

Infekcija hepatitis G virusom (HGV) u bolesnika liječenih kroničnom hemodijalizom u Šibensko-kninskoj županiji

Marijana GULIN¹⁾, dr. med., mr. sc.,
specijalist interne medicine
Rok ČIVLJAK²⁾, dr. med.,
specijalist infektolog
Vesna ĐOGIĆ³⁾, dr. med.,
specijalist transfuzijske medicine

¹⁾ Opća bolnica Šibenik, Šibenik

²⁾ Klinika za infektivne bolesti »Dr. Fran Mihaljević«, Zagreb

³⁾ Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb

Ključne riječi

hepatitis G virus (HGV)
hepatitis
zatajenje bubrega
kronična hemodijaliza

Key words

hepatitis G virus (HGV)
hepatitis
chronic renal failure
chronic haemodialysis

Primljeno: 2007–10–15

Received: 2007–10–15

Prihvaćeno: 2007–12–11

Accepted: 2007–12–11

Uvod

Hepatitis G virus (HGV) i GB-virus tip C (GBV-C) neovisno su otkrile dvije skupine istraživača da bi se kasnije pokazalo da među njima postoji 95%-tna homologija zbog čega se danas smatraju varijantama istog RNA virusa iz porodice *Flaviviridae* [1]. Obzirom da su oba virusa

Stručni članak

Hepatitis G virus (HGV) i GB virus tipa C (GBV-C) danas se smatraju varijantama istog RNA virusa i svrstani su u porodicu *Flaviviridae*. Obzirom da se HGV prvenstveno prenosi parenteralnim putem, uočena je njegova učestalija pojava među dijaliziranim bolesnicima. Cilj ovog rada bio je istražiti pojavnost infekcije HGV-om u bolesnika s kroničnim zatajenjem bubrega liječenih kroničnom hemodijalizom u Jedinici za dijalizu Opće bolnice Šibenik te razmotriti značenje infekcije HGV-om u tih bolesnika. Od 79 bolesnika koji su u razdoblju od kolovoza 2004. do lipnja 2005. godine dijalizirani u ovoj bolnici, prospektivno je tijekom devet mjeseci praćeno 16 bolesnika koji su zadovoljavali uvjete za uključivanje na listu čekanja za kadaveričnu transplantaciju bubrega. Infekcija HGV-om utvrđena je metodom lančane reakcija polimeraze u 6/16 ispitanika među kojima niti u jednog nije potvrđena koinfekcija HBV-om, dok je u jednog potvrđena koinfekcija HCV-om. Povišene vrijednosti aminotransferaza nađene su u 2/6 HGV-pozitivna bolesnika, od kojih je jedan bio koinficiran HCV-om. Vrijeme provedeno na hemodijalizi znatno pridonosi povećanju rizika akviriranja infekcije HGV-om. Međutim, višekratno liječenje krvnim pripravcima, koje se u literaturi spominje kao glavni čimbenik rizika za akviriranje infekcije HGV-om, nije utvrđeno kao značajan čimbenik rizika u naših ispitanika.

Hepatitis G virus (HGV) infection in chronic haemodialysis patients in the County of Šibenik and Knin

Professional paper

Hepatitis G virus (HGV) and GB virus type C (GBV-C) are today considered variants of the same RNA virus that belong to the *Flaviviridae* family. Since HGV is primarily transmitted parenterally, its high prevalence has been recorded among dialyzed patients. The aim of this paper was to investigate the prevalence of HGV infection in patients with chronic renal failure undergoing chronic haemodialysis at the Dialysis Unit of the General Hospital Šibenik and to determine the significance of HGV infection in these patients. Out of 79 patients dialyzed in this Unit during the observed period (August, 2004 – June, 2005), we prospectively followed 16 patients that met inclusion criteria for cadaveric kidney transplant waiting list. HGV infection was detected by polymerase chain reaction (PCR) method in 6/16 examinees, non of whom had a HBV coinfection confirmed, only HCV coinfection in one patient. Elevated aminotransferases were found in two HGV-positive patients, of whom one was coinfecting with HCV. The time spent on haemodialysis significantly increases the risk for activating HGV infection. However, multiple treatments with blood products, described in literature as the main risk factor for activating HGV infection, were not determined as a significant risk factor in our examinees.

