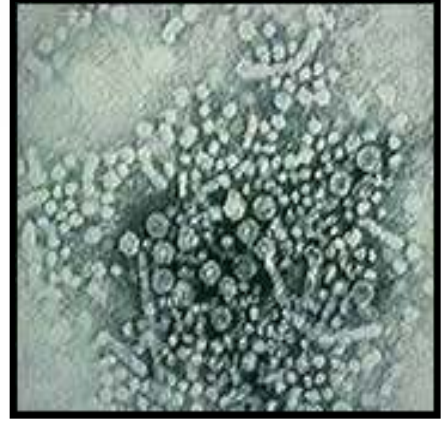


KRONİK HBV ENFEKSİYONLU HASTA TAKİBİNDE KANTİTATİF HBSAG TİTRESİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ergenekon KARAGÖZ, Vedat TURHAN, Alpaslan
TANOĞLU, M.Burak SELEK, Asım ÜLÇAY, Hakan
ERDEM, Ayşe BATIREL

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi
Van Asker Hastanesi
13 Mayıs 2016; 6. EKMUD Kongresi, Antalya

Hepatit B virüsü (HBV)



- ♣ *Hepadnaviridae*
- ♣ Karaciğer hücrelerini enfekte eder
- ♣ Dünya Sağlık Örgütü (WHO): Bilinen kanserojenler arasında ;
 - ♣ 1. sırada tütün
 - ♣ 2. sırada HBV

Hepatit B Virüs Enfeksiyonu

Dünyada

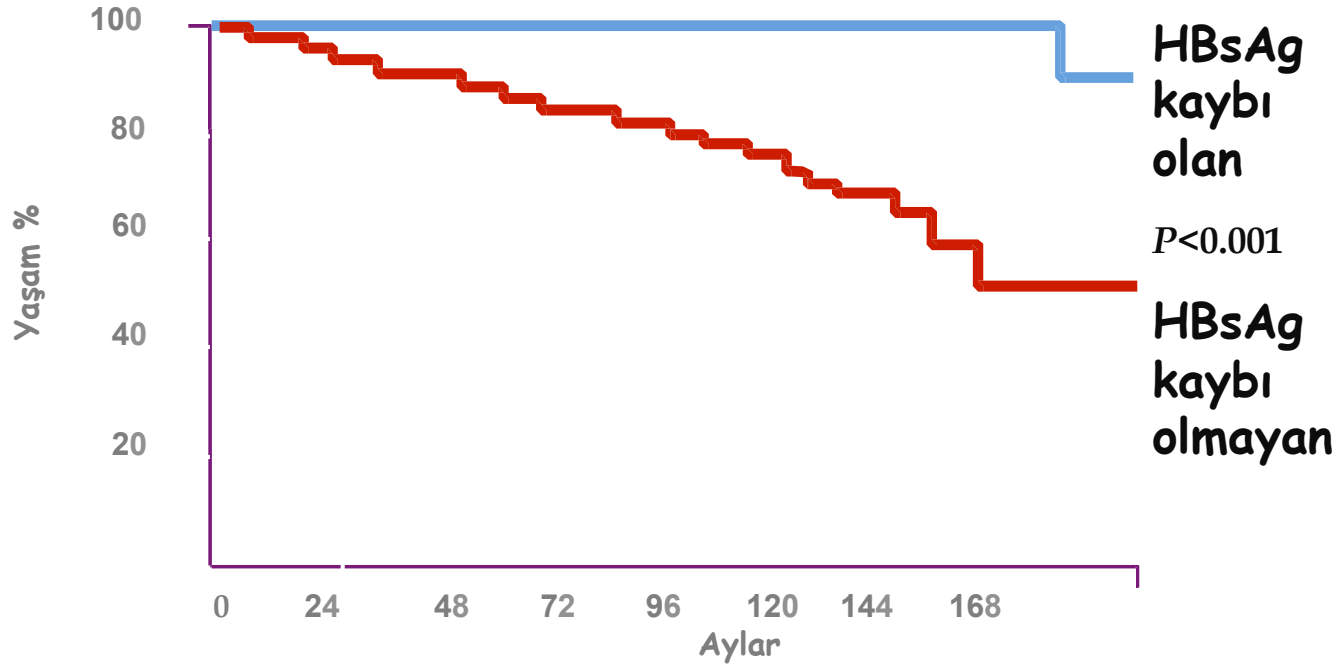
- ♣ HBV ile karşılaşan 2 milyar kişi
- ♣ 450 milyon kronik enfeksiyon
- ♣ Her yıl 500 000-1.200 000 ölüm

Ülkemizde

- ♣ Taşıyıcılık oranı: ~%5
- ♣ ~3 milyon kişi taşıyıcı
- ♣ Yılda 4000 HSK

HBsAg Kaybı ve Uzun Yaşam

**Kompanze sirozlu hastalarda
HBsAg serokonversiyonu olan ve olmayan hastalarda tahmini yaşam
309 hastanın retrospektif olarak 5.7 yıllık izlemleri**



