olduğu saptanmıştır. Bu nedenle EMC, PCT ve MPG saptanan kişilerde HCV varlığı; HCV enfeksiyonu saptanan kişilerde EMC, PCT, MPG, tiroid disfonksiyonu ve diabetes mellitus varlığı araştırılmalıdır(3).

Ekstrahepatik bulguların bir kısmının dolaşan immün komplekslere bağlı olması, beraberinde kompleman aktivasyonunun da rolünün olduğunu düşündürmüştür. Burada HCV enfeksiyonunun klasik kompleman yolunu aktive ederek hipokomplementemiye neden olabileceği bildirilmiştir(5).

Bu tez çalışmasında amacımız HCV RNA pozitif olan ve karaciğer biyopsisi ile kronik hepatit C tanısı konulan hastalarda prospektif olarak otoimmün markerler ve birlikte giden immünolojik hastalık belirtilerini araştırmak, prevalansını saptamak ve sağlıklı kontrol grupları ile karşılaştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

KRONİK HEPATİTLER

Değişik etiyojilere bağlı olarak karaciğerde inflamasyon ve nekroz oluşturan ve en az 6 ay devam eden, değişik şiddetteki bir dizi hastalığa kronik hepatit denilmektedir(6,7). Çeşitli virüsler, ilaçlar ve dejeneratif hastalıklar kronik hepatite neden olurlar(8,9). Bunların başlıcaları Hepatit B, Hepatit C, Rubella, Cytomegalovirüs, otoimmün nedenler, α 1 antripsin eksikliği, Wilson hastalığı, alkol ve ilaçlardır.)

Kronik hepatitler ilk kez 1974 yılında sınıflandırılmıştır. Sınıflandırmanın amacı hastalığı aktivitesine göre alt gruplara ayırmak, prognoz hakkında bilgi edinmek ve immüno-supressif tedavi için kriterler belirlemektir. O dönemde kronik hepatit yapan nedenlerin çoğunun bilinmemesinden dolayı vakaların büyük bir kısmı otoimmün hepatit olarak değerlendiriliyordu(6,10). Günümüzde kronik hepatitlerin etiyojisi, doğal gidişi, patogenezi, serolojisi ve tedavisi hakkında daha fazla bilgi elde edilmiştir. Bu nedenle kronik hepatit sınıflaması yalnızca histolojiye dayalı sınıflama yerine daha fazla bilgi verici parametreler içeren sınıflama olmalıdır. Günümüzde kronik hepatit sınıflaması; etiyojik nedeni, histolojik aktivite derecesi ve evresini gösterecek şekilde yapılmaktadır(6,10).

- 1- Etiyojik nedene göre sınıflandırma: Hepatit B, Hepatit B+D, Hepatit C, diğer virüsler, otoimmün hepatitler ve ilaca bağlı hepatitler olarak ayrılırlar. Bunlar klinik ve serolojik olarak tanımlanabilmektedir.

2- Aktivite derecesine göre sınıflandırma: Bu sınıflama, karaciğer biyopsi materyalinin incelenmesi ile elde edilen bilgilerden faydalanılarak nekroinflamatuvar aktivitenin histolojik olarak saptanmasına dayanır. Periportal nekroz ve portal alanı çevreleyen hücre dizisinin inflamatuvar hücrelerle tahrip edilmesi sonucu oluşan güve yeniği nekrozu, vasküler yapılar arasında köprüler oluşturan konfluent nekroz, lobül içinde hepatosit dejenerasyonu ve fokal nekroz, portal inflamasyon derecesi saptanır ve skorlanarak sayısal histolojik aktivite indeksi elde edilir. Önerilen skrolama sistemlerinin en popülerleri Knodell ve İshac'ın çalışmaları sonucu oluşan Histolojik Aktivite indeksi (HAI)dir(9). Histolojik aktivite indekslerine göre kronik hepatitler minimal, hafif, orta ve şiddetli olarak 4 grupta incelenmektedir.

3- Evreye göre sınıflandırma : kronik hepatitlerin evresi yani hastalığın ilerleme derecesi fibrozis derecesine bağlıdır. Fibrozis çok ilerler ve lobülün normal yapısını bozarak parankimal nodül etrafını çevreleyen fibroz septa oluşur ise histolojik lezyon siroz olarak tanımlanır. Evrelemede fibrozisin derecesi aşağıdaki gibidir(9)

Evre 0 - Fibrozis yok

1 - hafif fibrozis

2 - orta fibrozis

3 - şiddetli fibrozis (Köprüleşme nekrozunu da içeren)

4 - Siroz

Ülkemizde kronik hepatit yapan nedenler arasında viral ajanlar ilk sırada olup en sık HBV ve daha sonra HCV'ye bağlı kronik hepatitler görülmektedir(6).

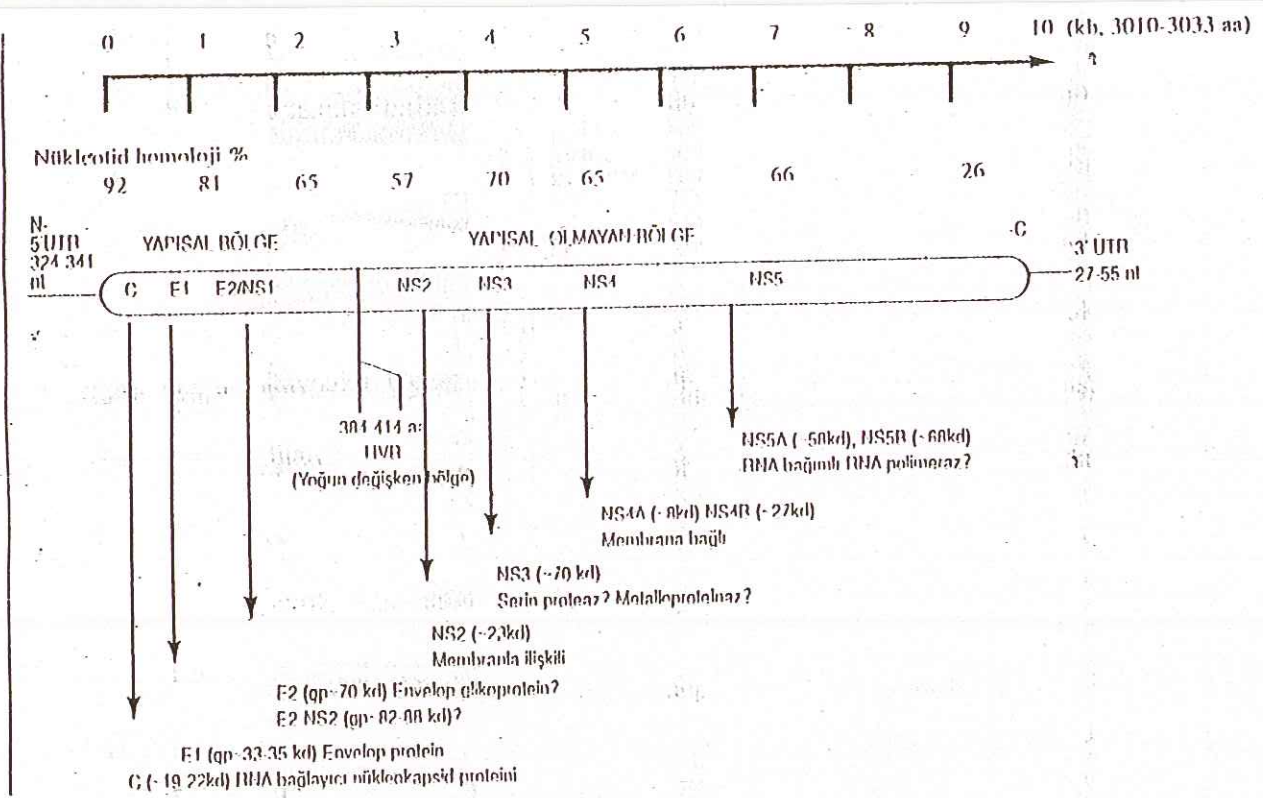
HEPATİT C VİRÜSÜ

Hepatit C virusu 40-50 nm büyüklüğünde lipit bir zarf taşıyan küçük bir virüstür(1). Hücre kültürlerinde üretilmeşi ve serumda düşük titrede bulunmasından dolayı viriyonun özellikleri ayrıntılı olarak bilinmemektedir. Yakın zamanlarda HCV'nin immün elektron mikroskopi ile görüntülenmesi başarılmış, 55-65 nm büyüklüğünde, üzerinde zarfi delerek çıkan ince dikensi yapılar taşıyan partiküller görüntülenmiştir. Viriyonun 33 nm'lik kor partiküllerinden oluştuğu saptanmıştır(1).)

Hepatit C virusunun genomu tek zincirli pozitif sens bir RNA molekülüdür. Yaklaşık 9700 kilobaz uzunluğundadır ve tek bir open reading frame (ORF) içerir(1). Bu ORF hemen hemen tüm genomu kapsamaktadır. Nükleik asit ve amino asit düzeyinde, diğer genomlarla karşılaştırıldığında, HCV'nin onlarla benzerlik göstermediği saptanmıştır, bu da HCV'nin yeni bir patojen olduğunu göstermektedir. Genom özellikleri en çok filavi virüslere benzemektedir. Filaviviridae ailesi içindeki insan filavi virüsleri ve hayvan pesti virüslerinden ayrı olarak HCV'nin ayrı bir cins olarak ele alınması bugün kabul görmektedir ve Hepaci virüs cinsi adı altında yeni bir grupta yer alması önerilmektedir(1).

Çeşitli genom incelemeleri ve bakteriden memeli hücrelerine kadar çeşitli invitro sistemlerde yapılan incelemeler sonucu HCV genomu ile ilgili elde edilen veriler Şekil 1 de gösterilmiştir.

Bugün kimi araştırmalara göre 6, kimine göre 11 ana HCV tipi bulunmaktadır(1). Bu genotiplerin çeşitli alt tipleri ile birlikte yaklaşık 70'e ulaştığı bildirilmektedir. Henüz yeni ortaya çıkan birtakım genotiplerin genotip 6'nın alt grupları mı, yoksa yeni genotipler mi olacağı kesinlik kazanamamıştır(1). Genotip 1,2,3'ün tüm dünyada yaygın bir şekilde görüldüğü; genotip 1b'nin Japonya, Güney ve Doğu Avrupa ve Güneydoğu Asya'da ana genotipi oluşturduğu bugün genotiplerle ilgili söylenebilecek en önemli özelliktir.



Şekil I : HCV genom organizasyonu.

