

مقایسه سطح سرمی اسید هیالورونیک با میزان فیروز در بیوپسی کبد در بیماران مبتلا به هپاتیت های مزمن ویروسی B و C

فریده مرادی مقدم: گروه داخلی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سکینه عمونیان: گروه پاتولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
محمد خواجه دلویی: گروه پزشکی اجتماعی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

E-mail: moradif@mums.ac.ir

دریافت: ۸۷/۱۱/۲۴، پذیرش: ۸۸/۶/۱

چکیده

زمینه و اهداف: تشخیص میزان و درجه فیروز کبدی در هپاتیت های مزمن ویروسی برای پی بردن به پیش آگهی بیمار و اندیکاسیون درمان لازم است. بیوپسی کبدی با عیوب و عوارضی همراه است که تکرار آن برای ارزیابی مجدد و پیگیری درمان کمتر مورد پذیرش است. هدف این مطالعه بررسی ارتباط بین سطح سرمی اسید هیالورونیک (HA) با مرحله و درجه فیروز کبدی در بیوپسی کبد است.

مواد و روش ها: این مطالعه به روش مقطعی-تحلیلی روی ۶۹ بیمار مبتلا به هپاتیت مزمن B یا C که در سالهای ۱۳۸۵-۱۳۸۶ به واحد ما مراجعه کرده و تحت بیوپسی کبد و نمونه گیری همزمان خون قرار گرفته بودند انجام شد. هیچکدام از بیماران، داروهای موثر بر غلظت اسید هیالورونیک استفاده نمی کردند و کسانی که آرتروپاتی داشتند از مطالعه خارج شدند.

یافته ها: از مجموع ۶۹ بیمار مورد مطالعه، ۴۸ نفر (۶۹/۶ درصد) مرد و ۲۱ نفر (۳۰/۴ درصد) زن بودند. ویروس عامل در ۲۹ بیمار (۴۲ درصد) هپاتیت C و ۴۰ بیمار (۴۸ درصد) هپاتیت B بود. شدت فیروز کبد (stage) با سطح HA همبستگی مستقیم ($r=0/25$, $P=0/042$) و با سطح پلاکت همبستگی معکوس ($r=-0/37$, $P=0/002$) داشت. میزان التهاب کبد (Grade) با سطح HA و ALT همبستگی معنی داری نداشت (به ترتیب $r=-0/01$, $P=0/9$ و $r=-0/36$, $P=0/003$) اما با میزان پلاکت همبستگی معکوس نشان داد ($r=-0/36$, $P=0/003$).

نتیجه گیری: تطابق نتایج حاصل از مطالعه ما با مطالعات مشابه جهانی، نشان می دهد که سطح سرمی HA، مارکر مفیدی برای تعیین شدت فیروز در بیماران با هپاتیت B و C است و می تواند تست غیرتهاجمی مناسبی برای جایگزینی بیوپسی کبد در پیگیری فیروز کبدی باشد.

کلید واژه ها: فیروز، اسید هیالورونیک، هپاتیت مزمن ویروسی

مقدمه

همراه بوده و به مهارت پاتولوژیست در بررسی نمونه بستگی دارد و بعلت تهاجمی بودن اقدام، تکرار آن برای ارزیابی مجدد و پی گیری اثرات درمان کمتر مورد پذیرش است (۸ و ۶). به نظر می رسد از نظر بالینی به روشهای غیر تهاجمی برای ارزیابی میزان فیروز کبدی، هم در تشخیص فیروز کبدی و هم در پیگیری اثر داروهای ضد ویروسی و آنتی فیبروتیک نیاز است (۱۳ و ۱۲ و ۸).

