

## Association between HBe-Ag and HBV-DNA level in HBsAg positive chronic carriers

Elaheh Ghaderi<sup>1</sup>, Reza Salman Yazdi<sup>2</sup>, Mehrangiz Zangeneh<sup>3,4</sup>, Mahin Jamshidi Makiani<sup>5</sup>, Masoumeh Mesgarian<sup>3</sup>, Ali Sedighi Gilani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>General Practitioner, Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Andrology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department of Infectious Diseases, Tehran Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran

<sup>5</sup>Department of Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### Abstract

**Background:** Viral hepatitis is one of common infectious diseases and known as health problem around the world. Present cross-sectional study was performed to determine the association between HBeAg and HBV-DNA in patients who referred to Royan Institute for Reproductive Biomedicine and Amiral Momenin Hospital (Islamic Azad University) between 2012 and 2015.

**Materials and methods:** In this cross-sectional study, 222 patients were assessed and their HBe-Ag and HBV-DNA were analyzed by serological and molecular assays to determine the association between HBeAg and HBV-DNA for infectivity of infection. The results were gathered and recorded in the study checklist.

**Results:** 222 chronic HBsAg positive carriers, including 74 (33.2%) female and 148 (66.8%) male were studied. Of studied population, 10(6.8%) HBeAg positive, 108 (75.5%) HBeAb positive and 94 (42.34%) HBV DNA were detected. Level of detectable HBV-DNA was significantly higher in patients with HBeAg positive in compare with patients with negative HBe Ag (,  $P < 0.001$ ).

**Conclusion:** According to study findings, there is clinical association between HBe Ag positive and HBV-DNA level and we can use HBeAg for assessing the infectivity of HBV infection.

**Keywords:** HBV DNA, HBe Ag, HBe Ab, HBsAg.

**Cited as:** Ghaderi E, Salman Yazdi R, Zangeneh M, Jamshidi Makiani M, Mesgarian M, Sedighi Gilani A. Association between HBe-Ag and HBV-DNA level in HBsAg positive chronic carriers. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2019; 29(2): 150-154.

**Correspondence to:** Mehrangiz Zangeneh

**Tel:** +98 9121309268

**E-mail:** zangeneh4@yahoo.com

**ORCID ID:** 0000-0001-7673-4287

**Received:** 26 May 2018; **Accepted:** 11 Oct 2018

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

دوره ۲۹، شماره ۲، تابستان ۹۸، صفحات ۱۵۰ تا ۱۵۴

## بررسی ارتباط بین HBe-Ag و HBV-DNA در بیماران ناقل مزمن Hbs Ag

الهه قادری<sup>۱</sup>، رضا سلمان یزدی<sup>۲</sup>، مهرانگیز زنگنه<sup>۳،۴</sup>، مهین جمشیدی ماکیان<sup>۵</sup>، معصومه مسگریان<sup>۳</sup>، علی صدیقی گیلانی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> پزشک عمومی، گروه بیماری‌های عفونی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه آندروولوژی، مرکز تحقیقات باروری ACECR، پژوهشگاه باروری رویان

<sup>۳</sup> متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری، گروه بیماری‌های عفونی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۴</sup> مرکز تحقیقات باروری، پژوهشگاه باروری رویان

<sup>۵</sup> متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری، گروه بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** هپاتیت‌های ویروسی یکی از بیماری‌های شایع عفونی هستند که به عنوان یکی از مشکلات عمده سلامتی در جهان شناخته شده‌اند. مطالعه مقطعی حاضر، برای شناسایی ارتباط بین HBeAg و HBV-DNA در بیماران مراجعه کننده به پژوهشگاه ناباروری رویان و بیمارستان امیرالمومنین (وابسته به دانشگاه آزاد اسلامی) برای درمان ناباروری در طی سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۴ انجام شد. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط بین HBeAg و HBV-DNA برای ارزیابی عفونت‌زایی ویروس HBV بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه مقطعی، تعداد ۲۲۲ بیمار مورد ارزیابی قرار گرفتند و سطح سرمی HBeAg و HBV-DNA در آزمایشگاه سرولوژی و ملکولی پژوهشگاه رویان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش‌ها جمع‌آوری شده و در چک لیست مطالعه وارد شد.

