

KRONİK HEPATİT B ENFEKSİYONU İLE BİRLİKTE TOTAL ANTI-DELTA POZİTİFLİĞİNDE ANTİKARDİYOLİPİN ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASI*

INVESTIGATION OF ANTICARDIOLIPIN ANTIBODIES IN CHRONIC HEPATITIS B INFECTION TOGETHER WITH TOTAL ANTI-DELTA POSITIVITY

Sevim MEŞE¹, Tuncer ÖZEKİNCİ¹, Selahattin ATMACA¹, Eralp ARIKAN¹, Davut AKIN²

¹ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır. (semese@dicle.edu.tr)

² Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nefroloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.

ÖZET

Antikardiyolipin antikorları (ACA) otoimmün hastalıklar, malignansi, enfeksiyöz hastalıklar, alkolik ve hepatik siroz gibi değişik klinik durumlarla ilişkili olarak fosfolipidlere karşı oluşan otoantikorlardır. Bu çalışmada, kronik hepatit B virusu (HBV) enfeksiyonu ile birlikte total anti-delta pozitifliğinde ACA düzeylerinin araştırılması ve ayrıca kronik hepatit D virusu (HDV) enfeksiyonlu hastalarda ACA pozitifliği ile cinsiyet, yaş ve çeşitli laboratuvar parametreleri (alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, albumin, globulin, trombosit sayısı) arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya HBsAg pozitif, HBeAg negatif, anti-HBe pozitif, anti-HBc IgG pozitif, anti-HBc IgM negatif, total anti-delta pozitif ve anti-HCV negatif olan 60 kronik HDV enfeksiyonlu hasta (43 erkek, 17 kadın) ile kontrol olarak HBsAg pozitif, HBeAg negatif, anti-HBe pozitif, anti-HBc IgG pozitif, anti-HBc IgM negatif, total anti-delta negatif ve anti-HCV negatif olan 30 hasta (21 erkek, 9 kadın) alınmıştır. ACA IgG ve IgM pozitifliği ticari mikroELISA yöntemiyle (Euroimmun, Almanya) araştırılmıştır. Çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesi Pearson Chi-Square, Student's t-test ve Fisher's exact test kullanılarak yapılmıştır. Çalışmamızda 60 kronik HDV enfeksiyonlu hastanın dördünde sadece ACA IgM, dördünde ise sadece ACA IgG olmak üzere toplam 8 (%13.3) hastada pozitiflik saptanmış, bu hastalarda ACA IgG ve ACA IgM'nin birlikte pozitifliği belirlenmemiştir. Kontrol grubunu oluşturan hastaların hiçbirinde ACA (IgG ve/veya IgM) pozitifliği saptanmamış ve ACA pozitifliği açısından HDV enfeksiyonu olan ve olmayan hastalar arasındaki farkın anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Buna karşın, kronik HDV enfeksiyonlu hastalarda ACA pozitifliği ile hastaların yaş, cinsiyet ve laboratuvar parametreleri arasında -serum albumin düzeyinin düşük olması hariç ($p = 0.004$)- anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Çalışmamızın verileri, kronik HDV enfeksiyonu ile ACA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon olduğunu göstermekle birlikte, konu ile ilgili ileri çalışmalara gereksinim olduğu açıktır.

Anahtar sözcükler: Hepatit B, hepatit delta, antikardiyolipin antikorları.

* III. Ulusal Viroloji Kongresi (9-13 Aralık 2007, Uludağ)'nde poster olarak sunulmuştur.

ABSTRACT

Anticardiolipin antibodies (ACAs) are formed against phospholipids in various clinical conditions such as autoimmune diseases, malignancy, infectious diseases, alcohol-related and hepatic cirrhosis. The aims of this study were to investigate the presence of ACAs in patients with chronic hepatitis B together with positive total anti-delta antibodies, and to investigate the relationship between age, gender, and some laboratory parameters (ALT, AST, albumin, globulin, platelet number) of patients with chronic hepatitis delta virus (HDV) infection, who were positive or negative for ACAs. A total of 60 patients (43 male, 17 female) with chronic hepatitis D infection [HBsAg positive, HBeAg negative, anti-HBe positive, anti-HBc IgG positive, anti-HBc IgM negative, total anti-delta positive, anti-HCV negative] and 30 patients (21 male, 9 female) without hepatitis D infection [HBsAg positive, HBeAg negative, anti-HBe positive, anti-HBc IgG positive, anti-HBc IgM negative, total anti-delta negative, anti-HCV negative] as control group were included to the study. ACA IgG and IgM were searched by a commercial microELISA kit (Euroimmun, Germany). The statistical evaluation was performed with Pearson's chi-square test, Student's t-test, and Fisher's exact test. Total ACAs positivity rate of 60 patients with chronic HDV infection, was found as 13.3%, in which four of the patients were positive for only ACA IgM, while four was positive for only IgG. Positivity for both ACA IgG and ACA IgM could not be detected in these patients. No patients in the control group had positivity for ACAs (IgG and/or IgM). A statistically significant difference was observed in terms of ACA positivity between patients with and without HDV infection ($p < 0.05$). After all, there was no statistically significant correlation between ACAs positivity and the age, sex, and laboratory parameters of the patients with chronic HDV infection, except lower serum albumin levels ($p = 0.004$). Although the data of this study revealed a statistically significant positive correlation between chronic HDV infection and anticardiolipin antibodies, it is clear that there is a need for further studies on this subject.

