

Hepatit C Virusu RNA Pozitifliğinin Karaciğer Fonksiyon Testleri ile İlişkisi

Emine Sönmez¹, Nedim Kızılkaya², Mehmet A. Taşyaran³, Hilal Korkut⁴, Şerafettin Yılmaz³, Fatih Köksal⁴, Hakan Leblebicioğlu⁵, Saim Yoloğlu⁶

Özet: Bu çalışmada anti-HCV-pozitif 100 serum örneğinde revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile HCV-RNA bakıldı. HCV-RNA tespit edilen 66 serum örneği ve HCV-RNA-negatif olan 34 serum örneğinin ALT, AST, ALP ve GGT ile ilişkisi incelendi. HCV-RNA-pozitif olan serumlarda yüksek ALT, AST, ALP ve GGT ile ilişkisi incelendi. HCV RNA-pozitif olan serumlarda yüksek ALT, AST, GGT seviyeleri tespit edildi (sırasıyla 71.6 ± 45.4 , 76.0 ± 49.8 , 57.4 ± 54.3 IU/l), oysa HCV-RNA-negatif serumlarda ALT, AST, GGT seviyeleri normal idi (sırasıyla 35.5 ± 42.1 , 37.7 ± 52.3 , 32.4 ± 22.9 IU/l). Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla $p < 0.0001$, $p < 0.001$, $p < 0.01$). ALP ile ilişki anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Sonuç olarak, anti-HCV pozitif serumlarda öncelikle ALT, AST, GGT bakılmalı, yüksek seviyeler tespit edilirse PCR ile HCV-RNA aranmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Hepatit C virusu, HCV-RNA, serolojik tanı, karaciğer enzimleri.

Summary: Relationship between HCV-RNA positivity and liver function tests. In this study, HCV-RNA was detected by RT-PCR, in 100 sera with anti-HCV. The relationship between ALT, AST, ALP, GGT and 66 HCV-RNA positive sera and 34 HCV-RNA-negative sera was investigated. ALT, AST, GGT levels were found high in HCV-RNA-positive sera (71.6 ± 45.4 , 76.0 ± 49.8 , 57.4 ± 54.3 IU/L, respectively), whereas ALT, AST, GGT levels were in normal limits in HCV-RNA-negative sera (35.5 ± 42.1 , 37.7 ± 52.3 , 32.4 ± 22.9 IU/L, respectively). There was a significant statistical difference between them except ALP ($p < 0.0001$, $p < 0.001$, $p < 0.01$, respectively and $p < 0.05$ for ALP). In conclusion, ALT, AST, GGT levels should be determined in anti-HCV positive sera; if high levels were achieved, then HCV-RNA should be investigated by PCR method.

Key Words: Hepatitis C virus, HCV-RNA, serodiagnosis, liver enzymes.

Giriş

Hepatit C virusu (HCV) infeksiyonları asemptomatik taşıyıcılıktan akut hepatit, kronik hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinomaya kadar gelişen patolojilere sebep olabilir (1,2). Rutinde kullanılan serolojik test olan anti-HCV'nin pozitifliği hastalığın eliminasyonunu göstermemektedir. HCV-RNA bakılması ile viremi ve replikasyon hakkında daha doğru bilgi edinilmekte; bu testin tanı ve tedaviyi planlamada, tedaviyi takipte daha güvenilir olduğu kabul edilmektedir. RNA tespitinde de polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), sensitivitesi yüksek bir teknik olup birçok merkezde uygulanmaktadır (3-7). Ancak pahalı bir tekniktir ve rutin tanıda uygulama güçlükleri bulunmaktadır (8).

Viral hepatitlerde tanıda en önemli biyokimyasal testler, ALT ve AST olup alkali fosfataz (ALP) ve γ -glutaril transpeptidaz (GGT) testleri de ikterin ayırıcı tanısı için rutinde uygulanmaktadır (9-12).

HCV-RNA'sının ALT, AST, GGT ve ALP ile ilişkisini ortaya koymak, PCR ile HCV-RNA bakmadan önce anti-HCV pozitif serumlara bu testleri uygulayarak HCV-RNA testi için seçici davranmak veya yüksek ALT, AST, GGT seviyeleri bulunan, diğer hepatitler yönünden seronegatif olan, tanı güçlüğü bulunan hastalarda anti-HCV ve HCV-RNA bakarak doğru tanıyı gerçekleştirmek, PCR'ın doğrulayıcı test olarak kullanımını vurgulamak amacıyla bu çalışma planlandı.

