

Izabela Liweń^{1,3}, Danuta Januszkiewicz-Lewandowska^{1,2,3}, Jerzy Nowak¹

ROLA WIRUSA TT W PATOGENEZIE CHOROÓB WĄTROBY - ANALIZA WYSTĘPOWANIA TTV U OSÓB CHORYCH I ZDROWYCH

¹ Zakład Genetyki Człowieka PAN

² Instytut Pediatrii Akademii Medycznej

³ Zakład Diagnostyki Medycznej w Poznaniu

Odkrycie wirusa TT zapoczątkowało szereg badań mających na celu poznanie jego roli w patogenezie chorób wątroby. Obecność TTV DNA wykazano u osób z chorobami wątroby, takimi jak ostre i przewlekłe zapalenie czy też rak tego narządu. Rola TTV w ich patogenezie pozostaje niepotwierdzona. Być może jednak wirus TT staje się chorobotwórczy w obecności zakażenia innymi wirusami czy bakteriami, lub też w określonych stanach organizmu, np. immunosupresji.

Słowa kluczowe: TTV, HBV, HCV, HIV, wirusowe zapalenie wątroby

Key words: TTV, HBV, HCV, HIV, viral hepatitis

WSTĘP

Od momentu wykrycia wirusa TT próbowano odpowiedzieć na pytanie czy jest on chorobotwórczy dla człowieka. Odkrywczy TTV wskazywali na rolę tego wirusa w patogenezie potransfuzyjnego zapalenia wątroby nie-A nie-G (1). Autorzy ci wykazali korelację pomiędzy wirusami TTV a podwyższoną aktywnością aminotransferaz w potransfuzyjnym zapaleniu wątroby o nieustalonej etiologii. Wyniki tej pracy zapoczątkowały dalsze badania mające na celu poznanie budowy wirusa, jego właściwości, a co najważniejsze - roli TTV w patogenezie chorób wątroby.

TTV jest bezotoczkowym wirusem, którego kolistą genom tworzy pojedyncza nić DNA o ujemnej polarności, długości od 3537 do 3853 nukleotydów, w zależności od analizowanego genotypu (2,3). W skład genomu wirusa wchodzi regiony kodujące i niekodujące. Regiony kodujące tworzą trzy otwarte ramki odczytu (ORF1, ORF2, ORF3), które kodują białka wirusa - jedno strukturalne i dwa o nieznanym celu (4). Ze względu na trudności w klasyfikacji TTV zaproponowano utworzenie zupełnie nowej rodziny - *Paracircoviridae* (5). Miejsce replikacji TTV są prawdopodobnie komórki szpiku kostnego i wątroby. Poznanymi drogami przenoszenia zakażenia TTV są: parenteralna, pokarmowa, kropelkowa i droga kontaktów seksualnych.

TTV A WIRUSOWE ZAPALENIA WĄTROBY O USTALONEJ ETIOLOGII

Obecność sekwencji wirusa TT wykazano w surowicy chorych zarówno z ostrymi jak i przewlekłymi zapaleniami wątroby o ustalonej etiologii. Fukuda i współpr. oraz Hayashi i współpr. badali częstość występowania TTV DNA u chorych z ostrym wirusowym zapaleniem wątroby wywołanym przez: HAV, HBV, HCV, EBV lub CMV (6,7). Obecność TTV DNA wykazali oni odpowiednio u 4,9% - 15,3% chorych z wzw A, 16,7% - 21,8% chorych z wzw B, 25% - 60% pacjentów z wzw C, 0% - 9,1% chorych z infekcją CMV i u 9,1% - 10% zakażonych EBV. Porównując pacjentów z wiremiami TTV i bez niej autorzy nie wykazali różnic w aktywności aminotransferaz, stężeniu bilirubiny, wartościach czasu protrombinowego. Co więcej, częstość występowania TTV DNA u chorych była zbliżona do wartości osiąganych w grupie kontrolnej (12,0%-20,8%). Na podstawie tych badań autorzy sugerowali brak istotnej roli TTV w patogenezie ostrych wirusowych zapaleń wątroby wywołanych przez HAV, HBV, HCV, CMV czy EBV. Należy jednak zwrócić uwagę, że badane grupy chorych były stosunkowo nieliczne - Fukuda i współpr. przebadali surowice krwi 81 chorych z wzw A, 30 chorych z wzw B, czterech chorych z wzw C i tylko po jednym chorym z infekcją CMV i EBV (6). Badania Kandy i współpr. wykazały nieco wyższą częstość występowania infekcji TTV u chorych z ostrym zapaleniem wątroby typu A i B - odpowiednio 29% (8/28) i 24% (7/29) (8). Z kolei Ikeda i współpr. analizując niewielką grupę - czterech pacjentów z ostrym wzw typu C nie stwierdzili TTV DNA u żadnego z nich (9). Sakamoto i współpr. zaobserwowali wpływ infekcji wirusem TT na wyniki oznaczeń biochemicznych w surowicy krwi chorych z ostrym wirusowym zapaleniem wątroby typu B (10). U 10 pacjentów z koinfekcją TTV stwierdzili oni występowanie wyższych wartości aktywności aminotransferaz i stężenia bilirubiny, w porównaniu z 33 chorymi zakażonymi tylko HBV.