Key words: Hepatitis B, hepatitis delta, anticardiolipin antibodies.

GİRİŞ

Antikardiyolipin antikorları (ACA), anyonik fosfolipidlerden kardiyolipine karşı oluşan otoantikorlardır¹. Hücre membranının iç yüzeyinde bulunan fosfolipidlere karşı antikor oluşumu, iskemi, inflamasyon, toksisite gibi membran yapı bütünlüğünün bozulduğu durumlar da söz konusudur. Bu antikorların klinik önemi tromboz, fetal kayıp ve trombositopeniye yol açmalarından kaynaklanmaktadır². Çeşitli otoimmün hastalıkların yanı sıra bakteriyel, paraziter ve viral enfeksiyonlarda da ACA düzeyleri yükselmektedir³. Kronik viral enfeksiyonlu hastalarda ACA'nın pozitifliği yaygın olarak görülmesine rağmen, bu antikorların üretilmelerini uyaran mekanizmalar ve patojenitedeki rolleri açık değildir¹. Tartışmalı olmasına rağmen bazı araştırmacılar kronik hepatit B virusu (HBV) ve hepatit C virusu (HCV) enfeksiyonlarının ACA düzeylerini etkilediğini savunmuşlardır⁴. Kronik hepatit D virusu (HDV) enfeksiyonlarının da ACA üretimi için tetikleyici bir faktör olduğunu destekleyen bir çalışma olmakla birlikte, bu konuyla ilgili henüz yeterince araştırma yapılmamıştır⁵.

Bu çalışmada, kronik HBV enfeksiyonu ile birlikte total anti-delta pozitifliğinde ACA düzeylerinin araştırılması ve ayrıca kronik HDV enfeksiyonlu hastalarda ACA pozitifliği ile cinsiyet, yaş ve çeşitli laboratuvar parametreleri arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, kronik hepatit B ve D enfeksiyonlu 60 hasta (43 erkek, 17 kadın) ile kontrol grubu olarak kronik hepatit B enfeksiyonlu 30 hastada (21 erkek, 9 kadın) IgG ve IgM tipi ACA düzeyleri araştırıldı. Hastaların serolojik göstergeleri; HBsAg pozitif, HBeAg negatif, anti-HBe pozitif, anti-HBc IgG pozitif, anti-HBc IgM negatif, total anti-delta pozitif ve anti-HCV negatif; kontrollerin serolojik göstergeleri ise, HBsAg pozitif, HBeAg negatif, anti-HBe pozitif, anti-HBc IgG pozitif, anti-HBc IgM negatif, total anti-delta negatif ve anti-HCV negatif şeklinde idi. Hastaların HBV göstergeleri makroELISA (Roche Elecsys 2010 ve Moduler Analytics E-170), total HDV antikorları mikroELISA (Murex anti-Delta, Abbott) ve HCV antikorları makroELISA (Vitros) yöntemleri kullanılarak Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda çalışıldı.

ACA IgG ve IgM araştırılmasında mikroELISA (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Almanya) yöntemi kullanıldı. Ölçümler 450 nm dalga boyunda optik okuyucu (Tecan, Sunrise) ile yapıldı.

İstatistiksel analiz, hasta ve kontrol grubu arasında ACA pozitifliğinin Pearson Chi-Square testi ile değerlendirilmesiyle yapıldı. Total anti-delta antikorları pozitif hastaların tanımlayıcı özellikleri ve laboratuvar parametreleri ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde ifade edildi. Total anti-delta antikorları pozitif hastalarda ACA varlığı ile cinsiyet arasındaki ilişki Fisher's exact test, yaş ve laboratuvar parametreleri arasındaki ilişki ise Student's t-test kullanılarak gösterildi.

