

GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK KARACİĞER HASTALIĞI, DİABETES MELLİTUS VE
ONKOLOJİK HASTA GRUBUNDA HEPATİT G VİRÜSÜ VE
" TRANSFÜZYON TRANSMİTTED VİRUS " PREVALANSI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ayhan BALKAN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Abdurrahman KADAYIFÇI

GAZIANTEP 2001

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK KARACİĞER HASTALIĞI, DİABETES MELLİTUS VE
ONKOLOJİK HASTA GRUBUNDA HEPATİT G VİRÜSÜ VE
" TRANSFÜZİON TRANSMİTTED VİRUS " PREVALANSI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ayhan BALKAN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Abdurrahman KADAYIFÇI

GAZİANTEP 2001

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
İÇİNDEKİLER.....	I
TEŞEKKÜR YAZISI.....	II
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	III
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1-2
2. GENEL BİLGİLER.....	3-14
3. MATERYAL VE METOD.....	15-20
4. BULGULAR.....	21-30
5. TARTIŞMA.....	31-39
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	40-41
7. ÖZET.....	42-43
8. İNGİLİZCE ÖZET.....	44-45
9. KAYNAKLAR.....	46-52

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince yetişmemde emeği geçen değerli hocalarıma, tezimin hazırlanma aşamasında, çalışmanın yapılabilmesi için gerekli laboratuvar imkanlarının sağlanmasında ve tezimin tasarımında büyük katkıları olan değerli hocama, hasta serumlarının derin dondurucuda saklanmasında yardımcı olan kan bankası çalışanlarına, örnekleri büyük bir özveri ve emekle çalışan Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nin değerli doktorlarına ve asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım tüm mesai arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. Ayhan Balkan

<u>TABLO VE ŞEKİLLER</u>	<u>SAYFA</u>
1. Tablo-1. Kan donörleri ve parenteral bulaş riski yüksek gruplar ve bazı hasta gruplarında HGV sıklığı.....	5
2. Tablo-2. Karaciğer hastalıklarında GBV-C/HGV sıklığı.....	6
3. Tablo-3. TTV-DNA PCR'ında kullanılan primer setleri ile ilgili bilgiler.....	14
4. Tablo-4. Onkolojik hasta grubundaki hastaların tanılarına göre dağılımı.....	15
5. Tablo-5. 5'NCR'dan elde edilen primerlerin (PCR ürün büyüklüğü 186 nükleotid) kullanıldığı HGV RT-PCR.....	17
6. Tablo-6. Hastaların gruplara ve cinslere göre dağılımı.....	21
7. Tablo-7. Tanı ve etyolojiye göre kronik karaciğer hastalarının dağılımı.....	22
8. Tablo-8. Hasta gruplarında TTV görülme sıklığı.....	24
6. Grafik-1. Hasta gruplarında TTV görülme sıklığı.....	24
7. Tablo-9. Hasta gruplarında cinsler arası TTV pozitiflik karşılaştırılması.....	25
8. Grafik-2. Hasta gruplarında cinsler arası TTV pozitiflik karşılaştırılması.....	25
9. Tablo-10. Hepatit B ve C ile ilişkili hastalarda TTV sıklığı.....	26
10. Grafik-3. Hepatit B ve C ile ilişkili hastalarda TTV sıklığı.....	26
11. Grafik-4. Karaciğer hastalarında farklı etyolojik gruplara ve karaciğer histolojisine göre TTV sıklığı.....	27
12. Tablo-11. Hepatit B ile ilişkili TTV(+) veTTV(-) hastaların klinik verileri.....	28
13. Tablo-12. Hepatit C ile ilişkili TTV(+) veTTV(-) hastaların klinik verileri.....	30

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde oldukça duyarlı tanı yöntemlerine rağmen, birçok karaciğer hastalığının nedeni henüz saptanamamıştır ve muhtemelen keşfedilmeyi bekleyen viral hepatit etkenleri bulunmaktadır.

Son yıllarda karaciğere afinitesi olan ve hepatit yaptığından şüphelenilen iki yeni virüs [HGV (hepatit G virüsü) ve TTV (transfüzyon transmitted virüs)] çeşitli çalışmalarda izole edilmiştir. Ancak henüz bu yeni virüslerin epidemiyolojik, patolojik ve klinik özellikleri ile ilgili veriler netleşmemiştir. Ülkemizde bu virüslerin varlığı ile ilgili bazı ön çalışmalar başlamakla beraber henüz yeterli bilgi toplanamamıştır.

Bu çalışmada literatür için son derece yeni olan ve henüz ülkemizde yeteri kadar araştırılmayan bu virüslerin bölgemizdeki prevalansı, epidemiyolojik özellikleri ve değişik hasta gruplarında görülme sıklığı incelendi. Buradaki amaç, HGV ve TTV'nin bölgemizdeki sıklığını ortaya koymak, parenteral bulaş yolunun önemini saptamak ve ilerde yapılacak olan çalışmalara ışık tutmaktır.

Çalışma onkolojik hasta grubu, diabetes mellituslu hastalar ve kronik karaciğerli hastalarda gerçekleştirildi. Onkolojik hasta grubu ve kronik karaciğer hastalarının seçilmesinin temel nedenleri;

- 1) Onkolojik hastalarda sıkça kan ve kan ürünleri transfüze edildiği için ve bu virüslerin çoğunlukla transfüzyon yolu ile geçtiği iddia edildiği için riskli bir hasta grubunda bu virüslerin sıklığını belirlemek,
- 2) HBV (hepatit B virüsü) ve HCV (hepatit C virüsü) gibi parenteral yolla bulaş riski yüksek virüslerin yol açtığı kronik karaciğer hastalarında HGV ve TTV'nin pozitiflik oranını ve bunların karaciğer hastalığının seyri üzerindeki muhtemel etkilerini araştırmaktır.

Çalışmanın bir diğer amacı, bu virüslerin diabetli hastalardaki sıklığının belirlenmesiydi. Daha önceki yayınlarda HCV'nin pankreasa afinitesi olduğu

gösterilmiş ve HCV ile diabetes mellitus arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Literatürde çeşitli çalışmalarda kontrol grubunda HCV sıklığı % 1-3 arasında iken DM'li hastalarda % 20-27 arasında bulunmuş ve bu HCV'nin pankreasa olan afinitesinin ve diabet patogenezindeki rolünün bir bulgusu olarak yorumlanmıştır (1, 2). HCV ile HGV arasında poliprotein analizinde % 26.8 oranında homoloji olduğu ve bu iki virüsün birçok epidemiyolojik özelliğinin benzer olduğu bilinmektedir. Ancak henüz literatürde HGV ile pankreas ilişkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmaya DM'li hastalar da dahil edilerek yeni hepatit virüsleri ile pankreas arasındaki muhtemel bir ilişkinin epidemiyolojik olarak araştırılması planlanmıştır. Bu çalışma literatür verilerine göre (Index Medicus) ilk defa yapılmaktadır ve oldukça önemli bilgiler sağlayacağı düşünülmüştür.

Bu virüslerin parenteral yolla geçebildiği ve karaciğerde önemli bir hasar yaptığına dair bulgular elde edilmesi, bunlara yönelik antikor testlerinin öneminin artmasına, kan bankalarında rutin araştırmaya girmelerine ve tedavileri konusunda önemli adımlar atılabilmesine yol açacaktır. Aynı şekilde diabetli hastalarda bu virüslerin muhtemel bir rolünün epidemiyolojik olarak gösterilmesi diabet etyopatogenezinde önemli bir aşama sağlayacak ve virüs-diabet ilişkisinin önemi ortaya konacaktır.

Sonuç olarak bu çalışmada, HGV ve TTV'nin epidemiyolojik özellikleri, bölgemiz için önemi, karaciğer ve pankreas harabiyeti ile ilişkili olup olmadığının araştırılması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Son yıllarda, özellikle "representative differential amplification" (RDA) gibi güçlü moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak, hepatitten sorumlu olabilecek yeni virüsler üzerinde çalışmalar yoğunlaşmış ve GB virüsü tip C/hepatit G virüsü (GBV-C/HGV) ve TT virüs (TTV; "transfusion transmitted virüs") üzerinde çok sayıda veri birikmiştir. Ancak çalışmalar çoğaldıkça, tanımlanan yeni virüslerin hepatit etyolojisindeki rolleri, hatta hepatotrop özellikleri daha çok tartışılır ve sorgulanır olmuştur.

2.1. GBV-C/HGV

Birbirinden bağımsız iki çalışma grubu 1995'te yeni insan hepatit virüsleri bulduklarını bildirdiler. Bir grup hepatit G virüsü (HGV) adını kullanırken, diğer grup da hepatit GB virüsü C (GBV-C) adını kullandı (3, 4, 5). GBV-C ve HGV'nin moleküler özellikleri karşılaştırıldığında bu iki ajanın aslında aynı virüsün farklı izolatları olduğu anlaşıldı (4). Tamarinlerde 11. pasaj serumundan iki genomik RNA partikülü klonlanmıştır (GBV-A ve GBV-B). Bugün GBV-A ve GBV-B'nin aslında tamarin virüsleri oldukları, GBV-C'nin ise insan virüsü olduğuna inanılmaktadır (6) .

Aynı dönemde başka bir grup; HCV ile de infekte olan bir hasta ve HBV veya HCV ile infekte olmayan asemptomatik kişilerin plazma örneklerinden kendi aralarında % 90.5 nükleotid dizi benzerliği olan viral genomik diziler elde ettiğini açıklamış ve bu virüsü HGV olarak isimlendirmiştir (4). Poliprotein analizinde GBV-A ile % 43.8, GBV-B ve HCV-1 izolatı ile % 28.4 ve % 26.8 homoloji bulunmuştur.

2.1.1. Virüsün Moleküler Yapısı

HGV tek sarmallı bir RNA virüsüdür ve 3100 aminoasitten oluşan poliproteini kodlayan bir Open Reading Frame (ORF=Açık Okuma Bölgesi)'e sahiptir. Genomik yapıları Flaviviridae ailesinin diğer üyeleri olan HCV genomu ile % 26.8 benzerlik göstermekte iken, diğer üyeler olan Yellow fever virüs ve Pestivirüs genomlarından farklılık göstermektedir. Bu durum virüsün Flaviviridae ailesinin

yeni bir üyesi olduğunu ortaya çıkarmıştır. Diğerlerinden farklı olarak bu virüsün açılım okuma bölgelerinin 5' ve 3' uçlarında kodlanmayan bölgeler saptanmıştır. Nükleotid dizinin 5' ucunda E1 ve E2 olarak adlandırılan yapısal zarf glikoproteinler, 3' ucunda ise NS2, NS3, NS4 ve NS5 olarak tanımlanan yapısal olmayan proteinler bulunmaktadır (6-8). HGV'nin dört gruba ayrıldığı (Grup 1, 2, 3 ve 4) ve grup 2'de iki subgrup (grup 2a ve 2b) bulunduğu bildirilmiştir (9). Tip 1 en çok Batı Afrika'da, tip 2 Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da, tip 3 ise Asya'da görülmektedir (9-12). Daha sonra Güneydoğu Asya ve Güney Afrika'da yapılan çalışmalarda farklı genotipler olabileceği bildirilmiştir (genotip 4 ve 5) (13-15). Türkiye'de, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi böbrek transplantasyon alıcıları arasında 2a daha baskın olmak üzere tip 2 bulunmuştur (16).

HGV'nin karaciğerde replike olup olmadığı henüz kesin olarak bilinmemektedir. HGV'nin direk karaciğerde replike olmadığına dair iki çalışma bildirilmiştir. Bunlardan birincisi Laskus ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadır. Bu çalışmada HGV ve HCV koinfeksiyonlu hastalarda karaciğer biopsisi yapılmış ve HGV RNA düzeyleri düşük bulunmuştur. Serum HGV ve HCV pozitif RNA düzeyleri ise benzer düzeyde bulunmuştur (17). İkinci çalışma Pessoa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadır. Burada da HGV'nin serum ve karaciğer düzeyleri karşılaştırılmış ve HCV'ye göre HGV'nin karaciğer/serum oranının çok düşük düzeyde olduğu görülmüştür (18). Ayrıca HGV'nin lenfotropik bir virüs olduğunu, dalak, kemik iliği ve mononükleer hücrelerde replike olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (19).

Yine başka bir çalışmada HGV RNA karaciğer, kolon ve safra kesesinde saptanmazken, apendix dokusunda saptanmıştır. Serum ve apendixten alınan örneklerde nükleotid dizileri karşılaştırılmış ve benzer bulunmuştur. Bu sonuçlar HGV'nin apendixte prolifer olduğunu, portal kan akımı ile karaciğere taşındığını ve karaciğerde hepatit yapabileceğini düşündürmektedir (20). Replikasyon ile ilgili başka bir çalışmanın sonuçları, HGV'nin karaciğerde ve periferik kan mononükleer hücrelerinde replike olmadığını ve HGV'nin primer hepatotropik virüs olmadığını düşündürmektedir (21).

2.1.2. Epidemiyoloji

HGV başlıca parenteral yolla bulaşmaktadır. Bulaş yolu ortak olduğu için HGV ile infekte hastaların bir kısmı HBV ve HCV ile de infekte olabilir (22). Önceden HGV RNA negatif olup, kan ve kan ürünlerinin transfüzyonundan sonra HGV RNA pozitif olgular bildirilmiştir (4-5). Epidemiyolojik verilerde yüksek riskli gruplarda (HIV, hemofili, transplant hastaları vs...) HGV görülme sıklığının daha fazla olduğu gösterilmiştir (23).

Dünyada çeşitli bölgelerde sağlıklı kan donörlerinde yapılan taramalarda HGV-RNA pozitifliği % 0.8-18.9 arasında değişmektedir (24-25). Ülkemizde ise bu oran % 1.0-5.9 arasında değişiklik göstermektedir (26-27). Çeşitli ülkelerde kan donörlerinde ve parenteral bulaşma riski yüksek gruplarda HGV viremi çalışmaları tablo-1'de özetlenmiştir. HGV infeksiyonunun kronik karaciğer hastalığındaki rolü araştırılmış ve HGV pozitifliğinin HCV'nin klinik gidişini, patolojik seyrini ve tedaviye cevap gelişimini etkilemediği gösterilmiştir (5).

Tablo-1: Kan donörleri, riskli gruplar ve bazı hasta gruplarında HGV sıklığı (%) (28).

Kan donörleri	A.B.D.	Avrupa	Japonya
❖ ALT normal	1.4-1.7	1-4.2	0.9
❖ ALT yüksek	1.5		
Riskli gruplar			
❖ Çoklu transfüzyon	48	10.7-35.2	24
❖ IV ilaç bağımlısı	3.7	29-38	
❖ Renal diyaliz	20	6-37.6	3-4.5
❖ Renal transplantasyon		13-36	

Yapılan çalışmalarda, HGV'nin HCV'den yaklaşık beş kat daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Bu sonuç HGV'nin nonparenteral yollarla da geçebileceğini düşündürmektedir. Hayat kadınlarında yapılan bir çalışmada HGV infeksiyonunda cinsel yolun HCV'ye oranla daha fazla bulaş yolu olabileceği ortaya konulmuştur (29). HGV'nin vertikal geçişine ilişkin çalışmalar da mevcuttur. Almanya'da yapılan

bir çalışmada HGV'li annelerden doğan bebeklerin büyük bir kısmında HGV RNA pozitifliği saptanmıştır. Yine IV ilaç bağımlısı olan HCV taşıyıcısı kadınlardan doğan bebeklerde HCV görülme oranı HGV'ye göre düşük bulunmuştur. Bu sonuç HGV'nin HCV'ye oranla daha güçlü bir vertikal geçişe sahip olduğunu düşündürmektedir (30).