**یافته‌ها:** ۲۲۲ بیمار ناقل مزمن هپاتیت B شامل ۷۴ زن (۳۳/۲ درصد) و ۱۴۸ مرد (۶۶/۸ درصد) بودند. از بین بیماران مورد بررسی، ۱۰ بیمار (۶/۸ درصد) تست HBeAg مثبت و تعداد ۱۰۸ بیمار (۷۵/۵ درصد) تست HBeAb مثبت داشتند. HBV-DNA در ۹۴ (۴۲/۳۴ درصد) بیمار مثبت بود. میزان تست مثبت NBV-DNA به صورت معنی‌داری در ناقلان HBeAg مثبت بالاتر از سایر بیماران بود ( $P < 0.001$ ).

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های مطالعه نشان داد که ارتباطی بین HBeAg و سطح HBV-DNA وجود دارد. بر این اساس می‌توانیم از HBeAg برای ارزیابی عفونت‌زایی و فعال بودن ویروس در ناقلان مزمن هپاتیت استفاده کنیم.

**واژگان کلیدی:** HBV DNA, HBe Ag, HBe Ab, HbsAg

### مقدمه

کشورهای دارای ریسک متوسط ابتلای به این بیماری است (۱). بیماری هپاتیت ویروسی از طریق تماس با خون و فراورده‌های خونی و یا سایر مایعات بدنی یک فرد عفونی و یا از طریق عمودی از مادر به کودک منتقل می‌شود. تخمین زده می‌شود که ۲۴۰ میلیون فرد مدت بیش از شش ماه دارای HBs Ag مثبت بوده و به عنوان ناقل این بیماری شناخته می‌شوند.

سیروز کبدی، کارسینومای هپاتوسلولار و حتی مرگ و میر بیماران به عنوان عوارض شدید بیماری هپاتیت مزمن B ویروسی شناخته شده و بیش از ۶۸۶ هزار نفر سالانه در اثر

هپاتیت B ویروسی نوعی بیماری عفونی کبدی تهدید کننده حیات است که به وسیله ویروس هپاتیت B ایجاد شده و بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت (WHO)، ایران یکی از

آدرس نویسنده مسئول: تهران، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، مرکز تحقیقات باروری،

مهر انگیز زنگنه (email: zangeneh4@yahoo.com)

ORCID ID: 0000-0001-7673-4287

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۳/۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۷/۹/۲۰

عوارض این بیماری فوت می‌کنند (۲، ۳). تخمین زده می‌شود که ۲-۵٪ جمعیت عمومی در خاورمیانه و شبه جزیره هند ناقل مزمن HBV هستند. ریسک فاکتورها دیابت، نارسایی کلیه، چاقی و عفونت HIV هستند و این ریسک فاکتورها به طور قابل توجهی روی کیفیت زندگی بیماران با عفونت مزمن هپاتیت تاثیر می‌گذارند. عفونت مزمن HBV در بیماری هپاتیت ویروسی مزمن B، HBV-DNA و HBe Ag مهم‌ترین مارکر عفونت‌زایی، تکثیر ویروس و صدمه کبد هستند. زمانی که آنتی ژن HBe ناپدید می‌شود، HBe Ab در سرم ظاهر شده و نشان دهنده بهبود عفونت حاد است. مشخص شدن HBV-DNA در سرم بیماران، نشان دهنده تکثیر دوباره ویروس است و در بیشتر موارد برای انتخاب نمونه‌ها برای درمان و بازبینی اثر درمان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴-۶).

در برخی از موارد، در ناحیه پره کور ویروس هپاتیت B یک موتاسیون رخ می‌دهد که می‌تواند باعث شود بیماران مزمن فعال هپاتیت B آنتی ژن HBe منفی داشته باشند. بیماران دارای این فرم از موتاسیون برای ویروس هپاتیت B، شایع‌ترین مدل این بیماری ویروسی در کشورهای حوزه مدیترانه و اروپا هستند. در بیمارانی که این موتاسیون رت در ناحیه پره کور دارند، ویروس توانایی ترشح HBe Ag را ندارد و باعث می‌شود که بیماری شدید کبدی وجود داشته باشد و به سرعت به سمت سیروز کبدی حرکت کند. این بیماران عفونت شدید HBV دارند و HBV-DNA ترشح می‌کنند، ولی به جای HBe Ag این بیماران HBe Ab دارند (۷). هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی ارتباط بین HBe Ag و HBV-DNA علی‌رغم وجود پره کور موتاسیون در فعالیت هپاتیت مزمن ویروسی B در بیمارستان امیرالمومنین (وابسته به دانشگاه آزاد اسلامی) و پژوهشگاه ناباروری رویان در بین سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۴ بود.

