

ETYOLOJİSİ SAPTANAMAYAN VE KLİNİK OLARAK POST TRANSFÜZYON HEPATİT KUŞKULU OLGULARDA TT VİRÜSÜNÜN ARAŞTIRILMASI

THE INVESTIGATION OF TT VIRUS IN CASES SUSPECTED CLINICALLY OF POST TRANSFUSION HEPATITIS WITH UNKNOWN ETIOLOGY

Bekir KOCAZEYBEK

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Anahtar Sözcükler: TT Virus (TTV), TTV-DNA, hepatit, transfüzyon, prevalans, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

Key Words: TT Virus (TTV), TTV-DNA, hepatitis, transfusion, prevalence, polymerase chain reaction (PCR)

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, etyolojisi bilinmeyen ve klinik olarak transfüzyon sonrası hepatit kuşkusu veren hastalarda TT Virus (TTV) prevalansını saptamak idi. Açık kalp ameliyatından 3-17 hafta sonra hepatit düşünülen ve ameliyat öncesinde TTV DNA yönünden olumsuz oldukları gösterilen 90 olgunun serumunda TTV DNA araştırılmıştır. Olumlu bulunan olgular TTV DNA yönünden 24 ay izlenmiştir. Araştırmada TTV DNA incelemesi Takahashi ve arkadaşlarının önerdiği polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi (PZR) yöntemiyle yapılmıştır. Hasta grubunun 21'inde (% 23.3), kontrol grubunun ise dördünde (% 4.4) TTV DNA pozitif saptanmıştır. TT Virus DNA pozitif saptanan olguların transfüzyon sonrası ilk başvuru süresi minimal üç, maksimal 15 hafta, ortalama yedi olarak saptanırken ilk başvuruda saptanan ALT miktarı ortalamaları TTV DNA pozitif ve negatif olgular arasında fark göstermemiştir. Ancak TTV DNA pozitif olgularda iki olgu dışında ALT miktarı transfüzyondan sonra dokuzuncu haftaya kadar yükselme eğiliminde, en yüksek noktaya ulaşırken, bir olgu dışında diğer olgularda ALT değeri 13. haftadan sonra normal değere inmiştir. TT Virus DNA pozitifliğinin 24 aylık takibinde, bir olgu dışında, diğer olgularda bu süre sonunda pozitiflik devam etmiştir. Post-transfüzyon hepatit (PTH) etkeni olarak bilinen başlıca viral etkenlerin dışında, transfüze PTH veya non-transfüze asemptomatik olgularda TTV-DNA'nın değişen oranlarda saptanabildiğini ileri süren literatür görüşleriyle bu araştırmanın sonuçları paralellik göstermiştir. Gerek transfüzyon gerek non-transfüzyon yollarla bulaşın olabileceğini düşündüren viral etkenin epidemiyolojik özelliklerinin ve hepatik- ve ekstra-hepatik patolojilerinin daha net tanımlanabilmesi için araştırmadaki olgu gruplarına ek olarak transfüze ancak non-PTH hastalarını da içeren yeni klinik çalışmalara ihtiyacın olduğu görülmektedir.

SUMMARY

The purpose of this study was to determine the prevalence of TT Virus (TTV) in patients suspected of post-transfusion hepatitis of unknown etiology. TT Virus DNA was investigated in the serum samples of 90 cases who were considered as hepatitis 3-17 weeks after open heart surgery and were shown as negative for TTV DNA before the operation. Cases who were found positive were followed up for TTV DNA for 24 months. TT Virus DNA was investigated with polymerase chain reaction (PCR) method suggested by Takahashi et al. TT Virus DNA was found positive in 21 (23.3%) of the patient group and four (4.4%) of the control group. In the patients detected as TTV DNA positive, the admission time following transfusion was minimum three, maximum 15 and average seven weeks. The ALT levels detected at the time of the admission did not show difference between TTV DNA positive and negative

cases. However, ALT levels had a tendency to rise and reached the highest point nine weeks after the transfusion in TTV DNA positive cases except in two cases and ALT levels attained the normal value after the 13th week except in one case. During the 24 months follow up of the TTV DNA positiveness, it was found as positive at the end of this period in all cases except in one. The results of this study were parallel to the literature suggesting that TTV-DNA except main viral agents known as PTH agent is found in alternating transfused PTH or non-transfused asymptomatic cases. In order to define the epidemiological properties and hepatic-extrahepatic pathologies related to the viral agent more clearly which is probably taken by both transfusion and non-transfusion ways, it is indicated that new clinical studies on transfused but non-PTH patients are needed.

