

فصلنامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری وابسته به انجمن متخصصین بیماری‌های عفونی و گرمسیری
سال یازدهم، شماره ۳۲، صفحات ۲۹ تا ۳۳، بهار ۱۳۸۵

بررسی ارتباط آنتی ژن e و سطح آلانین آمینوترانسفراز در بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن B با PCR مثبت

زری نخودیان^{۱*}، دکتر بهروز عطایی^۲

۱. کارشناس پژوهشی مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۲. متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری استادیار و محقق مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

* آدرس برای مکاتبه: اصفهان، خیابان خرم، مجتمع مراکز تحقیقاتی صدیقه طاهره (س)، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، شماره: ۰۳۱۱۳۳۷۳۷۳۵
nokhodian@yahoo.com

دریافت مقاله: دی ماه هشتاد و چهار پذیرش برای چاپ: فروردین هشتاد و پنج

چکیده

سابقه و هدف: ۳۵۰ میلیون نفر در جهان توسط ویروس هپاتیت B (HBV) آلوده شده اند این ویروس می تواند طیفی وسیعی از بیماری‌های حاد و مزمن کبدی را ایجاد نماید. تکثیر ویروس و بالطبع پیشرفت بیماری به حضور نشانگرهای خاصی در خون مانند HBe آنتی ژن، سطح HBV-DNA و ALT بستگی دارد این در حالی است که مطالعات انجام شده حاکی از ارتباط مستقیم بین سطح ALT و HBe Ag دارد هدف از این مطالعه بررسی این ارتباط است تا در صورت اثبات آن، در مواردی که دسترسی به PCR وجود ندارد HBe - Ag و ALT به عنوان یک راه جایگزین برای تعیین هپاتیت مزمن فعال به کار گرفته شود.

مواد و روشها: ۱۲۰ بیمار مبتلا به هپاتیت مزمن B از بین بیماران HBS Ag + مراجعه کننده به درمانگاه مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری وارد مطالعه شدند. برای تمامی بیماران آزمایش HBe Ag، HBe Ab، ALT انجام گرفت که در صورت بالا بودن میزان ALT سرم به ۲ برابر حد نرمال درخواست انجام آزمایش HBV-DNA شد. بیماران به دو گروه HBe Ag مثبت و HBe - Ab + تقسیم شده و ارتباط HBe Ag و ALT در آنها مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی در مورد بیماران HBV-DNA مثبت نیز به طور جداگانه انجام شد. سن نیز به عنوان یک فاکتور زمینه ای در هر دو مورد مد نظر قرار گرفت نتایج توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ و آزمون آماری t-test و مربع کای تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: ۷۸/۳٪ بیماران مرد و ۲۱/۷٪ زن بودند. جمعیت نمونه با میانگین سنی ۳۲/۵ سال، در محدوده ۶-۶۷ سال قرار داشتند. ۱۵/۸٪ بیماران HBe آنتی ژن مثبت بودند. این گروه جوانتر با میانگین $ALT = 74/32 \pm 23/23$ در مقایسه با گروه HBe آنتی‌بادی مثبت با میانگین $ALT = 30/42 \pm 8/69$ از سطح ALT بالاتری برخوردار بودند ($P = 0/01$). ۲۹ بیمار با سطح ALT غیر نرمال از نظر HBV-DNA مثبت شدند در این گروه ۴۱/۳۸٪ بیماران HBe Ag مثبت بوده و ارتباط مستقیم بین میزان ALT، HBe - Ag همچنان به چشم می خورد ($P = 0/04$) بیماران HBe Ag منفی گروه مسن تر را تشکیل می دادند.

نتیجه گیری: ALT یک نشانگر خوب برای ارزیابی آسیب کبدی در بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن B محسوب می‌شود. به طوری که بیماران HBe Ab+ با ALT بالا ممکن است دچار عفونت مزمن هپاتیت B باشند. بیماران HBe Ag مثبت با ALT و AST بالا از شانس زیادی برای مثبت شدن HBV-DNA برخوردارند. بنابراین شاید بتوان گفت تلفیقی از تستهای بیوشیمیایی و سرولوژیکی

روتین می‌تواند در صورت عدم دسترسی به PCR یک راه جایگزین تلقی شود که البته انجام مطالعات بیشتری در این خصوص لازم است.

