



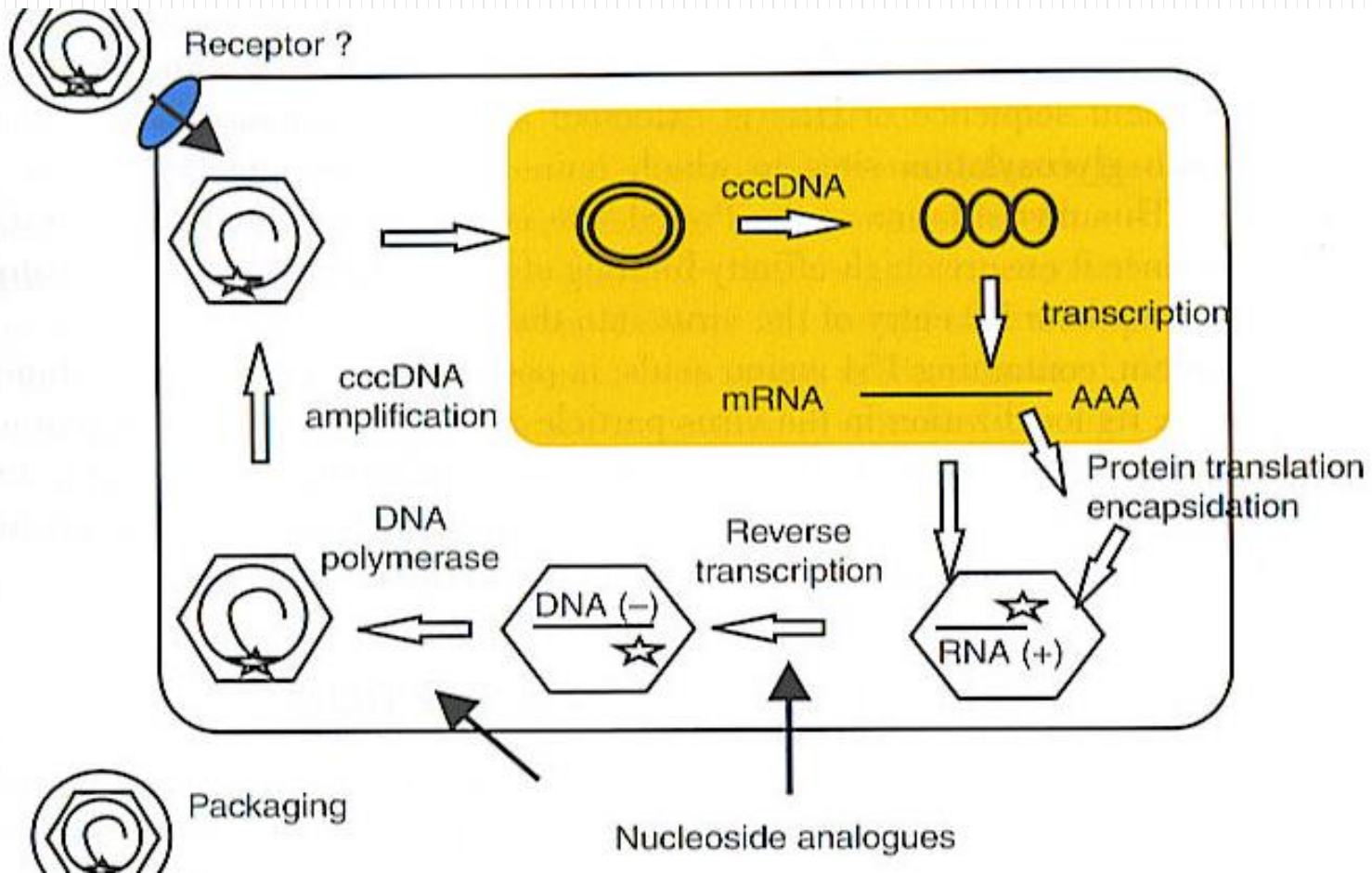
Kronik Hepatit B'de Antiviral Direnç ve Klinik Yönetimi