HBsAg – Tarihsel bir bakış

- ♣ 1960’lı yıllarda bir Avustralya yerlisinin kanında ilk kez izolasyon
 - ♣ “Australya antijeni”
 - ♣ Kronik hepatit B’den sorumlu ilk virüsün identifikasyonu
 - ♣ 1976 yılında Baruch Blumberg tıp alanında Nobel ödülü

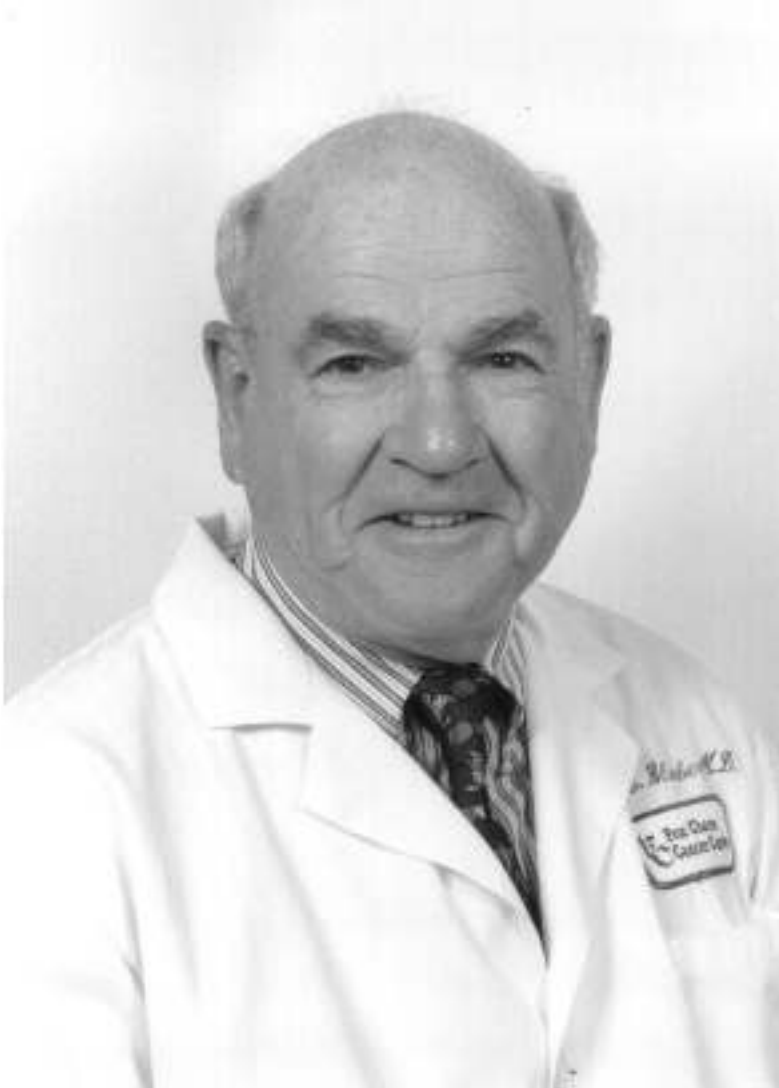


The HBsAg story
began back
in 1965



Blumberg BS, ve ark. JAMA. 1965

Serum HBsAg Düzeyinin Kantitatif Kullanımı



HBsAg' nin ilk keşfi 1965 yılına gidiyor

Kantitatif HBsAg'nin önemi

Frosner GG ve ark,

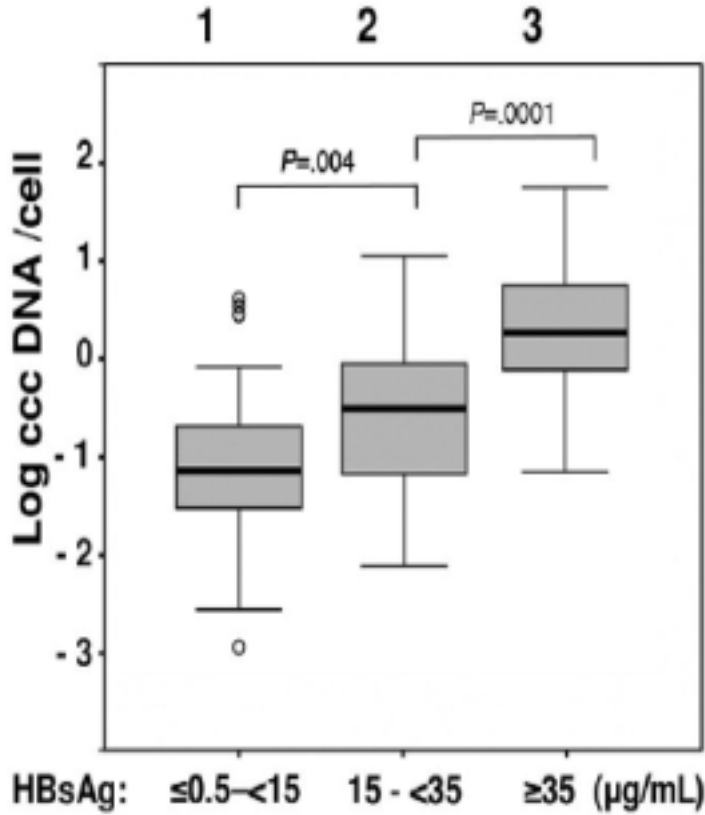
Diagnostic significance of quantitative determination of hepatitis B surface antigen in acute and chronic hepatitis B infection.

