

KRONİK HEPATİT C'Lİ HASTALARDA HEPATİT C VİRUSU (HCV) GENOTİPLERİ İLE ALANİN AMİNOTRANSFERAZ VE HCV-RNA DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN HEPATITIS C VIRUS (HCV) GENOTYPES WITH HCV-RNA AND ALANINE AMINOTRANSFERASE LEVELS IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS

Mustafa Fatih KÜÇÜKÖZTAŞ¹, Nail ÖZGÜNEŞ¹, Saadet YAZICI¹

¹ SB İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.
(mustafafatih@kucukoztas.tr.tc)

ÖZET

Hepatit C virusu (HCV) enfeksiyonları, yüksek kronikleşme oranı ve karaciğer yetmezliği, siroz ve hepatoselüler kanser oluşturması nedeniyle önem taşımaktadır. Bu retrospektif çalışmada, hastanemizde takip ve tedavi edilen kronik hepatit C'li hastalarda HCV genotiplerinin belirlenmesi ve genotip dağılımı ile hastaların kantitatif serum HCV-RNA ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, 52 kronik hepatit C hastası (26 erkek, 26 kadın; ortalama yaş: 51.07 ± 13.13 yıl) dahil edilmiş; kantitatif HCV-RNA tespiti, ticari bir gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle (Abbott Molecular Inc., ABD), virus genotiplendirilmesi ise Versant HCV Genotype Assay (LiPA) 2.0 sistemi ile (Bayer HealthCare LLC, ABD) yapılmıştır. HCV genotip dağılımı değerlendirildiğinde; hastaların %76.9 (n= 40)'unda genotip 1b, %9.6 (n= 5)'sında genotip 3a, %5.7 (n= 3)'sinde genotip 4e, %3.8 (n= 2)'inde genotip 2a/2c, %1.9 (n= 1)'unda genotip 1a ve %1.9 (n= 1)'unda genotip 4 belirlenmiştir. Hastaların HCV genotip dağılımları ile kantitatif HCV-RNA ($p= 0.840$; $p> 0.05$) ve ALT düzeyleri arasında ($p= 0.512$; $p> 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Genotip 1 ile enfekte toplam 41 hastanın yaş ortalamasının (51.4 ± 12.6 yıl), genotip 2 ve 3 ile enfekte toplam 7 hastanın yaş ortalamasından (37.8 ± 12.3 yıl) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p= 0.023$), ancak genotip 4 ile enfekte toplam 4 hastanın yaş ortalaması (41.7 ± 4.5 yıl) ile anlamlı bir fark göstermediği ($p> 0.05$) izlenmiştir. Sonuç olarak, hastanemizde izlenen kronik HCV olgularındaki genotip dağılımının ülkemiz oranlarına benzer olduğu ve HCV genotiplerinin serum ALT ve HCV-RNA düzeylerini etkilemediği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Hepatit C virusu, genotip, HCV-RNA, alanin aminotransferaz.

ABSTRACT

Hepatitis C virus (HCV) infections are of particular importance owing to its high frequency of chronicity, leading to hepatic failure, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The objective of this retrospective study was to determine the distribution of HCV genotypes in patients with chronic hepatitis C infection at our region and to investigate the relation between genotypes and serum alanine aminotransferase (ALT) and HCV-RNA levels. Serum samples from 52 patients (26 females, 26 males; mean age: 51.07 ± 13.13 years) with chronic HCV infection were analyzed in this study. Viral genotypes were determined by using the Versant HCV genotype assay (LiPA) 2.0 system (Bayer HealthCare LLC, USA) according to the manufacturer's instructions. Quantitative HCV-RNA assay was performed by a commercial real-time PCR method (Abbott Molecular Inc., USA). Genotype 1b was observed in 76.9% (n= 40), genotype 3a in 9.6% (n= 5), genotype 4e in 5.7% (n= 3), genotype 2a/2c in 3.8% (n= 2), genotype 1a in 1.9% (n= 1) and genotype 4 in 1.9% (n= 1) of the 52 patients. No statistically significant difference was detected between HCV genotypes and HCV-RNA quantities (p= 0.840; p> 0.05) and serum ALT levels (p= 0.512; p> 0.05). The mean age of the patients infected with genotype 1 (51.4 ± 12.6 years) were statistically significantly higher than the mean age of the patients infected with type 2 and 3 (37.8 ± 12.3 years), (p= 0.023). However, no statistically significant difference was detected for the mean age of genotype 4 infected patients (41.7 ± 4.5 years), (p> 0.05). These results indicated that the HCV genotype distribution observed in this study was similar to the other results obtained in Turkey and there were no association between HCV genotypes and serum ALT and HCV-RNA quantities.

