

SAPD HASTALARINDA TT VİRÜS (TTV) ENFEKSİYONU ve PREVELANSI

TT VIRUS (TTV) INFECTION AND PREVALENCE IN CAPD PATIENTS

İshak Çetin Özener*, Filiz Türe, Mehmet .Koç *, Erol Avcı

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları *Nefroloji ve Gastroenteroloji Bilim Dalları, İSTANBUL

ÖZET

"Transfusion transmitted virus" (TTV) adı da verilen virus ilk kez 1997 yılında post-transfüzyon hepatitli bir hastanın serumundan izole edilen yeni bir DNA virüsüdür. Sıklığı belirgin coğrafik farklılıklar gösteren bu virüsün parenteral geçişinin yanısıra diğer yollardan da bulaşabileceğine ilişkin bulgular vardır. Bu virüsün karaciğer hastalıklarındaki potansiyel rolü de henüz tam olarak belirlenmiş değildir. Bu çalışmada sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) tedavisindeki hastalarda ve kan transfüzyon öyküsü olmayan sağlıklı kontrollerde TTV prevalansı ve SAPD hasta grubunda bu virüsün karaciğer hastalığı ile ilişkisi araştırıldı. Çalışmaya, halen CAPD tedavisinde olan 63 hasta ile sağlıklı ve transfüzyon öyküsü olmayan 43 birey kontrol grubu olarak alındı. TTV-DNA'sı semi-nested PCR yöntemi ile tayin edildi. TTV-DNA pozitifliği hasta grubunda %44.4 oranında, kontrol grubunda ise %30.2 oranında bulundu ($p>0.05$). Hasta grubunda anti-HCV %17.4 ve HBsAg ise %3.1 oranında saptandı. Hastaların %30.2'sinde kan transfüzyonu öyküsü alındı ve bunların %36.8'inde TTV pozitif olmasına karşılık, kan transfüzyonu yapılmayan hastalarda ise TTV pozitifliği %34.1 oranında ($p>0.05$) tespit edildi. Anti-HCV pozitif bulunan 11 hastanın 5'inde (%45.4) TTV pozitif olmasına karşılık, anti-HCV negatif 52 hastanın 23 ünde (%44.2) TTV pozitif bulunmuştur. ALT yüksekliği izlenen üç hastanın birinde TTV pozitif, birinde anti-HCV pozitif, ve üçüncüsünde ise her üç hepatit virüsünde negatif olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, TT virüsünün SAPD hastalarında sağlıklı popülasyondan daha sık olarak görülmediği, diğer hepatit virüslerinin varlığı ile yada kan transfüzyonu veya karaciğer hasarı ile ilişkisinin olmadığı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelime: TT virüsü, SAPD, hepatitis, kronik karaciğer hastalığı.

SUMMARY

Transfusion Transmitted Virus (TTV) is a DNA virus and it was first isolated from a patient with post-transfusion hepatitis in 1997. Prevalence of TTV differs in different geographic areas. There are evidences that virus is transmitted through not only by parenteral way but also through other routes. However, potential pathophysiologic role of TTV in chronic liver diseases remains to be established. In this study, we investigated the prevalence of TTV in continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) patients and in healthy controls without history of blood transfusion. Sixty-three CAPD patients and forty-three healthy controls were included into the study. TTV DNA was detected by semi-nested PCR method.

TTV-DNA was detected in %44.4 of CAPD patients and %30.2 of healthy controls ($p>0.05$). The prevalence of anti-HCV positivity and HBsAg positivity was %17.4 and %3.1 in CAPD patients, respectively. History of blood transfusion was present in %30 of patients and prevalence of TTV was %36.8 and %34.1 in patients with and without history of blood transfusions, respectively ($p>0.05$). The prevalence of TTV was 45.4% among the anti HCV positive patients whereas it was 44.2% among the anti HCV negative patients ($p>0.05$). Serum ALT level was high in 3 patients and among these patients one was positive for anti-HCV, one was positive for TTV and one was negative for the three hepatitis viruses.

In conclusion, we demonstrated that TTV is not more prevalent in CAPD patients compared to healthy controls. We also could not demonstrate any relation between presence of TTV and blood transfusion, presence of other viruses and liver disease.

Key Words: TT virus, CAPD, hepatitis, chronic liver disease.