Eur J Clin Microbiol 1982;1:52-58.

Serum HBsAg Düzeyi ccc DNA Aktivitesini Yansıtır mı?

	HBeAg+	HBeAg-	P
Male/Total	31/42	58/77	ns
Age (years)	32.5 (19-64)	40 (20-63)	P = .0001
Serum			
HBV-DNA (copies/mL)	4.5×10^7 ($<10^2$ - 4×10^8)	7×10^3 ($<10^2$ - 4×10^8)	P < .0001
ALT (ULN)	2.1 (0.4-15.8)	1.5 (0.3-13)	P = .064
HBsAg ($\mu\text{g/mL}$)	41 (<0.5 -324)	7.6 (<0.5 -62)	P < .0001
Intrahepatic			
Total HBV-DNA (copies/cell)	95 (0.6- 2×10^3)	0.72 (0.036-73)	P < .0001
cccDNA (copies/cell)	1.8 (0.008-54)	0.09 (0.001-15)	P < .0001
cccDNA/Tot.HBV-DNA	2% (0.09-44%)	10.4% (0.05-100%)	P < .0001
HBsAg+ staining (% of cells)	30% (0-95)	10% (0-80)	P = .001
HBeAg+ staining (% of cells)	5% (0-90)	0% (0-20)	P < .0001
Grading (Desmet)	2 (1-3)	1 (0-4)	ns (0.91)
Staging (Desmet)	1 (0-4)	1 (0-4)	ns (0.35)

Serum HBsAg Düzeyi ccc DNA Aktivitesini Yansıtır mı?



- ♣ HBeAg (+) vakalarda HBsAg seviyesi ile cccDNA düzeyi uyumlu

Serum HBsAg Düzeyinin Kantitatif Kullanımı

HBsAg nin cccDNA ve HBV DNA ile korele sonuçlar vermesi ve HBeAg (+) ve (-) ler arası farklar olması bu konuya ilgiyi anlamlı derecede arttırdı ...

♣ *Tedaviye cevap markeri veya*

♣ *Enfeksiyonunun doğal seyrini anlamada kullanılabilir mi ?*

Amaç

- ♣ cccDNA'nın bir göstergesi niteliğinde olan qHBsAg düzeyinin;
 - ♣ Tedavi takibindeki yerini arařtırmak
 - ♣ HBV DNA ve karaciğer histopatolojisi ile iliřkisini deęerlendirmek