فیروز کبدی فرایندی پیچیده و پویا بوده با افزایش ماتریکس خارج سلولی، فعالیت سلولهای مولد ماتریکس، رها سازی سایتوکین ها و تغییر شکل بافتی همراه است (۳). اسید هیالورونیک، پلی ساکاریدی با وزن مولکولی بالا می باشد که در فضاهای خارج سلولی توزیع شده است. بخشی از آن از طریق سیستم لنفاتیکی

آسیب های مزمن باعث فیروز کبدی می شوند (۱). هپاتیت های B و C از جمله عفونت های ویروسی هستند که منجر به هپاتیت مزمن شده و حتی در بیماران بدون علامت با درجاتی از فیروز تا سیروز کبدی همراه هستند (۳ و ۲). تشخیص میزان و درجه فیروز کبدی در هپاتیت های مزمن ویروسی برای پی بردن به پیش آگهی بیمار و اندیکاسیون درمان لازم است (۴). با وجود آنکه بیوپسی کبدی بعنوان اقدام استاندارد طلایی برای ارزیابی درجه و مرحله فیروز کبدی محسوب می شود (۷ و ۵ و ۳)، با عیوبی نظیر عوارض بیوپسی (خونریزی، درد محل بیوپسی و افزایش میزان بستری بیمار)، هزینه بالا (۳۸ و ۳)، خطاهای نمونه برداری (۱۱ و ۹) و در برخی از موارد با کنترااندیکاسیون انجام،

۱۲-۹ نسبتاً شدید و ۱۸-۱۳ شدید. برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم افزار آماری SPSS version 13 ویرایش ۱۳ استفاده شد. نخست ویژگی بیماران توسط روش های آماری توصیفی شامل شاخص های مرکزی، پراکندگی و توزیع فراوانی در قالب جداول مناسب ارائه گردید. برای مقایسه متغیرهای کیفی از آزمون کای دو (χ^2) و برای بررسی همبستگی سطح اسید هیالورونیک و مرحله بندی بیماری از آزمون همبستگی اسپیرمن استفاده شد. در تمامی محاسبات $P < 0.05$ بعنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

از مجموع ۶۹ بیمار مورد مطالعه، ۴۸ نفر (۶۹/۶ درصد) مرد و ۲۱ نفر (۳۰/۴ درصد) زن بودند. میانگین سنی بیماران مورد بررسی 34 ± 10 سال بود. جوان ترین بیمار ۱۵ سال و مسن ترین آنها ۶۱ سال داشتند. از نظر ویروس عامل هپاتیت ۲۹ بیمار (۴۲ درصد) مبتلا به هپاتیت مزمن C و ۴۰ بیمار (۵۸ درصد) مبتلا به هپاتیت مزمن B بودند، اختلاف معنی داری در میانگین سن، پلاکت، ALT و سطح سرمی هیالورونیک اسید در بین دو گروه وجود نداشت. میانگین سطح سرمی اسید هیالورونیک در بیماران $54/48 \pm 25/34 \mu\text{g/L}$ ALT $71/4 \pm 87/91 \text{ mm}^3$ و پلاکت $175/92 \pm 49/9 \text{ mm}^3$ بود. میانگین این متغیر بر حسب میزان فیروز بافت کبد (Stage) و میزان نکروز و التهاب بافت کبد (Grade) در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. همانگونه که مشاهده می گردد آزمون آماری اسپیرمن بین شدت فیروز کبد (stage) و سطح اسید هیالورونیک یک همبستگی مستقیم معنی دار ($P = 0.042$) و $P = 0.025$ (rho) نشان می دهد و با میزان پلاکت یک همبستگی معکوس معنی دار ($P = 0.002$ و $\rho = -0.37$) نشان می دهد ولی با سطح ALT سرم همبستگی معنی داری ندارد ($P = 0.44$ و $\rho = 0.36$).

همچنین آزمون اسپیرمن بین میزان التهاب (Grade) و میزان پلاکت یک همبستگی معکوس معنی دار ($P = 0.003$ و $P = -0.36$) نشان می دهد ولی بین سطح اسید هیالورونیک و ALT همبستگی معنی دار وجود ندارد (به ترتیب $P = 0.09$ و $P = 0.09$).

