

Συσχέτιση της προπυρηνικής μεταλλάξης του ιού της ηπατίτιδας Β με την κάθετη μετάδοση αυτού

Μιλτιάδης Παπαδάκης¹, Γεώργιος Δασκαλάκης¹, Γεώργιος Βλάχος¹, Ιωάννης Ελευσινιώτης², Αριστείδης Αντσακλής¹

¹Α' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Παν/μίου Αθηνών, Νοσοκομείο «Αλεξάνδρα»

²Παθολογική Κλινική - Ηπατολογικό Ιατρείο Νοσηλευτικού Τμήματος Παν/μίου Αθηνών, Νοσοκομείο «Έλενα Βενιζέλου»

Αλληλογραφία: Μιλτιάδης Παπαδάκης, Θεμιστοκλέους 48 Γλυφάδα, Τ.Κ. 16674

Τηλ.: 210-8949444 & 6977629996

E-mail: miltospapadakis@yahoo.com

Περίληψη

Υπολογίζεται ότι περίπου 350 εκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως πάσχουν από χρόνια ηπατίτιδα Β. Η κάθετη μετάδοση του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) συμβαίνει συνήθως κατά την περιγεννητική περίοδο και αποτελεί τον κυριότερο τρόπο μετάδοσης στις περιοχές όπου ο ιός υπερενδημεί. Περίπου το 1/3 των γυναικών που βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία στην Ελλάδα εμφανίζουν σημαντική (>10.000 copies/ml) ή και εξαιρετικά υψηλή (>10.000.000 copies/ml) ιαμμία στον ορό τους κατά την περιγεννητική περίοδο, γεγονός που αποδίδεται σε προπυρηνική μεταλλαγή (G1896A) του HBV γονιδιώματος, μία μετάλλαξη που συχνά παρατηρείται στις περιοχές της Μεσογείου. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να υπολογιστεί η πιθανότητα της ενδομήτριας ή διαπλακουντιακής μετάδοσης του ιού της ηπατίτιδας Β από HBsAg(+)/HBeAg(-) επίτοκες που έχουν υποστεί προπυρηνική μετάλλαξη (G1896A) του HBV, στα νεογνά τους. Τριάντα εννέα (39) HBsAg(+)/HBeAg(-) επίτοκες, χρόνιοι φορείς του ιού της ηπατίτιδας Β που εμφάνιζαν σημαντική ιαμμία στον ορό τους (HBV-DNA>10.000 copies/ml) κατά την 28η εβδομάδα της κύησης τους λόγω της προπυρηνικής μεταλλαγής (G1896A) μελετήθηκαν ορολογικά (HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc, anti-HBs) και ιολογικά (HBV-DNA) για τον ιό της ηπατίτιδας Β, όπως επίσης και τα νεογνά αυτών. Επιπροσθέτως, από όλες τις επίτοκες ελήφθησαν τμήματα πλακούντα και εξετάστηκαν ανοσοϊστοχημικά για την παρουσία των αντιγόνων HBsAg και HBcAg του ιού της ηπατίτιδας Β. Επίσης, έγινε έλεγχος για την παρουσία των πυρηνικών οξέων αυτού (HBV-DNA). Σε κανένα νεογνό δεν διαπιστώθηκε ενδομήτρια ή διαπλακουντιακή μετάδοση του ιού της ηπατίτιδας Β. Συμπερασματικά, η προπυρηνική μεταλλαγή (G1896A) του HBV δεν φαίνεται να επηρεάζει την πιθανότητα της ενδομήτριας ή διαπλακουντιακής μετάδοσης αυτού.

Λέξεις κλειδιά: Κάθετη μετάδοση, ηπατίτιδα Β, προπυρηνική μεταλλαγή, G1896A.

