

69261

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

**KRONİK PARANKİMAL KARACİĞER HASTALARINDA
VE HEMODİYALİZ HASTALARINDA HEPATİT G
VİRUS PREVALANSI**

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Hikmet AKKIZ

Uzm. Dr. Ali HAFTA

YANDAL UZMANLIK TEZİ

ADANA- 1998

**Bu tez Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
TF-96/85 no.lu “Kronik Parankimal Karaciğer Hastalarında ve
Hemodiyaliz Hastalarında Hepatit G Virus Prevalansı” isimli
projeyle desteklenmiřtir**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

TABLO LİSTESİ.....	II
ŞEKİL LİSTESİ.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Viral Hepatit Virusların Tarihçesi.....	3
2.2. Hepatit A Virus.....	4
2.3. Hepatit B Virus.....	6
2.4. Hepatit C Virus.....	10
2.5. Hepatit D Virus.....	13
2.6. Hepatit E Virus.....	15
2.7. Hepatit F Virus.....	16
2.8. Hepatit GB Virusları.....	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	28
4. BULGULAR.....	31
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇLAR.....	42
7. KAYNAKLAR.....	43

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No.</u>
TABLO I. Hepatit C virusunun kodladığı proteinler ve muhtemel Fonksiyonları.....	12
TABLO II. Hepatit C virusunun genomik yapısı.....	12
TABLO III. HGV enfeksiyonun prevalansı.....	21
TABLO IV. HGV/GBV-C tanısında kullanılan bazı PCR stratejileri.	27
TABLO V. Hemodiyaliz hastalarında HCV, HBV, GBV-C Koenfeksiyonların dağılımı ve diyaliz süreleri.....	31
TABLO VI. Hemodiyaliz hastalarının virolojik, biyokimyasal ve Transfüzyon yönünden özellikleri.....	32
TABLO VII. Kronik hepatitli hastalarda HCV, HBV ve Non A-E virus Enfeksiyonların dağılımı.....	33
TABLO VIII. Kronik hepatitli hastalarda virolojik ve biyokimyasal Özellikler.....	33

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No.

ŞEKİL 1. Hepatit A virusunun şematik moleküler organizasyonu...	6
ŞEKİL 2. Hepatit B virus genomunun organizasyonu.....	7
ŞEKİL 3. HEV'un Genomu.....	15
ŞEKİL 4. Hepatit G virusunun genomu.....	25

ÖZET

GB virus C (GBV-C) akut ve kronik hepatitle ilişkisi bildirilen, son zamanlarda tanımlanan bir flavivirustur. GBV-C'nin başlıca parenteral yolla bulaştığı ve kronik hepatitli hastalar ile hemodiyaliz hastalarında yüksek prevalans oranlarına sahip olduğu bilinmektedir.

Bölgemizdeki kronik hepatitli hastalar ve hemodiyaliz hastalarında GBV-C enfeksiyon prevalansını tesbit etmek amacıyla yapılan bu çalışmada 65 (%74.7)'i erkek, 22 (%25.3)'i kadın, ortalama yaş 50.08 ± 14.2 yıl olan 87 kronik hepatitli hasta ve 46(%74.7)'si erkek, 30(%40)'u kadın, ortalama yaş 46.3 ± 14.6 yıl olan 76 kronik hemodiyaliz hastasına ait serum örnekleri GBV-C RNA varlığı yönünden GBV-C'nin NS₃/helikaze bölgesinden derive spesifik primerlerin kullanıldığı nested reverse transcriptase polimeraz zincir reaksiyon (RT-PCR) ile değerlendirilmiştir. Kronik hepatitli hastaların tanıları, histopatolojik inceleme ile konuldu.

GBV-C RNA kronik hepatitli 87 hastanın 4(%4.6)'ünde tesbit edilmiş olup, bu hastalardan biri HCV ile koenfekte iken 3 hasta sadece GBV-C ile enfekte idi. Hastaların 73'ünde kronik hepatit B ve/veya kronik hepatit C tespit edildi. GBV-C RNA non B – non C hepatit tanısı konan 14 hastanın 3(%21.4)'ünde bulundu.

Hemodiyaliz hastalarında ise GBV-C RNA 76 vakanın 16(%21)'sında pozitif bulundu. Bu vakaların 3'ünde anti HCV antikorları tespit edildi.

Sonuç olarak GBV-C enfeksiyonunun bölgemizdeki kronik non B – non C hepatitli hastalarda %21.4'lük oran ve hemodiyaliz hastalarındaki %21'lik oran ile sık görüldüğü tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kronik hepatit, Hemodiyaliz, HGV/GBV-C enfeksiyonu

ABSTRACT

THE PREVALENCE OF GB VIRUS C INFECTION IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS AND IN HEMODIALYSIS PATIENTS

GB virus C (GBV-C) is a recently identified flavivirus associated with acute and chronic hepatitis. GBV-C is known to be transmitted parenterally and to have high prevalence rates in chronic hepatitis patients and also in patients on hemodialysis. In order to investigate the prevalence of GB virus C infection among patients with chronic hepatitis and in chronic hemodialysis patients, the serum samples obtained from 87 patients with chronic hepatitis (65 male, 22 female, mean age 50.8 ± 14.2) and 76 patients on hemodialysis (46 male, 30 female, mean age 46.3 ± 14.6 years) were analysed for the presence of GBV-C RNA by nested reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) using specific primers derived from the NS₃/helicase region of the GBV-C in our area. Patients with chronic hepatitis were diagnosed histopathological examinations.

GBV-C RNA was detected in 4 of 87 (4.6%) patients with chronic hepatitis, one of these patients was coinfecting with HCV and 3 patients were only infected with GBV-C. Of the patients 73 were found to have chronic hepatitis B and/or chronic hepatitis C. GBV-C RNA was identified in 3 of 14 (21.4%) patients with chronic non B – non C hepatitis.

Among hemodialysis patients, GBV-C RNA was present in 16 of 76 (21 %) cases, of which 3 were positive for anti HCV antibodies.

In conclusion, GBV-C infection appears to be common with a rate of 21.4% among patients with chronic non B – non C hepatitis and also with a rate of 21% in patients on maintenance hemodialysis in our area.

Key Words: Chronic hepatitis, Hemodialysis, HGV/GBV-C polymerase Chain Reaction.

I- GİRİŞ VE AMAÇ

Hepatit A-E spektrumundaki virusların tanısı için duyarlı ve spesifik immunolojik testlerle moleküler tekniklerin mevcudiyetine rağmen halen akut ve kronik hepatit olguları ile posttransfüzyon hepatit olgularının yaklaşık % 10-20 sinde etyolojik etken saptanamamaktadır (48).

Choo ve arkadaşlarının 1989'da hepatit C virusu(HCV)'nun (12), bir yıl sonra (1990) da Reyes ve arkadaşları tarafından hepatit E virusu (HEV)'nun (62) bulunmasının ardından yeni hepatotropik viruslar olan hepatit GB virusu 1995 (78) ve hepatit G virusu 1996 yılında iki ayrı araştırma grubu tarafından izole edilmiştir (45).

İlk defa 1967 yılında Deinhardt ve arkadaşları isminin baş harfleri GB olan ve bilinmeyen etyolojili akut hepatit gelişen bir cerrahın kanını Güney Amerika marmosetlerine inokule ettiklerinde hepatit geliştiğini görmüşlerdir(16), Seri pasaj ve filtrasyon deneyleri ajanın muhtemelen viral olabileceğini göstermiştir. Ancak GB virusunun genomik yapısı ve orijini moleküler virolojik tekniklerin 1995 yılında uygulanmasına kadar karakterize edilememiştir (78). Aynı yıl Simons ve arkadaşları GB ajanını içeren orijinal plazmayı tamarin cinsi maymunlara inokule ederek virusun seri pasajını yapmışlardır (66). GB virusunu taşıyan plazmada gerçekte flavivirusa benzeyen farklı iki RNA genomu bulunduğunu göstermiştir (66). Bu viruslara GBV-A ve GBV-B adı verilmiştir. GBV-A tamarin karaciğerinde replike olmadığı halde GBV-B hepatit oluşturmuştur. Daha sonra ileri çalışmalarda üçüncü yeni bir virus olan GB virus C (GBV-C), nonA-E hepatit olan bazı hastaların GBV-A ve/veya GBV-B'nin rekombinant proteinleri ile cross-immun reaksiyon

gösteren serum örneklerinden izole edilmiştir (65). GBV-A ve GBV-B şimdiye kadar insanlarda saptanamamıştır. GBV-A'nın endojen bir tamarin virusu olduğu ve GBV-C ile yakın ilişkili olduğu açıklanmıştır.

1996 yılında Linnen ve arkadaşları non A-E virusları içerisinde yer alan yeni bir RNA virusu izole ettiklerini ve genomik analizini yaptıklarını bildirmişlerdir. Bu ajana Hepatit-G virus (HGV) adı verilmiştir. Virus genom yapısı bakımından GBV-C ile çok benzer bulunmuştur (45).

GBV-C'nin akut ve kronik hepatit, posttransfüzyon hepatiti, kriptojenik hepatit ve fulminant hepatit ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (8,27,45,50,78). GBV-C'nin epidemiyolojisi ve klinik önemi hakkındaki bilgiler henüz yeterli değildir. GBV-C'nin HBV ve HCV'na benzer şekilde major bulaşma yolunun kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu ve intravenöz.(İV) ilaç kullanımı gibi parenteral yolla olduğu kabul edilmektedir. Hemodiyaliz hastaları da GBV-C yönünden önemli bir risk grubu oluşturmaktadır (8,15,40). Bu çalışmayla bölgemizdeki kronik parankimal karaciğer hastalarında ve kronik hemodiyaliz hastalarında GBV-C insidansını tespit etmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Viral Hepatit Viruslarının Tarihçesi

Viral hepatitler bütün dünyayı ilgilendiren bir sağlık sorunu olma özelliğini günümüzde de devam ettirmektedir. Hastalığın ilk bilimsel tanımı 1865 yılında Wirchow tarafından “Kataral ikter” olarak tanımlanmıştır.

Hepatit B virusu (HBV) yüzey antijeni (HbsAg) ilk defa 1963 yılında Blumberg tarafından gösterilmiştir. Hepatit B esas olarak parenteral geçiş gösteren ve kronikleşen bir hastalıktır. Bunu 1973 yılında Feinstone tarafından hepatit A’nın serolojik testlerinin bulunması izlenmiştir. Hepatit A virusu (HAV) fekal oral yolla bulaşan ve kronikleşme özelliği olmayan bir enfeksiyon etkenidir.

Rizetto ve arkadaşları 1977 yılında Hepatit B gibi parenteral olarak geçebilen, sadece hepatit B taşıyıcılarında görülen ve hepatit D’ye sebep olan hepatit D virusu (HDV)’nu saptamışlardır.

HAV ve HBV enfeksiyonlarının tespiti için tanı testlerinin 1970’lerin başlarında kullanıma girmesiyle enterik ve parenteral yolla geçen bazı hepatit vakalarında bu ajanların etken olmadığı, diğer bilinmeyen hepatotropik virusların etken olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu nedenle bu tür hepatitlere non A ve non B (NANB) hepatitler denilmiştir. Bu terminoloji o zaman için uygun görülmüştür. Daha sonra 1989 yılında immunohibridizasyon taraması ve yeni biyoteknolojik gelişmelerin sağladığı olanaklar sayesinde Choo ve arkadaşları Rekombinant DNA teknolojisini kullanarak major NANB genomunun ajanını izole etmeyi başarmışlardır(12). Hepatit-C virusu(HCV) diye adlandırılan virus genomunun klon ve dizilişlerinin bilinmesi NANB hepatitlerden sorumlu ajanın araştırılmasında önemli bir basamak

olmuştur. Hepatit C virusunun saptanması ve bu ajanla ilgili spesifik testlerin geliştirilmesi hepatit C virusunun molekuler virolojisi hakkında yeni ufukların açılmasına ve yeni çalışmalara olanak sağlamıştır. Bir yıl sonra Reyes ve arkadaşları tarafından hepatit E virusu bulunmuştur (62). Bu virus fekal oral yolla bulaşan ve gelişmekte olan ülkelerde salgınlara neden olan enterik NANB hepatitinin etkenidir.