Yöntemler

Çalışmamızda değişik illerden gönderilen ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesine müracaat eden anti-HCV'si

- (1) İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Malatya
- (2) İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Malatya
- (3) Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum
- (4) Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana
- (5) Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun
- (6) İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biostatistik Bilim Dalı, Malatya

pozitif (ikinci kuşak ELISA) bulunmuş ve ALT, AST, GGT, ALP sonuçları belirlenmiş 100 serum örneği değerlendirildi. Bu serumlarda Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda RT-PCR ile HCV-RNA bakıldı. Bu yöntemde guanidin tiyosyanat/ fenol/kloroform ekstraksiyonu sonrası revers transkriptaz (RT) PCR prosedürü uygulandı. 256 ve 186 no'lu primerlerin kullanıldığı bu metotta amplifikasyon ürünleri etidyum bromürlü % 2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek 272 bp'lik bantlar değerlendirildi. PCR için Stratagene ve Panozyme kitleri kullanıldı. HCV-RNA sonuçları ile ALT, AST, GGT, ALP değerleri arasındaki ilişki, iki ortalama arasındaki farkın anlamlılığı istatistiksel testi ile değerlendirildi.

Sonuçlar

RT-PCR ile HCV RNA bakılan anti-HCV-pozitif 100 serumun 66'sında (% 66) HCV-RNA tespit edildi; 34'ünde (% 34) ise negatif sonuç alındı.

HCV-RNA-negatif serumlarda ALT ortalama değeri 35.5 ± 42.1 IU/l; HCV-RNA-pozitif serumlarda ise 71.6 ± 45.4 IU/l olarak bulundu. HCV-RNA-pozitif serumlarda ALT seviyelerinin çok anlamlı bir şekilde yükseldiği gözlemlendi ($p < 0.0001$). HCV-RNA-negatif serumlarda AST ortalama değeri 37.7 ± 52.3 IU/l iken HCV-RNA-pozitif serumlarda 76.0 ± 49.8 IU/L bulundu. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.001$).

HCV-RNA-negatif serumlarda ortalama ALP değeri 141.0 ± 115.7 IU/l; pozitif serumlarda ise 166.9 ± 136.8 IU/l bulundu. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). Aynı sırayla GGT için sonuçlar 32.4 ± 22.9 IU/l ve 57.4 ± 54.2 IU/l olarak tespit edildi. Aralarında anlamlı fark vardı ($p < 0.01$).

HCV-RNA ile ALT ve AST ilişkisi Tablo 1'de; HCV-RNA ile GGT ve ALP ilişkisi Tablo 2'de gösterildi.

İrdeleme

HCV infeksiyonları, klinik ve laboratuvar olarak genellikle sesiz seyreden, fakat % 25-50 oranında kronikleşebilen siroz ve hepatoselüler karsinomaya sonuçlanan infeksiyonlardır (13-20). HCV

Tablo 1. HCV-RNA ile ALT ve AST ilişkisi

HCV-RNA	n	ALT (N: 5-46 IU/l) Ort. ± Sd	p	AST (N: 0-40 IU/l) Ort. ± Sd	p
Negatif	34	35.5 ± 42.1	(<0.0001)	37.1 ± 52.3	(<0.001)
Pozitif	66	71.6 ± 45.4		76.0 ± 49.8	

Tablo 2. HCV-RNA ile GGT ve ALP ilişkisi

HCV-RNA	n	GGT (N: 0-53 IU/l) Ort. ± Sd	p	ALP (N: 35-145 IU/l) Ort. ± Sd	p
Negatif	34	32.4 ± 22.9	(<0.01)	141.0 ± 115.7	(>0.05)
Pozitif	66	57.4 ± 54.3		166.9 ± 136.8	

infeksiyonlarının tanısında rutin olarak serolojik testler ve biyokimik testler kullanılır (1,2). Anti-HCV pozitifliği infeksiyonun akut-kronik olması, viremi ve prognoz hakkında kesin bilgi verememekte, hatta serokonversiyonun gelişmediği erken dönemde yalnızca negatif sonuç verebilmektedir (1,2,21,22). Anti-HCV-pozitif hastalarda PCR ile HCV-RNA bakarak doğrulama yapılabilir ve bununla gerçek pozitiflik (viremi-replikasyon) ortaya konabilir (23,24).