GİRİŞ ve AMAÇ

Transfusion Transmittent Virus (TTV) adı da verilen bu ajan ilk kez 1997 yılında post transfüzyon hepatitli bir hastanın serumundan izole edilen yeni bir DNA virüsüdür (1). Daha sonra bu virüsün nükleotid dizilimi tama yakın belirlenmiş ve serumda virüsü saptamak için duyarlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi geliştirilmiştir (2). Bunu takiben dünyanın değişik yörelerinden bu virüsün prevelansı ve kronik karaciğer hastalığı ile ilişkisine ait yayınlar yapılmaya başlanmıştır. Bu çalışmalarda virüsün görülme sıklığının belirgin coğrafik farklılıklar gösterdiği saptanmıştır (3-5). Tayland da yapılan bir çalışmada sağlıklı kan donörlerinde TTV sıklığı %36 oranında bulunurken (3), ABD de bu oran %1 olarak bulunmuştur (4). Diğer taraftan İngiltere'de ise genel popülasyonda bu oran %10 şeklinde tespit edilmiştir (5). Virüsün kronik karaciğer hastalığındaki rolüne yönelik çalışmalar ise çok kesin bir ilişkinin varlığını göstermekte yetersiz kalmışlardır (6-8). İspanya'da yapılan bir çalışmada hepatosellüler karsinomlu hastalarda %29 oranında, fulminant hepatitli hastalarda ise %39.6 oranında TTV pozitifliği saptanmıştır. Ancak sağlıklı popülasyonda da sık olarak rastlanması nedeniyle bu karaciğer hastalıklarının patogeneziindeki rolü henüz aydınlanmamıştır (6). Diğer taraftan Japonya'da yapılan bir çalışmada ise etiolojisi bilinmeyen bir grup karaciğer hastasında %47 oranında bu virüsün saptanması üzerine patojenik olabileceği ileri sürülmüştür (7). Yine bir başka grup araştırmacı TTV varlığının beraberinde bulunan hepatit C enfeksiyonunun ciddiyeti veya süresine bir etki göstermediğini belirtmiştir (8).

İlk tanımlandığında sadece parenteral geçişinin olduğu bilinmesine karşılık daha sonra yapılan çalışmalarda başka yollardan da bulaşabileceğine dair bazı kanıtlarda elde edilmiştir. TTV viremi bulunan hastaların gerek gaita gerekse safra salgılarında virüs DNA'sı tespit edilmiş hatta bir kısım hastada serumun 10-100 kat üzerinde pozitifliği saptanmış olması dolayısıyla fekal-oral yolla bulaşma olasılığı gündeme gelmiştir (9,10).

Son dönem böbrek yetmezliği hastaları bilindiği gibi immünitelerindeki bozukluk nedeniyle enfeksiyonlara özellikle de viral ajanlara karşı duyarlıydılar (11). Bu popülasyonda özellikle hepatit virüsleriyle enfeksiyonlara sık olarak rastlanılmakta ve bunlarda aşılınmaya rağmen yeteli düzeyde antikor cevabı da alınamamaktadır (12). Ancak kronik diyaliz hastalarında TTV prevelansına dair fazla veri yoktur ve SAPD hasta gurubuna yapılmış olan tek çalışmada Barril ve ark. (13) tarafından bu oran %22.7 olarak bildirilmiştir (13).

Bu çalışma ile ülkemizde SAPD hasta gurubunda ve sağlıklı gönüllülerde TTV prevelansım araştırıp, kan transfüzyonu veya diğer hepatit virüsleriyle birlikteliğini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL VE METOD

Çalışma gurubuna kliniğimizde izlenmekte olan 63 SAPD hastası alındı. Bunların 34'ü erkek 29'u kadın, ortalama yaşları ise 54 ± 14 yıl idi ve ortalama 47 ± 6.7 aydan bu yana SAPD tedavisi almaktaydılar. Bu hastalardan 19'una (%30.2) daha önce kan transfüzyonu yapılmıştı. Yine bu hastalardan 14'ü (%22.2) daha önce hemodiyaliz tedavisi almıştı. Kontrol gurubu olarak yaş ortalaması 48 ± 12 yıl olan sağlıklı 43 gönüllü dahil edildi. Bunlarında 21'i erkek 22'si kadındı.