Bu güne kadar bildiğimiz hepatit A, B, C, D, E etkenlerine son yıllarda hepatit GB virus (tip ABC) ve Hepatit G virusları katılmıştır. Bütün bu virusların ortak özelliği karaciğer dokusuna spesifite göstermeleridir.

2.2. Hepatit A Virus (HAV)

Hastalık enfeksiyöz hepatit olarak bilinmektedir. HAV fekal-oral geçiş özelliğini göstermekte olup gıda ve su kaynaklı hepatit salgınlara neden olmaktadır. İlk defa 1973 yılında enfekte insanların dışkı örneklerinde immunelektron mikroskopu yöntemi ile gösterilen 27 nm boyunda ve ikosahedral yapıya sahip olan virusun morfolojik ve yapısal özellikleri picorna virus ailesine uyumluluk göstermektedir. Hepatit A virusunu diğer Picorna viruslardan ayıran en büyük özelliği yüksek ısıya ve klora olan dayanıklılığıdır. HAV 60°C de bir saat dayandığı halde daha yüksek ısıda özelliklerini hızla yitirmektedir.

Doğada HAV'nun varlığını devam ettirmesi nemli ortamlarda gerçekleşirken, inaktivasyonu için sudaki serbest klor oranının çok yüksek olması gerekmektedir. Bu farklı özelliği HAV'nun su ve gıda yoluyla dağılımının nasıl gerçekleştiğini açıklamaktadır.

Hepatit A Virusunun Moleküler Organizasyonu

HAV, 7,5 (7480 nükleotid) kilobase (kb) uzunluğunda pozitif polariteli tek sarmallı bir RNA genomuna sahiptir. Konservatif bir virus olup antijenik olarak bir serotipinin bulunmasına karşılık nükleik asid dizilimindeki farklılıklar nedeniyle 4 genotipi mevcuttur. İnsan suşlarının çoğunluğu I veya III genotipine aittir.

HAV genomu 5' ucunda 733 nükleotid (nt) uzunluğunda translasyone olmayan bölgeyi (5'-UTR) izleyen 6681 nt'lik tek "Open Reading Frame"den ve 3' ucunda 64 nt'lik (3' UTR) kısa translasyone olmayan bölgeden meydana gelmiştir. 5' UTR ucu translasyonun düzenlenmesinde regülatör görevi üstlenmekte olup, ribozoma iç giriş bölgesini içermektedir. Bu bölgenin aynı zamanda virusun enfektivitesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Tek bir ORF'i içeren HAV'nun genomu kendi içinde 3 bölgeye (P₁, P₂, P₃) ayrılmıştır. HAV kapsid proteini 4 polipeptidden (V_{p1}, V_{p2}, V_{p3}, V_{p4}) meydana gelmiştir(13) (Şekil 1).

Virusun Replikasyonu ve Patolojisi

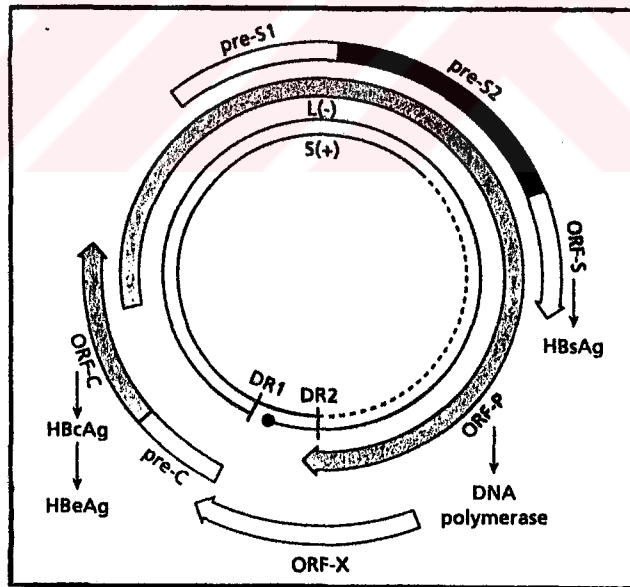
Mide suyunun pH'sına dayanıklı olup replikasyonun karaciğer ve barsaklarda gerçekleştiği gösterilmiştir. HAV'nun replikasyonu için karaciğere olan spesifitesi virus-reseptör ilişkisine veya hücre içi transkripsiyon faktörlerine bağlı olabilir. Hücre sinusoidleri ve safra kanaliküllerine salınan HAV daha sonra barsaklar yoluyla dışkı ile atılır.

HAV'nun doku kültürlerinde başarılı şekilde üretilmesi virusun replikasyon stratejisini anlamamıza ve aşı geliştirilmesine yardımcı olmuştur.

damar içi ilaç kullananlar ve hemodiyaliz hastaları yüksek risk grubu olarak belirlenmiştir.

Hepatit B Virusunun Moleküler Organizasyonu

HBV, zarflı bir virustur. Genomu 3200 nt uzunluğunda küçük bir DNA molekülüdür. Genom kısmen çift sarmallı sirküler yapıya sahiptir. Farklı izolatların nükleotid dizilimleri karşılaştırıldığında genom üzerinde farklı proteinleri kodlayabilecek 4 farklı, "Open Reading Frame" (Pre S ve S, Pre C ve C, P ve X) olduğu gösterilmiştir (Şekil 2). Bu genler, kapsid, kılıf, X proteini ve DNA polimerazı kodlamaktadır. Bu bölgeler birbirleri ile iç içe girmiş durumdadırlar. Farklı proteinlerin oluşması gen okunmasının farklı başlangıç kodonundan (Start kodon) başlanması ile gerçekleşir. Bu yüzden HBV genomu aynı özelliğe sahip diğer lineer genomlara göre 1,5 kat daha fazla kodlama kapasitesine sahiptir.



Şekil 2. Hepatit B virus genomunun organizasyonu

HBV Genomu Tarafından Kodlanan Proteinler

Kılıf Proteinleri

Pre S/S gen bölgesi virusun dış yüzeyini oluşturan HBs Ag polipeptidini kodlamakla görevlidir. Uzun yıllar bu bölgenin yalnızca “S bölgesi” olduğu düşünülmekte idi. Fakat yapılan incelemeler sonucunda bu bölgenin aynı gen bölgesindeki farklı başlangıç kodonlarının okunmasıyla 5 farklı proteinden oluştuğu tespit edilmiştir. Bu bölge Pre-S1+Pre S2+S bölgelerinden meydana gelmektedir. Major protein ise S bölgesi proteininden oluşmaktadır. Bu S proteini 226 aminoasitten meydana gelmiş olup aynı zamanda glikolize olma özelliğine sahip hidrofobik proteindir. HBS Ag’nin büyük bir bölümünü oluşturup B lenfositleri için immunojenik epitoplara taşımaktadır.

Nükleokapsid Proteinleri

Pre C ve C bölgelerinin kodlanması ile oluşmaktadır. Translasyon Pre C kısmında bulunan başlangıç kodundan başlamış ise Hbe Ag’nin prekürsörünü sentez eder. Eğer translasyon C bölgesinden başlamış ise kor antijeni (HBc Ag) sentez edilir. Bu bölgenin viral nükleik asidin hücre nükleusuna translokasyonunda etkili olduğu ve virusun yaplanması sırasında viral nükleik asidin yapı kazanmasında etkin rolü olduğu kabul edilmektedir.

Kor proteini yüksek immunojenik özelliğe sahip olup, bağımsız antijen özelliği göstererek yüksek titrasyonda anti HBc antikor salgılanmasına neden olur. HbsAg pozitifliği, viral DNA ve aktif replikasyonun varlığını gösterir.

X Proteini

HBV genomunun temel basamağı enfekte hücrenin nükleusunda olur. HBV'nun kovalan bağlı küçük sirküler, çift sarmallı DNA genomunu RNA polimeraz-II enzimi transkripte eder ve birçok RNA kopyası oluşur. Transkripsiyon aynı zamanda karaciğere özgü transkripsiyon faktörleri ile kontrol edilir. Bu olayın HBV X proteini sayesinde kompleks bir düzen içinde gerçekleştiği sanılmaktadır.

P Proteini

En büyük genomik bölgedir. Genomun 2/3'lük kısmını içerir. Hepatit B virusunun DNA polimeraz enzimini kodlar. Viral DNA'sının replikasyonu için kritik öneme sahip olup terminal protein, R'Nase, H ve reverse transkriptaz polipeptidlerini kodlayan üç dominantı bulunmaktadır.

Klinik ve Patolojik İlişki

HBV karaciğer hücresi içine girerken Pre S₁ proteinin belli bölgesini kullandığı bilinmesine rağmen, konakçı hücrede kullandığı reseptörler bugüne kadar gösterilememiştir. Hücre içinde HBV'nun transkripsiyonunda karaciğere spesifik transkripsiyon faktörleri etkin rol oynamaktadır. Replikasyon sırasında virusun DNA'sının subgenomik RNA'ya dönüşmesinde konakçıya ait RNA polimerazın temel fonksiyonu olduğu gösterilmiştir. Kor promotörü transkripsiyon için gereklidir. Virus “enhancer element” leri ise hem kor promotörü aktivasyonunun düzenlenmesi hem de karaciğer hücresi ve diğer hücresel faktörlerin aktivasyonu için gereklidir.

X Proteini ve S proteini hücre içi fonksiyonlarını hücrenin düzenli büyümesini etkileyen genlerin üzerinden göstermektedir.

Karaciğer hasarının oluşması virusun direk etkisi ile değil hücresel immun cevap ile gelişmektedir. T lenfositlerinin karaciğer hasarında etkili olduğu kabul edilmektedir. Akut ve kronik HBV enfeksiyonlarında patolojik incelemede karaciğer hücresinin çevresinde sitotoksik T lenfositleri (CTL) ve doğal öldürücü T lenfositleri (NK) birikimi gösterilmiştir.

2.4. Hepatit-C Virus (HCV)

HCV'nun günümüzde, parenteral olarak bulaşan non-A non-B hepatitlerinin en önemli nedeni olduğu bilinmektedir. Anti HCV seropozitifliğine dayanarak HCV enfeksiyonunun bütün dünyada yaygın olduğu söylenebilir. Dünyada yaklaşık 500 milyon insanın HCV ile enfekte olduğu ileri sürülmektedir.

Hepatit C Virusunun Moleküler Organizasyonu

HCV'nun genomu, yaklaşık 10 kb uzunluğunda, tek iplikçikli pozitif RNA virusudur. Viral genom 5' ucunda yaklaşık 324-341 nt uzunluğunda ve 3' ucunda ise 27-55 nt uzunluğunda translasyona uğramayan bölgeye (untranslated region; UTR) sahiptir. Farklı izolatlar arasında 5'-UTR bölgesi ile nükleokapsid bölgesi % 95'e varan şekilde homoloji gösterirken 3' ucuna doğru gidildikçe izolatlar arasındaki uyumun azaldığı saptanmıştır.

HCV'nun kor bölgesi esas alınarak yapılan çalışmada 4 farklı genotip tespit edilirken, 5' son ucu ve NS5 diziliminin bilgisayar analizine göre en az 6 farklı HCV genotipinin olabileceği

bildirilmektedir. E₁ bölgesin dizilimine göre ise bu sayı 12 farklı genotipe çıkmaktadır (60).

HCV'nun genomu 3010 aminoasitten meydana gelen polipeptidi kodlayabilecek tek büyük Open Reading Frame'den (ORF) oluşmuştur. HCV'nun genomunun amino ucunda (N-terminal) bulunan yapısal bölge, yaklaşık 22 kd ağırlığında glikolize olmayan hidrofilik kor bölgesi ve 33 ile 70 kd. ağırlığında zarf glikoproteininden oluşmuştur. E₁ bölgesinden eksprese edilen hidrofobik 33 kd ağırlığındaki zarf proteini hem sitoplazmada hem hücre yüzeyinde bulunur. E₂/NSI bölgesinden ise 70 kd ağırlığındaki viral zarf proteinin eksprese edildiği gösterilmiştir.