GİRİŞ

Genellikle kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu ile bulaşan ve karaciğer yangısına neden olan viral etkenlerden Hepatit B Virüsü (HBV)'nün 450 milyon, Hepatit C Virüsü (HCV)'nün ise 100 milyon taşıyıcıda bulunması, enfeksiyonun kronikleşmesi ve ciddi boyutlarda ölüme yol açan hepatosellüler karsinomayla ilişkisi, ekonomik açıdan büyük problemler yaratması nedeniyle viral hepatitler dünyanın en önemli sağlık sorunlarından (1, 2). Hepatit A, B, C, D, E, F, G gibi hepatotropik majör etkenlerin primer sitomegalovirüs (CMV), Varicella Zoster Virüs, Epstein-Barr Virüs (EBV) gibi non-hepatotropik etkenlerin sekonder olarak hepatositleri infekte etmesiyle meydana gelen viral hepatitin klinik tabloları etkenin nitelikleri ve konağın immünitesiyle ilişkili olarak akut ve kronik hepatit tarzına kadar değişkendir. Bilinen bu hepatotropik ve non-hepatotropik virüslerin etken olarak gösterilemediği pek çok hepatit olgusunun gösterilmesi, HBV ve HCV içermeyen kan ürünleri transfüzyonu sonrası hepatitin meydana gelmesi bazı akut, kronik, fulminan hepatit ve siroz olgularında etyolojinin saptanamaması araştırmacıları başka virüs arayışlarına itmiştir (3). Son yıllarda yapılan çalışmalarda Hepatit G virusü (HGV) ve bunu takiben hepatit virus olduğu düşünülen TT Virüs (TTV) bulunmuştur.

Bu çalışmada, değişik sayılarda kan ve kan ürünü transfüzyonu yapılan ancak post-operatif dönemi takiben, fizik muayene, klinik belirti ve laboratuvar verileri ile post-transfüzyon hepatiti (PTH) kuşkusu veren ve non A-C tanısı konulan kalp cerrahisi olgularında TTV'nin varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta ve kontrol grubu seçimi: Ocak 1998- Haziran 2000 arasında açık kalp cerrahi indikasyonu ile ameliyat edilen, ameliyata göre 5-39 Ü, ortalama 7 Ü kan ve/veya kan ürünü transfüzyonu yapılan 5788 olgudan kliniğe 3-17 haftalar arası ortalama 9. haftada değişik klinik rahatsızlıklarla Dahiliye ve Kardiyoloji Polikliniği'ne başvuran 133 olgudan, hafif derecede halsizlik, yorgunluk, iştahsızlık, bulantı (91 olgu), daha az sayıda karın

ağrısı (11 olgu), $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ateş (dokuz olgu), ve deri döküntüsü (bir olgu) gibi klinik belirtilerle, hafif ikter (iki olgu) ve hepatomegali (dört olgu) gibi fiziki muayene sonuçlarıyla, miktarı > 40 U/L olan ALT (93 olgu), > 2 mg/dl olan total bilirubin (üç olgu) ve bilirubinüri (bir olgu) gibi kan ve idrar biyokimyasal test sonuçlarıyla ve karaciğer ultrasonografisinde hafif olarak karaciğer hipertrofisi (dört olgu) bulgularıyla 93 olgu klinik olarak kuşkulu PTH ön tanısıyla araştırmaya alınmıştır. Yetmişdokuzu (% 86.7) erkek, 12'si (% 13.3) kadın, yaşları 18-60 arasında değişen, kan bankasına ilk defa kan vermeye gelen ve daha önce hiç kan transfüzyonu yapılmayan, Hepatit A Virüsü (HAV) yönünden 77'si bağışık, 13'ü seronegatif, HBV ve HCV'leri negatif, ALT miktarları < 40 U/L olan, son bir yıl içinde özellikle karaciğer rahatsızlığını tanımlayan bir öyküsü olmayan sağlıklı 90 kan vericisi çalışmaya kontrol grubu olarak alınmıştır. Ameliyat öncesi (aynı zamanda transfüzyon öncesi) olgularda TTV taşıyıcılığını saptamak amacıyla 5788 olgunun ameliyat öncesi yapılması gereken rutin serolojik testler (HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV 1/2, RPR) için alınan serumlarından TTV-DNA çalışması için 1.5 ml serum -30°C 'de saklanmıştır. Araştırmaya alınan 93 olgunun -30°C 'de saklanan bu serumlarıyla polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testi yapılarak iki olguda TTV-DNA taşıyıcılığı saptanmış, bu iki olgu ve HCV pozitif bir olgu hariç diğer non A-C 90 olgu TTV-DNA çalışmasına alınmıştır. Bu amaçla izlenen olgularda kliniğe başvurdıklarında, 6, 12 ve 24. aylarda 10 ml antikoagülansız kan alınarak PZR yöntemiyle TTV-DNA araştırması yapılmıştır. TT Virüs DNA pozitif olguların ALT düzeyleri haftalık olarak normal değerin altına ininceye kadar izlenmiştir.