Ülkemiz kaynaklı HCV suçlarının genotiplendirilmesi ile ilgili yapılmış çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre en sık genotip 1b görülmektedir(1,7). Genotiplerin toplumlarda dağılımı, risk grupları ve yaş gibi faktörlerle de değişiklik göstermektedir.

Bugün genotiplerle ilgili yapılan birçok çalışma sonuçlarına göre belli genotiplerin hastalığın klinik gidişi ve tedavisi ile ilgili farklılıklar içerdikleri söylenebilmektedir. Özellikle HCV genotip 1b ile enfeksiyon ve viral yükün yüksekliği interferona düşük düzeyde yanıt yada yanıtızlıkta birbirinden bağımsız faktörler olarak karşımıza çıkmaktadırlar(1). Uzun süreli yanıt elde edilen hastalar genotipleri açısından incelendiğinde, genotip 2 ve 3 ile enfekte olanlarda, 1b ve 1a ile enfekte olanlara oranla HCV RNA'nın serum, karaciğer, hatta mononükleer lökositlerden eradikasyonu belirgin bir şekilde daha fazla olmaktadır(1). Yine ağır kronik hepatit ve siroz ile genotip 1b arasındaki ilişki de araştırılmıştır. İtalya ve Fransa'da yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre, genotip 1b ile siroz arasında ve hastalığın uzun süreli gidişi ile yakın bir ilişki bulunmuştur(1). İntravenöz uyuşturucu kullananların başlıca tip 3,2 ve daha az bir oranda da tip 1a ile enfeksiyona yakalandıkları gösterilmiştir. Tip 1b ise kan verilmesi sonrası ve sporadik hepatitlerde daha sık oranda bulunmaktadır(1).

Bugün HCV enfeksiyonu ve genotiplerle ilgili önemli bir bulgu; genotip 1b ile enfekte karaciğer transplantasyonu uygulananlarda diğerlerine göre daha sık ve hızlı akut ve kronik hepatit gelişmesidir.

SEROLOJİK TANI

HCV enfeksiyonu tanısı için bugün kullanılan en pratik yöntem antikor aranmasıdır. Bu amaçla çeşitli rekombinant ve sentetik antijenlerin kullanıldığı ELISA testleri geliştirilmiştir. Bugüne dek 3 kuşak ELISA testi kullanılmıştır ve bir sonra çıkan her test HCV serolojisini bir adım ileriye götürmüştür.

İlk kuşak testler tek bir rekombinant HCV klonundan (C-100-3) elde edilmiş testlerdir. NS3 geninin bir kısmı ile NS4 geni ürününün nerede ise tamamını içermişlerdir. HCV epidemiyolojisi ile ilgili bilgilerimizin son derece artmasını sağlamış ve kan bankalarında tarama testi olarak kullanılmaya başlanması ile de transfüzyona bağlı hepatitlerin sayısında önemli düşüş sağlamışlardır. Ancak duyarlılıkları ve özgüllükleri düşük olup serokonversiyonu saptamada yetersiz kalmışlardır.

İkinci kuşak ELISA testleri kor(C 22-3) ve NS3 (C33c) bölgesinden ek rekombinant proteinler içermektedirler.

Üçüncü kuşak testlerde NS5'ten bir rekombinant protein eklenmiştir. Kan donörlerinin taranması sonucu transfüzyona bağlı hepatit C virüsü enfeksiyonu nerede ise sıfırlanmıştır. Ancak halen sorunlar bitmiş sayılamaz; serokonversiyonun oluşumu 3. kuşak testlerde 6-8 haftayı bulmakta, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde ise fazla yaralı olmamakta ve kan donörlerinde yalancı pozitiflik elde edilebilmektedir(1).

HCV RNA MİKTARININ BELİRLENMESİ

HCV enfeksiyonunun tanısında kullanılan çeşitli yöntemlerden (ELİSA anti-HCV, PCR ile HCV RNA , serum ALT-AST miktarları, histopatolojik yöntemler) kullanıma en son girmiş olan serum /plazma HCV RNA miktarının saptanmasıdır. Özellikle kronik HCV enfeksiyonunda hastalığın gidiş ve tedavisinin takibinde önem kazanmıştır. Bugün bunu kanıtlayan bir çok çalışma yayınlanmış durumdadır. HCV RNA miktar belirlenmesi ile, hastalığın doğal ilerleyişi "monitörize" edilebilecek, belli bir hasta grubu için en uygun tedavi protokolü belirlenebilecek, hastaların tedavisi için, tedaviye yanıt verebilecekleri en uygun zaman seçilebilecek, tedavinin dozu ve süresi tayin edilebilecek, yanıtız olan ya da relapslar gösterenlere alternatif tedavi protokolleri uygulanabilecektir. Bugün kantitatif yöntemler olarak PCR ve PCR dışı yöntemler kullanıma girmişlerdir. Hedef molekül HCV RNA'dır. Tüm yöntemler çeşitli çoğaltma prensiplerini kullanmaktadırlar.

HCV'NİN BULAŞMA YOLLARI VE YÜKSEK RİSK GRUPLARI

Enfekte kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu en bilinen bulaşma yoludur. Ancak kan merkezlerinin donör kanlarında anti HCV taraması yapmaya başlamasından sonra batı ülkelerinde bu yolla bulaşma çok azalmıştır. HCV enfeksiyonu seksüel yolla geçebilir. Ancak hepatit B kadar sık değildir. Tükürükte anti HCV ve HCV RNA gösterilmiştir. Isırmakla geçişin tanımlanmasına rağmen öpüşme ile geçip geçmediği henüz açık değildir. Anneden bebeğe vertikal geçiş nadir görülmektedir. Bunun için annedeki vireminin yüksek olması gerekmektedir. Sağlık personeli de HCV yönünden risk grubuna girmektedir. Ancak HBV'ye göre risk daha düşüktür. Bunun nedeni kandaki HCV titresinin HBV'ye göre daha düşük olmasıdır. Bilinen bu yolların dışında da HCV bulaşmasının söz konusu olabileceği

düşünülmektedir. Çünkü halen HCV vakalarının % 25-50'sinde bulaş yolu saptanamamaktadır.

HCV'nin kuluçka süresi 15-180 gündür. Akut hepatitte klinik bulgular belirgin değildir. Vakaların % 5-10'unda tipik ikterik hepatit görülür. En önemli laboratuvar bulgusu ALT yüksekliğidir. Anti HCV pozitifliği ALT yükselmesinden 2 ay sonra pozitifleşir. Bu sürede HCV'den şüphe edilirse HCV RNA baktırılmalıdır. Akut C hepatitli hastaların yaklaşık %25'i iyileşir. ALT düzeyi normale iner, anti HCV ve HCV RNA negatifleşir. Hastaların %25'inde ise ALT normale iner, anti HCV negatifleşir ancak HCV RNA pozitifdir. Kronikleşme vakaların yarısında görülür. Bunlarda ALT seviyesi yüksektir, anti HCV pozitif ve HCV RNA pozitifdir.

KRONİK HEPATİT C

Altı ay süreyle ALT seviyeleri normale dönmeyen ve hepatit markerleri kaybolmayan hepatit C vakaları kronik hepatit C olarak kabul edilmektedir(1,12). Eğer olay dekompanse siroz veya hepatosellüler karsinom aşamasına gelmemişse, kronik hepatit C tanısı konulan kişilerin yarısından fazlasında bu tanı; kan bağışi esnasında, ya da kontrol amacıyla yapılan bir tetkikte veya herhangi bir nedene bağlanmayan yakınmalar nedeniyle yapılan tetkikler sonucunda konulmaktadır. Dolayısı ile kronik hepatit C tanısı konulanların yarısından fazlasında yakınma yoktur.

Hepatit C'nin kronikleşmesinde risk faktörü olarak kabul edilen özellikler:

- 1- Post-transfüzyon hepatiti
- 2- Parenteral bulaş
- 3- Akut enfeksiyon sırasında semptomların şiddetli olması
- 4- ALT seviyesinin dalgalanma göstermesi.
- 5- Hastanın erkek olması.

HCV'nin karaciğerde oluşturduğu hasarın mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak hem virüsün hücre üzerinde direkt sitopatik etkisinin olduğuna hem de C virüsünün uyardığı hücresel bağışıklığın hasar oluşturduğuna dair ipuçları vardır. Genel kanı ikinci mekanizmanın daha etkili olduğu şeklindedir. Hangi mekanizma ile olursa olsun kronik hepatit C enfeksiyonunda karaciğerde oluşan hasarın bazı özellikleri vardır. Bunlar:

- 1- Karaciğerde makroveziküler yağlı değişiklikler,
- 2- Portal mesafelerde lenfosit agregasyonları,
- 3- Safra kanaliküllerinde hasar oluşmasıdır.

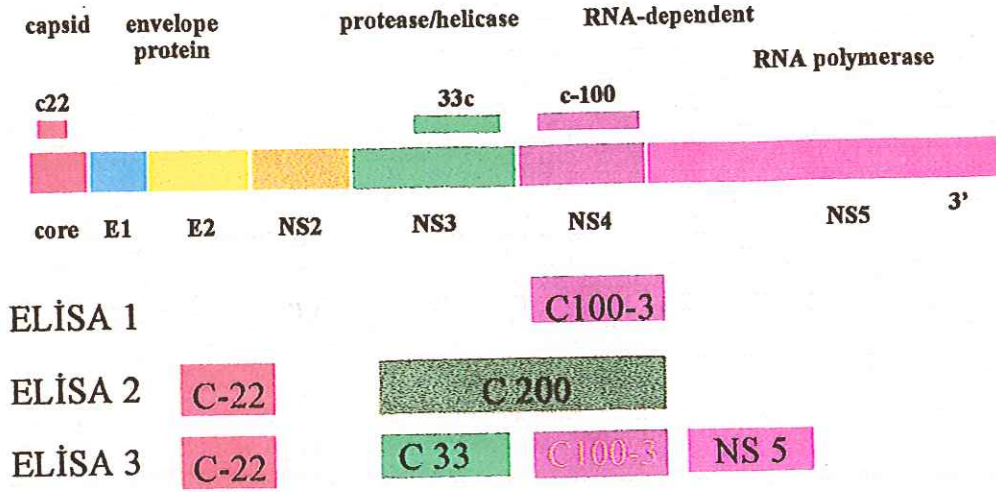
Bunların yanında hepatositlerde balon dejenerasyon, asidofilik değişiklikler, buzlu cam görünümünü andıran mitokondrial değişiklikler de görülebilir.