Hasta ve kontrol grubundan alınan kan örneklerinden önce DNA ekstraksiyonu yapıp daha sonra semi-nested PZR yöntemi ile TTV DNA'sı tayin edildi. Bireylerde TTV-DNA tayini için 100 µl serum alınarak proteinaz K, fenol/kloroform yöntemi ile DNA ekstraksiyonu yapıldı. Etanol ile presipitasyonu takiben pelet 20 µl dH₂O'da çözüldü. Ekstrakte edilen DNA'dan 10 µl alınarak semi-nested PZR ile TTV genomunun bir kısmı amplifiye edildi. PZR çözeltisinin bileşimi, literatürde belirtildiği şekilde hazırlandı (5). Birinci ve ikinci döngü PZR'leri için aşağıda belirtilen primerler kullanıldı. 1.döngü sense (NGO 59):

S'-ACAGACAGAGGAGAAGGCAACATG-S',

1.döngü antisense (NGO 63):

5'-CTGGC ATTTTACCATTCCAA AGTT-3',

2.döngü sense (NGO 61):

5'-GGCAACATGTTATGGATAGGACTGG-3' ve

2.döngü antisense olarak da birinci döngüdeki antisense primer kullandı. Birinci döngü PZR, 35 sikludan oluşup her siklus 94 °C de 30 sn; 60 °C'de 45 sn; 72 °C'de 45 sn içermekteydi ve son siklusa 72 °C'de 10 dk ilave edildi. İkinci döngü PZR 30 sikludan oluşup birinci ile aynı özellikleri taşımaktaydı. Viral nükleik asidin varlığı %2'lik agaroz gel hazırlanıp, elektroforez yapılarak belirlendi.

Serumda ALT düzeyleri ile hepatit B antijeni ve anti-HCV düzeyleri ticari kitler kullanılarak tayin edildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

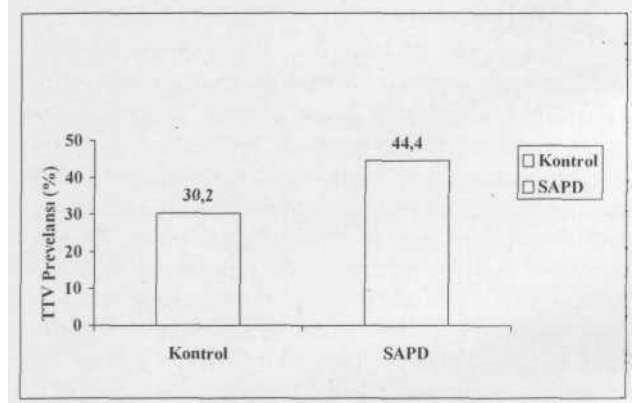
Elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde students t testi, Fischer exact testi ve Mann Whitney-U testleri kullanıldı, P<0.05 değeri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS programı ile yapıldı.