BULGULAR

Total anti-delta antikor pozitif 60 kronik HBV enfeksiyonlu hastanın dördünde sadece ACA IgM, dördünde sadece ACA IgG olmak üzere toplam 8 (%13.3) hastada ACA pozitifliği elde edilmiştir. Bu hastalarda ACA IgG ve ACA IgM'nin birlikte pozitifliği belirlenmemiştir. Kontrol grubundaki 30 kronik HBV enfeksiyonlu hastanın hiçbirinde ACA (IgG ve/veya IgM) pozitifliği saptanmamıştır. ACA pozitifliği açısından, total anti-delta antikor pozitif ve negatif kronik HBV enfeksiyonlu hastalar arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($\chi^2= 4.39$, $p< 0.05$).

ACA varlığı ile hasta özellikleri ve bazı laboratuvar parametreleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; yaş, cinsiyet, serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve globulin seviyeleri ile trombosit sayısı açısından kronik HDV enfeksiyonlu hastalarda ACA varlığı önemli bir istatistiksel farklılığa neden olmamıştır (Tablo I). Sadece serum albumin düzeylerinin ACA pozitif hastalarda negatif olanlara göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p= 0.004$) (Tablo I).

TARTIŞMA

Fosfolipidlere karşı oluşan antikorlar tarihsel olarak enfeksiyon hastalıklarıyla güçlü bir ilişki içerisinde olmuştur. İlk kez sifilizli hastaların serumlarında saptanan bu antikorların, günümüzde başta HCV olmak üzere, insan immünyetmezlik virusu, Epstein-Barr virus, sitomegalovirus, parvovirus B19'u da içeren birçok viral enfeksiyonla ilişkili olduğu göste-

Tablo I. HDV Enfeksiyonlu ACA Negatif ve Pozitif Hastaların Özellikleri ve Laboratuvar Parametreleri

	HDV pozitif/ACA negatif (n= 52)	HDV pozitif/ACA pozitif (n= 8)	p
Yaş	37.06 ± 11.3	40 ± 19.2	0.538
Cinsiyet (erkek/kadın)	38/14	5/3	0.676
AST (10-40 U/L)	52.3 ± 33.7	75.3 ± 46.1	0.093
ALT (10-35 U/L)	54.6 ± 29.5	60.9 ± 36.5	0.587
Albumin (3.5-5 g/dL)	3.86 ± 0.73	2.9 ± 0.99	0.004
Globulin (2.6-3.7 g/dL)	4.15 ± 0.94	4.5 ± 0.69	0.318
Trombosit sayısı (142-424 K/uL)	144.2 ± 115.9	147.3 ± 76.4	0.944

rilmiştir^{3,6-8}. Rodriguez ve arkadaşları⁹ ise, farklı bir yaklaşımla, antifosfolipid sendromu (APS) olan hastalarda anti-HCV varlığını araştırmış, ancak önemli bir ilişki bulmamışlardır. Otoimmün temelli olmayan karaciğer hastalıklarında, ACA pozitifliğinin karaciğer hasarının bir sonucu olarak üretildiğini vurgulayan Mangina ve arkadaşları¹⁰ bu tür hastalarda %18.8, kontrol grubunda ise %4.4 ACA pozitifliği ile anlamlı bir fark elde etmişlerdir. Chuang ve arkadaşları¹¹, kronik hemodiyaliz hastalarında %17.4 oranında yüksek ACA IgM titreleri saptamışlar, ACA IgM'nin normal ve yükselmiş titrelerinde hepatit C açısından yaptıkları değerlendirmede anlamlı fark bulmuşlardır.

Çalışmamızda, anti-delta antikorları pozitif ve negatif olan kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda ACA IgG ve IgM varlığı araştırılmıştır. HCV ile ACA pozitifliğini ilişkilendiren çok sayıda yayın⁶⁻¹¹ bulunması nedeniyle, çalışma kapsamına alınan hastaların anti-HCV negatif olmasına dikkat edilmiştir. Çalışmanın sonucunda, ACA pozitifliği açısından HDV enfeksiyonu olan ve olmayan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmiştir ($\chi^2= 4.39$, $p< 0.05$). Yapılan bir çalışmada, HBV, HDV, HBV'ye bağlı hepatoselüler karsinomali hastalar ve sağlıklı kan donörlerinde ACA varlığı araştırılmış ve en yüksek ACA pozitiflik oranı (%42.8) kronik HDV enfeksiyonlu hastalarda saptanmıştır⁵.