Prof.Dr. Orhan YILDIZ

**Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik
Mikrobiyoloji A.D.
e-mail: oyildiz@erciyes.edu.tr**

HBV Replikasyonu



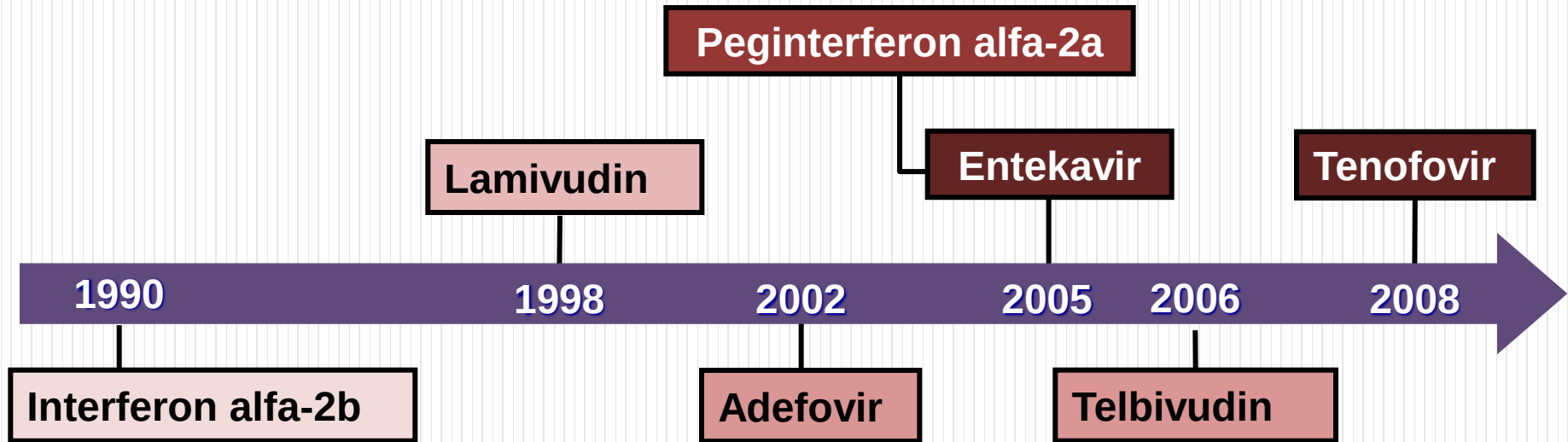
Hepatit B Virus Replikasyon Döngüsü



KHB Tedavisinde Kullanılabilecek Potansiyel Antiviraller

Potential antiviral agents	Mechanisms of action
NAs: MIV-210, elvucitabine, valtorcitabine and clevudine	Inhibition of HBV replication
Lipopeptides: Myrcludex-B	Prevention of viral entry
Disubstituted-sulfonamides: CCC-0975 and CCC-0346	Blockage of the de novo cccDNA synthesis
LTR	Destabilization cccDNA minichromosome
Zinc finger nucleases	Disruption of sequences within viral proteins
Epigenetic regulators	Repression of cccDNA transcriptional activity
Small interfering RNA	Silencing of HBV protein gene expression
Phenylpropenamides: AT-61 and AT-130	Prevention of RNA encapsidation
Heteroaryldihydropyrimidines: BAY41-4109	Nucleocapsid destabilization
Synthetic TLR-7 agonists	Inhibition of HBV replication via pDC activation
IL8 inhibitors	Increase the potency of IFN- α treatment
REP 9AC amphipathic polymers	Inhibition of subviral particles
Inhibitors of PD-1 and TIM3 receptors	Restoration of T cell function
Immunization with DC pulsed with HBV antigens	Induction of viral specific CTLs
Therapeutic vaccines containing viral peptides	Induction HBV-specific responses
Cytokines: IL12, IL2, IFN γ and TNF- α	Restoration of HBV specific T cell activity
Thymosin alpha polypeptide	Induction of T cell function and NK cytotoxicity

KHB tedavisinde onaylanmış ilaçlar



	LAM	ADV	ETV	LdT	TDF
Antiviral potens	+	++	++++	+++	++++
Genetik bariyer*	1	1	3	1	?