Εισαγωγή

Η λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για τη δημόσια υγεία, αφού υπολογίζεται ότι πάνω από 2 δισεκατομμύρια άνθρωποι έχουν μολυνθεί παγκοσμίως, ενώ πάνω από 350 εκατομμύρια εμφανίζουν χρόνια HBV λοίμωξη. Ένα σημαντικό ποσοστό των χρονίως πασχόντων (15-40%) αναπτύσσει κίρρωση του ήπατος, ηπατοκυτταρική ανεπάρκεια και πρωτοπαθή ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ), γεγονός που καθιστά τη χρόνια ηπατίτιδα Β ως μία από τις 10 κυριότερες αιτίες θανάτου παγκοσμίως, αφού ευθύνεται για περίπου 500.000-1.200.000 θανάτους ετησίως¹.

Η κάθετη μετάδοση (από τη μητέρα στο νεογνό) του ιού της ηπατίτιδας Β η οποία πραγματοποιείται συνήθως κατά την περιγεννητική περίοδο, αποτελεί τον κυριότερο τρόπο μετάδοσης του στις περιοχές όπου αυτός υπερενδημεί και εμφανίζεται συνήθως στα νεογνά που γεννιούνται από HBeAg(+) μητέρες οι οποίες εμφανίζουν υψηλό ιικό φορτίο². Η ενδομήτρια/διαπλακουντιακή μετάδοση του HBV στα νεογνά που γεννιούνται από HBsAg(+) μητέρες συσχετίζεται θετικά με το HBeAg(+) μητρικό ορολογικό προφίλ καθώς και με τα υψηλά επίπεδα HBV-DNA στο μητρικό ορό³. Επικρατεί η άποψη ότι, η διαπλακουντιακή μετάδοση του HBV αποτελεί το βασικό τρόπο συντήρησης της λοίμωξης και αποτυχίας του εφαρμοζόμενου στα νεογνά σχήματος ενεργητικής και παθητικής ανοσοποίησης⁴.

Η επίπτωση του HBsAg στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας στην Ελλάδα είναι σχετικά μικρή (1,15%), αλλά εμφανίζεται αισθητά μεγαλύτερη στις οικονομικές μετανάστριες που ζουν και εργάζονται στη χώρα μας (5,1% στις Αλβανίδες, 4,2% στις Ασιάτισες)⁵. Η συντηρητική πλειοψηφία των HBsAg(+) γυναικών στην Ελλάδα (>95%) είναι HBeAg(-) και εμφανίζουν χαμηλά (<400 copies/ml) ή και μη ανιχνεύσιμα (<200 copies/ml) επίπεδα HBV-DNA στον ορό τους κατά την περιγεννητική περίοδο⁶. Παρά το γεγονός ότι η πλειοψηφία αυτών είναι HBsAg(+)/HBeAg(-), περίπου το 1/3 αυτών εμφανίζουν σημαντική (>10.000 copies/ml) ή και εξαιρετικά υψηλή (>10.000.000 copies/ml) ιαμία σπόν ορό τους κατά την περιγεννητική περίοδο⁶, γεγονός που αποδίδεται σε προπυρηνική μεταλλαγή (G1896A) του HBV γονιδιώματος, μία μετάλλαξη που συχνά παρατηρείται στις περιοχές της Μεσογείου⁷ και που για πρώτη φορά περιγράφηκε το 1989 από τις ομάδες των καθηγητών Howard C Thomas του Νοσοκομείου St. Mary's του Λονδίνου και Στέφανου Χατζηγιάννη του Ιπποκράτειου Νοσοκομείου Αθηνών, προκει-