HGV RNA pozitiflik oranı, akut veya kronik viral hepatitlerde normal popülasyona göre yüksek olarak karşımıza çıkmaktadır (tablo 2).

Tablo-2: Karaciğer Hastalıklarında GBV-C/HGV sıklığı (%) (28).

Tanı	A.B.D.	Avrupa	Japonya
Posttransfüzyon non A-E hepatiti	12-27		
Kronik non A-C hepatiti		8.17	
Kronik hepatit C	20	17-48.3	11
Kronik hepatit B		8.6-19	
Akut non A-E hepatiti	9-23	1.9-13	
Akut hepatit C	10-20	28.6	
Akut hepatit B	32	32.1	
Akut hepatit A	25	2.9	
Hepatosellüler karsinoma		4.7-6.6	
Alkolik hepatit		10	
Otoimmün hepatit		9	
Primer bilyer siroz		1.9	

Onkolojik vakalarda (Hodgkin lenfoma, NonHodgkin lenfoma, Akut Lenfoblastik Lösemi, multiple myeloma) ve klonal stem cell hastalarında (myelodisplazi, myeloproliferatif hastalık) HGV RNA araştırılmış, onkolojik vakalarda pozitiflik oranı % 78 iken, klonal stem cell hastalarında bu oran % 28 bulunmuş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmada HGV ile karaciğer enzim düzeyleri, kan transfüzyonu, kemoterapi tedavisi veya viral infeksiyon açısından korelasyon bulunamamıştır (31).

Diabetes mellituslu hastalarda HCV ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bir çalışmada HCV ile infekte hastalarda DM oranı % 24 olarak bulunmuştur (32). İsrail'de yapılan bir çalışmada ise HCV ile infekte hastalarda DM sıklığı % 33 tespit edilmiştir (33). HCV'nin pankreasta harabiyet yapıp yapmadığı araştırılmaya devam edilmiş ve 1999 yılında yapılan bir çalışmada NIIDM (non-insülin-dependent diabetes mellitus) ile HCV arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Bu çalışmada HCV'nin B cell disfonksiyonu ve insülin rezistansına yol açabileceği düşünülmüştür (34). Böylelikle HCV ile poliprotein analizinde % 26.8 homoloji gösteren HGV ile de diabetes mellituslu hastalarda araştırmaya ihtiyaç vardır.

2.1.3. Klinik Bulgular

HGV enfeksiyonu yapılan çalışmalarda beklenildiği kadar sık görülmemektedir. Bu durum, HGV enfeksiyonunun genelde hafif seyretmesinden ve tanı için henüz basit bir serolojik testin bulunamamasından kaynaklanabilir.

Akut HGV enfeksiyonlarının klinik belirtileri, diğer hepatitlere oranla daha hafiftir. Aynı zamanda akut hepatit G olguları diğer akut hepatitler kadar sık görülmemektedir.

HGV'nin karaciğer hastalıklarındaki rolü halen netlik kazanmamıştır. HGV'nin yaptığı enfeksiyonlar hafif seyirli olmakta (ALT düzeyleri ortalama 200 U/L), ender olarak sarılık gelişmekte ve ekstrahepatik bulgular görülmemektedir (4-5).

Hastalığın inkübasyon dönemi yaklaşık 2-4 haftadır. Bunu 6-8 hafta boyunca ALT yüksekliği ve viremi dönemi takip etmektedir. HGV ile infekte hastaların yaklaşık yarısında transaminaz değerlerinde hafif bir yükselme görülmektedir.

Önceleri HGV ile fulminant hepatit arasında güçlü bir ilişki olduğu düşünüldükten, daha sonra yapılan çalışmalarda böyle bir ilişkinin olmadığı bildirilmiştir (35). Daha önceki çalışmalarda fulminant hepatitte HGV'nin yüksek oranda bulunmasının nedeni, tedavi için bu hastalara kan ve kan ürünlerinin verilmesi ve HGV'nin bulaş riskinin artması olabilir.

HGV'nin kronik hepatit, siroz veya hepatosellüler karsinom yaptığına dair bir kanıt bulunamamıştır.

HGV'nin başka bir dokuda replikasyon sonrası karaciğeri etkilediği düşüncesi önem kazanmıştır. Yapılan çalışmalarda HGV RNA'nın periferik dolaşımda bulunan lenfositlerde gösterilmesi lenfotropik bir virus olduğunu düşündürmektedir.

HCV'nin, hematopoetik sistemde bozukluğa yol açtığına gösterilmesi, HGV enfeksiyonları ile aplastik anemi bağlantısı olabileceğini düşündürmüştür. Viral hepatitlerde aplastik aneminin sebebi, karaciğerle birlikte kemik iliğinde de harabiyet oluşmasından kaynaklanabilir. HGV ile aplastik anemi arasında başlangıçta bir ilişki kurulmasına rağmen, daha sonra bu olguların aplastik kriz nedeni ile kan ve kan ürünleri aldıkları ve bu nedenle HGV'nin bulaştığı ve HGV'nin aplastik anemiye yol açmadığı düşünülmüştür.

Yapılan bir çalışmada HGV prevalansı, HCV ve HBV'deki artmış prevalansta olduğu gibi otoimmün hepatitlerde de artmıştır. Bütün vakalarda anti-E2 pozitifliği, anti-sma pozitifliği ile birlikte bulunmuştur ve HGV pozitif otoimmün hepatitlerde hastaların genotip 2a ile infekte olduğu görülmüştür (36).

Başka bir çalışmada renal transplantasyon sonrası proteinüri gelişen bir hastada böbrek biyopsisi (glomerül ve tübüller) ve periferik kan mononükleer hücrelerinde RT-PCR (reverse transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi) ile HGV genomunun varlığı saptanmış ve renal transplantasyonlu hastalarda membranoproliferatif glomerülonefrit tip 1'in (subendotelyal depozit) oluşumunda rolü olabileceği düşünülmüştür (37).

HGV, hepatite neden oluyorsa bile, kendi kendini sınırlayan bir enfeksiyon yaptığı görüşü kabul edilmektedir. HGV hepatit dışı hastalıklarda da araştırılmış ancak hastalık yaptığına dair bir kanıt bulunamamıştır.

2.1.4. Tanı

Tanı viral nükleik asitin (HGV-RNA) ya da HGV'nin zarf glikoproteini olan E2'ye karşı gelişmiş antikörlerin (anti-E2) saptanması ile konulmaktadır.

HGV RNA'nın saptanması için kullanılan en yaygın yöntem, reverse transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonudur (RT-PCR). Bu amaçla, daha çok virüs genomunun en çok korunan kısmı olan, 5' kodlanmayan bölgesinden (5'NCR) faydalanılmaktadır. Ayrıca HGV RNA'nın belirlenmesinde NS5a bölgesinden veya helikaz (NS3) bölgesinden de primerler seçilmektedir. 5'NCR ile NS5a'ya ait primerler birlikte kullanıldığı çoklu PCR yöntemi kullanılarak duyarlılık artırılmaktadır (38). PCR'a ilişkin kontaminasyon, teknik problemler ve HGV'nin heterojenitesi nedeni ile standardizasyon sorun olabilir. Hangi yöntem kullanılırsa

kullanılsın, deneyimli laboratuvarlarda bile yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir.

HGV RNA pozitifliği aktif infeksiyonu gösterdiği halde, E2'ye karşı gelişen antikorlar (anti-E2) geçirilmiş infeksiyonu ya da iyileşmeyi göstermektedir. E2'ye karşı antikor oluşmasıyla genellikle bir yıl içinde HGV viremisi kaybolmaktadır. Antikor oluşmadıysa virüsün kandan temizlenmediği düşünülmektedir. Bu sonuçlara göre, toplumda HGV ile temas oranının doğru olarak saptanması için HGV RNA ve anti-E2 antikorlarının birlikte araştırılması gerekmektedir.

2.1.5. Tedavi ve Korunma

HGV hafif seyreden ve kendini sınırlayan bir infeksiyondur. Tek başına kronik hepatit, fulminant hepatit, siroz ya da hepatosellüler karsinomaya neden olabileceği gösterilememiştir. Bu yüzden izole HGV infeksiyonlarının tedavisine gerek yoktur. Kronik hepatit C tedavisinde uygulanan interferon tedavisinin HGV replikasyonunu baskıladığı, ancak tedavinin kesilmesiyle tekrar aktive olabileceği gösterilmiştir. Ancak iyileşme HGV viremisi ile değil, HCV viremisi ile ilişkilidir (39). Bu nedenle tedaviye gerek olmadığı gibi, kan donörlerinin de taranmasına gerek yoktur. Bunun yanısıra HGV RNA replikasyonunu baskılayacak ve düzeyini düşük seviyelerde tutabilecek başka bir antiviral ajan henüz geliştirilememiştir.

HGV'nin başta transfüzyon olmak üzere HBV ve HCV gibi parenteral yoldan bulaşması, korunma için benzer önlemlerin alınmasını gerekli kılmaktadır. Ancak henüz HGV tanısı amacıyla moleküler inceleme dışında, kolay bir serolojik yöntemin bulunamaması, donör kanlarında HGV'ye rutin olarak bakılmasını güçleştirmektedir. HCV ile karşılaştırıldığında, HGV moleküler yapısının oldukça yüksek oranda korunmuş olması, HGV'ye karşı aşı geliştirme çalışmalarını da iyice zorlaştırmaktadır (7).

2.2. TTV (TT VİRÜS-TRANSFUSION TRANSMITTED VİRUS)

Günümüzde bilinen viral serolojik belirleyiciler ve duyarlı tanı yöntemlerine rağmen, halen bir kısım posttransfüzyonel hepatitin, fulminant hepatitin, kriptojenik siroz ve hepatitin nedeni bulunamamıştır. Bu da yeni viral hepatit etkenlerinin araştırılmasını zorunlu kılmıştır.

1997 yılı sonunda Japonya'da yapılan bir çalışmada posttransfüzyonel non A-G hepatit tanısı konmuş beş hastanın serumundan yeni bir DNA dizisi elde edilmiştir. Bu dizinin yeni bir virüse ait olduğu düşünülmüş ve ilk kez saptandığı hastanın isminin baş harfleri verilerek "TT" virüsü (TTV) adı verilmiştir. TTV isimlendirmesinin, "transfusion transmitted virus" ile uyumlu olduğu görülerek bu şekilde de kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu virüsün DNA az-l'e duyarlı olduğu bulunmuş ve bu nedenle bir DNA virüsü olabileceği anlaşılmıştır (40).

2.2.1. Virüsün Moleküler Yapısı

TTV tek iplikli, zarfsız bir DNA virüsüdür. Yapılan bir çalışmada virüs genomunun 3739 nükleotidden oluştuğu bildirilmiştir. Virüsün iki açık okuma bölgesi (ORF1 ve ORF2) bulunduğu ve 770 ile 202 aminoasitli iki proteini kodladıkları açıklanmıştır.

TTV'nin virüs sınıflandırmasındaki yeri tartışmalıdır. Bu virüsü ilk bulan Nishizawa-Mayumi grubu, tek iplikli lineer DNA içerdiğini, zarfsız olduğunu bu nedenle parvovirüs ailesinde yer alması gerektiğini bildirmişlerdir. Ama TTV'nin yoğunluğunun daha az olması ve yapılan TTV sekans analizlerinde, parvovirüsün ORF'lerindeki karakteristik özelliklerin gözlenmemesi, bu aileden olma olasılığını azaltmıştır. Bunun sonucunda TTV'nin Circoviridae familyasına ait olduğu görüşü önem kazanmıştır (41). Circoviridae familyası, çembersel tek iplikli DNA'lı hayvan virüslerinin yer aldığı bir ailedir.

TTV-DNA'sı, 3 adet ORF, ORF-1'de yer alan N22 klonu ve ORF-2'deki GC-rich region (GC'den zengin bölge) den oluşmuştur.

Okamoto ve ark. (42) TTV'nin 2 genotipi olduğunu öne sürerken, Mushahwar ve ark. (41) 3 tane, Tanaka ve ark. (43) ise 6 farklı ana genotipi ve bir dizi subtipi olduğunu tanımlamışlardır (1a-b, 2a-b, 3, 4, 5, 6,). Genotip 1 ve ondan sonra 2 en sık rastlanan genotiplerdir. Viazov ve arkadaşları sadece iki belirgin genotip

olduğunu; TTV1'in iki alt grubu, TTV2'nin de dört dalı olduğu, genotip olarak tanımlanan izolatların alt tip olduğunu belirtmişlerdir (44).

2.2.2. Epidemiyoloji

TTV prevalansı yapılan çalışmalarda % 1.9-74 arasında değişiklik göstermektedir.

Kan donörlerindeki oran, İngiltere'de % 1.9, Fransa'da % 2, Almanya'da % 7, Amerika'da % 10, İspanya'da % 14, İtalya'da % 18 bulunmuştur. Türkiye'de az sayıda çalışma yayınlanmış olsa da , oranlar farklı gözükmemektedir. Ankara'dan % 0.5, İstanbul'dan % 4.5 ve % 31, Bursa'dan % 9.6, İzmir'den % 51.6 oranları bildirilmiştir. Yine İtalya'da yapılan bir çalışmada TTV DNA kan donörlerinde % 18 oranında saptanırken, karaciğer hastalığı olanlarda % 25, kronik HBV olanlarda % 35, kronik HCV olanlarda % 32, kriptojenik karaciğer hastalığı olanlarda % 16 oranlarındadır. Akut ve kronik kriptojenik non A-G karaciğer hastalığı olanlarda TTV prevalansının önemli derecede arttığı görülmüştür.

Danimarka'da HIV ile infekte hastalarda TTV pozitifliği araştırılmış, kan donörlerinde oran % 7 bulunurken HIV ile infekte hastalarda oran % 76 bulunmuştur (45).

HGV'nin primer olarak parenteral geçişli olduğu bildirilirken, TTV'nin bulaşma yolları açık değildir. TTV enfeksiyonlu çoğu hastada kan transfüzyonu veya IV ilaç bağımlılığı bulunması geçişin daha çok parenteral olduğunu düşündürmektedir (46). TTV'nin geçiş yolunun belirlenebilmesi için seksüel ve parenteral geçişli enfeksiyonlar için riskli olduğu bilinen kişilerde araştırma yapılmış ve oranlar oldukça yüksek bulunmuştur. TTV'nin kontamine kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu ile geçtiğine dair güçlü kanıtlar varken, toplumda yüksek oranda görülme sıklığının sebebi açıklanamamıştır. Genel popülasyondaki yüksek prevalans, geçiş için alternatif yolların varlığını akla getirmektedir.

TTV enfeksiyonu için vertikal yol bir diğer geçiş yolu olarak gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmanın sonuçları anneden bebeğe transplasental geçişin olabileceğini düşündürmektedir (47).