Kronik hepatit C vakalarının çoğunluğu asemptomatiktir. Semptomatik olanlarda en sık görülen semptomlar halsizlik ve yorgunluktur. Hastalığın seyri esnasında transaminazların azalıp çoğalmaları dikkat çeken bir özelliktir. Kronik HCV'li hastaların %20'sinde 20 yıllık bir süre içinde siroz gelişir. Serum AST düzeyinin ALT düzeyinden yüksek olması, albümin seviyesinin düşmesi, protrombin zamanının uzaması gelişmekte olan sirozun göstergeleridir.

Siroz gelişen hastaların bir kısmında hepatosellüler karsinoma gelişir. HCV ile hepatosellüler karsinoma arasındaki ilişki çok iyi anlaşılamamıştır. Muhtemelen HCV'nin siroza neden olması ve bu yolla meydana gelen hücre yıkım ve yapımının artışı kanser riskini arttırmaktadır.

Kronik hepatit C'nin serolojik tanısı anti-HCV ve HCV-RNA'nın gösterilmesi ile konulmaktadır. Anti HCV ELISA ve RİBA metotlarıyla, HCV RNA ise PCR yöntemiyle serumda ve dokuda bakılmaktadır. ELISA yönteminin hangi antijene karşı antikolar aradığı Şekil 2 de görülmektedir.

HEPATİT C SEROLOJİSİ



Şekil 2: HCV genomu ve ELİSA testlerinin tespit edileceği antijenler

Günümüzde 3. Jenerasyon ELİSA testleri kullanılmakta olup bununla HCV genomunun E2, NS3, NS4, NS5 bölgelerinin kodladığı C-22, C33, C100-3 NS5 proteinlerine karşı antikor aranmaktadır. Riba testi hepatit C için doğrulama testidir. Anti HCV pozitif olup karaciğer enzimleri normal olanlarda, otoimmün hepatit şüphesi olanlarda, hipergammaglobülinemisi olanlarda bakılmalıdır. Günümüzde en doğru serolojik tanı yönteminin PCR olduğu kabul edilmektedir(11).

HCV'YE BAĞLI ESANSİYEL MİKST KRİYOGLOBULİNEMİ (EMK)

Mikst kriyoglobulinemi sistemik bir hastalıktır. Yakın zamanda HCV ile Mikst kriyoglobulinemi arasında güçlü bir ilişki olduğunu gösteren araştırmalar yayınlanmıştır(3).

Kriyoglobulinemi soğukta presipite olan immün globulin olup, klonal yapılarına göre 3 gruba ayrılırlar:

- Tip 1 Kriyoglobulinleri monoklonal IgM tipi soğuk protein aglutasyonu olup, neoplastik hastalıklarda görülür.

B. Tip 2 Kriyoglobulinler Mikst tip homojen immunglobülinler ile heterojen poliklonal IgG tipi serum protein aglutasyonudur.

C. Tip 3 Kriyoglobulinler ise poliklonal IgG RF tipi protein aglutasyonudur.

Tip 2 ve 3 Kriyoglobulinler esansiyel olabileceği gibi, sekonder olarak enfeksiyon hastalıkları, otoimmün hastalıkları ve lenfoproliferatif hastalıklarda görülebilir. Esansiyel mikst Kriyoglobulinemi antijenik stimulus ile immün olayın tetiklemesi sonucunda, dolaşımda immün komplekslerin artması ve bu immün komplekslerin küçük ve orta çaplı damar duvarında depolanması ile karakterizedir. Halsizlik, güçsüzlük, artralji, purpura, sistemik vaskülit, periferik nöropati, Raynaud sendromu, glomerulonefrit ve karaciğer hasarı gibi semptom ve klinik durumlara sebep olan bir hastalıktır(1). Hepatotropik virüslerin, özellikle HCV'nin hastalığın patogenezinde sorumlu olabileceğinden bahsedilmektedir. Esansiyel mikst kriyoglobulinemili hastalarda HCV prevalansı %71-86 olarak bulunmuştur. HCV enfeksiyonunda kriyoglobulinemi prevalansı ise %13-54'tür. HCV enfeksiyonunda bu yüksek kriyoglobulinemi prevalansına rağmen hastaların ancak %10'u semptomatiktir(1).

Bu bilgiler ışığında araştırmacılar HCV enfeksiyonu seyrinde diğer otoantikorlar gibi kriyoglobulinemi varlığının sık olarak saptanabileceğini, ancak genellikle düşük titrelerde olduğu için semptomatik olmayabileceğini belirtmişlerdir.

Mikst kriyoglobulinemi ile HCV birlikteliği semptomatik vakalarda interferon tedavisinin yararlı olabileceğini düşündürmüş ve bu yönde araştırmalar yapılmıştır(3). Misiani ve arkadaşları semptomatik mikst Kriyoglobulinemi ve kronik HCV birlikteliği olan 53 hastanın 27'sine interferon tedavisi verip diğer 26 hastaya tedavi vermeden takip ettiklerinde interferon verilen grupta %60 vakada HCV RNA kaybıyla birlikte klinik bulgularda ve Kriyoglobulinemi seviyelerinde düzelme saptamışlardır. Kontrol grubunda herhangi bir düzelme saptamamışlardır.(3) Ferri ve arkadaşları 20 vakada benzer bulgular bildirmişlerdir. Böylece semptomatik vakalarda interferon tedavisi uygulanması önerilmektedir.

KRONİK HEPATİT C VE OTOİMMÜNİTE

Kronik inflamatuvar karaciğer hastalıklarının etiolojisinde viral enfeksiyonlarla otoimmün mekanizmalar ayrı ayrı veya birlikte rol oynayabilirler(13,14). Hepatotrop virüs enfeksiyonları ile otoimmün hepatitlerin etiopatogenezi arasında ortak noktalar dikkati çekmektedir(15). 1990'da Akdeniz Bölgesinde otoimmün hepatitte anti HCV prevalansının beklenmedik bir şekilde yüksek gösterilmesinden sonra otoantikörlerin bulunması ve otoimmün hepatit ile bağlantılı olarak etiopatogenezi ilk kez HCV enfeksiyonu dikkatleri üzerine çekmiştir. Bu çerçevede, HCV ile otoimmün hastalıklar ve otoimmünitenin serolojik göstergeleri arasında sıkı bir ilişki gözlenmektedir. Bu yüzden HCV'nin otoimmün kronik hepatite veya sistemik otoimmün hastalıklara da yol açtığı düşünülmektedir(2,4,16,17,18). HCV'nin immünolojik anormalliklere yol açtığı hipotezi, esasen 5 majör gözleme dayanmaktadır.

- 1- Kronik HCV enfeksiyonlarında otoimmün antikorlar; kronik HBV enfeksiyonlarına, non-otoimmün karaciğer hastalıklarına ve sağlıklı kan donörlerine oranla belirgin olarak daha sıklıkla saptanmaktadır(16,17,18).
- 2- HCV, kronik HCV'li hastaların hem B hem de T lenfositlerinde bulunmaktadır. Bu durum, virüsün lenfotropik bir virüs olduğunu düşündürmektedir(17).
- 3- HCV enfeksiyonu ile esansiyel mikst kriyoglobulinemi arasında epidemiyolojik olarak ilişki gösterilmiştir(17,18).
- 4- Hemofilik hastalarda antifosfolipid antikorların oluşumu ile HCV enfeksiyonu arasında ilişki gözlenmiştir(17).
- 5- Lenfoproliferatif ve otoimmün hastalığı bulunan pek çok hastada HCV göstergeleri pozitif olarak saptanmaktadır(16,17).

Otoantikörlara ait antijenlerle HCV proteinleri arasında yapısal benzerlikler saptanmış ve HCV enfeksiyonları esnasında otoantikör oluşumunun en akla yakın nedeninin bu olduğu düşünölmüşür(2).

Kronik hepatit C enfeksiyonu sırasında serumda saptanan otoimmün göstergelerden bazıları: antinökleer antikör (ANA), antimitokondrial antikör (AMA), anti düz kas antikörları (ASMA) ve romatoid faktördür (RF).

Kronik HCV enfeksiyonunun Tip 1 otoimmün hepatit ile arasında bağlantı olmadığı belgelenmiş, Tip 2 otoimmün hepatit birlikteliğinde organa spesifik olmayan otoantikörlar (anti-LKM-1) gösterilmiştir(19). Ancak titreleri düşüktür ve otoantikörların bulunması otoimmün hepatit tanısı koydurmaz. Kronik hepatit C de anti-LKM1 prevalansı %5'den daha azdır ve düşük titrededir. Özellikle HCV RNA pozitif hastalarda immünosupressif ilaçlarla tedavi genellikle etkili değildir. Böyle hastalara interferon tedavisi denenebilir. Aynı zamanda otoantikör titresi 1/320'nin altında olan ANA ve ASMA pozitif kronik hepatit C'li hastalarda aynı tedavi uygulanır. Gerçekte interferon tedavisi ile bu hastaların durumunda kötüleşme gözlenmemiştir.

Sonuç olarak sadece düşük titrede anti-LKM1, ANA ve ASMA bulunan kronik HCV'li hastalarda tedavi ertelenmemelidir.

HEPATİT C VİRÜSÜ VE HİPOKOMPLEMENTEMİ

HCV enfeksiyonu seyrinde ortaya çıkan ekstrahepatik bulguların bir kısmının dolaşan immün komplekslere bağılı olması, beraberinde kompleman aktivasyonunun da olduğunu düşündürmüştür. Komplemanın klasik yolunun düşük ısıdaki invitro aktivasyonu HCV enfeksiyonu ile ilişkilidir(5). HCV ile enfekte hastaların serumları düşük ısıda hemolitik

aktivitelerini kaybetmektedir. HCV enfeksiyonu ile ilgili soğuk aktivasyonunun HCV virüsüne özgü olduğu düşünülmektedir. Kronik hepatite neden olan HCV'nin serum kompleman seviyelerini düşürdüğü ileri sürülmektedir. Kronik hepatit C'li hastalarda serum kompleman seviyelerinin(C3veC4) düşük seyrettiği yapılan çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir(1,5).