Gereç ve Yöntem

♣ GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi EHKM

♣ 01 Haziran 2014 - 31 Aralık 2014

♣ 18 yaş ve üzeri

♣ Klinik,

♣ biyokimyasal,

♣ serolojik ve

♣ histopatolojik

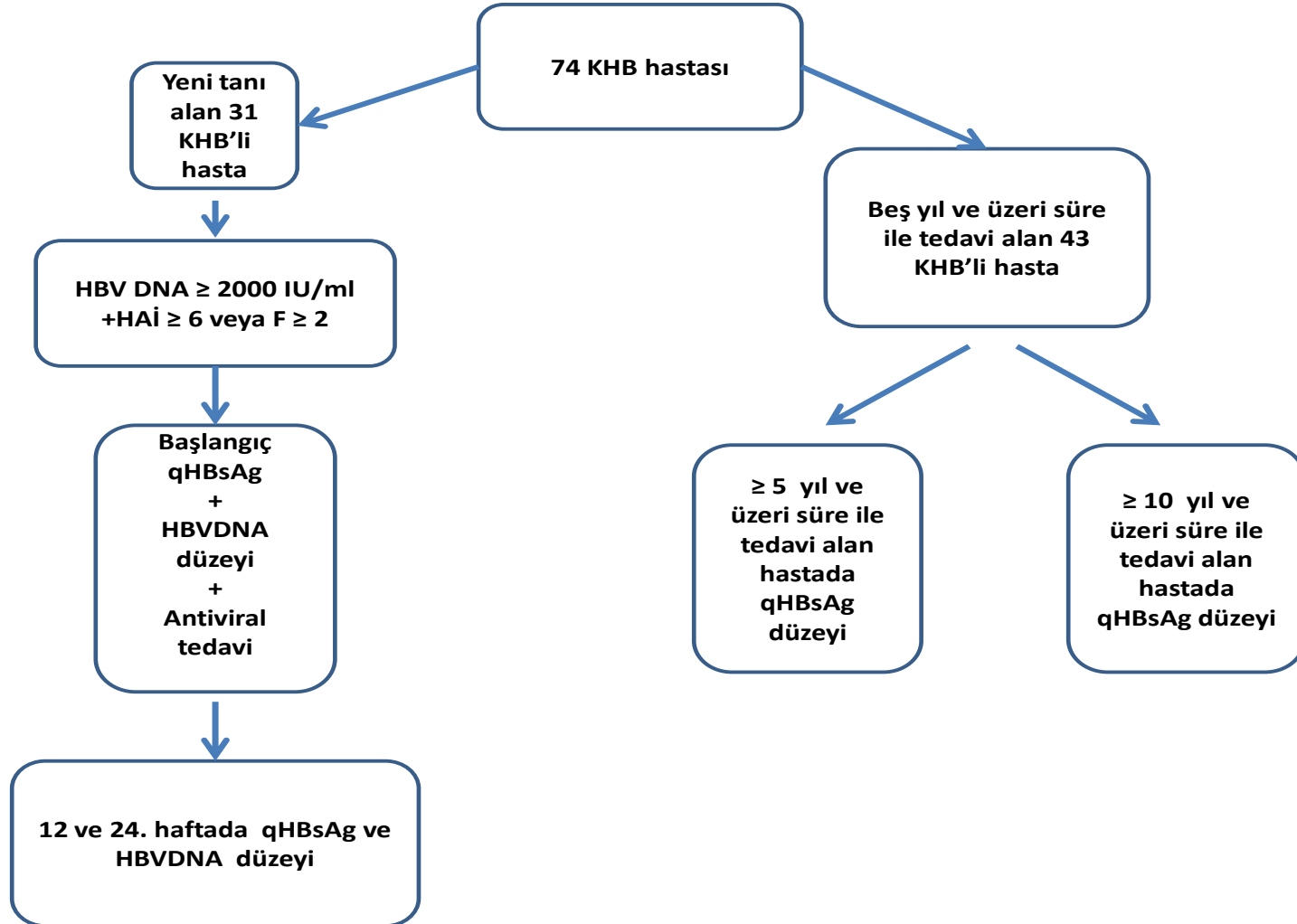
olarak kronik hepatit B infeksiyonu tanısı konan toplam

74 hasta

Gereç ve Yöntem

- ♣ Hastalar;
 - ♣ İlk kez tedavi başlanılan (Naif)
 - ♣ Uzun süredir tedavi alan (≥ 5 yıl) hastalar
- ♣ Birinci grup hastalar: Daha önce tedavi almamış **31** naif KHB hastası
 - ♣ Oral antiviral veya interferon tedavisi başlanılan bu hasta grubunda;
 - ♣ Tedavi öncesi, tedavinin 3. ve 6. aylarında qHBsAg titreleri ile antiviral etkinliğin değerlendirilmesi planlanmıştır.
- ♣ İkinci grup hastalar: Beş yıl ve üzeri süre ile tedavi almakta olan **43** adet KHB hastası

Çalışmadaki hasta grup dağılımı



Gereç ve Yöntem

- ♣ HBV-DNA düzeyleri kantitatif PCR yöntemiyle (Applied Biosystems, ABI 7500 Real Time PCR System)
- ♣ Serum qHBsAg düzeyi makro ELISA yöntemiyle ARCHITEC (Abbott Laboratories) cihazı ile çalışıldı
- ♣ Hbs-Ag titre ölçümü için Architect Hbs-Ag kantitatif assay (Abbott Diagnostics, Sligo İrlanda) kiti (Hbs-Ag kantitasyon aralığı 0.05-250 IU/ml)
- ♣ qHBsAg > 250 IU/ml ise otomatik dilüsyon protokolü ile 1:500 oranında seyreltilerek tekrar çalışıldı

Bulgular



Bulgular

- ♣ 74 KHB'li hasta
 - ♣ 28 kadın (%37,84)
 - ♣ 46 erkek (%62,16)
- ♣ Ortalama yaş $44,04 \pm 15,652$



Yeni tedavi başlanan ve uzun süreli tedavi altında olan KHB hastalarının klinik ve laboratuvar özellikleri

Hasta özellikleri	Yeni tedavi başlanan KHB hastaları (n=31)	5 yıl ve üzeri süre ile tedavi almakta olan KHB hastaları (n=43)	P
Yaş	36,81±13,36	49,26±15,227	0,001
Cins, erkek (toplam)	18 (31)	28 (43)	0,537
qHBsAg (IU/ml)	14373±18435,51	3065,581±4493,082	0,001
qHBsAg (log ₁₀ IU/ml)	3,87±0,57	2,79±1,42	0,011
HAI skoru	7,48±2,63	6,80±3,13	0,322
HAI skoru <9	19	30	0,215
HAI skoru ≥9	12	10	
Fibrozis evresi	2,42±1,205	2,50±1,35	0,625
Fibrozis <3	15	15	0,234
Fibrozis ≥3	16	25	

