

Kronik Hepatit C Hastalarında Esansiyel Mikst Kriyoglobulinemi

Essential Mixed Cryoglobulinemia in Patients with Chronic Hepatitis C

Esma EROĞLU,^a
Mehmet BİTİRGEN^b

^aEnfeksiyon Hastalıkları Kliniği,
Van Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Van

^bKlinik Mikrobiyoloji ve
Enfeksiyon Hastalıkları AD,
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Meram Tıp Fakültesi,
Konya

Received: 22.03.2018
Received in revised form: 05.06.2018
Accepted: 19.06.2018
Available online: 26.10.2018

Correspondence:
Esma EROĞLU
Van Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Van,
TÜRKİYE/TURKEY
esmagulesen@hotmail.com

ÖZET Amaç: Hepatit C virüsü (HCV), dünya genelinde yaklaşık 200 milyon insana bulaşan bir hepatit virüsü türü; *Flaviviridae* ailesinin bir üyesidir. HCV esas olarak hepatopatik olmasına rağmen, birçok ekstrahepatik belirtileri mevcuttur. HCV'nin en yaygın ekstrahepatik belirtilerinden biri mikst kriyoglobulinemi'dir. Bu çalışma, HCV enfeksiyonu ve kriyoglobulinemi arasındaki ilişkiyi araştırmak için tasarlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Necmettin Erbakan Üniversitesinde Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Polikliniğinde izlem altında olan 62 HCV pozitif hasta çalışmaya alındı. Sağlıklı gönüllülerden oluşan 60 anti HCV negatif kişi kontrol grubu olarak (122 kişi) çalışmaya dâhil edildi. Altmış iki HCV pozitif ve 60 anti HCV negatif hastada kriyoglobulin düzeyleri, biyotin bazlı, çift antikor sandviç teknolojisine dayalı, enzim bağlı immüno sorbent analiz (ELISA) yöntemi kullanılarak ölçüldü. Kriyoglobulin seviyesi 20-80 mg/L aralığı pozitif olarak kabul edildi. Çalışma sonunda kronik hepatit C (KHC) hastaları ve kontrol grubunda kriyoglobulin düzeyleri karşılaştırıldı. Kriyoglobulin pozitif olarak bulunan KHC hastaları ile kriyoglobulin negatif bulunan KHC hastalarının demografik verileri, karaciğer enzimleri, karaciğer fibrozisi, aktivite indeksleri ile kriyoglobulin düzeyleri arasındaki ilişki karşılaştırıldı. **Bulgular:** Altmış iki HCV pozitif hastanın 32 (%51,6)'sinde ve anti HCV negatif hastaların 17 (%28,3)'sinde kriyoglobulin pozitif bulundu. Kriyoglobulinemi ile yaş, cinsiyet, karaciğer fonksiyon testleri (aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz), alfa fetoprotein, HCV-RNA, fibrozis seviyesi, aktivite indeksi arasında korelasyon saptanmadı. **Sonuçlar:** Kronik hepatit C hastalarında kriyoglobulin pozitifliği oranı kontrol grubundan anlamlı oranda yüksek bulundu. Kriyoglobulin pozitif olan KHC hastaları ile kriyoglobulin negatif olan KHC hastaların karşılaştırıldığında; kriyoglobulin pozitifliği ile karaciğer fonksiyon testleri, viral yük ve karaciğer histopatolojik evresi arasında korelasyon saptanmadı.

Anahtar Kelimeler: Kronik hepatit C; esansiyel mikst kriyoglobulinemi; genotip; HCV RNA; fibrozis

ABSTRACT Objective: Hepatitis C virus (HCV) is a *Flaviviridae* family member, infecting about 200 million people world wide. Although HCV is primarily hepatopathic, its clinical feature is characterized by the emergence of several extrahepatic manifestations. Mixed cryoglobulinemia, recognized as the most common HCV-induced extrahepatic disease. The association between essential mixed cryoglobulinemia and HCV infection is well recognized. **Material and Methods:** This study was designed to investigate the association between HCV infection and cryoglobulinemia. 62 HCV positive patients followed in Necmettin Erbakan University, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Policlinic and 60 patients anti HCV negative control group (122 patients) were involved in the study. Cryoglobulin levels in 62 HCV positive and 60 anti HCV negative patients were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on biotin-based, double antibody and sandwich technology. Cryoglobulin level, 20-80 mg/L was considered positive. At the end of the study, cryoglobulin levels were investigated in patients with CHC and control group. We compared the relationship between demographic data, liver enzymes, liver fibrosis, activity indices and cryoglobulin levels of patients with CHC positive cryoglobulin-positive and cryoglobulin-negative CHC patients. **Results:** Essential mixed cryoglobulins were found in 32 (%51.6) of the 62 HCV positive patients and in 17 (%28.3) of the anti HCV negative patients. No correlation was found between cryoglobulinemia and age, sex, liver function tests (aspartate aminotransferase, alanin aminotransferase), alpha-fetoprotein, HCV-RNA, fibrosis level, activity index. **Conclusion:** The rate of cryoglobulin positivity in patients with chronic hepatitis C was significantly higher than the control group. Compared with cryoglobulin positive KHC patients and cryoglobulin negative KHC patients; There was no correlation between cryoglobulin positivity and liver function tests, viral load and liver histopathologic stage.