otkrivena u krvi osoba s etiološki nerazjašnjenim posttransfuzijskim hepatitisom, odmah ih se svrstalo u skupinu hepatotropnih virusa [2]. Kasnije se pokazalo da asimptomatska infekcija HGV-om nije tako rijetka u općoj populaciji, a u dobrovoljnih darovatelja krvi kreće se od 1–3%. Jedno od prvih istraživanja seroprevalencije HGV-infekcije u nas pokazalo je da je prisutnost HGV-

Tablica 1. Neke osobitosti infekcije hepatitis G virusom (HGV) [2]***Table 1.** Features of Hepatitis G Virus (HGV) Infection [2]*

Osobitosti / Feature	Značenje / Description
Taksomonija i klasifikacija virusa/ Taxonomic classification of virus	Novi genus porodice <i>Flaviviridae</i> / New genus in family <i>Flaviviridae</i>
Epidemiologija/ Epidemiology	Globalno rasprostranjen; viremija nađena u 1–3%, a serološka potvrda ekspozicije u 3–15% dobrovoljnih darovatelja krvi/ Globally distributed; viremia in 1–3% and exposure in 3–15% of blood donors
Replikacija virusa u jetri/ Replication of virus in liver	Nema dokaza/ No convincing evidence
Uloga u etiopatogenezi bolesti/ Disease associations	Nema dokaza/ No convincing evidence
Kriptogeni hepatitis ili ciroza/ Cryptogenic hepatitis or cirrhosis	Većina studija nije potvrdila povezanost/ Most studies have shown no relationship
Fulminantni hepatitis/ Fulminant hepatitis	Ranije studije ukazivale su na povezanost, ali ona nije potvrđena kasnije/ Early studies suggested a relationship, but this has not been confirmed later
Posttransfuzijski hepatitis/ Transfusion-associated hepatitis	Beznačajna uloga/ Insignificant role
Koinfekcija sa HCV/ Coinfection with HCV	Ne utječe na klinički tijek hepatitisa C/ No effect on hepatitis C clinical course
Koinfekcija sa HIV/ Coinfection with HIV	Bolesnici zaraženi HIV-om koji su koinficirani i HGV-om imaju dulje preživljenje/ HIV survival advantage shown in HIV-HGV-coinfected patients

* prerađeno prema Alter HJ [2] / adapted from Alter HJ [2]

Legenda: HCV = virus hepatitisa C; HIV = virus humane imunodeficijencije

-RNA potvrđena u serumu oko 2% dobrovoljnih darovatelja krvi u Hrvatskoj [3]. Međutim, u svega 15% inficiranih osoba razvije se kronična viremija/infekcija, dok 85% zaraženih uspije eliminirati virus i razviti protutijela na HGV [2, 4, 5].

Danas se za dijagnostiku infekcije HGV-om koristi metoda lančane reakcije polimeraze (PCR, od engl. polymerase chain reaction) ili neka druga molekularna metoda za dokaz virusne RNA, te serološki testovi za dokaz protutijela na protein ovojnice E2 (anti-E2). Dokazom RNA potvrđuje se viremija u tijeku akutne ili kronične HGV-infekcije, dok dokaz anti-E2 protutijela potvrđuje prijašnju infekciju i nestanak viremije [2, 6, 7]. Do danas nije potvrđena replikacija HGV-a u jetri kao niti njegova uloga u etiopatogenezi akutnog i kroničnog hepatitisa [2, 8]. Obzirom da se HGV prvenstveno prenosi parenteralnim putem, infekcija ovim virusom češće se pojavljuje među bolesnicima koji se liječe hemodijalizom koji su i inače pod većim rizikom akviriranja infekcija koje se prenose putem krvi [2–7, 9–11]. Osnovne osobitosti infekcije HGV-om sažete su u Tablici 1.