Analizowano również występowanie TTV DNA u osób z przewlekłym zapaleniem wątroby. Obecność TTV DNA u chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B stwierdzano u 20% do 78% badanych (11), a u chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C u 7% do 94,4% badanych (12,13). U chorych tych wykazano brak związku infekcji TTV z przebiegiem klinicznym zapalenia wątroby. Nie obserwowano także wpływu obecności TTV DNA na parametry biochemiczne i obraz histopatologiczny zmian w wątrobie (12, 14,11). Do podobnych wniosków doszli Gimenez-Barcons i współpracownicy (15). Wiremii TTV wykazali oni u 19 spośród 102 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C i u 16 spośród 53 z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B. Analiza parametrów hematologicznych, biochemicznych, przypuszczalnego źródła zakażenia, stopnia uszkodzenia wątroby, genotypu HCV, stężenia HCV RNA lub HBV DNA w surowicy oraz odpowiedzi na leczenie interferonem nie wykazała różnic pomiędzy chorymi z wzw B i C z koinfekcją TTV lub bez niej. Dodatkowo nie wykazano różnic w częstości koinfekcji wirusami HCV, HDV i HGV pomiędzy pacjentami z wzw B TTV DNA-dodatnimi i -ujemnymi.

Inni autorzy wskazywali na udział TTV w chorobach wątroby. Ikeda i współpr. porównali wyniki badań 96 pacjentów z chorobami wątroby wywołanymi przez HCV (ostre i przewlekłe zapalenie wątroby, marskość, rak pierwotny wątroby), wśród których 17 było nosicielami TTV (9). Autorzy ci wykazali, że aktywność aminotransferaz i liczba leukocytów były wyższe u osób z współistniejącym zakażeniem TTV. Zjawisko to

tłumaczyli faktem, że wykrywany w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej wirus TT może wykazywać tropizm w kierunku komórek hematopoetycznych i stymulować leukopoezę (9,16). Podwyższona aktywność aminotransferaz mogłaby świadczyć o wpływie nadkażenia TTV na uszkodzenie komórek wątrobowych u pacjentów z infekcją HCV. Zein i współpr. stwierdzili obecność TTV DNA u 7% (2/29) chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C. Wiremia TTV występowała u 12% (2/17) pacjentów ze skompensowaną marskością wątroby, u 39% (11/28) badanych ze zdekompensowaną marskością i u 56% (9/16) chorych z pierwotnym rakiem wątroby (13). Sekwencje wirusa TT stwierdzano częściej u chorych z bardziej zaawansowanym procesem chorobowym. Dodatkowo wykazano, że koinfekcja wirusem TT występowała statystycznie częściej u chorych zakażonych genotypem 1b wirusa zapalenia wątroby typu C.

WPLYW INTERFERONU NA ELIMINACJĘ TTV

Badania chorych zakażonych HCV i TTV wykazały wrażliwość wirusa TT na terapię samym interferonem alfa lub w skojarzeniu z rybawiryną (17, 18). Leczenie interferonem prowadziło do eradykacji TTV DNA z surowicy krwi badanych chorych w 40% do 50% przypadków. Badania przeprowadzone przez Chayama i współpr. wykazały, że istnieje zależność pomiędzy odpowiedzią na leczenie interferonem a liczbą kopii wirusa TT we krwi (17). W przypadkach wiremii TTV o poziomie równym lub przewyższającym 10^3 kopii/ml nie uzyskano eliminacji TTV DNA z surowicy badanych chorych. Eliminacja wirusa TT z surowicy nie miała wpływu na zmianę aktywności aminotransferaz (17, 18). Podwyższone wartości aktywności aminotransferaz po terapii przeciwwirusowej wiązały się z utrzymującą się obecnością HCV RNA, a ich powrót do wartości fizjologicznych z eradykacją HCV RNA, niezależnie od obecności lub eliminacji TTV DNA. Pośrednio świadczyć to może o braku wpływu zakażenia TTV na przebieg wirusowego zapalenia wątroby typu C.

TTV A PIERWOTNY RAK WĄTROBY

Rola HBV i HCV w patogenezie pierwotnego raka wątroby jest dobrze udokumentowana. Stwierdza się jednak przypadki chorych z pierwotnym rakiem wątroby bez markerów zakażenia HBV czy HCV. Są to przypadki pierwotnego raka wątroby nie B-C (NBNC-HCC - *non B-C hepatocellular carcinoma*). W Japonii ok. 5-10% przypadków pierwotnego raka wątroby ma taki właśnie charakter (19).

W wielu badaniach próbowano ustalić czy TTV może mieć znaczenie w patogenezie tego nowotworu. Według Taggera i współpr. i Kato i współpr. infekcja TTV występowała w 8,1%-100% przypadków NBNC-HCC (20, 21). Według innych autorów u 12,9%-93% chorych z rakiem wątroby i zakażeniem HCV występuje DNA TTV (12). Inne prace wykazały, że 20%-77,8% pacjentów z rakiem wątroby i infekcją HBV jest równocześnie zakażonych TTV (22, 23). Tak szeroki zakres obserwowanych częstości zakażeń wynika głównie z różnic technicznych w metodzie wykrywania TTV. Prawdopodobnie rozbieżności te mogą być wynikiem stosowania starterów komplementarnych dla regionów niekodujących wirusa TT.

Badania przeprowadzone przez Taggera i współpr. wykazały, że występowanie TTV DNA u chorych z rakiem wątroby będących nosicielami HBsAg wynosiło 26,3% (10/38)

(21). Autorzy ci rzadziej obserwowali koinfekcję TTV wśród chorych z rakiem wątroby i zakażeniem HCV (12,9% - 8/62) oraz u chorych, u których nie stwierdzono markerów zakażenia wirusami HCV, HBV lub HGV (8,1% - 5/62). Na związek infekcji TTV i HBV u chorych z rakiem wątroby zwrócili też uwagę Pineau i współpr. (24), którzy stwierdzili u 77% (55/71) TTV DNA - dodatnich chorych koinfekcję HBV. W grupie chorych z pierwotnym rakiem wątroby bez wirerii TTV tylko u 52% (115/222) osób wykryto markery zakażenia HBV. Wiązało się z tym zjawisko częstszego występowania marskości u chorych nadkażonych TTV niż u chorych nie zakażonych tym wirusem. Ci sami autorzy wykazali, że u chorych z rakiem wątroby i wiracją TTV częściej występują zakażenia wirusami z rodziny *Herpesviridae* (CMV, EBV, HSV, HHV-6).