واژگان کلیدی: HBV-DNA, ALT, HBe-Ag

مقدمه

حالی که اگر در همین فاصله زمانی تیتراژ آنتی بادی بر علیه آنتی ژن e هپاتیت B منفی و HBe Ag مثبت شود نمایانگر فعالیت مجدد ویروس است (۱۳ و ۱۴).

تکثیر ویروس در بدن از سطح بالای HBV-DNA قابل بررسی است. HBe Ag و ALT مارکرهای بیولوژیکی هستند که نمایانگر این سطح می‌باشند. مطالعات متعددی در سطح جهان نمایانگر ارتباط معنی داری بین HBV-DNA، HBe-Ag و ALT می‌باشد در این پژوهشها سن نیز به عنوان یک فاکتور زمینه ای مورد بررسی قرار گرفته است (۱۷-۱۵ و ۱). با توجه به اهمیت خاص بار HBV در درمان ضد ویروسی، نوع و مدت زمان مصرف دارو پژوهش حاصل جهت بررسی این ارتباط طراحی گردید تا در صورت اثبات آن، در مواردی که دسترسی به PCR وجود ندارد HBe-Ag و ALT به عنوان یک راه جایگزین برای تعیین هپاتیت مزمن فعال به کار گرفته شود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه آینده نگر که در فاصله سالهای ۱۳۸۳-۱۳۸۱ انجام گرفت ۱۲۰ بیمار مبتلا به هپاتیت مزمن B از بین بیماران HbsAg مثبت مراجعه کننده به درمانگاه هپاتیت مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری وارد مطالعه شدند. بیماران دیابتی، الکلی، سیروزی، هیپرتری گلیسیریدمی، ایمنی کاهش یافته، معتادین تزریقی و دیگر بیماریهای کبدی یا سرطانی از بررسی حذف گردیدند. برای تمامی بیماران آزمایش HBe، HBeAg آنتی بادی و ALT انجام گرفت و در صورت بالا بودن میزان ALT سرم به ۲ برابر حد نرمال برای بیمار درخواست انجام آزمایش HBV-DNA شد. نتایج آزمایشات به همراه مشخصات دموگرافیک

ویروس هپاتیت B (HBV) یک پاتوژن انسانی است که به عنوان یک مشکل بهداشتی عمده در دنیا معرفی می‌شود. تخمین زده شده است که این ویروس ۳۵۰ میلیون نفر را در سطح جهان آلوده کرده و قادر است طیفی از بیماریهای حاد و مزمن کبدی را ایجاد نماید. به علت رابطه مستقیم پیشرفت بیماری با تکثیر ویروس، ارزیابی فعالیت آن که بستگی به حضور مارکرهای خاصی در خون دارد در درمان بیماری از اهمیت ویژه ای برخوردار است. این مارکرها شامل وجود یا فقدان آنتی ژن e هپاتیت B، درجه ویرومی مانند سطح HBV-DNA و سطح ALT در خون می‌باشد (۱).

از آغاز دهه هفتاد میلادی تشخیص هپاتیت B مزمن از طریق وجود HBe-Ag به عنوان یک مارکر حساس و قابل تشخیص از تکثیر ویروسی انجام می‌شد (۲). به طوری که افراد HBS-Ag مثبت و HBe-Ag منفی بیمارانی با عفونت خفیف هپاتیت B به شمار می‌آمدند که بسته به سطح آنزیمهای کبدی به عنوان ناقلین سالم و یا بیمارانی با شرایط پیچیده تر ناشی از فرمهای دیگر بیماری کبدی، معرفی می‌شدند (۳ و ۴). در سال ۱۹۸۰ مشخص گردید که در غیاب HBe Ag نیز این ویروس می‌تواند تکثیر یابد (۵). این شکل جهش یافته ویروس که در سال ۱۹۸۹ شناخته شد، امروزه با شیوع و بروز بالاتری در جهان دیده می‌شود (۶ و ۷). بررسیهای انجام گرفته در نقاط مختلف جهان آمار متفاوتی را گزارش می‌دهد. اما همواره در گونه های فعال هپاتیت B، از شیوع بالاتری برخوردار است (۸-۱۲).