Yeni tedavi başlanılan, 5-9 yıldır ve ≥ 10 süre ile antiviral kullanan KHB hastalarının qHBsAg düzeyi açısından karşılaştırılması

	Yeni tedavi başlanılan KHB hastaları (n=31)	5-9 yıl süre ile antiviral kullanan hastalar (n=19)	10 yıl ve üzeri süre ile antiviral kullanan hastalar (n=24)	P değeri
qHBsAg(IU/ml)	14373 \pm 18435,51	4422,33 \pm 6053,56	1191,49 \pm 2336,88	0,001

Yeni tedavi başlanılan hasta grubu

- ♣ Yeni tanı alan ve tedaviye başlanılan hastaların
 - ♣ 18'i (58,1%) erkek
 - ♣ 13'ü (41,9%) kadın hastalardan oluşmaktaydı.
- ♣ Hastaların ortalama yaşı $36,81 \pm 13,36$ idi.
 - ♣ Erkek hastaların ortalama yaşları $31,72 \pm 12,73$
 - ♣ Kadın hastaların ortalama yaşları $43,85 \pm 11,13$

Yeni tedavi başlanılan hasta grubu

- ♣ Hastaların 8'i düşük genetik bariyerli
 - ♣ [6'sı (% 19,4) lamivudin, 2'si (%6,5) telbivudin],
- ♣ 21'i yüksek genetik bariyerli oral antiviral
 - ♣ [8 (% 25,8) tenofovir, 13(%41,9) entekavir] kullanırken,
- ♣ İki hasta (%6,5) pegile interferon alfa-2A tedavisi kullanmaktaydı.

Yeni tedavi başlanılan hasta grubu

♣ Hastaların tedavi öncesi ortalama

♣ HBV DNA düzeyi 655.320.263 IU/ml (8,82 log₁₀ IU/ml)

♣ qHBsAg düzeyi 14373,96 IU/ml (4,16 log₁₀ IU/ml) olarak saptandı

♣ Hastaların;

♣ 3'ünün (%9,7) qHBsAg düzeyi 3 log IU/ml'nin (1000 IU/ml) altında,

♣ 13'ünün (%41,9) 3-4 log IU/ml (1000-10000 IU/ml) arasında,

♣ 15'inin (%48,4) ise 4 log IU/ml'nin üzerinde olduğu tespit edildi

Yeni tedavi başlanılan hasta grubu

- ♣ Bazal qHBsAg düzeyi ile
 - ♣ ALT, AST ve total bilirubin arasında korelasyon \emptyset ($p>0,05$)
- ♣ HBV DNA ile
 - ♣ ALT, AST değerleri arasında korelasyon \emptyset ($p>0,05$)
- ♣ **Bazal qHBsAg & HBV DNA pozitif bir korelasyon ($p=0.003$)**
- ♣ **Tedavinin 3 ve 6. aylarında qHBsAg & HBV DNA pozitif korelasyon ($p=0,0001$; $p=0,003$)**

Yeni tedavi başlanılan hasta gruplarının HBV DNA düzeyleri açısından karşılaştırılması

	Grup 1 (18 hasta) (HBV DNA; 0-1999999 IU/ml)	Grup 2 (13 hasta) (H B V D N A ; ≥2000000 IU/ml)	P değeri
ALT (U/ml)	49,94±27,61	168,92±119,60	0,001
qHBsAg(IU/ml)	14167,94±18420,15	14659,22±19205,21	0,944
qHBsAg(xlog 10 IU/ml)	3,859 ± 0,587	3,873±0,574	0,853
qHBsAg/HBVDNA (xlog10 IU/ml)	0,845 ± 0,175	0,505±0,068	0,001
HAI	6,61 ± 2,75	8,69 ± 1,97	0,020
Fibrozis	2,33 ± 1,085	2,54 ± 1,39	0,665

Histopatolojik evreye göre, yeni tedavi başlanılan KHB hastalarının klinik ve laboratuvar özellikleri açısından karşılaştırılması

	Fibrozis	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	<i>p değeri</i>
Yaş	Fibrozis<3	15	36,87	13,29	0,652
	Fibrozis≥3	16	36,75	13,86	
Cins,Erkek (%)	Fibrozis<3	8 (%53,33)	-	-	-
	Fibrozis≥3	10 (%62,5)	-	-	
Beyaz Küre	Fibrozis<3	15	7,26	1,83	0,165
	Fibrozis≥3	16	6,32	1,84	
Hemoglobin(g/dl)	Fibrozis<3	15	14,08	1,64	0,077
	Fibrozis≥3	16	15,23	1,81	
Platelet(/mm3)	Fibrozis<3	15	248,60	75,970	0,035
	Fibrozis≥3	16	198,25	43,69	
MPV (fL)	Fibrozis<3	15	7,704	1,18	0,057
	Fibrozis≥3	16	7,706	0,70	
RDW	Fibrozis<3	15	13,067	1,25	0,021
	Fibrozis≥3	16	11,96	1,24	
AKŞ (mg/dl)	Fibrozis<3	15	85,27	10,22	0,061
	Fibrozis≥3	16	96,19	21,29	
Total bilirubin	Fibrozis<3	15	0,74	0,337	0,535
	Fibrozis≥3	16	0,77	0,365	
Albumin (gr/dl)	Fibrozis<3	15	4,36	0,227	0,010
	Fibrozis≥3	16	4,09	0,442	
ALT(U/L)	Fibrozis<3	15	87	88,31	0,489
	Fibrozis≥3	16	111,88	108,78	
AST(U/L)	Fibrozis<3	15	58,80	52,58	0,751
	Fibrozis≥3	16	65,13	57,46	
Üre	Fibrozis<3	15	26,93	5,48	0,133
	Fibrozis≥3	16	31,06	8,99	
PTZ	Fibrozis<3	15	13,49	0,97	0,305
	Fibrozis≥3	16	13,92	1,32	
INR	Fibrozis<3	15	1,013	0,067	0,965
	Fibrozis≥3	16	1,015	0,068	