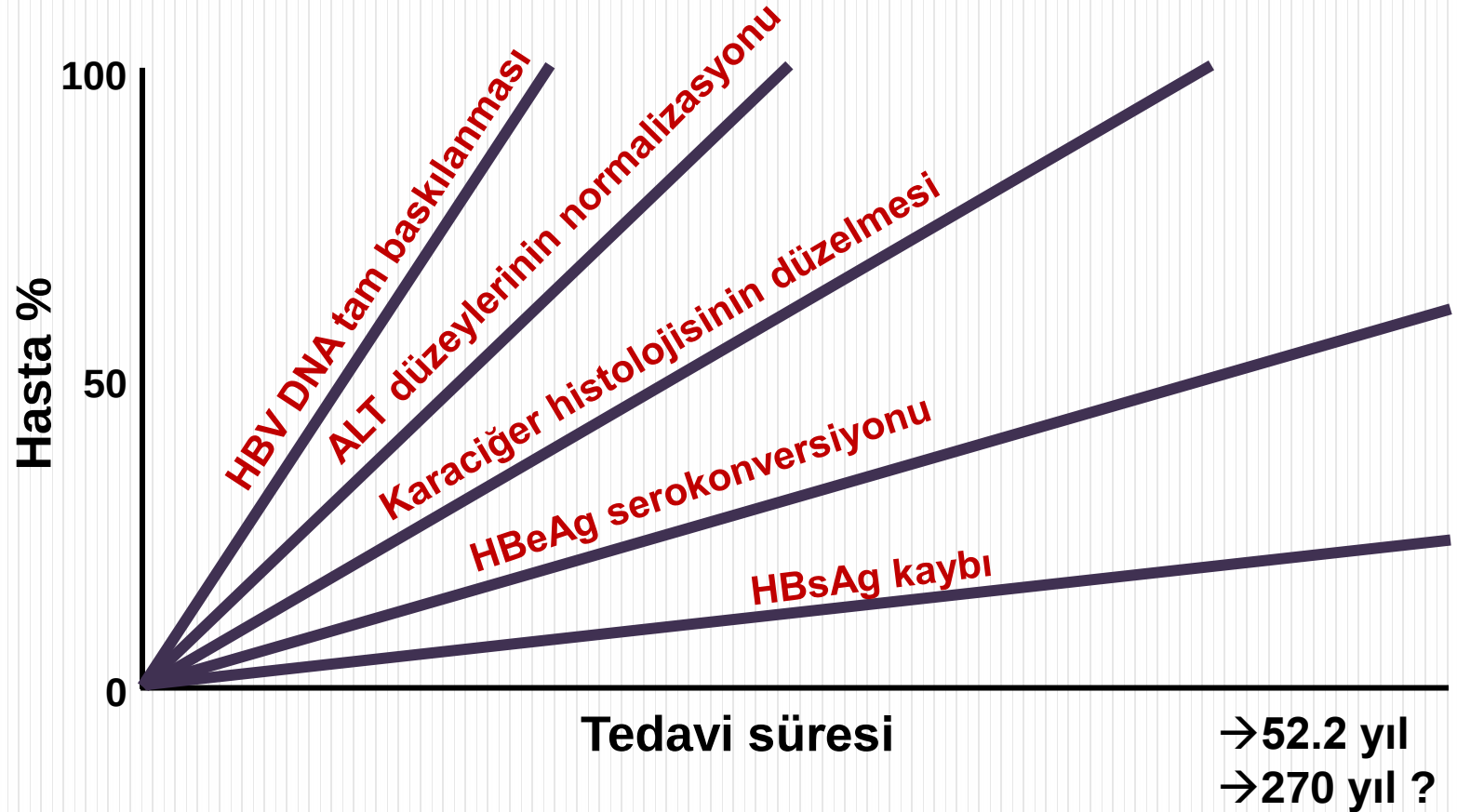
*Primer antiviral ilaç direnci için gerekli mutasyon sayısı

Nükleoz(t)id Tedavilerinin Süresi

KHB'de antiviral tedaviyi kesme kriterleri

	HBeAg negatif	HBeAg pozitif
APASL	HBsAg klirensi veya NA ile iki yıldan uzun süre tedavi sonrası altı ay arayla üç kez HBV DNA'nın negatif olması	En az 12 ay tedaviyle HBeAg serokonversiyonu ile birlikte HBV DNA'nın negatifleşmesi
EASL	HBsAg klirensi	En az altı ay konsolidasyon tedavisi sonrası HBeAg serokonversiyonu ile birlikte HBV DNA'nın negatifleşmesi
AASLD	HBsAg klirensi veya NA ile iki yıldan uzun süre tedavi sonrası altı ay arayla üç kez HBV DNA'nın negatif olması	<u>HBsAg klirensi</u> veya 12 ay konsolidasyon tedavisi sonrası HBeAg serokonversiyonu ile birlikte HBV DNA'nın negatifleşmesi

