

T.C.

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

**KRONİK C HEPATİTLİ HASTALARDA MONOKLONAL GAMMAPATİ SIKLIĞI:
MONOKLONAL GAMMAPATİNİN HEPATİT C VİRÜS ENFEKSİYON SEYRİNE
ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

102996

Uzman Dr. RAMAZAN İDİLMAN

102996

ANKARA , 2001

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMAN KURULU

Bu tez çalışmasının planlanmasından yazı haline gelmesine kadar tüm aşamalarda yardımlarını gördüğüm Prof Dr Abdulkadir Dökmeci, Prof Dr D.H. Van Thiel, Gastroenteroloji Bilim Dalı Başkanı Prof Dr Ali Özden ve Gastroenteroloji Bilim Dalı değerli öğretim üyelerine, yetişmemde katkısı olan ve emeği geçen tüm hocalarıma ve hiçbir zaman fedakarlıktan kaçınmayan sevgili aileme saygı ile teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. Giriş ve Amaç	5-6
2. Genel Bilgiler	7-10
3. Hasta ve Yöntem	11-15
4. Bulgular	16-24
5. Tartışma	25-29
6. Özet	30
7. Kaynaklar	31-35

KISALTMALAR

HCV; Hepatit C virüs

MG; monoklonal gammapati

BMG; Benign monoklonal gammapati

MLH; Malign lenfoproliferatif hastalıklar

PHH; Plazma hücreli hastalıklar



GİRİŞ VE AMAÇ

Hepatit C virüs, günümüzde insanlarda en sık kronik karaciğer hastalığına sebep olan, tek sarmallı RNA virüsüdür. Dünyada yaklaşık 170 milyon kişinin hepatit C virüs ile enfekte olduğu bilinmektedir. Enfekte kan ve kan ürünlerine maruziyet, parenteral ilaç kullanımı, aile içi temas ve cerrahi girişimler gibi çeşitli yollarla, hepatit C virüsün insanlara bulaştığı bilinmektedir. Hepatit C virüs, insanlarda asemptomatik taşıyıcılıktan, akut ve/veya kronik hepatit, son dönem karaciğer hastalığı ve hepatosellüler karsinomaya kadar geniş spektrumda değişkenlik gösteren bir hastalık tablosu oluşturur. Bununla birlikte hepatit C virüsün, membranöz glomerulonefrit, idiyopatik pulmoner fibrozis, Sjögren sendromu, porphyria cutanea-tarda, benign ve malign B-hücreli lenfoproliferatif hastalıklar gibi çeşitli karaciğer dışı klinik tabloların etyopatogenezinde rol aldığı ileri sürülmektedir.

Monoklonal gammopatiler, ileri yaşta sıklıkla ortaya çıkan, plazma hücrelerin klonal ekspansiyonu ve proliferasyonu ile karakterize, B-hücreli lenfoproliferatif hastalıklardır. Monoklonal gammopatiler, benign monoklonal gammopatilerden, malign lenfomaya kadar değişkenlik gösteren bir klinik spektrum gösterirler. Genetik yatkınlık, kronik antijenik stimulus (enfeksiyon) gibi çeşitli faktörlerin monoklonal gammapati oluşumunda sorumlu oldukları ileri sürülmesine rağmen, monoklonal gammopatilerin etyopatogenezini henüz açıklık kazanmamıştır. Bununla birlikte, hepatit C virüsün özellikle mikst kriyoglobulinemi ve non-Hodgkin's lenfoma gibi B-hücreli hastalıklarla birlikteliği çeşitli araştırmacılar tarafından, yakın zamana kadar bildirilmiştir.

Bu çalışma, kronik C hepatiti olan hastalarda monoklonal gammapati sıklığını araştırmak, B-hücreli benign ve malign lenfoproliferatif hastalıkların kronik hepatit C virüs enfeksiyonu ile olan birlikteliğini göstermek ve bu B-hücreli lenfoproliferatif hastalıkların hepatit C virüs enfeksiyonuna ve genotip dağılımına olan etkisini araştırmak amacı ile planlanmıştır.



GENEL BİLGİLER

Hepatit C virüs (HCV) tek sarmallı RNA yapısına sahip, genomik yapı olarak Flavivirüs ve Pestivirüs ailesi ile benzerlik gösteren, ülkemizde ve dünyada kronik karaciğer hastalığına en sık neden olan etkidir (1,2). Dünya üzerinde yaklaşık 170 milyon kişinin HCV ile enfekte olduğu (1,2), bu oran kıtalar arası, ülkeler arası ve aynı ülkede bölgeler arası farklılık göstermektedir (1,2). Amerika Birleşik Devletleri'nde, populasyonun %1.8'inde anti-HCV pozitifliği (yaklaşık 3.9 milyon) ve her yıl yaklaşık 85000 yeni HCV vakası gözlemlendiği bildirilmektedir (3). Ülkemizde anti-HCV pozitifliği yaklaşık %1 civarında olup kronik hepatit olgularının yaklaşık %25'ini oluşturmaktadır (2,4,5).

HCV genomu yaklaşık 9,400 – 9,500 nükleotidlik tek sarmallı RNA içerir. Bu genomik yapı 3 strüktürel (yapısal) ve 6 non-strüktürel proteinden oluşur (6). HCV'nin non-strüktürel proteinlerin sekans parçalarının genetik analizi ile en az 9 major ve bunların subtipleri olduğu bildirilmektedir (6,7). HCV enfeksiyonu insanlara, enfekte kan ve kan ürünlerine maruziyet, parenteral ilaç kullanımı, hemodiyaliz, aile içi temas, enfekte anneden bebeğe bulaş, seksüel yol ve cerrahi manuplasyonlar gibi çeşitli yollarla geçtiği bildirilmektedir (8-10). Bilinen bu bulaş yollarına rağmen en az %20 HCV ile enfekte olguda, HCV'nin hangi yolla bulaştığı bilinmemektedir (8-10).

HCV enfeksiyonu, insanlarda asemptomatik taşıyıcılıktan, akut hepatit, fulminant hepatit, kronik hepatit, son dönem karaciğer hastalığı (siroz) ve hepatosellüler karsinomaya kadar geniş spektrumda bir değişkenlik gösteren klino-patolojik seyir gösterir (11-13). Akut HCV enfeksiyon olgularının yaklaşık % 70-80'inin kronikleştiği, kronik HCV enfeksiyonunun latend ve/veya manifest halde progresif seyir göstererek, anti-viral tedavi almayan ve/veya

tedaviye dirençli olgularda yaklaşık 10-20 yıl arasında son dönem karaciğer hastalığına ve 20-30 yıl arasında hepatosellüler karsinomaya ilerlediği bildirilmektedir (11-13). İmmunosupresif olgularda bu sürenin daha kısa olduğu ileri sürülmektedir (14).

