

HEMODİALİZ HASTALARINDA TRANSFUSION TRANSMITTED VIRUS INFEKSİYONU, HCV ve HGV İLE BİRLİKTELİĞİ

CONSIDENCE OF TTV, HCV AND HGV ENFECTIONS IN HEMODIALYSIS PATIENTS

Mehmet Usta, Kamil Dilek, Reşit Mistik*, Alpaslan Ersoy, Ömür Aydın*,
Mustafa Güllülü, Mahmut Yavuz, Mustafa Yurtkuran

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı,

* Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, BURSA

ÖZET

Bu çalışma kronik böbrek yetmezlikli hemodializ hastalarında Transfüzyon Transmitted virus enfeksiyonu, HGV ve HCV ile birlikteliğini araştırmayı amaçladık.

Çalışma Uludağ Üniversitesi Hemodializ Ünitesinde kronik hemodializ programında olan 50 hasta (30'u erkek, 20'si kadın) ile kontrol grubu olarak 100 sağlıklı kan donörÜ (45'i kadın, 55'i erkek) üzerinde yapıldı. Hasta grubunun yaş ortalaması 39±14, ortalama dializ süresi 7.0+3.9 (5ay-17yıl) yıl idi. Sağlıklı kan donörlerin yaş ortalaması 34+9.2 yıldır. Bu grupta sadece TTV bakıldı. Pozitiflik oranı %12, hasta grubunda ise %36 olarak saptandı. TTV ; anti-HCV ile birlikteliği %20.4, HGV ile birlikteliği %27.9 olarak tespit edildi.

Sonuç olarak kronik hemodializ hastalarında TTV, sağlıklı kan donörlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi (P<0.05). TTV; HGV ve HCV ile birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı değildi (P>0.05).

Anahtar Kelimeler: Hemodializ, Transfüzyon-Transmitted Virus, Hepatitis C, Hepatitis G

GİRİŞ

Non-A non-B (NANB) hepatit etkenlerini saptamaya yönelik çalışmalar, hepatit C virusu (HCV) ve hepatit E virüsünün (HEV) bulunmasına neden olmuş; her iki virus için güvenilir tanı yöntemleri kullanılmasına rağmen, hala etyolojisi saptanmayan akut ve kronik hepatitlerin varlığı, araştırmacıları yeni hepatit virusu veya virüslerini aramaya yöneltmiştir. Bunlardan biri 1995 yılında bulunan bir RNA virusu olan hepatit G virüsüdür (HGV). Bu virus paranteral bulaş yolu açık olan hastalarda yaygın bulunmuş, ancak hastalık yapıcı yapmadığı kesin gösterilememiştir (1).

SUMMARY

We aim to study infection of Transfusion Transmitted virus and associated with HGV and HCV on hemodialysis patients with chronic renal failure.

This study was performed on 50 hemodialysis patients (30 male, 20 female) that are on routine hemodialysis program in Uludağ University Hemodialysis Centre and 100 healthy blood donors as the control group (45 female, 55 male). The average ages of patients and healthy groups were 39+14 and 34+9.2 respectively. In healthy blood donor group TTV was only studied and TTV positivity was found to be 12%. TTV positivity of patients was 36% and associated with HCV and HGV were 25.4 % and 27.9 % respectively. As a result, TTV positivity in hemodialysis patients was statisticaly significant when compared with healthy blood donors (P<0.05). Association of TTV with HGV and HCV was not found to be statisticaly significant.

Key Words: Hemodialysis, Transfüzyon-Transmitted Virus, Hepatitis C, Hepatitis G

Çalışmalar devam ederken 1997 yılında Japon araştırmacılar tarafında transfüzyon hikayesi olan semptomatik bir hepatitli olgunun serumunda Transmitted Transfüzyon Virüs adını verdikleri yeni bir virüs tespit etmişlerdir (TTV). TTV; 3.852 bp uzunluğunda genomu olan, zarfsız bir DNA virüsü olduğu tahmin edilmektedir (2,3,4). HGV de olduğu gibi hastalık yapıcı yapmadığı belli değildir. İlk tespit edildiğinde post-transfüzyonlu bir hepatit hastası olmasına rağmen daha sonraki yapılan çalışmalarda TTV ile hepatit arasında bir ilişki saptanmamıştı (5). Hemodializ, intravenöz ilaç kullanım alışkanlığı olan ve

sık kan transfüzyonu yapılan hemofilili hastalarda prevalansı yüksek olmasına rağmen direk hastalıkla ilişkisi bulunmamıştır (6).