SONUÇLAR

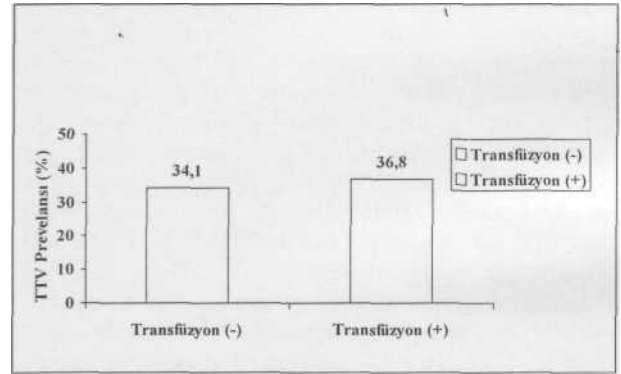
Çalışmaya alınan ve kliniğimizde izlenmekte olan 63 SAPD hastasının genel karakteristikleri **Tablo-1** de özetlenmiştir. TTV DNA'sı hasta gurubundaki 28 kişide (%44.4) kontrol gurubunda ise 13 kişide (%30.2) oranında pozitif olarak saptandı (**Şekil-1**). Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). SAPD hastalarından kan transfüzyonu yapılan 19 hastanın 7 sinde (36.8) TTV pozitif bulunurken hiç transfüzyon yapılmayan 44 hastadan 15' inde (%34.1) TTV pozitifliği tespit edildi (**Şekil-2**). Her iki grup arasında da istatistiksel bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Hastaların daha önceki almış oldukları renal replasman tedavisinin viremiye etkisini incelemek amacıyla hastalar daha önce hemodiyaliz tedavisi alıp almamalarına göre iki guruba ayrıldığında, daha önce hemodiyalize giren 14 hastanın 8'inde (%57.1) , diğer taraftan hiç hemodiyaliz yapılmamış 49 hastanın 20'sinde (%40.8) TTV pozitif bulunmuştur ($p>0.05$) (**Şekil-3**). Çalışmaya alınan hastaların 11'inde (%17.5) anti-HCV pozitifliği ve 2 sinde (%3.17) ise HbsAg pozitifliği bulunmuştur. Anti-HCV pozitif bulunan 11 hastanın 5'inde (%45.4) TTV pozitif olmasına karşılık, anti-HCV negatif 52 hastanın 23 ünde (%44.2) TTV pozitif bulunmuştur ($p>0.05$). HbsAg pozitif 2 hastada da TTV pozitif bulunurken , kalan 61 hastanın 25 inde (%40.9) pozitiflik saptanmamıştır ($p>0.05$). ALT yüksekliği tespit edilen 3 hastanın birinde TTV, birinde anti-HCV pozitif bulunurken üçüncüsünde ise her üç virüsün de negatif olduğu tespit edildi.

Tablo 1: Hastaların Genel Karakteristikleri

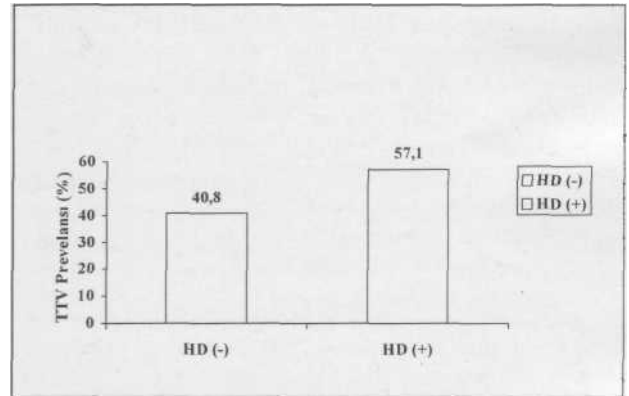
TTV pozitifliği (%)	44.4
ALT (IU/ml)	26.9±54.6
SAPD Tedavi Süresi (ay)	47±6.7
Hemodiyaliz Tedavisi Öyküsü (%)	22.2
Transfüzyon Öyküsü (%)	30.2
HCV Pozitifliği (%)	17.4
HBsAg Pozitifliği (%)	3.17



Şekil 1: SAPD hastalarında ve kontrol guruplarında TTV prevelansı istatistiksel olarak benzer bulundu.



Şekil 2: Kan transfüzyonu yapılmış olan ve yapılmamış olan SAPD hastalarında TTV prevelansı benzer olarak bulundu.



Şekil 3: Hemodiyaliz tedavisi almış ve almamış SAPD hastalarında TTV prevelansı istatistiksel olarak benzer bulundu.

TARTIŞMA

Son dönem böbrek yetmezliği nedeniyle kronik diyaliz tedavisi alan hastaların hepatotropik virüs enfeksiyonu riskinin yüksekliği uzun süredir bilinmektedir. Bunlar arasında en iyi tanımlananları, Hepatit B ve C virüsleridir. Bu hastaların aşılama karşı yetersiz antikor cevaplarının yanı sıra, virüs enfeksiyonlarının da kronikleşmeye olan yatkınlığı dolayısıyla ciddi klinik problemlere ve kronik karaciğer hastalığına bu popülasyonda sık rastlanılmaktadır (11,12). Son yıllarda kronik karaciğer hastalarının başka virüslerle de ilişkili olabileceği görülmüş, Hepatit G ve TT virüsü gibi yeni virüsler de tanımlanmıştır (13). Bunlardan en yenisi 1997 de tanımlanmış olan TTV'dir (1). İlk kez kriptojenik posttransfüzyonel hepatiti olan bir hasta serumundan izole edilmiştir. 3852 nükleotid uzunluğunda tek zincirli bir DNA virüsüdür. (13) Özellikle hemofiler, uyuşturucu bağımlıları veya hemodiyaliz hastaları gibi yüksek risk guruplarında TTV varlığı, bunun parenteral yolla geçtiğini göstermekle birlikte daha sonra yapılan çalışmalar fekal-oral yolla da bulaşabileceğini düşündürmüştür.