Yine TTV enfeksiyonu için fekal-oral yol bir diğer geçiş yolu olabilir. Bazı infekte kişilerde feçeste düşük oranlarda saptanması fekal-oral yolla geçtiğini düşündürmektedir (48). Yapılan çalışmalarda TTV DNA, böbrekte, prostatta, beyin

dokusunda saptanmış, ayrıca tükürükte, gözyaşında, menide, gaitada da gösterilmiştir.

Normal sağlıklı bireylerde yüksek oranda TTV prevalansı, bu etkenin fekal-oral, damlacık ve seksüel geçişine bağlı olabilir. Gelişmekte olan ülkelerde TTV'nin yüksek oranda görülmesinin sebebi, kötü sağlık koşulları sonucu fekal-oral geçiş olabilir.

TTV infeksiyonuna ait bilgiler TTV DNA pozitiflik oranlarıdır. Akut ve kronik infeksiyonlarda virüsün kendiliğinden kandan temizlendiği bilindiğine göre, TTV ile karşılaşma oranını verebilmek için antikör teslerine ihtiyaç vardır. Ancak henüz bu testler geliştirilmemiştir. TTV infeksiyonunda immün yanıt hakkında bilgi yoktur. Sonuç olarak önceleri nedeni bilinmeyen hepatit olgularının bazılarında sorumlu olduğu ve parenteral yolla bulaştığı düşünülen TTV'nin belli bir hastalıkla ilişkisi kanıtlanamamıştır. Ayrıca bu virüsün parenteral dışı yollarla da bulaşabileceği görüşü desteklenmiştir.

2.2.3. Klinik Bulgular

TTV'nin inkubasyon dönemi 6 hafta olarak bildirilmiştir.

TTV'nin primer hepatit virüsü olup olmadığı henüz açık değildir. TTV'nin akut ve persistan infeksiyonlarla ilişkisini gösteren çalışmalar olmakla birlikte klinik önemi açıklanamamıştır. TTV DNA, fulminant hepatitli ve etyolojisi bilinmeyen kronik karaciğer hastalığı olan hastaların serumlarında belirlenmiştir. Ancak hepatitten sorumlu olduğuna dair kanıtlar azdır. TTV DNA titreleri, safrada serumdakinden 10-100 kat daha fazla oranda tespit edilmiştir. Bu sonuçlar virüsün hepatotropik olabileceğini düşündürür.

Transfüzyondan sonra ortaya çıkan TTV viremelerinde orta derecede ALT artışı (<200 U/L) görülmüştür (49).

HBV ve HCV ile TTV'nin birlikte olduğu olgularda TTV'nin bu infeksiyonların seyri için kötüleşmesine katkıda bulunmadığı bildirilmiştir. TTV pozitif olguların çoğunda önemli karaciğer hasarını gösteren histolojik ve biyokimyasal sonuçlar görülmemiştir (46). Yapılan bir çalışmada HBV veya HCV infeksiyonlu hastalarda TTV pozitif ve TTV negatif bireyler ayrılarak infekte hepatositler ve ALT seviyeleri açısından karşılaştırma yapılmıştır. HBV veya HCV birlikteliği olan TTV pozitiflerde patolojik açıdan farklılıklar bulunmamıştır. Bu sonuçlar TTV infeksiyonunun

karaciğer hasarını arttırmadığını ve karaciğer hastalığında minör rolü olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın sonucunda da, TTV'nin karaciğer hücrelerini infekte ettiği, ancak karaciğerde replike olmadığı görüşü önem kazanmıştır (50).

Çeşitli ülkelerden sağlıklı kan donörlerinde yüksek oranda TTV DNA pozitifliği bildirilmektedir. Bu veriler asemptomatik TTV taşıyıcılığı olabileceğini göstermektedir. Genotiplerin karaciğer hastalığı ile ilişkisi de araştırılmaktadır, ancak henüz anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

2.2.4. Tanı

Şu anda TTV viremisini göstermede kullanılan test PCR'dır. Ancak PCR testlerinde henüz tam olarak standardizasyon ve optimizasyon sağlanamamıştır. Rutin tanıda kullanılan basit bir serolojik test, hasta serumunda veya karaciğer dokusunda virüse özgül antijen antikor sistemini taramaya yönelik testler henüz bulunamamıştır. Kullanılan PCR testleri Okamoto ve arkadaşlarının (51) geliştirdiği primer seti olan P₂'yi ya da bunun modifikasyonu olan primer setlerinin kullanıldığı seminested veya nested PCR testleridir. İlk kullanılan primer seti olan P₁, Nishizawa ve arkadaşları tarafından (40) geliştirilen ORF1'deki N22 klonunu hedef alan primerlerden oluşmuştur. Daha sonra Okamoto ve Tanaka 1998'de ORF1'in belli bir bölgesini hedef alan P₂ primer setini kullanmışlardır (42, 52). TTV DNA'yı saptamak için kullanılan primer setleri tablo-3'de yer almaktadır.

TTV DNA'sının, P₂ primer seti ile negatif olduğu bazı örnekler, P₁, P₃ ve P₅ primer setleri ile çalışılmış ve sonuçların pozitif olduğu görülmüştür. Bunun sebebi, TTV genomundaki heterojenitedir. TTV DNA'sında ORF-2'nin 5' non-coding bölgesi (5'NCR) ORF-1'e göre çok daha iyi korunan bölgedir. Bu yüzden bu bölgeyi hedef alan P₅ primer setleri geliştirilmiş ve yapılan çalışmalarda bu setin özgüllük ve duyarlılığının çok daha iyi olduğu görülmüştür. P₂ seti ile yapılan çalışmalarla, P₅ seti ile yapılan çalışmalar karşılaştırılmış ve TTV prevalansı P₅ seti ile yapılan çalışmalarda daha yüksek bulunmuştur. Yine karşılaştırmalı bir araştırmada P₂+P₅ primer seti birlikte kullanıldığında özgüllük ve duyarlılığın iyice arttığı saptanmıştır. Bu da TTV-PCR'ında standardizasyon sağlanıncaya kadar, iki farklı primer setinin birlikte kullanılması zorunluluğunu gündeme getirmektedir.

Tablo-3: TTV-DNA PCR'ında kullanılan primer setleri ile ilgili bilgiler.

Primer seti	Referans	Primer adı	Uzunluk (nt)	Nükleotid pozisyonu	PCR ürün büyüklüğü	Yöntem
P ₁	Nishizawa ve ark.(40)	RDO37	20	2008-2027	270(1.Bas)	Nested PCR
		RD038	20	2277-2258	197(2.Bas)	
		RD051	20	2061-2080		
		RD052	20	2207-2238		
P ₂	Okamoto ve ark.(42) Tanaka ve ark.(52)	NG059	24	1900-1923	285(1.Bas)	Semi Nested PCR
		NG063	25	2185-2161	271(2.Bas)	
		NG061	24	1915-1938		
P _{2a}	Viazow ve ark.(53)	P59	24	1900-1923	281(1.Bas)	Semi Nested PCR
		P83	21	2181-2161	267(2.Bas)	
		P61	20	1915-1938		
P _{2b}	Takayama ve ark.(54)	m-NG059	24	1900-1923	285(1.Bas)	PCR
		m-NG063	25	2185-2161	271(2.Bas)	
		m-NG061	24	1915-1938		
P ₃	Simmonds ve ark.(55)	A5430	23	1901-1923	328(1.Bas)	Nested PCR
		A5427	22	2228-2207	278(2.Bas)	
		A8761	24	1915-1938		
		A5432	21	2192-2172		
P ₄	Holme ve ark.(56)	TT6	20	1900-1919	329(1.Bas)	Nested PCR
		TT7	18	2228-2211	267(2.Bas)	
		TT8	22	1915-1938		
		TT9	20	2185-2166		
P ₅	Takahashi ve ark.(57)	T801	20	6-25	199	PCR
		T935	20	204-185		

Türkiye'den aynı primer sistemlerin kullanıldığı iki çalışmada kan donörlerinde İzmir'den % 51.6, İstanbul'dan % 4.5 oranları bildirilmiştir. Bu iki çalışmada her PCR tepkimesine giren nükleik asit miktarı ve DNA ekstraksiyon yöntemleri farklıdır.

2001 yılı ocak ayında yapılan bir çalışmada akut TTV enfeksiyonunu saptamada serolojik olarak anti-TTV IgM antikorları bulunmasına ve marker olarak kullanılabileceği öne sürülmesine rağmen (58), henüz geçerliliği tam olarak doğrulanmamıştır. TTV DNA'sı pozitif bireylerin dışkılarında elde edilen TTV kullanılarak, TTV antikorlarını kanda saptayan yeni bir metod geliştirilmiştir (59). Ancak bunun kullanıma girmesi için çok sayıda araştırmaya ihtiyaç vardır. Virüsün yapı ve özelliklerinin tam olarak ortaya konması, viral rekombinant proteinlerinin elde edilmesini ve bu sayede TTV antikorlarını saptayabilen serolojik testlerin rutin tanıda kullanıma girmesine imkan tanıyacaktır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 2000 yılı Mayıs-Kasım aylarında Onkoloji, Endokrinoloji, Gastroenteroloji kliniğine başvuran hastalar ve sağlıklı donörler alındı. Onkolojik hasta grubu 61 hastadan oluşuyordu (35 erkek hasta, 26 bayan hasta, ortalama yaş= 50.65 ± 17.33). Bu hastaların tanılarına göre dağılımı tablo-4'te gösterilmiştir.

Tablo-4: Onkolojik hasta grubundaki hastaların tanılarına göre dağılımı.

Primer tümör	Sayı
Akciğer CA	19
Gastrointestinal (Mide, kolon, pankreas....)	14
NonHodgkin lenfoma	7
Meme CA	6
Hematolojik	6
Hodgkin lenfoma	3
Diğerleri	6

Diabetik hasta grubu da 61 hastadan oluşuyordu. Bunlardan 60 hasta Tip II diabetes Mellitus, 1 hasta Tip I diabetes mellitus tanısı almıştı (28 erkek hasta, 33 bayan hasta, ortalama yaş= 55.96 ± 13.06). Kronik karaciğer hastaları, 60 hastadan oluşuyordu ve bunlar kronik inaktif hepatit, kronik aktif hepatit ve siroz tanısı almıştı (19 erkek hasta, 41 bayan hasta, ortalama yaş= 50.68 ± 11.91). Kontrol grubu 60 gönüllü kan vericisinden oluşuyordu (35 erkek, 25 bayan, ortalama yaş= 35.88 ± 9.62). Çalışmaya alınan hastalardan hastanede yattıkları dönemde veya poliklinik başvuruları sırasında kan örnekleri alındı. Çalışmaya 1

Mayıs 2000'de başlandı ve veri toplaması 1 Kasım 2000'de tamamlandı. Her hastadan bir defa olmak üzere antekübital ven yoluyla 5 cc. venöz kan alındı. Alınan kanlar hava ile temas etmeyecek şekilde vakumlu tüplere kondu. Bu kan örnekleri, Biyokimya laboratuvarında Hermle Z-323 marka santrifüj aletinde 3000 devir/dakika hızda 10 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra serumlar ayrıldı. Ayrılan serumlar maksimum kapasitesi 2 cc. olan ependorf tüplere kondu. Daha sonra bu serumlar bekletilmeden kan bankasında bulunan derin dondurucuya kondu ve -80°C ' de saklandı. 2000 yılı Aralık ayında bu serumlar, erimelerine izin verilmeden buz akülerinin bulunduğu kutularda 2 saat içerisinde Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisi Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı.

3.2. Çalışmanın Açıklanması

Onkolojik hasta grubuna, daha önceden görüntüleme yöntemleri ile ve histopatolojik olarak malign hastalık tanısı alan hastalar dahil edildi.

Diabetik hasta grubunda 1 hasta hariç, bütün hastalar Tip II diabetes mellitus tanısı almıştı. Bu hastalar, açlık kan şekeri 126 mg/dl ve üzeri olan veya OGTT (oral glukoz tolerans testi) 2. saatteki kan şekeri sonucu 200 mg/dl ve üzeri olan ve bu kriterlere göre daha önceden diabetes mellitus tanısı almış hastalardı.

Üçüncü hasta grubu ise kronik hepatit B veya kronik hepatit C tanısı almış hastalardan ve siroz (HBV'ye bağlı, HCV'ye bağlı veya kriptojenik) hastalarından oluşuyordu. Kronik karaciğer hastaları klinik, karaciğer fonksiyon testleri, seroloji ve histopatolojik bulgulara göre; kronik inaktif hepatit, kronik aktif hepatit ve siroz alt gruplarında değerlendirildi. Kriptojenik siroz, viral, otoimmün ve metabolik nedenlerin yokluğunda tanımlandı.

3.3. Laboratuvar testleri

Bütün hastalarda tam kan sayımı yapıldı. Olympus AU 800 marka biyokimya analiz cihazı kullanılarak karaciğer fonksiyon testleri, ELISA yöntemi ile HbsAg, Anti-HBs, Anti-HCV ve PCR yöntemi kullanılarak HBV DNA ve HCV RNA çalışıldı.

3.4. Serumda HGV RNA'nın Saptanması

RNA ekstraksiyonu: Total RNA, TRI ayırıcı ile (Sigma, St. Louis, Mo.) 250 μl 'lik serumdan ekstrakte edildi. Daha sonra kloroform ile organik ekstraksiyon yapıldı, isopropranolol-etanol ile çökeltme yapıldı ve üzerine Rnaz inhibitörü [(Rnasin; Promega, Madison, Wis.) (1 U/ μl) ve dithiothreitol (Sigma, St. Louis, Mo.) (2 mM)]

eklendi. Ekstrakte nükleik asitler, 40 µl DNaz içeren ve RNaz içermeyen deiyonize distile su içerisinde çözüldü ve örnekler RT-PCR yöntemi ile test edilinceye kadar -70°C'de muhafaza edildi.

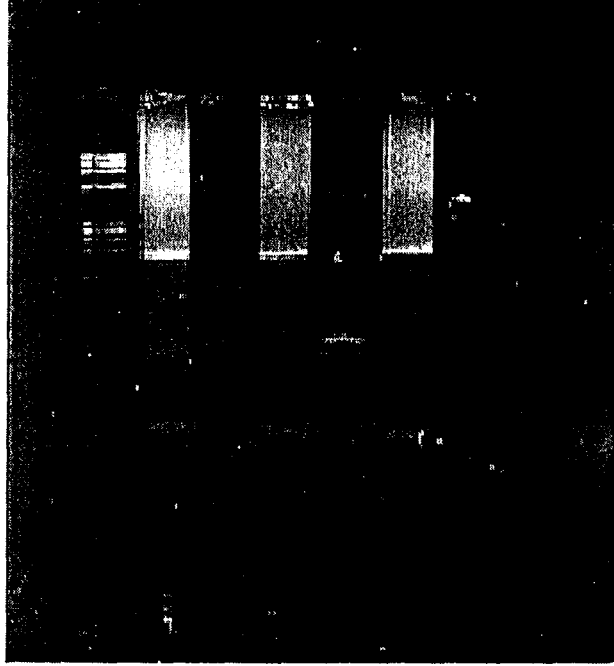
HGV RT-PCR: HGV genomundaki spesifik nükleotid dizilimini saptamak için, 5' NCR (5' kodlanmayan bölge)'dan seçilen primerlerin kullanıldığı RT-PCR (reverse transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu) kullanıldı. Her örnekten 10 µl RNA, tek bir RT-PCR tüpünün içinde kullanıldı. Her çalışmada negatif ve pozitif kontrol grupları alındı. Reaksiyon karışımı, her µl'ye 40 mM KCL, 16 mM Tris-HCL (pH:8.83), 1.2 mM MgCl₂, % 0.2 NP-40, 0.5 mM dithiothreitol, 100 mM deoxynucleoside triphosphate (Epicentre Co., Madison, WI, USA), 1X birinci zincir tampon (Epicentre Co., Madison, WI, USA), 2.0 U Moloney murine lösemi virüs RT(Epicentre Co., Madison, WI, USA)'den (her bir primer için 0.6 pmol) ve 50 µl'lik final volümünde 2 U Taq DNA polimeraz (Epicentre Co., Madison, WI, USA)'dan oluşuyordu. Reverse transkripsiyonun ilk adımı 37°C'de 60 dakika örnekler ısıtılarak tamamlandı. Bunu takiben RT ile enzim inaktivasyonu yapıldı ve 10 dakika 94°C'de Taq DNA polimeraz aktivasyonu yapıldı. Siklüs uygulaması 94°C'de 60 saniye, 50°C'de 60 saniye 72°C'de 120 saniye ve finalde 72°C'de 5 dakika boyunca 40 siklus şeklindeydi. PCR'daki ürünler (186 nükleotid içeren) ultraviyole ışığı altında ethidium bromide boyalı % 2 agaroz gel (Sigma, St. Louis, Mo.) üzerinde, gel elektroforezi (150 V-25 dakika) kullanılarak saptandı. 186 baz çiftinin beklenen uzunluğunu tanımlamak için, standart büyüklük ölçümleri kullanıldı.