Key words: Hepatitis C virus, genotype, HCV-RNA, alanine aminotransferase.

GİRİŞ

Hepatit C virusu (HCV)'nin 1989 yılında tanımlanmasından sonra önemi giderek artmış ve günümüzde dünya çapında bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine 180 milyon kişi HCV ile enfektedir. HCV enfeksiyonlarında kronikleşme oranının %85'e ulaşabilmesi ve karaciğer yetmezliği, siroz ve hepatoselüler kansere neden olabilmesi önemini açıkça ortaya koymaktadır¹. Kronikleşmede virusun hızlı replikasyon göstermesi ve replikasyon sırasında ortaya çıkan RNA transkripsiyon hataları önemli rol oynar. Bu hatalar sonucu ortaya çıkan genetik sekans farklılıkları HCV genotiplerini oluşturur. HCV'nin altı majör genotipi ve 100'den fazla subtipi olduğu saptanmıştır^{2,3}. Bunlardan genotip 1a, 1b, 2a, 2b, 3a tüm dünyada yaygın şekilde görülürken, genotip 4, 5, 6 sadece belli bölgelerde rastlanmaktadır⁴.

Hepatit C enfeksiyonu için tedavide pegile interferon ve ribavirin kullanılmaktadır. Tedavinin başarısı, tedavi sonrası hastada HCV-RNA tespit edilememesi olarak tanımlanan "kalıcı viral yanıt" ile ölçülmektedir. Yapılan randomize kontrollü çalışmalarda kalıcı viral yanıtı ulaşmak için tedavi süresi olarak genotip 2 ve 3 ile enfekte hastalarda 24 hafta, genotip 1 ile enfekte hastalarda 48 hafta olarak belirlenmiş, ayrıca genotip 2 ve 3 hastalarında aynı sürede genotip 1 hastalarına göre daha düşük doz ribavirin kullanımıyla benzer oranlarda kalıcı viral yanıt oranları yakalandığı tespit edilmiştir. Bu nedenle genotip tayini maliyet-etkin olarak kabul edilmektedir^{5,6}. Bu çalışmada, klinik olarak takip ve tedavi edilen kronik hepatit C'li hastalarda HCV genotiplerinin belirlenmesi ve genotip dağılımı ile hastaların serum HCV-RNA ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Şubat 2007-Eylül 2008 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları klinik ve polikliniklerinde takip edilen erişkin hastalar dahil edildi. Çalışma için Hastane Etik Kurulu'ndan 21.10.2008 tarih ve 51/E karar no ile onay alındı. Hastaların serum HCV-RNA ve ALT düzeyleri 30 günden az ara ile bakıldı. ALT'nin normal sınır aralığı 0-40 IU/L olarak kabul edildi⁷. HCV-RNA kantitatif tespiti, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile ticari kit (Realtime HCV, Abbott Molecular Inc. IL, ABD) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı⁸. HCV genotiplendirmesi için, kullanım sırasına göre INVISORB RTP DNA/RNA Virus Mini Kit (Invitex GmbH, Almanya), HCV Amplification 2.0 Kit (LIPA) (Siemens Medical Solutions Diagnostics, NY, ABD) ve HCV Genotype 2.0 Assay (LIPA) (Bayer HealthCare LLC, NY, ABD) kitleri üreticilerin talimatları doğrultusunda hastanemiz Moleküler Biyoloji Laboratuvarında uygulandı⁹.