Bu enfeksiyonun hemodiyaliz hastalarındaki sıklığı literatürde bazı yayınlarda %2.3-%53 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (14-16). SAPD hastalarında ise literatürde sadece bir çalışma bulunmakta ve bu çalışmada da TTV virüsü 22 hastanın 5'inde %22.7 oranında bildirilmiştir (13). Bizim çalışmamızda ise hasta gurubunda TTV pozitifliği %44.4 oranında saptanmıştır. Bu değer literatürde verilen hemodiyaliz hasta gurubu ile benzer sıklıktadır. Ancak literatürde sadece İspanyada yapılan tek bir yayındaki (13) prevelans dışında bilgiye rastlayamadık. Bu yayındaki kıyasla sonuçlarımız SAPD hasta gurubu için yüksek görünmektedir. Gerek daha az kan transfüzyonu yapılması gerekse evde hastaların kendi kendilerine uyguladıkları bir tedavi yöntemi olan SAPD'de hepatotropik virüs enfeksiyonları hemodiyalize oranla daha seyrek ortaya çıkmaktadır. Halbuki olgularımızdaki sonuçlar literatürdeki hemodiyaliz hastalarına yakındır. Kontrol gurubunda ise yine hastalara benzer sıklıkta TTV DNA'sı tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol gurubu arasında da anlamlı bir fark saptanmamıştır. Kontrol gurubundaki bu yüksek oranlı TTV varlığı hasta gurubunda da varolan yüksek prevelansı açıklayabilir. Kontrol grubundaki bireylerin hiçbirinde transfüzyon yada cerrahi girişim öyküsü yoktu. Bu da virüsün parenteral yol dışında başka bulaşma yollarının olduğunu düşündürmektedir. Diğer taraftan hasta gurubunda kan transfüzyonu yapılmış olan 19 hastada TTV DNA 'sı %36.8 oranında saptanmıştır. Bu değer transfüzyon yapılmayanlardan hafif derecede yüksek (%34.1) olmakla birlikte istatistiksel açıdan

anlamlı değildir. Hastaların daha önce hemodiyaliz tedavisi almış olması da viremi açısından bir risk faktörü oluşturmamıştır. Hastaların %17.4'ünde hepatit C, %3.1 HbsAg pozitifliği tesbit edilmiş ve hepatit C ile enfekte olanlarla, enfekte olmayanlar arasında da TTV pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (%45.4 vs %44.2). Bu da bize diğer hepatit virüslerinin varlığının TTV enfeksiyonu açısından bir risk oluşturmadığını düşündürmektedir.

Karaciğer hastalıklarındaki TTV'nin potansiyel rolü halen karanlıktır. Nedeni belli olmayan bazı akut ve kronik karaciğer hastalıklarında TTV'nin sorumlu olduğu bildirilmişse de, aksine aynen HGV de olduğu gibi masum olduğu da iddia edilmiştir. Charlton ve arkadaşlarının ABD'de yaptıkları çalışmada sağlıklı kan örneklerinde TTV sıklığı %1 bulunurken, bu oran kriptojenik siroz ve idiopatik fulminant hepatitlerde sırasıyla % 15 ve %27 bulunmuştur (4). Aynı şekilde Ikeda ve arkadaşları idiopatik akut viral hepatiti kronik viral hepatitlerde TTV'nin rolünü araştırmışlardır (7). Her iki çalışmanın sonucu TTV'nin karaciğer hasarı yaptığı lehindedir. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu bulgular gözlenmemiştir. Naoumov ve ark. (5) değişik karaciğer hastalarında TTV prevelansını kontrollere yakın bulmuşlardır. Aynı çalışmada sadece karaciğer hastalarını destekleyen biyokimyasal ya da histolojik bulgular görülmemiştir. İspanya'da yapılan bir diğer çalışmada da sağlıklı kontrollerde ve değişik etiyojili karaciğer hasta guruplarında TTV prevelansı araştırılmış ve farklı karaciğer hastalarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (6). Bahsedilen son iki çalışmada TTV'nin karaciğer patolojisine yol açmadığını bildirilmiştir. Gerçekten de TTV'nin sağlıklı popülasyondaki oranının yüksek olması virüsün nonpatojen olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada virüs ile karaciğer fonksiyonlarının ilişkisine yönelik olarak yapılan tetkiklerde hasta gurubunun ALT düzeyleri ortalama normal sınırlarda olup TTV pozitif olan ve olmayanlar arasında bir fark saptanmamıştır. Diğer taraftan ALT düzeyi yüksek olarak ölçülen üç hastanın birinde sadece anti-HCV pozitif, birinde ise TTV pozitif olarak saptanırken üçüncü hastada her üç virüs de negatif olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre bizim hastalarımızda da literatürde belirtildiği gibi direk bir virüs-karaciğer patolojisi ilişkisi gösterilememiştir.