Tablo-5: 5'NCR'dan elde edilen primerlerin (PCR ürün büyüklüğü 186 nükleotid) kullanıldığı HGV RT-PCR.

Oligonükleotid	Dizilim	Bölge
Primer 1	5'-cgg cca aaa ggt ggt gga tg-3'	101-120
Primer 2	5'-cga gga gcc tga cgt ggg g-3'	285-267

HGV ile ilgili resim aşağıda gösterilmiştir.

1 2 3 4 5 6



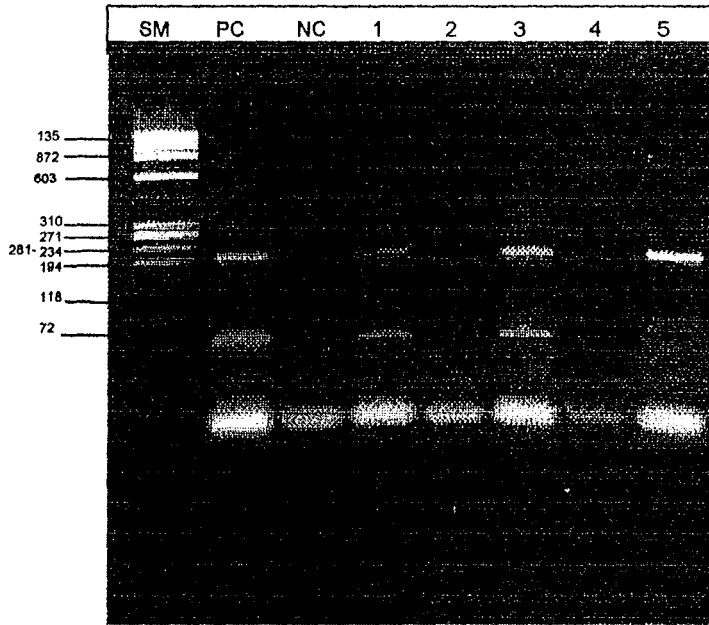
Resim 1. HGV'nin agaroz gel elektroforez görüntüsü... 1. Büyüklük belirleyicisi, 2. Pozitif kontrol, 3. Negatif kontrol, 4-6. Hasta örnekleri.

3.5. Serumda TTV DNA'nın Saptanması

Nükleik Asit Ekstraksiyonu: TTV DNA ekstraksiyonu için hasta serumları (100 μ l) önceden proteinaz K ve tampon [her ml başına 0.01 M Tris, pH:7.8, 0.005 M EDTA, % 0.5 sodyum dodesil sülfat ve 20 mg proteinaz K (boehringer Mannheim)'nın 10 μ l'si] ile 40°C'de 60 dakika muamele edildi. Daha sonra nükleik asitler, aynı miktarda alkali-fenol ile bir kez, aynı miktarda fenol-kloroform-izoamil alkol (25:24:1) ile bir kez ve kloroform-izoamil alkol (24:1) ile bir kez ekstrakte edildi. Elde edilen nükleik asitler, 40 μ l DNaz içeren ve RNaz içermeyen deiyonize distile suda çözüldü.

DNA amplifikasyonu ve saptanması: PCR, 50 μ l'lik volümlerde yapıldı. Bu 50 μ l'nin 40 μ l'si reaksiyon karışımı [10 mM Tris-HCl (pH:8.3), 2.0 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM deoxynucleoside triphosphate, 30 pmol primer (duyarlı ve duyarsız), 2 U Taq DNA polimeraz] ve 10 μ l'si DNA ekstresi içeriyordu. Amplifikasyon reaksiyonu Termal devir (MJ Research) ile yapıldı. Sıcaklık önce örneklerin

denatürasyonu için 95°C'de 10 dakikaya ayarlandı. Daha sonra siklus uygulamasına geçildi. Siklus uygulaması 60°C'de 20 saniye, 72°C'de 30 saniye ve finalde 72°C'de 5 dakika boyunca 45 siklus şeklindeydi. Nükleotid dizilimi için, Takahashi ve arkadaşlarının tanımladığı (57), TA278 izolatının 5' sonlanma bölgesinden elde edilen T801 (5' gct acg tca cta acc acg tg 3', duyarlı primer, nükleotidler 6-25) ve T935 (5' ctb cgg tgt gta aac tca cc 3', duyarsız primer, nükleotidler 204-185; b=g, c or t) primerlerinin kullanıldığı TTV spesifik primerleri kullanıldı. Bu P₅ primer seti olarak isimlendiriliyordu. Pozitif ve negatif kontrol grupları alındı. Her ekstraksiyon adımında PCR yöntemi uygulanırken, pozitif ve negatif kontrol grupları alındı. Yalancı pozitiflikten kaçınmak için sıkı deneysel işlemler uygulandı. Her bir 15 µl'lik PCR ürünleri, ethidium bromide boyası ve ultraviyole ışığı ile analiz edildi. Daha sonra % 2 agaroz jel üzerinde elektroforetik separasyon (45 dakika 120V) uygulandı. 199 baz çiftinin beklenen uzunluğunu tanımlamak için standart büyüklük ölçümleri kullanıldı. TTV ile ilgili resim aşağıda gösterilmiştir.



Resim 2. TTV'nin agaroz gel elektroforez görüntüsü... 1-5: Hasta örnekleri, NC: Negatif kontrol, PC: Pozitif kontrol, SM: Büyüklük belirleyicisi.

3.6. İstatistik Değerlendirme

Verilerin kaydı ve istatistiksel işlemler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) ve Microsoft Excel 7.0 programında gerçekleştirildi. HGV ve TTV'nin görülme sıklığının cins, yaş ve hastalık gruplarına göre dağılımı ve anlamlılığı ki-kare testi kullanılarak (yates düzeltmeli) hesaplandı. Test sonuçları p değeri 0.05'ten daha küçük ise anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 117 erkek ve 125 kadın olmak üzere toplam 242 kişi alındı. Bu hastaların gruplara ve cinslere göre dağılımı aşağıda tablo-6'de gösterilmiştir.

Tablo-6: Hastaların gruplara ve cinslere göre dağılımı.

Grup	Sayı (n)	Cinsiyet	
		(Erkek)	(Kadın)
Onkoloji	61	35	26
Diabetes mellitus	61	28	33
Kronik karaciğer hastalığı	60	19	41
Kontrol	60	35	25
Toplam	242	117	125

4.1. Onkolojik Hasta Grubunda TTV ve HGV İnfeksiyonu

Bu grup 61 hastadan oluşuyordu (35 erkek hasta, 26 bayan hasta, ortalama yaş= 50.65 ± 17.33). Bu 61 hastanın 18'inde TTV DNA pozitif bulundu. Bu oran, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu (% 29.5 vs. % 11, p=0.04) (Tablo-8, grafik-1). Otuzbeş erkek hastanın 12'sinde (% 34) TTV DNA saptanırken, 26 bayan hastanın 6'sında (% 23) TTV DNA saptandı. Erkek ve kadınlar arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.5) (Tablo-9, grafik-2). TTV DNA pozitif 18 hastadan, 8 hasta Akciğer Ca, 4 hasta Meme Ca, 3 hasta Gastrointestinal sistem malignitesi, 2 hasta Non-Hodgkin lenfoma ve 1 hasta da Hodgkin lenfoma tanısı almıştı. TTV pozitifliği saptanan bu 18 hastanın 12'si erkek, 6'sı bayan hastaydı.

Altmışbir onkolojik hasta grubunun tamamında HGV RNA negatif bulundu. Kontrol grubunda ise sadece 1 hastada HGV pozitif bulundu ve bu nedenle karşılaştırma yapılmadı.

4.2. Diabetes Mellituslu Hastalarda TTV ve HGV İnfeksiyonu

Bu grup da 61 hastadan oluşuyordu (28 erkek hasta, 33 bayan hasta, ortalama yaş= 55.96 ± 13.06). Bunlardan 60 hasta Tip 2 diabetes mellitus, 1 hasta Tip 1 diabetes mellitus tanısı almıştı. Bu 61 hastanın 16'sında TTV DNA pozitif bulundu. Bu oran kontrol grubuna göre belirgin yüksek olmakla beraber istatistiki olarak fark anlamlı bulunmadı (% 26 vs. % 11, p=0.053) (Tablo-8, grafik-1). Yirmisekiz erkek hastanın 7'sinde (% 25) TTV DNA saptanırken, 33 bayan hastanın 9'unda (% 27) TTV DNA saptandı. Erkek ve kadınlar arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.9) (Tablo-9, grafik-2). TTV DNA pozitif saptanan 16 hastanın hepsi Tip 2 diabetes mellitus tanısı almıştı. Bu 16 hastanın 7'si erkek, 9'u bayan hastaydı.

Altmışbir diabetes mellituslu hastanın da tamamında HGV RNA negatif bulundu.

4.3. Karaciğer Hastalarında TTV ve HGV İnfeksiyonu

Bu grup 60 hastadan oluşuyordu (19 erkek hasta, 41 bayan hasta, ortalama yaş= 50.68 ± 11.91). Bunların 38'sinde kronik hepatit, 23'ünde ise siroz mevcuttu. Bu hastaların etyolojik dağılımı tablo-7'de gösterilmiştir.

Tablo-7: Tanı ve etyolojiye göre kronik karaciğer hastalarının dağılımı.

Tanı ve etyoloji	Sayı
Kronik inaktif hepatit B	2
Kronik aktif hepatit B	5
Siroz (HBV'ye bağlı)	4
Kronik inaktif hepatit C	6
Kronik aktif hepatit C	25
Siroz (HCV'ye bağlı)	13
Alkolik karaciğer hastalığı (siroz)	1
Kriptojenik siroz	4

Bu 60 hastanın 47'sinde TTV DNA pozitif bulundu. Bu oran kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak belirgin oranda anlamlı bulundu (% 78 vs. % 11, p=0.0001) (Tablo-8, grafik-1). Ondokuz erkek hastanın 13'ünde (% 68) TTV DNA saptanırken, 41 bayan hastanın 34'ünde (% 82) TTV DNA saptandı. Erkek ve kadınlar arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.35) (Tablo-9, grafik-2). TTV DNA pozitifliği gruplara göre incelendiğinde; 2 kronik inaktif hepatit B hastasının 1'inde (% 50), 5 kronik aktif hepatit B hastasının 5'inde (% 100), 4

HBV'ye bağlı karaciğer sirozunun 4'ünde (% 100), 6 kronik inaktif hepatit C hastasının 5'inde (% 83), 25 kronik aktif hepatit C hastasının 16'sında (% 64), 13 HCV'ye bağlı karaciğer sirozunun 11'inde (% 84), 4 kriptojenik siroz hastasının 4'ünde (% 100), 1 alkolik karaciğer hastasında (% 100) TTV DNA saptandı.

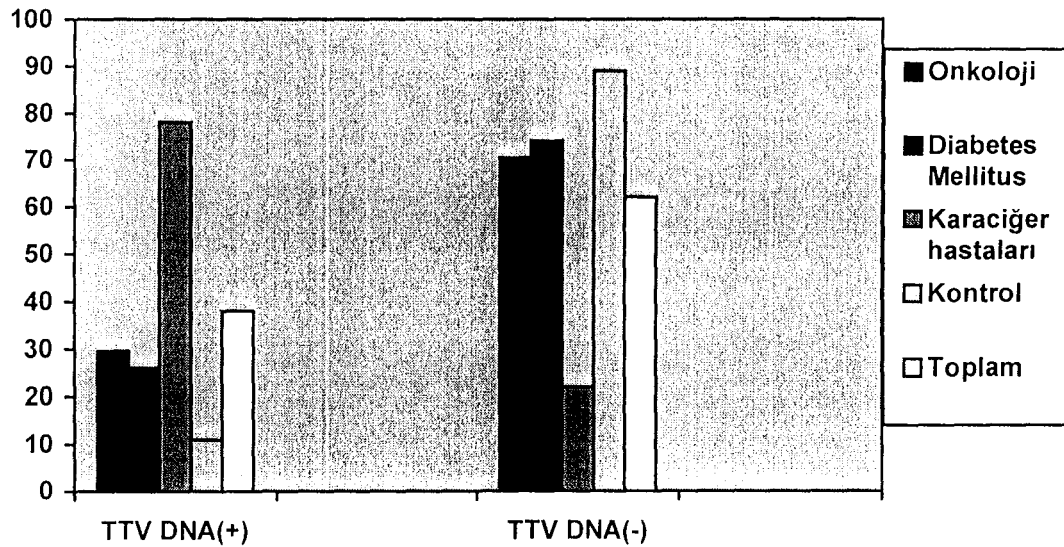
Hepatit B ile ilişkili hastalığı olan 11 hastanın 10'unda (% 91), hepatit C ile ilişkili hastalığı olan 44 hastanın 32'sinde (% 73) TTV DNA pozitif bulundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.38$) (Tablo-10, grafik-3).

Altmış karaciğer hastasının tamamında HGV RNA negatif bulundu.

Tablo-8: Hasta gruplarında TTV görülme sıklığı.