A) Biyokimyasal testler

Alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST), total bilirubin, gama-glutamil transferaz (gama-GT), alkali fosfataz testleri opeRA aygıtında (Bayer-ABD) aç karnına alınan kanlarla yapılmıştır.

B) Hematolojik testler: Hemogram parametreleri (eritrosit sayısı, hematokrit, hemoglobin, lökosit ve trombosit düzeyleri Cell Dyn 1700 aygıtında (Abbott-ABD) ölçülmüştür.

C) Serolojik testler

Anti-HAV IgG, HBeAg, anti-HBe testleri IMX aygıtında (Abbott-ABD) floresan polarizasyon yöntemiyle; HAV IgM, HBsAg, anti-HBs, anti-HBc (total) ve anti-HCV testleri ise Access aygıtında (Beckman Coulter-ABD) kemiluminesans yöntemiyle yapılmıştır.

D) İdrardan biyokimyasal inceleme: pH, ürobilinojen, bilirubin gibi komponentler idrarda Multistik 10 SG (Bayer-ABD) sribi ile incelendi.

E) Radyolojik testler: Karaciğer ultrasonografisi

F) Nükleik asit testleri: Çalışmada Takahashi ve ark. (4)'nın önerdiği primer çiftlerinin oligo dizileri T801 (5' GCT ACG TCA CTA ACC ACG TG 3') sense primer nükleotit 6-25 ve T935 (5' CTG CGG TGT GTA AAC TCA CC 3') antisense nükleotit 204-185 primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile yapılmıştır. Buna göre, kontrol ve hasta grubundan alınan serum örnekleri ile elde bulunan pozitif ve negatif kontrollerden, fenol-kloroform yöntemi ile DNA ekstraksiyonu yapıldı. Ekstrakte edilen DNA'ların kalitesi spektrofotometrik yöntemlerle kontrol edildi. Daha sonra nükleik asit amplifikasyonu amacıyla bir PZR master miksi hazırlandı. Hazırlanan master miks, distile su, 10x tampon (100mM Tris-HCL pH 8.3 ve 500 mM KCL), 1.5 mM MgCl₂, 10nM dNTP miks, primerler ve Taq polimerazdan oluşuyordu. Hazırlanan miks üzerine ekstrakte edilen DNA örnekleri eklenerek thermal cycler'a konuldu. Amplifikasyonun sonucunda PZR ürünleri etidyum bromit ile boyanarak %2'lik agaroz jel-elektroforezinde yürütüldü. Size marker olarak Δ X174/Hae III kullanıldı. Sonuçlar pozitif ve negatif kontrollerle birlikte size marker eşliğinde UV transilluminatörde gözlenerek değerlendirildi. Araştırmada serumlardan gerçek pozitifliği saptamada ve pozitifliklerin doğrulanması için ekstraksiyon aşamasında ikişer tane pozitif



Şekil 1. TT Virüs DNA pozitif ve negatif hastalar ile pozitif ve negatif kontrol sonuçlarının agaroz-jel elektroforezindeki görüntüleri

M: Marker (Promega 100bp ladder)
1: Negatif kontrol
2: Pozitif kontrol
3: Negatif hasta
4: Pozitif hasta
5: Pozitif hasta
6: Negatif hasta

ve negatif kontrol serumu kullanıldı. Yine master miks aşamasında da pozitif ve negatif oldukları bilinen DNA'lar çalışmaya eklendi. Ayrıca her bir örnek, hem kontrol hem de hasta grubu, ikişer kez tekrar edildi. Yani test hem baştan sona ikişer kez tekrar edildi hem de her bir çalışmada gerek ekstraksiyon gerekse master miks aşamasında pozitif ve negatif kontroller kullanıldı (Şekil 1). İstatistiksel hesaplamalarda Epi İno Version 6.0 programında ki-kare testi kullanıldı.