Wykazano również zależność pomiędzy częstością występowania sekwencji wirusa TT a położeniem geograficznym. Statystycznie częściej, bo aż u 34% badanych, stwierdzono infekcję TTV u chorych z terenów Azji (Chin, Japonii, Korei) niż u pacjentów z krajów europejskich (Francji, Włochy, Wielkiej Brytanii), u których zakażenie występowało u 20% badanych. Różnice w częstości występowania TTV DNA u chorych z pierwotnym rakiem wątroby stwierdzono także w obrębie krajów europejskich - więcej przypadków infekcji TTV wykazano we Włoszech niż we Francji (32% vs 13%).

Wpływ zakażenia TTV na parametry biochemiczne czynności wątroby u chorych z rakiem wątroby pozostaje niewyjaśniony. Badania Kusama i współpr. nad chorymi z NBNC-HCC wykazały istotnie wyższe aktywności enzymów wątrobowych u 20 chorych z infekcją TTV w porównaniu z 19 chorymi bez koinfekcji tym wirusem (25). W innych badaniach obecność TTV DNA nie miała wpływu na wyniki oznaczeń biochemicznych i obraz zmian histopatologicznych u chorych z rakiem wątroby o nieustalonej etiologii (26). Wśród chorych z pierwotnym rakiem wątroby na podłożu zakażenia HCV (HCV-HCC - *hepatitis C virus HCC*) nie wykazano znaczących różnic w umiejscowieniu, stopniu zróżnicowania czy zaawansowania nowotworu pomiędzy grupą z infekcją TTV i bez niej (12). Zakażenie TTV nie wpływało również na aktywność enzymów wątrobowych - aminotransferazy alaninowej, alkalicznej fosfatazy czy gamma-glutamylu-transpeptydazy. Z powyższych względów autorzy postulowali brak wpływu infekcji TTV na rozwój pierwotnego raka wątroby.

ROLA TTV W NADOSTRYM ZAPALENIU WĄTROBY

Częstość występowania TTV DNA w surowicy chorych z nadostrym zapaleniem wątroby waha się od 19% do 47% (27,28). Nasilenie objawów klinicznych i przebieg choroby nie były zależne od infekcji TTV. Częstość występowania TTV DNA była zbliżona u pacjentów z nadostrym zapaleniem wątroby o etiologii wirusowej, tj. spowodowanej przez HAV, HBV lub HDV, toksycznej i u tych z postacią idiopatyczną (15). Nie wykazano także różnic w przypuszczalnym źródle infekcji wirusowej (transfuzje krwi, używanie dożylnych narkotyków, kontakty seksualne) pomiędzy badanymi grupami chorych. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań autorzy wyciągnęli wniosek o braku istotnej roli wirusa TT w patogenezie nadostrego zapalenia wątroby.

ROLA TTV W PATOLOGII WĄTROBY O NIEUSTALONEJ ETIOLOGII

W ostrych zapaleniach wątroby o nieustalonej etiologii stwierdzano zakażenie TTV u 26% do 71% pacjentów (29, 30, 31). W przebiegu przewlekłych zapaleń wątroby

zakażenie TTV wykazano u 16% do 62,5% badanych (29, 32). U chorych z marskością wątroby o nieustalonej etiologii TTV DNA wykryto w 10% do 66% przypadków (29,33). Arakawa i współpr. nie stwierdzili związku między infekcją TTV a wynikami oznaczeń biochemicznych (aktywność enzymów wątrobowych, stężenie bilirubiny) u pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby o nieustalonej etiologii, marskością czy rakiem wątroby (29). Analizując dane pacjentów z ostrym zapaleniem wątroby autorzy zaobserwowali niższą aktywność aminotransferaz i poziom bilirubiny u chorych TTV DNA-dodatnich w porównaniu z osobami bez wirerii TTV. Mogłoby to świadczyć o braku roli TTV w patogenezie ostrych zapaleń wątroby o nieustalonej etiologii. Jednak mała liczebność badanych grup nie pozwalała na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków. Badania te objęły tylko 18 chorych z ostrym zapaleniem wątroby, 8 z zapaleniem przewlekłym, 6 pacjentów z marskością wątroby i czterech z pierwotnym rakiem wątroby. Analizy danych chorych z ostrym zapaleniem wątroby nie A-G dokonali też Parquet i współpr. (31). W badaniach tych, przeprowadzonych na większej liczbie chorych (n= 66), szukano związku między obecnością TTV DNA a przebiegiem klinicznym choroby i wynikami analiz biochemicznych. Nie wykazano jednak zależności pomiędzy występowaniem infekcji TTV a aktywnością aminotransferaz, stężeniem bilirubiny, czy też przebiegiem klinicznym choroby. Zaobserwowano natomiast częstsze występowanie sekwencji wirusa TT u mężczyzn poniżej 40 roku życia. Inni autorzy stwierdzili jednak możliwość wpływu infekcji TTV na aktywność enzymów wątrobowych w przebiegu przewlekłego zapalenia i marskości wątroby o nieustalonej etiologii (34). Chorzy zakażeni TTV mieli wyższe wartości aktywności fosfatazy alkalicznej i gamma-glutamylu-transpeptydazy w porównaniu z pacjentami TTV DNA ujemnymi. Badania histopatologiczne tkanki wątrobowej pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby nie B-C i infekcją TTV wykazały ogniskową martwicę, degenerację hepatocytów i stłuszczenie różnego stopnia (14). Wykładniki przewlekłego zapalenia w przestrzeniach wrotnych tj. nacieki limfocytów, martwica i włóknienie nie były nasilone. Zmiany te jednak nie różniły się istotnie od tych zaobserwowanych u chorych bez wirerii TTV. Badania tkanki wątrobowej chorych z zapaleniem wątroby typu nie A-G metodą hybrydyzacji *in situ* wykazały różne rozmieszczenie DNA wirusa w zależności od czasu trwania zapalenia wątroby (36). W czterech analizowanych przypadkach ostrych zapaleń komórki zakażone TTV były rozproszone śródrazikowo. W dwóch przypadkach zapaleń przewlekłych grupowały się one w przestrzeniach wrotnych. Aż u 5 z 6 wyżej opisanych pacjentów autorzy stwierdzili podwyższone wartości aktywności enzymów wątrobowych.