İstatistiksel değerlendirmede, Kruskal Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda, yaşları 23-76 yıl arasında değişen (ortalama yaş: 51.07 ± 13.13 yıl), 61 (%53)'i kadın, 54 (%47)'ü erkek olmak üzere toplam 115 hastanın kayıtları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Saptanan genotipler; 1a, 1b, 2, 3 ve 4 olup sıklık oranları sırasıyla %5.2, %81.7, %1.7, %6.1 ve %3.5 şeklindedir. Genotiplere göre olguların yaş ve cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$). Bu hastalar arasından çalışma kriterlerine uygun olan 52'si seçilmiş (26 erkek, 26 kadın) ve genotip dağılımı ile HCV-RNA ve serum ALT düzeyleri karşılaştırılmıştır. Bu 52 hastanın HCV genotip dağılımı incelendiğinde; 41 (%78.8)'inin genotip 1 (40'ı 1b, 1'i 1a), 2 (%3.8)'sinin genotip 2a/2c, 5 (%9.6)'inin genotip 3a ve 4'ünün genotip 4 (3'ü 4e) olduğu görülmüştür. Bu hastalarda HCV genotipleri ile HCV-RNA ($p = 0.840$; $p > 0.05$) ve ALT düzeyleri arasında ($p = 0.512$; $p > 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Tedaviye yanıtları açısından 41 hasta Grup I (genotip 1 ile enfekte hastalar; yaş ortalaması: 51.4 ± 12.6 yıl), 7 hasta Grup II (genotip 2 ve 3 ile enfekte hastalar; yaş ortalaması: 37.8 ± 12.3 yıl) ve 4 hasta Grup III (genotip 4 ile enfekte hastalar; yaş ortalaması: 41.7 ± 4.5 yıl) olarak üç grupta toplanmıştır. Grup I'de yer alan hastaların yaş ortalaması, Grup II'deki hastaların yaş ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş ($p = 0.023$); ancak Grup I ile Grup III arasında ve Grup II ile Grup III arasında yaş ortalaması açısından anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Ülkemizde HCV genotip dağılımının araştırıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur¹⁰⁻¹⁴. İzmir'de Abacıoğlu ve arkadaşları¹⁰ tarafından gerçekleştirilen ve 1995 yılında yayınlanan çalışmada, 89 olgunun %75.3'ünde genotip 1b saptanmış, bunu genotip 1a (%19.1), genotip 2 (%3.4) ve genotip 4 (%2.2)'ün izlediği bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca, kronik hepatit C'li hastalarda genotiplere göre serum ALT düzeyleri arasında anlamlı bir fark bu-