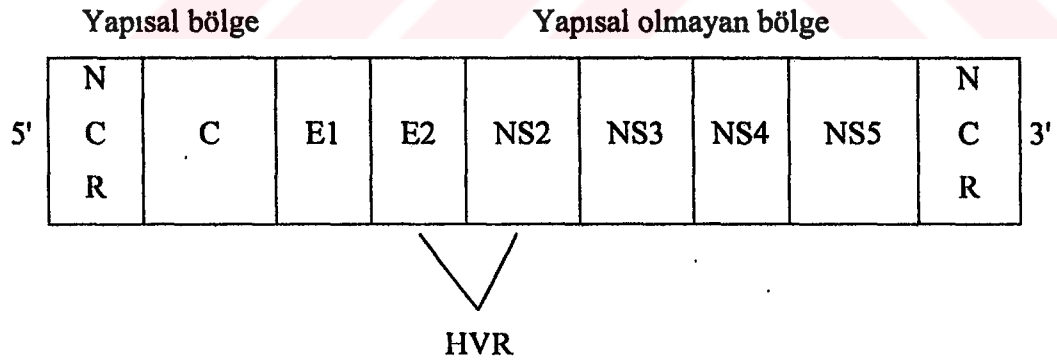
Yapısal olmayan bölgede virusun replikasyonu ile ilgili 5 farklı protein bölgesi mevcuttur. NS2 proteini hidrofobik proteindir ve hücre membranı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. NS3 bölgesi proteini için proteinaz aktivitesi tanımlanmıştır. Proteinin amino ucunda lokalize olan serin proteinaz aktivitesi NS3'un karboksi ucunun kesilmesinde etki gösterir. NS4 bölgesi hidrofobik ve membrana bağlı proteini sentez ederken, NS5 bölgesinin replikasyon için gerekli olan RNA'ye bağımlı RNA polimeraz enzimini eksprese ettiği kabul edilmektedir.

Yoğun değişken bölge (hyper variable region) E₂ zarf proteini amino terminal ucunda tarif edilmiştir. Bu bölgede gerçekleşen mutasyonlar muhtemelen konakçı hücre tarafından immun cevabın gerçekleşmesini engellemektedir (31,60). Hepatit C virusunun genomik yapısı ile yoğun değişken bölge tablo II'de ve hepatit C virusunun kodladığı proteinlerle muhtemel fonksiyonları tablo I'de görülmektedir.

Tablo I : Hepatit C virusünün kodladığı proteinler ve muhtemel fonksiyonları

Gen	Molekül Ağırlığı (kd)	Amino Asit Durumu	Glikoprotein	Fonksiyon
C	12-22	1-191	P21	RNA bağlayıcı nükleokapsid proteini
E1	33-35	192-383	9P31	Zarf proteini
E2/NS1		384-809	9P70	Zarf proteini
NS2	23	810-1009	P23	Membranla ilişkili protein
NS3	70	1010-1619	P70	Serin proteaz metalloproteinaz ?
NS4 A	8	1620-2016	P8	Membrana bağlı replikaz ?
NS4 B	27	1620-2016	P27	Membrana bağlı replikaz ?
NS5	58-68	2017-3003	P58 P68	RNA'ye bağımlı RNA Polimeraz

Tablo II: Hepatit C virusunun genomik yapısı



HVR = Hyper variable Region (değişken bölge)

C = Cor (kor-Çekirdek)

E = Envelope (Zarf)

NS = Non-Strüktürel (yapısal olmayan)

Klinik ve Patolojik İlişki

HCV ile enfekte olan vakaların % 50'ye yakını kronik hepatit formuna dönüşürken, % 20'den fazlası da hepatosellüler karsinoma için risk grubunu oluşturur. Fakat bu ilişkinin mekanizması ve etkileyici faktörler tam olarak anlaşılamamıştır.

HCV proteinlerinin karaciğer hücreleri içerisindeki ekspresyonu gösterilmiştir. Fakat HCV enfeksiyonu sırasında membran proteinlerinin ekspresyonunun gerçekleşip gerçekleşmediği tam aydınlatılamamıştır. HCV enfeksiyonu sırasında humoral immün sistem ile birlikte viral proteinlere karşı (E1, E2, NS3, NS4 ve NS5) CD4-T lenfoid hücre aktivasyonunun gerçekleştiği de gösterilmiştir. HCV RNA'sinin anti HCV antikorlarından önce görülmesi PCR teknolojisi ile enfeksiyonun klinik tablo başlamadan önce tanısını mümkün kılmıştır. Ayrıca anti HCV antikorlarının otoimmün hepatit Tip II'de pozitif olarak gösterilmiş olması diğer bir sakıncadır. HCV genomunun klonlanması rekombinant serolojik tanı metodlarının gelişmesine yol açmıştır. Yapısında yalnızca yapısal olmayan bölge peptidi içeren I. kuşak serolojik testlerin yerine sensitivesi ve spesifitesi daha yüksek II. Ve III. kuşak testler daha güvenilir olarak kullanılmaktadır.

2.5. Hepatit D Virus (HDV)

Delta antijeni veya hepatit D virusu olarak adlandırılmaktadır. Hepatit D virusu İtalya başta olmak üzere Akdeniz ülkelerinde fulminant hepatit ve sirozla seyreden hepatit B virusu taşıyan hastalarda süperenfeksiyona yol açmaktadır. İnsanda yaşam siklusu için HBV'na bağımlı olan HDV defektif bir virustur. Hepatit B yüzey antijeni (HbsAg) hepatit D virusu tarafından karaciğer hücresi içine girmek için manto olarak kullanılmaktadır. Enfeksiyon sırasında HBV enfeksiyonu

gerçekleşir veya gerçekleşmez ancak, HDV, karaciğerde ciddi hasar oluşumu için tek başına yeterlidir. Bu ilişki sırasında 3 farklı yol izlenebilir. HBV ve HDV enfeksiyonu birlikte (koenfeksiyon) olabilir. HBV'nu taşıyan bir kişide daha sonra HDV enfeksiyonu oluşabilir (super enfeksiyon) veya hiç enfeksiyon gelişmeyebilir. İlk ikisinde pragnoz kötü olup, tablo siroz ve fulminant hepatit ile sonlanmaktadır. Dünyada yaklaşık 300 milyon HbsAg taşıyıcısının 15 milyonunda HDV pozitifliği tespit edilmiştir. HDV nun geçisi Hepatit B ve C de olduğu gibi esas olarak parenteral yolla gerçekleşmektedir.

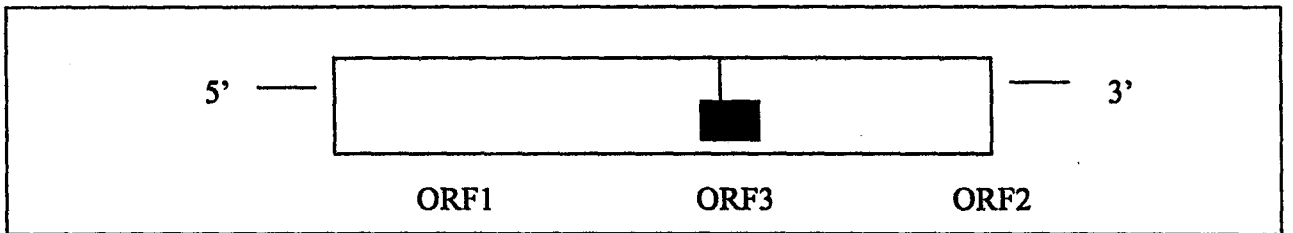
Virusun Replikasyonu ve Klinik-Patolojik İlişki

Virus karaciğer hücresi içine girdikten sonra HDAg ile ilişkili genom nükleus içine taşınmaktadır. Daha sonraki aşamada hücrede RNA polimeraz II enzimini kullanıp, genomun ana ürünü olarak tam uzunlukta pozitif iplikcikli, sirküler RNA'yı transkripte eder. Kısa poliadenilen lineer uzunluktaki ikinci transkript ise sitoplazma içine taşınarak HDAg'nin translasyonu için m RNA görevi yapar (39,49,70).

Akut HDV enfeksiyonu süper enfeksiyon ve ko-enfeksiyon olmak üzere iki form halinde bulunur. Koenfeksiyon HBV enfeksiyonu ile birlikte gerçekleşirken, genellikle parenteral yolu tercih eder. HBV ve HDV birlikte eş zamanlı veya sıra ile replike klasik HBV enfeksiyonu şeklinde seyreder. Süper enfeksiyona %70-95, koenfeksiyonda ise %2-7 oranında kronikleşme riski vardır. HBsAg pozitif taşıyıcılarda gerçekleşen akut HDV süper enfeksiyonu çok daha ciddi seyreder ve kronikleşme riski çok daha fazladır.

2.6. Hepatit E Virus (HEV)

HEV, sferik ve zarfsız, yaklaşık 27-34 nm büyüklüğünde tek sarmallı ve pozitif polariteli bir RNA virusudur (10,36,55,61,68). Virusun genomu 7.5 kb uzunluğunda olup üç reading frame (ORF) ihtiva eder (38,74) (Şekil 3). Genomun 5' ucunun yaklaşık %67'si nonstrüktürel bölgedir ve ORF-1 olarak adlandırılmaktadır. Bu bölgenin viral replikasyon için gerekli olan RNA polymerase'ı kodladığı ileri sürülmektedir (61). Genomun 3' ucundaki geriye kalan %33'lük kısım yapısal bölgedir ve ORF-2'yi oluşturur. ORF-2'nin viral kapsid proteinlerini ve nötralizan epitoplari kodladığı düşünölmektedir (43,61). ORF-3 küçük bir bölge olup ORF-1 ve ORF-2'nin her ikisi ile üst üste gelir (61,75). ORF-3'ün bilinen bir fonksiyonu yoktur. Ancak, hasta serumlarındaki antikorları tanıyan epitoplari kodladığına inanılmaktadır (22). ORF-2'ye ait antijenik proteinlerin hasta serumlarındaki anti-HEV antikorlarını belirlemede ORF-3 ile kodlanan antijenlere göre daha duyarlı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3. HEV'nun Genomu

Klinik ve Patolojik İlişki

Kronikleşme eğilimi olmayan HEV enfeksiyonu kendi kendini sınırlayıcı özelliktedir. Gebelerde özellikle 3. trimestride fulminant hepatit ve koagülopati sonucunda yüksek oranlarda (% 10-20) ölüme neden olduğu bildirilmiştir. Deneysel HEV enfeksiyonu ile elde edilen karaciğer dokularında floresans çalışma ile HEV antijenlerinin varlığı gösterilmiştir. Bu bulgu memeli hücre kültür sistemlerinde yapılan detaylı çalışmalarda doğrulanmıştır. Bu çalışmalarda ORF-3'un hücre duvarı ve sitoplazmada bulunduğu gösterilirken çok az da olsa çekirdek içinde de izlenmiştir. Oysa ORF2 özellikle hücre duvarının belli yerlerinde yoğun olmak üzere sitoplazmada lokalize olmaktadır gösterilmiştir. Hücre kültürü henüz gerçekleştirilmemiş olan HEV'nun memeli hücre kültürlerinde yapılacak model çalışmalarla transkripsiyon stratejisi ile birlikte konakçı hücrelerle olan ilişkisi de aydınlatılabilecektir.

2.7. Hepatit F Virus

İlk defa 1994 yılında viral hepatitli bir Fransız hastanın dışkılarından izole edildiğinden hepatit F virusu diye adlandırılmıştır.

İnsan ve maymunlarda deneysel hepatit F virus enfeksiyonu sonucunda dışkı örneklerinde elektron mikroskopisi ile 27-100 nm büyüklüğünde virusa benzeyen parçacıklar gösterilmiştir (17). Yaklaşık 20 kb uzunluğunda çift zincirli DNA virusu olup, 5 kb uzunluğundaki kısmı klonlanıp, nükleotid dizilimi gösterilmiştir. Maymunlarda oluşturulan deneysel hepatit F virus enfeksiyonunda ALT düzeyi 28 günde yükselmiş ve 59. güne kadar yüksek seyretmiştir. Sporadik NANB hepatitinin etyolojisinden sorumlu tutulmaktadır. Bu virus hakkında

detaylı klinik, epidemiyolojik ve moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır (5).