وارد جریان خون می شود و به سرعت توسط سلولهای اندوتلیال سینوزوئیدی پاک سازی و تخریب می شود (۳ و ۱۴). مطالعات اخیر نشان داده است سطح سرمی اسید هیالورونیک در بیماران دچار فیروز کبدی افزایش پیدا می کند (۱۶ و ۱۴ و ۶ و ۳ و ۱). این مطالعه با هدف مقایسه سطح سرمی اسید هیالورونیک با مرحله و درجه (کمیت) فیروز کبدی در بیوپسی کبد در بیماران مبتلا به هپاتیت های ویروسی مزمن B و C انجام شده است.

مواد و روش ها

این مطالعه به روش مقطعی-تحلیلی (Analytical cross-sectional) در بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن ناشی از HBV که در طی سالهای ۱۳۸۶-۱۳۸۵ به واحد پژوهشی مرکز گوارش و کبد مرکز درمانی آموزشی بیمارستان امام رضا (ع) در شهرستان مشهد مراجعه کرده و پس از تشکیل پرونده، تحت بیوپسی کبد و نمونه گیری خون قرار گرفته بودند انجام شده است. از این گروه، بیمارانی وارد مطالعه شدند که بر اساس پرونده تشکیل شده، بیوپسی کبد آنها هم زمان با نمونه گیری خون بود و بیمارانی که بیوپسی کبدشان هم زمان با نمونه گیری خون آنها نبود از مطالعه خارج شدند. جمعیت مورد مطالعه شامل ۴۰ بیمار مبتلا به هپاتیت مزمن B و ۲۹ بیمار مبتلا به هپاتیت مزمن C بودند که نمونه سرم این بیماران در دسترس بود. هیچکدام از بیماران، داروهای موثر بر غلظت اسید هیالورونیک سرمی را استفاده نمی کردند. علاوه بر آن با توجه به اینکه سنتز اسید هیالورونیک در غشاهای سینوویال هم رخ می دهد و در بیماریهای التهابی مفصل هم افزایش این ماده مشاهده می گردد بیماران دارای شواهد بالینی آرتروپاتی از مطالعه حذف شدند. سطح سرمی اسید هیالورونیک در این افراد اندازه گیری شده (نرمال: $0-75 \mu\text{g/L}$) و بعد نتیجه این آزمایش با نتیجه بیوپسی کبد آنها مقایسه شد.

میزان فیروز کبد بر اساس سیستم مرحله بندی Knodell ارزیابی شد و مراحل آن در سه گروه خفیف (۲ و ۱ و ۰ Stage)، متوسط (۳ و ۴ Stage) و شدید (۵ و ۶ Stage) دسته بندی شدند. میزان التهاب و نکروز بافت کبد نیز بر اساس سیستم Grading Knodell به چهار گروه تقسیم شد: ۴-۰ خفیف، ۸-۵ متوسط،

جدول ۱: میانگین سطح اسید هیالورونیک، پلاکت و ALT بر حسب میزان فیروز بافت کبدی (Stage)

مرحله	اسید هیالورونیک	پلاکت ($\times 10^3$)	ALT
خفیف (۰، ۱، ۲)	$50/5 \pm 21/57$	$187/31 \pm 51/32$	$88/33 \pm 79/52$
متوسط (۳، ۴)	$57/92 \pm 24/91$	$161/41 \pm 41/74$	$77/55 \pm 52/09$
شدید (۵، ۶)	$71/89 \pm 38/85$	$136/67 \pm 32/35$	$100/88 \pm 59/04$
نتایج آماری	$r = 0.25$ ، $P = 0.04$	$r = -0.37$ ، $P = 0.002$	$r = 0.09$ ، $P = 0.44$
مرحله=STAGE	درجه=GRADE		

جدول ۲: میانگین سطح سرمی اسید هیالورونیک، پلاکت و ALT بر حسب میزان نکروز و التهاب بافت کبدی (Grade)