Bu klinik tablolar ile birlikte HCV, karaciğer dışı (ekstra-hepatik) dokularda, membranöz glomerulonefrit, idiyopatik pulmoner fibrozis, otoimmün troidit, Sjögren sendromu, porphyria cutanea-tarda, Mooren korneal ülserler, benign (esansiyel mikst kriyoglobulinemi; EMK) ve malign B-hücreli lenfoproliferatif hastalıklar (malign lenfoma) gibi klinik tabloların etyopatogenezinde rol alabileceği araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (15-18).

Monoklonal gammopatiler (MG), tek klon halinde plazma hücre proliferasyonu sonucunda monoklonal protein oluşumu ile karakterize, B-hücreli benign ve malign lenfoproliferatif hastalıklardır (19,20). MG normal sağlıklı popülasyonda %1 sıklığında görülmekte olup bu oran yaşla birlikte artmaktadır (19). MG'lerin klinik spektrumu, sınıflandırılmayan benign monoklonal gammopatilerden (BMG), multiple myeloma (MM) ve malign lenfomaya kadar çok değişkenlik göstermektedir (19) (Tablo 1).

Yakın zamanda, HCV'nin B-hücreli benign ve malign hastalıkların etyopatogenezinde rol alabileceği ileri sürülmüştür (21-23). EMK'li hastaların yaklaşık %95'inde anti-HCV pozitifliğinin varlığı (24,25), kronik C hepatitli hastaların yaklaşık %13-54'inde mikst kriyoglobulin varlığı (26-28) ve B-hücreli non-Hodgkin's lenfomalı (NHL) hastaların %1 ile 30'unda anti-HCV pozitifliği çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (21,22,29,30). Diğer taraftan çok yakın zamanda, bazı araştırmacılar tarafından HCV enfeksiyonu olan hastalarda %2-11 arasında değişkenlik gösteren MG varlığı rapor edilmiştir (31-33), ancak tüm bu çalışmalar retrospektif olup veriler tartışmalıdır.

TABLO 1

1) Benign monoklonal gammopatiler

a) Monoklonal gammopatiler (Ig-G, Ig-A, Ig-M, Ig-D, hafif zincir κ, λ .)

b) Biklonal gammopatiler

2) Malign hastalıklarla birliktelik gösteren monoklonal gammopatiler

a) Multiple myeloma (MM) (Ig-G, Ig-A, Ig-M, Ig-D, hafif zincir κ, λ .)

- MM
- Non-sekretuar MM
- Osteosklerotik MM
- Plazma hücreli lösemi

b) Plazmositoma

- Soliter
- Ekstrameduller

c) Malign lenfoproliferatif hastalıklar

- Waldenström makroglobulinemi
- Malign lenfoma

d) Ağır zincir hastalıkları

- Alfa ağır zincir hastalığı
- Gama ağır zincir hastalığı

Bu çalışmanın amacı, kronik C hepatitli hastalarda MG sıklığını araştırmak, mikst kriyoglobulinemi ve B-hücreli malign lenfoproliferatif hastalıkların, kronik HCV enfeksiyonu ile birlikteliğini göstermek, MG'nin ve B-hücreli malign lenfoproliferatif hastalıkların HCV enfeksiyonu ve genotip dağılımına olan etkisini araştırmaktır.



HASTA VE YÖNTEM

A) HASTA:

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi tarafından 04 11 1999 - 03 11 2000 tarihleri arasında görevlendirildiğim, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Loyola Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji-Hepatoloji Bölümü, poliklinik ve yatan hasta servislerine başvuran, biyokimyasal ve histopatolojik olarak kronik C hepatit tanısı almış olan 286 hasta çalışmaya alındı. Bu hastaların, 216'sının kronik aktif hepatit (KAH) ve 70'inin siroz olduğu biyokimyasal ve histopatolojik olarak tanımlanmıştır. Çalışmaya alınan tüm hastaların genel özellikleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

B) BİYOKİMYASAL TESTLER :

Hasta serumlarında serum aspartat amino transferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT), alkalin fosfataz, total bilirubin, kan beyaz küre ve serum immunglobulin (Ig G, A, M) düzeyleri standart enzimatik otoanalizör yöntemlerle çalışıldı. Serum ve idrarda MG varlığı immunofiksasyon yöntemi (Hydragel immunofixation system, Sebia Inc., Norcross, Georgia, USA) ile gösterildi.

Kriyoglobulin tayini için sıcaklığı korunmuş enjektör ile 10 cc kan alındı ve takiben 37°C sıcaklığı olan su banyosunda 1 saat bekletildi. Bu sıcaklık korunarak kan örneği santrifüj edilip serum ayrıştırıldı. Bu serum örneğinden 1 cc alınarak +4°C derecede 72 saat bekletildi. Bu süre sonunda bu örnek +4°C derecede 3000 rpm hızda 10 dakika santrifüj edildi. Tüpün alt kısmı ışık altında değerlendirildi. Tüpün alt kısmında presipat görülen örnekler, kalitatif olarak kriyoglobulin pozitif kabul edildi.

TABLO 2 Çalışmaya katılan tüm hastaların karakteristik özellikleri.

	Monoklonal gammapatisi Olan hastalar	Monoklonal gammapatisi olmayan hastalar	p değeri
Hasta sayısı	37	249	-
Yaş (yıl)	58	49	<0.001
Cinsiyet (erkek/kadın)	20/17	144/105	>0.05
İrk (Afrikan-Amerikan/ Afrikan-Amerikan dışı)	9/28	40/209	>0.05
HCV viral yük (kopi x 10 ⁵ /ml)	67±6	75±8	>0.05
HCV genotip 1b	57%	39%	>0.05
Başlangıç ALT (IU/L)	77±5	83±6	>0.05
Kronik aktif hepatit	24	192	>0.05
Siroz	13	57	>0.05
Kriyoglobulinemi	19%	12%	>0.05
Romatoid Faktör pozitifliği	38%	27%	>0.05
Beyaz küre sayısı (N, 2,200-8,500 per/mm ³)	5.9±0.4	6.3±0.7	>0.05
Serum Ig G düzeyi (N, 694-1618mg/dl)	2028±176	1681±160	<0.05
Serum Ig A düzeyi (N, 68-378mg/dl)	354±53	297±32	>0.05
Serum Ig M düzeyi (N, 46-266mg/dl)	226±35	231±31	>0.05

N; normal değeri

C) FLOW SİTOMETRİ:

Periferik kan ve kemik iliğinden mononükleer hücreler “Ficoll-Hypaque density gradient centrifugation” yöntemi ile izole edildi. Bu hücreler CD2 (Cluster of Differentiation), CD3, CD4, CD5, CD8, CD19, CD20, CD22, CD45, kappa ve lambda immunoglobulin hafif zincirlerine karşı olan antikorlarla direkt immunoflöresan yöntemi ile boyandı. Plazma hücreleri CD38, kappa ve lambda immunoglobulin hafif zincirlerine karşı olan antikorlarla ayrıldı. Her bir serum örneği, Epics XL-MCL flow sitometri (Coulter, Miami Lakes, FL) ile yaklaşık 10.000 siklus ile analiz edildi. Hücrelerin en az %20'sinde antikor pozitifliği (histogram scatterplots yöntemi ile) immunofenotipik belirleyici pozitifliği olarak değerlendirildi.