	TTV DNA (+)	TTV DNA(-)	TOPLAM
ONKOLOJİK HASTA GRUBU	% 29.5 * (18/61)	% 70.5 (43/61)	61
DİABETES MELLİTUSLU HASTALAR	% 26 ** (16/61)	% 74 (45/61)	61
KARACİĞER HASTALARI	% 78 *** (47/60)	% 22 (13/60)	60
KONTROL GRUBU	% 11 (5/45)	% 89 (40/45)	45
TOPLAM	% 38 (86/227)	% 62 (141/227)	227

* p=0.04 ** p=0.053 *** p=0.0001

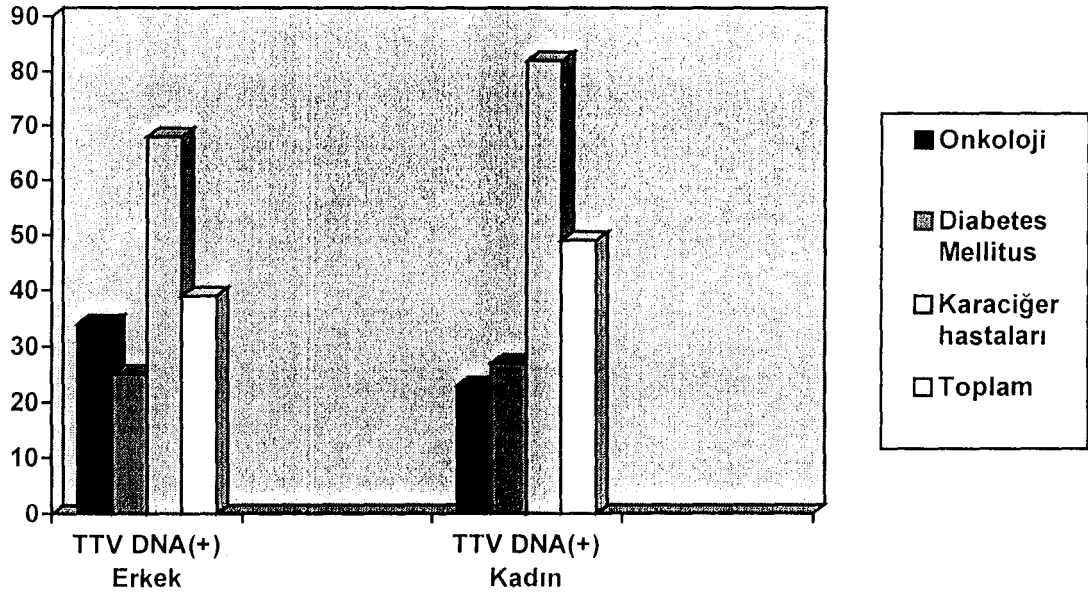
**Grafik-1: Hasta gruplarında TTV görülme sıklığı.**

Tablo-9: Hasta gruplarında cinsler arası TTV pozitiflik karşılaştırılması.

	TTV DNA(+) ERKEK	TTV DNA (+) KADIN	TOPLAM
ONKOLOJİK HASTA GRUBU	% 34* (12/35)	% 23* (6/26)	% 29.5 (18/61)
DİABETES MELLİTUSLU HASTALAR	% 25** (7/28)	% 27** (9/33)	% 26 (16/61)
KARACİĞER HASTALARI	% 68*** (13/19)	% 82*** (34/41)	% 78 (47/60)
TOPLAM	% 39 (32/82)	% 49 (49/100)	% 44 (81/182)

* p=0.5 ** p=0.9 *** p=0.35

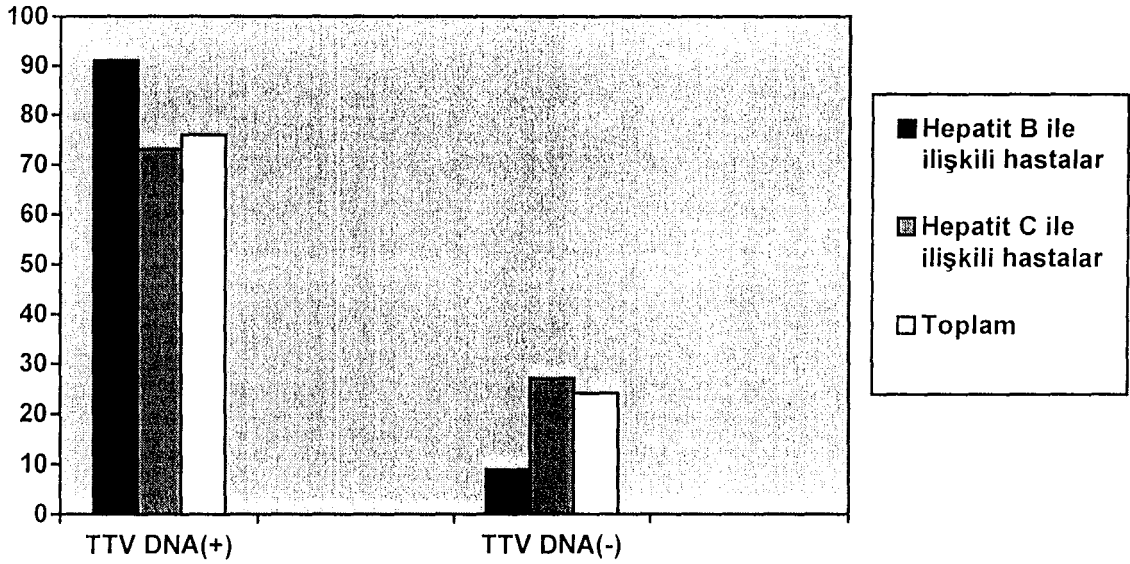
TTV DNA'nın cinsler arası pozitiflik oranları karşılaştırıldığında, her 3 grupta da (onkoloji, diabet hastaları, karaciğer hastaları) erkekler ve kadınlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo-9, grafik-2).

**Grafik-2: Hasta gruplarında cinsler arası pozitiflik karşılaştırılması.**

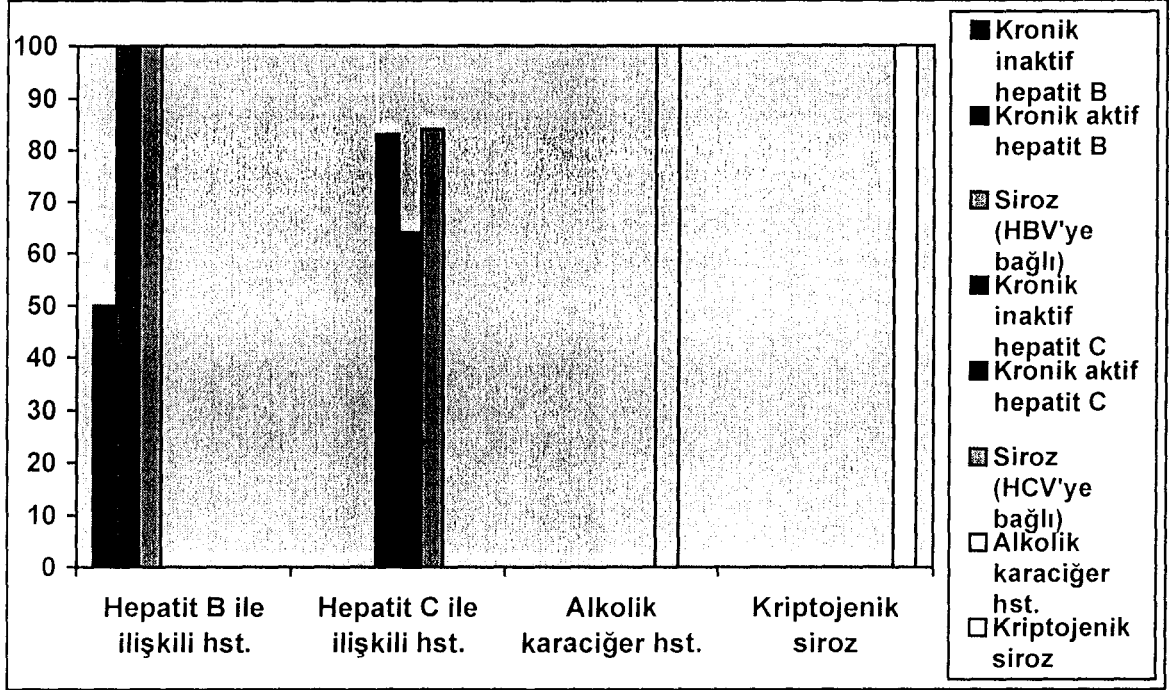
Tablo-10: Hepatit B ve C ile ilişkili hastalarda TTV sıklığı.

	TTV DNA (+)	TTV DNA (-)	TOPLAM
HEPATİT B İLE İLİŞKİLİ HASTALAR	% 91* (10/11)	% 9 (1/11)	11
HEPATİT C İLE İLİŞKİLİ HASTALAR	% 73* (32/44)	% 27 (12/44)	44
TOPLAM	% 76 (42/55)	% 24 (13/55)	55

* p= 0.38

**Grafik-3: Hepatit B ve C ile ilişkili hastalarda TTV sıklığı.**

Karaciğer hastalarında, TTV DNA pozitifliği gruplara göre incelendiğinde; sonuçlar grafik-4'te gösterilmiştir.



Grafik-4: Karaciğer hastalarında farklı etyolojik gruplara ve karaciğer histolojisine göre TTV sıklığı.

Hepatit B ve C ile ilişkili hastalarda TTV DNA sıklığı araştırılırken, bu hastalarda yaş, cinsiyet, kan transfüzyonu, intravenöz ilaç bağımlılığı, alkol kullanımı, biyokimyasal karaciğer fonksiyon testleri (bilirubin, alkalen fosfataz, AST, ALT, albümin, protrombin zamanı) ve hastalık kategorileri (kronik inaktif hepatit, kronik aktif hepatit, siroz) incelemeye alındı. Hepatit B ile ilişkili hastalardaki klinik veriler tablo-11'de, hepatit C ile ilişkili hastalardaki klinik veriler tablo-12'de gösterilmiştir.

Tablo-11: Hepatit B ile ilişkili TTV(+) ve TTV(-) hastaların klinik verileri.

Özellikler	TTV DNA Pozitif (n=10)	TTV DNA Negatif (n=1)
Yaş(yıl)	40.6 ±12.15	30
Cinsiyet (erkek/kadın)	6/4	0/1
Kan transfüzyonu	1 (% 10)	0 (% 0)
IV ilaç bağımlılığı	0 (% 0)	0 (% 0)
Alkol kullanımı	0 (% 0)	0 (% 0)
Bilirubin (mg/dl)	2.75 ± 4.73	0.6
Alkalin fosfataz (IU/L)	225.2 ± 157.74	156
AST (IU/L)	47.2 ± 20.99	28
ALT (IU/L)	46.6 ± 26.97	23
GGT (IU/L)	39.9 ± 28.51	43
Albümin (g/dl)	3.55 ± 0.94	4.2
Protrombin zamanı (sn.)	15.08 ± 3.68	11.5
Hemoglobin (g/dl)	7.85 ± 1.05	8.1
Lökosit ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	12.25 ± 2.42	13
Trombosit ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	142.4 ± 73.52	267
Kronik inaktif B hepatiti	1 (% 10)	1 (% 100)
Kronik aktif B hepatiti	5 (% 50)	0 (% 0)
Siroz (HBV)	4 (% 40)	0 (% 0)

Çalışmada hepatit B ile ilişkili hastaların (kronik hepatit veya siroz) sayısı daha azdı ve bu grup 11 hastadan oluşuyordu (tablo 11). Bu hastaların 10'unda TTV DNA pozitif bulunurken, sadece 1 hastada TTV DNA negatif bulundu. Bu nedenle iki grup arasında karşılaştırma yapılmadı.

Hepatit C ile ilişkili grupta 44 hasta vardı ve 32 hastada TTV DNA pozitif bulunurken, 12 hastada TTV DNA negatif bulundu (tablo 12). İki grup arasındaki sayı çok farklı olduğu için istatistiki karşılaştırma yapılmadı. Ancak sonuçlara bakıldığında TTV pozitif grup ile TTV negatif grup arasında yaş farkı yoktu. Hastaların çoğu 50 yaş civarındaydı. Cinsiyet karşılaştırıldığında TTV DNA pozitif grubun çoğunluğu kadınlardan oluşuyordu. TTV DNA negatif grupta ise erkek ve

kadın oranı birbirine yakındı. TTV pozitif grupta daha önceden kan transfüzyonu öyküsü % 15 bulunurken, TTV negatif grupta bu oran % 25 bulundu. Hepatit C ile ilişkili hastaların, IV ilaç bağımlılığı ve alkol kullanımı sorgulandığında her iki grupta da (TTV pozitif ve TTV negatif) bu alışkanlıkların olmadığı görüldü. Karaciğer fonksiyonları incelendiğinde, bilirubin, Alkalen fosfataz, Albümin ve protrombin zamanı değerleri iki grup arasında farklı değildi. Ancak ilginç olarak, TTV negatif grupta AST, ALT ve GGT değerleri daha yüksek bulundu. Yine HCV'li hastalarda tam kan sayımı sonuçları değerlendirildi ve TTV pozitif grup ile negatif grup arasında, hemoglobin, lökosit ve trombosit değerleri açısından fark bulunamadı. Her iki grupta da orta dercede anemi ve hafif lökositöz saptandı. Trombosit değerleri ise normal sınırlardaydı.

Tablo-12: Hepatit C ile ilişkili TTV(+ veTTV(-) hastaların klinik verileri.

Özellikler	TTV DNA Pozitif (n=32)	TTV DNA Negatif (n=12)
Yaş(yıl)	53.15 ± 9.6	54 ± 12.43
Cinsiyet (erkek/kadın)	6/26	5/7
Kan transfüzyonu	5 (% 15)	3 (% 25)
IV ilaç bağımlılığı	0 (% 0)	0 (% 0)
Alkol kullanımı	0 (% 0)	0 (% 0)
Bilirubin (mg/dl)	0.92 ± 0.65	0.88 ± 0.55
Alkalem fosfataz (IU/L)	181.9 ± 83.99	187.58 ± 84.26
AST (IU/L)	62.43 ± 41.65	78.33 ± 57.9
ALT (IU/L)	65.31 ± 44.32	77.41 ± 60.43
GGT (IU/L)	41.68 ± 16.24	39 ± 23.93
Albümin (g/dl)	3.58 ± 0.62	3.86 ± 0.52
Protrombin zamanı (sn.)	13.79 ± 1.82	13.28 ± 1.52
Hemoglobin (g/dl)	10.22 ± 2.57	9.15 ± 2.24
Lökosit ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	11.42 ± 1.94	12.58 ± 2.0
Trombosit ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	198.93 ± 69.26	200.16 ± 72.82
Kronik inaktif C hepatiti	5 (% 16)	1 (% 8)
Kronik aktif C hepatiti	16 (% 50)	9 (% 75)
Siroz (HCV)	11 (% 34)	2 (% 17)

4.4. Kan Donörlerinde HGV ve TTV İnfeksiyonu

Bu grup, Gaziantep Tıp Fakültesi kan bankasına başvuran 60 gönüllü kan donöründen oluşuyordu. (35 erkek, 25 bayan, ortalama yaş= 35.88 ± 9.62). Bu 60 kişinin 1'inde (% 1.6) HGV RNA pozitif bulundu. TTV DNA ise 45 kan donöründe çalışıldı ve 5 kişide (% 11) pozitif bulundu.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda Non-A Non-B hepatitlerden sorumlu olduğu düşünölen iki virüs üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu virüsler TTV ve HGV'dir. Ancak şu ana kadar yapılan çalışmalarda bu iki virüsün karaciğerde önemli bir hasara yol açtığı veya kronik karaciğer hastalarında (hepatit B veya hepatit C'ye bağı) karaciğer hastalığının seyrini değıştirdiğı yönünde kesin bir bulgu elde edilememiştir.