lanmadığını ve 45 hemodiyaliz hastasında genotip 1a ile enfekte olanların yaş ortalamasının genotip 1b ile enfekte olanlara göre daha düşük olduğunu ifade etmişlerdir¹⁰. Yarkin ve arkadaşları¹¹ 2000 yılında Adana ve Mersin bölgesinden 62 olguda "nested" PCR yöntemiyle yaptıkları çalışmada, sırasıyla 1b (%82.2), 1a (%14.5) ve 2a (%3.3) genotiplerini saptamışlar, ayrıca genotip 1b ve diğer genotiplerle yaş, cinsiyet, serum ALT ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri arasında anlamlı fark bulmadıklarını bildirmişlerdir. Gökahmetoğlu ve arkadaşları¹² 2007 yılında Kayseri'de 57 olgunun %96.5'inin genotip 1b, %3.5'inin ise genotip 1a ile enfekte olduğunu rapor etmiş; genotip dağılımı ile serum AST, ALT ve HCV-RNA düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir. 2008 yılında İzmir'de yapılan ve 345 olguyu içeren Altuğlu ve arkadaşlarının¹³ çalışmasında, yine en sık genotip 1b (%87.2) saptanmış, diğer genotiplerin dağılımı ise sırasıyla 1a (%9.9), 3 (%1.4), 2 (%0.9) ve 4 (%0.6) olarak tespit edilmiştir. Bu araştırmacılar genotip 1 ile enfekte olguların yaş ortalamasının diğer tiplerle enfekte olanlara göre daha yüksek olduğunu belirtmektedirler¹³. Şanlıdağ ve arkadaşlarının¹⁴ Manisa bölgesinde yaptıkları çalışmada da, 100 hastanın 90'ında genotip 1b tespit edilmiş; genotip 4a'nın %5, genotip 1a ve 2a'nın %2'şer sıklık oranlarına sahip olduğu belirlenmiştir. Tüm bu veriler, ülkemizde yaygın olan HCV genotipinin, genotip 1b olduğunu; ikinci sırada yer alan genotipin ise değişkenlik gösterebildiğini vurgulamaktadır. Bizim çalışmamızda da, hastaların yaklaşık %80'inde genotip 1b saptanmış, genotip 3a'nın onu izlediği görülmüştür. Genotip 1 ile enfekte hastalarımızın yaş ortalamaları, genotip 2 ve 3 ile enfekte olanların yaş ortalamalarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, Altuğlu ve arkadaşlarının¹³ verileriyle uyumlu görünmektedir. Ayrıca çalışmamızda diğer çalışmaların^{10-12,15} bulgularına benzer olarak, genotip dağılımı ile kantitatif HCV-RNA düzeyleri ve ALT değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Türkiye'de genotipik heterojenitenin göreceli olarak az olduğu ve dominant tipin genotip 1 olduğu göz önüne alındığında, ülkemizde genellikle bu hastaların tedavisi -özel hasta grupları da dahil olmak üzere- zor tedavi edilen hepatit C protokolüne göre yapılmaktadır¹⁶. Sonuç olarak, hastanemizde izlenen kronik HCV olgularındaki genotip dağılımının ülkemiz oranlarına benzer olduğu ve HCV genotiplerinin serum ALT ve HCV-RNA düzeylerini etkilemediği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Massard J, Ratziu V, Thabut D, et al. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006; 44: 19-24.
2. Davis GL. Hepatitis C genotypes and quasispecies. *Am J Med* 1999; 107: 21-6.
3. Forns X, Bukh J. The molecular biology of hepatitis C virus, genotypes and quasispecies. *Clin Liver Dis* 1999; 3: 693-716.
4. Thomas DL, Lemon SM. Hepatitis C, pp: 1950-81. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2005, 6th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
5. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Eng J Med* 2002; 347: 975-82.
6. Hadziyannis SJ, Sette H, Morgan T, et al. Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140: 346-57.

7. Leshno M, Beth-Or A, Strul H, et al. Re-evaluation of serum alanine aminotransferase upper normal limit and its modulating factors in a large-scale population study. *Liver Int* 2006; 26: 445-50.
8. Michelin BD, Muller Z, Stelzl E, Marth E, Kessler HH. Evaluation of the Abbott RealTime HCV assay for quantitative detection of hepatitis C virus RNA. *J Clin Virol* 2007; 38: 96-100.
9. Verbeeck J, Stanley MJ, Shieh J, et al. Evaluation of versant hepatitis C virus genotype assay (LiPA) 2.0. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1901-6.
10. Abacıoğlu YH, Davidson F, Tuncer S, et al. The distribution of hepatitis C virus genotype in Turkish patients. *J Viral Hepat* 1995; 2: 297-301.
11. Yarkin F, Hafta A. Kronik hepatit C infeksiyonu olan hastalarda hepatit C virus genotiplerinin dağılımlı. *Viral Hepatit Dergisi* 2000; 3: 164-7.
12. Gokahmetoglu S, Bozdayı M, Ozbakır O, et al. Hepatitis C virus genotypes detected in Erciyes University. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2007; 37: 35-8.
13. Altuglu I, Soyler I, Ozacar T, Erensoy S. Distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with chronic hepatitis C infection in Western Turkey. *Int J Infect Dis* 2008; 12: 239-44.
14. Şanlıdağ T, Akçalı S, Özbakkalođlu B, Ertekin D, Akduman E. Manisa bölgesinde hepatit C virus genotiplerinin dağılımlı. *Mikrobiyol Bul* 2009; 43: 613-8.
15. Lee YS, Yoon SK, Chung ES, et al. The relationship of histologic activity to serum ALT, HCV genotype and HCV RNA titers in chronic hepatitis C. *J Korean Med Sci* 2001; 16: 585-91.
16. Ozgunes N, Sargin F, Yazıcı S ve ark. Kronik hepatit C'li hastalarda standart interferon- α + ribavirin kombinasyonu ile pegile-interferon- α + ribavirin kombinasyon tedavilerinin etkinliği. *Viral Hepatit Dergisi* 2006; 11: 61-4.