İtoh ve arkadaşları gönüllü kan verici olan 10532 kişinin serum örneklerinde anti HCV ve serum kompleman seviyelerini araştırmışlar, 53 vakada(%0.5) serum kompleman seviyelerinde düşüklük, 94 vakada(%0.9) anti-HCV pozitifliği saptamışlardır. Serum kompleman seviyeleri düşük 53 vakanın 48'inde(%91) anti-HCV pozitif iken serum kompleman seviyeleri düşük olmayan 10479 vakanın 46'sında(%0.46) anti HCV pozitif bulunmuştur. Anti HCV pozitif 94 vakanın serum kompleman seviyeleri düşük olan 48 hastanın 45'inde(%94) HCV RNA pozitif saptanırken, serum kompleman seviyesi düşük olmayan 46 vakanın 10'unda(%22) HCV RNA saptamışlardır. Böylece, serum kompleman düşüklüğü saptanan vakalarda anti-HCV varlığının araştırılmasını ve anti-HCV pozitif kişilerde hastalığın aktivasyonu yönünden serum kompleman seviyelerinin de araştırılmasını önermişlerdir(20). Akahane ve arkadaşları da komplemanın soğukta aktivasyon düzeyi ile HCV RNA müspetliği arasında ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir.(21)

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmaya; Ocak 1999 ile Ocak 2001 tarihleri arasında hastanemiz Gastroenteroloji polikliniğine müracaat eden ve klinik bulgular, biyokimyasal incelemeler, hepatit göstergeleri, ultrasonografi ve karaciğer biyopsisi ile kronik hepatit C tanısı konulan 40(%65,5)'i kadın , 21(%34,4)'i erkek toplam 61 hasta alındı. Yaş ortalaması 60,6 yıldı. 61 hastanın tamamının serum kompleman3(C3) ve kompleman4(C4) seviyelerine, 46 hastanın serum kriyoglobulinine, 36'sının serum romatoid faktörüne, 30'unun serum otoantikörlerine (ANA,

AMA, ASMA, anti-LKM) bakılabildi. Kontrol grubu olarak C3, C4, kriyoglobülin ve romatoid faktör için 20, otoantikörler için 13 sağlıklı gönüllü vaka alındı. Hastalarda herhangi bir otoimmün hastalık, böbrek hastalığı, hepatotoksik ilaç kullanımı veya alkol bağımlılığı öyküsü ve klinik olarak malign sistemik, lenfoproliferatif veya otoimmün herhangi bir hastalığa ait hiçbir belirti veya bulgu yoktu ve hiçbiri daha önce interferon tedavisi almamıştı.

Serum C3 ve C4 seviyeleri "Beckman Assay 360 system" Nefolometre cihazında C3 için (P/N 449530,465330) kiti, C4 için (P/N 449580,465335) kiti kullanılarak hastanemiz biyokimya laboratuvarında çalışıldı. C3 için normal değer 88-201 mgr/dl, C4 için 16-37 mgr/dl'dir.

Serum romatoid faktör seviyeleri hastanemiz biyokimya laboratuvarında Bechman Coulter immage immunochemistry system kiti ile çalışıldı. Romatoid faktör normal değeri : 0,0-20 iu/ml'dir. 20 iu/ml üzerindeki değerler pozitif kabul edildi.

Serum kriyoglobulini hastanemiz hematoloji lâboratuvarında aşağıdaki yöntemle çalışılmıştır:

1. 37°C 'de ısıtılmış tüp ve enjektör kullanılarak 5 ml düz kan alınır ve 37°C'de su banyosunda pıhtılaşmaya bırakılır.
2. Pıhtı üzerinde oluşan serum pastör pipetiyle 37°C'deki değer temiz bir tüpe aktarılır.
3. Alınan serumdan 56°C'de su banyosunda serum fizyolojik (%0,9 NaCl) kullanılarak dilüsyonlar yapılır.
4. A) Tüplerin üzeri 1,2,4,8,16,32,64,128,256,512 olarak numaralandırılır.
B) %0,9 NaCl solüsyonundan 1.tüp hariç diğer tüplere 0,2 ml konur.
5. 1 ve 2 nolu tüplere 0,2 ml hasta serumu konur ve 2 nolu tüpten başlayarak 0,2 ml diğer tüplere aktarılır ve en son tüpten (512 nolu) alınan 0,2 ml dışarı atılır.

6. Dülasyon yapılan tüpler 3 gün buzdolabında bırakılır.
7. Tüplerde çökelti olup olmadığı her gün kontrol edilerek gözlenir.
8. Çökelti varsa serumda kriyoglobulin bulunduğunu gösterir.

HCV RNA testi RT-PCR (Revers transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemiyle (Amplicor, Roche Diagnostics, USA) kiti kullanılarak (COBAS otomatize sistemi) Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji anabilim dalında yapıldı. ANA, immunfloresan yöntemiyle Immo diagnostics (ABD) firmasının immüglo isimli kiti kullanılarak; AMA, ASMA, anti-LKM ise Zeus Scientific laboratuvar kiti(ADB) kullanılarak immunfloresan yöntemi ile Ege Ün. Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi İmmünoloji laboratuvarında araştırıldı.

KARACİĞER BİYOPSİSİNİN YAPILMASI

Hastalarımızın karaciğer biyopsileri tek kullanımlık karaciğer biyopsi seti kullanılarak Menghini aspirasyon tekniği ile yapıldı. Biyopsi öncesi hastaların hemogram, kanama pıhtılaşma zamanı, üst batın ultrasonografisi yapıldı. Trombosit sayısı $>60.000/mm^3$ protrombin zamanı (PTZ) < 16 saniye, kanama, pıhtılaşma zamanı normal sınırlarda olan, üst batın ultrasonografisinde karaciğerde biyopsiden etkilenebilecek kist, apse, hemanjiom gibi lezyonları olmayan vakalara biyopsi yapıldı. Hastaların aç olmalarına dikkat edildi. Hastalara ve yakınlarına biyopsi işlemi anlatılarak yazılı izinleri alındı.

Hastalar biyopsi işlemi sırasında supin pozisyonunda yatağın sağ kenarına yakın yatırıldı, tansiyon ölçümünden sonra ellerini başlarına koymaları istendi. Perküsyonla karaciğer matitesinin alındığı interkostal aralığın orta koltuk altı çizgisiyle kesiştiği nokta saptandı ve ultrason ile de kontrol edilerek işaretlendi. Seçilen nokta ve çevresi steril eldiven ve malzeme kullanılarak alkol-iodlu solüsyon ile temizlenerek 5cc Citanest ile karaciğer

kapsülüne kadar olan sahaya lokal anestezi uygulandı. İşaretlenen noktaya yaklaşık 4 mm eninde deri insizyonu yapıldı. Biyopsi seti içinde bulunan biyopsi enjektörüne 4 cc serum fizyolojik çekildi ve ucuna biyopsi iğnesi takıldı. Biyopsi iğnesi ile daha önce açılan infüzyon yerinden yatağa paralel ve ksifoid doğrultusunda interkostal adale geçildi, 0,5cc serum fizyolojik verilerek iğnenin ucunun açık kalması sağlandı. Hastaların nefesleri ekspiryumda tutularak aspirasyonla eş zamanlı olarak karaciğer içinde 4-5 cm girilip çıkıldı. İşlem sonrası 2 saat yatak istirahatı uygulandı.

Hastalarımızın tamamında yeterli materyal elde edildi. Alınan materyal % 10'luk formalin içinde patoloji lâboratuvarına gönderildi. Komplikasyon görülmedi.

Karaciğer biyopsileri hastanemiz patoloji lâboratuvarında Knodell'in Histolojik aktivite indeksine (HAI) göre skorlandı.

İSTATİSTİKİ ÇALIŞMALAR

Bütün sayısal bilgiler tek değişkenli analizde ki-kare, kantitatif değerler için Student T testi kullanıldı. Hasta grubu ile kontrol grubu C3, C4, kriyoglobulin ve otoantikör seropozitiflikleri arasındaki ilişkilerin istatistikî değerlendirmeleri SPSS paket programları kullanılarak bilgisayarda yapıldı. Hasta grubu C3, C4 ile kontrol grubu C3, C4 arasındaki ilişkiler student T testi ile; hasta grubu serum kriyoglobülin, romatoid faktör ve oto antikörler ile kontrol grubu serum kriyoglobülin, romatoid faktör ve oto antikörler arasındaki ilişkiler X² testi ile incelendi. Anlamlılık P< 0,05 olarak değerlendirdi.

BULGULAR

Bu çalışmaya karaciğer biyopsisi yapıp kronik aktif hepatit tanısı konulan 61 hasta alındı. Olguların 40'ı (%65,9) kadın, 21'i (%34,5) erkek olup yaş sınırı 20-75 yıl, yaş

ortalaması 60,6 yıl idi. Hastalarımızın yaş gruplarına ve cinsiyete göre dağılımı Tablo 1’de görülmektedir.

Tablo- 1 Hastaların yaş gruplarına ve cinsiyete göre dağılımı

	20-30 yaş	31-40 yaş	41-50 yaş	51-60 yaş	61-70 yaş	71-80 yaş	Toplam
Kadın	2	3	9	16	7	3	40
Erkek	2	3	5	4	7	0	21
Toplam	4	6	14	20	14	3	61

Çalışmaya alınan 61 hastanın tamamının serum C3 ve C4 seviyelerine bakıldı. Hastaların 17’sinde (%27,8) C3 , 21’inde (%34,4) C4 seviyeleri normal değerlerden düşük bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldı (Tablo-2). Kontrol grubunda bulunan sağlıklı vaka sayısı 20 olup olguların 13’ü (%65) kadın 7’si (%35) erkek, yaş sınırı 15-60 yıl ve yaş ortalaması 37,1 yıl idi. Serum C3 düşüklüğü kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistik olarak anlamlı bulunmadı ($P>0,05$), ancak C4 seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($P<0,05$).

Tablo 2. Kronik hepatit C’li hastalarda hasta ve kontrol grubunun serum C3 ve C4 seviyeleri

	Hasta grubu n=61				Kontrol Grubu n= 20			
	C3 ↓	C3 N	C4 ↓	C4 N	C3 ↓	C3 N	C4 ↓	C4 N
Kadın	11 %18	29 %47,5	14 %22,9	26 %42,6	3 %15	10 %50	1 %5	12 %60
Erkek	6 %9,8	15 %24,5	7 %11,4	14 %22,9	0	7 %35	1 %5	6 %30
Toplam	17 %27,6	72,20%	21 %34,4	40 %65,5	3 %15	17 %85	2 %10	18 %90
	P>0,05		P<0,05					

C3 normal değer = 88-201 mg/dl C4 normal değer = 16-37 mg/dl

Çalışmaya alınan 61 kronik hepatit C'li hastanın 46'sının serum kriyoglobulin sonuçları elde edilebildi. Bu hastaların yaş ortalaması 51,9 yıl olup 30'u (%65,2) kadın, 16'sı(%34,8) erkekti. Hastaların 4'ünün serumlarında kriyoglobulin pozitif bulundu. Kriyoglobulin pozitif bulunan hastaların tamamı kadındı. Kontrol grubu olarak 20 sağlıklı olgu alındı. Bunların yaş aralığı 21-70 yıl, yaş ortalaması 48,3 yıl ve 13'ü (%65) kadın , 7'si (%35) erkekti. Kontrol grubundaki hiçbir hastada kriyoglobülin saptanmadı(Tablo-3). Hasta grubu ile kontrol grubu kriyoglobulin pozitifliği yönünden istatistiksel olarak karşılaştırıldığında hasta grubunda serum kriyoglobulin pozitifliği kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($P<0,01$).