Histopatolojik evreye göre, yeni tedavi başlanılan KHB hastalarının laboratuvar özellikleri açısından karşılaştırılması

	Fibrozis	Sayı	Ortalama / Ortanca*	Standart sapma/ (min-max)*	p değeri
qHBsAg(IU/ml)*	Fibrozis<3	15	10263*	(293-73053)*	0,574
	Fibrozis≥3	16	9238*	(1789-80057)*	
HBV DNA*	Fibrozis<3	15	797246*	(2015-10470000000)*	0,001
	Fibrozis≥3	16	2394000*	(2466-142800000)*	
HBV DNA (x log 10 IU/ml)	Fibrozis<3	15	5,94	2,10	0,454
	Fibrozis≥3	16	6	1,64	
HBsAg/HBV DNA(log)	Fibrozis<3	15	0,69	0,20	0,931
	Fibrozis≥3	16	0,70	0,24	

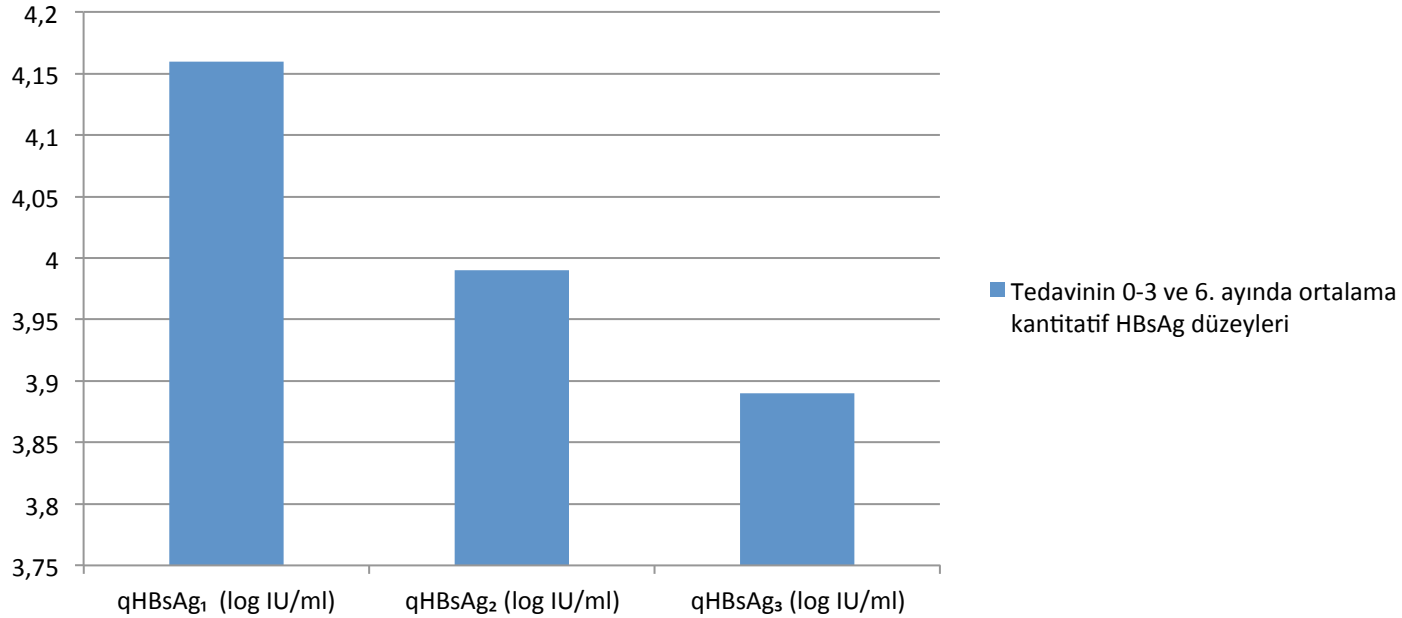
* qHBsAg ve HBV DNA düzeyleri normal dağılıma uymadığı için bu parametreler için Mann-Whitney U Testi kullanılmıştır ve * işaretli değerler ilgili parametrelerin "ortanca", "min-max" değerlerini vermektedir.