Cilj rada

Cilj rada bio je istražiti pojavnost infekcije HGV-om u bolesnika s kroničnim zatajenjem bubrega liječenih kroničnom hemodijalizom u Jedinici za dijalizu Opće bolnice

Šibenik te razmotriti moguće čimbenike rizika za akviriranje infekcije HGV-om kao i njegovo kliničko značenje u tih bolesnika.

Metode rada

Istraživanje je provedeno u razdoblju od kolovoza 2004. do lipnja 2005. godine tijekom kojega su praćeni bolesnici s kroničnim zatajenjem bubrega liječeni hemodijalizom u Jedinici za dijalizu Opće bolnice Šibenik u kojoj se dijaliziraju svi bolesnici s terminalnim zatajenjem bubrega na području Šibensko-kninske županije. Navedeni bolesnici obrađivani su u sklopu standardne obrade radi uključanja na listu za kadaveričnu transplantaciju bubrega, a po napatku Hrvatskog društva za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju [12]. Od 79 bolesnika koji su u tom periodu dijalizirani u ovoj Jedinici, prospektivno je tijekom devet mjeseci praćeno 16 bolesnika koji su zadovoljavali uvjete za uključanje na listu. U tih 16 bolesnika je određivana prisutnost markera infekcije hepatitis B virusom (HBV), hepatitis C virusom (HCV) i HGV-om, a višekratno su određivane i vrijednosti transaminaza i to 3 mjeseca prije testiranja, u trenutku testiranja te 3 i 6 mjeseci nakon testiranja na HGV. Virusna RNA izolirana je primjenom komercijalnog QIAmp Viral RNA minikita (QIAGEN GmbH, Germany), a prisutnost HGV-RNA potvrđena je molekularnom metodom RT-PCR (od engl. reverse tran-

scription polymerase chain reaction) koristeći dva para oligonukleotidnih začetnika smještenih u 5'-nekodirajućoj regiji genoma virusa hepatitisa G. Infekcija HCV-om i HBV-om dokazana je prisutnošću protutijela na HCV (anti-HCV) odnosno serološkim testovima za dokaz markera HBV, te dokazom prisustva HCV-RNA, odnosno HBV-DNA u uzorcima plazme ispitivanih bolesnika koristeći Cobas Amplificor Monitor HCV, odnosno Cobas Amplificor Monitor HBV test (Roche Diagnostics, Germany). Molekularni i serološki testovi rađeni su u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu, dok su biokemijski testovi rađeni u biokemijskom laboratoriju Opće bolnice Šibenik, u tromjesečnim intervalima, prema protokolu praćenja bolesnika koji se dijaliziraju u ovoj ustanovi.

Rezultati

Infekcija HGV-om utvrđena je u 6/16 ispitanika i to u pet muškaraca i jedne žene. Prosječna životna dob HGV-pozitivnih i HGV-negativnih bolesnika bila je podjednaka: u HGV-pozitivnih bolesnika iznosila je 52 godine (raspon od 37–67 godina), dok je u HGV-negativnih bolesnika iznosila 51 godinu (raspon od 27–66 godina). Niti jedan od naših HGV-pozitivnih bolesnika nije ikada prethodno bio liječen krvnim pripravcima, dok je u skupini HGV-negativnih bolesnika čak troje bolesnika primalo krvne pripravke. Prosječno trajanje hemodijalize prije uključanja u studiju bilo je dulje u skupini HGV-pozitivnih bolesnika (medijan 67,5; raspon 13–200 mjeseci) nego u skupini HGV-negativnih bolesnika (medijan 25,5; raspon 5–127 mjeseci). Niti u jednog HGV-pozitivnog bolesnika nije potvrđena koinfekcija HBV-om, dok je u jednog potvrđena koinfekcija HCV-om. Povišene vrijednosti aminotransferaza nađene su u dva HGV-pozitivna bolesnika, od kojih je jedan bio koinficiran HCV-om. Vrijednosti aminotransferaza u oba HGV-pozitivna bolesnika bile su tek blago povišene. Četiri HGV-pozitivna bolesnika imala su normalne vrijednosti transaminaza. Za napomenuti je da su svi HCV/HBV-pozitivni bolesnici bili pozitivni i prije testiranja na HGV i da tijekom praćenja ovih bolesnika nije utvrđena niti jedna novootkrivena infekcija HCV-om odnosno HBV-om. Osnovni podaci o ispitivanim bolesnicima sažeti su u Tablici 2, u kojoj su podaci o bolesnicima s potvrđenom infekcijom HGV-om prikazani masnim slovima.