BULGULAR

Araştırmaya alınan 90 olgunun 21'inde (% 23.3), kontrol grubunun ise dördünde (% 4.4) TTV DNA pozitif saptanmıştır (χ^2 : 9.58, $p < 0.05$, OR 6.54; 95% CI 2.61-18.5) (Şekil 1). TT Virüs DNA pozitif saptanan olguların transfüzyon sonrası ilk başvuru süresi minimal üç, maksimal 15 hafta, ortalama yedi olarak saptanırken, ilk başvuruda saptanan ALT miktarı ortalamaları TT Virüs DNA pozitif ve negatif olgular arasında fark göstermemiştir ($p > 0.05$). TT Virus DNA pozitif olguların yaş ortalaması 50.1, TTV DNA negatif olguların ise 48 idi ($p > 0.05$). Cinsiyete göre TTV DNA pozitiflik oranı anlamlı fark göstermedi ($p > 0.05$) (Tablo 1). Ancak TTV DNA pozitif olgularda iki olgu dışında ALT miktarı transfüzyondan sonra ortalama 9. haftaya kadar yükselme eğiliminde, en yüksek noktaya ulaşırken bir olgu dışında diğer olgularda ALT değeri ortalama 13. haftadan sonra normal değere indi (Şekil 2). Buna karşılık; TTV-DNA pozitifliğinin 6, 12 ve 24. ay takiplerinde 21 olgunun 20'sinde 24. ayda pozitiflik devam etti, sadece bir olguda (8 nolu olgu) negatif bulundu (Tablo 2).

Tablo 1. Klinik olarak post-transfüzyon hepatiti (PTH) kuşkulu ve kontrol grubunda TTV-DNA pozitif ve negatif olguların özellikleri

Özellikler	PTH kuşkulu olgu grubu TTV-DNA		p
	Pozitif	Negatif	
Prevalans (%)	21 (23.3)	69 (76.7)	
Yaş (Ort.)	50.6	47.6	$p > 0.05$
Cinsiyet Erkek/Kadın (%)	18/3 (23/25)	60/9 (69/75)	$p > 0.05$
Kan ve kan ürünü			
(Ünite olarak ortalama)	8.4	7.8	$p > 0.05$
İlk başvuru			
(Hafta olarak min.-mak.)	3-15	4-8	
Ortalama	7	6.4	$p > 0.05$
İlk başvuruda ALT miktarı U/L			
(min.-maks)	53-165	47-167	
Ortalama	84	79	$p > 0.05$
Kontrol grubu			
Prevalans (%)	4 (4.4)	86 (95.6)	
Yaş (Ortalama)	39.5	41.8	$p > 0.05$
Cinsiyet Erkek/Kadın (%)	4/0 (5/0)	75/11 (95/100)	$p > 0.05$

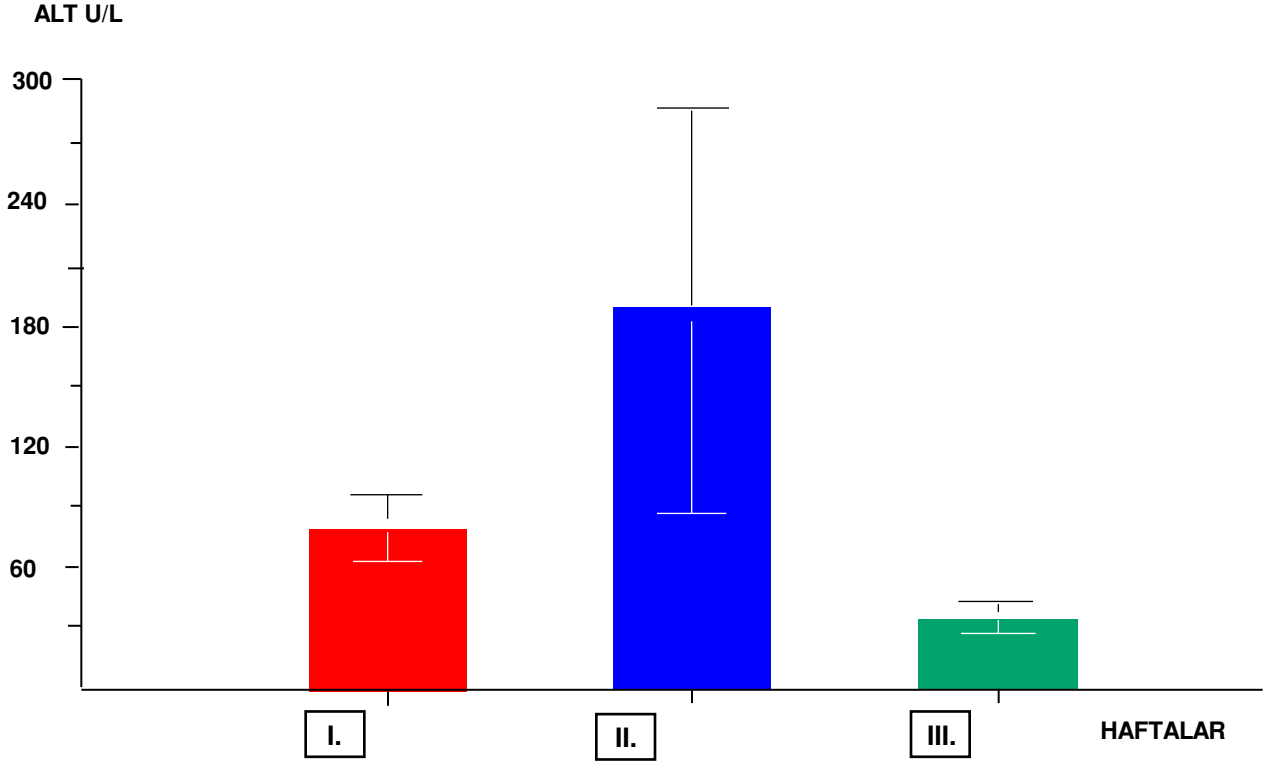
Tablo 2. Virüs (TTV) pozitif saptanan post-transfüzyon hepatiti olgularının özellikleri