D) SEROLOJİK TESTLER:

HCV'ye karşı gelişen antikor (anti-HCV), hepatit B virüse karşı gelişen antijen ve antikorlar (HBs-Ag, anti-HBs, HBe-Ag, Anti-HBe, anti-HBc Ig-M, Ig-G), delta hepatit antikorları, hepatit A virüsüne karşı gelişen antikorlar (anti-HAV Ig-M, Ig-G), Sitomegalovirüs antikorları (anti-CMV Ig-M, Ig-G), Epstein Barr virüs antikorları (anti-EBV Ig-M, Ig-G) ve insan immün yetmezlik virüs antikorları (anti-HIV) hasta serumlarında ikinci kuşak enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA; Abbott Laboratories, North Chicago, IL, USA) testi ile çalışıldı. Hasta serumlarında HCV-RNA varlığı ve düzeyleri (kalitatif ve kantitatif) “polymerase chain reaction (PCR)” yöntemi (Amplicor, Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) ile çalışıldı. HCV genotip tayini, ARUP Labs (Salt Lake City, Utah-USA) kitleri kullanılarak, RT-PCR ile gen “amplification” ve takiben nükleik asit sekans analizi ile yapıldı (34). HCV genomunun 5' UTR bölgesi yapısına göre Tip 1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 3,4 genotiplere ayrıldı.

E) HİSTOLOJİ:

Karaciğer biyopsileri skopi altında 14-gauge Tru-cut biyopsi iğnesi (Baxter, Valencia, CA) ile yapıldı. Histopatolojik değerlendirme ve doku HCV-RNA tayini (PCR) için her olgudan iki karaciğer biyopsi örneği alındı.

MG'li hastalardan kemik iliği aspirasyonu, kemik iliği biyopsi ve lenf nodu olan hastalardan da lenf nodu biyopsi örnekleri alındı. Doku örnekleri standart yöntemlerle fikse edildi ve histolojik değerlendirilmek amacıyla boyandı. Tüm bu doku örneklerine monoklonal B-hücre popülasyonu tanımlanması ve immunofenotipik analizi için yukarıda tanımlanan yüzey belirleyici antikor analiz çalışmaları yapıldı. Lenfoma olguları daha önce tanımlanan REAL sınıflandırılmasına göre sınıflandırıldı (35).

F) TAKİP:

Hasta serumlarında immünofiksasyon ile MG varlığı ve/veya var olan MG'nin kaybolmasını göstermek amacıyla hastalardan her 6 ayda bir serum ve idrar örnekleri toplandı. Serum ve/veya idrarlarında yeni MG saptanan hastalara kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi yapılması planlandı.

G) ETİK KURUL:

Bu çalışma 1975 yılında yayınlanan Helsinki Etik Kurul Deklarasyonuna uygun olup, çalışmaya katılan tüm hastalardan, karaciğer ve kemik iliği biyopsi öncesi olur formu alınmıştır.

H) İSTATİKSEL ANALİZ:

Tüm çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesinde Mann-Whitney non-parametric test, Kruskal-Wallis, ANOVA one-way ve Ki-Kare testleri kullanılmıştır. p değeri 0.05'in altında olanlar anlamlı olarak kabul edilmiştir.



BULGULAR

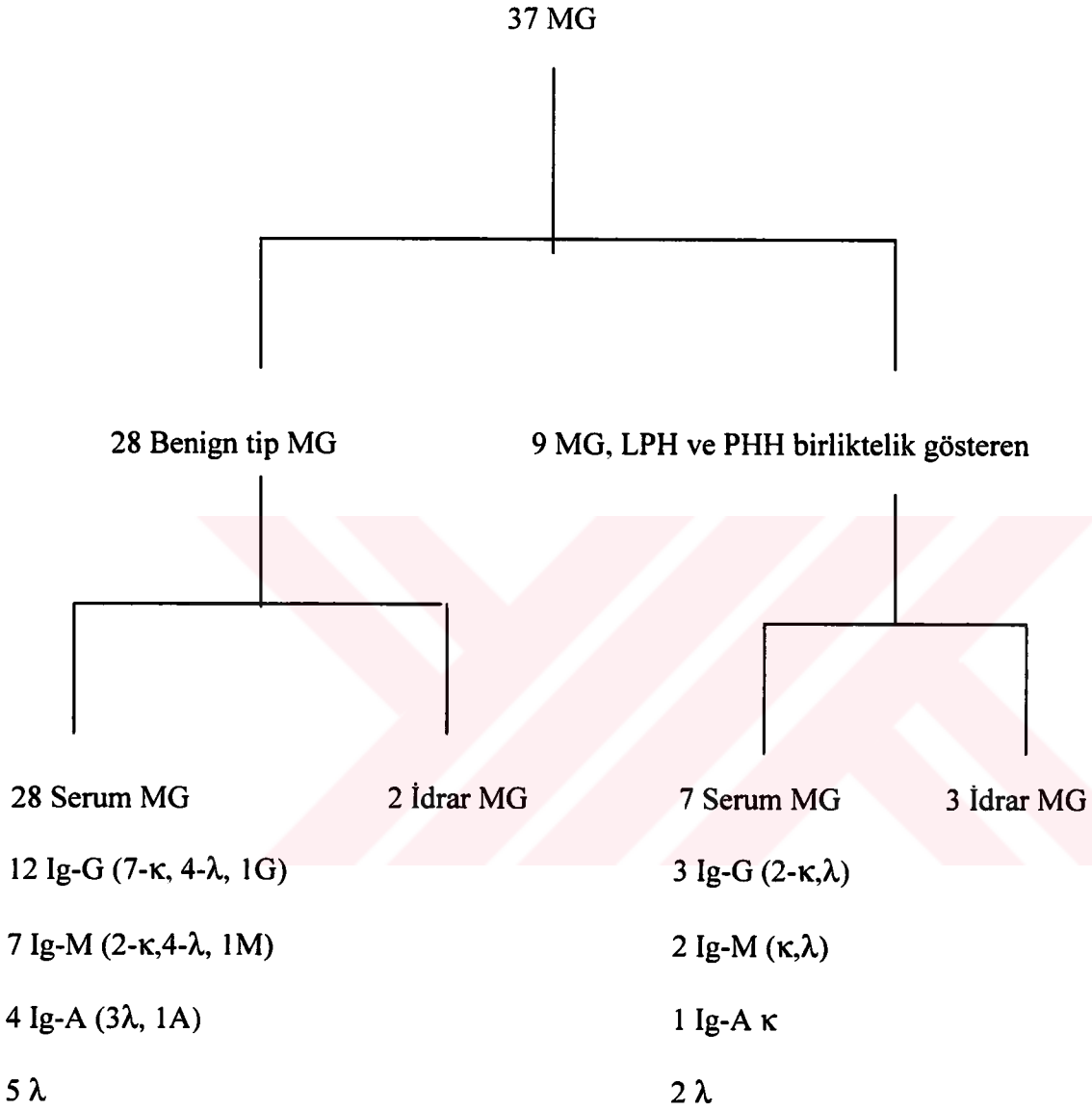
1) MONOKLONAL GAMMAPATİ SIKLIĞI:

Çalışmaya alınan 286 hastanın otuz yedisinde (12.9%, 37/286) MG varlığı saptanmıştır. MG'si olan ve olmayan kronik C hepatitli hastaların karakteristik ve demografik özellikleri Tablo 2'de yer almaktadır. MG'li hastaların erkek/kadın oranı 20/17 dir. MG'li hastaların ortalama yaşı 58.1 yıl iken (aralık, 34-86 yaş), MG'si olmayan hastaların ortalama yaşı 48.9 (aralık, 36-84 yaş) yıldır. Bu sonuca bağlı olarak, MG'si olan hastaların ortalama yaşları, MG'si olmayan hastaların ortalama yaşlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (58.1 yıl ile 48.9 yıl, $p<0.001$). Diğer taraftan MG'si olan ve olmayan hastalar arasında ırk ve cinsiyet yönünden anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 2).

MG'li hastaların serum Ig-G düzeyleri MG'si olmayan hastaların serum Ig-G düzeylerine göre istatistiksel olarak yüksek saptanırken (2028 ± 176 ile 1681 ± 160 , $p<0.05$), serum Ig-A ve serum Ig-M düzeyleri açısından her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (354 ± 53 ile 297 ± 32 ve 226 ± 35 ile 231 ± 31 ; $p>0.05$) (Tablo 2).

MG'si olan 37 hastanın 36'sının serumunda MG varlığı, saptanmıştır. Bunların; 15'i Ig-G tip (9 IgG- κ , 5 IgG- λ , 1 IgG), 5'i Ig-A tip (1 IgA- κ , 3 IgA- λ , 1 IgA), 9'u Ig-M tip (3 IgM- κ , 5 IgM- λ , 1 IgM) ve 7'si lambda hafif zincir şeklinde idi (Şekil 1). MG'li 37 hastanın 23'ünde immunofiksasyon yöntemi ile idrarda MG bakıldı. Bu hastaların %22'sinde (5/23) idrarda MG saptandı. Serum MG'si negatif olan bir hastada idrarda MG pozitif saptandı.

ŞEKİL 1



MG'si olan ve olmayan hastalar arasında ortalama beyaz küre sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (5.900/mm³ ile 6.300/mm³, p>0.05). MG'li hastaların, periferik kan flow sitometrik analizinde; ortalama CD3+ T hücresi sayısı %73.8 (aralık, %53-%92; normal, %51-%88), ortalama CD4+ T hücresi sayısı %44.2 (aralık, %22-%63; normal, %40-%60), ortalama CD8+ T hücresi sayısı %26.8 (aralık, %11-%47; normal, %14-%39) ve ortalama CD4+/CD8+ oranı 2.1 (normal, 0.7-3.5) olarak bulundu. Bu hastaların ortalama CD19+ B hücresi sayısı ise %14.2 (aralık, %3-%27; normal, %3-%21) olarak saptandı.

Kemik iliği aspirasyon biyopsi flow sitometrik analizinde; ortalama CD3+ T hücresi sayısı %54.9 (aralık, %15-%85), ortalama CD4+ T hücresi sayısı %31.8 (aralık, %5-%60), ortalama CD8+ T hücresi sayısı %19,9 (aralık, %8-33) ve ortalama CD4+/CD8+ oranı 1.7 olarak bulundu. Bu hastaların ortalama CD19+ B hücresi sayısı ise %15.9 (aralık, %5-%49) olarak saptandı.

37 MG'li hastanın, 28'i benign tip MG olup bunların, 12'si Ig-G tip (7 IgG-κ, 4 IgG-λ, 1 IgG), 4'ü Ig-A tip (3 IgA-λ, 1 IgA), 7'si Ig-M tip (2 IgM-κ, 4 IgM-λ, 1 IgM) ve 5'i lambda hafif zincir şeklinde idi (Tablo 3). Bu hastaların erkek/kadın oranı 16/12 ve ortalama yaşı 56.4 yıl idi (aralık, 34-86 yaş). Bu hastaların kemik iliği biyopsilerinde her üç seride hematopoiezis ve hafifçe artmış tarzda plazma hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Bu plazma hücreleri matür görünümde, küçük boyutta, interstisyel dağılım gösterip, demet formasyonu içermemekteydi. Kemik iliği aspirasyonunun flow sitometrik analizinde plazma hücre klonalitesi gözlenmekteydi. T, B hücre popülasyonunda ve T hücre subpopülasyonunda anormal bir dağılım saptanmadı.