بودند. معیار ورود به مطالعه بیماران HBs Ag مثبت و معیار خروج از مطالعه بیماران HBs Ag منفی، HCV Ab مثبت و HIV Ab مثبت بودند.

مارکرهای سرولوژی نظیر HBe Ag، HBe Ab، HBs Ag، Ab برای تمام بیماران شرکت کننده در مطالعه با استفاده از روش ELISA (ELISA Kits, Pishtaz-Teb, Iran) مورد ارزیابی قرار گرفته بود. سطح سرمی آنزیم‌های کبدی شامل ALT، AST، و همچنین سطح سرمی آلبومین، زمان پروترومبین، میزان توتال بیلی روبین و سطح سرم آلبومین فسفاتاز، شمارش کامل خونی توسط آزمایشگاه استاندارد پژوهشگاه رویان با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. سطح سرمی DNA با استفاده از روش پی سی آر (Roche Taqman kit) مورد ارزیابی قرار گرفت و مقادیر بیشتر از ۶ واحد بین‌المللی در هر میلی لیتر سرم به عنوان موارد مثبت شناخته می‌شد. سونوگرافی شکمی برای تمامی بیماران و برای ارزیابی کبد از نظر هپاتومگالی، اسپلنومگالی و همچنین آسیب شکمی انجام گرفت. روش نمونه‌گیری در این مطالعه، ارجاع به پرونده بیماران و جمع‌آوری اطلاعات از پرونده آنها بود. در این مطالعه، متغیرهای دموگرافیک شامل سن، جنس بیماران، سابقه خانوادگی هپاتیت ویروسی B و سایر عوامل خطر ساز مرتبط با این بیماری جمع‌آوری شد و به همراه نتایج آزمایشگاهی در چک لیست مطالعه وارد شد.

تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۱ (SPSS, Inc., Chicago, IL) انجام شد و متغیرهای کیفی و کمی با استفاده از درصد و فراوانی و میانگین و انحراف معیار مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین دو متغیر غیر وابسته از آزمون آماری Independent Student t-test استفاده شد و تمامی نتایج آزمون‌های آماری کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

## یافته‌ها

تعداد ۲۲۲ بیمار ناقل مزمن هپاتیت B، شامل ۱۴۸ (۶۶/۸ درصد) مرد و ۷۴ (۳۳/۲ درصد) زن به مطالعه وارد شدند. میانگین سنی بیماران شرکت کننده در مطالعه ۳۸/۹ سال (محدوده ۱۵-۶۶ سال) بود. بیشتر بیماران (۱۲۸ نفر، ۵۷/۷ درصد) در گروه سنی ۲۰-۴۰ سال قرار داشتند و بقیه بیماران بیشتر از ۴۰ سال (۷۱، ۳۲ درصد) و یا کمتر از ۲۰ سال (۴، ۱/۸ درصد) سن داشتند و بقیه سنشان ذکر نشده بود. از ۱۴۶ مورد که HBe Ag آنها ثبت شده بود، ۱۰ بیمار (۶/۸ درصد) HBe Ag مثبت و ۱۳۶ مورد HBe Ag منفی بودند. میانگین کپی

## مواد و روشها

در این مطالعه مقطعی، حجم نمونه شامل کلیه بیمارانی بود که در مدت سال‌های ۱۳۹۱ لغایت ۱۳۹۴ به موسسه رویان و بیمارستان امیرالمومنین برای بررسی ناباروری مراجعه کرده بودند و HBs Ag مثبت داشتند بود. در این مطالعه از پرونده بیماران برای جمع‌آوری اطلاعات دموگرافیک و آزمایشگاهی در زمان ذکر شده استفاده شد. تعداد ۲۲۲ ناقل مزمن ویروس هپاتیت B وارد مطالعه شدند و ناقل مزمن به بیمارانی اطلاق می‌شد که در طی شش ماه گذشته دارای HBs Ag مثبت

جدول ۱. ارتباط بین HBV-DNA و HBeAg و HBe Ab در جمعیت مورد مطالعه

p-value	HBV - DNA منفی	HBV - DNA مثبت	
۰/۰۹	۳	۶۰	HBe Ab مثبت
	۳	۱۵	HBe Ab منفی
۰/۰۰۱	۳	۷	HBeAg مثبت
	۶۱	۷۵	HBeAg منفی