2.8. Hepatit GB-Virusları

Deinhardt ve arkadaşları 1967 yılında, sebebi bilinmeyen hepatitli hastaların muhtemelen enfekte serumlarını insan dışı canlılara vererek bir dizi transmisyon çalışması yapmışlardır (16). Serumlardan biri isminin baş harfleri GB olan 34 yaşındaki bir cerraha aitti. Bu hastanın bilinen bir hepatit kaynağı ile teması olmamış ve sarılığı 4 hafta devam etmiştir. Hasta serumu maymundan maymuna beş kez pasaj yapılmış ve inokule edilen hayvanların hemen hepsinde karaciğer enzimlerinde yükselme ve karaciğer biopsilerinde histopatolojik değişiklikler meydana gelmiştir.

İlk olarak Lisitsyn ve arkadaşları tarafından 1993 yılında tanımlanan “Örnekleme ayrışım analizleri” (Representative differential analysis-RDA) gibi moleküler biyolojik teknikler, yeni ve bilinmeyen virusların tanımlanması için yapılan araştırmalarda kullanılmıştır (46). Bu metod sayesinde GB hepatiti ile enfekte edilen tamarin cinsi maymunlardan elde edilen iki flavivirus benzeri genomun moleküler klonlaması mümkün olmuştur (66). GBV-A genomu 9493 nt'den oluşmakta ve araştırılan RDA klonlarından beşinin sekanslarını içermektedir. GBV-B, 9143 nt içerir ve sekansları 2 RDA klonunda bulunmuştur (52). Bu iki GB ajanı aminoasit seviyesinde % 27 benzerlik gösterir ve yine herikisinin HCV ile benzerliği % 28'dir. Bu veriler GBV-A ve GBV-B'nin flavivirus grubu içinde iki yeni bağımsız ajan olduklarını göstermektedir (52). Northern blot hibridizasyonu ile enfekte tamarin karaciğerinde GBV-B'nin RNA'sı belirlenebildiği halde

GBV-A'nın RNA'sı belirlenememektedir. GBV-B viremisi karaciğer enzimlerinde bir artışa yol açmasına rağmen yalnızca GBV-A viremisi olan hayvanların enzim değerlerinde herhangi bir artış olmadığı görülmüştür.

Akut hepatit döneminde plazmada her iki virusun nükleik asitlerinin ve özellikle enfekte karaciğerde GBV-B'nin varlığının kanıtlanması, inokule edilen tamarinlerde GBV-B'nin hepatite sebep olduğunu düşündürmektedir. Tersine, GBV-A tamarinlerde, bulaşa sebep olduğu halde tek başına hepatit oluşturmamaktadır.

Schlauder ve arkadaşlarının (63) yaptığı invivo çalışmalar yalnızca GBV-B ile enfekte edilen hayvanlardaki pik ALT değerlerinin, GBV-B/GBV-A koenfeksiyonu bulunan hayvanlara göre daha düşük seviyelerde olduğunu göstermiştir; Bu da hepatitin ağırlık derecesinin her iki virusun birlikte bulunmasıyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

E.coli aracılığıyla üretilen yapısal olmayan proteinler olan NS/3-4-5'ten elde edilen rekombinant antijenler kullanılarak, GBV-A ve GBV-B'ye karşı oluşan antikorları belirleyen ELISA testleri geliştirilmiştir (59). Her iki virusun veya tek başına GBV-B'nin inoküle edildiği hayvanların serumunda GBV-B'nin varsayılan epitoplarına karşı antikorlar belirlenmiştir. Fakat enfekte edilen hayvanların hiç birinde GBV-A'nın öngörülen epitoplarına karşı antikor oluşmamıştır. Bu da GBV-A'nın antijenlerinin tamarinlerde immunojenik olmadığını göstermektedir.

İnsanlardaki GBV-A ve GBV-B'ye karşı oluşan antikorların seroprevalansını belirlemek için birçok kor proteini ve yapısal olmayan protein ile ELISA testleri gerçekleştirilmiştir (65). GBV-A ve GBV-B'ye

karşı antikor tespit edilen serumlarda yapılan RT-PCR çalışmaları ile bazı örneklerde virus genomu gösterilememektedir. Serolojik sonuçlar, ilişkili viruslar tarafından kodlanmış proteinler ile çapraz reaksiyona bağlı olabilir.

İmmunoreaktif serumlarla yapılan daha yoğun çalışmalar, GBV-A, GBV-B ve HCV'na sınırlı sekans benzerliği gösteren yeni bir RT PCR ürünü ortaya koymuştur. Daha sonra bunun flaviviruslar ailesinin yeni bir üyesi olduğu belirlenmiş ve bu yeni virus GBV-C olarak adlandırılmıştır. GBV-B'ye nazaran GBV-A'ya daha fazla benzemekte ve HCV genotiplerinden belirgin farklılık göstermektedir.

E.coli kullanarak GBV-C sekanslarının rekombinant proteinleri üretilmiş ve immunoreaktif GBV-C serumunu tespit için kullanılmıştır. NonA-E hepatitli 161 kişiden beşi (%3.1) GBV-C proteinlerine immunoreaktif bulunmuştur. Halbuki GBV-A, GBV-B, GBV-C için total pozitiflik hastaların 26'sında (%16.1) tespit edilmiştir. Bu 26 serumun 8'inde GBV-C'ye spesifik primerler kullanılarak RT-PCR pozitifliği saptanmıştır. GBV-C virusunun kan vericilerde, karaciğer hastalığı olanlarda, kan ve kan ürünlerine temas nedeniyle yüksek riskli olan gruplardaki prevalans sonuçları değişken bulunmuştur (1,28,56).

HGV/HGB-C Viruslarının Epidemiyolojisi ve Bulaşma Yolları

Virusun geçişinin hepatit B ve C için tanımlanan kan transfüzyonları, intravenöz ilaç kullanımı, kronik hemodiyaliz hastaları gibi parenteral yollarla olduğu gösterilmiştir (1,8,15,40).

A.B.D. ve İngiltere'de kan donörleri arasında yapılan çalışmalarda HGV RNA pozitifliği % 1.6-3.2 arasında olduğu bildirilmektedir

(19,39). Tüm dünyadaki kan vericilerinde anti HCV antikorları %0.5-1.5 oranında bulunmaktadır ve bunların %50'sinde aynı zamanda hepatit-C virusunun RNA'sı tespit edilmektedir. Bu yüzden kan donörlerinde HGV-RNA'nın HCV-RNA'inden daha sık bulunduğu tahmin edilebilir. Ancak hastalığın seyrinin daha ılımlı olması ve ALT değerinin daha düşük seviyede olması nedeniyle HGV etyolojili posttransfüzyon tanısı daha nadir konulabilmektedir. Japonya da kan donörlerinde HGV RNA'nın pozitifliği %09 olarak bulunmuştur (50). HGV enfeksiyonunun coğrafik dağılımı üzerinde yapılan çalışmalar henüz yetersizdir. HGV için risk teşkil eden multipl transfüzyon yapılanlar, (hemofili ve talasemi hastaları) damar içi uyuşturucu bağımlıları, hemodiyaliz hastaları ve transplantasyon hastalarında HGV enfeksiyonunun prevalansı (%3.2-35) daha yüksektir (20,29,50). Batı Avrupa da İntravenoz ilaç kullananlarda ve hemofili hastaları gibi sık kan transfüzyonu yapılan hastalarda HGV RNA'nın oranları %18-33 arasında tespit edilmiştir. Aynı zamanda dikkati çeken önemli bir nokta kronik hepatit B'li hastalarda %10 ve HCV enfeksiyonlu hastalarda %21 gibi yüksek oranlarda, HGV koenfeksiyonunun bulunmasıdır (32,35,53).

Avustralya'da benzer şekilde IV ilaç kullanıcılarında PCR ile HGV RNA'i %25, sık kan transfüzyonu yapılan hastalarda ise %58 oranında saptanmıştır (Tablo III). Ülkemizde yapılan çalışmalarda da talasemia ve kemik iliği transplantasyonu vakalarında %15 (72) aplastik anemili hastalarda % 26.3 ve hemodiyaliz hastalarında %25 oranında HGV RNA pozitifliği saptanmıştır (33).

Değişik gruplarda HGV enfeksiyonunun prevalansı ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçları tablo III'te görülmektedir.

Tablo III. HGV Enfeksiyonun prevalansı (JIFCC 1997. Vol 9. No:1)

Ülke	Gruplar	Sayısı	HGV RNA (+) (%)
Japon	Sağlıklı kan vericisi	448	%09
İtalya	Sağlıklı kan vericisi	100	%1-0
USA	Kabul edilen kan vericisi	769	%1-7
USA	Kabul edilmeyen kan vericisi	709	%16
İndonesya	Kronik hepatitli hastalar	149	%5
Avrupa	Kronik non-A-C hepatitli hastalar	110	%8
USA	Kronik non-A-C hepatitli hastalar	48	%12
Avrupa	Kronik HCV hepatitli hastalar	96	%19
Japon	Kronik HCV hepatitli hastalar	128	%7
Avrupa	Kronik HBV hepatitli hastalar	72	%10
Japon	Hemodiyaliz hastaları	519	%3
İndonesya	Hemodiyaliz hastaları	58	%55
Taiwan	Transfüzyon alıcıları	400	%9
USA	Transfüzyon alıcıları	12	%17
Avrupa	Multipl transfüzyon yapılan hastalar	100	%18
İngiltere	Multipl transfüzyon yapılan hastalar	38	%47
Australya	Multipl transfüzyon yapılan hastalar	19	%58
Avrupa	Hemofilialı hastalar	49	%18
Avrupa	I.V ilaç kullanıcıları	60	%33
USA	I.V ilaç kullanıcıları	122	%28
Almanya	I.V ilaç kullanıcıları	130	%33
Australya	I.V ilaç kullanıcıları	20	%25
Japonya	HCV (+) I.V ilaç kullanıcıları	49	%24

HGV/HGB-C Viruslarında Klinik Bulgular ve Klinik Önemi

HGV ile hastalığın ilişkisi tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bununla birlikte belirgin şekilde hepatite sebep olduğunu bildiren bir çok çalışma bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar PCR ile HGV RNA'ı pozitif olarak bulunan hastaların yaklaşık yarısında yüksek transaminaz değerleri gösterilmiştir. Bununla birlikte HGV'nun kronik hastalığa yol açması ancak diğer viral ajanların varlığında mümkün olmaktadır.

Posttransfüzyonel hepatit vakalarında HGV enfeksiyonu HCV'na göre klinik olarak daha hafif olma eğilimi göstermektedir. Bugüne değin ikterik hepatitle giden olgulara rastlanmamıştır. Posttransfüzyonel HGV enfeksiyonundaki transaminaz düzeyleri posttransfüzyonel HCV enfeksiyonunda bildirilen olgulardaki düzeylerin yaklaşık yarısıdır. HGV viremisinin bulaşmadan sonra en az 12 ay sürdüğü gözlenmektedir. Hastalığın seyri sırasında üç klinik sonuç açıklanmıştır.

Birincisi; hızlı bir şekilde iyileşme, transaminaz değerlerinin normale dönmesi ve vireminin kaybolması.

İkincisi; gecikmiş iyileşme tablosu.

Üçüncüsü; Diğer viral hepatit ajanlarının da potansiyel rolünün ileri sürüldüğü kronik hepatit G tablosu.

Diğer taraftan HGV ve HCV'nun aynı geçiş yolunu paylaştıkları bilinmektedir. HCV çoğunlukla (%50-80) kronik hepatite neden olmaktadır. Kronik hepatit gelişen vakaların bir kısmı (%20-30) siroza ve bu olguların da az bir kısmı hepatosellüler kansere yol açmaktadır. Bireylerin genetik heterojeniteleri ve konağa ait olan faktörler ile virolojik

faktörlerin hastalığın progresyonunda prediktif olup olmadığı yoğun araştırmalar arasındadır. Buna karşılık henüz açıkça dikkate alınmamış diğer bir virolojik faktör olan HGV ile koenfeksiyon prediktif bir faktör olabilir.