Tablo 3. Serum kriyoglobulini pozitif bulunan hastaların cinsiyet, serum ALT ve kontrol grubu ile karşılaştırılması.

	CİNSİYET		ortalama serum ALT seviyesi	Kontrol grubu n=20	
	Kadın	Erkek			
Krioglobülin +	4	%8,80	0	89,7 iü/ml	0
Krioglobülin -	26	%56,50	16 % 34,7	84,2 iü/ml	20
Toplam	30	%65,30	16 %34,7		

Çalışmaya alınan 61 kronik hepatit C'li hastanın 36'sının serum romatoid faktör seviyelerine bakılabildi. Bu hastaların yaş ortalaması 53,2 yıl, yaş aralığı 20-70 yıl olup 25'i (%68,5) kadın, 11'i (%31,5) erkekti. Hastaların 12'sinin (%34,2) serumlarında romatoid faktör normal değerlerden yüksek bulundu. Romatoid faktör yüksek bulunan hastaların 9'u (%22,8) kadın ve 4'ü (%11,4) erkekti. Kontrol grubu olarak 20 sağlıklı olgu alındı. Bunların yaş ortalaması 48,3 olup 13'ü (%65) kadın, 7'si (%35) erkekti. Kontrol grubundaki hastaların

sadece 1'inde (%5) romatoid faktör normalden yüksek bulundu(Tablo-4). Romatoid faktör pozitif 13 hastanın 3'ünde serum C3 seviyeleri düşük (%23), 7'sinde ise serum C4 seviyeleri düşüktü(%55,8). Hasta grubu ile kontrol grubu romatoid faktör pozitifliği yönünden karşılaştırıldığında hasta grubunda serum romatoid faktör kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu($P<0,05$).

Tablo 4. Serum romatoid faktör değerleri yönünden hasta ve kontrol grubu dağılımı

	Hasta grubu n=36		Kontrol grubu n=20	
	romatoid faktör (+)	romatoid faktör (-)	romatoid faktör (+)	romatoid faktör (-)
Kadın	9 %25	16 %44,4	1 %5	12 %60
Erkek	4 %11,1	7 %20	0	7 %35
Toplam	13 %36,1	23 %64,4	1 %5	19 %95
$P<0,01$				
RF normal değeri <0,20 iu/ml				

Serum otoantikörlerine bakılan kronik hepatit C'li 30 hastanın yaş ortalaması 52,6 yıl, yaş aralığı 20-68 yıl olup 18'i(%60) kadın, 12'si (%40) erkekti. Hastalarda otoantikörlerden ANA, AMA, ASMA ve anti LKM araştırıldı. Otoantikörler için minimum olumlu sayılabilecek titre 1/80 kabul edildi. Hasta grubunu oluşturan 30 hastanın 14'ünde (%46,6) ANA, AMA ve ASMA'dan en az biri pozitif bulundu, 30 olgunun tümünde anti-LKM negatif bulundu. Otoantikör sero pozitifliği bulunan hastaların 4'ünde (%13,3)ANA, 1'inde (%3,3) AMA, 11'inde (%36,6) ASMA pozitif. Kontrol grubu olarak 12 sağlıklı olgu alındı. Bunların 9'u (%75) kadın, 3'ü (%25) erkekti. Yaş ortalaması 30,7 yıl , yaş aralığı 24-48 yıl idi. Kontrol grubunu oluşturan 12 olgunun 3'ünde (%25) ANA, AMA ve ASMA'dan en az biri pozitif bulundu. 12 kontrol grubunun tümünde anti-LKM negatif bulundu. Otoantikör sero pozitifliği bulunan kontrol vakaların 2'sinde (%16,6) ANA, 1'inde ASMA (%8,3) pozitif bulundu (Tablo-5).

Kronik hepatit C'li hastalar ile kontrol grupları arasında ANA pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptanmadı. ($P>0,05$) Ancak AMA ($P<0,01$) ve ASMA değerleri kontrol grubuna göre daha yüksekti ($P<0,05$).

Tablo-5 Kronik hepatit C'li hastalar ile kontrol grubu hastaların otoantikor dağılımı.

	Hasta Grubu n=30				Kontrol Grubu n=12			
	ANA (+)	AMA (+)	SMA	anti-LKM	ANA (+)	AMA (+)	SMA	anti-LKM
Kadın	4 %13,3	1 %3,3	5 %16,6	0	2 %16,6	0	1 %8,3	0
Erkek	0	0	6 %20	0	0	0	0	0
Toplam	4 %13,3	1 %3,3	11 %36,6	0	2 %16,6	0	1 %8,3	0

Ayrıca otoantikor pozitifliği bulunan hastalarda herhangi bir otoimmün hastalığa ait belirti ve bulgu saptanmadı. Hasta ve kontrol grubunda saptanan otoantikor pozitifliğini ANA, AMA, ASMA titresine göre dağılımı Tablo-6 'da gösterilmiştir.

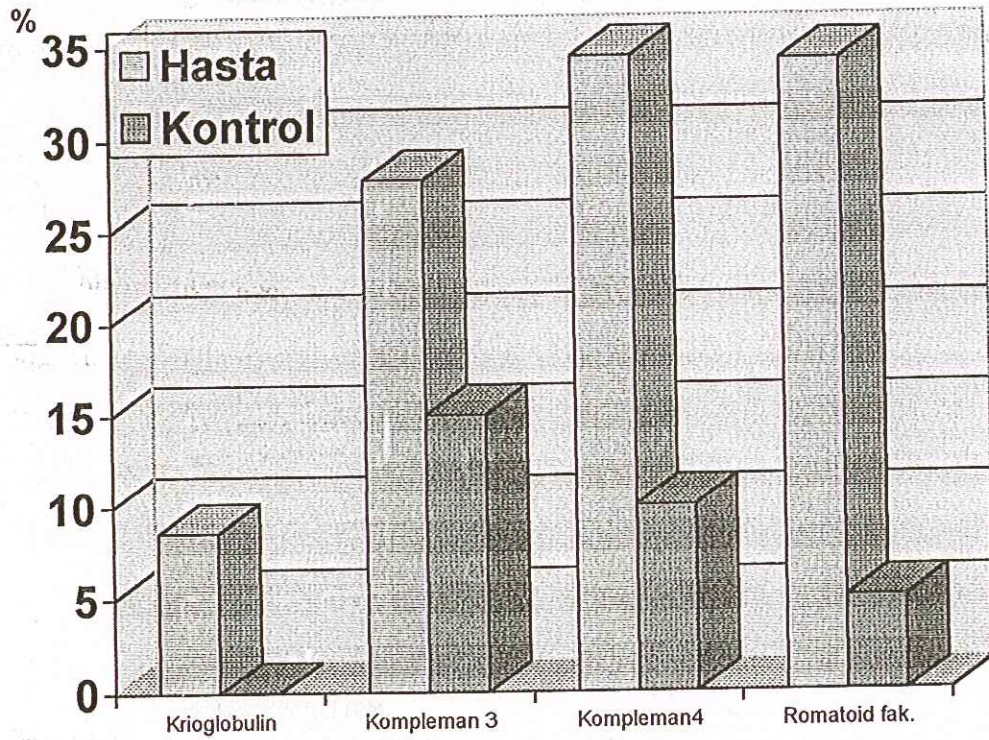
Tablo-6 Oto antikor pozitifliğinin titreye göre dağılımı

	ANA				AMA		ASMA			
	1/80	1/160	1/320	1/640ve üzeri	1/80	1/160	1/80	1/160	1/320	1/640ve üzeri
Hasta	2	1	0	1	1	0	6	1	1	3
Kontrol	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	P>0,05				P<0,01		P<0,05			

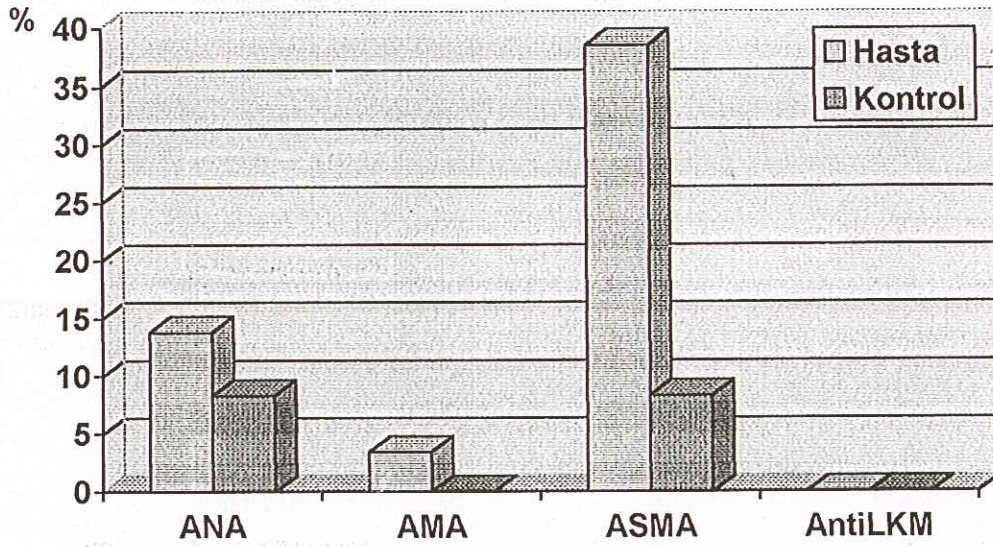
Otoantikor pozitifliği saptanan kronik hepatit C'li hastalarımızın ortalama histolojik aktivite indeksi (HAI): 7,27 ve fibrozis evresi: 2,25 bulundu. Otoantikorları negatif olan hastalarda ise HAI: 7,25 ve fibrozis evresi: 2,18 bulundu. İki grup arasında anlamlı fark bulunmadı ($P>0,05$) (Tablo-7).

Tablo-7 Kronik Hepatit C'li hastalarda oto antikor pozitifliğinin HAİ ve fibrozis evresiyle karşılaştırılması

	n	HAİ (Ortalama)	Fibrozis evresi (Ortalama)
Otoantikorlardan enaz biri yüksek olan hastalar	14	7,27	2,25
Otoantikor yüksekliği saptanmayan hastalar	16	7,25	2,18



KRONİK HEPATİT C'Lİ HASTALARIMIZIN SERUM KRİYOGLOBULİN, C3, C4 VE ROMATOİD FAKTÖR SONUÇLARININ GRAFİK İLE GÖSTERİLMESİ.