Olgu	Yaş	Cinsiyet	Transfüze edilen kan veya kan ürünü miktarı Ünite olarak	ALT miktarı (U/L)/saptanma süreleri (hafta)		En yüksek ALT		Normalde inddiği (ALT)		TTV varlığı (ay)			
				Süre	ALT	Süre	ALT	Süre	ALT	0.	6.	12.	24.
1	44	E	6	4	63	6	115	13	10	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
2	48	E	7	5	102	7	141	13	22	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
3	51	E	6	3	68	6	187	8	38	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
4	38	E	8	6	67	8	194	13	33	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
5	60	K	15	7	80	9	101	14	30	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
6	56	E	9	8	96	10	210	15	36	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
7	48	E	8	15	65	17	434	16	40	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
8	38	E	8	8	53	10	80	14	15	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Negati
9	50	E	8	11	83	13	115	15	25	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
10	46	E	7	6	77	7	190	15	32	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
11	46	K	11	7	95	8	125	13	35	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
12	54	E	13	8	87	11	102	14	38	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
13	61	E	9	6	60	12	108	13	34	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
14	54	E	10	7	88	9	220	14	39	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
15	43	K	9	5	94	7	219	13	40	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
16	49	E	7	6	108	9	254	14	40	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
17	51	E	6	5	55	7	90	15	25	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
18	56	E	6	6	61	11	193	14	37	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
19	59	E	10	4	59	10	397	15	41	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
20	60	E	8	7	100	9	337	15	39	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
21	50	E	7	6	86	8	112	14	23	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif

TARTIŞMA

Japonya'da 1997 yılında ne A ne G'li TT isimli bir hastadan izole edilen, zarfsız, tek iplikli bir DNA virüsü olan TTV'nin epidemiyolojik ve etyolojik rolü üzerinde çalışmalar hız kazanmış, özellikle PTH'li beş olgunun üçünün serumlarında TTV-DNA'nın gösterilmesi ve bunun ALT düzeyleriyle ilişkili olması, PTH'de bu virüsün sorumlu olabileceğini gündeme getirmiştir (5). Buna bağlı olarak, kan vericileri kriptojenik siroz ve idiyopatik fulminan hepatik yetmezlik gibi karaciğer hastalığı olanlarda değişik TTV-DNA oranları elde edilmiştir (6-8). TT Virüs DNA'nın serumda saptandığı miktarının 10-100 katının karaciğerde belirlendiği, bununla TTV enfeksiyonunun ve replikasyonunun karaciğerde olduğu bildirilmiştir (9). Hiç transfüzyon olmamış kan vericilerinde TTV-DNA'nın yüksek oranda olması, parenteral yolla bulaş riski olmayan kişilerde de enfeksiyonun belirlenmesi ve dışkılarında DNA'nın saptanması non-parenteral yolla bulaş olasılığını düşündürse de geçmişlerinde kan ve kan ürünü transfüzyonu bulunan belirli hasta gruplarıyla ilgili çalışmaların sayısı artmaya başlamıştır (9, 10). Japonya'dan bildirilen bir çalışmada (10); kan ve kan komponentleri, özellikle Faktör 8-9 ve immünglobülin preparatlarında TTV-DNA'nın PZR ile saptanmadığı, kronik karaciğer hastalıklı 50 hastanın dokuzunda, 21 fulminan hepatitli hastanın dördünde TTV enfeksiyonun saptandığı, bu oranın gönüllü vericiler arasında