Sonuç olarak, ülkemizde de TTV prevelansının sağlıklı kontroller ve SAPD hastalarında oldukça yüksek oran da görülebildiği, SAPD hastalarında sağlıklı popülasyondan farklı olmadığı, TTV varlığının karaciğer hastalığı etiolojisinde belirgin bir rolü olmadığı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, et al. A novel DNA virüs (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;241:92-7.
2. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, et al. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatology* 1998; 10: 1-16.
3. Tanaka H, Okamoto H, Luengrojanakul P, et al. Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A to G hepatitis in hepatitis patients and healthy blood donors in Thailand. *J of Med Virol* 1998;56: 234-238.
4. Charlton M, Adjei P, Poterucha J et al. TT-virus infection in North American blood donors, patients with fulminant hepatic failure, and cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 1998;28: 839-842.
5. Naoumov NV, Petrova EP, Thomas MG et al. Presence of a newly described human DNA virus in patients with liver disease. *Lancet* 1998;352: 195-197.
6. Gimenez-Barcons M, Forns X, Ampurdanes S, et al. Infection with a novel human DNA virus (TTV) has no pathogenic significance in patients with liver diseases. *J of Hepatology* 1999;30: 1028-1034.
7. Ikeda H, Takasu M, Inoue K, et al. Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) in patients with acute or chronic liver disease or unknown etiology and in those positive for hepatitis C virus RNA. *J of Hepatology* 1999;30:205-212.
8. Matsumoto A, Yeo AET, Shih JWK, et al. Transfusion-associated TT virus infection and its relationship to liver disease. *Hepatology* 1999;30: 283-288.
9. Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, et al. Fecal excretion of a non-enveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *J of Med Virol* 1998;56: 128-139.
10. Ukita M, Okamoto H, Kato N, et al. Excretion in to bile of a novel unenveloped DNA virus (TTV virus) associated with acute and chronic non-A-G hepatitis. *J of Infect Dis* 1999;179: 1245-1248.
11. Dumman H, Meurr S, Meyer Z, Biichenfelde KH, Kohler H. Hepatitis B vaccination and interleukin 2 receptor expression in chronic renal failure. *Kidney Int* 1990;38: 1165-69.
12. Özener Ç, Fak AS, Avşar E, ve ark. The effect of alpha interferon therapy and short interval intradermal administration of response to hepatitis B vaccine in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14: 1339-40.
13. Barril G, Lopez-Alcorocho JM, Bajo A et al. Prevalence of TT virus in serum and peripheral mononuclear cells from a CAPD population. *Perit Dial Int* 2000;20: 65-69.
14. Ikeychi T, Okuda K, Yokosuka O et al: Superinfection of TT virus and hepatitis C virus among chronic haemodialysis patients. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:796-800.
15. Forns X, Hegerich P, Darnell A, et al. High prevalence of TT virus (TTV) infection in patients on maintenance haemodialysis: Frequent mixt infections with different genotypes and lack of evidence of associated liver disease. *J Med Virol* 1999;59: 313-317.
16. Yuki N, Kato NM, Masuzawa M et al: Clinical implications of coinfection with a novel DNA virus (TTV) in hepatitis C virus carriers on maintenance hemodialysis. *J Med Virol* 1999;59: 431-436.