KRONİK HEPATİT C'Lİ HASTALARIMIZIN OTOANTİKOR SONUÇLARININ GRAFİK İLE GÖSTERİLMESİ

TARTIŞMA

Kronik Hepatit C'li Vakalarımızda Serum Kompleman (C3 ve C4) Düşüklüğü

Hepatit C virüsünün karaciğer dışında özellikle kan mononükleer hücreleri etkilediği iyi bilinmektedir. Bu etkilenme sonucu çeşitli immün mekanizmaların da olaya katılmasıyla HCV enfeksiyonlarının ekstrahepatik belirti ve bulgularla birlikte seyrettiği gözlenmektedir. Bu ekstrahepatik bulgular sık olarak dolaşımdaki immün kompleksler aracılığı ile meydana gelmektedir(2). Serum kompleman C3 ve C4 seviyelerinin düşük seyrettiği yapılan çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir(5,22,23,24). Bunun nedeni dolaşan immün komplekslerin komplemanı aktive ederek tüketmeleridir(23). İmmün komplekslerin üretimi için HCV ile B lenfositlerin uzun süreli uyarılması önemlidir. Ayrıca karaciğer dolaşan immün komplekslerin

imha edildiği başlıca yer olduğundan HCV veya HBV enfeksiyonu ile olan karaciğer hasarı serum kompleman seviyelerinin düşmesine yardım edebilir.

Komplemanın klasik yolunun düşük ısıdaki invitro aktivasyonu HCV enfeksiyonu ile ilişkilidir(5). HCV ile enfekte hastaların serumları düşük ısıda hemolitik aktivitelerini kaybetmektedir. HCV enfeksiyonu ile ilişkili soğuk aktivasyonunun HCV virusuna özgü olduğu düşünülmektedir. Kronik hepatite neden olan HCV özellikle güçlü bir hipokomplementemi oluşturma kapasitesine sahip görünmektedir(22,23).

Dienstag ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kronik hepatit B'li 14 hastanın 6'sında (%43) serum kompleman seviyelerinde düşme gözlenirken, aynı çalışmada 25 kronik HCV'li hastanın ise 21'inde (%84) serum kompleman seviyeleri düşük bulunmuştur(25).

İtoh ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 10532 kan vericinin 53'ünün serumunda (%0,5) hipokomplementemi tespit edilmiş, kompleman seviyesi düşük bulunan 53 hastanın 48'inin serumlarında (%91) anti HCV saptanmıştır(20).

Dolar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kronik hepatit C tanısı konmuş 17 hastanın 5'inde (%29,4) serum C3 seviyesini, 4'ünde (%23,5) serum C4 seviyesini düşük bulduklarını bildirmişlerdir(26).

Romero ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 56 kronik hepatit C'li hastanın 14'ünde (%29,16) serum kompleman seviyeleri düşük bulunmuştur(27).

Wong ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ise 113 kronik C'li hastanın 2'sinde (%1,7) serum C4 seviyesini normal değerlerden düşük bulduklarını bildirmişlerdir(28).

İgnatova ve arkadaşları Rusya'da yaptıkları çalışmada kronik HCV tanısı almış 157 hastanın %31,8'inde serum kompleman seviyelerini düşük bulduklarını bildirmişlerdir(24).

Daoud ve arkadaşları kutanöz nekrotizan vaskülit gelişen 12 kronik hepatit C'li hastanın 7'sinde (%58,3) serum kompleman seviyelerini normalden düşük bulmuşlardır(29).

Çalışmamızda 61 olgunun 17'sinde (%27,6) serum kompleman 3 seviyeleri, 21'inde (%34,4) serum kompleman 4 seviyeleri düşük saptandı. 12 olguda (%19,6) C3 ve C4 düşüklüğü birlikte olup 4 olguda (%6,5) sadece C3, 7 olguda ise sadece C4 seviyeleri düşük bulunmuştur. Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; hasta grubunda serum C3 düşüklüğü istatistiki olarak anlamlı bulunmadı ($P>0,05$). Ancak serum C4 düşüklüğü hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bulundu ($P<0,05$).

Sonuçlarımız Wong ve arkadaşlarının bildirdikleri sonuçlara göre yüksek, Dienstag ve arkadaşlarının bildirdikleri sonuçlara göre daha düşük, diğer yazarların sonuçları ile benzer bulunmuştur(24,25,26,28,30).

Kronik Hepatit C'li Vakalarımızda Kriyoglobülin ve Romatoid Faktör (RF) Görülme Sıklığı :

HCV virüsünün çeşitli ekstrahepatik bulguları arasında tip 2 mikst kriyoglobulinemi en sık görülür. Mikst kriyoglobulini poliklonal IgG, muhtemelen eksojen kompleks ile oluşmuş kompleks ve romatoid faktör aktivitesi için mono klonal IgM 'den oluşmuştur(23). Esansiyel mikst kriyoglobulinemi antijenik uyarı ile immün olayın tetiklenmesi sonucunda , dolaşımında immün komplekslerin artması ve bu immün komplekslerin küçük ve orta çaplı damar duvarında depolanması ile karakterizedir. Halsizlik, artralji, purpura , sistemik vaskülit, periferik nöropati ,Raynaud sendromu, glomerulonefrit ve karaciğer hasarı gibi semptom ve klinik durumlara sebep olan bir hastalıktır(1). Hepatotropik virüslerin , özellikle HCV'nin hastalığın patogenezinde sorumlu olabileceği bildirilmiştir(1,22,23,24,31). Esansiyel mikst kriyoglobulinemili hastalarda HCV enfeksiyon prevalansı %71-91 olarak bildirilmiştir(32). HCV'ye bağlı kronik hepatitlerde kriyoglobulinemi prevalansı ise %13-54'dür(33). HCV enfeksiyonunda bu yüksek kriyoglobulinemi prevalansına rağmen hastaların ancak %10'u semptomatiktir.

Çalışmamızda kronik hepatit C'li 46 hasta değerlendirildi. Hastaların tamamına yakınında serum ALT seviyeleri yüksekti. Hastalara karaciğer biyopsisi yapıldı ve biyopsi materyali histolojik olarak değerlendirildi. 46 hastanın 30'u (%65,2) kadın, 16'sı (%34,8) erkekti. Yaş ortalaması 51,9 yılı. 46 hastanın 4'ünün (%8,6) serumlarında kriyoglobulin tespit edildi. Kriyoglobulin tespit edilen 4 hastanın tamamı kadındı, yaş ortalaması 56,2 yıl ve ortalama ALT yüksekliği 89,7 ü/ml idi. Kriyoglobulin tespit edilemeyen hastaların ortalama ALT yüksekliği ise 84,2 ü/ml idi. ALT yüksekliği yönünden 2 grup arasında fark yoktu ($P>0,05$). Kriyoglobulin tespit edilen 4 hastanın 3'ünde %75 artralji mevcuttu, ancak cilt lezyonları ve proteinüri hiçbir hastada tespit edilemedi. Kronik hepatit C'li hastalarımızın %34,2'sinin serumlarında romatoid faktör normal değerlerden yüksek bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında RF değerleri daha yüksekti ($p<0,05$). Ayrıca kriyoglobulin tespit edilen 4 hastanın 2'sinin (%50) serumlarında romatoid faktör pozitif. Kronik hepatit C'li hastalarda serum kriyoglobulin pozitifliği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistik olarak anlamlı derecede yüksekti ($P<0,01$).

İdilman ve arkadaşları Türk ve Amerikan hastalarda HCV ve kriyoglobulinemi birlikteliğini araştırmışlar, Türkiye'de HCV'li hastalarda %23 oranında kriyoglobulinemi tespit edilmişken Amerika'da bu oranı %34,2 bulmuşlardır. İki toplum arasında istatistik farklılık saptamamışlardır(1).

Dolar ve arkadaşları kronik hepatit C'li 17 hastanın 1'inde (%7,1) kriyoglobulin, 5'inde (%29,4) romatoid faktör tespit ettiklerini bildirmişlerdir(26).

Beşirbellioğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HCV'li 56 hastanın 7'sinde (%12,5) RF normal değerlerden yüksek bulunmuştur(2).

Cacoup ve arkadaşları kronik hepatit C'li 1083 hastanın %40'ında mikst

kriyoglobulinemi tespit ettiklerini bildirmişleridir. Kriyoglobulinemi varlığı ile kadın cinsiyet ve HCV genotip 2 veya 3 arasında anlamlı bağlantı olduğunu bildirmişlerdir(33). Bizim de kriyoglobulin tespit ettiğimiz hastaların tümü kadındı , ancak Cacaoup ve arkadaşlarının sonuçlarına göre daha düşük oranda kriyoglobulin tesbit edildi. Biz bunu ülkemizde HCV genotipi olarak genotip 1b'nin yüksek oranda (%68-98) bulunmasına bağladık(23).

Kronik Hepatit C 'de serum kriyoglobulin pozitifliği diğer yazarların tablo 8 de gösterilen sonuçlarına göre düşük gözlenirken romatoid faktör pozitifliği ise yakın değerdedir.

Tablo -8 Kronik hepatit C'li hastalarda Kriyoglobülin ve Romatoid faktör pozitifliğinin literatürle karşılaştırılması

	Kriyoglobülin pozitifliği	Romatoid faktör pozitifliği
İtoh ve ark. (20) (Japonya)	%33	%67
İgnatova ve ark.(24)(Rusya)	%43,50	%66,90
alAwadhi ve ark.(34)(kuveyt)	%30	%47,50
Romero ve ark.(27)(İspanya)	%22	%19,20
Kerr ve ark. (35)	%42	%32
Lee ve ark. (36)(kore)	%59	%14
Wong ve ark. (28)	%19	-
Biskila ve ark. (37)(İsrail)	%11	%44
Warren ve ark.(38)(Almanya)	%47	%64
Hwang ve ark.(39)(Çin)	%44	-
Bizim sonuçlarımız	%8,60	%34,20

Kronik hepatit C ile kriyoglobülin ve RF arasındaki ilişkinin coğrafi farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Özellikle genotip-1'de diğer tiplere göre daha düşük olarak kriyoglobülin ve RF pozitifliğine rastlanmaktadır(40).

Powlotsky ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; HCV sero tip-1 de kriyoglobulin sıklığı %29, RF sıklığı %63, tip II' de ise %63 ve %83 bulunmuştur. Ayrıca Kriyoglobulin

tespit edilen hastalar arasında cilt lezyonları ve artrit görüldüğünü, ancak glomerulonefrit ve Sicca sendromu ile kriyoglobulinemi arasında ilişki olmadığını bildirmişlerdir(40). Bizim çalışmamızda da serumlarında kriyoglobulin tespit edilen hiçbir hastada glomerulonefrit ve sicca sendromu tespit edilmedi, ancak 3 hastada(%75) artralji mevcuttu.