HGV/GBV-C enfeksiyonunun akut veya kronik karaciğer hastalığına neden olup olmadığı konusunda oldukça farklı değerlendirmeler yapılmaktadır. HGV/GBV-C'nin fulminan karaciğer yetmezliğinde rolü olduğu iddia edilmiştir. Yoshiba ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada HGV/GBV-C'nin fulminan karaciğer yetmezliği ile % 45 oranında bağlantılı olduğu belirtilmektedir(76). Masuka ve arkadaşları ise bu virusların karaciğerde inflamasyona neden olmadıklarını, çünkü sadece bu virusla enfekte hastaların hiç birinde aminotransferaz yüksekliği bulmazken, aminotransferaz yükseliği saptadıkları hastaların ise HBV yada HCV ile koenfekte olduklarını bildirmişlerdir. Bu araştırmacı grubunun vakaları hemodiyaliz programında olan hastalardı(50). Ancak bunun doğrulanabilmesi için ileri çalışmalara gerek vardır.

HGV parenteral, kan ve kan ürünlerinin verilmesiyle bulaşan bir viral ajandır. Bu nedenle multipl regüler transfüzyon yapılan hastalar, damar içi uyuşturucu bağımlıları, hemodiyaliz hastaları HGV için risk gruplarını oluşturmaktadır (20,29,50). Yukarıdaki bulgular ışığında HGV pozitif olan hastalarında ortak risk faktörleri mevcuttur. Bu risk faktörleri nedeniyle bu hastalarda HBV ve HCV ile koenfeksiyon riskinin bulunması açıktır. HBV ve HCV'nun testlerle elimine edilmesi, HGV'ne bağlı transfüzyon hepatitini azaltmaktadır.

HGV'nun MOLEKÜLER KLONLANMASI VE ANALİZİ

Linnen ve arkadaşları 1996 yılında Non A-E virusları içerisinde yer alan bir hastanın plazmasından yeni bir RNA virusu tanımlamışlardır. Şimdilerde Hepatit G olarak tanımlanan bu yeni virusun genomu sekanslanmıştır (45).

1- HGV, pozitif iplikçikli bir RNA virusu olup yapılan sekans analizleri HCV pozitif hastada genomun yaklaşık 9392 nükleotitten ibaret olduğunu ve 2873 aminoasitten oluşan bir poliproteini kodladığını göstermiştir. Genom tek bir Open Reading Frame (ORF) ile 5' ve 3' uçlarında 458 nt'lik ve 315 nt'lik translasyone olmayan bölgeden meydana gelmektedir (5-UTR, 3-UTR). HGV'nun nonstrüktürel bölgesi Flavivirusların özelliklerine uygun olarak 1 helikaz, 2 proteaz ve RNA'ye bağımlı bir RNA polimeraz proteini içermektedir. (Şekil 4) Muhtemel strüktürel bölgelerinin 5' ucunda ve non strüktürel bölgerinin de 3'ucunda yerleşmesiyle HGV nin organizasyonu tamamlanmaktadır (45).

2- Tek başına HGV RNA'si pozitif olan hastada ise genom 9103 nt uzunluğunda olup 2910 amino asit uzunluğunda olan polipeptidi kodlamaktadır. Her iki nükleotid diziliminin analiz uyumu %90.5 olarak bulunurken amino asit dizilimi %97.5 olarak tespit edilmiştir(45).

Diğer taraftan yapılan genom analizleri HGV, HGBV-A HGBV-B, HGBV-C ve HCV'nun flaviviridae virus ailesinin özelliklerini gösterdiği anlaşılmıştır. Bu virusların yapısal olmayan genleri HGV'na benzemekteyken yapısal genlerdeki benzerlikler çok azdır. HGV nun yapısal genlerinin HCV, GBV-B ve GBV-A'ya benzerlikleri çok sınırlıdır. Ancak HGV ile GBV-C'nin yapısal genleri ile ileri derece benzerlik gösterir. HGV ile HCV arasında amino asit seviyesinde %26

oranında homoloji saptanmışken bu oran HGV ile GBV-C arasında %95 olarak bulunmuştur. HGV ve GBV-C'nin helikaz bölgelerindeki amino asit ve nükleotid dizilerinin karşılaştırılması sonucu bu iki virusun aynı virusun farklı 2 izolatu olduğu ortaya çıkmıştır (77).

Bugüne değin sağlanan veriler ışığında HGV ve HGBV-C'nin farklı evrelerde değişim geçirmiş olan aynı virus olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle farklı terminolojik isimler yerine genom hakkındaki tüm bilgiler netleşene kadar bu etkenlere HGV/HGBV-C olarak isimlendirilmesi uygun gibi görülmektedir.

5'		E1, E2	NS2	NS3	NS4	NS5A	NS5B	3'
----	--	--------	-----	-----	-----	------	------	----

Gen Ürünleri

Structural Proteinler	Non-Structural (NS) Proteinler					
	Zarf	?	Protease/Halicase	?	?	Replicase

Şekil 4. Hepatit G virusünün genomu

HGV/GBV-C Enfeksiyonlarının Tanı Yöntemleri

HGV/GBV-C enfeksiyonlarının tanısı için günümüzde yaygın olarak kullanılan tek metod spesifik primerlerle yapılan RT-PCR tekniğidir. HGV/GBV-C tanısında kullanılan bazı PCR stratejileri tablo IV'te görülmektedir. RT-PCR ile sadece HGV/GBV-C RNA tespit edildiğinden dolayı akut veya kronik HGV/GBV-C enfeksiyonlarının tanısı konulabilir. Ancak PCR tekniği ile geçirilmiş enfeksiyonlar tanınmaz. Bu nedenle PCR'na dayalı epidemiyolojik çalışmalarda bulunan HGV/GBV-C enfeksiyon prevalansları muhtemelen gerçek prevalansın altındadır. HGV/GBV-C henüz hücre kültürlerinde üretilmemektedir.

HGV/GBV-C antijen veya antikorlarının tespiti için henüz duyarlı ve spesifik, ticari olarak mevcut serolojik testler geliştirilememiştir. Ancak yakın zamanlarda araştırma amaçlı ELISA testinin geliştirildiği bildirilmiştir. HGV/GBV-C virusunun zarf proteinini kodlayan E2 geni klonlanmış ve CHO(Chinese Ovary Hamster) hücrelerinde eksprese edilmiştir. Daha sonra E2 antijeni purifiye edilip ELISA'da kullanılmıştır. Yapılan az sayıdaki çalışmalarda GBV-C'nin rekombinant E2 proteinine karşı antikorlar, GBVC RNA (+) kişilerde nadiren tespit edilmiştir. Pilot Matias ve arkadaşları tespit edilebilir HGV RNA'ı olmayan 40 I.V ilaç kullanıcısının 27'sinde (%67,5) E2 antikorlu bulunurken, HGV RNA'ı pozitif olan 13 kişiden 2 (%15-3)'sinde E2 antikorlu tespit etmişlerdir (59)

İlk verilere göre E2 antikorlarının gelişmesi enfeksiyonun iyileştiğinin bir göstergesidir. E2 antikoru gelişmeyen hastalarda ise yıllarca sürebilen viremik enfeksiyonun geliştiği bildirilmiştir (25).

HGV/GBV-C enfeksiyonunun tanısı için kullanılan RT-PCR metodunda seçilen spesifik primerler genellikle helikaz/NS3, NS5 ve replikaz, 5' UTR bölgelere aittir (5'-untranslated region). Özellikle helikaz (%99) ve replikaz (%92,7) bölgeleri iyi korunmaktadır. PCR ürünlerinin tespiti, agaroz jelde etidyum bromidle boyanmış HGV/GBV-C ürünlerinin moleküler ağırlıklarına göre yapılabildiği gibi radyoaktif ve non-radyoaktif materyallerin kullanıldığı çeşitli metodlar da aynı amaçla kullanılmaktadır.

Tablo IV. HGV/GBV-C tanısında kullanılan bazı PCR stratejileri

Hedef Bölge	Yapılan İşlem	Kaynaklar
Helikaz/NS3	Random heksamerlerle cDNA sentezi; degenerate primerlerle heminested PCR; Southern blot hibridizasyon	65
Helikaz/NS3	Degenerate primerlerle nested PCR, DNA EIA	24
5' non translated bölge ve NS5	cDNA random heksomerle cDNA sentezi, işaretli Prob ile hibridizasyon ve anti-dioxigenin EIA	65
5' Non translated bölge	Random heksamerlerle cDNA sentezi, nested PCR	52
5' Non translated bölge	Korunmuş ve degenerate primerlerle yapılan nested PCR	67

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada kronik hepatit tanısı konmuş 87 hasta ile 76 hemodiyaliz hastasına ait serum örneklerinde GBV-C RNA'nın varlığı nested RT-PCR yöntemi ile araştırıldı(21). Kronik hepatitli hastalarda tanı peritonoskopik yada perkutan karaciğer biyopsileriyle alınan doku örneklerin histopatolojik tetkiklerine göre konuldu. Kronik hepatit ve hemodiyaliz hastalarında hepatit B ve C viruslarına ait serolojik markerların araştırılmasında Murex firmasına ait ticari ELISA kitleri, Anti-HCV antikorlarının tespiti için üçüncü jenerasyon ELISA kiti kullanıldı. Her iki gruptaki hastaların hiç birisinde alkol ve oto immün karaciğer hastalığı öyküsü bulunmuyordu. GBV-C RNA'nın tespiti için yapılan RT-PCR prosedürlerinde GBV-C genomunun helikaz/NS3 bölgesinden derive edilen primer G8 (sense, 5'-TAT G CAT GGH ATH CCY CT-3', H; A, C ve T karışımını, Y; C ve T karışımını göstermektedir.), primer G9 (antisense, 5'-TCY TTG ATG ATD GAA CTG TC-3', Y;T ve C karışımını ve D; A,G ve T karışımını göstermektedir.), primer G10 (sense,5'- CAT TCV AAG GCG GAG TGY GA-3', V; A,C ve G karışımını göstermektedir.) ve primer G11 (antisense, 5'- TCY TTA CCC CTR TAA TAG GC-3', R; A ve G karışımını göstermektedir.) olmak üzere spesifik primerler kullanılmıştır. Serum örnekleri çalışılana kadar -70°C'de saklanmıştır.

Serum örneklerinden RNA'nın ekstraksiyonu:

RNA'nın ekstraksiyonu için 400 µl lizis tamponu (4M guanidinium isothiocyanate, 25 mM Na-Citrat, %0.5 sarcosyl ve 3 µl DTT) üzerine 100 µl hasta serumu ilave edilip vortekslendi ve 60°C'de 10 dakika inkübe edildi. Bu karışıma RNA'nın presipitasyonu için 500 µl isopropil alkol

ilave edilip +4°C'de 13.000g'de 15 dakika santrifüj edildi. Çökelti 1 ml %70'lik soğuk etanolde süspanse edildi ve -20°C'de bir gece bekletildi. Tüpler tekrar 13.000g'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi. Daha sonra çökelti 500 µl 1xPCR buffer ile çözüldü.

RNA'nın cDNA'ya reverse transkripsiyonu:

Viral RNA'nın cDNA'ya transkripsiyonu için 2 µl RNA örneği, 1 µl RT buffer, 4 µl dNTP (her birinden 25 mM),1 µl primer G9(100pm), 2 µl MgCl₂ (her birinden 25 mM), 0.5µl reverse transcriptase (10U), 0.5 µl RNase block'dan oluşan 11 µl'lik karışım 43°C'de 1 saat inkübe edildi. Karışımındaki reverse transcriptase enziminin inaktivasyonu için örnekler 99°C'de 5 dakika inkübe edildi ve sonra +4°C'ye getirildi.

cDNA'nın amplifikasyonu:

cDNA'nın amplifikasyonu için PCR 2 evrede yapıldı. PCR'ın 1. evresinde 11 µl'lik cDNA ürününün üzerine 0.5 µl Taq polymerase (2.5U), 3µl MgCl₂ (25mM), 1µl primer G8, 1 µl primer G9 ve 33.5 µl 1xPCR bufferdan oluşan toplam 50µl'lik karışım, M.J. Research PTC-150 tipi bir thermal cycler'da 35 siklus;her siklus 94°C'de 30 sn. denatürasyon, 55°C'de 30 sn. annealing ve 72°C'de 60 sn. elongasyon olmak üzere inkübe edildi. Daha sonra 72°C'de 8 dk. son elongasyona tabi tutuldu.