μένου να εξηγηθεί η ενεργός HBV λοίμωξη των HBeAg(-)/anti-HBe(+) ασθενών. Μετά από πολλαπλασιασμό των πυρηνικών οξέων του HBV με την PCR και τον καθορισμό των νουκλεοτιδικών αλληλουχιών (sequencing) παρατηρήθηκε σημειακή μεταλλαγή από γουανιδίνη (G) σε αδενίνη (A) στο προτελευταίο κωδικόνιο της προπυρηνικής περιοχής, στη θέση 1896, 5 νουκλεοτίδια πριν από το κωδικόνιο έναρξης της μετάφρασης της πυρηνικής πρωτεΐνης c. Η μετάλλαξη αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή της παραγωγής της e πρωτεΐνης, ενώ δεν επηρεάζει καθόλου την παραγωγή και την έκκριση της πυρηνικής πρωτεΐνης c η οποία είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό, τη μορφογένεση και την έκκριση των ιικών σωματιδίων του HBV⁷.

Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να υπολογιστεί η πιθανότητα της κάθετης (ενδομήτριας ή διαπλακουντιακής) μετάδοσης του ιού της ηπατίτιδας Β από τις HBsAg(+)/HBeAg(-) μητέρες που έχουν υποστεί προπυρηνική μετάλλαξη (G1896A) του HBV, στα νεογνά τους.

Ασθενείς και Μέθοδος

Τριάντα εννέα (39) HBeAg(-)/anti-HBe(+) επίτοκες, χρόνιοι φορείς του ιού της ηπατίτιδας Β που εμφάνιζαν σημαντική ιαμία την 28η εβδομάδα της εγκυμοσύνης τους (HBV-DNA > 10.000 copies/ml) και τα 39 νεογνά τους (το πρώτο 24ωρο προτού λάβουν το σχήμα της ενεργητικής και παθητικής ανοσοποίησης και το τρίτο 24ωρο της ζωής τους), μελετήθηκαν ορολογικά (HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc, anti-HBs, anti-HCV, anti-HDV, anti-HIV) και ιολογικά (HBV-DNA). Επίσης, από όλες τις επίτοκες που συμμετείχαν στη μελέτη ελήφθησαν τμήματα του πλακούντα και εξετάστηκαν ανοσοϊστοχημικά για την παρουσία των αντιγόνων HBsAg και HBcAg του ιού της ηπατίτιδας Β και έγινε έλεγχος για την παρουσία των πυρηνικών οξέων αυτού (HBV-DNA).

Οι ορολογικοί δείκτες εξετάστηκαν με τις συνήθεις, εμπορικά διαθέσιμες μεθόδους ενζυμικής ανοσομέτρησης (COBAS Amplicor II, Roche), το HBV-DNA του ορού μετρήθηκε με τη χρησιμοποίηση μίας ευαίσθητης μεθόδου ποσοτικού PCR υψηλής ακρίβειας (Amplicor/Roche), ενώ η ανίχνευση του HBV-DNA στον πλακουντιακό ιστό έγινε με

real time PCR μέθοδο. Η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση των HBsAg και HBeAg έγινε με την εφαρμογή της Envision HRP μεθόδου. Το anti-HBs αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού, ενώ το anti-HBeAg ήταν πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού. Σαν θετικό control δείγμα ιστού χρησιμοποιήθηκε τμήμα ηπατικού ιστού ασθενούς με χρόνια ηπατίτιδα Β που είχε ληφθεί με ηπατική βιοψία, ενώ σαν αρνητικό control δείγμα ιστού χρησιμοποιήθηκε πλακουντιακός ιστός επιτόκου που δεν είχε μολυνθεί από τον ιό της ηπατίτιδας Β.