ZAKAŻENIE TTV U PACJENTÓW Z CHOROBAMI KRWI I U PACJENTÓW HEMODIALIZOWANYCH

Wyniki wielu badań wykazały, iż ryzyko zakażenia TTV wzrasta wraz z liczbą przetoczeń pełnej krwi lub jej składowych tj. masy erytrocytarnej, płytkowej czy świeżo mrożonego osocza (37).* Występowanie TTV DNA w preparatach krwiopochodnych wiąże się z możliwością przeniesienia infekcji na chorych wymagających ich przetoczeń. Simmonds i współpr. stwierdzili występowanie TTV DNA w 9 z 12 koncentratów VIII i IX czynnika krzepnięcia oraz immunoglobulin (28). Były to preparaty, przy produkcji których nie zastosowano procedur inaktywacji wirusów. Zastosowanie takich procedur

zmniejszało częstość występowania TTV DNA w analizowanych preparatach krwiopochodnych. Sekwencje wirusa TT wykrywano wówczas tylko w 9 z 22 badanych preparatów. Najskuteczniejszą metodą inaktywacji wirusa okazała się 10-godzinna pasteryzacja w temperaturze 60°C. Ci sami autorzy przeanalizowali surowice chorych na hemofilię i chorobę von Willebranda pod kątem obecności TTV DNA. Badane grupy objęły odpowiednio 59 chorych z hemofilią A, 16 z hemofilią B i 9 pacjentów z chorobą von Willebranda. U chorych na hemofilię częstość występowania infekcji TTV zależała od ciężkości choroby (poziomu brakującego czynnika krzepnięcia), a więc pośrednio od ilości przetoczonych jednostek koncentratów czynników krzepnięcia. U pacjentów z hemofilią A TTV DNA wykazano u 11% chorych z postacią łagodną oraz u 41% z postacią ciężką. W hemofilii B częstość infekcji TTV wahała się od 11% u chorych z postacią łagodną do 57% u pacjentów z postacią umiarkowaną i ciężką. Po zastosowaniu procedur inaktywacji wirusa odsetki te zmniejszyły się, np. w hemofilii A do 0,5%. U chorych z chorobą von Willebranda częstość zakażenia wirusem TT wynosiła 11%. Inni autorzy stwierdzili jeszcze wyższą częstość występowania sekwencji wirusa TT we krwi chorych na hemofilię (38). Badania Takayama i współprac., obejmujące 50 chorych, wykazały występowanie zakażenia TTV DNA aż u 75% z nich (38). Zastosowanie procedur inaktywacji wirusa zmniejszyło ten odsetek do 44,4% przypadków. Nie stwierdzono w tej grupie badanych wpływu zakażenia wirusem TT na aktywność aminotransferaz. Podwyższona aktywność aminotransferaz występowała tylko w przypadku równoczesnej infekcji HCV. Przeprowadzone po 5 latach ponowne badania surowic od osób uprzednio TTV DNA-dodatnich, wykazały obecność sekwencji wirusa aż w 85,3% przypadków. Potwierdza to fakt przetrwałego charakteru infekcji TTV.

U chorych na beta-talasemię, wymagających przetoczeń krwi, częstość występowania TTV DNA była jeszcze wyższa niż u chorych na hemofilię i sięgała 93,5% (87/93) (39). Chorzy byli monitorowani przez okres dalszych trzech lat. Pozwoliło to na stwierdzenie długotrwałego charakteru infekcji TTV - aż u 96,5% chorych zakażenie TTV utrzymywało się podczas trzyletniej obserwacji. Spośród 6 chorych TTV DNA-ujemnych trzech zakażyło się w trakcie tej obserwacji. Nie zaobserwowano korelacji między zakażeniem TTV a aktywnością aminotransferaz.

TTV DNA wyizolowano także z surowicy 15 z 25 chorych (60%) poddanych przeszczepieniu szpiku kostnego z powodu przewlekłej białaczki szpikowej, ostrej białaczki limfoblastycznej, ostrej białaczki szpikowej, zespołu mielodysplastycznego i niedokrwistości aplastycznej (40). Utrzymywanie się infekcji u 50% badanych po przeszczepieniu szpiku wskazywać może na replikację wirusa TT w komórkach hematopoetycznych szpiku. W pracy tej autorzy nie wykazali wpływu infekcji TTV na wystąpienie reakcji odrzucenia przeszczepu.

Częstość występowania TTV DNA u pacjentów poddawanych hemodializie, w różnych badaniach wynosiła od 28% do 53%, przy grupach obejmujących od 36 do 352 chorych (41, 42, 13, 20). Gallian i współprac. wykazali, że występowanie infekcji TTV było statystycznie częstsze u chorych wywodzących się z krajów afrykańskich, otrzymujących częste przetoczenia krwi, chorych poddawanych przeszczepom narządów, jak również u pacjentów z obecnością przeciwciał anti-HBc czy nawet u chorych z cukrzycą (42). Infekcja wirusem TT nie miała jednak wpływu na aktywność enzymów

wątrobowych u chorych hemodializowanych (20). Częstość występowania zakażenia TTV nie była zależna od czasu prowadzenia hemodializy. Zaobserwowano natomiast zjawisko zakażenia jednego chorego kilkoma genotypami TTV, podobnie jak to ma miejsce w przypadku zakażeń wirusem C zapalenia wątroby (20).