Çalışmamızda 100 anti-HCV pozitif serumun 66'sında (% 66) RT-PCR ile HCV-RNA tespit edildi. Erdem ve arkadaşları (25), kronik HCV olgularının % 98'inde; Lau ve arkadaşları (26), kronik C hepatitlerinin % 100'ünde; Silva ve arkadaşları (27) anti-HCV-pozitif serumların % 93'ünde; Yuki ve arkadaşları (28), anti-HCV-pozitif kişilerin % 55'inde Matsumoto ve arkadaşları (29), anti-HCV-pozitif hastaların % 32.19'unda HCV-RNA tespit etmişlerdir. 1994 yılında Baylor College of Medicine, Moleküler Viroloji Laboratuvarında yapılan bir çalışmada anti-HCV pozitif serumların yaklaşık % 50'sinde RT-PCR ile HCV-RNA pozitifliği tespit edilmiştir (Sönmez E, Hollinger FB. Yayımlanmamış veriler). Bu farklı sonuçlar HCV infeksiyonunda vireminin intermitan olması, PCR ile tespit edilemeyen düzeyde viremi olması, PCR tekniğinin henüz standardize edilememiş olması ile açıklanabilir.

Akut ve kronik hepatit C infeksiyonlarında biyokimik testlerden en önemlileri ALT ve AST'dir. ALT daha spesifik (1,2). ALT seviyeleri normal ya da yüksek olabilir veya dalgalanmalar gösterebilir. Genellikle normalin üst sınırı, 1.5 katı veya 2-5 katı yükselebilir (1,2,14,18). Bu çalışmada ALT seviyesi, HCV-RNA-negatif 34 serumda ortalama 35.5±42.1 IU/l (normali 5-46 IU/l) bulundu. Bu HCV-RNA-negatif gruptan yalnız 3 kişinin (% 9) ALT değeri normalin üstünde iken 31 kişinin (% 92) normal sınırlarda idi. HCV-RNA-pozitif olan 66 kişilik grupta ortalama ALT değeri 71.6±45.4 IU/l olup normalden yüksek idi. Bu grubun 47 örneğinde (% 71) ALT seviyeleri normalin üstünde iken 19 örneğinde (% 29) normalin üst sınırına yakın normal değerler bulundu. HCV-RNA-negatif ve pozitif serumlar arasında ALT seviyeleri açısından çok anlamlı fark vardı (p<0.0001). Erdem ve arkadaşları (25) HCV-RNA-pozitif serumların % 97'sinde ALT yüksekliği saptamışlardır. Literatürde HCV-RNA pozitifliği ile yüksek ALT seviyeleri bildiren birçok çalışma vardır (30,31). Bunun tersine HCV-RNA-pozitif hastalarda normal ALT seviyeleri tespit eden çalışmalar da vardır (32). Bu değişken sonuçlar, asemptomatik taşıyıcılık, virusun düşük sitopatik etkisi, virusun karaciğer dışı replikasyonu ile açıklanmaya çalışılmıştır (25).

ALT daha spesifik olmakla beraber özellikle kronik hepatit C infeksiyonlarında AST değerleri de yüksek bulunur (1,2). HCV RNA-negatif grupta ortalama AST değeri 37.7 ± 52.3 IU/l (nor-

mali 0-40 IU/l) olup HCV-RNA-pozitif grupta 76.0 ± 49.8 IU/l olarak bulunmuştur. HCV-RNA-negatif serumların 4'ünde (% 12) AST seviyeleri normalin üstünde iken 30'unda (% 88) normal sınırlarda idi. Yine HCV-RNA-pozitif serumların 45'inde (% 68) yüksek AST seviyeleri varken 21'inde (% 32) normal seviyeler tespit edildi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p<0.001).