تکثیر ویروس هپاتیت B انجام شد. در مطالعه ما، فراوانی موارد HBV-DNA مثبت به صورت معنی داری در بیماران دارای نتایج مثبت HBe Ag و HBe Ab بالاتر بود. بر این اساس سطوح بالای HBV-DNA ارتباط معنی داری بر سطح سرمی HBe Ag دارند و در اغلب موارد HBV-DNA و HBe Ag ارتباط مثبت با میزان سرمی آنزیم کبدی SGPT به عنوان نشانگر فعالیت بیماری کبدی و تکثیر ویروس دارند. فراوانی HBe Ag به صورت معنی داری در بین بیماران HBe Ab منفی بیشتر است. اگر چه، Magnius و Espmark در سال ۱۹۷۲ عملکرد HBe Ag را کشف کردند، ولی علل و فرایند تولید HBe Ab همچنان ناشناخته است (۶، ۸).

اگر چه اندمی ویروس هپاتیت B در ایران در سطح متوسط است، ولی واکسیناسیون تمامی نوزاد متولد شده و جمعیت در معرض خطر ابتلا به ویروس از دو دهه قبل انجام شده و میزان شیوع عفونت ویروس هپاتیت B به کمترین میزان اندمی رسیده است. راه‌های انتقال از طریق مصرف مواد مخدر تزریقی و همچنین به روش عمودی از مادر به نوزاد به عنوان شایع ترین راه‌های انتقال عفونت هپاتیت B در بین جمعیت ایرانی است. اگر چه ما شاهد تغییراتی در اپیدمیولوژی عفونت ویروس هپاتیت B هستیم، این ویروس همچنان به عنوان عامل مهم بیماری مزمن کبدی مطرح است (۹). در مطالعات قبلی، پیشنهاد شده بود که برخی از موتاسیون‌های ژنوم HBV ممکن است در ایجاد HBe Ag منفی در بین بیماران مبتلا به فرم فعال هپاتیت B است (۱۰).

مطالعات ایرانی گزارش کردند که نوع موتانت ویروس هپاتیت B در حدود ۵۸٪ از جمعیت ایرانی مشاهده B می‌شود (۱۱). مطالعه دیگری نشان داد که ۸۶/۵ درصد از عفونت هپاتیت مزمن ویروسی دارای HBe Ab مثبت هستند. در مطالعه ما فقط ۱۳/۳ درصد از بیماران مبتلا به عفونت هپاتیت ویروسی فعال هستند. مطالعه مشابه Line et al گزارش کرد که در بین بیماران مبتلا به عفونت ویروسی هپاتیت B، ۱۹ (۵۷/۶ درصد)

DNA در گروه HBe Ag (+) به طور معنی داری بالاتر از افراد HBe Ag (-) بود.

از ۱۴۳ بیمار که HBe Ab آنها ذکر شده بود، ۱۰۸ بیمار (۷۵/۵ درصد) HBe Ab مثبت، ۳۵ بیمار (۱۵/۸ درصد) HBe Ab منفی بودند و ۹۴ بیمار (۴۲/۳۴ درصد) HBV-DNA مثبت بالاتر از استاندارد داشتند. میانگین کپی DNA در گروه HBe Ag (+) به طور معنی داری پایین‌تر از افراد HBe Ag (-) بود.

۳۴ بیمار (۱۵/۳ درصد) سطح سرمی بالای ALT (بالاتر از ۴۰ واحد بین المللی) داشتند و میانگین سطح سرمی ALT در بیماران HBe Ag مثبت بطور معنی داری از بیماران HBe Ag منفی بالاتر بود. مقادیر غیر طبیعی برای سطح سرمی مستقیم و توتال بیلی روبین در تعداد ۲۸ بیمار (۱۰/۳ درصد) مشاهده شد. سطح سرمی غیر طبیعی برای آنزیم الکالین فسفاتاز و آلبومین به ترتیب در ۲۰ بیمار (۷/۴ درصد) و ۶۷ بیمار (۲۴/۷ درصد) مشاهده شد. در سونوگرافی شکمی بیماران، ۷۵ بیمار (۲۷/۷ درصد) کبد چرب، یک بیمار (۰/۴ درصد) هپاتومگالی، ۷ بیمار (۲/۶ درصد) اسپلنومگالی و یک بیمار (۰/۴ درصد) آسیت داشتند.