HIV ATTV

Infekcję wirusem TT stwierdzano u 34,9% do 76% osób zakażonych HIV (43,44). W badaniach Puig-Basagoiti i współpr. przeprowadzono analizę występowania koinfekcji wirusem TT, wirusem zapalenia wątroby typu C i wirusem zapalenia wątroby typu G u 160 zakażonych HIV (44). Występowanie TTV DNA i HCV RNA było częstsze u chorych, u których do zakażenia HIV doszło prawdopodobnie na drodze parenteralnej, tj. u chorych na hemofilię i narkomanów stosujących narkotyki dożylnie, niż u chorych zakażonych HIV przypuszczalnie drogą kontaktów seksualnych. W pierwszej grupie chorych wykrywano TTV DNA w 62%, a HCV RNA w 68% przypadków. W drugiej grupie badanych odsetki te wynosiły odpowiednio 17% i 16%. Sekwencje wirusa TT (ale nie wirusa HCV czy HGV) stwierdzono częściej w surowicy krwi chorych na hemofilię (76%) niż u narkomanów stosujących narkotyki dożylnie (47%) ze współistniejącym zakażeniem HIV. Infekcja TTV była także częstsza u homoseksualistów niż u osób heteroseksualnych (26% vs 10%). Autorzy nie zaobserwowali zależności pomiędzy zmniejszoną liczbą limfocytów CD4+ a wiremią TTV. Podobnie podwyższona aktywność aminotransferaz w krwi badanych nie korelowała z obecnością sekwencji TTV. Koinfekcja wirusem HGV także nie wpływała na aktywność aminotransferaz. Zmiany w wartościach aktywności enzymów wątrobowych były zależne jedynie od obecności wirusii HCV u osób zakażonych HIV. Inni autorzy wykazali, że wirus TT może wpływać na przebieg zakażenia HIV. Christensen i współpr. porównując badanych zakażonych wirusem TT stwierdzili, że poziom wirusii TTV był znacznie wyższy u chorych z koinfekcją HIV (maksymalnie 9×10^6 kopii/ml) niż u krwiodawców służących jako grupa kontrolna (maksymalnie 7×10^4 kopii/ml) (43). W celu określenia wpływu infekcji TTV na czas przeżycia chorych zakażonych HIV, autorzy podzielili ich na dwie grupy: pierwszą - TTV DNA-ujemnych lub z niskim poziomem wirusa TTV tj. do $3,5 \times 10^5$ kopii/ml i drugą - z wysoką wiremią TTV - równą lub wyższą od $3,5 \times 10^5$ kopii/ml. Porównanie tych grup wykazało krótszy czas przeżycia i niższy poziom limfocytów CD4+ u chorych z grupy drugiej. Autorzy uznali TTV za kolejną infekcję oportunistyczną w przebiegu zakażenia HIV. Miano TTV jest, według nich, niezależnym czynnikiem wpływającym na przebieg choroby, obok innych, takich jak liczba limfocytów CD4+, stężenie beta2 mikroglobuliny, miano HIV w surowicy i wiek chorych.

Inni autorzy przeanalizowali występowanie TTV DNA u zakażonych wirusem HIV matek i ich dzieci (45). Obecność sekwencji wirusa TT stwierdzili u 29 z 83 kobiet zakażonych HIV (34,9%). Infekcja TTV występowała statystycznie częściej u narkomanek stosujących narkotyki dożylnie w porównaniu z chorymi nie przyjmującymi narkotyków (45,6% vs 21,5%). Nie potwierdzono związku infekcji TTV z wiekiem chorych, liczbą limfocytów CD4+, mianem HIV w surowicy, a także współistnieniem zakażeń innymi wirusami - HBV, HCV i HGV. Badania surowicy dzieci matek z wiremią TTV wykazały sekwencje wirusa TT u 8 z nich (27,5%). TTV DNA wykry-

wano u dzieci średnio półtora miesiąca od porodu. Rzadziej dochodziło do zakażenia TTV u dzieci z zaplanowanych porodów operacyjnych niż u urodzonych drogami naturalnymi lub z cięć cesarskich ze wskazań nagłych - 7,6% vs 43,7%. U żadnego z analizowanych dzieci TTV DNA dodatnich nie stwierdzono wykładników zapalenia wątroby. Nadkażenie wirusem TT u dzieci nie miało związku z liczbą matczyńskich limfocytów CD4+, mianem HIV w surowicy matek czy koinfekcją innymi wirusami (HBV, HCV, HGV).

TTV U NARKOMANÓW STOSUJĄCYCH NARKOTYKI DOŻYLNIE

Częstość wirerii TTV u narkomanów stosujących narkotyki dożylnie wynosiła w różnych badaniach od 17% do 40% (46, 24, 47). W żadnym badaniu obecność sekwencji wirusa TT nie wiązała się z podwyższoną aktywnością enzymów wątrobowych. Szczegółowa analiza danych 158 chińskich narkomanów przeprowadzona przez Cao i współpr. wykazała brak istotnych różnic pomiędzy grupą z wirerią TT lub bez niej (46). Autorzy nie znaleźli zależności pomiędzy obecnością TTV DNA a czasem trwania nałogu, transfuzjami krwi, kontaktami seksualnymi badanych i aktywnością enzymów wątrobowych. Spośród 31 TTV-DNA dodatnich badanych u żadnego nie stwierdzono samej tylko infekcji TTV. Zawsze towarzyszyło jej zakażenie wirusami zapalenia wątroby typu B, C, G lub wirusem HIV.