HCV infeksiyonlarında diğer karaciğer fonksiyonlarından ALP ve GGT'de minimal değişiklikler olabilir (1,2). HCV-RNA-negatif olanlarda ortalama ALP değeri 141.0±115.7 IU/l (normali: 35-145 IU/l) iken HCV-RNA-pozitif olanlarda 166.9±136.9 IU/l olarak bulundu. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen (p>0.05) ikinci grupta yükselme mevcuttu. Yine araştırmamızda HCV-RNA-negatif olanlarda ortalama GGT değeri 32.4±22.9 IU/l iken (normali 0-53 IU/l) pozitiflerde 57.4±54.3 IU/l bulunmuş olup ikinci grupta normalden yüksek idi. HCV-RNA-negatif olanların sadece 3'ünde (% 8.8) GGT değeri normalin üstünde iken 31'inde (% 92) normal seviyelerde idi. Pozitif olanlarda ise 24 serumda (% 36.4) yüksek değerler varken 42 serumda (% 63.7) normal seviyeler tespit edildi. HCV-RNA-negatif ve pozitif serumlar arasında GGT seviyesi bakımından anlamlı fark vardı (p<0.01).

Biyokimyasal parametreler içinde HCV-RNA-pozitif ve negatif gruplar arasında en anlamlı istatistiksel fark ALT seviyelerinde tespit edilirken bunu sırasıyla AST, GGT takip etti (p<0.0001, p<0.001, p<0.01). ALP ile istatistiksel fark yoktu (p>0.05). Fakat HCV-RNA-pozitif olanlarda ALP değerlerinde yükselme mevcuttu. Sonuçlarımız literatürle uyumluydu (1,2,11,12).

Sonuç olarak anti-HCV-pozitif serumlarda ALT, AST, GGT yüksek seviyeleri tespit edilirse HCV infeksiyonu yönünden PCR ile HCV-RNA bakılarak doğrulama yapılabilir veya seronegatif, açıklanamayan yüksek ALT, AST ve GGT seviyeleri bulunan serumlarda anti-HCV, HCV-RNA bakılarak tanı koymak kolaylaşabilir. PCR'ı doğrulama testi olarak kullanıp öncesinde biyokimyasal ve serolojik testlere ağırlık verilmesinin daha doğru olacağı kanısındayız.

Kaynaklar

- Yenen OŞ. C Hepatit virusu. In: Kılıçtırgay K, ed. *Viral hepatit' 94*. İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği, 1994: 133-90
- Çakaloğlu Y. Hepatit C virus infeksiyonu. In: Kılıçtırgay K, ed. *Viral hepatit' 94*. İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği, 1994: 191-235
- Türkoğlu S, Lazizi Y. Serumda hepatit C virusu RNA'sının polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile saptanmasının anlamı. *Klimik Derg* 1994; 7: 69-70
- Bradley DW, Maynard E. Etiology and natural history of post-transfusion and enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 56-66
- Hollinger FB, Robinson WS, Purcell RH, Gerin JL, Ticehurst J. *Viral hepatitis*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1991
- Garson JA, Tedder RS, Brigg SM, et al. Detection of hepatitis C viral sequences in blood donations by nested polymerase chain reaction and prediction of infectivity. *Lancet* 1990; 335: 1419-22
- Furuichi Y, Overby LR. New methods for HCV diagnosis: summary of a specialty session. In: Nishioka K, Suzuki H, Mishioro S, Oda T, eds. *Viral hepatitis and liver disease*. Tokyo: Springer Verlag, 1994: 337-8
- Türkoğlu S, Badur S. *İnfeksiyon hastalıkları tanısında PCR*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayın No 22, 1995
- Uzel S, Özüt H, Eraksoy H, Dilmener M, Çalangu S. Akut viral hepatit: klinik ve biyokimyasal özellikler. *Klimik Derg* 1994; 7: 93-4
- Bernstein LM, Koff RS, Siegel ER, Merrill AD, Goldstein CM. The hepatitis knowledge base (short form). *Ann Intern Med* 1980; 93: 183-222
- Ökten A. Akut viral hepatitler. In: Büyüköztürk K, ed. *İç Hastalıkları*. Cilt 1. İstanbul: İstanbul Tıp Fakültesi Vakfı, 1992: 811-22
- Ökten A. Akut viral hepatitlerin tanısında laboratuvar bulguları. *Kli-*