TABLO 3 Benign monoklonal gammopatisi olan 28 HCV'li hastanın klinik özellikler

Hasta	Yaş	Cins	İrk	HCV Genotip	Histoloji	Serum MG	İdrar MG	Kriyo	RF (IU/ml)	K.i. Bulguları
1	70	K	D	1b	Siroz	IgG-L	B	Negatif	>20	normal
2	73	E	D	1b	KAH	IgM-L	Proteinüri	Negatif	<20	normal
3	54	E	D	B	Siroz	IgG-L	B	Negatif	<20	normal
4	50	K	D	2b	Siroz	IgG-K	B	Negatif	<20	normal
5	86	E	D	2a	Siroz	Lambda	Negatif	Negatif	<20	normal
6	44	K	D	B	KAH	Lambda	Negatif	Negatif	<20	normal
7	55	E	D	1b	Siroz	IgG-K	Negatif	Negatif	<20	normal
8	60	K	AA	1a	KAH	IgA-L	Negatif	Negatif	>20	normal
9	46	E	D	B	KAH	IgM	Negatif	Pozitif	>20	normal
10	60	K	D	2b	KAH	Lambda	Proteinüri	Negatif	<20	normal
11	58	E	AA	B	KAH	IgG-K	Proteinüri	Pozitif	<20	normal
12	67	E	D	B	KAH	IgG-L	Negatif	Negatif	<20	normal
13	42	E	D	1a	KAH	IgM-K	Negatif	Negatif	>20	normal
14	59	E	AA	1b	CAH	IgA-L	Proteinüri	Negatif	<20	normal
15	63	K	D	1b	Siroz	IgG-K	Proteinüri	Negatif	>20	normal
16	70	K	D	1a	KAH	IgG	B	Negatif	<20	normal
17	57	K	AA	1b	KAH	IgM-L	Pozitif	Negatif	>20	normal
18	43	E	AA	1a	KAH	IgG-K	NA	Negatif	<20	normal
19	47	E	D	B	KAH	IgM-L	Pozitif	Negatif	<20	normal
20	34	K	D	1a	Siroz	IgG-K	B	Negatif	<20	normal
21	61	K	D	B	Siroz	Lambda	Proteinüri	Negatif	<20	normal
22	61	K	D	1b	KAH	IgG-L	B	Negatif	>20	normal
23	51	E	D	1a	KAH	IgM-K	B	Negatif	>20	normal
24	47	K	AA	1b	KAH	IgG-K	B	Negatif	<20	normal
25	49	E	D	1b	KAH	Lambda	Proteinüri	Negatif	>20	normal
26	52	E	D	B	KAH	IgM-L	Negatif	Negatif	<20	normal
27	65	E	D	B	KAH	IgA	B	Negatif	>20	normal
28	54	E	D	1b	KAH	IgA-L	B	Negatif	<20	normal

E:erkek, K: kadın, AA: Afrikan-Amerikan, D: Afrikan-Amerikan dışı, KAH: kronik aktif hepatit, MG: monoklonal gammopati, RF: romatoid faktör, K.i: kemik iliği, B: baktılamadı

MG'li geri kalan dokuz hasta, malign lenfoproliferatif (MLH) ve plazma hücreli hastalıklar (PHH) ile birliktelik göstermekteydi. Bunların, 3'ü Ig-G tip (2 IgG- κ , 1 IgG- λ), 1'i Ig A- κ tip, 2'si Ig-M tip (1 IgM- κ , 1 IgM- λ ,) ve 2'si lambda hafif zincir şeklinde idi (Tablo 4). Geri kalan bir hastanın serum MG'si negatif iken idrar MG'si pozitif saptandı. Bu hastaların erkek/kadın oranı 4/5 ve ortalama yaşı 63.4 yıl idi (aralık, 50-71 yaş). MG'si olan, MLH ve PHH ile birliktelik gösteren olguların ortalama yaşları, BMG'li hastalara göre yüksek bulundu (63.4 ± 3.4 ile 56.4 ± 2.4 $p=0.08$) (Tablo 5). BMG'li hastalar ile MG'si olan, MLH ve PHH ile birliktelik gösteren olgular arasında ırk ve cinsiyet yönünden anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 5). Diğer taraftan, MG'si olan, MLH ve PHH ile birliktelik gösteren olguların serum Ig-G düzeyleri, BMG'li hastaların serum Ig-G düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptandı (2925.6 ± 569.7 ile 1739.6 ± 103.5 ; $p<0.001$) (Tablo 5).

HCV enfeksiyonu olan, MLH ve PHH ile birliktelik gösteren iki olgunun serum ve idrarlarında MG saptanmadı. Bu hastalarda periferik lenfadenopati olması nedeniyle klinik ve histopatolojik olarak MLH tanısı konuldu.

TAKİP; Kronik C hepatiti olan hastaların takip süreleri içinde hiçbir hastanın MG'si kaybolmadı ve çalışmaya başlarken MG'si olmayan hiçbir hastada yeni MG saptanmadı.

TABLO 4 Malign lenfoproliferatif ve plazma hücreli hastalıklarla birlikte olan 11 HCV'li hastanın klinik özellikleri

Hasta	Yaş	Cins	İrk	HCV Genotip	Histoloji	Serum MG	İdrar MG	Kriyo	RF (IU/ml)	K.i. Bulguları	Lokalizasyon
1	65	E	D	1b	Siroz	Negatif	Pozitif	Pozitif	<20	normal	Böbrek
2	50	E	D	1a	KAH	IgA-K	B	Pozitif	>20	LPD	Kemik iliği
3	54	K	D	2b	KAH	Lambda	Pozitif	Negatif	<20	normal	Mide
4	58	E	D	2a	Siroz	Lambda	Negatif	Pozitif	<20	normal	Mide
5	66	K	AA	1b	KAH	IgG-L	Negatif	Negatif	<20	PI-hücre 17%	-
6	70	K	D	1b	Siroz	IgG-K	Protenüri	Pozitif	>20	PI-hücre 20%	-
7	49	E	D	1b	KAH	Negatif	Negatif	Negatif	>20	Normal	Servikal
8	71	K	AA	1b	KAH	IgM-K	B	Negatif	>20	LPD	Kemik iliği
9	67	K	D	1b	Siroz	IgM-L	Pozitif	Pozitif	>20	Normal	Mediasten
10	47	E	AA	B	KAH	Negatif	B	Negatif	<20	Normal	Aksilla
11	70	E	D	1b	Siroz	IgG-K	B	Negatif	<20	PI-hücre 50%	-

E:erkek, K; kadın, AA; Afrikan-Amerikan, D; Afrikan-Amerikan dışı, KAH; kronik aktif hepatit, MG: monoklonal gammopati, RF: romatoid faktör, K.i: kemik iliği, B; bakılmadı

TABLO 5 Benign monoklonal gammapatisi olan hastalar ile monoklonal gammapatisi olan, malign lenfoproliferatif ve plazma hücreli hastalıklarla birliktelik gösteren hastaların karakteristik özellikleri

	Benign MG	MG ve Malign LPH, PHH birlikteliği	p değeri
Hasta sayısı	28	9	-
Yaş (yıl)	56.4±2.1	63.4±2.3	=0.08
Cinsiyet (erkek/kadın)	16/12	4/5	p>0.05
İrk (Afrikan-Amerikan/ Afrikan-Amerikan dışı)	6/22	2/7	p>0.05
HCV viral yük (kopi x 10 ⁵ /ml)	71.8±6.5	52.2±13.9	p>0.05
HCV genotip			
1b	47%	67%	p>0.05
diğerleri (1a, 2a/b)	53%	33%	
Başlangıç ALT (IU/L)	82.4±5.6	61.7±9.9	p>0.05
Kronik aktif hepatit	20	4	p>0.05
Knodell skoru	9.2±0.7	9.4±1.3	p>0.05
Siroz	8	5	p>0.05
Kriyoglobulinemi	7%	56%	<0.001
Romatoid Faktör pozitifliği	36%	44%	p>0.05
Beyaz küre sayısı (N, 2,200-8,500 per/mm ³)	5.7±0.4	6.6±1.0	p>0.05
Serum Ig-G düzeyi (N, 694-1618mg/dl)	1739.6±103.5	2925.6±569.7	<0.001