Rasprava

Iako je ovo istraživanje provedeno na malom broju ispitanika, pokazalo se da infekcija HGV-om nije tako rijetka ni u naših bolesnika s kroničnim zatajenjem bubrega koji se liječe kroničnom hemodijalizom. Naime, infekcija HGV-om utvrđena je u 6/16 (37%) dijaliziranih bolesnika što je sukladno navodima iz literature prema kojima je

HGV-viremija potvrđena u 13–37% bolesnika koji se liječe hemodijalizom [3, 5–7, 9, 10].

U našem istraživanju nismo primijenili određivanje anti-E2 protutijela na HGV za dokaz prijašnje infekcije HGV-om već smo pribjegli samo dokazu virusne RNA za potvrdu aktualne infekcije HGV-om u naših bolesnika. Međutim, prema podacima iz literature, metoda određivanja anti-E2 protutijela koristi se za dokaz ranije infekcije HGV-om koja se u ispitanika kreće i do 26%. U multicentričnoj studiji Hinrichsena i sur. provedenoj na preko 2000 bolesnika u 43 jedinice za hemodijalizu u Njemačkoj, 17,5% ispitanika imalo je pozitivna anti-E2 protutijela, dok je 19,6% bolesnika bilo pozitivno na HGV RNA. Stoga se može zaključiti da je spontana remisija HGV-infekcije moguća u gotovo 50% inficiranih bolesnika [6].

U literaturi se kao glavni čimbenik rizika za akviriranje infekcije HGV-om u dijaliziranih bolesnika navodi višekratno liječenje krvnim pripravcima [6, 8, 9]. Pokazalo se da primanje krvnih pripravaka, i to osobito više od 6 krvnih pripravaka, značajno povećava rizik HGV-infekcije, što nije utvrđeno kao značajan čimbenik rizika i u naših ispitanika, dok duljina liječenja hemodijalizom dodatno povećava taj rizik [6, 11]. U našem istraživanju, niti jedan od HGV-pozitivnih bolesnika nije bio prethodno liječen krvnim pripravcima, dok u skupini HGV-negativnih bolesnika čak je troje primalo krvne pripravke. Prosječno trajanje hemodijalize prije uključanja u studiju bilo je dulje u skupini HGV-pozitivnih nego u skupini HGV-negativnih bolesnika.

Ostaju još uvijek otvorena pitanja postoje li u dijaliziranih bolesnika i neki drugi čimbenici rizika za akviriranje infekcije HGV-om; koji su mogući putevi prijenosa HGV-a, kako bi se mogle provesti adekvatne mjere prevencije nozokomijalnog prijenosa; je li u dijaliziranih bolesnika potrebno češće (ili pak redovito) tragati za infekcijom HGV-om; te konačno koja je uloga HGV-a u etiopatogenezi akutnog i kroničnog hepatitisa.