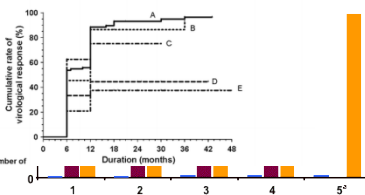
KHB'de HBsAg Serokonversiyonu Süresi



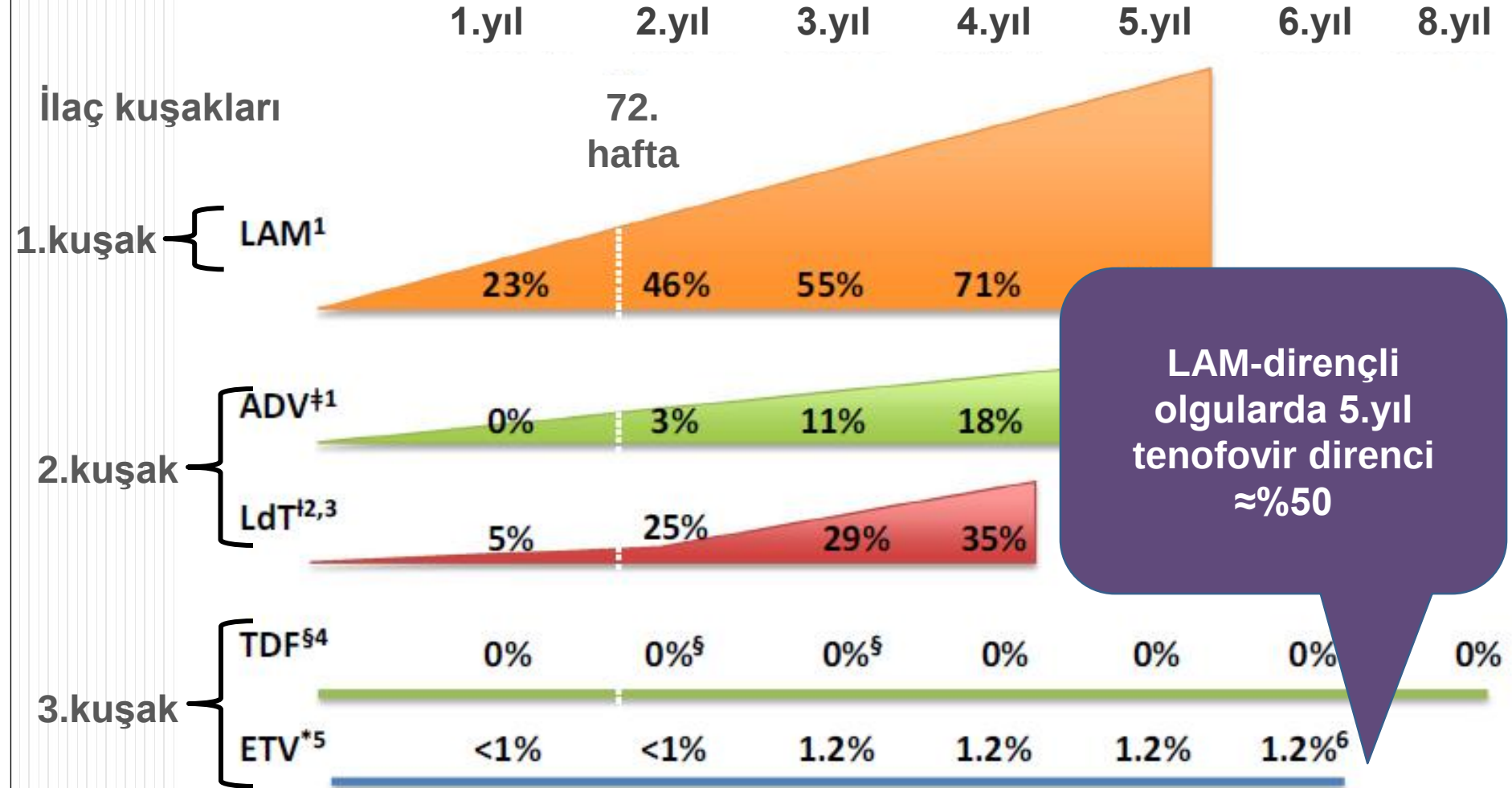
- HBsAg kaybı süresi HBeAg (+) → 36 yıl
HBeAg (-) → 39 yıl