Keywords: Chronic C hepatitis; essential mixed cryoglobulinemia; genotype; HCV RNA; fibrosis

Hepatit C virüsü (HCV) nün en yaygın ekstrahepatik belirtilerinden biri mikst kriyoglobulinemi (MK)'dir. Altta yatan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, HCV dolaşan immünkompleks oluşumunu artırarak, sistemik immünolojik bozukluklara sebep olduğu, esansiyel mikst kriyoglobulinemi (EMK) gibi ekstrahepatik manifestasyonların etiyopatogenezinde rol alabileceğini düşünülmektedir. EMK ile HCV enfeksiyonu arasındaki ilişki iyi bilinmemektedir.

Bu çalışmada, kronik hepatit C (KHC) hastalarında ve sağlıklı kontrol grubunda kriyoglobulin pozitifliği oranını saptamak ve pozitiflik saptanan hastalarda laboratuvar bulguları ile korelasyonunu belirlemek amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğinde izlem altında olan KHC hastalarından, çalışmaya dâhil edilme kriterlerini sağlayan 62 KHC hastası ve anti-HCV negatif olan 60 kişiden oluşan kontrol grubu çalışmamıza alınmıştır. Hastaların demografik verileri, aspartat aminotransferaz (AST), alenin aminotransferaz (ALT), HCV-RNA düzeyi ve karaciğer histopatoloji sonucu kaydedildi. Çalışmaya yaş aralığı 18-90 yıl olan 26 erkek ve 36 kadın, anti-HCV pozitif tedavi almış sonrasında nüks gelişen, tedavi yanıtı veya naiv olan KHC enfeksiyonlu hastalar dâhil edildi. Kontrol grubu olarak, yaş aralığı 18-90 yıl olan 28 erkek ve 32 kadın anti-HCV negatif olan hastalar alındı. 2015/247 no.lu Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar etik kurul kararı ile onay alındı, hastalar bilgilendirildi ve onamları alındı.

Tüm hastalardan ve kontrol grubundan biyokimya tüpüne kan alındı, örnekler oda sıcaklığında iki saat bekletildi, ardından 1.000 x g'de 15 dk süreyle santrifüje edildi. Serumları ayrıldı ve ependorfa koyuldu, -80°C'de saklandı. Çalışma sonunda tüm serumlardan kriyoglobulin düzeyleri, biyotin bazlı, çift antikor sandviç teknolojisine dayalı, enzim bağlı immünosorbent analiz (ELISA) yöntemi kullanılarak ölçüldü. (Shanghai Yehua Biolo-

gical Technology, Çin). ELx50 Mikroplate strip yıkayıcı (BioTek, Instruments, ABD) ve Mikroplate absorbans okuyucu x Mark (Bio-rad Laboratories, California, ABD) marka ve menşei cihazlar kullanıldı. Kriyoglobulin seviyesi 20-80 mg/L aralığı pozitif olarak kabul edildi.

Çalışma sonunda, KHC hastaları ve kontrol grubunda kriyoglobulin düzeyleri karşılaştırıldı. Kriyoglobulin pozitif olarak bulunan KHC hastaları ile kriyoglobulin negatif bulunan KHC hastalarının demografik verileri, karaciğer enzimleri, karaciğer fibrozisi, aktivite indeksleri ile kriyoglobulin düzeyleri arasındaki ilişki karşılaştırıldı.