Kronik hepatit C'li hastalarda kriyoglobulinemi genellikle düşük seviyelerde görülür ve semptomlara neden olmaz. Kriyoglobulineminin şiddetli olduğu vakalarda deri, böbrek ve sinir sistemi tutulumu görülür. Çünkü bazı HCV genotiplerinin daha şiddetli karaciğer hastalığına neden olduğu gösterilmiştir(40). Bizim hastalarımızda da deri, böbrek ve sinir sistemi tutulumu olmaması serum kriyoglobulin seviyelerinin düşük olmasından kaynaklanabilir.

Güney Avrupa'da yapılan çeşitli çalışmalarda HCV enfeksiyonu ile mikst kriyoglobulinemi arasındaki ilişki gösterilmiştir. Almanya'da yapılan bir çalışmada kriyoglobulinemili 79 hastanın 17'sinde(%22) HCV antikorları saptanmış, ayrıca kronik hepatit C'li 132 hastanın 37'sinde(%28) kriyoglobulin tespit edilmiş ve kriyoglobulin tespit edilen hastaların 8'inde(%19) artralji ve miyalji gibi klinik semptomlar görülmüştür(41).

Hepatit C virusu mononükleer hücreleri enfekte eder. Diğer viruslar gibi immünolojik bozukluklardan sorumlu olabilir. HCV enfeksiyonunda gözlenen bu immünolojik anormallikler genellikle nonspesifiktir. En sık olarak kriyoglobulinemi ve buna bağlı semptomlar görülür. Kriyoglobulinemi ile ilgili semptomlar genellikle interferon alfa tedavisinden yarar görür, ancak tedavi sonrası nüks sıktır(42).

Warren ve arkadaşları HCV' ye bağlı kronik hepatitli hastalarda kriyoglobulin ve RF pozitifliğinin karaciğer hastalığının ilerlemesinde artmış risk faktörü olduğunu göstermişlerdir(38).

Yapmış olduğumuz çalışmada, serumlarında kriyoglobulin ve RF tespit edilen kronik hepatit C'li hastalarımızın fibrozis derecesi(ortalama:1,85), kriyoglobulin ve RF tespit edilmeyenlere

göre(ortalama:1,35) daha yüksek bulundu. Bu hastalarımızın prognoz yönünden takipleri devam etmektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda serumlarında kriyoglobulin ve RF tespit edilen kronik hepatit C'li hastaların prognozlarının daha ağır olacağı ileri sürülmüştür(38,42). Bu hipotezin doğruluğunun ya da yanlış olduğunun teyid edilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kronik Hepatit C'li Vakalarımızda Otoantikor Görülme Sıklığı:

Kronik hepatit C'li hastalarda ekstrahepatik immünolojik anormallikler sık görülür. HCV, hepatositler yanında periferik mononükleer hücrelerde de saptandığı için immün sistem bozukluklarına yol açabileceği bildirilmiştir(2,22,41,43). Yapılan çalışmalarda kronik hepatit C'li hastalarda çeşitli otoantikor prevalansı %22 ile %70 arasında bulunmuştur (31,40,44,45,46,47,48).

Çalışmamızda hastalarımızın %46'sında otoantikorlardan (ANA,AMA,ASMA) en az biri pozitif. Kontrol grubunda ise bu oran %25 bulundu. Çalışmamızdaki 30 olgunun 4'ünde(%13,3) ANA, 1'inde(%3,3) AMA, 11'inde(%36,6) ASMA pozitif. Hastalarımızın hiç birinde anti-LKM tespit edilemedi. ANA pozitifliği açısından hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında , hasta grubunda ANA pozitifliği daha yüksek oranda olmasına rağmen her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu($p>0,05$). Ancak AMA ve ASMA pozitifliği hasta grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu($p<0,05$).

Otoantikor görülme sıklığının hasta grubunda daha yüksek bulunması, HCV'nin otoantikor oluşumunu ve otoimmün mekanizmaları indüklediğinin bir göstergesi olabilir. Oluşan bu otoimmün antikorlar ve bunların etkileri, hastalığın kronikleşmesinde ve aktivasyonunda rol oynayabilirler. Viral nedenli enflamatuvar karaciğer hastalıklarının etiolojisinde viral enfeksiyonlarla otoimmün mekanizmaların birlikte rol oynayabileceği

daha önce yapılmış bazı çalışmalarda belirtilmiştir(48). Çalışmamızda, bu konunun incelenmesi için hastaların karaciğer histopatolojileri ile otoantikör seropozitifliği karşılaştırıldı, fakat aralarında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Daha kalabalık hasta grupları ile yapılacak olan çalışmalarda bu özellikler ile antikör seroprevalansı arasında anlamlı ilişki bulunabilecektir. Örneğin Cassani ve arkadaşlarının yapmış oldukları 290 kronik HCV'li hastayı içeren ve otoantikör seroprevalansının %30 olarak bulunduğu bir çalışmada; histopatolojik olarak portal-periportal nekroenflamasyon derecesi ile otoantikör seropozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur(47).

Kronik hepatit C'li hastalarda otoantikör prevalansının literatürle karşılaştırılması Tablo 9'da gösterilmektedir.

Kronik hepatit C'li hastalarımızda otoantikör(ANA, AMA, ASMA, anti LKM) sonuçlarımız Tablo 9'da gösterilen çalışma sonuçlarımızın bazıları ile benzer, bazılarına göre düşük veya yüksek orandadır.

Bu yazarların bir kısmının sonuçlarındaki titreler çalışmamızdaki otoantikör titrelerinden daha düşük seyretmektedir(1/40-1/80). Mayo kliniğinde yapılan çalışmalarda ANA ve ASMA pozitif olan kronik hepatit C'li hastaların büyük çoğunluğunda serum ANA ve ASMA titresi 1/80 veya daha az bulunmuştur. Sadece vakaların %23'ünde 1/320 veya daha yüksek olarak izlenmiştir(44). Bu değişik titrasyon değerleri ve prevalanstaki farklılıkların değişik laboratuvarların kullandığı titrasyon eşiklerine bağlı olabileceği düşünülmektedir ama kesin olarak açıklık getirilmemekle birlikte bu farklılıklar çevresel ve genetik faktörlere ya da HCV' deki genomik varyasyonlara bağlı olabilir(48).

Otoimmün markerlerden anti-LKM kronik hepatit C'li hiçbir hastada tespit edilemedi. Anti-LKM ile HCV arasındaki ilişkinin coğrafi farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir(50,51).

Tablo 9. Kronik hepatit C'li hastalarda otoantikor görölme sıklığının literatür ile karşılaştırılması.

Yazar	ANA (+)	AMA(+)	ASMA(+)	Anti-LKM(+)
Cliffort (44)	%15	-	%34	%2
Czaca.(49)	%23	-	%26	%3
Fried .(50)	%21	-	%55	%0
Reddy.(51)	%10	-	%19	%0
Sachithananda (52)	%9,1	-	%20	%6
Cacoub (33)	%10	%1	%7	%2
Zaulid (53)	%9	-	%38	-
Richardet (45)	%11,5	%1,2	%5,1	%1,2
Cassani (47)	%9	-	%20	%6
Koşar (54)	%4,3	-	%20	%0
Beşirbelli (2)	%23,2	%5,3	-	-
Bayraktar (55)	%63	%4	%65	%0
Dolar (26)	%21,4	-	%21,4	-
Pawlotsky (39)	%22	-	%22	%5
Sonuçlarımız	%13,3	%3,3	%36,6	%0

ABD'de yapılan 2 çalışmada ve ülkemizde Koşar ve arkadaşları ile Bayraktar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda bizim sonuçlarımıza benzer şekilde hiçbir hastada anti-LKM tespit edilememiştir. Anti-LKM oluşturacak hastaları enfekte eden virusun genomu ile seronegatif hastaları enfekte eden virüsün genomu ile aynıdır. Burada araya henüz

SONUÇLAR

1.Kronik hepatit C'li hastaların %27,8'inde serum C3 ve %34,4'ünde serum C4 seviyeleri normalden düşük bulundu.

2.Kronik hepatit C'li hastaların %8,6'sının serumlarında kriyoglobulin ve %34,2'sinde romatoid faktör normalden yüksek tespit edildi, kriyoglobulin tespit edilen hastaların tamamı kadındı ve artralji dışında cild ve böbrek tutulumu gibi herhangi bir ekstrahepatik tutulum tespit edilemedi.

3-Serumlarında kriyogloblin tespit edilen kronik hepatit C'li hastalar ile kriyoglobulin tespit edilemeyen hastalar arasında serum ALT yüksekliği bakımından korelasyon bulunamadı.

4-Serumlarında romatoid faktör(RF) yüksekliği tespit edilen Kronik hepatit C'li hastaların ortalama fibrozis derecesi 1,85, RF tespit edilemeyenlerde ise 1,35 bulundu. Bu veriler; serumlarında RF tespit edilen HCV'li hastalardaki karaciğer hastalığının, RF tespit edilmeyenlere göre daha progressif seyrettiğini düşündürmektedir.

5-Kronik hepatit C'li hastalarda otoantikor görülme sıklığının yüksek olduğunu(%46) teyid ettik. Daha önce yapılmış olan pek çok çalışmada da benzer yönde sonuçlar elde edilmiş olduğundan bu bulgu, HCV'nin otoantikor oluşumunu ve otoimmün mekanizmaları indüklediğinin bir göstergesi olabilir.

ÖZET

Genellikle parenteral bulaşan hepatit C virüsü %50-80 oranında kronik hepatite neden olmaktadır. Hepatit C virüsü ve bu virüsün neden olduğu enfeksiyonun klinik özellikleri 1989 yılından beri bilinmesine rağmen, virüs ile immün sistem arasındaki etkileşim ve enfeksiyonun kronikleşme patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalarda kronik hepatit C'li hastalarda karaciğer dışı immünolojik anormalliklerin sık görüldüğü bildirilmiştir. Bizler de, Ocak 1999 ile Ocak 2001 yılları arasında İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Gastroenteroloji kliniğine başvuran ve yapılan kan tetkikleri ve karaciğer biyopsisi sonucu kronik hepatit C tanısı konulan 61 hastayı inceledik. Hastaların tamamının serum C3 ve C4 seviyelerine, 46'sının serum kriyoglobulinine, 36'sının serum RF seviyelerine ve 30'unun serum otoantikörlerine bakılabildi. Kronik hepatit C'li hastalarda serum C3 ve C4 seviyeleri kontrol grubuna oranla daha düşük bulundu. Ayrıca hasta grubunda serum kriyoglobulin, romatoid faktör ve otoantikor pozitifliği kontrol grubuna göre daha yüksekti.