- mik Derg* 1988; 1(1):36-7
13. Hadziyannis SJ, Giannoulis G, Hadziyannis E, *et al.* Hepatitis C virus infection in Greece and its role in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1993; 17 (Suppl 3): 72-7
 14. Genesca J, Esteban JI, Alter HJ. Blood-borne non-A, non-B hepatitis C. *Semin Liver Dis* 1991; 11:147-64
 15. Okuda K. Liver cancer (hepatitis C). In: Zuckerman AJ, Thomas HC, eds. *Viral hepatitis, scientific basis and clinical management*. London: Churchill Livingstone, 1993; 269-81
 16. Tabor E, Kabayashi K. Hepatitis C virus, a causative infectious agent non-A, non-B hepatitis: prevalence and structure-summary of a conference on hepatitis C virus as a cause of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 86-90
 17. Benhamou JP. Chairman's introduction (viral hepatitis management). *Gut* 1993; 34 (Suppl 2): IV
 18. Yano M, Yatsuhashi H, Inoue O, *et al.* Epidemiology and long term prognosis of hepatitis C virus infection in Japan. *Gut* 1993; 34 (Suppl 2): 13-6
 19. Koretz RL, Abbey H, Colemer E, Gitnick G. Non-A, non-B post-transfusion hepatitis. Looking back in the second decade. *Ann Intern Med* 1993; 119: 110-5
 20. Göral V, Sugiura N, Ebara M, Ohto M. Hepatosellüler karsinoma vakalarında hepatit C virus antikor prevalansı. *Türk Klin Gastroenterohepatol* 1991; 2: 37-40
 21. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, Melpolder JC, *et al.* Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1989; 321: 1494-1500
 22. Chamot E, Hirschel B, Wintsh J, Robert CF, *et al.* Loss of antibody against hepatitis C virus in HIV-seropositive intravenous drug users. *AIDS* 1990; 4: 1275-1277
 23. Sninsky JI. Application of the polymerase chain reaction to the detection of viruses. In: Hollinger FB, Lemon SM, Margolis HS, eds. *Viral hepatitis and liver disease*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991; 799-805
 24. Garson JA. The polymerase chain reaction and hepatitis C virus diagnosis. *FEMS Microbiol Rev* 1994; 14: 229-40
 25. Erdem LK, Ökten A, Badur S, Kaymakoglu S, *et al.* Kronik C hepatitli hastalarda anti-HCV (II. kuşak ELISA), anti-HCV IgM ve HCV RNA (PCR) arasındaki ilişki. *Viral Hepatit Derg* 1995; 1: 13-9
 26. Lau JYN, Davis GL, Kniffen J, *et al.* Significance of serum hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. *Lancet* 1993; 341: 1501-4
 27. Silva A, Hosein B, Boyle R, *et al.* Diagnosis of chronic hepatitis C: comparison of immunoassays and the polymerase chain reaction. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 493-6
 28. Yuki N, Hayashi N, Hogimara H, Okhawa K, *et al.* Blood screening for asymptomatic hepatitis C virus carriers with second-generation hepatitis C virus antibody assays. In: Nishioko K, Suzuki H, Mishiro S, Oda T, eds. *Viral hepatitis and liver disease*. Tokyo: Springer-Verlag, 1994; 352-4
 29. Matsumoto C, Mitomi Y, Watanabe J, Nishioko K. Three-band nested double PCR for semiquantitation of hepatitis C virus in donated blood: comparison with antibody and alanine aminotransferase level. In: Nishioko K, Suzuki H, Mishiro S, Oda T, eds. *Viral hepatitis and liver disease*. Tokyo, Springer Verlag, 1994; 361-4
 30. François M, Dubois F, Brand D, *et al.* Prevalance and significance of hepatitis C virus (HCV) viremia in HCV antibody positive subjects from various populations. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1189-93
 31. Puoti M, Zonaro A, Ravaggi A, *et al.* Hepatitis C virus RNA and antibody response in the clinical course of acute hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1992; 16: 877-81
 32. Silini E, Bonini F, Cerino A, *et al.* Virological features of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2913-7