Veriler SPSS versiyon 16,0 programı ile analiz edildi. Normal dağılıma uygunluk analizleri yapıldı. Tanımlayıcı istatistiksel ortalama±standart sapma ve sıklık tabloları ile gösterildi. Veriler normal dağılım göstermediği için gruplar arası karşılaştırmada Mann-Whitney U testi kullanıldı. Değişkenlerin birbirleri ile ilişkileri için Pearson ve Spearman korelasyon kullanıldı. p<0,05 anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 62 KHC hastanın 26 (%42)'i erkek, 36 (%41,3)'sı ise kadın idi. Altmış kişiden oluşan kontrol grubunun 28 (%47)'i erkek, 32 (%53)'si kadın idi. Kriyoglobulin seviyesine cinsiyete göre bakıldığında, iki cinsiyet arasında kriyoglobulinemi pozitifliği açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05). Hastaların yaş aralığı 18-90 yıl idi. KHC hastalarının yaş ortalaması 64,1±10,7, kontrol grubunun yaş ortalaması 53,8±19 olarak saptandı. Kriyoglobulin pozitifliğine yaşa göre bakıldığında aralarında anlamlı bir ilişki saptanmadı (p>0,05).

KHC hastalarının AST düzeylerine bakıldığında; AST seviyesi 78,7±228,6, ALT seviyesi 55,8±77,8 olarak ölçüldü. Kontrol grubunda AST seviyesi bakıldığında; AST 23±16,4, ALT seviyesi 22±14,7 olarak ölçüldü.

Çalışmamıza dâhil ettiğimiz 62 KHC hastasının karaciğer fibrozis düzeyi, histolojik aktivite indeksi, genotip dağılımı, HCV RNA, AST, ALT, alfa fetoprotein (AFP) seviyeleri dosyalar taranarak not

TABLO 1: KHC hastalarında AST, ALT, AFP, HCV RNA düzeyleri (n=62).

	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart sapma
AST	12	1800	78,7	228,6
ALT	7	600	55,8	77,8
AFP	0.9	8549	247,5	1314,7
HCV-RNA	23800	7790000	1703545,9	1691598,3

KCH: Kronik hepatit C; AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; AFP: Alfa fetoprotein; HCV-RNA: Hepatit C virüsü-ribonükleik asit.

TABLO 2: KHC hastalarının ve kontrol grubunun kriyoglobulin seviyeleri.

	Kriyoglobulin düzeyi seviyesi	n	%	p
Hasta	24,7±18	32	51,6	<0,05
Kontrol	21,2±20,6	17	28,3	<0,05

KCH: Kronik hepatit C.

edildi. KHC hastalarının AST, ALT, AFP, HCV RNA düzeyleri, minimum ve maksimum değerleri Tablo 1’de belirtilmiştir.

Bu 62 KHC hastasının geçmişe yönelik dosyaları tarandığında, 40’ına biyopsi yapıldığı görüldü. KHC hastalarının karaciğer fibrozis evresi Modifiye Ishak evreleme ile yapıldı. Hastalarımızın karaciğer fibrozis evresi I-V arasında değişmekte idi. Toplamda, evre I’de 5 (%12,5) hasta, evre II’de 12 (%30) hasta, evre III’te 14 (%35) hasta, evre IV’te 5 (%12,5) hasta ve evre V’te 4 (%10) hasta bulunmaktadır. Kriyoglobulin seviyesi ile hastalığın evresi karşılaştırıldığından aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05). Modifiye Ishak Histolojik aktivite indeksi normal aralığı 0-18’dir. Çalışmaya dâhil edilen hastalar histolojik aktivite indekslerine göre 0-5, 6-10, >11 olmak üzere üç gruba ayrılarak değerlendirme yapıldı. Kriyoglobulin seviyesi ile histolojik aktivite indeksi karşılaştırıldığından aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p>0,05).

Çalışmamıza dâhil ettiğimiz 62 KHC hastasının kayıtları genotip yönünden retrospektif olarak tarandı. Toplam 28 hastada genotip incelemesi yapıldığı görüldü. Bu hastaların 5 (%17,8) tanesinde genotip 1a, 23 (%82,1)’ünde genotip 1b saptandı. Genotip 1b ve 1a arasında kriyoglobulin seviyesi karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki saptanmadı (p>0,05).

Kriyoglobulin seviyesi 20-80 mg/L aralığı pozitif olarak kabul edildi.

Tablo 2’de belirtildiği gibi iki grup karşılaştırıldığında kriyoglobulin seviyesi hepatit C hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulundu (p<0,05). KHC hastalarında kriyoglobulin pozitifliği 32/62 (%51,6) iken kontrol grubunda 17/60 (%28) olarak saptandı (p<0,05).

KHC hastalarında kriyoglobulinemi pozitif veya negatif olan hastaların özellikleri ve kriyoglobulinemi durumu ile hasta laboratuvar sonuçları arasındaki ilişki Tablo 3’te belirtilmiştir.