Transfüzyonla geçen flavi benzeri RNA virüsü olan HGV, fulminant ve kronik hepatitlerde birlikte görülmesine rağmen, klasik hepatit virüsleri olarak karaciğer hastalığının sebebi olmadığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu yüzden yeni hepatit virüslerinin araştırılmasına devam edilmiştir. 1997 yılında Japonya'da TTV bulunmuştur. Circoviridae ailesine benzediğı düşünölmüştür. TTV'nin karaciğerde replike olduğu düşünölmüş ve kronik non A-non E hepatitli hastaların serumları ile karşılaştırıldığında karaciğerde 10-100 kat daha fazla oranda TTV DNA saptanmıştır. Bu bulgular, TTV'nin karaciğer hastalığının nedeni olarak aday bir virüs olduğunu göstermiştir. Ancak devam eden araştırmalar TTV enfeksiyonunun karaciğere zarar vermediğini göstermiştir.

Önceki klinik çalışmalarda HGV RNA ve TTV DNA saptanması için PCR yöntemi kullanılmıştır. TTV DNA saptanmasında PCR' a ilişkin primer seti, ilk kez Nishizawa ve arkadaşları tarafından 1997 yılında rapor edildi (40). Okamoto (42) ve Takahashi (57) tarafından 1998 yılında yeni primer setleri rapor edildi. Bunların daha güvenilir sonuçlar verdiği kabul edildi. Bu çalışmada Takahashi ve arkadaşlarının kullandığı P₅ primer seti kullanıldı. Yine hepatit G virüsü için de duyarlılığı yüksek olan virüsün 5' kodlanmayan bölgesini (5'NCR) hedef alan primer setinin kullanıldığı RT-PCR yöntemi tercih edildi.

Toplum sağlığı ve tıbbi bakımdan önemi henüz tam olarak anlaşılamayan HGV ve TTV prevalansı çeşitli ülkelerde ve ayrı ırklarda farklı bulunmuştur. Dünyanın farklı bölgelerinde sağlıklı kan donörlerinde yapılan taramalarda HGV-RNA pozitifliği % 0.8-18.9 arasında değişmektedir (24-25). Ülkemizde yapılan çalışmalarda bu oran % 1.0-5.9 arasında bildirilmiştir (26-27). TTV prevalansı ise yapılan çalışmalarda % 1.9-74 arasında değişiklik göstermektedir. Türkiye'de az sayıda çalışma yayınlanmış olsa da , oranlar farklı gözükmektedir. Ankara'dan % 0.5, İstanbul'dan % 4.5 ve % 31, Bursa'dan % 9.6, İzmir'den % 51.6 oranları bildirilmiştir. Aynı ülkede farklı bölgelerde ve farklı ırklar arasında da farklı prevalanslar bulunmuştur.

Bu çalışmada bölgemizdeki kan donörlerinde HGV prevalansı % 1.6 bulunurken, TTV prevalansı ise % 11 bulundu. Bu oranlar diğer ülkelerde bildirilen sonuçlara yakınlık göstermektedir.

Onkolojik hasta grubunda TTV ile karaciğer enzim düzeyleri, kan transfüzyonu, kemoterapi tedavisi veya viral infeksiyon açısından korelasyon bulunamadı. Ancak yine de onkolojik hasta grubunda TTV prevalansının kontrol grubuna göre daha yüksek görülmesinin nedeni, bu hastaların kan transfüzyonuna ve kan ürünlerine sık maruz kalmaları olabilir. Çünkü daha önce yapılan çalışmalarda TTV'nin parenteral yolla ve kan ürünleri ile geçtiğine dair güçlü kanıtlar gösterilmiştir. Onkolojik hasta grubunda literatürde TTV sıklığı ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır ve bu nedenle sonuçları başka gruplarla karşılaştırmak mümkün değildir. Ancak daha önce yapılan çalışmalarda onkolojik hasta grubunda parenteral yolla geçen B ve C hepatitlerinin sık görüldüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada TTV'nin onkolojik hasta grubunda sık olduğunun gösterilmesi literatür için önemli bir katkı olmuştur ancak diğer hepatit virüsleriyle yapılan çalışmalar gözönüne alındığında bu sonuçlar sürpriz değildir ve parenteral yolla bulaştığı düşünölen TTV'nin sık kan ve kan ürünleri transfüzyonuna veya invazif müdahalelere maruz kalan onkolojik hasta grubunda yüksek bulunması beklenen bir bulgudur. Diğer taraftan bu sonuç TTV'nin parenteral geçişini gösteren çalışmaları da desteklemektedir.

Onkolojik hasta grubunda bu çalışmada hastaların hiçbirinde HGV RNA saptanmamıştır. HGV ile ilgili yapılan bir çalışmada, onkolojik vakalarda (Hodgkin

lenfoma, NonHodgkin lenfoma, ALL, multiple myeloma) ve klonal stem cell hastalarında (myelodisplazi, myeloproliferatif hastalık) HGV RNA araştırılmış, onkolojik vakalarda pozitiflik oranı % 78 iken, klonal stem cell hastalarında bu oran % 28 bulunmuş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu çalışmada HGV ile karaciğer enzim düzeyleri, kan transfüzyonu, kemoterapi tedavisi veya viral infeksiyon açısından korelasyon bulunamamıştır (31). Türkiye’de yapılan bir çalışmada kanserli hastalarda HGV RNA pozitifliği %9.5 olarak bildirilirken (60), bizim çalışmada ise HGV RNA hiçbir hastada pozitif bulunmamıştır. Bu sonuç literatürde önceki çalışmalarla çelişmektedir. Bir grup onkoloji hastasında HGV % 78 iken, bir diğer grupta % 9.5 ve kendi grubumuzda % 0 bulunması oldukça düşündürücüdür. Sadece bölgesel farklılıklara, hasta grubunun özelliklerine bakarak bu farklılığı açıklamak mümkün değildir. Yeni hepatit virüsleri ilgili metodlar özellikle kullanılan primer setler henüz standart değildir. Bu çalışmada RT-PCR yöntemi ile 5' NCR'ı hedef alan primer seti kullanılmıştır ve literatür verilerine göre bu yöntem en güvenilir yöntemlerden birisi olarak açıklanmıştır (38). Elimizdeki verilere göre diğer çalışmalarda hangi bölgeyi hedef alan primer setlerinin kullanıldığı saptanamamıştır. Çalışmalardaki bu yöntem farklılığının sonucu etkilediği düşünülmektedir. Ancak HGV'nin onkolojik hasta grubundaki sıklığını araştıran yeni çalışmalar yapıldıkça bu çalışmadaki sonuçlar teyid edilebilecek ve daha sağlıklı bir yorum yapılabilecektir.

Bu çalışmada diabetes mellituslu hasta grubunda TTV sıklığı belirgin olarak yüksek bulunmasına rağmen, istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Diabetes mellituslu hasta grubunda literatürde (Index Medicus) TTV sıklığı ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır ve bu nedenle sonuçları başka gruplarla karşılaştırmak mümkün değildir. Ancak daha önce yapılan çalışmalarda diabetes mellituslu hastalarda parenteral yolla geçen HCV'nin sık görüldüğü bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada HCV'nin pankreasla olan ilişkisi incelenmiş, HCV'nin B cell disfonksiyonu ve insülin direncine yol açabileceği düşünülmüş ancak bu durum netlik kazanmamıştır. Bu çalışmada TTV'nin DM'li hasta grubunda sık olduğunun gösterilmesi literatür için yeni ve önemli bir katkı olmuştur. DM'li hastalarda bu TTV sıklığının sebebi, bu hastaların sık poliklinik kontrollerine gelip tetkik ve tedavi için sık parenteral girişimlere maruz kalmaları olabilir. Aynı zamanda bu sonuç

TTV'nin parenteral geçişini gösteren çalışmaları da desteklemektedir. Bir diğer yandan TTV, pankreasta harabiyet yapan bir virüs olabilir ve bu yüzden DM'li hastalarda sık bulunmuş olabilir. Ancak bu çalışmada hastaların DM tanısı almadan önce TTV'ye maruz kalıp kalmadıkları ya da DM oluşuktan sonra parenteral girşimler sonucu bu virüsü alıp almadıkları bilinmemektedir. Buradan yola çıkarak TTV'nin pankreasla ilişkisinin araştırmaya değer olduğu düşünülmektedir ve bunun için daha geniş kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır. Bütün bu varsayımların yanında DM'li hastalarda TTV'nin sık bulunması tamamen rastlantısal bir bulgu olabilir ve TTV ile insülin direnci arasında bir bağlantı bulunmayabilir. Daha ileri araştırmalar için bu çalışmanın önemli bir adım olduğu düşünülmektedir.

Daha önce Türkiye'de yapılan bir çalışmada diabetes mellituslu hastalarda HGV RNA pozitifliği % 2.3 olarak bildirilirken (60), bizim çalışmada ise HGV RNA hiçbir hastada pozitif bulunmamıştır. Bu sonuçlar HGV ile pankreas arasında önemli bir ilişki olmadığını düşündürmektedir. Halbuki yapılan çalışmalarda daha önce de belirttiğimiz gibi HGV'nin poliprotein yapısı ile önemli oranda homoloji gösteren HCV ile DM arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bu çalışmadaki sonuçlar HGV'nin DM oluşumunda bir rolü olmadığını düşündürmekte ve ayrıca parenteral geçiş ile ilgili çalışmaları da desteklememektedir. Ancak bu konudaki soru işaretlerini ortadan kaldırmak için çok sayıda araştırma yapılması gerekmektedir.

Kronik karaciğer hastalığı olan grupta yapılan çalışmada, diğer gruplarda olduğu gibi hiçbir hastada HGV RNA saptanmadı. Çeşitli ülkelerde kronik karaciğer hastaları üzerinde HGV araştırması yapılmış ve değişik sonuçlar bildirilmiştir. Kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda HGV prevalansı Avrupa'da % 8.6-19 bildirilirken, bu oran Türkiye'de % 18 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada ise kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda (toplam 7 hasta) HGV RNA negatif bulunmuştur. Kronik hepatit C'li hastalarda HGV prevalans çalışmaları daha çok yapılmıştır. Bu hastalarda HGV prevalansı Çin'de % 8.2, Japonya'da % 11, Amerika Birleşik Devletleri'nde % 20, Avrupa'da % 17-48.3 bulunurken, ülkemizde ise bu oran % 28 olarak açıklanmıştır. Ancak bu çalışmaya alınan Kronik hepatit C'li hastaların hepsinde (toplam 31 hasta) HGV RNA negatif

bulunmuştur. Yine Kriptojenik karaciğer sirozlu hastalarda HGV prevalansı ülkemizde % 18.2 olarak bildirilirken, bu çalışmada aynı hasta grubunda (toplam 4 hasta) HGV RNA negatif bulunmuştur. Alkolik hepatitlerde HGV prevalansı ile ilgili Avrupa'da yapılan bir çalışmada oran % 10 bulunurken, bu çalışmaya alınan sadece 1 alkolik karaciğer hastasında HGV RNA negatif olarak bulunmuştur. HBV veya HCV'ye bağlı karaciğer sirozlu toplam 17 hastada yine diğer hasta gruplarında olduğu gibi HGV RNA negatif bulunmuştur. Bu çalışmada alınan sonuçlar, HGV'nin hepatotropik bir virüs olmadığını ve kronik karaciğer hastalığı ile ilişkisi bulunmadığını ve posttransfüzyon hepatitine neden olmadığını düşündürmektedir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, HGV'nin direk karaciğerde replike olmadığı, Ebstein-Barr virüs ya da Cytomegalovirüs gibi başka bir dokuda replikasyon sonrası karaciğeri etkilediği görüşü önem kazanmıştır. Deneysel çalışmalarda HGV RNA'nın periferik dolaşımında gösterilmesi, HGV'li hastaların karaciğer transplantasyonu sonrasında HGV viremlerinde 100 katlık artışların saptanması, bu virüslerin primer olarak lenfotropik virüsler olduğunu, yüksek oranda viremi yaparak karaciğer tutulumuna yolaçtıklarını gündeme getirmiştir. Bütün bu çalışmalar ışığında, HGV'nin aslında bir hepatit virüsü olarak gösterilmesi doğru bir yaklaşım olmayabilir. Bu durum gözönüne alındığında kan bankalarında kan donörlerinde HGV RNA'ya rutin olarak bakmanın gereği yoktur. Zaten bugüne kadar HGV'yi tespit edecek basit bir serolojik test bulunamamıştır. Rutin olarak PCR yöntemi ile de HGV RNA bakmak imkansızdır. Çünkü bunun getireceği zaman kaybı ve maliyet oldukça yüksek olacaktır. Bu durumda HGV RNA pozitif hastaların da tedavi edilmesi gerekmemektedir.

Kronik karaciğer hastalarında TTV prevalansı ile ilişkili çok sayıda araştırma yapılmıştır. İtalya'da yapılan bir çalışmada TTV prevalansı, kronik HBV olanlarda % 35, kronik HCV olanlarda % 32, kriptojenik karaciğer hastalığı olanlarda % 16 bulunmuştur. Yine Tayland'dan yapılan bir bildiriye TTV pozitifliği, Kronik hepatit B enfeksiyonu olan bireylerde % 20, kronik hepatit C enfeksiyonu olan bireylerde ise % 19.5 bulunmuştur. Aynı çalışmada kriptojenik sirozlu hastalarda TTV görülme oranı ise % 12.5 bulunmuştur. Bu çalışmada TTV sıklığı ise Kronik hepatit B'li hastalarda % 85, kronik hepatit C'li hastalarda % 67 bulundu. Bu oran daha önce

yapılmış çalışmalar ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek görülmektedir. Bu durum kullanılan primer setlerinin farklılığı ile ilişkili olabilir. Tayland'da yapılan çalışmada P₂ primer seti kullanılırken, bu çalışmada P₅ primer seti kullanıldı. TTV DNA'sının, P₂ primer seti ile negatif olduğu bazı örnekler, P₁, P₃ ve P₅ primer setleri ile çalışılmış ve sonuçların pozitif olduğu görülmüştür. Bunun sebebi, TTV genomundaki heterojenitedir. TTV DNA'sında ORF-2'nin 5' non-coding bölgesi (5'NCR) ORF-1'e göre çok daha iyi korunan bölgedir. Bu yüzden bu bölgeyi hedef alan P₅ primer setleri geliştirilmiş ve yapılan çalışmalarda bu setin özgüllük ve duyarlılığının çok daha iyi olduğu görülmüştür. P₂ seti ile yapılan çalışmalarla, P₅ seti ile yapılan çalışmalar karşılaştırılmış ve TTV prevalansı P₅ seti ile yapılan çalışmalarda daha yüksek bulunmuştur. Yine karşılaştırmalı bir araştırmada P₂+P₅ primer seti birlikte kullanıldığında özgüllük ve duyarlılığın iyice arttığı saptanmıştır. Bu da TTV-PCR'ında standardizasyon sağlanıncaya kadar, iki farklı primer setinin birlikte kullanılması zorunluluğunu gündeme getirmektedir.