Bu çalışmada kronik kemodiyaliz hastalarda ve sağlıklı popülasyonda TTV nu inceledik ve kronik hemodiyaliz hastalarda TTV-DNA ile birlikte HGV-RNA ve anti-HCV sıklığını araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Haziran-2000 ve Eylül-2000 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Nefroloji Bilimsel Hemodiyaliz ünitesinde, dializ programında olan 50 hasta ile 100 sağlıklı kan donöründe yapıldı. Hasta ve sağlıklı kişilerden oluşan ayrı gruplarda TTV un varlığı araştırıldı. TTV pozitif olan hastalarda hemodiyaliz süresi, transfüzyon sayısı, HCV ve HGV ile birlikteliği ve transaminazlara etkisi incelendi.

Gruplardan alınan kan örnekleri hızla Uludağ Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı PCR laboratuvarı'na ulaştırıldı. Serumları ayrılarak çalışıldığı güne kadar -80°C'de saklandı. TTV-DNA ekstraksiyonunda fenol-kloroform yöntemi kullanıldı. Dış set primerleri NGO59: 5' ACA GAC AGA GGA GAA GGC AAC ATG-3', NGO63: 5'-CTG GCA TTT TAC CA TTT CC AAA GTT-3' dNTP, Taq polimeraz (Boehringer Mannheim) içeren karışım 30sn 94°C, 45sn 60°C ve 45sn 72°C de 35 siklus yapılarak elde edilen 1.PCR ürününden 5ml NGO61 ve NG63 primerlerini kullanarak (NGO61: 5'-GGC AAC ATG TTA TGG ATA GAC TGG-3') aynı siklus sayısı ve basamakları kullanılarak 2.amplifikasyona alındı. Oluşan PCR ürünü etidyum bromid ile boyanan jel elektroforezde gösterildi. HGV-RN A yine fenol kloroform ekstraksiyon yöntemi ile elde edildi ve RT-PCR yöntemi ile amplifiye edildi. HGV, RT-PCR 5'- uncoding bölgesine ait primerler kullanılarak çalışıldı. 208 bp uzunluğunda son PCR ürünü etidyum bromid ile boyanan jel elektroforezde gösterildi.

HBsAg ve anti-HCV EIA (AxSYM, Abbott Laboratories) yöntemi ile çalışıldı. Sonuçlar reaktif ve non- reaktif olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Kan ve kan ürünü transfüzyon anamnezi, intravenöz ilaç kullanımı ve mesleki riski olmayan 45'i kadın, 55'i erkek ve yaş ortalaması 34±9.2 yıl olan 100 sağlıklı kan donörü ile 20 kadın, 30 erkek ve yaş ortalaması 39±14 olan 50 kronik hemodiyaliz programında olan hasta alındı.

Hemodiyaliz hastalarının ortalama dialize girme süresi 7.0± 3.9 (5 ay-17yıl) yıl idi.

Gruplar arasında yaş ve cinsiyet dağılımı yönünden fark yoktu. TTV, hemodiyalize giren 50 hastanın 18 (%36)'inde, sağlıklı 100 bireyin 12 (%12)'sinde pozitif saptandı. Her iki grup karşılaştırıldığında dializ hastalarında pozitiflik oranı anlamlı derecede yüksekti (p< 0.01).

Sağlıklı bireylerden oluşan grupta bireylerin hiç birinde kan transfüzyon hikayesi yoktu. Transaminazları normal seviyede idi, muhtemel geçiş yolu saptanmadı. TTV pozitif saptanan hemodiyaliz hastalar ile TTV negatif hastalar arasında cinsiyet, yaş, dializ süreleri, kan transfüzyonu ve sayısı arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı (P> 0.05). **Tablo-1** de gösterilmiştir.

TTV pozitif olan hemodiyaliz hastaların yaş ortalaması 39±12, negatif olan hastaların yaş ortalaması 36±13 idi. İki grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu (p>0.05). Cinsiyet dağılımları da benzerdi. TTV pozitif hastaların dialize girme sürelerinin ortalaması 5.8±3.8 yıl idi. Negatif olan grupta ise bu süre 4.8±3.6 yıl olup TTV pozitifliğinin hemodiyaliz süresi ile ilişkisi olmadığını saptadık (p>0.05). Hastaların %52'sinde (26/50) kan transfüzyon anamnezi vardı. Bu hastaların %38.4'ünde TTV pozitif bulundu. Kan transfüzyon anamnezi olmayan hastalarda (%48) ise TTV pozitifliği %30'unda bulundu. Bu her iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0.05). TTV pozitif hastalarının 5'inde, TTV negatif olan hastaların 6'sında HGV pozitif idi. Anti- HCV ise TTV pozitif hastaların 4'ünde, negatif hastaların 6'sında pozitif saptandı (**Tablo-2**).