سطح سرمی HBe Ag در بیماران مرد در مقایسه با زنان به صورت معنی داری بالاتر بود ( $P=۰/۰۲۳$ ). HBV-DNA در بیماران دارای HBe Ab مثبت (حساسیت ۲۸ درصد، ویژگی ۶۴ درصد، ارزش اخباری مثبت ۴۱/۶ درصد و ارزش اخباری منفی ۵۱/۲ درصد) پایین‌تر از سایر بیماران بود ( $P=۰/۰۹۱$ ). HBV-DNA در بیماران دارای HBe Ag مثبت (حساسیت ۸۶ درصد، ویژگی ۸۰/۵ درصد، ارزش اخباری مثبت ۵۰ درصد و ارزش اخباری منفی ۹۶/۲ درصد) بالاتر از سایر بیماران بود ( $P<۰/۰۰۱$ ).

## بحث

مطالعه حاضر بر روی ۲۲۲ نفر از ناقلان مزمن ویروس هپاتیت B برای ارزیابی ارتباط بین HBV-DNA و HBe Ag در جهت

مطالعه ما بر خلاف شیوع HBe Ag پره موتانت منفی در کشور ایران (۱۱)، HBV-DNA ارتباط معنی داری با HBe Ag داشت. بر اساس نتایج مطالعه، ما می توانیم با احتیاط این گونه نتیجه گیری کنیم که HBe Ag و HBV-DNA ارتباط معنی داری با یکدیگر دارند و با توجه به اینکه HBe Ag مثبت مثل DNA بالا می تواند نشان دهنده عفونت زایی باشد، می توان HBeAg را به جای DNA برای نشان دادن فعالیت بیماری استفاده کرد. چون قیمت DNA بالاست، می توانیم HBe Ag را با سطح بالای سرمی آنزیم کبدی SGPT برای تصمیم گیری درمانی در بیماران به کار بگیریم. در گونه های پره موتانت که HBe Ag منفی است، مقدار SGPT بالا و HBe Ab منفی است، در این موارد می توانیم از HBV-DNA استفاده کنیم. برای ارزیابی بیشتر، مطالعات بعدی با حجم نمونه بالاتر مورد نیاز است.

### قدردانی و تشکر

نویسندگان مقاله، از اعضای هیات علمی و کارکنان پژوهشگاه ناباروری رویان، برای انجام این تحقیق تشکر و سپاسگزاری می کنند.

### REFERENCES

1. Merat S, Malekzadeh R, Rezvan H, Khatibian M. Hepatitis B in Iran. Arch Irn Med 2000;3:192-201.
2. WHO. Introduction of hepatitis B Vaccine into childhood immunization services; 2001.
3. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. Hepatology 2007;45:507-39.
4. Badur S, Akgun A. Diagnosis of hepatitis B infection and monitoring of treatment. J Clin Virol 2001;21:229-37
5. Berninger M, Hammer M, Hoyer B, Gerin JL. An assay for the detection of the DNA genome of hepatitis B virus in serum. J Med Virol 1982;9:762-28.
6. Thompson AJ, Nguyen T, Iser D, Ayres A, Jackson K, Littlejohn M, et al. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. Hepatology 2010;51:1933-44.
7. Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D. Hepatitis B e Antigen-Negative Chronic Hepatitis B. Hepatology 2001;34:617-24.
8. Gowans E. Relationship between HBeAg and HBV DNA in patients with acute and persistent hepatitis B infection. Med J Aust 1986;145:439-41.
9. Alavian SM, Fallahian F, Lankarani KB. The changing epidemiology of viral hepatitis B in Iran. J Gastrointestin Liver Dis 2007;16:403.
10. Lin LY, Wong VW, Zhou HJ, Chan HY, Gui HL, Guo SM, et al. Relationship between serum hepatitis B virus DNA and surface antigen with covalently closed circular DNA in HBeAg-negative patients. J Med Virol 2010;82:1949-50.
11. Vaez Jalali M, Alavian S. Hepatitis B e antigen-Negative chronic hepatitis B. Hepatitis Monthly 2006;6:5-31.
12. Liaw Y. HBeAg seroconversion as an important end point in the treatment of chronic hepatitis B. Hepatol Int 2009;3:425-33.
13. Rapisetta M, D Nardo V, Rozera C, Marinucci G, Francisci D, Sarrecchia B, et al. HBV-DNA, HBeAg/anti-HBe serological status in hepatitis B chronic individuals from central Italy. Epidemiol Infect 1990;104:511-7.
14. Chen P, Xie Q, Lu X, Yu C, Xu K, Ruan B, et al. Serum HBeAg and HBV DNA levels are not always proportional and only high levels of HBeAg most likely correlate with high levels of HBV DNA: a community-based study. Medicine (Baltimore) 2017;96:e7766.