Bu bulgular bize, hepatit C virüsünün otoantikor oluşumunu ve otoimmün mekanizmaları indüklediğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Ökten A, Türkoglu S, Akkiz H, Şentürk H, : HCV enfeksiyonu. Kılıçturgay K(ed). Viral Hepatit 2001 ; 179-213
- 2- Beşirbellioğlu B, Görenek L, Gül C, Hacıbektaşoğlu A, : Hepatit C virus enfeksiyonlu hastalarda otoantikör seroprevalansı. Klinik Bilimler&Doctor dergisi. 1999 ; 5 :(1) 30-35.
- 3- Topalak Ö, Batur Y, : HCV enfeksiyonu ve hematolojik değişiklikler. Güncel gastroenteroloji. Mart 1998 ; 55-63
- 4- Bayraktar Y, Bayraktar M, Gürakar A, et al. A comparison of the prevalence of autoantibodies in individuals with chronic hepatitis C and those with autoimmune hepatitis: The role of interferon in the development of autoimmune diseases. Hepato-gastroenterology 1997 ; 44 : 417-425
- 5- Ueda K, Nakajima H, Nakagawa I, Shimizu A, : The association between hepatitis C virus infection and invitro activation of the complement system. Ann Clin Biochem 1993 ; 30 : 565-569
- 6- Dienstag JL, Isselbacher KJ, Braunwald E, eds : Harrison's principles of Internal medicine. 1998 : 1696-1703
- 7- Sherlock S, Dooley S,; Disease of the Liver and Biliary system. Ninth edition, Blackwell scientific publication. 1993 : 293- 319

- 8- Canoruç F, Kronik hepatitler. Editör : Telatar H. Ankara, Hekimler yayın birliđi.
Gastroenteroloji, 1993: 706-727
- 9- Knodell RG, Ishak KG, Black WC et al. Formulation and Application of a Numerical Scoring System for Assessing Histological Activity in Asymptomatic Chronic Active Hepatitis. Hepatology 1981 ; I:5; 4331-4335
- 10- Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Schewer PJ, : Classification of Chronic Hepatitis : Diagnosis , Grading and staging. Hepatology, June 1994 : 1513-1520
- 11- Gretch D. : Diagnostic Tests for Hepatitis C. National Institute of Health conference on Hepatitis C, Held from march 24-26 , 1997 in Bethesda Maryland. U.S.A
- 12- Akarca SU, Kronik Hepatitler. Temel İç Hastalıkları ed: İliçin G. Güneş kitabevi Ankara 1996; 1125-1132
- 13- Bushenfelde M. Immunopathology of chronic liver diseases. Verh Dtsch pathol. 1995; 79:186-197
- 14- Bushenfelde M, Lohse AW, Gerken G, et al. The role of autoimmunity in hepatitis C infection. J Hepatol 1995 ; 22: 93-96

- 15-Lohse AW, Gerken G, Mohr H, et al. Relation between autoimmune liver diseases and viral hepatitis: Clinical and serological characteristics in 859 patients. *Z Gastroenterol.* 1995; 9:527-533
- 16-Cassani F, Cateleta M, Valentini P, et al. Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: Comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease Profile. *Hepatology* 1997; 26:561-566
- 17-Pivetti S, Novarino A, Merico F, et al.: High prevalence of autoimmune phenomena in hepatitis c virus antibody positive patients with lymphoproliferative and connective tissue disorders. *Britis journal of Heamotology* 1996; 95:204-211
- 18-Mc Murray RW, Elbourne K. :Hepatitis C virus infection and autoimmunity. *Semin Arthritis Rheum* 1997; 26: 689-701
- 19-Clifford BD, Donahue D, Smith L, Cable E, Lutting B, Manns M, Bronkovsky HL.; High prevalance of serological markers of autoimmunity in patients with Chronic Hepatitis C. *Hepatology* . 1995:21; 613-619
- 20-Itoh K, Tanaka H, Shiga J.; Hypocomplementemia associated with hepatitis C viremia in sera from voluntary bloods donors. *Am. J. Gastroenterol* 1994; 89(II): 2019-2024
- 21-Akahane Y, Miyanaki Y, Naitoh S, et al. Cold activation of complement for monitoring the response to interferon in patients with Chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 1996; 92(2): 319-322

- 29-Daoud Ms, el-Azhary RA, Gibson LE, Lurtz Me; Daoud S. Chronic hepatitis C, Cryoglobulinemia, and cutaneous necrotizing vasculitis. clinical, pathologic, and immunopathologic study of twelve patients. J AM Acad Dermatol. 1996; 34: 219-223
- 30- Bianchi FB.: Autoimmune hepatitis: The lesson of the discovery of hepatitis C virus. J Hepatol. 1993;18; 273-275...
- 31- Dickson RC, Gaffey MJ, Ishitani MB, Roarty TP, Driscoll CJ, Caldwell SH. The international autoimmune hepatitis score in chronic hepatitis C. J viral Hepat. 1997 ; 4(2): 121-128
- 32-Ferri C, Zigneto AL, Bombardieri S, Lacivita L, Longombardo G, Morti M, et al. Etiopathogenetic role of hepatitis C virus in mixed cryoglobulinemia. Chronic liver diseases and Lymphomas. Clin Exp Rheumatol 1995 Nov-Dec: 13 supp 13: 135-140
- 33-Cacoub P, Poynard T, Ghillani P, Charlotte F, Olivi M, Piette CJ, Opolon P.: Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. Arthritis and Rheumatism. 1999;42: 10: 2204-2212
- 34-al-Awadhi A, al-Jarallah K, Hasan F, Olusi S, aş-Attiyah R, Sugathan TN, et al. Rheumatic manifestations and immunological abnormalities in patients with chronic hepatitis C. A study in the middle East. Rev Rhum Eng/Ed 1198;65(6):372-377
- 35-Kerr GS, Rofail M, Lewis JH, Kumar P, Seeff LB. Prevalence of hepatitis C virus associated cryoglobulinemia at a veterans hospital. J Rheumatol 1997;24(11): 2134-2138

- 36-Lee CH, Song GG. Cryoglobulinemia and rheumatic manifestations in patients with hepatitis C virus infection. *Ann Rheum Dis* 1998;57(12):728-731
- 37-Buskila D, Shnaider A, Neumann L, Lorber M, Zilberman D, Hilzenrat N, et al. Musculoskeletal manifestations and autoantibody profile in go hepatitis C virus infected israeli patients. *Semin Arthritis Rheum* 1998;28(2):107-113
- 38-Warren NS, Jack TS, Douglas RL, Frank AM, Patricia AK, et al. Hepatitis C virus(HCV) Infection and Cryoglobulinemia, Analysis of Whole Blood and Plasma HCV-RNA Concentrations and Correlation with Liver Histology. *Hepatology* 2000; 31(3):1-15
- 39-Hwang SL, Lee SD, Li CP, Lu RH, Chan CY, Wu JC. Clinical study of cryoglobulinemia in Chinese patients with Chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 1997;12(7):513-517
- 40- Pawlotsky JM, Thoraval FR; Simmonds P, Mellor J, et al. Extrahepatic immunological manifestations in chronic hepatitis C and HCV serotypes. *Ann Inter Med.* 1995; 122: 169-173
- 41-Weiner SM, Berg T, Bertholl H, Weber S, Peters T, Blum HE, Hopf U, Peter HH.: A clinical and virological study of hepatitis C virus-related cryoglobulinemia in Germany. *J Hepatol* 1998; 29(3): 375-384
- 42-Lunel F, Cocoup P. Treatment of autoimmune and extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 1999;31(suppl);210-6

- 43- Marson P. Extrahepatic manifestations of HCV infection. *Minerva med* 1995; 86(7-8):305-314
- 44- Clifford BD, Donative D, Smith HL. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995; 21: 613-619
- 45- Richardet JP, Lons T, Johanet C, Abourached A, Raffoux C, Grimbert S, Sibony M, et al. Prevalence and characteristics of anti-tissue antibodies in chronic hepatitis caused by hepatitis c virus. *Gastroenterol Clin Biol* 1994; 18(10): 819-823
- 46- Simenovic J, Dokic LJ, Svirtlih N, Djordjevic M, Bozic N, Paluga J. Autoimmune hepatitis and/or hepatitis C. *Srp Arh Celoc Iec* 1999; 127(3-4):109-113 (Abstract)
- 47- Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Muratori P, Giastra F, Francesconi R, et al. Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: Comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile. *Hepatology* 1997;26:3
- 48- Reddy KR, Krawitt EL, Homberg JC, Jeffers LJ, de medina M, Chastenay B, Pouper R, et al. Absence of anti- LKM-1 antibody in hepatitis C viral infection in the united states of America. *J Viral Hepat.* 1995; 2(4): 175-179
- 49- Czaja AJ, Manns MP, Hamburger HA. Frequency and significance of antibodies to liver/kidney microzome type 1 in adults with chronic active hepatitis. *Gastroenterology* 1992; 103: 1290-1295

- 50-Fried MW, Druguesku JO, Shindo M, et al. Clinical and serological differentiation of autoimmune and hepatitis c virus related chronic hepatitis. *Dig Dis Scie* 1993; 38: 631-636
- 51-Reddy KR, Krewitt EL, Redick J, et al. Absence of LKM-1 antibody in hepatitis c viral infection in the United States. *Hepatology* 1993; 18:173A(Abstract)
- 52-Sachithanandan S, Fielding JF. Autoimmune disease is not a feature of hepatitis C infection in Ireland. *J clin Gastroenterol* 1997;25(3):522-524
- 53-Zauli D, Cassani F, Bianchi FB. Auto-antibodies in hepatitis C. *Biomed pharmacother* 1999;53(5-6):223-241(abstract)
- 54-Koşar Y, Tezel A, Oğuz P, Şaşmaz N, Oğuz D, Şahin T. Kronik viral hepatit ile otoimmun hepatitlerde otoantikörlerin prevalansı. *Turc J Gastroenterol* 1997;8:381-384
- 55-Bayraktar Y, Bayraktar M, Gürakar A, Hassanein TI, Van Thiel DH. A comparison of the prevalence of autoantibodies in individuals with chronic hepatitis C and those with autoimmune hepatitis: the role of interferon in the development of autoimmune diseases. *Hepatogastroenterology* 1997;44(14):417-425