Zaključak

Iako je ovo istraživanje provedeno na malom broju ispitanika, pokazalo se da infekcija HGV-om nije tako rijetka u naših bolesnika s kroničnim zatajenjem bubrega koji se liječe kroničnom hemodijalizom na što ukazuje podatak od čak 37% HGV-pozitivnih ispitanika u ovoj studiji. Višekratno liječenje krvnim pripravcima nije utvrđeno kao značajan čimbenik rizika za prijenos HGV u naših ispitanika, dok vrijeme provedeno na hemodijalizi znatno pridonosi povećanju tog rizika. Povišene vrijednosti aminotransferaza ne moraju ukazivati nužno na hepatotropnost HGV-a jer oštećenje jetre može biti posljedica djelovanja i nekog još uvijek nedokazanog hepatotropnog virusa, ili nekog neinfektivnog uzroka.

Tablica 2. Osnovni podaci o ispitivanim bolesnicima liječenim kroničnom hemodijalizom u Jedinici za dijalizu Opće bolnice Šibenik (podaci o bolesnicima kod kojih je potvrđena infekcija HGV-om označeni su masnim slovima)**Table 2.** Basic characteristics of patients treated with chronic haemodialysis in County hospital of Šibenik and Knin (data on patients in whom hepatitis G virus (HGV) infection was confirmed are written in bold)

Bolesnik / Patient	Dob (g) / Age (y)	Spol / Sex	Trajanje HD (mj) ^{&} / Duration of HD (months)	Transfuzija / Transfusion	HGV ¹	HCV ²	HBV ³	AST (U/L)				ALT (U/L)			
								Vrijeme testiranja [#]							
								-3	0	+3	+6	-3	0	+3	+6
1.	58	Ž	64	Ne / No	+	-	-	42	39	27	31	26	25	17	21
2.	64	Ž	59	Ne / No	-	+	-	15	16	14	16	11	12	11	11
3.	48	M	200	Ne / No	+	-	-	13	9	11	11	16	16	15	14
4.	50	Ž	127	Ne / No	-	+	-	27	31	21	24	51	47	21	39
5.	66	M	5	Ne / No	-	-	-	/	33	21	20	/	60	15	16
6.	37	M	168	Ne / No	+	+	-	50	37	34	24	60	53	36	36
7.	45	Ž	21	Da / Yes*	-	-	-	43	27	30	19	85	55	43	14
8.	27	M	30	Ne / No	-	-	-	29	17	17	18	23	14	15	11
9.	58	M	113	Da / Yes*	-	-	-	18	14	13	19	16	12	10	15
10.	54	M	13	Ne / No	+	-	-	15	15	17	18	25	33	25	34
11.	48	Ž	5	Ne / No	-	-	+	/	19	16	48	/	23	13	56
12.	43	M	17	Ne / No	-	-	-	13	16	15	14	33	24	10	12
13.	57	M	93	Ne / No	-	+	-	26	24	21	29	47	39	20	42
14.	67	M	71	Ne / No	+	-	-	15	20	28	18	13	12	21	10
15.	50	M	19	Ne / No	+	-	-	26	9	14	19	38	34	26	26
16.	52	M	7	Da / Yes**	-	-	-	30	33	28	36	20	34	17	26

Legenda:

M = muško; Ž = žensko; g = godine; mj = mjeseci; HD = hemodijaliza; HGV = hepatitis G virus; HCV = hepatitis C virus; HBV = hepatitis B virus; AST = aspartat aminotferaza; ALT = alanin aminotferaza;

[&]Trajanje hemodijalize izraženo je brojem mjeseci koje su bolesnici hemodijalizirani do početka studije (kolovoz 2004. godine)

* Bolesnici koji su primili više od 10 doza koncentrata deplazmatiziranih eritrocita;

** Bolesnici koji su primili više od 2 doze koncentrata deplazmatiziranih eritrocita;

[#] Stupci označavaju vrijednosti AST i ALT tri mjeseca prije (-3), u vrijeme (0), tri mjeseca nakon (+3) i šest mjeseci nakon (+6) testiranja na HGV;

¹HGV+ bolesnici su oni u kojih je molekularnom metodom dokazana HGV-viremija;

²HCV+ bolesnici su oni u kojih su dokazana protutijela na HCV (anti-HCV) te molekularnom metodom potvrđena HCV-viremija;

³HBV+ bolesnici su oni u kojih je dokazana prisutnost HBsAg u krvi te molekularnom metodom potvrđena HBV-viremija.