درجه	اسید هیالورونیک	پلاکت ($\times 10^3$)	ALT
خفیف (۰-۴)	$54/91 \pm 24/38$	$194/71 \pm 38/5$	$87/62 \pm 80/34$
متوسط (۵-۸)	$52/94 \pm 21/84$	$175/03 \pm 58/48$	$67/42 \pm 35/65$
نسبتاً شدید (۹-۱۲)	$59/5 \pm 37/13$	$147/09 \pm 30/11$	$139/91 \pm 106/1$
شدید (۱۳-۱۸)	$45 \pm 14/14$	$166/5 \pm 13/43$	$117 \pm 5/65$
نتایج آماری	$\rho = 0/01, P = 0/99$	$\rho = -0/36, P = 0/003$	$\rho = 0/21, P = 0/09$

بحث

طیف وسیعی از بیماریهای مزمن کبد، باعث فیروز کبدی می‌شوند، صرف نظر از علت، سیر پیشرفت فیروز باعث کلاپس لبولهای کبدی، ایجاد دیواره های فیروزه و هیپاتوسیت های دژنره شده و طرح ندولار در کبد می‌شود که با انجام بیوپسی کبد، این یافته‌های هیستوپاتولوژی جهت تعیین شدت فیروز و راهنمای درمان بیمار، ارزیابی می‌گردد (۱).

از آنجا که تستهای سرولوژیک و بیوشیمی معمول، ارزش بسیار کمی در ارزیابی فیروز کبد دارند، بیوپسی کبد همچنان روش استاندارد طلایی برای تعیین شدت التهاب و فیروز کبدی می‌باشد. اما محدودیت کاربرد بیوپسی کبدی به دلیل تهاجمی بودن آن، خطر ایجاد عوارض و اختلاف نظر پاتولوژیستها در تفسیر، محققان را بر آن می‌دارد تا در جهت پیدا کردن روشهای غیرتهاجمی، تلاش نمایند. در مطالعات مختلف چندین مارکر برای پیشگویی میزان فیروز کبد در بیماران مبتلا به بیماریهای مزمن کبدی مورد آزمایش قرار گرفته است که اکثر آنها جزو ترکیبات ماتریکس خارج سلولی هستند. تجمع ترکیبات ماتریکس خارج سلولی در کبد (۱۶ و ۱۷ و ۱۸ و ۱۹ و ۲۰) ناشی از اختلال در تعادل بین تولید، رسوب و تخریب این مواد است که همزمان با افزایش بیشتر فشار پورت و اختلال در عملکرد کبدی در جریان فیروز کبدی رخ می‌دهد (۲۰ و ۲۱). اسید هیالورونیک (HA)، جزء حیاتی ویسکوالاستیسیته ماتریکس خارج سلولی است و باعث لغزندگی (لوپریکاسیون) بین بافتها می‌شود. HA در غشای پلاسمایی فیروبلاستها و سایر سلولها، بخصوص در بافت همبند و مامبرانهای سینوئیدال ساخته می‌شود. قسمتی از HA بطور موضعی متابولیزه می‌گردد، اما بیشتر از طریق لفاتیک وارد خون شده و از آنجا وارد کبد و به وسیله سلولهای اندوتلیال کبدی به سرعت متابولیزه می‌شوند (۱۷ و ۱۸). در یک فرد سالم، نیمه عمر HA در گردش خون ۵-۲ دقیقه است. غلظت سرمی طبیعی آن وابسته به سن است و از نوزادی تا بلوغ و بعد در سنین پیری، افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه اختلال در پاک سازی HA به وسیله سلولهای اندوتلیال کبدی، علت اصلی افزایش اسید هیالورونیک می‌باشد، این مطالعه برای تعیین ارتباط بین سطح سرمی HA با میزان فیروز کبدی در بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن B و C انجام شد. مطالعات مشابهی

در این رابطه انجام شده است که نتایج بدست آمده از آنها با یافته های ما مطابقت داشته و آن را تأیید می‌نماید.