Αποτελέσματα

Το εύρος του HBV-DNA του ορού των 39 επιτόκων ήταν από 52.500 έως 540.000 copies/ml. Δεν ανιχνεύθηκε HBsAg, HBeAg, anti-HBs και HBV-DNA στον ορό κανενός από τα 39 νεογνά το πρώτο 24ωρο της ζωής τους (προτού λάβουν το σχήμα της ενεργητικής και παθητικής ανοσοποίησης), ενώ ανιχνεύθηκαν anti-HBe και anti-HBe στον ορό και των 39. Όπως αναμενόταν ανιχνεύθηκε anti-HBs στον ορό όλων των νεογνών το τρίτο 24ωρο της ζωής τους, μετά από το σχήμα ανοσοσφαιρίνης που έλαβαν για ενεργητική ανοσοποίηση. Από την ανοσοϊστοχημική μελέτη των πλακούντων προέκυψε ότι, δεκατέσσερις από αυτούς εμφανίστηκαν HBeAg ασθενώς θετικοί, ενώ όλοι ήταν HBsAg αρνητικοί. Σε κανέναν από τους πλακούντες δεν ανιχνεύθηκε HBV-DNA, ενώ σε κανένα από τα νεογνά δεν διαπιστώθηκε περιγεννητική μετάδοση του HBV. Το ως άνω στοιχείο τεκμηριώθηκε αφού όλα τα νεογνά, άλλα με τη συμπλήρωση του δεύτερου έτους της ζωής τους και άλλα νωρίτερα, εμφάνισαν το ακόλουθο ορολογικό και ιολογικό προφίλ: HBsAg (-), HBeAg (-), anti-HBe (-), anti-HBe (-), anti-HBs (+) και ταυτόχρονα HBV-DNA (-).

Συζήτηση - Συμπεράσματα

Η ενδομήτρια μετάδοση του HBV είναι στενά συνδεδεμένη με την HBeAg οροθετικότητα των επιτόκων, τα υψηλά επίπεδα ιαμίας τους καθώς και με την προσβολή του πλακουντιακού ιστού τους από τον ιό της ηπατίτιδας Β, κυρίως μέσω της λοίμωξης των ενδοθηλιακών κυττάρων των τριχοειδών των λαχνών του πλακούντα^{4,8}.

Η απουσία της έκφρασης του HBeAg συσχετίζεται με σαφώς μικρότερο κίνδυνο για ενδομήτρια ή διαπλακουντιακή μετάδοση του HBV και αυτό πιθανώς οφείλεται είτε στο χαμηλότερο τίτλο αναπαραγωγής του HBV (HBV-DNA) που συχνότερα παρατηρεί-

ται στις HBeAg οροαρνητικές επίτοκες με χρόνια ηπατίτιδα Β σε σχέση με τις HBeAg οροθετικές, είτε σε ανοσολογικές παραμέτρους που σχετίζονται με την απουσία του HBeAg. Στη μελέτη μας δεν διαπιστώθηκε διαπλακουντιακή μετάδοση του HBV παρά το γεγονός ότι πολλές από τις επίτοκες που μελετήθηκαν εμφάνιζαν υψηλό τίτλο HBV-DNA στον ορό τους κατά την περιγεννητική περίοδο λόγω της προπυρηνικής μεταλλάξης (G1896A) του HBV.

Συμπερασματικά λοιπόν, η διαπλακουντιακή μετάδοση του ιού της ηπατίτιδας Β από τις HBsAg(+)/HBeAg(-) μητέρες που έχουν υποστεί προπυρηνική μετάλλαξη (G1896A) του HBV στα νεογνά τους φαίνεται πως είναι σπάνια, γεγονός που συμβαδίζει με τα εξαιρετικά χαμηλά ποσοστά αποτυχίας του σχήματος ανοσοπροφύλαξης στην Ελλάδα.

Correlation between precore mutation (G1896A) of HBV and its vertical transmission

Papadakis M.¹, Daskalakis G.¹, Vlachos G.¹, Elefsiniotis I.², Antsaklis A.¹

¹ First Department of Obstetrics and Gynecology, University of Athens, 'Alexandra' Hospital and

² Department of Internal Medicine-Hepatology and Infectious Diseases Unit, 'Elena Venizelou' Hospital, University of Athens, Athens, Greece