Bu çalışmada ACA pozitif ve negatif olan HDV enfeksiyonlu hastalar yaş, cinsiyet ve çeşitli laboratuvar parametreleri açısından karşılaştırıldığında sadece ACA varlığı ile serum albumin düzeyi arasında negatif korelasyon izlenmiştir (Tablo I). Benzer bir çalışmada, ACA pozitifliği ile serum globulin düzeyleri arasında pozitif korelasyon bildirilirken, hiperglobulineminin kronik HDV enfeksiyonlarında yaygın bir bulgu olduğu vurgulanmıştır⁵.

HDV enfeksiyonlu hastalarda ACA varlığını araştıran yeterli çalışmanın olmaması, ACA'nın bu hastalardaki klinik ve laboratuvar yansımalarını değerlendirmede sıkıntı yaratmaktadır. Ancak diğer kronik viral hepatitlerde ACA pozitifliği ile klinik ve laboratuvar özellikleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar mevcuttur^{3,12}. Lee ve arkadaşları¹² kronik HCV enfeksiyonlu hemodiyaliz hastalarında ACA IgG'nin yükselmiş titreleri (%39.6) ile yaş, cinsiyet, HBV varlığı, trombosit sayısı, serum ALT ve albumin düzeyleri arasında bir

ilişki gösteremezken, vasküler giriş trombozu ile arasında güçlü bir ilişki olduğunu ifade etmişlerdir. Leroy ve arkadaşları³ ACA pozitif ve negatif HCV enfeksiyonlu hastaları yaş, cinsiyet, hastalığın süresi, trombosit sayısı, serum ALT seviyeleri açısından karşılaştırmış ve iki grup arasında anlamlı bir fark saptamışlardır.

Sonuç olarak bulgularımız, kronik HDV enfeksiyonu olan hastalarda ACA pozitiflik oranının, olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ve yükselmiş ACA düzeylerinin HDV enfeksiyonlu hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri üzerinde önemli etkisi olmadığını göstermekle birlikte, konuyla ilgili daha kapsamlı çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Yuste JR, Prieto J. Anticardiolipin antibodies in chronic viral hepatitis. Do they have clinical consequences? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 717-9.
2. Doğan E, Alici S, Erkoç R ve ark. Hemodializ hastalarında antikardiolipin IgG ve antikardiolipin IgM'nin anti-HCV pozitifliği ile ilişkisi. *Van Tıp Derg* 2005; 12: 179-81.
3. Loizou S, Singh S, Wypkema E, Asherson RA. Anticardiolipin, anti-β₂-glycoprotein I and antiprothrombin antibodies in black South African patients with infectious disease. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 1106-11.
4. Zachou K, Liaskos C, Christodoulou DK, et al. Anti-cardiolipin antibodies in patients with chronic viral hepatitis are independent of beta₂-glycoprotein I cofactor or features of antiphospholipid syndrome. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 161-8.
5. Elefsiniotis IS, Diamantis ID, Dourakis SP, Kafiri G, Pantazis K, Mavrogiannis C. Anticardiolipin antibodies in chronic hepatitis B and chronic hepatitis D infection, and hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. Relationship with portal vein thrombosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 721-6.
6. Uthman WI, Gharavi EA. Viral infections and antiphospholipid antibodies. *Semin Arthritis Rheum* 2002; 31: 256-63.
7. Prieto J, Yuste JR, Beloqui O, et al. Anticardiolipin antibodies in chronic hepatitis C: implication of hepatitis C virus as the cause of the antiphospholipid syndrome. *Hepatology* 1996; 23: 199-204.
8. Leroy V, Avireux J, Jacob MC, Muet MM, Baud M, Zarski JP. Prevalence and significance of anticardiolipin, anti-β₂-glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies in chronic hepatitis C. *Br J Haematol* 1998; 101: 468-74.
9. Munoz-Rodriguez FJ, Tassies D, Font J, et al. Prevalence of hepatitis C virus infection in patients with antiphospholipid syndrome. *J Hepatol* 1999; 30: 770-3.
10. Mangia MD, Margaglione MD, Cascavilla I, et al. Anticardiolipin antibodies in patients with liver disease. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2983-7.
11. Chuang FR, Chen TC, Yang CC, et al. IgM-anticardiolipin antibody and vascular access thrombosis in chronic hemodialysis patients. *Renn Fall* 2005; 27: 25-30.
12. Lee CH, Wang IK, Chen TC, et al. Anticardiolipin antibodies and vascular access thrombosis in Taiwanese hemodialysis patients with chronic hepatitis C: a retrospective study. *J Clin Pract* 2006; 60: 1591-5.