Kronik Hepatiti B'de Tedavi

- Nükleoz(t)id analoglarıyla tedavi uzun süreli (ömür boyu?) olmalı
 - cccDNA'ya etkili değiller
 - HBV eradike edilemez
 - Sadece virusun replikasyonunu baskılar
 - Tedavi kesildiğinde HBV replikasyonu yeniden başlayabilir



Nükleoz(t)id Naive Hastalarda Oral Antivirallere Toplam Direnç Oranları

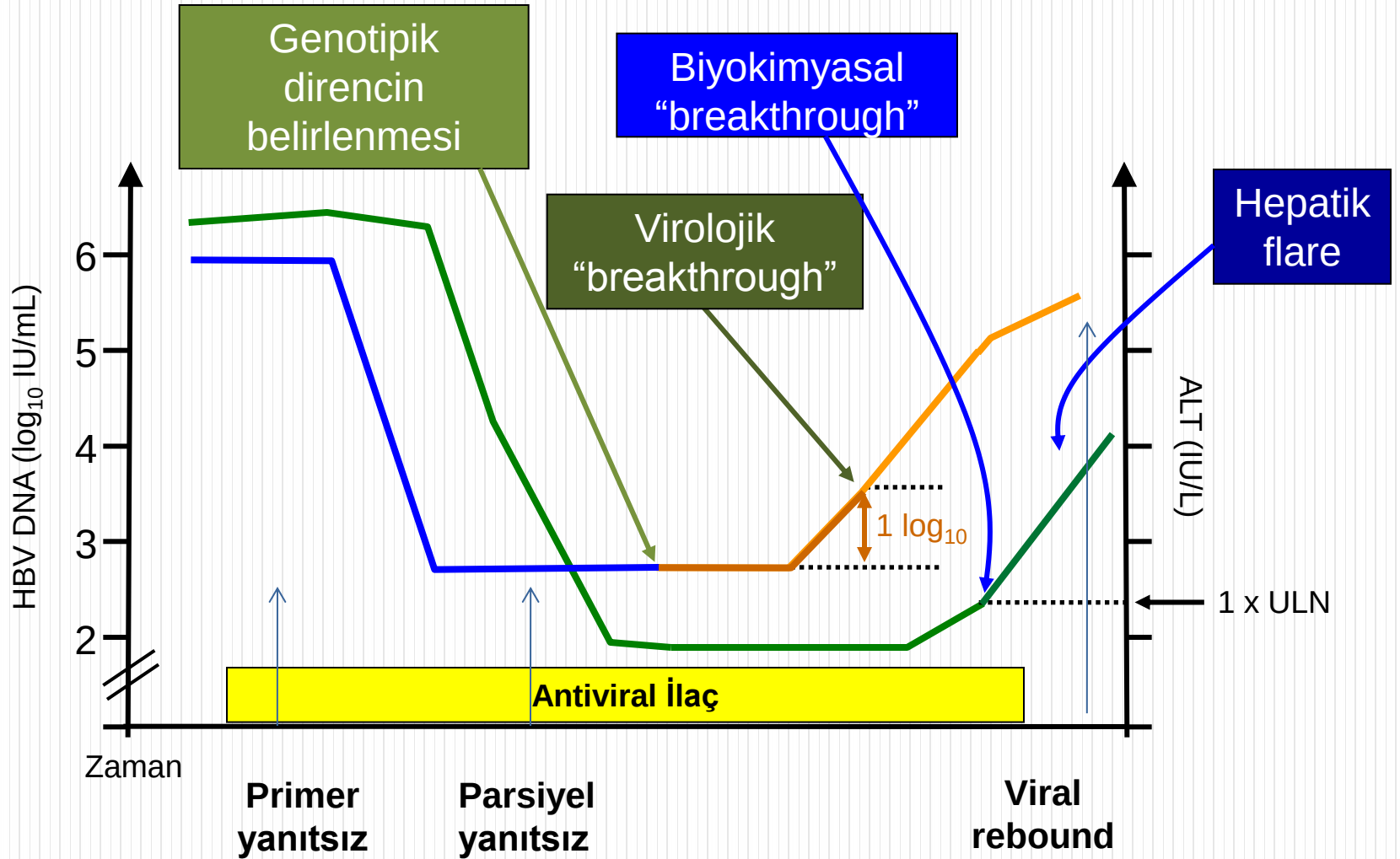


LAM: lamivudin; ADV:adefovir; LdT: telbivudin; ETV: entekavir; TDF: tenofovir.