ise % 7 olduğu bildirilmiştir. Charlton ve ark. (6) geçmişlerinde kan ve kan ürünü transfüzyonu öyküsü olan sirozlu hastalarda TTV-DNA oranının % 18, non-transfüze olgularda ise % 4, kan vericilerinde % 1 olduğunu bildirmişlerdir. İtalya'dan Colombatto ve ark. (11) çalışmalarında; kan transfüzyonu yapılan hastalarda TTV prevalansının çok yüksek olduğunu, ancak kan transfüzyonu olmamış grupta da oranın yüksek olduğunu, bunun muhtemelen başka bir bulaş yoluyla ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. İkibin yılında Sugiyama ve ark. (12) Okamoto ve Takahashi primerleriyle yaptıkları çalışmalarda kan transfüzyonu yapılan çocuklarda TTV-DNA oranını % 31.6, % 78.9, transfüzyon yapılmayanlarda ise % 6.7-60 olarak bulmuşlar, transfüzyon yapılan gruba göre yapılmayanlarda da oranın yüksek olması, parenteral bulaşın yanında enteral bulaşın da mümkün olabileceğini bildirmişlerdir. Fransa'da yapılan iki ayrı çalışmada (13, 14) ise; çoklu kan transfüzyonu yapılan 173 olgunun takibinde 48 (% 27.7) hastada TTV-DNA pozitif bulmuşlar, diğer çalışmada kan transfüzyonu alan grupta % 28.3 TTV-DNA pozitif bulunurken, kan vericilerinde bu oran % 5.3 olarak belirlenmiştir. Gad ve ark. (15)'nin Mısır'dan bildirdikleri çalışmada ise, geçmişlerinde kan transfüzyonu öyküsü olanlarla TTV enfeksiyonları arasında ilişki olmadığı bildirilmiştir. Brezilya'da non A-C grubu hepatitli ve kan vericilerinde birbirine yakın oranda TTV-DNA pozitifliği bulunmuş, TTV'nin Brezilya'da yaygın bir enfeksiyon olduğu bildirilmiştir (16). Türkiye'de



Şekil 2. Post-transfüzyon hepatiti kuşku olgularının takip süresince ALT miktarlarının başvuru, maksimum miktar ve normale inme haftalarına göre dağılımı

I. Ortalama başvuru haftası (6.5. hafta)

II. Ortalama ALT miktarının en yüksek saptandığı hafta (9. hafta)

ise Türkoğlu ve ark. (17) non A-G akut viral hepatitlerde % 0, kontrol grubunda % 9; Tunçbilek ve ark. (18) kan vericileriyle yaptıkları çalışmada da % 4.5' lik TTV-DNA pozitifliği bulmuşlar ve farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda (19, 20) da % 8 ve % 51.4 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada, çoklu kan ve/veya kan ürünü transfüzyonu yapılan cerrahi olgularında TTV-DNA'nın non-transfüze kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmasıyla ilgili sonuç, kan ve kan ürünlerinin bir bulaş yolu olduğunu bildiren literatür görüşleriyle paralellik göstermiş, buna karşılık hiç kan almayan sağlıklı kontrol grubunda ise % 4.4' lük TTV-DNA sonucu transfüze bulaş dışında enteral bulaşın ve aynı zamanda asemptomatik TTV taşıyıcılığının olabileceğini ileri süren literatür görüşleriyle uyumluluk göstermiştir. Ancak gerek bu çalışma gerekse kaynak bilgiler, TTV'nin yüksek düzeydeki değişkenliği ve konaktaki viral popülasyonun karmaşıklığı nedeniyle çalışmalarda seçilen primerler ya da reaksiyona giren nükleik asit miktarı, DNA ekstraksiyonu ile ilişkili kullanılan yöntemler farklılıklar göstermekte, bu da son derece değişken TTV-DNA sonuçlarının bulunmasına neden olmaktadır. Bu sonuçlar TTV enfeksiyonlarına ilişkin olarak genomik DNA'nın daha net oranda saptanabilmesi için duyarlılık ve özgüllük

yönünden daha standardize edilmiş primerler ve yöntemlere gereksinim olduğunu, buna bağlı olarak da bir süre daha bu sorunların çözümüne yönelik arayışların devam edeceğini göstermektedir.

Araştırmada TTV-DNA pozitif ve negatif olguların özellikleri irdelendiğinde; yaş, cinsiyet ve ALT miktarı yönünden aralarında bir fark saptanmamış, TTV viremisi erkek ve kadın olgularda birbirine yakın oranlarda bulunmuştur. Sağlıklı kan vericilerinde de yaş yönünden benzer sonuç alınmakla beraber, TTV viremisi sadece erkeklerde saptanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1998 yılında bildirilen 100 kan vericisi, 33 kriptojenik siroz, 11 idiopatik fulminan hepatik yetmezlik, 36 karaciğer transplantasyonlu 180 olguda (6); Tanaka ve ark. (21)'nin da 127 kronik karaciğer hastalıklı, 100 sağlıklı kan donörüyle yaptıkları çalışmada; yaş ve cinsiyet yönünden TTV pozitif ve negatif olgular arasında fark olmadığı bildirilmiştir. Pincau ve ark. (22) 293 hepatosellüler karsinomlu olguda TTV'nin etyopatogenezdeki rolü ile ilgili çalışmalarında; TTV viremisinin yaş ve cinsiyet yönünden fark göstermediğini bildirmişlerdir. Türkiye'de yapılan bir veri çalışmasında (18) ise TTV pozitifliği sadece erkeklerde saptanmıştır. Takayama ve