Correspondence: Miltiadis Papadakis

48 Themistokleous str., 16674 Glyfada, Athens, Greece

Tel.: +302108949444 & +306977629996

E-mail: miltospapadakis@yahoo.com

Summary

It is estimated that about 350 million people all over the world are chronically infected with hepatitis B virus (HBV). Vertical transmission of the infection usually occurs in perinatal period and is the main cause of HBV transmission in endemic countries of the world. About one third of women of reproductive age develops significant (>10,000 copies/ml) or even extremely high (>10,000,000 copies/ml) viral replication levels during perinatal period, basically due to precore mutation (G1896A) of the HBV genome, a mutation that is frequently observed in

Mediterranean countries. The aim of our study was to examine the possibility of intrauterine-transplacental transmission of HBV by viremic, HBeAg-negative chronic HBV infected pregnant women who had developed a precore HBV mutation (G1896A), to their infants. Thirtynine (39) HBeAg(-)/antiHBe(+) chronic HBV infected pregnant women who developed significant viremia (HBV-DNA>10,000 copies/ml) at the 28th week of gestation and at labor as well, due to precore mutation (G1896A) and their 39 neonates (at the first day-before the initiation of the immunoprophylaxis schedule and at the third day of their life) were serologically (HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc) and virologically (serum HBV-DNA) tested for Hepatitis B Virus. HBV intrauterine or transplacental transmission was not observed in any of the 39 neonates. In conclusion, the precore mutation (G1896A) of HBV does not seem to influence the the incidence of intrauterine or transplacental transmission of HBV.

Key words: Vertical transmission; Hepatitis B; precore mutation; G1896A.

Βιβλιογραφία

1. Lok AS. Chronic hepatitis B. N Engl J Med. 2002 May 30;346(22):1682-3.
2. Soderstrom A, Norkrans G, Lindh M. Hepatitis B virus DNA during pregnancy and post partum: aspects on vertical transmission. Scand J Infect Dis 2003;35(11-12):814-9.
3. Wang Z, Zhang J, Yang H, Li X, Wen S, Guo Y, et al. Quantitative analysis of HBV DNA level and HBeAg titer in hepatitis B surface antigen positive mothers and their babies: HBeAg passage through the placenta and the rate of decay in babies. J Med Virol 2003;71(November (3)):360-6.

4. Xu DZ, Yan YP, Choi BC, Xu JQ, Men K, Zhang JX, et al. Risk factor and mechanism of transplacental transmission of hepatitis B virus: a case-control study. J Med Virol 2002;67(May (1)):20-6.
5. Elefsiniotis IS, Glynou I, Magaziotou I, Pantazis KD, Fotos N, Brokalaki H, et al. Saroglou G. HBeAg negative serological status and low viral replication levels characterize chronic hepatitis B virus-infected women at reproductive age in Greece: a one-year, prospective single-center study. World J Gastroenterol 2005a;11(31):4879-82.
6. Elefsiniotis IS, Glynou I, Pantazis KD, Fotos N, Magaziotou I, Kada H. Prevalence of chronic HBV infection among 13581 women at reproductive age in Greece. A prospective single-center study. J Clin Virol 2005b;32(2):179-80.
7. Hadziyannis S, Papatheodoridis G. Hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B: natural history and treatment. Semin Liver Dis 2006;26(2):130-41.
8. Zhang SL, Yue YF, Bai GQ, Shi L, Jiang H. Mechanism of intrauterine infection of hepatitis B virus. World J Gastroenterol 2004;10(February (3)):437-8.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

HBV : Ιός της ηπατίτιδας Β

HBsAg : Πρωτεΐνη του φακέλου της επιφανείας του ιού της ηπατίτιδας Β ή Αυστραλιανό αντιγόνο

HBeAg : Πρωτεΐνη του πυρηνοκαψιδίου του ιού της ηπατίτιδας Β

HBc : Πρωτεΐνη του πυρήνα του ιού της ηπατίτιδας Β

HBV-DNA : Πυρηνικά οξέα του ιού της ηπατίτιδας Β