U današnjem trenutku nema obaveznog screeninga dobrovoljnih darovatelja krvi na prisutnost HGV, iako je njegova prevalencija vrlo značajna. Jedan od razloga je nedostupnost odgovarajućeg serološkog dijagnostičkog testa, jer prisustvo E2 protutijela u serumu nije znak viremije, već oporavka ili potpune eliminacije virusa iz krvi. Osim toga, trenutno dostupne molekularne tehnike pretraživanja kojima dokazujemo viremiju nisu adekvatne za screening dobrovoljnih darovatelja. Ipak, odsutnost većeg kliničkog značaja HGV u razvoju jetrene bolesti je najvažniji razlog zbog kojeg se screening dobrovoljnih darovatelja krvi za sada ne provodi [13].

Zahvala:

Zahvaljujemo našim bolesnicima kao i osoblju Jedinice za dijalizu Opće bolnice Šibenik za njihovu pomoć i susretljivost prilikom izvođenja ovog istraživanja.

Acknowledgements:

We are indebted to our patients as well as personnel of Haemodialysis Unit of County Hospital of Šibenik and Knin for their assistance in the performance of this study.

Literatura

- [1] Erker JC, Simons JN, Muerhoff AS, et al. Molecular cloning and characterization of a GB virus C isolate from a patient with non-A-E hepatitis. J Gen Virol 1996;77:2713-20.
- [2] Alter HJ. Hepatitis G Virus and TT Virus. U: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, ur. Principles and practice of infectious diseases. 5. izd. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.
- [3] Dražić V, Marković S, Bingulac-Popović J, Babić I, Grahovac B. Isolation of hepatitis G virus in Croatia. Biochemia Medica 2000;10(3-4):181-5.

- [4] Feucht HH, Zollner B, Polywka S, et al. Prevalence of hepatitis G viremia among healthy subjects, individuals with liver disease, and persons at risk for parenteral transmission. *J Clin Microbiol* 1997;35:767–8.
- [5] Yu ML, Chuang WL, Wang LY, et al. Status and natural course of GB virus C/hepatitis G virus among high risk groups and volunteer blood donors in Taiwan. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15(12):1404–10.
- [6] Hinrichsen H, Leimienstoll G, Stegen G, et al. Prevalence of and risk factors for hepatitis G (HGV) infection in haemodialysis patients: a multicentre study. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(2):271–5.
- [7] Tribl B, Oesterreicher C, Pohanka E, 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* 1998;53(1):212–6.
- [8] Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, et al. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Engl J Med* 1997;336(11):747–54.
- [9] Vurušić B, Grahovac B, Dražić V, Bingulac-Popović J. Prevalence and clinical significance of hepatitis G virus infection in hemodialysis patients. *Period Biol* 2000;102:25–8.
- [10] Eslamifār A, Hamkar R, Ramezani A, et al. Hepatitis G virus exposure in dialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2007;39(4):1257–63.
- [11] Szabo A, Viazov S, Heemann U, et al. GBV-C/HGV infection in renal dialysis and transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:2380–4.
- [12] Kes P, Bubić-Filipi Lj, Bašić-Jukić N, et al. Smjernice za transplantaciju bubrega i Obrazac za prijavu bolesnika. Hrvatsko društvo za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju Hrvatskog liječničkog zbora. 2003. URL: <http://www.hdndt.org/hdndtin-dex.htm>. (30.8.2007.).
- [13] Karayiannis P, Thomas HC. Current status of hepatitis G virus (GBV-C) in transfusion: is it relevant? *Vox Sang* 1997;73:63–9.