Yeni tedavi başlanılan HBeAg pozitif ve negatif KHB hastalarının demografik, histopatolojik ve laboratuvar bulguları açısından karşılaştırılması

Hasta özellikleri	Yeni tedavi başlanılan KHB hastaları		p değeri
	HBeAg negatif (25)	HBeAg pozitif (6)	
Yaş	39,32±13,244	26,33±8,11	0,01
Cinsiyet, Erkek (%)	13 (%52)	5 (%83,3)	-----
Beyaz küre(x10 ³ /µL)	6,91±1,984	6,188±1,266	0,285
Hemoglobin (g/dl)	14,424±1,78	15,717±1,63	0,124
Platelet(x10 ³ /µL)	222,36±71,98	223,67±30,696	0,102
ALT (U/L)*	61 (15-441)*	109,50 (49-276)*	0,117
AST(U/L)	62,24±59,63	61,33±25,21	0,322
Tot. Bilirubin (mg/dl)	0,702±0,30	1,002±0,44	0,080
Albümin (g/dl)	4,34±0,277	4,50±0,292	0,280
Üre (mg/dl)	29,96±8,106	25,33±4,131	0,066
Kreatinin(mg/dl)	0,87±0,186	0,89±0,163	0,496
PTZ	13,76±1,24	13,49±0,88	0,280
INR	1,007±0,06	1,043±0,07	0,215
qHBsAg(IU/ml)	7403 (293-32689)*	22169 (13991-80057)*	0,002
qHBsAg(xlog10 IU/ml)	3,724±0,525	4,452±0,354	0,002
HBV DNA(IU/ml)*	797246 (2015-36700000)*	131050000 (1140000-10470000000)*	0,001
HBV DNA(xlog10 IU/ml)	5,424±1,468	8,275±1,531	0,004
Fibrozis	2,36±1,31	2,67±0,516	0,034
Fibrozis < 3	13	2	>0,411
Fibrozis ≥ 3	12	4	
HAI	7,44±2,84	7,67±1,63	0,133
HAI < 9	15	4	>0,763
HAI ≥ 9	10	2	

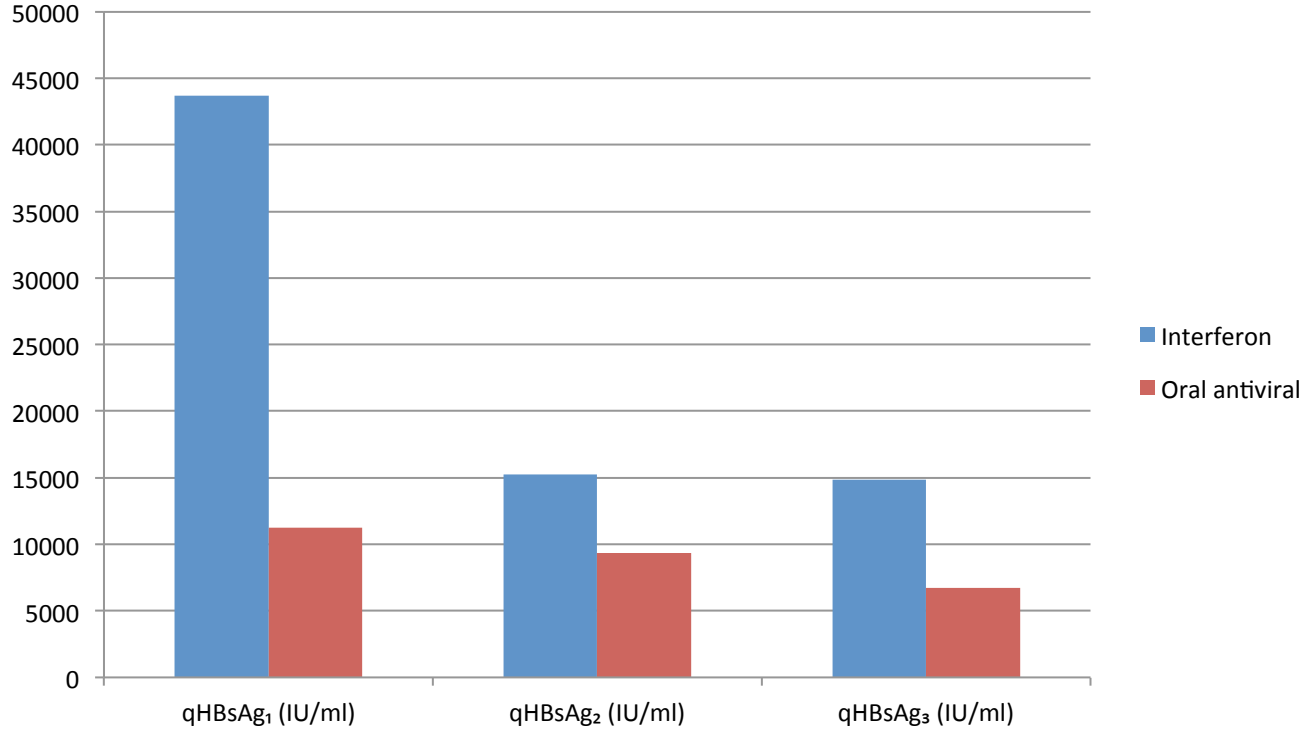
Yeni tedavi başlanılan KHB hastalarında kantitatif HBsAg titresindeki zamana göre azalma grafiği