TARTIŞMA

HCV enfeksiyonuna yakalanmış hastaların karaciğer dışı komplikasyonlarının gelişmekte olduğu bilinmektedir. Morbidite ve mortalite riski, kronik HCV enfeksiyonunun karaciğer dışı komplikasyonları hesaba katıldığında oldukça yüksektir. Hastaların %74’ünde çok sayıda ekstrahepatik belirtiler bildirilmiştir.¹ HCV enfeksiyonunun ekstrahepatik bulguları çok yaygındır. Bunlardan en yaygın olanı MKİ’dir.²

Yapılan bir çalışmada, EMK’li hastalarda HCV enfeksiyon prevalansı %71-86 olarak bulunmuştur. HCV enfeksiyonunda kriyoglobulinemi prevalansı ise %13-54’tür.³ İdilman ve ark. Türk ve Amerikan hastalarda HCV ve kriyoglobulin birlikteliğini araştırmışlar, Türkiye’de HCV’li hastalarda %23 oranında kriyoglobulinemi saptanmış iken, Amerika’da bu oranı %34,2 olarak bulmuşlardır.⁴ Yapılan bir diğer çalışmada HCV pozitif toplam 52 hastanın 17 (%32,6)’sinde EMK saptanmıştır. Sağlıklı kontrol grubunda ise hiçbirinde EMK görülmemiştir.⁵ Schmidt ve ark. %46,9, Donada ve ark. bu oranı %55,4, Mazzaro ve ark. %54 olarak bulmuşlardır.⁶⁻⁸ Sansonno ve ark.’nın farklı yıllarda yaptığı iki çalışmaya bakacak olursak, EMK’de HCV enfeksiyonu görülme sıklığı %40-90 arasında, HCV negatif hastalarda EMK oranı ise yaklaşık %5-10 olarak saptanmıştır.^{9,10} Çalışmamızda da KHC hastalarında saptadığımız kriyoglobulin pozitifliği oranı literatürde bildirilen ile uyumlu olarak bulunmuştur.

Yapılan bir başka çalışmada, KHC’li 1083 hastanın %40’ında MK saptanmıştır. Kriyoglobulinemi

TABLO 3: KHC hastalarında kriyoglobulinemi pozitif veya negatif olan hastaların özellikleri ve kriyoglobulinemi durumu ile hasta laboratuvar sonuçları arasındaki ilişki.

	Kriyoglobulin (+) hastalar 32 (%51,6)	Kriyoglobulin (-) hastalar 30 (%48,4)	p
Yaş (yıl)	66,4±9,7	61,7±11,3	>0,05
Cinsiyet(E/K)	16/16 (%61,5/%44,4)	10/20(%38,5/%55,6)	>0,05
AST	102,9±314,5	52,9±53,1	>0,05
ALT	58,9±102,7	52,5±37,9	
AFP	457,6±1786,6	7,5±9,4	
HCV-RNA	1579240,6±1330857,3	1840710,3±2033150,3	
Genotip 1a	2 (%40)	3 (%60)	>0,05
Genotip 1b	11 (47,8)	12 (52,2)	
HAI 1-5	3 (%75)	1 (%25)	>0,05
HAI 6-10	10 (%41,7)	14 (%58,3)	
HAI >11	19 (%55,9)	15%(44,1)	
Evre I	4 (%80)	1 (%20)	>0,05
Evre II	6 (%50)	6 (%50)	
Evre III	5 (%35,7)	9 (%64,3)	
Evre IV	2 (%40)	3 (%60)	
Evre V	3 (%75)	1 (%25)	

KCH: Kronik hepatit C; AST: Aspartat aminotransferaz; ALT: Alanin aminotransferaz; AFP: Alfa fetoprotein; HCV-RNA: Hepatit C virüsü-ribonükleik asit; HAI: Histolojik aktivite indeksi.

varlığı ile kadın cinsiyet ve HCV genotip 2 ve 3 arasında anlamlı bağlantı olduğu bildirilmiştir.¹¹ Bir diğer çalışmada, tüm HCV genotiplerinde MK saptanmıştır ve belli bir genotip ile net bir ilişki gösterilememiştir. Kadın cinsiyetin MK'ye yatkın olabileceği bulunmuş, ancak güçlü bir ilişki saptanmamıştır.¹² Schmidt ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, hepatit C virüsü ile enfekte olan 115 hastanın 54'ünde EMK saptanmıştır. Kriyoglobulinemi ile ALT, HCV-RNA, genotip ve histolojik aktivite indeksi arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Fibrozis ile kriyoglobulinemi arasında ise anlamlı bir korelasyon bulunmuştur.⁶ Literatürde, kriyoglobulinemi pozitifliği ile fibrozis arasında ilişki saptanırken, çalışmamızda bulunmamıştır. Çalışmamızda kriyoglobulinemi pozitifliği ile yaş, cinsiyet, AST, ALT, HCV-RNA, genotip ve histolojik aktivite indeksi ile de arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