LPH; lenfoproliferatif hastalıklar, PHH; plazma hücre hastalıkları, MG; monoklonal gammapati, N; normal değeri

2) MALİGN LENFOPROLİFERATİF VE PLAZMA HÜCRELİ HASTALIKLAR

Çalışmaya alınan 286 hastanın 11'inde (%3.9, 11/286) MLH ve PHH ile birliktelik göstermekteydi. Bu 11 hastanın, sekizi B-hücreli non-Hodgkin lenfoma (NHL), üçü multiple myeloma (MM) idi (Tablo 4). Sekiz NHL'lı hastanın, beşi nodal geri kalan üç hasta ise ekstra-nodal başlangıçlı lenfoma olgusu idi. Ekstra-nodal lenfomalı bir olgu MALT lenfoma (mucosa-associated lymphoid tissue) idi. Histolojik olarak; dört olgu diffüz büyük hücreli lenfoma (mediasten, aksilla, mide, böbrek yerleşimli), bir olgu grade II folliküler tip lenfoma (servikal lenf nodu) ve iki olgu düşük grade'li lenfoma olup, her iki olguda da kronik lenfositik lösemi immünofenotipik boyanma göstermekteydi. MALT lenfomalı olguda, mide submukoza tabakasında, sentrosit benzeri hücreler, mikst lenfositik infiltrasyon ve yer yer plazma hücreli infiltrasyonu görülmekteydi. Histolojik değerlendirmede Helicobacter-benzeri organizma saptanmadı.

MM'lı üç hasta kliniğe halsizlik-yorgunluk, kemik ağrısı ve anemi nedeni ile başvurdu. Bu hastaların biri kronik aktif hepatit, diğer ikisi ise HCV'ye bağlı siroz idi. Bu üç hastada HCV genotip 1b yer almaktaydı. Bu hastaların kemik iliği biyopsilerinde %17, %20 ve %50 oranında demet formasyonunda plazma hücre infiltrasyonu mevcuttu.

3) KRİYOglobULİN SIKLIĞI:

MG'li hastalar ile MG'si olmayan hastalar arasında kriyoglobulin sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (7/37, %18.9 ile 30/249, %12, $p>0.05$) (Tablo 2). BMG'li hastaların sadece ikisinde kriyoglobulinemi saptanırken, MG'si olan, MLH ve PHH ile birliktelik gösteren olguların beşinde kriyoglobulinemi saptandı (%7, 2/28 ile %56, 5/9; $p<0.01$) (Tablo 5).

4) ROMATOİD FAKTÖR SIKLIĞI:

MG'li hastalar ile MG'si olmayan hastalar arasında romatoid faktör (RF) pozitifliği (>20 IU/ml) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (14/37, %37.8 ile 67/249, %26.9; $p>0.05$). Diğer taraftan, kriyoglobulinemi sıklığının tersine, BMG'li hastalar ile MG'si olan, MLH ve PHH ile birliktelik gösteren olgular arasında RF pozitifliği açısından istatistiksel olarak fark saptanmadı (10/28, %35.7 ile 4/9, %44.4; $p>0.05$) (Tablo 5).

5) HCV ENFEKSİYONU

MG'si olan ve olmayan hastalar arasında primer karaciğer hastalığının histopatolojik tanısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). MG'li 37 hastanın, 24'inde (%64.9) HCV'ye bağlı kronik aktif hepatit, geri kalan 13 hastada (%35.1), HCV'ye bağlı siroz mevcut iken, MG'si olmayan 249 hastanın 192'sinde (%77.1) HCV'ye bağlı kronik aktif hepatit ve geri kalan 57 hastada (%22.9) bağlı siroz mevcuttu ($p>0.05$) (Tablo 2).

MG'li hastalar ile MG'si olmayan hastalar arasında MG tanısı anında (başlangıç) serum ALT düzeyi ve HCV viral yük açısından anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2) ($p>0.05$). MG'li hastaların 28'inde HCV genotip tayini yapıldı; 7'sinde (%25) genotip 1a, 16'sında (%57.1) genotip 1b ve 5'inde (%17.9) genotip 2a/b saptandı. MG'si olmayan hastaların %39'unda (37/249) genotip 1b mevcuttu. HCV genotip dağılımı açısından MG'si olan ve olmayan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (%57 ile %39; $p>0.05$) (Tablo 2).

Diğer taraftan BMG'li hastalar ile MG'si olan, MLH ve PHH ile birliktelik gösteren olgular arasında, başlangıç serum ALT düzeyi, HCV viral yük, HCV genotip dağılımı ve karaciğer hastalığın derecesi yönünden anlamlı fark saptanmadı (Tablo 5).

TARTIŞMA

Kronik C hepatitli hastalarda immunflöresan yöntemiyle, HCV'nin dalak, periferik mononükleer hücreler, kemik iliği B ve T lenfositler gibi karaciğer dışı doku ve hücreleri enfekte ettiğinin gösterilmesi ile, araştırmacılar tarafından HCV'nin lenfotropik virüs olduğu ileri sürülmüştür (Tablo 6) (21,31,32,36,37). Bu çalışmada, kronik C hepatitli hastalarda immünfiksasyon yöntemiyle, MG varlığı %13 olarak bulunmuştur. Bu oran, Andreone ve ark. tarafından bildirilen, C hepatitli hastalarda immünelektroforez yöntemiyle, %11 oranında bulunan MG sıklığı ile uyumludur (31).

Mayo Klinik çalışma verilerine göre, normal populasyonda, 50 yaş üstünde, BMG sıklığı %1 oranında bildirilirken, bu oranın yaşla birlikte arttığı, 70 yaş üstünde %3 olduğu ileri sürülmektedir (38). Bu çalışmada, MG'si olan kronik C hepatitli hastaların ortalama yaşları 58 yaş olarak (aralık 34-86 yaş) bulunmuştur. MG'li hastaların ortalama yaşları, MG'si olmayan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olmasına rağmen (58 yaş ile 49 yaş, $p<0.001$), bu ortalama yaş (58 yaş) normal populasyonda görülen MG sıklık yaşına göre düşüktür (kronik C hepatitli hastalarda %13 sıklığında, 58 yaş ortalamasında iken, normal populasyonda %3 sıklığında 70 yaş üstünde). Böylece, MG kronik C hepatitli hastalarda normal populasyona göre daha erken yaşta görüldüğünü ileri sürebiliriz.