Bu çalışmada, karaciğer hastalarını gruplara ayırıp TTV görülme sıklığı incelendiğinde, TTV prevalansının gruplarda da yüksek olduğu görüldü. Yalnız gruplardaki hasta sayısı yeterli olmadığı için bu sonuçlar yorum yapmak için yeterli olmayabilir. Şöyleki TTV sıklığı, kronik inaktif hepatit B'li hastalarda % 50 bulunurken, kronik aktif hepatit B'li hastalarda % 100 ve HBV'ye bağlı karaciğer sirozu hastalarında da aynı şekilde % 100 bulundu. HCV ile ilişkili hastalarda bu oranlar biraz daha düşük bulundu. Kronik inaktif hepatit C'li hastalarda TTV sıklığı % 83 saptanırken, kronik aktif hepatit C'li hastalarda bu oran % 64 olarak bulundu. HCV'ye bağlı karaciğer sirozu tanısı almış hastalarda ise TTV sıklığı % 84 olarak bulundu. Çalışmaya alınan kriptojenik karaciğer sirozu tanısı almış hastaların hepsinde (toplam 4 hasta) TTV pozitif olarak görülürken, alkolik karaciğer hastalığı tanısı almış 1 hasta da TTV DNA pozitif bulundu.

Bütün bu sonuçları değerlendirirken hepatit G virüsünün 3 hasta grubunda da (onkolojik hasta grubu, diabetes mellituslu hastalar ve kronik karaciğer hastaları) negatif olduğu, kriptojenik sirozlu hastalarda etyolojik rolü olmadığı ve kronik karaciğer hastalarıyla (hepatit B veya hepatit C'ye bağlı) birliktelik göstermediği kanaatine varıldı. HGV, bütün bu sonuçlara göre önemsiz bir virüs olarak görünse de, birçok sırları da beraberinde taşımaktadır.

HGV ile ilgili sonuçlar pek önemli ve anlamlı bulunmayınca, etyolojisi bilinmeyen karaciğer hastalarında ve sık kan ve kan ürünlerine maruz kalan kişilerde yeni bir hepatit virüsü arayışına gidilmiştir. 1997 yılında Japonya'da TTV adında yeni bir virüs bildirilmiştir. Bu virüsün keşfinden sonra bu konuda çalışmalar yoğunlaşmıştır. Ancak yapılan çalışmaların çoğunda bu virüsün de beklenenin aksine, karaciğerde önemli bir hasara yol açmadığı görüşü önem kazanmıştır.

Hepatit C ile ilişkili grupta 44 hasta vardı ve 32 hastada TTV DNA pozitif bulunurken, 12 hastada TTV DNA negatif bulundu. TTV pozitif grupta daha önceden kan transfüzyonu öyküsü % 15 bulunurken, TTV negatif grupta bu oran % 25 bulundu. Bu sonuç daha önce yapılan çalışma sonuçlarını desteklememektedir. Ancak Orii ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptığı çalışmaya benzerlik göstermektedir. Çünkü bu çalışmada da kronik karaciğer hastalarında TTV DNA pozitif ve negatif grupta ortalama yaş ve transfüzyon hikayesi açısından farklılık yoktu. Bu çalışmanın sonuçları, TTV'nin transfüzyon yolu ile değil, başka bulaş yolları ile geçiş gösterebileceğini düşündürmektedir. Ancak vaka sayısı az olduğu için sonuçlar yorum yapmak için yeterli olmayabilir. Hepatit C ile ilişkili hastaların, IV ilaç bağımlılığı ve alkol kullanımı sorgulandığında her iki grupta da (TTV pozitif ve TTV negatif) bu alışkanlıkların olmadığı görüldü. Karaciğer fonksiyonları incelendiğinde, bilirubin, alkalen fosfataz, albümin ve protrombin zamanı değerleri iki grup arasında pek farklı değildi. Ancak ilginç olarak, TTV negatif grupta AST, ALT ve GGT değerleri daha yüksek bulundu. Bu sonuç TTV'nin karaciğerde hasar yapan bir virüs olmadığını ve hepatit virüsü olarak tanımlanamayacağını düşündürmektedir. TTV negatif grupta AST, ALT ve GGT değerlerinin yüksek olmasının nedeni, bu grupta HCV enfeksiyonunun daha ciddi olmasından, enfeksiyon süresinin daha uzun olmasından ve karaciğerde bu virüsün yaptığı hasarın daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Hastaların bir kısmında karaciğer biyopsisi yapılmadığı için ve hastaların HCV'ye ilk ne zaman maruz kaldıkları bilinmediği için bu konuda tam bir açıklama yapılamadı. Halbuki daha önceki çalışmaların çoğunda, kronik karaciğer hastalarında, TTV pozitif gruplarda karaciğer fonksiyon testleri daha yüksek bulunmuştur. Ancak çalışmacıların çoğu bu yüksekliklerin sebebini tam olarak TTV virüsüne bağlayamamışlardır. HCV'li hastalarda tam kan sayımı sonuçlarını değerlendirildi ve TTV pozitif grup ile

negatif grup arasında, hemoglobin, lökosit ve trombosit değerleri açısından fark bulunamadı. Her iki grupta da orta derecede anemi ve hafif lökositöz saptandı. Bu sonuçlar, aynen HBV'li hastalarda olduğu gibi, aneminin kronik hastalık nedeniyle veya gastrointestinal kanaldan aşikar veya gizli kanamalar sonucu oluştuğunu, TTV virüsünün anemiden sorumlu olmadığını düşündürmektedir. Lökositöz de yine TTV virüsünden bağımsız olarak bu hastalarda sık görülen üriner infeksiyon, spontan bakteriyel peritonit veya diğer infeksiyonlarla ilişkili olabilir. Sonuç olarak TTV infeksiyonunun varlığı, hepatit C ile ilişkili hastaların (kronik hepatit veya siroz) klinik seyrini, serum enzim düzeylerini, tedavi sonuçlarını ve prognozu etkilememektedir. Bu konuda yapılmış çalışmalar da buna benzer sonuçlar vermiştir. Çalışmaların çoğunda TTV'nin yaygın olarak görüldüğü ancak zayıf patojeniteye sahip olduğu bildirilmiştir. TTV pozitif olguların çoğunluğunda önemli karaciğer hasarının histolojik ve biyokimyasal kanıtı bulunamamıştır (46). TTV'nin karaciğer hücrelerini infekte edebilmesine rağmen, karaciğer hastalığına neden olduğu hakkında dayanak yoktur. Rodriquez ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı bir araştırma da bunu göstermiştir (50).

Şu bir gerçektir ki, tüm dünyada yapılan çalışmalarda, kronik karaciğer hastalarında TTV infeksiyonu sık olarak görülmektedir. Bu çalışma da bunu desteklemektedir. Bu çalışmada kronik karaciğer hastalarında TTV'nin genel görülme sıklığı % 78 olarak bulundu. Bu oran oldukça yüksek bir orandı. Ancak sonuçlar beklenenin aksine, bu önemli birlikteliğe rağmen, TTV'nin karaciğerde önemli bir hasar yapmadığını düşündürmüştür. Gerçi daha önce de belirtildiği gibi bu konudaki çalışmalar da bunu göstermektedir. Sonuç olarak TTV, her yerde yaygın ancak patojenitesi kanıtlanmamış bir virüs olarak karşımıza çıkmaktadır.

TTV'nin 1997 yılında büyük umutlarla bulunması, genel popülasyonda yüksek oranda gösterilmesi ve ardından sonuçların hepatit virüsü olması yönünde hayal kırıklığı meydana getirmesi pek çok soruyu akla getirmektedir. Acaba TTV insan vücudunda bulunan ve patojen olmayan bir virüs müdür? TTV'nin moleküler biyolojisi ve replikasyon ile ilgili mekanizmalar nelerdir? TTV'yi gerçekten önemli bir hepatit virüsü olarak tanımlayabilecekmiyiz? Bu soruları cevaplayabilmemiz için virüsün primer yapısının daha iyi tanımlayabilmemiz ve TTV genotiplerini ayrıntılı olarak incelememiz gerekir. Ayrıca viral rekombinant proteinlerinin saptanması ve

bu sayede virüse özgü antikorların saptanması ve bunların rutin kullanıma girmesi gerekir. Şu aşamada bu husus pek önemli görünmemektedir. Bir diğer yapmamız gereken şey ise, çok sayıda epidemiyolojik çalışma yerine viral transkripsiyon ve replikasyon mekanizmalarını anlamamız sağlayacak hücre kültür sistemlerinin ve hayvan modellerinin geliştirilmesi olmalıdır (51, 59). Her ne kadar TTV kadar sık görülmeyip ve TTV kadar popüler olmasa da, aynı düşünceleri HGV için de söylemek mümkündür.

SONUÇLAR

- 1) Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesine başvuran onkolojik hasta grubu, diabetes mellituslu hastalar ve kronik karaciğer hastalarında HGV ve TTV prevalansı araştırıldı.
- 2) Onkolojik hasta grubunda yapılan çalışmada hastaların hiçbirinde HGV RNA saptanmadı. Bu grupta TTV görülme sıklığı ise % 29.5 olarak saptandı ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bulundu. Bu TTV pozitif hastaların 12 (% 34)'si erkek, 6 (% 23)'sü bayan hastaydı. Cinsler arası pozitiflik karşılaştırması yapıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu çalışmada TTV ile karaciğer enzim düzeyleri, kan transfüzyonu, kemoterapi tedavisi veya viral enfeksiyon açısından korelasyon bulunamadı.
- 3) Diabetes mellituslu hasta grubunda yapılan çalışmada da hiçbir hastada HGV RNA saptanmadı. Bu grupta TTV görülme sıklığı ise % 26 olarak saptandı ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin yüksek olmasına rağmen sonuç istatistiki olarak anlamlı bulunmadı. Bu TTV pozitif hastaların 7'si erkek (% 25), 9'u bayan (% 27) hastaydı. Cinsler arası pozitiflik karşılaştırılması yapıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu çalışmada TTV ile karaciğer enzim düzeyleri, kan transfüzyonu, kan şekeri düzeyi, insülin dozu ve uygulama sıklığı ve viral enfeksiyon açısından korelasyon bulunamadı.
- 4) Kronik karaciğer hastalığı olan grupta yapılan çalışmada, diğer gruplarda olduğu gibi hiçbir hastada HGV RNA saptanmadı. Bu grupta TTV görülme sıklığı % 78 olarak saptandı ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak anlamlı bulundu. Bu TTV pozitif hastaların 13'ü erkek (% 68), 34'ü bayan (% 82) hastaydı. Cinsler arası pozitiflik karşılaştırılması yapıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kronik hepatit B ile ilişkili hastalarda (kronik hepatit veya siroz) TTV görülme sıklığı % 91 saptanırken, kronik hepatit C ile ilişkili hastalarda (kronik hepatit veya siroz) TTV görülme sıklığı % 73 olarak saptandı ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.
- 5) Hepatit B ile ilişkili hastaların sayısı daha azdı ve bu grup 11 hastadan oluşuyordu. Bu hastaların 10'unda TTV DNA pozitif bulunurken, sadece 1 hastada TTV DNA negatif bulundu.
- 6) Hepatit C ile ilişkili grupta 44 hasta vardı ve 32 hastada TTV DNA pozitif bulunurken, 12 hastada TTV DNA negatif bulundu. TTV pozitif grup ile TTV negatif grup arasında yaş farkı yoktu. Hastaların çoğu 50 yaş civarındaydı. Cinsiyet karşılaştırıldığında TTV DNA pozitif grubun çoğunluğu kadınlardan oluşuyordu. TTV DNA negatif grupta ise erkek ve kadın oranı birbirine yakındı. TTV pozitif grupta daha önceden kan transfüzyonu öyküsü % 15 bulunurken, TTV negatif grupta bu oran % 25 bulundu. Hepatit C ile ilişkili hastaların, IV ilaç bağımlılığı ve alkol kullanımı sorgulandığında her iki grupta da (TTV pozitif ve TTV negatif) bu alışkanlıkların olmadığı görüldü. Karaciğer fonksiyonları incelendiğinde, bilirubin, alkalin fosfataz, albümin ve protrombin zamanı değerleri iki grup arasında farklı

değildi. Ancak ilginç olarak, TTV negatif grupta AST, ALT ve GGT değerleri daha yüksek bulundu. Yine HCV'li hastalarda tam kan sayımı sonuçları değerlendirildi ve TTV pozitif grup ile negatif grup arasında, hemoglobin, lökosit ve trombosit değerleri açısından fark bulunamadı. Her iki grupta da orta derecede anemi ve hafif lökositoz saptandı.

7) HGV, bu sonuçlara göre toplumumuzda nadir görülen bir virüstür ve kriptojenik karaciğer hastalıklarının etyolojisinde önemli görünmemektedir.

8) TTV, toplumumuzda yaygın ancak patojenitesi net olmayan bir virüs olarak karşımıza çıkmaktadır.

ÖZET

TTV ve HGV virüsünün epidemiyolojisi ve patojenitesi ile ilgili bilgiler henüz netleşmemiştir. Çalışmamızda Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesine başvuran kronik karaciğer hastalığı (KKC), diabetes mellitus (DM) ve onkolojik hasta grubundaki TTV ve HGV koinsidansının araştırılması planlanmıştır.

Çalışmaya farklı etyolojilere bağlı 60 KKC hastası, 61 DM hastası ve 61 kemoterapi alan malign hasta alındı. Kontrol grubu olarak kan bankasına başvuran ve karaciğer fonksiyon testleri (KCFT)/serolojik testleri negatif bulunan 60 gönüllü kan donörü alındı. Tüm serum örnekleri -80°C'de saklandı ve daha sonra Gülhane Askeri Tıp Akademisi viroloji laboratuvarında çalışıldı. HGV RNA, RT-PCR (reverse transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi kullanılarak saptandı. TTV DNA'yı saptamak için ise PCR yöntemiyle T801 ve T935 primerlerinin kullanıldığı P₅ primer seti kullanıldı. Gruplardaki pozitiflik oranı istatistiki olarak ki-kare testi ile (yates düzeltmeli) karşılaştırıldı.

Altmışbir onkoloji hastasının 18'inde (% 29), diabetli 61 hastanın 16'sında (% 26), kronik karaciğer hastalığı bulunan 60 hastanın ise 47'sinde TTV pozitif (% 78) bulundu. TTV DNA HCV pozitif 41 hastanın 30'unda (% 73), HBV pozitif 11 hastanın 10'unda (% 91) saptandı. Kontrol grubu olarak alınan 45 hastanın ise 5'inde TTV pozitif (% 11) bulundu. Kronik karaciğer hastalığında bulunan oran hem kontrol grubu hemde diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı pozitiflik saptandı ($p < 0.0001$). Diabet ve onkoloji grubunda kontrol grubuna göre TTV sıklığı daha yüksek olmakla beraber sonuçlar diabet grubunda istatistiki olarak anlamsız ($p > 0.05$), onkoloji grubunda sınırda anlamlılık ($p = 0.04$) gösteriyordu. B ve C hepatitleri arasındaki TTV sıklığı farkı istatistiki olarak anlamsızdı.

Altmışbir onkoloji hastasının hiçbirinde HGV pozitifliği (% 0) saptanmadı. DM'li 61 hastanın hiçbirinde HGV pozitifliği (% 0) saptanmadı. KKC hastalığı bulunan 60 hastada da diğerlerinde olduğu gibi HGV pozitifliği saptanmadı (% 0). Kontrol grubu olarak alınan 60 hastanın ise sadece birinde HGV pozitif (% 1.6) bulundu.