ark. (23), Kanda ve ark. (24), Gad ve ark. (15), ile Prati ve ark. (25) 1999-2000 yıllarında değişik hasta grupları ve kan vericileri ile yaptıkları çalışmalarda; TTV pozitif ve negatif olgular arasında ALT miktarlarında anlamlı fark olmadığını bildirmişler, buna karşılık, Lefrere ve ark. (13) ise TTV-DNA (+) olguların yüksek ALT düzeylerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Watanabe ve ark. (26) ALT yüksekliği ile TTV ve HCV ilişkisi temelinde yaptıkları araştırmada; TTV pozitif ve negatif olgular arasında ALT yüksekliği ve minör histopatolojik değerlerin görülme sıklığı yönünden farklı olmadığını, HCV ko-infeksiyonu ile ALT yüksekliği görülme sıklığının istatistiksel olarak yükseldiğini bildirmişlerdir. Nishizawa ve ark. (4)'nin değişik sayıda kan transfüzyonu yapılan PTH'li beş olguyla ilgili bildirilerinde en yüksek ALT düzeyinin 6 ile 25 hafta arasında değiştiğini, en yüksek ALT miktarını ise 80-434 U arasında bildirmişlerdir. Nitekim, bu araştırmada TTV-DNA pozitif olgularda 8-12 haftalar arası en yüksek ALT saptandığı süreler olup en yüksek ALT miktarı ise 108-385 U arasında değişiklik göstermiş, ALT değerleri ise normal değere, bir olgu dışında, 13 haftadan sonra düşmeye başlamıştır. Bu süreler içinde karaciğere ilişkin olarak yoğun histopatolojik değişiklikler (dejeneratif ve rejeneratif değişiklikler, nekroz, hipertrofi ve hiperplazi vb.) saptanmayan TTV (+) olgularda diğer majör viral etkenlerle meydana gelen hepatit tablolarında uygulanan semptomatik ve destekleyici tedaviler bir olgu (7 nolu olguda; iştahsızlık, bulantı, kusma, karın ağrısı vb. klinik belirtilerin devam etmesi, ALT'nin yüksek seyretmesine bağlı hastanede

tedavisine devam edilmiştir) dışında diğer olgulara hastane dışında uygulanmıştır. Yirmidört aylık takibi yapılan ve klinik olarak tamamıyla düzelen 21 olgunun 20'sinde TTV-DNA pozitifliği 24. ayda devam etmiş, sadece 8 nolu olguda 24. aydaki PZR çalışmasında TTV-DNA negatif bulunmuştur. Çalışmaların çoğunluğunda ileri sürülen TTV-DNA pozitif ve negatif olgular arasında karaciğerde histopatolojik aktiviteye veya ALT düzeyleri yönünden fark olmadığı, başka bir deyişle, TTV olumlu kişilerin TTV olumsuz kişilere göre anlamlı bir karaciğer hasarını gösteren biyokimyasal ve histopatolojik bulguya sahip olmadıkları görüşleriyle paralellik gösteren bu araştırmanın sonuçları TTV'nin halen çok net tanımlanamayan karaciğerdeki patogenezi ve klinik önemine yönelik yeni, geniş serili klinik çalışmaların yapılmasının gerekliliğini düşündürmektedir.

Araştırma sonuçları PTH etkeni olarak bilinen başlıca viral etkenlerin dışında, transfüze PTH veya non-transfüze asemptomatik olgularda TTV-DNA'nın değişen oranlarda saptanabildiğini ileri süren literatür görüşleriyle paralellik göstermiştir. Gerek transfüzyon gerek non-transfüzyon yollarla bulaşın olabileceğini düşündüren viral etkenin epidemiyolojik özelliklerinin ve hepatik-ekstra hepatik patolojilerinin daha net tanımlanabilmesi için çalışmadaki olgu gruplarına ek olarak transfüze ancak non-PTH hastalarını da içeren yeni çalışmalara gereksinim olduğu görülmektedir.