Nyberg و همکاران (۲۱) در یک بررسی بر روی افراد مبتلا به سیروز صفراوی اولیه، سطح سرمی HA را مارکر حساسی برای تعیین آسیب دیدگی کبدی پیشرفته در این بیماران معرفی کردند. پژوهشی دیگر توسط Fried (۱۸) در بیماران دارای بیماری ونوکلوژیو مزمن که دچار فیروز کبدی شده بودند، افزایش سطح سرمی HA را نشان داد. چند مطالعه مشابه دیگر که بیماران دارای هپاتیت C را مورد ارزیابی قرار داده اند، ارتباط مستقیم بین فیروز در بیوپسی کبدی و افزایش سطح سرمی HA را گزارش کرده اند. نتایج این مطالعات با نتایج پژوهش اخیر ما مطابقت دارد (۱۹ و ۲۰ و ۷). نتایج ما نیز همانند مطالعه Wong و Skirpenova (۱۹ و ۹) بین میزان التهاب کبدی و سطح HA و ALT سرمی، رابطه معنی داری نیافته است اگرچه پژوهش ما، یک همبستگی معکوس معنی دار بین شدت فیروز و میزان پلاکت را نشان داده است که در مطالعات دیگر بررسی نشده است.

Wyatt و همکاران در مطالعه کودکان دارای بیماری فیروز کیستیک که دچار فیروز کبدی شده بودند، سطح HA را اندازه گیری نمودند و نشان دادند که سطح سرمی HA در این بیماران به مقدار قابل توجهی، بالاتر از بیماران فاقد فیروز کبدی است (۱۷). برخی محققان، این ارتباط را در سایر بیماریهای مزمن کبدی اطفال (۱۵-۸) و نیز بزرگسالان (۱۶-۵) تجربه کرده اند. در ایران هم، منتظری و همکاران در سال ۲۰۰۵، ارتباط بین هیالورونات سرم و شدت التهاب و فیروز بیماران با هپاتیت B که فاقد آنتی ژن HBe بودند گزارش کردند.

نتیجه گیری

تطابق نتایج حاصل از مطالعه ما با مطالعات مشابه جهانی، نشان می‌دهد که سطح سرمی HA مارکر مفیدی برای تعیین شدت فیروز در بیماران با هپاتیت B و C است و می‌تواند تست غیرتهاجمی مناسبی برای جایگزینی بیوپسی کبد در پیگیری فیروز کبدی باشد.

تقدیر و تشکر

منابع مالی این مقاله توسط معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تأمین شده است. ما صمیمانه از آن معاونت محترم و اعضای محترم کمیته پژوهشی دانشکده پزشکی مشهد که ما را با تأمین منابع مالی و معنوی در انجام این پژوهش یاری

کردند و همچنین از دکتر حسین اربابی که در تهیه مقاله، دکتر عباس اسماعیل زاده، دکتر علی مختاری فر، و سایر همکاران بخش گوارش بیمارستان امام رضا (ع) که در فراهم کردن نمونه های مورد نیاز طرح، کمال همکاری را داشتند تقدیر و تشکر می نمائیم.