WYSTĘPOWANIE TTV DNA U PERSONELU MEDYCZNEGO

Na zakażenie wirusami przenoszonymi drogą parenteralną narażony jest również personel medyczny. Nagano i współpr. poddali analizie surowice krwi 54 lekarzy, 257 pielęgniarek i 45 techników laboratoryjnych (48). TTV DNA wykryto w surowicy u 18,5% lekarzy, 16,3% pielęgniarek i 26,6% laborantów. Różnice w występowaniu infekcji TTV wśród tych trzech grup nie były istotne statystycznie, co więcej - nie odbiegały od wartości uzyskanych w grupie kontrolnej zdrowych ochotników nie mających związku ze służbą zdrowia, u których odsetek ten wynosił 18,7%. Dane te świadczą o niskim ryzyku zawodowej infekcji TTV. Infekcja TTV nie miała wpływu na aktywność enzymów wątrobowych, stężenie bilirubiny, hemoglobiny i białka całkowitego w krwi badanych osób.

WYSTĘPOWANIE TTV DNA U OSÓB ZDROWYCH

Częstość występowania TTV DNA we krwi osób zdrowych osiaga, według różnych autorów, wartości mieszczące się w bardzo szerokim zakresie od 1% do 92% (49, 41, 28). Badane grupy liczyły od 30 do 100 osób. Wyjątkiem były badania Simmondsa i współpr., którzy przeanalizowali 1000 surowic i wykazali występowanie sekwencji TTV w 1,9% przypadków (28). Badani w grupach kontrolnych byli krwiodawcami, u których nie stwierdzono obecności przeciwciał anti-HCV, anti-HIV ani antygeny HBs (49, 41, 28) lub osobami poddawanych badaniom okresowym bez wskaźników zakażenia HBV lub HCV (14, 50). Infekcja TTV nie powodowała podwyższenia aktywności enzymów wątrobowych ani nie wywoływała żadnych objawów klinicznych u badanych. Podobnie jak w przypadku chorych tak i u osób zdrowych zaobserwowano zjawisko infekcji mieszanej tj. obecności kilku genotypów wirusa TT u jednego zakażonego (51). W badaniach Simmondsa i współpr. przeprowadzonych u 1000 krwiodawców udało się

wykazać zależność pomiędzy częstością występowania TTV DNA a wiekiem badanych. U osób po 50 roku życia wykrywano wirusa TT w najwyższym procencie (28).

Dużą rozbieżność uzyskiwanych wyników dotyczących częstości występowania infekcji TTV DNA można tłumaczyć różnym doбором starterów zlokalizowanych zarówno w obrębie regionów kodujących jak i niekodujących genomu wirusa. Najwyższa częstość występowania TTV DNA - 92%, obserwowana była w przypadku wykrywania wirusa TT starterami komplementarnymi do regionów niekodujących (50). W tych samych badaniach użycie starterów komplementarnych do regionów kodujących TTV zmniejszyło częstość wykrywania TTV DNA do 23%. Istnieje możliwość, że startery z regionów niekodujących wykrywają fragmenty endogennego DNA homologiczne do wirusa TT. Jest to prawdopodobnie powód uzyskiwania tak wysokich częstości występowania TTV DNA przez niektórych autorów.

Różna częstość występowania zakażenia TTV wśród zdrowych osób może zależeć także od położenia geograficznego. Wirusa TT wykrywano w populacji zdrowych osób np. u 12% w Japonii (52,41), u 1% do 10% w Wielkiej Brytanii (14,28) i USA (49), u 5% we Francji (52) u 6,2% w Islandii (51). Natomiast w krajach tropikalnych - Papua Nowa Gwinea, Gambia wartości te sięgały 75% i 83% (53).

Przedstawione powyżej częstości występowania TTV DNA zarówno wśród badanych chorych jak i w grupach kontrolnych wahały się od kilku do kilkudziesięciu procent. Rozbieżności te można tłumaczyć zróżnicowanym doбором grup badanych - pod względem wieku, narażenia na dodatkowe czynniki chorobotwórcze (zakażenia wirusami hepatotropowymi lub HIV), czy też współistnienia innych chorób. Istotną rolę odgrywa także często niewielka liczebność grup badanych. Znaczenie mają również czynniki geograficzne.

Przedstawione dane z piśmiennictwa w zasadzie nie wskazują na rolę wirusa TT w patogenezie zapalenia wątroby typu B, C i o nieustalonej etiologii. Istnieje możliwość, że TTV staje się chorobotwórczy dopiero po nadkażeniu innym wirusem. Znane są takie przypadki, np. wirusy adenosatelitarne z rodzaju dependowirusów, których chorobotwórczość ujawniają się dopiero po nadkażeniu wirusami z grupy adenowirusów lub wirusów herpes. Dependowirusy należą do rodziny *Parvoviridae*, z którą to rodziną często porównywano wirusa TT.

Znaczenie może mieć współistnienie innych chorób. Zwykle oznacza to obecność w organizmie dodatkowych patogenów - bakterii i wirusów, które tworzą skomplikowany układ zależności i powiązań. Zależności te są w wielu wypadkach jeszcze niepoznane. Niewykluczone, że zakażenie TTV może ujawniać się w niektórych stanach organizmu, np. w immunosupresji. Doniesienia o odkryciach nowych wirusów są coraz częstsze - z tego roku pochodzi informacja o wykryciu grupy jednoniciowych wirusów DNA - SEN (54). Jednak poznanie znaczenia nowoodkrytych drobnoustrojów w patogenezie chorób człowieka wymaga zakrojonych na szeroką skalę dalszych badań. Można sądzić, że zastosowanie nowoczesnych technologii badania ekspresji genów u człowieka pozwoli na wyjaśnienie udziału TTV w patogenezie chorób wątroby tylko u niektórych osób z „genami wrażliwości” na zakażenia wirusowe.