Ortalama ALT değerleri TTV pozitif hastalarda 19.1 + 14.6, negatif hastalarda 27.3±16.2 idi. İstatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0.05). ALT yüksekliği, TTV pozitif hastaların 2'sinde bulundu; bu hastaların birinde anti-HCV ve HGV-RNA pozitif iken, diğerinde anti-HCV pozitifti. TTV negatif ALT yüksekliği ise iki hastadan tespit edildi, birinde HBsAg ve HGV-RNA pozitif bulundu, diğerinde ise bu virüslerin hiç biri tespit edilmedi.

Tablo 1: TTV pozitif ve negatif hemodiyaliz hastalarının çeşitli özellikleri yönünden karşılaştırılması.

	TTV (+)	TTV (-)
Cinsiyet (Erkek)	14 (%46.6)	16(%53.3)
Yaş	39±12	36±13
Hemodiyaliz süresi	5.8±3.8	4.8±3.6
Transfüzyon yapılan hasta sayısı	10(%55.5)	16(%50)
Transfüzyon sayısı	8.6±9.2	6.6Ü2.2
ALT	19.1±14.6	27.3Ü6.2
Anti HCV	4 (%22.2)	6(%18.7)
HGV	5 (%27.7)	12(%28.1)

Tablo-2: TTV pozitifliğinin HCV ile HGV birlikteliği

	TTV (+)	TTV (-)	P
HCV	4 (%22.2)	6(%18.7)	p>0.05
HGV	5 (%27.7)	12(%28.1)	p>0.05

TARTIŞMA

TTV, Japonya'da 1997 yılında post-transfüzyon non-A non-B hepatitli bir hastanın serum örneğinde tespit edildikten sonra etyolojisi bilinmeyen fulminant ve kronik karaciğer hastaları üzerinde çalışılmış, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı fark tespit edilmemiştir. Çeşitli karaciğer hastalıklı hastalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (5). Virüsün hastalık yapıp yapmadığı netlik kazanmazken, daha sonraki çalışmalar özellikle paranteral yolu sıklıkla açık olan kronik hemodializ, intravenöz ilaç kullanım bağımlılığı olan ve sık kan transfüzyon yapılan hemofilili hastalarında çalışılmıştır. Bu çalışmada, sağlıklı kan donörlerine göre risk taşıyan hastalarda yüksek bulunmuştur (6). Forns ve ark (7), 96 kronik hemodializ hastasında TTV enfeksiyonunun araştırmışlar, hastaların %53'de virüsü tespit etmişler ve sağlıklı kan donörlerine göre daha yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmada yalnız TTV ile enfekte 26 hastanın 2'sinde karaciğer testlerinde anormallik saptamışlardır. Tanaka ve ark (8), 44 kronik hemodializ hastası üzerinde TTV prevalansını ve HBsAg, anti- HBc, anti-HCV ve HGV- RNA araştırmışlardır. Virüs, 44 hastanın 13 (%29.5)'ünde tespit edilirken diğerleri sırasıyla %6.8 HBsAg, %36.4 anti- HBc, %22.7 anti-HCV ve %2.3 HGV-RNA tespit etmişlerdir. TTV pozitif ve negatif gruplar arasındaki karşılaştırmada, anti- HBc dışında diğerleri ile anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Hino ve ark. tarafında kronik hemodializ hastalarında virüsü, normal popülasyona göre daha yüksek oranda saptamışlardır. Hino ve ark (9), tarafında kronik hemodialize giren 60 hastada TTV araştırılmış ve virüs 18 (%30)' inde tespit edilmiştir. Çalışmada TTV pozitif ve negatif gruplar arasında yaş, cins, kan transfüzyon anamnezi, hemodializ süresi ve diğer virüslerle birlikteliği açısından fark saptamamışlar. Ayrıca hemodializin süresi ile de TT virüs sıklığı arasında bir ilişki tespit etmemişler (9). Bazı çalışmalar virüsün sadece paranteral değil, oral - fekal ve diğer vücut salgılarıyla bulaşabileceği gösterilmiştir (10).