Diabette TTV sıklığı biraz yüksek olmakla beraber bu çalışma diabet ile TTV arasında net bir ilişki ortaya koyamamıştır ve sonuçlar yorum yapabilmek için yeterli değildir. Onkolojik hasta grubunda saptanan değerler bu hastalara sık yapılan transfüzyonla ilişkili olabilir. Kronik karaciğer hastalığında saptanan sonuç literatürdeki benzer çalışmalarını desteklemektedir ve HBV ile HCV taşıyan kişiler TTV içinde yüksek risk altındadır. Ancak TTV'nin B veya C hepatitinin patojenitesine etkisi ile ilgili yorum yapabilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışma bölgemizde HGV insidansının oldukça düşük olduğunu göstermektedir. Çalışılan toplam 242 örnekten sadece birinde HGV pozitif saptanmıştır ve bu vaka KCFT'leri normal olan sağlıklı bir bireydir. Sık transfüzyon yapılan onkolojik hasta grubunda ve diğer viruslerle enfekte kronik karaciğer

hastalarında hiç virus saptanmamıştır. Yine diabetli hastalarda da saptanmamış olması bu ajanın muhtemelen pankreasa da bir afinitesi olmadığını göstermektedir. HGV'nin patojenitesi ile ilgili bilgilerimiz henüz net değildir ancak bu çalışma epidemiyolojik olarak virusun bölgemiz için bir önemi olmadığını düşündürmektedir.

SUMMARY

Knowledge about epidemiology and pathogenicity of TTV and HGV is not clear yet. We planned to study coincidence of TTV and HGV in patients with chronic liver disease (CLD), diabetes mellitus (DM) and malignant disease in Gaziantep University Faculty of Medicine.

Into the study, 60 patients with CLD of different etiology, 61 patients with DM and 61 patients with malignant disease who were taking chemotherapy were enrolled. As a control group 60 volunteer who applied to blood bank as blood donor and liver function tests and serologic tests were normal. All of serum samples was stored in -80°C and studied in virology laboratory of Gülhane Military Medical School. HGV RNA was studied by means of RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction). TTV DNA was detected PCR method by using T801 and T935 primers of P₅ primer set. Statistical analysis for difference among groups was done by chi-kare test with Yates correction.

TTV was positive in 18 out of 61 patients (% 29) with malignant disease, 16 out of 61 patients (% 26) with diabetes, 47 out of 60 patients (% 78) with chronic liver disease. TTV DNA was found in 30 out of 41 (% 73) patients with HCV positivity, 10 out of 11 (% 91) patients with HBV positivity. TTV positivity was found in 5 out of 45 (% 11) control group. The ratio that was found in chronic liver disease was statistically significant in respect to comparison with other groups and control group ($p < 0.0001$). TTV incidence was higher in diabetes and malignant disease group but results in diabetes group were statistically insignificant ($p > 0.05$), results in oncology group were significant in limit ($p = 0.04$). TTV incidence between B and C hepatitis groups was statistically insignificant.

HGV positivity was found in none of 61 malignant patients (% 0) and none of 61 patients with diabetes (% 0) and none of 60 patients with CLD (% 0). Only one patient was positive for HGV in the control group (% 1.6).

TTV incidence was slightly higher in the diabetes group but this study did not show any relation between diabetes and TTV. To make comments, these results are not sufficient. Results in malignant patient group may be related to frequent transfusions to these patients. Hepatitis B and C carries are under high risk for TTV and similar studies in the literature support our results about chronic liver disease. But Further studies are necessary to comment on effect of TTV on pathogenicity hepatitis B and C.

HGV incidence in our region was found very low. HGV positivity was found in only one sample out of 242 studied samples. This case was a healthy volunteer with normal liver function. In malignant patients with frequent transfusions and patients with CLD with infected by other viruses no virus was detected. Undetection of virus in diabetic patients suggest that no affinity of virus to pancreas was present. Our knowledge about pathogenicity of hepatitis G is not

clear yet, but this study suggest that virus was not important problem for our region.

KAYNAKLAR

- 1) Ryu JK, Lee SB, Hong SJ, Lee S. Association of chronic hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in Korean patients. *Korean J Intern Med* 2001; 16:18-23.
- 2) Mason AL, Lau JY, Hoang N, et al. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1999; 29:328-333.
- 3) Schlauder GG, Pilot-Matias TJ, Gabriel GS, et al. Molecular and serologic analysis in the transmission of the GB hepatitis agents. *J Med Virol* 1995; 46:81-90.
- 4) Linnen J, Wages J, Zhang-Keck Z-Y, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: Transfusion-transmissible agent. *Science* 1996; 271:43-6.
- 5) Alter HJ, Nakatsuji Y, Meldoper J, et al. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Eng J Med*. 1997; 336:747-54.
- 6) Leary TP, Muerhoff AS, Simons JN, et al. Sequence and genomic organization of GBV-C: A novel member of the Flaviviridae associated with human non-A-E hepatitis. *J Med Virol* 1996; 48:60-7.
- 7) Kim JP, Fry KE. Molecular characterization of the hepatitis G virüs. *J Viral Hep* 1997; 77-79.
- 8) Okamoto H, Nakao H, Inoue T, et al. The entire nucleotid sequences of two GB virus C/hepatitis G virus isolates of distinct genotypes from Japan. *J Gen Virol* 1997; 78:737.

- 9) Smith DB, Cuceanu N, Davidson F, et al. Discrimination of the hepatitis G virus/GBV-C geographical variants by analysis of the 5'non-coding region. *J Gen Virol* 1997; 78:1533-42.
- 10) Konomi N, Miyoshi C, Zerain CF, Li T-C, Arakawa Y, et al. Epidemiology of hepatitis B, C, E, and G virus infections and molecular analysis of hepatitis G virus isolates in Bolivia. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3291-5.
- 11) Saito T, Shiino T, Arakawa Y, Hayashi S, Abe K. Geographical characterisation of hepatitis G virus genome: evidence for HGV genotypes based on phylogenetic analysis. *Hepatol Res* 1998; 10:121-30.
- 12) Muerhoff AS, Smith DB, Leary TP, Erker JC, Desai SM, et al. Identification of GB virus C variants by phylogenetic analysis of 5'-untranslated and coding region sequences, *J Virol* 1997; 71:6501-8.
- 13) Naito H, Win KM, Abe K. Identification of a novel genotype of hepatitis G virus in Southeast Asia. *J Clin Microbiol* 1999; 37:1217-20.
- 14) Tucker TJ, Smuts H, Eickhaus P, Robson SC, Kirsch RE. Molecular characterization of the 5'non-coding region of South African GBV-C/HGV isolates: Major deletion and evidence for a fourth genotype. *J Med Virol* 1999; 59:52-59.
- 15) Tucker TJ, Smuts HE. GBV-C/HGV genotypes: Proposed nomenclature for genotypes 1-5. *J Med Virol* 2000; 62:82-83.
- 16) Erensoy S, Zeytinoğlu A, Göksel S, Özacar T, Özkahya M, ve ark. Renal transplant olgularında hepatit G virüs infeksiyonu ve genotipleri. Birinci Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, 24-27 Nisan 2000, Kapadokya, A13.
- 17) Laskus T, Radkowski M, Wang L-F, Vargas H, Rakela J. Lack of evidence for hepatitis G virus replication in the livers of patients coinfecting with hepatitis C and G viruses. *J Virol* 1997; 71:7804-6.
- 18) Pessoa MG, Terrault NA, Detmer J, et al. Quantitation of hepatitis G and C viruses in the liver: Evidence that hepatitis G virus is not hepatotropic. *Hepatology* 1998; 27:877-80.

- 19) Tucker TJ, Smuts HE, Eedes C, Knobel GD, Eickhaus P, et al. Evidence that the GBV-C/hepatitis G virus is primarily a lymphotropic virus. *J Med Virol* 2000; 61:52-8.
- 20) Shimizu T, Moriyama M, Arakawa Y. Detection of HGV RNA in digestive organs. *Intervirology* 2001; 44:14-20.
- 21) Kao JH, Chen W, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Liver and peripheral blood mononuclear cells are not major sites for GB virus-C/hepatitis G virus replication. *Arch Virol* 1999; 144:2173-83.
- 22) Diamantis I, Basetti S, Erb P, et al. High prevalence and coinfection rate of hepatitis G and C infection in intravenous drug addicts. *J Hepatol* 1997; 26:794-797.
- 23) Mushahwar IK, Zuckerman JN. Clinical implication of GB virus C. *J Med Virol* 1998; 56:1-3.
- 24) Dawson GJ, Schlauder GG, Matias TJ, Thiele D, Leary TP, et al. Prevalence studies of GB virus-C infection using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Journal of Medical Virology* 1996; 50:97-103.
- 25) Fiordalisi G, Zanella I, Mantero G, et al. High prevalence of GB virus C infection in a group of Italian patients with hepatitis of unknown etiology. *J Infect Dis* 1996; 174:181-83.
- 26) Eskitürk A, Minton J, Irwing W. Hematolojik maligniteli hastalarda ve kan vericilerinde hepatitis G virüs RNA'sının polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması. *Flora* 1997; 1:70-71.
- 27) Özener Ç, Geyik G, Avşar E, ve ark. Sürekli ayaktan periton dializi uygulanan hastalarda hepatitis G virüs infeksiyonu. III. Ulusal Hepatoloji Kongresi 27-29 Mayıs 1999, İstanbul Bildiri Kitapçığı. Poster No: 40, sayfa:34.
- 28) *Viral Hepatit 2001*. Kılıçturgay K, Badur S. 2001; 260-269.

- 29) Kao JH, Liu CJ, Chen PJ, Hsiang SC, Lai MY, et al. Interspousal transmission of GB virus-C/hepatitis G virus: A comparison with hepatitis C virus. *Journal of Medical Virology* 1997; 53:348-353.
- 30) Viazov S, Riffelmann M, Sarr S, et al. Transmission of GBV-C/HGV from drug addicted mothers to their babies. *J Hepatol.* 1997; 27:85.
- 31) Pavlova BG, Heinz R, Selim U, Tuchler H, Pittermann E, et al. Association of GB virus C (GBV-C)/hepatitis G virus (HGV) with haematological diseases of different malignant potential. *J Med Virol* 1999; 57:361-6.
- 32) Grimbert S, Valensi P, Levy-Marchal C, et al. High prevalence of diabetes mellitus in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterol Clin Biol* 1996; 20:544-548.
- 33) Knobler H, Schihmanter R, Zifroni A, et al. Increased risk of type 2 diabetes in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C virus infection. *Mayo Clin Proc* 2000; 75:355-359.
- 34) Caronia S, Taylor K, Pagliaro L, Carr C, Palazzo U, et al. Further evidence for an association between non-insulin-dependent diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1999; 30:1059-1063.
- 35) Hadziyannis SJ. Fulminant hepatitis and the new G/GBV-C flavivirus. *J Viral Hepat.* 1997; 4:15.
- 36) Tribl B, Schoniger-Hekele M, Petermann D, Bakos S, Penner E, et al. Prevalence of GBV-C/HGV-RNA, virus genotypes, and anti-E2 antibodies in autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:3336-40.
- 37) Berthoux P, Laurent B, Cecillon S, Berthoux F. Membranoproliferative glomerulonephritis with subendothelial deposits (type 1) associated with hepatitis G virus infection in a renal transplant recipient. *Am J Nephrol* 1999; 19:513-8.
- 38) Schlueter V, Schmolke S, Stark K, Hess G, Ofenloch-Haehnle B, et al. Reverse transcription-PCR detection of hepatitis G virus. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2660-4.

- 39) Kaymakoğlu S, Türkoğlu S, Demir K, ve ark. Kronik karaciğer hastalığı ve hepatit G virüs infeksiyonu. Prevalansı, klinik bulgular ve interferon tedavisine etkisi. *Viral Hepatit Derg* 1997; 2:90-3.
- 40) 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; 241:92-97.
- 41) Mushahwar IK, Erker JC, Muerhoff AS, et al. Molecular and biophysical characterization of TT virus. Evidence for a new virus family infecting humans. *Proc. Natl Acad Sci*, 1999; 96:3177-3182.
- 42) Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, Ukita M, Ikeda H, et al. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatol Res* 1998; 10:1-16.
- 43) Tanaka Y, Misokami M, Orito E, et al. New genotypes of TT virus (TTV) and genotyping assay based on restriction fragment length polymorphism, *FEBS Lett*, 1998; 437:201-206.
- 44) Viazov S, Ross RS, Niel C, de Oliveira JM, Varenholz C, et al. Sequence variability in the putative coding region of TT virus: evidence for two rather than several major types. *J Gen Virol* 1998; 79:3085-3089.
- 45) Christensen JK, Eugen-Olsen J, Sorensen M, et al. Prevalence and prognostic significance of infection with TT virus in patients infected with human immunodeficiency virus. *JID* 2000; 181:1796-99.
- 46) Naumov NV, Petrova EP, Thomas MG, Williams R. Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease. *Lancet* 1998; 352:195-97.
- 47) Morrìca A, Maggi F, Vatteroni ML, et al. TT virus: Evidence for transplacental transmission. *JID* 2000; 181:803-04.
- 48) Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, et al. Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non A-G hepatitis. *J Med Virol* 1998; 56:128-32.

- 49) Davidson F, MacDonald D, Mokili JLK, Prescott LE, Graham S, et al. Early acquisition of TT virus (TTV) in an area endemic for TTV infection. *JID* 1999; 179:1070-76.
- 50) Rodriguez-Ínigo E, Casqueiro M, Bartolome J, et al. Detection of TT virus DNA in liver biopsies by in situ hybridization. *Am J Pathol* 2000; 156:1227-34.
- 51) Springfield C, Bugert J, Schnitzel P, Tobiasch E, Kehm R, et al. TT Virus as a human pathogen: Significance and problems. *Virus Genes* 2000; 20:35-45.
- 52) Tanaka H, Luengrojanakul P, et al. Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non A-G hepatitis in hepatitis patients and healthy blood donors in Thailand. *J Med Virol.* 1998; 56:234-38.
- 53) Viazov S, Ross RS, Varenholz C, Lange R, et al. Lack of evidence for an association between TTV infection and severe liver disease, *J Clin Virol.* 1998; 183-187.
- 54) Takayama S, Miura T, Matsuo S, Taki M, et al. Prevalence and persistence of novel DNA TTV infection in Japanese haemophiliacs. *Br J Haematol.* 1999; 104:626-29.
- 55) Simmonds P, Davidson F, Lycett C, Prescott L E, MacDonald DM, Ellender J, et al. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products. *Lancet* 1998; 352:191-95.
- 56) Holme M, Berg T, Muller AR, Schreider E. Detection of sequences of TT virus, a novel DNA virus in German patients. *J Gen Virol.* 1998; 79:2761-4.
- 57) Takahashi K, Ohta Y, Mishiro S. Very high prevalence of TT virus infection in general population of Japan revealed by a new set of PCR primer *Hepatol. Res* 1998; 12:233-39.
- 58) Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, Akahane Y, Konishi K, et al. IgM-class antibodies to TT virus (TTV) in patients with acute TTV infection. *Hepatol Res* 2001; 19:1-11.
- 59) Cossart Y. TTV a virus searching for a disease. *J Clin Virol.* 2000; 17:1-3.

- 60) Pekbay A, Günaydın M, Esen Ş, Eroğlu C, Çetin M, ve ark. Çeşitli risk grupları ve sağlıklı toplumda hepatit G virüsü prevalansının belirlenmesi. *Viral Hepatit Derg* 2000; 1:58-61.