I Liweń^{1,3}, D Januszkiewicz-Lewandowska^{1,2,3}, J Nowak

ROLE OF TT VIRUS IN PATHOGENESIS OF LIVER DISEASES - THE INCIDENCE OF TTV IN PATIENTS AND HEALTHY INDIVIDUALS

SUMMARY

Primarily TTV has been thought as an etiologic agent of post transfusion non-A to -G hepatitis. TTV can replicate in liver and bone marrow cells. The presence of TTV has been found in the serum of patients with acute as well as chronic hepatitis of known etiology. Patients with acute hepatitis A, B, C and hepatitis caused by EBV or CMV all have TTV viremia in a frequency up to 60%. In chronic viral hepatitis TTV was present in a wide range of 7-94,4%. Treatment of viral hepatitis patients with interferon alfa and rybawirin leads to eradication of TTV viremia in 50% cases. TTV infection in hepatocellular carcinoma ranged from 8,1% up to 100% patients. In hepatitis of unknown etiology TTV infection was observed in 26% to 71% cases. In liver cirrhosis TTV infection has been evidenced in 10% to 66% patients. Some authors postulated that the frequency of TTV increased with the number of blood or blood products transfusions. Coinfection of TTV has been found in 34,9% - 76% of HIV positive persons. The study of medical staff revealed no difference in TTV viremia with healthy individual control. TTV is widespread in healthy general population. Therefore based on so far published results the association between TTV infection and hepatitis is questionable.

PIŚMIENNICTWO

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, i in. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;241:92-7.
2. Miyata H, Tsunoda H, Kazi A, i in. Identification of a novel GC-rich 113-nucleotide region to complete the circular, single-stranded DNA genome of TT virus, the first human circovirus. *J Virol* 1999;73:3582-6.
3. Mushahwar IK, Erker JC, Muerhoff AS, i in. Molecular and biophysical characterization of TT virus: Evidence for a new virus family infecting humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3177-82.
4. Nishizawa T, Okamoto H, Tsuda F, i in. Quasispecies of TT virus (TTV) with sequence divergence in hypervariable regions of the capsid protein in chronic TTV infection. *J Virol* 1999;73 :9604-8.
5. Takahashi K, Iwasa Y, Hijikata M, i in. Identification of a new human DNA virus (11V-like mini virus, TLMV) intermediately related to TT virus and chicken anemia virus. *Arch Virol* 2000;145:973-9.
6. Fukuda Y, Katano Y, Kumada T, i in. TT virus (TTV) is not associated with acute sporadic hepatitis. *Infection* 1999;27:125-7.
7. Hayashi K, Fukuda Y, Hayakawa T, i in. TT virus (TTV) infection in patients with acute hepatitis. *Nippon Rinsho* 1999;57:1322-5.
8. Kanda T, Yokosuka O, Ikeuchi T, i in. The role of TT virus infection in acute viral hepatitis. *Hepatology* 1999;29:1905-8.
9. Ikeda H, Takasu M, Inoue K, i in. Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) in patients with acute or chronic liver disease of unknown etiology and in those positive for hepatitis C virus RNA. *J Hepatol* 1999;30:205-12.
10. Sakamoto M, Akahane Y. TTV superinfection on acute hepatitis B. *Nippon Rinsho* 1999;57:1326-9.
11. Tangkijvanich P, Theamboonlers A, Hirsch P, i in. TT virus infection in chronic liver disease. *Hepatogastroenterology* 1999;46:1053-8.

12. Kato T, Mizokami M, Orito E, i in. High prevalence of TT virus infection in Japanese patients with liver diseases and in blood donors. *J Hepatol* 1999;31:221-7.
13. Zein NN, Arslan M, Li H, i in. Clinical significance of TT virus infection in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3020-7.
14. Naoumov NV, Petrova EP, Thomas MG, i in. Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease. *Lancet* 1998;352:195-7.
15. Gimenez-Barcons M, Fornis X, Ampurdanes S, i in. Infection with a novel human DNA virus (TTV) has no pathogenic significance in patients with liver diseases. *J Hepatol* 1999;30:1028-4.
16. Okamoto H, Kato N, Iizuka H, i in. Distinct genotypes of a nonenveloped DNA virus associated with posttransfusion non-A to G hepatitis (TT virus) in plasma and peripheral blood mononuclear cells. *J Med Virol* 1999;57:252-8.
17. Chayama K, Kobayashi M, Tsubota A, i in. Susceptibility of TT virus to interferon therapy. *J Gen Virol* 1999;80:631-4.
18. Chayama K. Susceptibility of TT virus to interferon therapy. *Nippon Rinsho* 1999;57:1390-4.
19. Yamamoto T, Kajino K, Ogawa M, i in. Hepatocellular carcinomas infected with the novel TT DNA virus lack viral integration. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;251:339-43.
20. Fornis X, Hegerich P, Darnell H, i in. High prevalence of TT virus (TTV) infection in patients on maintenance hemodialysis: frequent mixed infections with different genotypes and lack of evidence of associated liver disease. *J Med Virol* 1999;59:313-7.
21. Tagger A, Donato F, Ribero ML, i in. A case-control study on a novel DNA virus (TT virus) infection and hepatocellular carcinoma. The Brescia HCC study. *Hepatology* 1999;30:294-9.
22. Kim SR, Hayashi Y, Kudo M, i in. TTV positivity and transfusion history in non-B, non-C hepatocellular carcinoma compared with HBV- and HCV-positive cases. *Intervirology* 2000;43:13-5.
23. Nakagawa N, Ikoma J, Ishihara T, i in. High prevalence of transfusion-transmitted virus among patients with non-B, non-C hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1999;86:1437-40.
24. Pineau P, Meddeb M, Raselli R, i in. Effect of TT virus infection on hepatocellular carcinoma development: results of a euro-asian survey. *J Infect Dis* 2000;81:1138-42.
25. Kusama K, Mizuo H, Ikai E, i in. Detection of TT virus (TTV) in non-B, non-C hepatitis patients with hepatocellular carcinoma, and clinical features of these patients. *Nippon Rinsho* 1999;57:1366-9.
26. Shimizu T, Moriyama M, Matsumura H, i in. TT virus infection in patients with hepatocellular carcinoma associated with non-A to G hepatitis: histopathological study. *Nippon Rinsho* 1999;57:1381-6.
27. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, i in. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatol Res* 1998;10:1-16.
28. Simmonds P, Davidson F, Lycett C, i in. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products. *Lancet* 1998;352:191-5.
29. Arakawa Y, Shioda A, Moriyama M. Incidence of TT virus infection in patients with non-A to G liver disease. *Nippon Rinsho* 1999;57:1290-4.
30. Niel C, de-Oliveira JM, Ross RS, i in. High prevalence of TT virus infection in Brazilian blood donors. *J Med Virol* 1999;57:259-63.
31. Parquet MC, Yatsushin H, Koga M, i in. Prevalence and clinical characteristic of TT virus (TTV) in patients with sporadic acute hepatitis of unknown etiology. *J Hepatol* 1999;31:985-9.