PCR'ın 2. evresinde, 5 µl amplifikasyon ürünü, 3µl MgCl₂ (25mM), 2µl dNTP (her birinden 25mM), 0.5µl Taq DNA polymerase(2.5U), 1µl primer G10, 1µl primer G11 ve 37.5µl 1xPCR bufferdan oluşan toplam 50 µl'lik karışım 30 siklus, her siklus 94°C'de 30 sn., 55°C'de 30sn. ve 72°C'de 45 sn. olmak üzere amplifikasyona tabi tutuldu ve daha sonra 72°C'de 8 dakika son elongasyon yapıldı.Her PCR prosedurunda bir

pozitif kontrol serum örneği ve 3 distile su örneği negatif kontrol olarak çalışmaya dahil edildi.

Amplifikasyon ürünleri %2'lik agaroz jelinde yapılan elektroforez ile analiz edildi. PCR'ın 1. ve 2. evresinde oluşması beklenen amplifikasyon ürünleri sırasıyla 158bp ve 83bp'lik fragmanlar idi. Agaroz jelde 83bp'lik ürünler görüldüğünde GBV-C RNA'i pozitif olarak değeriendirildi.

Çalışmamızın sonuçları ile ilgili istatistik işlemler “SPSS for Windows (Ver.5.01) paket programında yapıldı. Veriler Student-t testi ile karşılaştırıldı. P değeriinin 0.05'ten küçük değeri anamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Hemodiyaliz hastalarında GBV-C'nin sıklığını saptamak amacıyla toplam 76 hasta çalışmaya alındı. Bu hastaların 46(% 60)'sı erkek, 30(% 40)'u kadındı. Hastaların ortalama yaşı 46.3 ± 14.6 yıl olup uygulanan ortalama hemodiyaliz süresi 50 ± 36 ay olarak saptandı. Diğer hepatit belirleyicileri göz önünde alınmaksızın yapılan değerlendirmede GBV-C RNA 16 olguda (% 21) pozitif bulundu. Onüç olguda (%17) ise tek başına GBV-C RNA pozitifliği tespit edildi. Hemodiyaliz hastalarının HCV, HBV, GBV-C, koenfeksiyon dağılım ve diyaliz süresine ilişkin veriler Tablo V'de görülmektedir. Çalışmamızda HGV RNA pozitif ve HGV RNA negatif olan hastalar arasında ortalama diyaliz süresi, kan transfüzyon sayısı, hastanın cinsi ve yaşı yönünden önemli bir farklılık bulunmadı.

Tablo V: Hemodiyaliz hastalarında HCV, HBV, GBV-C enfeksiyonların dağılımı ve diyaliz süreleri

76 Hemodiyaliz hastasında HCV, HBV, GBV-C enfeksiyonların dağılımı			
	<u>SAYI</u>	<u>E/K</u>	<u>DİYALİZ SÜRESİ (ay)</u>
Tüm Hasta	76	46/30	50 ± 36
Virus Yok	39	23/16	47 ± 38
HBV	2	1/1	41 ± 11
HCV	19	10/9	54 ± 22
GBV-C	13	10/3	32 ± 16
GBV-C + HCV	3	2/1	28 ± 9

Virus saptanmayan olgularda ve tek başına GBV-C pozitifliği saptanan olgularda ALT ve AST değerleri normal olarak bulunurken HBV, HCV enfeksiyonu olan hastaların ise bir kısmında ve GBV-C + HCV pozitif olguların hepsinde ALT ve AST değerleri anormal bulundu (Tablo VI).

Tablo VI: Hemodiyaliz hastalarının virolojik, biyokimyasal ve transfüzyon yönünden özellikleri

	No	Transfüzyon yapılan hasta	ALT ve AST yüksekliği	ALT	AST
Virus Yok	39	22	0	39 ± 21	31 ± 33
HBV	2	1	1	30 ± 17	33 ± 5
HCV	19	12	11	51 ± 38	47 ± 41
GBV-C	13	6	0	33 ± 18	38 ± 26
GBV-C+HCV	3	2	3	78 ± 26	83 ± 42

Kronik Hepatitli hastalarda GBV-C sıklığının araştırıldığı hasta sayısı 87 idi. Bu olgularda ortalama yaş 50.08 ± 14.2 idi. Bu olguların 65(% 74.7)'i erkek, 22(% 25.3)'i kadındı.

Non A-E hepatitli 14 olgunun 3(% 21)'ünde GBV-C RNA pozitifliği saptandı. HCV pozitif 26 olgunun 1(% 3.8)'inde GBV-C RNA pozitifliği. Tüm olgularda HGV-RNA pozitifliği 4 olarak bulundu (% 4.5). Kronik hepatit hastalarda virus dağılımı tablo VII'de görülmektedir.

Tablo VII: Kronik hepatitli hastalarda HCV, HBV ve Non A-E virus enfeksiyonların dağılımı

	Sayı	(%)	GBV-C RNA (+)'liği	
			Sayı	%
HBV	47	(% 54)	-	-
HCV	26	(% 29)	1	(% 3.8)
Non B- Non C Hepatit	14	(% 16)	3	(% 21)
TOPLAM	87	(% 100)	4	(% 4.5)

Kronik hepatitli olguların tümünde ALT' ve AST düzeyleri yüksek olarak bulundu. Bu grubun virolojik ve biyokimyasal özellikleri tablo VIII'de görülmektedir.

Tablo VIII: Kronik hepatitli hastalarda virolojik ve biyokimyasal özellikler

	GBV-C	GBV-C + HCV	HBV	HBV + HCV	Non B- Non C	HCV
	(3)	(1)	(47)	(9)	(11)	(16)
ort.yaş yıl	56.0	43.0	49.7	45.2	50.4	52.2
ALT	53.3	68.7	85.6	79.0	68.0	76.4
AST	43.6	83.9	89.9	75.2	71.3	64.0

5. TARTIŞMA

Son yıllarda hepatit virusları ailesine yeni katılan HGV/GBV-C virusunun keşfedilmesinden sonra, bu yeni virusların hepatitleriyle ilişkisi ile ilgili araştırmalar hız kazanmıştır (35,51).

HGV/GBV-C'nin, kronik hepatite neden olan HBV ve HCV'na benzer şekilde parenteral yolla bulaşması, 13 yıla varan persistan viremi oluşturması, bu virusun kronik taşıyıcılığını göstermektedir. Bununla birlikte bu virusun karaciğer hastalıklarındaki klinik önemi ve patojenitesi açıklığa kavuşmamasına rağmen bu virusun kronik taşıyıcılığının olması kronik HGV/GBV-C enfeksiyonun kronik hepatite neden olabileceği ihtimalini doğurmuştur (3,41,78).

Çeşitli araştırmalarda HGV/GBV-C'nin akut non A – E hepatitli hastaların serumunda % 2-9 (4, 54), kronik non A – E hepatitli hastalarda ise % 4-39 (24, 54), fulminant hepatitli hastalarda % 0-50 (24), kriptojenik sirozlu hastalarda %14-36 (11) ve posttransfüzyon hepatitli olguların %4-12.5'unda (2,37) bulunduğu rapor edilmiştir.

HGV/GBV-C'nin HBV ve HCV ile ortak bulaşma yolu olan parenteral geçişi kullanması nedeniyle GHV/GBV-C'nin hepatit B virusu ve hepatit C virusu ile koenfeksiyonu oldukça sık oranlarda; sırasıyla %5-15 ve %10-20 oranlarında rastlanmaktadır (32,35,53).

Hemodiyaliz hastaları da HGV/GBV-C virus enfeksiyonu yönünden HBV ve HCV virus enfeksiyonları gibi yüksek risk altındadır. Bu grup hastalarda yapılan çalışmalarda HGV/GBV-C virus enfeksiyon oranı %3.1-58 (15,50) arasında tespit edilmektedir.

Hepatit virus enfeksiyonlarının endemik olarak görüldüğü bölgemizde (30) kronik hepatitli hastalarda GBV-C virus enfeksiyonu ile HBV ve HCV’u enfeksiyon prevalansını belirlemek için yaptığımız bu çalışmada 87 kronik hepatitli hastanın 26 (%29.9)’sında anti HCV antikoru ve 56 (%64.3)’sında HbsAg pozitif bulundu. Bu hastaların 47’si sadece HBV, 16’sı sadece HCV, 9 hasta hem HBV hem HCV, 1 hasta GBV-C ve HCV ile koenfekte idi. Böylece hastaların 73 (% 84)’ünde HBV ve/veya HCV enfeksiyonuna bağlı kronik karaciğer hastalığı olduğu belirlendi. Geriye kalan 14 (%16) hasta da HBV ve HCV’na ait serolojik belirleyiciler tespit edilemedi ve bu hasta grubu non B non C olarak tanımlandı.

GBV-C RNA 87 kronik hepatitli hastanın toplam olarak 4 (%4.6)’ünde tespit edildi. Bu hastaların 3’ü tek başına GBV-C ile enfekte iken 1’inde HCV ile koenfeksiyon bulundu. GBV-C, kronik hepatit C’li 26 hastanın sadece 1 (%3.8)’inde bulundu. Buna karşılık diğer ülkelerde yapılan çeşitli çalışmalarda kronik hepatit-C’li hastalarda HGV/GBV-C RNA oranları Japonya’da %12 (54), Amerika’da %16 (9), Almanyada %19 (64), İngiltere’de %20.6 (47),Çin’de %8.2 (73) olarak bildirilmiştir. Kronik hepatit B’li hastalarımızda serum örneklerinin hiçbirinde GBV-C RNA pozitifliği bulunmadı. Aksine yapılan benzer çalışmalarda kronik hepatit B’li hastalarda GBV-C RNA pozitiflik oranları Almanya’da %16 (32), İspanya’da %8 (25) ve Japonya’da % 5 (54) olarak bildirilmiştir.

Çalışmamızda non B – non C hepatiti olan 14 hastanın 3 (% 21.4)’ünde GBV-C RNA varlığı tespit edildi. Non B non C’li hasta grubundaki GBV-C enfeksiyon prevalansının (%21.4), kronik hepatit C’li hastalardaki orandan (%3.8) daha yüksek olduğu görüldü. Ülkemizde İstanbul’da yapılan bir çalışmada Türkoğlu ve arkadaşları (7)

kronik non A – E hepatiti olan 7 hastanın hepsinde (%100), akut non A – E hepatiti olan 10 hastanın 7 (%70)’sinde, kronik B hepatiti olan 22 hastanın 3(%13.6)’ünde GBV-C RNA pozitifliği tespit etmişlerdir.

Kaymakoglu ve arkadaşlarının (42) yaptıkları diğerk bir çalışmada ise kronik karaciğerk hastalığı olan 84 hastanın 18 (%21)’inde HGV RNA pozitifliği bulunmuştur. Diğerk ÷lkelerde yapılan çalışmalarda Feucht ve arkadaşları Almanya’da non A-E hepatiti olan 154 hastanın 3(%1.9)’ünde HGV-RNA tespit etmişlerdir(23).

İspanya’da Guilera ve arkadaşları(25) kriptojenik kronik karaciğerk hastalığı olan 24 olgunun 2 (%8)’sinde HGV enfeksiyonu olduğunu bildirmişlerdir. Yine Japonya’da yapılan benzer çalışmalarda Nakatsujima ve arkadaşları (54) kronik non A-E’li 50 hastanın 2(%4)’sinde HGV-RNA’yı pozitif olarak bulurken, Tanaka (69) kronik non B – non C tanılı 25 hastanın 4(%16)’ünde HGV-RNA varlığını göstermişlerdir. Çin’de yapılan bir çalışmada Wang ve arkadaşları (73), non A-E hepatitli hasta grubunda %16.7 oranında HGV RNA pozitifliği bulmuşlardır.