Bu çalışmada, MG'li hastaların %41'inde Ig-G tipi monoklonal protein olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, Andreone ve ark. tarafından daha önce bildirilen çalışma sonucu ile uyumludur (31). Bununla birlikte MG'li hastaların, ortalama Ig-G seviyeleri, MG'si olmayan hastaların Ig-G seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (2028 ± 176 ile 1681 ± 160 , $p<0.05$). Böylece, MG'si olan kronik C hepatitli hastalarda Ig-G tip monoklonal proteinin en sık rastlanan monoklonal immunglobulin olduğu ve serum Ig-G

TABLO 6 Hepatit C virüsün izole edildiđi hücre ve dokular

- Karaciğer
- Dalak
- Lenf bezi
- Kemik iliği
- Periton
- T-hücreleri
- B-hücreleri
- Pankreas
- Tükrük bezi
- Mide mukozası
- Böbrek glomerul
- Deri
- Kornea
- Akciđer intertisyum

düzeyi yüksek olan kronik C hepatitli hastaların MG varlığı yönünden araştırılması gerektiğini ileri sürebiliriz.

MLH'da yüksek oranda anti-HCV antikor pozitifliği, daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (21,22,29,39). Hausfater ve ark. tarafından (29), Fransız toplumunda yapılan geniş çaplı bir çalışmada, MLH olanlarda, anti-HCV antikor pozitifliği %2.5 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada, kronik C hepatitli hastalarda MLH ve PHH sıklığı %3.9 olarak bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda, kronik C hepatitli hastalarda, karaciğer dokusunda B-lenfositlerinin klonal ekspansiyonu ve proliferasyonu olduğu ve bunun HCV eradikasyon tedavisi ile azaldığı bildirilmektedir (22,36,37,40). Böylece, HCV'nin B-lenfositleri enfekte ederek, kronik antijenik stimulus ile, B-hücre klonal ekspansiyonu ve B-hücre proliferasyonuna yol açtığı, bunun sonucunda benign (kriyoglobulinemi, BMG), MLH ve PHH'a yol açabileceği ileri sürülebilir.

Mikst kriyoglobulinemi ile HCV enfeksiyonu arasında güçlü birliktelik, bir çok araştırmacı tarafından daha önce bildirilmiştir (15,27,40-42). Bu çalışmada, MG'si olan kronik C hepatitli hastalarda, kriyoglobulin sıklığı %19 olarak bulunmuştur. Kriyoglobulinemi sıklığı bakımından, MG'si olan ve olmayan hastalar arasından anlamlı fark saptanmamıştır (%19 ile %12, $p>0.05$). Diğer taraftan, MG'si olan, MLH ve PHH ile birliktelik gösteren olgularda kriyoglobulinemi sıklığı, BMG'li hastalardaki kriyoglobulinemi sıklığına göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (56% ile %7, $p<0.01$).

Romatoid faktör aktivitesi, inflamasyon olayını gösteren önemli bir belirleyici olup, kronik hepatit C enfeksiyonunda, ekstra-hepatik manifestasyonlarda inflamasyonun gösterilmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (40,43). Bu hastalarda, RF salınımı oligoklonal ve/veya

monoklonal intra-hepatik B-hücre ekspansiyonu ile ilişkilidir (40). Kronik C hepatitli hastalarda RF pozitifliği (>20 IU/ml) %24 ile %76 arasında geniş bir aralıkta bildirilmiştir (40,42,43). Bu tez çalışmasında, MG'si olan ve olmayan hastalarda ve MG'si olan, MLH ve PHH ile birliktelik gösteren hastalar arasında RF pozitifliği açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (%38 ile %27 ve %36 ile %44; $p>0.05$) (Tablo 2,5).

MG'si olan ve olmayan hastalar arasında cinsiyet, ırk, başlangıç ALT düzeyi, HCV viral yük, ve karaciğer hastalığın derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2). B-hücreli lenfoproliferatif hastalıklarla birliktelik gösteren kronik C hepatitli hastalarda HCV genotip dağılımı hakkında, literatürde veriler sınırlı olup tartışmalıdır (31,44,45). İtalyan araştırmacılar tarafından, HCV genotip 1b İtalya'da rastlanan en sık HCV genotip olmasına rağmen, B-hücreli lenfoproliferatif hastalıklarla birliktelik gösteren HCV'li hastalarda, HCV genotip 2a ve 2c'nin diğer genotiplere göre daha sık rastlanıldığı rapor edilmiştir (31,44). Bu araştırmacılar tarafından, HCV genotip 2a ve 2c'nin lenfoproliferatif hastalıkların etyopatogenezinde rol alabileceği ileri sürülmüştür (31,44). Bu çalışmada daha önce yapılan

hepatitli hastada erken dönemde saptanması, gelişebilecek MLH açısından periyodik takiplerin yapılması gerektiği ileri sürülebilir.



ÖZET

Hepatit C virüs enfeksiyonu, ülkemizde ve dünyada önemli bir sağlık problemidir. Hepatit C virüs, insanlarda akut ve kronik hepatit, son dönem karaciğer hastalığına yol açtığı gibi, karaciğer dışında bazı dokularda klinik tabloların etyopatogenezinde rol alabileceği ileri sürülmektedir. Bu çalışmanın amacı, kronik C hepatitli hastalarda monoklonal gammapati sıklığını, mikst kriyoglobulinemi, malign B-hücreli lenfoproliferatif hastalıkların birlikteliğini ve B-hücreli lenfoproliferatif hastalıkların hepatit C virüs enfeksiyon seyrine ve genotip dağılımına olan etkisini araştırmaktır.

İki yüz seksen altı kronik C hepatitli hasta bu çalışmaya katılmıştır. Bu hastaların %76'sı (216/286) kronik aktif hepatit, geri kalan %24'ü (70/286) siroz idi.

Serum ve idrar monoklonal gammapati varlığı, immünfiksasyon yöntemi ile araştırıldı. Monoklonal gammatitesi olan kronik C hepatitli hastalara kemik iliği aspirasyon ve kemik iliği biyopsisi yapıldı.

Çalışmaya alınan kronik C hepatitli hastaların %13'ünde (37/286) monoklonal gammapati varlığı saptandı. Bu monoklonal gammatilerin, %76'sı (28/37) benign tip monoklonal gammapati, %24'ü (9/37) malign lenfoproliferatif ve plazma hücreli hastalıklarla birliktelik göstermekteydi. Kronik C hepatitli hastaların %3.8'i (11/286) malign lenfoproliferatif ve plazma hücreli hastalıklarla ile birliktelik göstermekteydi. Monoklonal gammatitesi olan ve olmayan hastalar arasında, başlangıç ALT düzeyi, viral yük, HCV genotip dağılımı ve karaciğer hastalığın derecesi bakımından anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç olarak, monoklonal gammapatiye, kronik C hepatitli hastalarda normal popülasyona göre daha sık olarak rastlanılmaktadır. B-hücreli malign lenfoproliferatif hastalıklar, kronik C hepatitli hastalarda normal popülasyonda beklenenden daha sık olarak görülmektedir. B-hücreli lenfoproliferatif hastalıklar ile HCV genotip dağılımı arasında önemli ilişki yoktur.