Tedavinin 0-3 ve 6. ayında ortalama kantitatif HBsAg düzeyleri



- ♣ Bazal ve tedavinin 3. ayındaki HBsAg titreleri arasında ($p=0.018$)
- ♣ Bazal ve tedavinin 6. ayındaki HBsAg titreleri arasında ($p=0.007$) anlamlı farklılık saptanırken ;
- ♣ Tedavinin 3 ve 6. ayındaki HBsAg titreleri anlamlı farklılık yok ($p>0,05$)

Oral antiviral tedavi veya pegile interferon tedavisi alan hastalarda tedavi başlangıcı, tedavinin 3 ve 6. aylarındaki kantitatif HBsAg düzeyleri



- ♣ **Oral antiviral;** bazal ve tedavinin 6.ayındaki qHBsAg düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p=0.040$).
- ♣ **Pegile interferon;** istatistiksel olarak anlamlı azalma ($p=0,05$)

Uzun süreli tedavi alan KHB hasta grubunda yüksek genetik bariyerli oral antiviral kullanımı ve qHBsAg ilişkisi

	Yüksek Genetik Bariyerli Oral Antiviral Kullanımı	Sayı	Ortalama/Ortanca*	Standart Sapma/min-max*	P değeri
qHBsAg (IU/ml)	YOK	16	297,32*	(0-5063)*	0,006
	VAR	27	2045,68*	(0-23893)*	
HBsAg (xlog10 IU/ml)	YOK	16	2,046	1,737	0,017
	VAR	27	3,2391	0,992	

* qHBsAg düzeyi normal dağılıma uymadığı için bu parametreler için Mann-Whitney U Testi kullanılmıştır ve * işaretli değerler ilgili parametrelerin "ortanca", "min-max" değerlerini vermektedir.

Antiviral ilaç direnci gelişen ve gelişmeyen hastalarda kantitatif HBsAg düzeyleri

	İlaç direnci	Sayı	Ortanca	Min-Max	P değeri
qHBsAg (IU/ml)	Yok	24	1082,70	(0-5959)	0,005
	Var	19	2551,40	(389-23893)	

Uzun süreli tedavi alan hastalarda tedavi süresi ve kantitatif HBsAg ilişkisi

	T e d a v i süresi	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	<i>p</i> değeri
qHBsAg (IU/ml)	5-9 YIL	19	4422,33	6053,560	0,017
	≥10 YIL	24	1991,49	2336,883	
qHBsAg (log10 IU/ml)	5-9 YIL	19	3,0902	1,214	0,310
	≥ 10 YIL	24	2,562	1,556	

İnterferon deneyimli hastalarda qHBsAg

- ♣ Kantitatif HBsAg düzeyi;
 - ♣ Uzun süreli tedavi alan ve interferon deneyimli hastalarda daha düşük; ancak istatistiksel fark \emptyset ($p=0,712$)

Uzun süreli tedavi alan ve interferon deneyimli hasta grubunda oral antiviral direnci gelişen ve gelişmeyen hastaların kantitatif HBsAg düzeylerinin karşılaştırılması

	I F N deneyimi	Direnç var/yok	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	<i>p</i> değeri
qHBsAg (IU/ml)	EVET	YOK	6	1128,31	1776,611	0,158
		VAR	5	4443,23	4191,189	
qHBsAg (log 10 IU/ml)	EVET	YOK	6	1,452	2,157	0,010
		VAR	5	3,494	0,415	

Sonuç olarak;

- ♣ Kantitatif HBsAg;
 - ♣ Sadece interferon tedavisi alan hastalarda değil, oral antiviral tedavi alan hasta takibinde de önemli bir parametre
- ♣ Diğer önemli bir nokta, qHBsAg'nin tedavi rehberlerindeki algoritmaya eklenmesi
 - ♣ qHBsAg ve HBV-DNA tanı ve tedavi takibinde birbirlerini tamamlayıcı (NICE, EASL 2014)

Sonuç olarak;

- ♣ Kantitatif HBsAg, cccDNA aktivitesini gösteren tek non-invazif araç
- ♣ Hepatit B ile ilişkili genomik keşiflere de kapı açması yönüyle de;
 - ♣ Araştırmacıların ve klinisyenlerin, daha güvenli ve daha etkin tedavi stratejileri geliştirmelerini mümkün kılacaktır.
- ♣ Daha uzun süreli izlem ve daha geniş hasta sayılarını içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç var

TEŐEKKÜRLER