تغییر تیتراژ سرمی بیماران (Sero Conversion) که معمولاً با توقف در تکثیر ویروس و تسکین موقتی آلام کبدی همراه است با حضور آنتی بادی بر علیه آنتی ژن e هپاتیت B حداقل در دو پیگیری متوالی تشخیص داده می‌شود. در

درونی. یکی از پروتئینهای درونی HBe آنتی ژن می باشد که احتمالاً نقش حفاظتی برای هپاتوسیت‌های آلوده به ویروس در برابر دستگاه ایمنی بدن را به عهده دارد. بنابراین وجود آن و تیترا بالای HBV-DNA به معنای فعال بودن تکثیر ویروسی تلقی می شود که از نظر سیر بیماری و پیش آگهی می تواند بسیار مفید باشد (۱۷). بر خلاف دهه هفتاد میلادی امروزه مشخص شده است که ویروس هپاتیت B در غیاب HBeAg هم می تواند تکثیر یابد (۵). این شکل که زمانی کمیاب و محدود به ناحیه مدیترانه به شمار می آمد اکنون با شیوع و بروز وسیعتری در سطح جهان دیده می شود. بر حسب بررسیهای انجام یافته در کشورهای گوناگون این میزان از ۷۰ تا ۱۰۰ درصد گزارش شده است (۱۲-۸). گزارشات نیز درباره این نوع هپاتیت از قاره پهناور آسیا ارسال گردیده است. اما شیوع و اهمیت کلینیکی آن هنوز مشخص نیست (۱۸). در مطالعه ای که بر روی مبتلایان به هپاتیت مزمن B در ایران انجام گرفت معلوم شد که ۸۳/۷٪ بیماران HBe آنتی ژن منفی می باشند (۱۷). در پژوهش حاضر نیز این میزان ۸۴/۲٪ بدست آمد که به نظر می رسد کشور ما از نظر شیوع وضعیت مشابهی با سایر نقاط جهان دارد.

کاهش تیترا HBe آنتی ژن معمولاً با بهبود شاخصهای بیوشیمیایی و هیستولوژی هپاتیت B و عدم تکثیر ویروس همراه است بنابراین کاملاً طبیعی است که در اکثر این بیماران سطح ALT نرمال باشد. در تحقیق انجام یافته در سودان ۷۴٪ از بیماران HBe آنتی ژن منفی دارای سطح نرمال ALT بودند (۱۶). در این مطالعه که به روی ۴۲ بیمار ناقل مزمن هپاتیت B انجام شده بود مشخص گردید که ۶۹/۲٪ از افراد HBe-Ag+ و تنها ۲۶٪ از بیماران HBe آنتی بادی مثبت، دارای سطح بالای ALT بودند (P=۰/۰۱). در پژوهش صورت گرفته توسط فتاحی و همکاران ۳۲ درصد از بیماران مبتلا به HBe Ag مثبت و ۱۵٪ از گروه HBe-Ag+ میزان بالای ALT داشتند (P=۰/۰۰۴). از سوی دیگر ۲۹٪ از بیماران با ALT بالا HBe-Ag+ و ۱۳/۵٪ HBe-Ag+ سطح

در پرونده هر بیمار ثبت گردید. در فاز اول به منظور ارزیابی ارتباط سطح ALT، سن و جنس در حضور و غیاب آنتی ژن e هپاتیت B بیماران به دو گروه HBeAg مثبت و HBe-Ag مثبت تقسیم شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

در فاز دوم این ارتباط به طور اختصاصی در بیماران HBV-DNA مثبت انجام شد. نتایج توسط نرم افزار SPSS نسخه ۵/۱۱، آزمون آماری t-test و مربع کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

از ۱۲۰ بیمار HBSAg مثبت ۹۴ نفر (۷۸/۳٪) مرد و ۲۶ بیمار (۲۱/۷٪) زن بودند. جمعیت نمونه با میانگین سنی ۳۲/۵ سال در محدوده ۶ تا ۶۷ سال قرار داشت. ۱۹ نفر (۱۷ مرد و ۲ زن) دارای HBeAg (گروه A) و ۱۰۱ نفر (۷۷ مرد و ۲۴ زن) HBeAb (گروه B) بودند. میانگین سنی گروه A ۱۳/۶ ± ۲۷/۴ سال و گروه B ۳۷/۱ ± ۱۲/۶ سال (P < ۰/۰۳) و میانگین ALT گروه A ۲۳/۲ ± ۷۴/۳ و گروه B ۳۰/۴ ± ۸/۷ واحد (P < ۰/۰۱) بود.