TEŞEKKÜR

Dr. Vedat Köksal'a ve Burç Moleküler Tanı Laboratuvarı'na yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. Moradpour D, Wands JR. Understanding Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1995; 332: 1092.
2. Brunetto MR, Capra G, Randone A. Wild-type and HBeAg-minus HBV fluctuations. Cause or effect of chronic hepatitis B pathogenic mechanisms? In: Nishioka K, Suzuki H, Mishiro S, Oda T, eds. *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Tokyo: Springer-Verlag, 1994: 261-4.
3. Linnen J, Wages Jr J, Zhang-Keck ZY, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: A transfusion-transmissible agent. *Science* 1996; 271: 505-8.
4. Takahashi K, Hoshino H, Ohta Y, Yoshida N, Mishiro S. Very high prevalence of TT virus (TTV) infection in general population of Japan revealed by a new set of PCR primers. *Hepatol Res* 1998; 12: 233-39.
5. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 8: 274-80.
6. 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: 839-42.
7. 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 Hepatol* 1999; 30: 1028-34.
8. Tangkijvanich P, Theamboonlers A, Hirsch P, Kullavanijaya P, Suwangool P, Poovarowan Y. TT virus infection in chronic liver disease. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 1053-8.
9. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatol Res* 1998; 10: 1-16.
10. Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, Fukuda M, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *J Med Virol* 1998; 56: 128-32.
11. Colombatto P, Brunetto MR, Kansopon J, et al. High prevalence of G1 and G2 TT-virus infection in subjects with high and low blood exposure risk: identification of G4 isolates in Italy. *J Hepatol* 1999; 31: 990-6.

12. Sugiyama K, Goto K, Ando T, et al. Prevalence of TTV DNA among children with a history of transfusion or liver disease. *J Med Virol* **2000**; 60: 172-6.
13. Lefrere JJ, Roudot-Thoraval F, Lefrere F, et al. Natural history of the TT virus infection through follow-up of TTV DNA- positive multiple-transfused patients. *Blood* **2000**; 95: 347-51.
14. Gallian P, Berland Y, Olmer M, et al. TT virus infection in French hemodialysis patients: study of prevalence and risk factors. *J Clin Microbio* **1999**; 37: 2538-42.
15. Gad A, Tanaka E, Oriti K, et al. Clinical significance of TT virus infection in patients with chronic liver disease and volunteer blood donors in Egypt. *J Med Virol* **2000**; 60: 177-81.
16. Niel C, de Oliveira JM, Ross RS, Gomes SA, Roggendor M, Viazov S. High prevalence of TT virus infection in Brazilian blood donors. *J Med Virol* **1999**; 57: 259-63.
17. Türkoğlu S, Çakaloğlu Y, Şentürk H. Çeşitli hasta gruplarında yeni bir DNA virusü (TTV)'nün araştırılması. *IV. Ulusal Viral Hepatit Simpozyumu (4-6 Kasım 1998, Ankara)*'nda. Ankara: Viral Hepatit Savaşım Derneği, **1998**: 201.
18. Tunçbilek S, Coşkun D, Çetinkaya F, Hizel N, Tahtakılıç P. İstanbul' da kan donörlerinde TT Virusü (TTV) prevalansının araştırılması. *Flora* **1999**; 4: 273-7.
19. Verdi H, Uzunalımoğlu Ö, Çağsın H. Türkiye'de kan donörleri, hemodiyaliz, talasemi major, Behçet ve Lichen Planus hastalarında TTV prevalansı. *III Ulusal Hepatoloji Kongresi Bildiri Kitapçığı*'nda, **1999**: 35.
20. Erensoy S, Sayiner AA, Akarca US, Yazan Sertöz R, Özacar T, Bilgiç A. Farklı gruplarda TT virus (TTV) genotip dağılımı. *Birinci Ulusa Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, (24-27 Nisan 2000, Kapadokya)*'da, **2000**: 34.
21. 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 Med Virol* **1998**; 56: 234-38.
22. Pincau P, Meddeb M, Raselli R, et al. Effect of TT Virus infection on hepatocellular carcinoma development: results of a Euro-Asian Survey *J Infect Dis* **2000**; 181: 1138-42.
23. Takayama S, Miura T, Matsuo S, Taki M, Sugii S. Prevalence and persistence of a novel DNA TT virus (TTV) infection in Japanese haemophiliacs. *Br J Haematol* **1999**; 104: 626-9.
24. Kanda Y, Tanaka Y, Kami M, et al. TT virus in bone marrow transplant recipients. *Blood* **1999**; 93: 2485-90.
25. Prati D, Lin YH, De Matte C, et al. A prospective study on TT virus infection in transfusion-dependent patients with beta-thalassemia. *Blood* **1999**; 93: 1502-5.
26. Watanabe H, Shinzawa H, Shao L, Saito T, Takahashi T. Relationship of TT virus infection with prevalence of hepatitis C virus infection and elevated alanine aminotransferase levels. *J Med Virol* **1999**; 58: 235-8.