32. Colombatto P, Brunetto MR, Kansopon J, i in. High prevalence of G1 and G2 TT- virus infection in subjects with high and low exposure risk: identification of G4 isolates in Italy. *J Hepatol* 1999;31:990-6.
33. Nakano T, Park YM, Mizokami M, i in. TT virus infection among blood donors and patients with non-B, non-C liver diseases in Korea. *J Hepatol* 1999;30:389-93.
34. Shibayama T, Igari T, Tsuda F. The prevalence of TTV infection in non-A to G chronic liver disease, especially non-A to G hepatocellular carcinoma, and the clinical significance of TTV infection. *Nippon Rinsho* 1999;57:1356-61.
35. Hasebe C, Kawashima T, Kohgo Y. Histological findings of TTV-positive non-B non-C chronic hepatitis patients. *Nippon Rinsho* 1999;57:1350-5.
36. Xu D, Lang Z, Wang G. Detection of TTV DNA in liver tissue of patients with non A-G hepatitis. *Chung Hua Tsang Ping Tsa Chih* 1999;7:96-7.
37. Kobayashi M, Chayama K, Arase Y, i in. Prevalence of TT virus before and after blood transfusion in patients with chronic liver disease treated surgically for hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:358-63.
38. Takayama S, Miura T, Matsuo S, i in. Prevalence and persistence of a novel DNA TT virus (TTV) infection in Japanese haemophiliacs. *Br J Haematol* 1999;104:626-9.
39. Prati D, Lin YH, De Mattei C, i in. A prospective study on TT virus infection in transfusion-dependent patients with beta-thalassemia. *Blood* 1999;93:1502-5.
40. Kanda Y, Tanaka Y, Kami M, i in. TT virus in bone marrow transplant recipients. *Blood* 1999;93:2485-90.
41. Oguchi T, Tanaka E, Ofii K, i in. Transmission of and liver injury by TT virus in patients on maintenance hemodialysis. *J Gastroenterol* 1999;34:234-40.
42. Gallian P, Berland Y, Olmer M, i in. TT virus in French hemodialysis patients: study of prevalence and risk factors. *J Clin Microbiol* 1999;37:2538-42.
43. Christensen JK, Eugen-Olsen J, Sorensen M, i in. Prevalence and prognostic significance of infection with TT virus in patients infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 2000;181:1796-9.
44. Oguchi T, Tanaka E, Ofii K, i in. Transmission of and liver injury by TT virus in patients on maintenance hemodialysis. *J Gastroenterol* 1999;34:234-40.
45. de Martino M, Moriodno M, Azzari C, i in. TT virus infection in human immunodeficiency virus type 1 infected mothers and their infants. *J Med Virol* 2000;61:347-51.
46. Cao K, Mizoami M, Orito E, i in. TT virus infection among IVDUs in south western China. *Scand J Infect Dis* 1999;31:21-5.
47. Desai SM, Muerhoff AS, Leary TP, i in. Prevalence of TT virus infection in US blood donors and populations at risk for acquiring parenterally transmitted viruses. *J Infect Dis* 1999;179:1242-4.
48. Nagano K, Fukuda Y, Yokozaki S, i in. Low risk of TT virus (TTV) infection in medical workers. *J Hosp Infec* 1999;42:243-6.
49. Charlton M, Adjei P, Poterucha J, i in. TT-virus infection in North American blood donors, patients with fulminant hepatic failure, and cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 1998;28:839-42.
50. Takahashi K, Hoshino H, Ohta Y, i in. Very high prevalence of TT virus (TTV) infection in general population of Japan revealed by a new set of PCR primers. *Hepatol Res* 1998;12:233-9.
51. Love A, Stanzeit B, Li L, i in. TT virus infections among blood donors in Iceland. *Transfusion*, 2000;40:306-9.
52. Biagini P, Gallian P, Cantaloube JF, i in. Presence of TT virus in French blood donors and intravenous drug users. *J Hepatol* 1998;26:684-5.

53. Prescott LE, MacDonald DM, Davidson F, i in. Sequence diversity of TT virus in geographically dispersed human populations. *J Gen Virol* 1998;80:1751-8.
54. Tanaka Y, Primi D, Wang RY, i in. Genome and molecular evolutionary analysis of a newly identified infectious agent (SEN Virus) and its relationship to the TT virus family. *J Infect Dis* 2001;183:359-67.

Adres autorów:

Jerzy Nowak

Zakład Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk

ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

e-mail: nowakjs@man.poznan.pl