KAYNAKLAR

1. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26: Suppl. 62-65.
2. Ökten A. Hepatit C. In: Kılıçturgay K, Badur S. *Viral Hepatit* 2001. İstanbul-Türkiye. 180-181.
3. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV ve ark.. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999; 34: 556-562.
4. Soykan İ, Yıldırım İS, Akbulut H ve ark. Kronik karaciğer hastalıklarında hepatit C virüs antikor sıklığı. *Turk J Gastroenterol* 1993; 4: 402-404.
5. Çakaloğlu Y. Hepatit C virüs infeksiyonu epidemiolojisi. *Viral hepatitis* 1994; 14: 191-235.
6. Simmonds P, Holmes E, Cha TA ve ark. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS5 region. *J Gen Virol* 1993; 74: 2391-2399.
7. Davis GL. Hepatitis C virus genotypes and quasispecies. *Am J Med* 1999; 107: Suppl. 21

12. Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R ve ark.. Natural course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 240-243.
13. Farci P, Purcell RH. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies. *Seminars in Liver Disease*. 2000; 20: 103-106.
14. Collier J, Heathcote J. Hepatitis C viral infection in the immunosuppressed patient. *Hepatology* 1998; 27: 2-6.
15. Gordon SC. Extrahepatic manifestation of hepatitis C. *Dig Dis* 1996; 14: 157-168.
16. Zignego AL, Brechot C. Extrahepatic manifestations of HCV infection: facts and controversies. *J Hepatol* 1999; 31: 369-376.
17. Gumber SC, Chopra S. Hepatitis C: A multifaceted disease. *Ann Intern Med* 1995; 123: 615-620.
18. Mizorogi F, Hiramoto J, Nozato A ve ark. Hepatitis C virus infection in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Intern Med* 2000; 39: 112-117.
19. Kyle RA. The monoclonal gammopathies. *Clin Chem* 1994; 40: 2154-2161.
20. Keren DF. Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123: 126-132.
21. Pozzato G, Mazzaro C, Santini G ve ark. Hepatitis C virus and non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymph* 1996; 22: 53-60.
22. De Vita S, Sacco C, Sansonno D ve ark. Characterization of overt B-cell lymphomas in patients with hepatitis C virus infection. *Blood* 1997; 90: 776-782.
23. Zignego AL, Ferri C, Giannini C ve ark.. Hepatitis C virus in mixed cryoglobulinemia and B-cell non-Hodgkin's lymphoma: evidence for a pathogenetic role. *Arch Virol* 1997; 142: 545-555.
24. Misiani R, Bellavita P, Fenili D ve ark.. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 1992; 117: 573-577.

25. Cacoub P, Fabiani FL, Musset L ve ark.. Mixed cryoglobulinemia and hepatitis C virus. *Am J Med* 1994; 96: 124-132.
26. Uzunalimođlu Ö. Viral hepatitlerde ekstrahepatik manifestasyonlar. In: Kılıçturgay K, Badur S. *Viral Hepatit 2001. İstanbul-Türkiye.* 297-302.
27. Van Thiel DH, Fagioli S, Caraceni P ve ark. Cryoglobulinemia: a cause for false negative polymerase chain reaction results in patients with hepatitis C virus positive chronic liver disease. *J Hepatol* 1995; 22: 464-467.
28. Pawlotsky JM, Roudot-Thoraval F, Simmonds P ve ark. Extrahepatic immunologic manifestations in chronic hepatitis C and hepatitis C virus serotypes. *Ann Intern Med* 1995; 122: 169-173.
29. Hausfater P, Cacoub P, Rosenthal E ve ark. Hepatitis C virus infection and lymphoproliferative diseases in France: A national study. *Am J Hematol* 2000; 64: 107-111.
30. Santini GF, Giannini F, Crovatto M ve ark. HCV and lymphoproliferative diseases. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13: Suppl. 51-57.
31. Andreone P, Zignego AL, Cursaro C ve ark. Prevalence of monoclonal gammopathies in patients with hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med* 1998; 129: 294-298.
32. Mangia A, Clemente R, Musto P ve ark.. Hepatitis C virus infection and monoclonal gammopathies not associated with cryoglobulinemia. *Leukemia* 1996; 10: 1209-1213.
33. Mussini C, Ghini M, Mascia MT ve ark. HCV and monoclonal gammopathies. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13: Suppl. 45-49.
34. Maertens G, Stuyver L. Genotypes and genetic variation of hepatitis C virus. In Harrison TJ, Zuckerman AJ, eds. *The molecular medicine of viral hepatitis.* West Sussex: John Wiley&Sons; 1997, 183-233.

35. Harris NL, Jaffe ES, Stein H ve ark. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84: 1361-1392.
36. Gabrielli A, Manzin A, Candela M ve ark.. Active hepatitis C virus infection in bone marrow and peripheral blood mononuclear cells from patients with mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Immunol* 1994; 97: 87-93.
37. Muratori I, Gibellini D, Lenzi M ve ark. Quantification of hepatitis C virus infected peripheral blood mononuclear cells by in situ reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Blood* 1996; 88: 2768-74.
38. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Hematol Oncol Clin North Am* 1999; 13: 1181-1202.
39. King PD, Wilkes JD, Diaz-Arias AA. Hepatitis C virus infection in non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Lab Haem* 1998; 20: 107-110.
40. Dammacco F, Sansonno D, Piccoli C ve ark.. The lymphoid system in hepatitis C virus infection: Autoimmunity, mixed cryoglobulinemia, and overt B-cell malignancy. *Seminars in Liver Disease* 2000; 20: 143-157.
41. Lunel F, Musset L, Cacoub P ve ark.. Cryoglobulinemia in chronic liver diseases: Role of hepatitis C virus and liver damage. *Gastroenterology* 1994; 106: 1291-1300.
42. Munos-Fernandez S, Barbado FJ ve ark.. Evidence of hepatitis C virus antibodies in the cryoprecipitate of patients with mixed cryoglobulinemia. *J Rheumatol* 1994; 21: 229-233.
43. Clifford BD, Donahue D, Smith L ve ark.. High prevalence of serological markers of autoimmunity in-patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995; 21: 613-619.
44. Silvestri F, Barillari G, Fanin R ve ark. The genotype of the hepatitis C virus in patients with HCV-related B cell non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 1997; 11: 2157-2161.

45. Ferri C, La Civita L, Monti M ve ark.. Can type C hepatitis infection be complicated by malignant lymphoma? Lancet 1995; 346: 1426-1427.