از بین بیماران با سطح ALT غیر نرمال تنها ۲۹ نفر HBV-DNA مثبت داشتند. ۱۲ نفر آنان (۱۱ مرد و ۱ زن) HBe Ag مثبت (گروه C) و ۱۷ نفر (۱۵ مرد و ۲ زن) HBeAb مثبت (گروه D) بودند. میانگین سنی گروه C ۲۸/۸ ± ۱۶/۲ و گروه D ۳۷/۸ ± ۱۵/۹ سال (NS) و میانگین سطح ALT دو گروه به ترتیب ۸۷/۶ ± ۲۵ و ۴۸/۲ ± ۱۲/۷ واحد (P < ۰/۰۴) بود.

بحث

ویروس هپاتیت B، از خانواده Hepadnavirus، دارای DNA دو زنجیره ای بوده که از یک لایه بیرونی لیپوپروتئین و یک مرکز از جنس پروتئین هسته ای تشکیل یافته است. پروتئینهای تولید شده توسط این ویروس عبارتند از پروتئین لایه بیرونی، پروتئین پلیمراز، پروتئین X و پروتئینهای

می‌باشد. به طوری که بیماران HBe Ag منفی با سطح بالای ALT ممکن است دچار عفونت مزمن هپاتیت B باشند. ناقلین هپاتیت B مزمن با وجود آنتی ژن و عدم وجود آنتی بادی e هپاتیت B، با ALT و AST بالا رونده از شانس زیادی برای مثبت شدن در HBV-DNA برخوردار هستند. بنابراین در صورت عدم دسترسی به PCR تلفیقی از تستهای بیوشیمیایی و سرولوژیکی روتین به عنوان یک راه جایگزین HBV-DNA در ارزیابی عفونت HBV مزمن می‌تواند در نظر گرفته شود.

نتیجه گیری

ALT و HBe Ag شاخصهای ارزنده‌ای برای پیشرفت بیماری محسوب می‌شوند. ولی در غیاب هر دو شاخص شدت بیماری هپاتیت B ویروسی قابل پیشگویی نیست مگر اینکه HBV-DNA نیز منفی شود. کلیه بیماران HBe - Ab+ با سطح ALT بالا باید به عنوان بیماران با عفونت زیاد در نظر گرفته شوند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از ریاست محترم مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری جناب آقای دکتر سید محمد رضا خادمی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تشکر می‌نمایم.

نرمال ALT داشتند ($P < 0.0001$) (۱۷). در مطالعه ما نیز میانگین سطح ALT در گروه Hbe Ag مثبت بیش از میانگین این سطح در بیماران Hbe Ab مثبت می‌باشد ($P = 0.01$). این ارتباط مستقیم بین مثبت بودن HBe آنتی‌ژن و بالا بودن سطح ALT که در مبتلایان به HBe Ag+ در اکثر مطالعات به صورت معنی داری به چشم می‌خورد در مبتلایان به هپاتیت مزمن B با PCR مثبت نیز دیده می‌شود. مطالعه ما که توسط تحقیق سال ۲۰۰۴ در روالپندی و پژوهش انجام گرفته توسط Fauzia و همکاران حمایت می‌شود گویای این رابطه مستقیم می‌باشد (۱۵-۱).

در پژوهش انجام گرفته توسط Fauzia و همکاران مشخص شد که ۹/۴٪ از بیماران با HBV-DNA مثبت، HBe Ag منفی بودند (۱). در مطالعه انجام گرفته در سودان نیز ۴۴٪ از ناقلین HBe-Ab+، HBV-DNA مثبت بودند. در حالی که ۵۰٪ از آنها سطح بالای ALT داشتند (۱۶).

در تحقیق ما نیز در مبتلایان به هپاتیت مزمن B با PCR مثبت ۵۸/۶۲٪ افراد HBe-Ab مثبت می‌باشند که شاید هر سه مطالعه گویای این مطلب باشد که بیماران HBe-Ab+ با سطح بالای ALT ممکن است در حد بالایی آلوده به عفونت باشند. در تمامی مطالعات انجام گرفته گروه اول از میانگین سنی پایین تری نسبت به گروه دوم برخوردار هستند (۱۷-۱۵) که با توجه به ظهور HBe Ag در هفته های نخست ابتلا به هپاتیت و جایگزین شدن آن به وسیله HBe Ab در طول زمان امر بدیهی به نظر می‌رسد.