SONUÇ

Bulgularımız, KHC hastalarında EMK yüksek prevalansını ortaya koymuştur. EMK ile yaş, cinsiyet, AST, ALT, HCV-RNA fibrozis ve aktivite indeksi ile arasında ilişki saptanmamıştır. Çalışmamızda ise 62 KHC

hastasının 32 (%51,6)'sinde EMK bulunmuştur. HCV negatif 60 kişiden oluşan kontrol grubunun ise 17 (%28,3)'sinde EMK belirlenmiştir. KHC hastalarında EMK anlamlı yükseklikte bulunmuştur. Bu oran yapılan birçok çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Teşekkür

Tezimin hazırlanma aşamasında yardımcı olan N.E.Ü. bilimsel araştırma projeleri koordinatörlüğüne, istatistiksel analizleri yapan Yrd. Doç. Dr. Mehmet UYAR'a, Biyokimyasal testler ile ilgili yardımları için Öğr. Gör. Cemile Topçu'ya teşekkür ederim.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Mehmet Bitirgen; **Tasarım:** Mehmet Bitirgen;
Denetleme/Danışmanlık: Mehmet Bitirgen; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Esmâ Eroğlu; **Analiz ve/veya Yorum:** Esmâ

Eroğlu; **Kaynak Taraması:** Esmâ Eroğlu; **Makalenin Yazımı:** Esmâ Eroğlu; **Eleştirel İnceleme:** Mehmet Bitirgen; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Mehmet Bitirgen; **Malzemeler:** Mehmet Bitirgen; **Diğer:** Esmâ Eroğlu.

KAYNAKLAR

- Gulli F, Santini SA, Napodano C, Bottoni P, Pocino K, Rapaccini GL, et al. Cryoglobulin test and cryoglobulinemia hepatitis C-virus related. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2017;9(1):e2017007.
- Husa P. [Extrahepatic manifestations of HCV infection]. *Vnitr Lek* 2016;62(Suppl 2):18-22.
- Dolar E. Kronik hepatit C virüs enfeksiyonunda ortaya çıkan renal ve immünolojik anormallikler. *Viral hepatit dergisi* 1998(1):9-11.
- İdilman R, Uzunalımoğlu Ö, Bozdayı M, Çetinkaya H, Bozkaya H. "İki toplum arasında hepatit C virüs pozitif hastalarda kriyoglobulin sıklığının karşılaştırılması." 14. Ulusal Gastroenteroloji Kongresi, Mersin, 1997. p.85.
- Kırış S, Direşkendi H, Özener Ç, Akoğlu E. [Cryoglobulinemia prevalence and relation with HCV infection in chronic hemodialysis patients]. *Official Journal of the Turkish Nephrology* 1996;3:110-14
- Schmidt WN, Stapleton JT, LaBrecque DR, Mitros FA, Kirby PA, Phillips MJ, 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):737-44.
- Donada C, Crucitti A, Donadon V, Tommasi L, Zanette G, Crovatto M, et al. Systemic manifestations and liver disease in patients with chronic hepatitis C and type II or III mixed cryoglobulinemia. *J Viral Hepat* 1998;5(3):179-85.
- Mazzaro C, Zagonel V, Monfardini S, Tulissi P, Pussini E, Fanni M, et al. Hepatitis C virus and non-Hodgkin's lymphomas. *Br J Haematol* 1996;94(3):544-50.
- Sansonno D, Dammacco F. Hepatitis C virus, cryoglobulinaemia, and vasculitis: immune complex relations. *Lancet Infect Dis* 2005;5(4):227-36.
- Sansonno D, Carbone A, De Re V, Dammacco F. Hepatitis C virüs infection, cryoglobulinaemia, and beyond. *Rheumatology (Oxford)* 2007;46(4):572-8.
- Cacoub P, Fabiani FL, Musset L, Perrin M, Frangeul L, Leger JM, et al. Mixed cryoglobulinemia and hepatitis C virus. *Am J Med* 1994;96(2):124-32.
- Charles ED, Dustin LB. Hepatitis C virus-induced cryoglobulinemia. *Kidney Int* 2009;76(8):818-24.