References

1. Zheng M, Cai WM, Weng HL, Liu RH. ROC curves in evaluation of serum fibrosis indices for hepatic fibrosis. *World J Gastroenterology* 2002; **8**(6): 1073-1076.
2. Pungpapong S, Kim WR, Poterucha JJ. Natural history of hepatitis B virus infection: An update for clinicians. *Mayo Clin Proc* 2007; **82**(8): 967-975.
3. Anis Khan J, Ahmad Khan F, Dilawar M, Ijaz A, Akbar Khan N, Mehmood T. Serum hyaluronic acid as a marker of hepatic fibrosis. *JCPSP* 2007; **17** (6): 323-326.
4. Yilmaz S, Bayan K, Tüzün Y, Dursun M, Kaplan A, Ozmen S, et al. Replacement of histological findings: serum hyaluronic acid for fibrosis, high-sensitive C-reactive protein for necroinflammation in chronic viral hepatitis. *Int J Clin Pract* 2007; **61**(3): 438-443.
5. Lu LG, Zeng MD, Wan MB, Li CZ, Mao YM, Li JQ, et al. Grading and staging of hepatic fibrosis, and its relationship with noninvasive diagnostic parameters. *World J Gastroenterology* 2003; **9**(11): 2574-2578.
6. Montazeri G, Estakhri A, Mohamadnejad M, Nouri N, Montazeri F, Mohammadkani A, et al. Serum hyaluronate as a non-invasive marker of hepatic fibrosis and inflammation in HBEAg-negative chronic hepatitis B. *BMC Gastroenterology* 2005; **5**: 32-39.
7. Halfon P, Bourlière M, Pénaranda G, Deydier R, Renou C, Botta-Fridlund D, et al. Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver fibrosis stages in patients with hepatitis C virus. *Comp Hepatol* 2005; **11**: 4-6.
8. Lebensztejn DM, Skiba E, Tobolczyk J, Sobaniec-Lotowska ME, Kaczmarek M. Diagnostic accuracy of serum biochemical fibrosis markers in children with chronic hepatitis B evaluated by receiver operating characteristics analysis. *World J Gastroenterology* 2005; **11**(45): 7192-7196.
9. Skripenova S, Trainer TD, Krawitt EL, Blazek H. Variability of grade and stage in simultaneous paired liver biopsies in patients with hepatitis C. *J Clin Pathol* 2007; **60**(3): 321-324.
10. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterology* 2002; **97**(10): 2614-2618.
11. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: The smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol* 2003; **39**(2): 239-44. *J Hepatol* 2006; **44**(4): 822-823.
12. Guécho J, Serfaty L, Bonnard AM, Chazouillères O, Poupon RE, Poupon R. Prognostic value of serum hyaluronan in patients with compensated HCV cirrhosis. *J Hepatol* 2000; **32**(3): 447-452.
13. Vrochides D, Papanikolaou V, Pertoft H, Antoniadis AA, Heldin P. Biosynthesis and degradation of hyaluronan by non parenchyma liver cells during liver regeneration. *Hepatology* 1996; **23**(6): 1650-1655.
14. Hartley JL, Brown RM, Tybulewicz A, Hayes P, Wilson DC, Gillett P, et al. Hyaluronic acid predicts hepatic fibrosis in children with hepatic disease. *J Pediatric Gastroenterology Nutr* 2006; **43**(2): 217-221.
15. Kim MY, Baik SK, Jang YO, Suk KT, Kim JW, Kim HS, et al. Serum hyaluronic acid level: correlation with quantitative measurement of hepatic fibrosis in a cirrhotic rat model. *Korean J Hepatol* 2008; **14**(2): 159-167.
16. Ding H, Chen Y, Feng X, Liu D, Wu A, Zhang L. Correlation between liver fibrosis stage and serum liver fibrosis markers in patients with chronic hepatitis B. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2001; **9**(2): 78-80.
17. Wyatt HA, Dhawan A, Cheeseman P. Serum hyaluronic acid concentrations are increased in cystic fibrosis patients with liver disease. *Arch Dis Child* 2002; **86**: 190-193.
18. Fried MW, Duncan A, Soroka S. Serum hyaluronic acid in patients with veno-occlusive disease following bone marrow transplantation. *Bon marrow Trans* 2001; **27**: 635-639.
19. Wong VS, Hughes V, Trall A. Hyaluronic acid is a useful marker of liver fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *Journal of Viral Hepatitis* 1998; **3**: 187-192.
20. Nyberg A, Engstrom A, Loof L. Serum hyaluronate in primary biliary cirrhosis. A biochemical marker for progressive liver damage. *Hepatology* 1988; **8**: 142-146.