İtalya’da yapılan çalışmalarda ise Colombatto ve arkadaşları (14) 67 non A-E hepatitli hastanın 10(%14.9)’unda, Fiordalisi ve arkadaşları (24) 18 kronik non A-E hepatitli hastanın 7 (%39)’sinde GBV-C enfeksiyonunu tespit etmişlerdir. Brezilya’da Lampe (44) ve arkadaşları yaptıkları çalışmada non A non C’li hasta grubunda %19 olarak bulmuşlardır.

Çalışmamızda non B – non C hepatitli hastalarında bulunan GBV-C prevalansına ait %21’lik bulgumuz, Ülkemizde Türkoğlu ve arkadaşlarının non A – E hepatitli 7 hastadaki GBV-C RNA oranı olan

%100'lük orandan oldukça düşüktür. Bu durum araştırmacıların çalıştıkları hasta örnek sayısının az olmasına bağlı olabilir. Yine aynı çalışmada kronik hepatit C'li hasta grubunda bildirilen %26.9'luk oran ile kronik hepatit B'li hasta grubunda GBV-C RNA pozitifliğine ait bildirilen %13.6'lık değerler bizim sırasıyla bulduğumuz % 3.8'lik ve %0'lık oranlarından düşüktür. Çalışmamızda bulduğumuz kronik karaciğer hastalarında %4.6 GBV-C enfeksiyon prevalansı İstanbul'dan Kaymakoglu ve arkadaşlarının benzer hasta grubunda bildirdikleri %21'lik orandan daha düşüktür.

Non B – non C'li hasta grubumuzda tespit edilen GBV-C enfeksiyon oranına ait %21'lik sonucumuz diğer ülkelerde yapılan; Japonya'da %16, Çin'de %16.7, İtalya'da %14.9 ve Brezilya'daki %19 oranlarına yakın olduğu görülürken, Almanya'da %1.9, Japonya'da %4, İspanya'da %8 oranlarından oldukça yüksektir. Oysa İtalya'daki yapılan diğer çalışmalardaki %39'luk orandan düşüktür. Çalışmamızda bütün hastalarda serum ALT yüksekliği tespit edildi. GBV-C ile enfekte ve enfekte olmayan hastalar arasında yaş ve ortalama serum ALT düzeyleri arasında büyük farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo VIII). Bir vakamızdaki GBV-C ve HCV koenfeksiyonu diğer yapılan çalışmalarla uyumlu olarak kronik hepatit C'nin seyrini değiştirmedir (25,47,58).

Bu sonuçlar non A-E kronik hepatiti olan hastalarda GBV-C prevalansı ülkeden ülkeye ve bölgeden bölgeye farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu farklılıklar aynı zamanda çalışılan hastaların sayısına ve GBV-C RNA'nın tespiti için kullanılan PCR metoduna, kullanılan primerlerin farklı olmasına da bağlanabilir.

Bölgemizde kronik hemodiyaliz uygulanan kronik böbrek yetmezlikli hasta gruplarında HCV ve HBV enfeksiyonlarına oldukça yaygın rastlanmaktadır (30). HCV ve HBV viruslarına benzer geçiş yoluna sahip olma özelliklerinden dolayı hemodiyaliz hastalarında GBV-C'nin de sık görüldüğü bilinmektedir (15, 22, 57). Bu sebeple bölgemizdeki hemodiyaliz hastalarında GBV-C enfeksiyon ile HBV ve HCV virus enfeksiyon prevalanslarının değerlendirildiğinde hemodiyaliz uygulanan 76 böbrek hastasının 19 (%25)'unda anti HCV antikoru ve 2 (%3)'sinde ise HbsAg'nin varlığı gösterildi. GBV-C RNA hemodiyaliz uygulanan 76 hastanın 16 (%21)'sında pozitif bulundu. Bu hastaların 3'ü anti HCV antikoru yönünden pozitif idi. Böylece 13 hastanın sadece GBV-C ile enfekte olduğu görüldü. HCV enfeksiyonu olan 19 hastanın sadece 3(%15.7)'ünde GBV-C RNA pozitif bulundu.

Çalışma grubumuzdaki hemodiyaliz hastalarının 39(%51.3)'unda çalışılan hepatit viruslarına ait serolojik göstergelerin hiç biri pozitif bulunmamıştır.

Hemodiyaliz hastalarına ait serum örneklerinde ALT değerleri analiz edildiğinde, hepatit viruslarıyla enfekte olmayan hasta grubunda ve sadece GBV-C enfeksiyonu olan hastalarda ALT düzeyleri normal iken, HBV enfeksiyonu olan 2 hastanın 1'inde, HCV enfeksiyonu olan 19 hastanın 11'inde ve HCV ile GBV-C'nin koenfekte olduğu 3 hastada yüksek ALT düzeyleri tespit edildi. Hemodiyaliz hastalarına ilişkin bu bulgular dikkate alındığında tek başına GBV-C enfeksiyonunun viremi olması durumunda bile ALT değerlerinde belirgin bir artışa yol açmadığı dikkati çekmektedir. Diğer taraftan GBV-C enfeksiyonu ile HCV

koenfekte durumunda ise ALT düzeylerinde belirgin artış gözlenmiştir (Tablo VI). Bu durumda tek başına HCV enfeksiyonu görülen hastalardaki ortalama ALT değeri 51 IU/L olması muhtemelen GBV-C enfeksiyonunun HCV enfeksiyonunun progresyonuna olumsuz etki gösterdiğini düşündürülebilir.

Ülkemizde hemodiyaliz hastalarındaki HGV-C prevalansı ile ilgili çalışmalarda Ankara'da Hızel ve arkadaşları 110 hemodiyaliz hastasının 28 (%25)'inde HGV-RNA'yı pozitif bulmuşlardır(33). Araştırmacılar HCV RNA'sı pozitif bulunan 56 hastanın 19 (%34)'unda HGV-RNA pozitif olarak bulurken, HCV RNA'sı negatif olan 54 hastanın 9(%17)'unda HGV-RNA pozitif olduğunu bildirmişlerdir.

Yine Hızel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada anti HCV antikorları pozitif 32 hemodiyaliz hastanın 12(%38)'sinde HGV-RNA varlığı bildirmişlerdir (34).

Günaydın ve arkadaşlarının Samsun'da yaptıkları diğer bir çalışmada ise 78 hemodiyaliz hastasının 27 (%34.6)'sinde HGV-RNA gösterilirken HGV-RNA pozitif ve HGV RNA negatif olan gruplar arasında ortalama diyaliz süresi, anti HCV pozitifliği, kan transfüzyon sayısı, serum HbsAg varlığı, hastanın cinsiyeti ve yaşı yönünden önemli farklılık bulunmamıştır (26).

Yaptığımız çalışmada hemodiyaliz hasta grubunda GBV-C RNA pozitifliğine ait %21'lik oran Hızel ve arkadaşlarının bildirdiği %25'lik orana uyumlu fakat %38'lik oran ile Günaydın ve arkadaşlarının bildirdikleri %34.6'lık sonuçtan biraz daha düşüktür.

Diğer ülkelerde kronik hemodiyaliz uygulanan hastalara ilişkin yapılan çalışmalarda İtalya'da Fabrizi ve arkadaşları 172 hastanın 11(%6)'sında HGV RNA'yı pozitif bulmuşlardır. Aynı çalışmada HGV pozitif ve HGV negatif hastalar arasında ALT yönünden farklılık görülmemiştir (22).

Japonya'dan Nakatsuji ve arkadaşlarının çalışmasında 69 kronik hemodiyaliz hastanın 7 (%10)'sinde HGV-RNA pozitif bulunmuştur (54).

Amerika'da de Medina ve arkadaşları 160 kronik hemodiyaliz hastasında HGV-RNA pozitifliğini 32 (%20) olguda bulmuşlar ve HCV RNA'sı pozitif olan 24 hastanın 7(%29)'sinde GBV-C ile koenfeksiyon olduğu görülmüştür (18).

Avusturya'da Tribl ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada toplam 119 diyaliz hastasının 16(%13)'sında GBV-C RNA pozitif olduğu bildirilmiştir (71).

Hemodiyaliz hasta grubumuzda bulduğumuz GBV-C RNA pozitiflik oranı olan %21'lik bulgu diğer ülkelerde yapılan araştırmalardaki sonuçlarla kıyaslandığında İtalya'daki %6'lık, Japonya'daki %10'luk ve Avusturya'daki %13'lük oranlardan biraz yüksek, Amerika'dan bildirilen %20'lik oranla uyumludur. Bizim anti HCV antikorları pozitif olan diyaliz hastalarındaki %15.7'lik GBV-C koenfeksiyon oranı ise, Amerika'da rapor edilen %29'luk orandan düşüktür.

Sonuç olarak bölgemizdeki kronik hepatiti olan 87 hastada GBV-C RNA prevalansı % 4.6 bulunurken, çalışma popülasyonumuzdaki non B – non C kronik hepatitli hastalar arasında GBV-C enfeksiyon prevalansı %21.4'lük oranla yüksek bulunmuştur. Hemodiyaliz hasta grubundaki GBV-C RNA prevalansının %21'lik oran ve HCV ile GBV-C koinsidansında %15.7'lik oranla oldukça yüksek olduğu görülmüştür.



7. KAYNAKLAR

1. Aikawa T, Sugai Y, Okamoto H. Hepatitis G infection in drug abusers with chronic hepatitis C. **N Eng J Med** 1996; 334: 195.
2. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, Wages J, Westley R, Shih W, Kim JP: The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. **New England Journal of Medicine** 1997; 336: 747-754.
3. Alter HJ: The cloning and clinical implications of HGV and HGBV-C. **New England Journal of Medicine** 1996; 334: 1536-1537.
4. Alter MJ, Gallagher M, Morris TT, Moyer LA, Meeks EL, Krawczynski K, Kim JP, Mmargolis HS: Acute non-A-E hepatitis in the United States and the role of hepatitis G virus infection. **New England Journal of Medicine** 1997, 336: 741-746.
5. Arankalle V, Chadla MS, Tsarev S, Emerson SU. Seroepidemiology of water-borne hepatitis in India and evidence for a third enterically-transmitted hepatitis agent . **Proc Acad Sci USA** 1994; 91: 3438-3432.
6. Bader TF. Hepatitis A vaccine. **Am J Gastroenterol** 1996; 91: 217-222.
7. Badur S. Yeni viral hepatit etkenleri: GB virusları ve HGV. **Aktüel Tıp Dergisi** 1997; 2: 186-187.
8. Battacharya I, Sack EM. Clinical significance of hepatitis G virus starts to emerge. **Lancet** 1996; 347: 1755.
9. Bhardwaj B, Qian K, Detmer J, Mizokami M, Kolberg JA, Urdea MS, Schlauder G, Linnen JM, Kim JP, Davis GL, Lau JY: Detection of GB virus-C/hepatitis G virus RNA in serum by reverse transcription polymerase chain reaction. **Journal of Medical Virology** 1997; 52: 92-96.
10. Bradley DW, Purdy MA, Reyes GR. Hepatitis E virus genome molecular features, expression immunoreactive proteins and sequence divergence. **J Hepatol** 1991; 13: 152-154.
11. Cheung RC, Keeffe EB, Greenberg HP: Hepatitis G virus: is it a hepatitis virus? (see comments). **West journal of Medicine** 1997, 167: 23-33.

12. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, et al. Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genoma. **Science** 1989; 244: 359-362.
13. Cohen JI. Hepatitis A virus: Insights from molecular biology. **Hepatology** 1989; 9: 889-895.
14. Colombatto P, Randone A, Civitico G, Monti-Gorin J, Dolci L, et al. Hepatitis G virus RNA in the serum of patients with elevated gamma glutamyl transpeptidase and alkaline phosphatase: a specific liver disease. **Journal of Viral Hepatology** 1996; 3: 301-306.
15. De Lamballeria X, Chlarel RN, Dussol B. Hepatitis GB virus C in patients on hemodialysis. **N Engl J Med** 1996; 334: 1549.
16. Deinhardt F, Holmes AW, Capps RB, Popper H. Studies on the transmission of disease of human viral hepatitis to marmoset monkeys. **J Exp Med** 1967; 125: 673-687.
17. Deka N, Sharma MD, Mukerjee R. Isolation of the novel agent from human stool samples that is associated with sporadic non A, non B hepatitis. **J Virol** 1994; 68: 7810-7815
18. DeMedina M, Ashby M, Schluter V, Hill M, et al. Prevalence of hepatitis C and G virus infection in chronic hemodialysis patients. **Am J Kidney Dis** 1998; 31(2): 224-226.
19. Di Bisceglie AM, Hepatitis G virus infection: A work in progress. **Ann Intern Med** 1996; 125: 772-773.
20. Diamantis I, Bassetti S, Erb P, et al. High prevalence and coinfection rate of hepatitis G and C infections in intravenous drug addicts. **J Hepatol** 1997; 26: 794-7.
21. Egawa K, Yukawa T, Arakawa S, Nakao H et al. Infection with GB virus C in leprosy patients in Japan. **Journal of Medical Virology** 1996, 49: 110-114.
22. Fabrizi F, Lunghi G, Bacchini G, Corti M, et al. Hepatitis G virus infection in chronic dialysis patients and kidney transplant recipients. **Nephrol Dial Transplant** 1997; 12(8): 1645-1651.
23. Feucht HH, Zollner B, Polywka S, Knodler B, et al. Distribution of hepatitis G viremia and antibody response to recombinant proteins with

special regard to risk factors in 709 patients. **Hepatology** 1997; 26: 491-494.

24. Fiordalisi G, Zanella I, Mantero G, Bettinardi A, et al. High prevalence of GB virus C infection in a Group of Italian patients with Hepatitis of unknown etiology. **Journal of Infectious Diseases** 1996, 174: 181-183.
25. Guilera M, Saiz JC, Lopez-Lobrador FX, Olmedo E, et al. Hepatitis G virus infection in chronic liver disease. **Gut** 1998; 42: 107-111.
26. Günaydın M, Bedir A, Akpolat T, et al. Prevalence of serum HGV-RNA among Hemodialysis patients in Turkey. **Infection** 1997; 25(5): 307-309.
27. Hadziyannis S, Weges J, Kim JP, et al. The frequency of viraemia with a new hepatitis virus (HGV) in patients with liver disease and in groups at high risk of exposure to blood products. **J Hepatol** 1995; 23: 78.
28. Hadziyannis SJ, Dawson GS, Vrettou E, Gioustozi A, et al. Infection with the novel G-B-C virus in multiply transfused patients and in various forms of chronic liver disease. **Hepatology** 1995; 22: 218 A.
29. Hadziyannis SJ, Spanou E, Hadziyannis AS, et al. G/GBV-C infection in the general population and in high risk groups of a European country **Hepatology** 1997; 26: 326A.
30. Hafta A, Çolakoğlu S, Akkız H, Yarkın F et al. Çukurova bölgesinde çeşitli risk gruplarında anti HCV seroprevalansı. **Viral Hepatit Dergisi** 1996; 2: 109-112.
31. Haughton M, Weiner A, Han J, et al. Molecular biology of the hepatitis C virus: implications for diagnosis, development and control of viral disease. **Hepatology** 1991; 14: 381-388.
32. Heringlake S, Tillmann HL, Cordes-Temme P, Trautwein C, Hunsmann G, Manns MP. GBV-C/HGV is not the major cause of autoimmune hepatitis. **Journal of Hepatology** 1996; 23: 980-984.
33. Hızıl N, Boyacıoğlu S, Tunçbilek S, et al. Hemodiyaliz hastalarında hepatitis G virus enfeksiyon prevalansı ve bunun HCV RNA ile ilişkisi. **II. Ulusal Hepatoloji Kong. 5-7 Haziran İstanbul, Özet Kitabı** 1997; A 22.

34. Hızıl N, Tunçbilek S, Arslan H, Boyacıoğlu S et al. HCV genotipleri ile HGBV-C'nin ilişkisi. **II. Ulusal Hepatoloji Kong.** 5-7 Haziran, İstanbul, Özet Kitabı 1997; A 28.
35. Hsiang Ju Lin. Hepatitis G virus. *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry* 1997; 9: 27-30.
36. Huang RT, Li DR, Wei Jm, Huang XR, et al. Isolation and identification of hepatitis E virus in Xinjiang, **China J Gen Virol** 1992; 73: 1143-1148.
37. Hwang SJ, Lu RH, Chan CY, Wang YJ, Wu JC, Lee SD: The role of hepatitis G virus infection in patients with acute posttransfusion hepatitis in Taiwan. **Gastroenterology** 1997; 112: 1260-1264.
38. Ichikawa M, Araki M, Rikihisa T, Uchida T, et al. Cloning and expression of cDNAs from enterically transmitted non-A, non-B hepatitis virus. **Microbiol Immunol** 1991; 35: 535-543.
39. Jarvis LM, Davidson F, Hanley SP, Yap PL, Ludlam CA, et al. Infection with hepatitis G virus among recipients of plasma products. **Lancet** 1996; 348: 1352-1355.
40. Kallinowski B, Ahmadi R, Müller HM, et al. Prevalence of GB-C virus in hemodialysis patients. **Gastroenterology** 1996; 110: A1226.
41. Karayiannis P Hadziyannis SJ, Kim J, Pickering JM, et al. Hepatitis G virus infection: Clinical characteristics and response to interferon. **J Viral Hepat** 1997; 4: 37-44.
42. Kaymakoglu S, Türkoğlu S, Demir K, Çakaloğlu Y et al. Kronik karaciğer hastalığı ve hepatit G virus enfeksiyonu: **Viral Hepatit Dergisi** 1997; 3: 90-93.
43. Khudyakov YE, Favorov MO, Jue DL, Hine TK, Fields HA. Immunodominant antigenic region in a structural protein of the hepatitis E virus. **Virology** 1990; 198: 390-393.
44. Lampe E, Saback FL, Yoshida CF, Niel C: Infection with GB virus C/hepatitis G virus in Brazilian hemodialysis and hepatitis patients and asymptomatic individuals. **Journal of Medical Virology** 1997; 52: 61-67.
45. Linnen J, Weges J Jr, Zhang-Keck Z, Fry K, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. **Science** 1996; 271: 505-508.

46. Lisitsyn N, Wigler M. Cloning the difference between two complex genomes. **Science** 1993; 259: 946-51.
47. Manolakopoulos S, Morris A, Davies E, Brown D, et al. Influence of GB virus C viremia on the clinical, virological and histological features of early hepatitis C related hepatic disease. **Journal of Hepatology** 1998, 28: 173-178.
48. Marcillen P, Martinot M, Peignoux M, Gabriel F, et al. Chronic non B, non C hepatitis among blood donors assessed with HCV third generation tests and polymerase chain reaction. **J Hepatol** 1993; 19: 167-170.
49. Martin P, Friedman LS. **Viral Hepatitis Gastroenterology Clinics of North America** 1994; 23, No 3, Saunders WB Company, USA.
50. Masuko K, Mitsui T, Iwano K, Yamazaki C, et al. Infection with hepatitis G-B virus C in patients on maintenance hemodialysis. **N Eng J Med** 1996, 334: 1485-1490.
51. Miyakawa Y, Mayume M: Hepatitis G virus-A True hepatitis virus or an accidental tourist?. **New England Journal of Medicine** 1997; 336: 795-796.
52. Muerhoff AS, Leary TP, Simons JN, Pilot-Matias TJ, et al. Genomic organization of GB viruses A and B: two new members of the flaviviridea associated with GB agent hepatitis. **J virol** 1995; 69: 5621-5630.
53. Nakatasuji Y, Tanaka E, Kiyosawa K: Epidemiology of hepatitis G virus infection in Japan. **Nippon-Rinsho** 1997; 55: 604-608.
54. Nakatsuji Y, Shih JW, Tanaka E, Kiyosawa K, Wages J Jr, Kim JP, Alter HJ: Prevalence and disease association of hepatitis G virus infection in Japan. **Journal of Viral Hepatology** 1996; 3: 307-316.x
55. Nordenfelt E. Epidemiology of hepatitis delta virus and non-A, non-B hepatitis. **Scand J Infect Dis** 1990; 69: 49-53.
56. Nübling CM, Lower J. GB-C genomes in a high risk group, in plasma pools and in intravenous immunoglobulin. **Lancet** 1996; 347-68.
57. Okuda K, Kanda T, Yokusuka O, Hayashi H, et al. GB virus-C infection among chronic haemodialysis patients; clinical implications. **J Gastroenterol Hepatol**. 1997; 12(11): 766-770.

58. Petrik J, Guella L, Wight DGD, Pearson GM, et al. Hepatic histology in hepatitis C virus carriers coinfectd with hepatitis G virus. **Gut** 1998; 42: 103-106.
59. Pilot-Matias TJ, Pratt SD, Lane BC. High levels synthesis of the 12 kDa human FK 506-binding protein in *Escherichia coli* usin translational coupling. **Gene** 1993; 128: 219-25.
60. Poel Cees L, Reesink Henk W. Hepatitis C virus six years on. **Lancet** 1994; 344: 1475-1479.
61. Ray R, Jameel S, Manivel V. Indian hepatitis E virus shows a major deletion in the small open reading frame. **Virology** 1992; 189: 359-362.
62. Reyes GP, Purdy MA, Kim JP, Luk KC, et al. Isolation of cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis **Science** 1990; 247: 1335-13399
63. Schlauder GG, Dawson GJ, Simons JN, Pilot-Matias TJ, et al. Molcular and serologic analysis in the transmission of the GB hepatitis agent. **J Med Virol** 1995; 46: 81-90.
64. Schleicher S, Chaves RL, Dehmer T, Gregor M, Hess G, Flehmig B. Identification of GBV-C hepatitis G RNA in chronic hepatitis C patients. **Journal of Medical Virology** 1996; 50: 71-74.
65. Simons JN, Leary TP, Dawson GS, Pilot Matias TJ, et al. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. **Nat Medicine** 1995; 1: 564-569.
66. Simons JN, Pilot-Matias TJ, Leary TP, Dawson GJ, et al. Identification of two flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent. **Proc Natl Acad Sci USA** 1995; 92: 3401-3405.
67. Schimizu M, Osada K, Okamoto H: Transfusion-transmitted hepatitis G virus followjin open heart surgery. **Transfusion** 1996; 36: 987.
68. Tam AW, Smith MM, Guema ME, Huang CC, et al. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. **Virology** 1991; 185: 120-131.
69. Tanaka E, Alter HJ, Nakatsuji Y, Shih W, Kim JP, Matsumoto A, Kobayashi M, Kiyosawa K: Effect of hepatitis G virus infection on chronic hepatitis C. **Annals of Internal Medicine** 1996, 125: 740-743.

70. Taylor M. The structure and replication of hepatitis delta virus. **Annual Microbiol**, 1992; 46: 253-276.
71. Tribl B, Oesterreicher C, Pohanka E, Sunder Plassmann G, et al. GBV-C/HGV in hemodialysis patients: anti-E₂ antibodies and GBV-C/HGV-RNA in serum and peripheral blood mononuclear cells. **Kidney Int** 1997; 53(1): 212-216.
72. Ülgen SK, Avşar E, Ovalı E. Kemik iliği transplantasyonu uygulanmış olgularda HGV seroprevalansı ve HGV enfeksiyonun önemi. 14. UGK, 28 Eylül-3 Ekim 1997; Mersin.
73. Wang HL, Jin DY. Prevalence and genotype of hepatitis G virus in Chinese professional blood donors and hepatitis patients. **Journal of Infectious Disease** 1997, 175: 1229-1233.
74. Yarbough PO, Tam AW, Fry KE, Krawczynski K, et al. Identification of type-common epitopes. **J Virol** 1991; 65: 5790-5797.
75. Yin S, Tsarev SA, Purcell RH, Emerson SU. Partial sequence comparison of eight new chinese strains of hepatitis E virus suggest the genome sequence is relatively stable. **J Med Virol** 1993; 41: 230-241.
76. Yoshiba M, Okamoto H, Mishiro S. Dedection of the GBV-C hepatitis virus genome in serum from patients with fulminant hepatitis on unknown aetiology. **Lancet** 1995; 346: 1131-2.
77. Zuckerman AJ. Alphabet of hepatitis viruses. **Lancet** 1996; 347: 558.
78. Zuckerman AJ. The new GB hepatitis viruses. **Lancet** 1995; 345: 1453-1454.