بر حسب مطالعات انجام شده بررسی ALT یک نشانگر خوب برای ارزیابی آسیب کبدی در بیماران هپاتیت B مزمن

REFERENCES

- 1- Fauzia I, Zaigham A, Tariq M. Monitoring of HBe antigen and alanine aminotransferase levels in hepatitis B Virus DNA positive patients. J cpsp 2005, vol 15(2): 103-104.
- 2- Hoofnagle JH. Type B hepatitis: virology, serology and clinical course. Semin liver Dis 1981; 1:7-14.
- 3- Sherlock S, Thomas HC. Hepatitis B Virus infection: the impact of molecular biology. HEPATOLOGY 1983; 3: 455 – 456.

- 4- Schalm SW, Thomas HC, Hadziyannis. Chronic Hepatitis B. *prog liver Dis* 1990; 9: 443-462.
- 5- Bonino F, Hoyer B, Nelson J, Engle R, verme G, Gerin J. Hepatitis B virus DNA in the sera of HBs Ag carriers: a marker of active hepatitis B virus replication in the liver. *HEPATOLOGY* 1981; 1: 386-391.
- 6- Hadziyannis sj: Hepatitis B e antigen – negative chronic hepatitis B: From clinical recognition to pathogenesis and treatment. *viral Hepat Rev* 1995; 1: 7-36.
- 7- Stephanos J, Vassilopoulos H, Vassilopoulos D: Hepatitis B e antigen – negative chronic hepatitis. *Hepatology* 2001; 4: 617-24.
- 8- Knoll A, Rohrhofer A, Kochanowski B, wurm EM, Jilg W. Prevalence of precore mutants in anti – HBe – positive hepatitis B virus carriers in Germany. *J Med Virol* 1999; 59: 14-18.
- 9- Chan HL, Leung NW, Hussain M, Wong ML, Lok AS. Hepatitis B e antigen – negative chronic hepatitis B in Hong kong. *HEPATOLOGY* 2000; 31: 763-768.
- 10- 10-Chowdhury A, Santra A, Chaudhuri S, Ghosh A, Banerjee P, Mazumder DN. Prevalence of hepatitis B infection in the general population: a rural community based study. *Trop Gastroenterol* 1999; 20: 75-77.
- 11- 11-Madzime S, Adem M, Mahomed K, Woelk GB, Mudzamiri S, Williams MA. Hepatitis B virus infection among pregnant women delivering at Harare Maternity Hospital, Harare, Zimbabwe, 1996 to 1997. *Cent Afr J Med* 1999; 45: 195-198.
- 12- 12- Minuk GY, Orr PS, Brown R, Macdonald S, Chaudhary RK, Temple P. Pre – core mutant infections in the Canadian Inuit. *J Hepatol* 2000; 33: 781-784.
- 13- 13- Yuen MF, Yuan HJ, Hui ck, wong DKH, chan Ao, wong BCY, et al. A large population of spontaneous HBe Ag seroconversion and acute exacerbation of chronic hepatitis B infection: implications for antiviral therapy. *Gut* 2003; 52: 416-9.
- 14- 14- Yuen MF, Salbon E, Hui ck. Li TM, Yuan HJ, Wong DK et al. Prognostic factors in severe exacerbation of chronic hepatitis B. *cli inf Dis* 2003; 36: 979-84.
- 15- 15- Agha BH, karamat KA, Anwar M, Kazmi SY, Tariq wz. Correlation of HBV – DNA PCR and HBe Ag in hepatitis B Carriers. *J coll physicians surg pak* 2004; 14: 18-20.
- 16- Ljunggren kk, Nordenfelt E, kidd A. Correlation of HBe Ag / anti – HBe, Alt levels, and HBV DNA PCR results in HBS Ag- positive patients. *J Med virol.* 1993; 39 (4): 297-302.
- ۱۷- فتاحی، محمد رضا؛ کشاورز، رضا. ارزیابی ارتباط آنتی ژن e هپاتیت B و ترانس آمینازها در بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن در جنوب ایران ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۰. *مجله تحقیقات پزشکی jmr*، دوره دوم، شماره ۳، بهار ۱۳۸۳، ۳۲-۲۷.
- 18- Chan HL, Leung ww, Hussain M, wong ML, Lok AS. Hepatitis Be antigen – negative chronic hepatitis B in Hong Kong. *Hepatology* 2000; 31: 763-8.