Bizim çalışmamız, 50 kronik hemodializ hastası ve 100 sağlıklı kan donörü üzerinde yapıldı. Hasta gurubunda TTV-DNA, anti-HCV ve HGV-RNA bakıldı, kan donörü grubunda ise anti-HGV ve TTV-

DNA bakıldı. Hastaların 18'(%36) inde TTV pozitif saptandı. Sağlıklı kan donörlerinin 12 (%12)'sinde virus pozitif saptandı. Forns ve ark. (7) ile Chan ve ark. (11)'nin, çalışmalarında olduğu gibi TTV-DNA pozitifliği hemodializ hastalarımızda, sağlıklı kan donörlerinden anlamlı olarak yüksekti. Dünyanın çeşitli merkezlerinde TTV-DNA pozitifliği, sağlıklı kan donörlerinde %1-12 (8, 11) ve kronik hemodializ hastalarında %29.5-61 arasında değişik oranda bildirilmektedir (8, 11). Hem kan donörlerinde hem de hemodializ hastalarımızda TTV pozitifliği, yapılan çalışmalara benzerdi. TTV-DNA pozitif ve negatif hemodializ hastalarımız arasında, yaş, cinsiyet, kan transfüzyon sayısı ve diyaliz süresi arasında anlamlı fark saptamadık. Çalışmamızda Hino ve ark.'ın (9), çalışmalarına benzer sonuçlar elde ettik. Utsunomiya ve ark (12), çalışmalarında olduğu gibi alanin aminotransferas (ALT) değerlerinde gruplar arasında fark yoktu. Dört hasta dışında tüm hastalarda ALT seviyeleri normaldi. Bu 4 hastanın ikisinde TTV-DNA, anti-HCV ve HGV-RNA, birinde anti-HCV ve HBsAg pozitif ve son olguda viral etken saptamadık. TTV-DNA pozitif hemodializ hastalarımızın 4'ünde anti-HCV, 5'inde HGV-RNA pozitifdi, TTV-DNA negatif hastalarımızın 6'sında anti-HCV, 12'sinde HGV-RNA pozitifdi. Ko-enfeksiyon bakımından; Tanaka ve ark.in çalışmasında olduğu gibi, çalışmamızda da TTV ile anti-HCV, HGV-RNA ve HBV arasında anlamlı bir ilişki saptamadık.

Özetle TTV-DNA'nın sağlıklı kan donörlerine göre kronik hemodializ hastalarında yüksek olduğunu, yaş ve cinsiyetin risk faktörü olmadığını, hemodializ süresi ve kan transfüzyonunun enfeksiyon riskini yükselttiğini ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığını saptadık. Kan transfüzyon anamnezi olmayan hastalarımızda da TTV yüksek çıkması, virüsün parenteral yol dışında diğer yollarla da bulaşabileceği ve virüs pozitif sağlıklı kan donörleri ile hemodializ hastalarımızda ALT'in normal değerde saptanmasının, ilk aşamada hepatitle direk ilişkisi olmadığını ancak bu olguların uzun süre takibi gerektiği kanısına vardık.

KAYNAKLAR

1. Alter JH, Nakatsuji Y, Melpolder J et al. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Engl J Med* 1997; 336: 747-754.
2. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K et al. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;241:92-97.

3. 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 Res* 1998; 10:1-16,
4. Mushahwar IK, Erker JE, Muerhoff AS et al. Molecular and biophysical characterization of TT virus evidence for a new virus family infecting humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3177-3182.
5. Naoumov NV, Petrova EP, Thomas MG, Williams R, Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease. *The Lancet* 1998; 18: p 195-7
6. Cau C. TTV: A new hepatitis virus? Transfusion-transmitted. *Minerva Med* 1999; 90: 339-43
7. Forn Z, Hegerich P, Darnel A et al. High prevalence of TT virus (TTV) infection in patients on maintenance hemodialysis. *J Med Virol* 1999; 59: 313-7
8. Tanaka H, Miyano M, Yukawa S. Detection of TT virus in Japanese hemodialysis patients. *Nippon Rinsho* 1999; 57: 1410-2
9. Hino K, Okuda M, Ishiko H et al. Detection of TT virus in hemodialysis patients. *Nippon Rinsho* 1999;57:1413-6
10. Wolff D, Korner MM, Wolff C et al. Transfusion-related Hepatitis G virus infections in heart transplant recipients. *Transplantation* 1996; 62: 1697.
11. Chan YJ, Hsu YH, Chen MC et al. TT virus infection among hemodialysis patients at a medical center in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2000;33:14-8
12. Utsunomiya S, Yoshioka K, Wakita T et al. TT virus infections in hemodialysis patients. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3567-70.