Antiviral Direnç-Terminolojik Kavramlar

- Primer tedavi yetersizliği (primer yanıtsızlık)
- Suboptimal virolojik yanıt
- Parsiyel virolojik yanıt
- Sekonder tedavi yetersizliği (virolojik “breakthrough”)
- Biyokimyasal “breakthrough”
- Genotipik direnç
- Fenotipik direnç
- Çapraz direnç
- Çoklu direnç

Antiviral Direnç



Antiviral Direnç

Primer Direnç



- Dirençli bir suşla infekte olanlarda veya
- Bazal DNA'sı yüksek olan naiv hastalarda

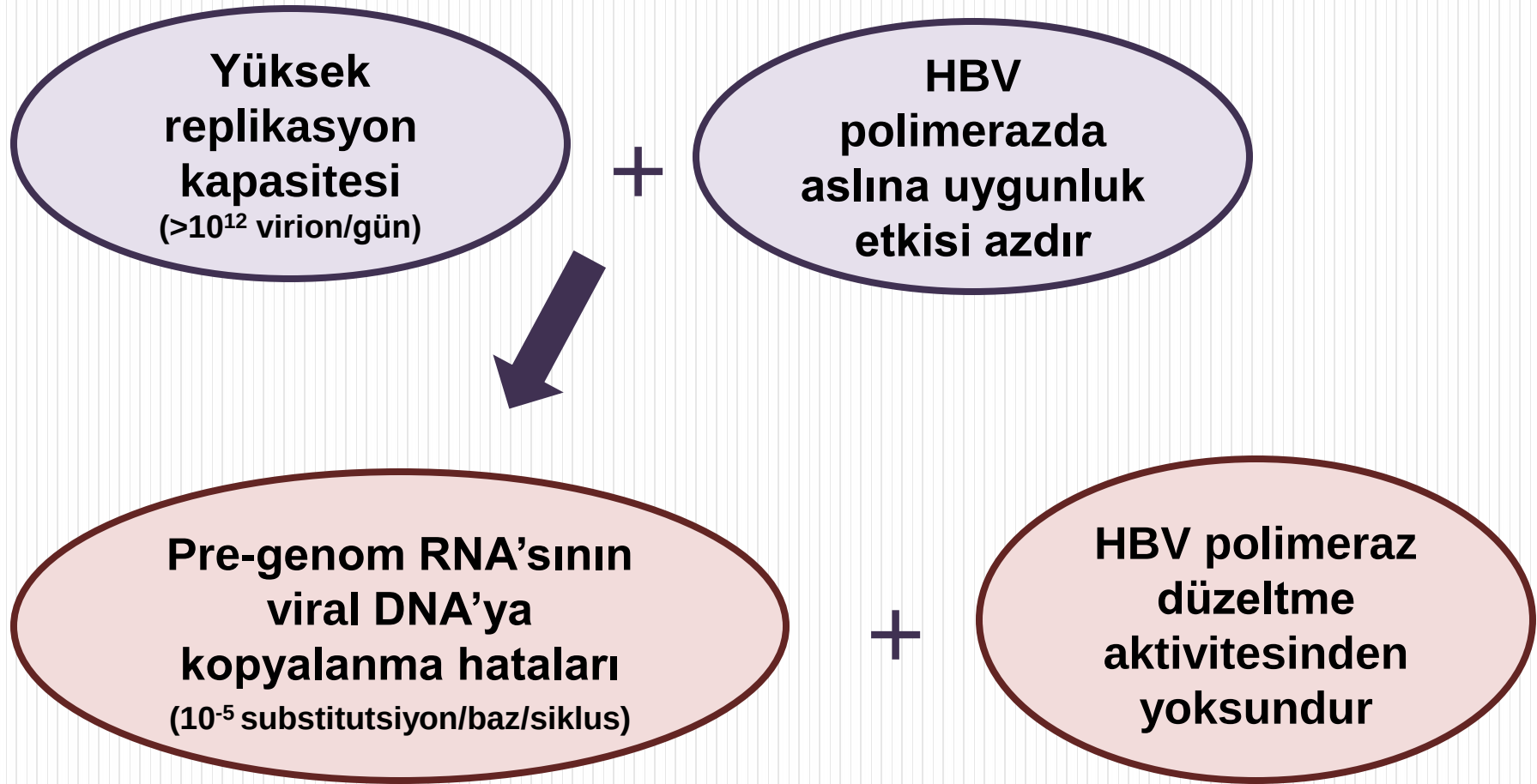
Sekonder Direnç



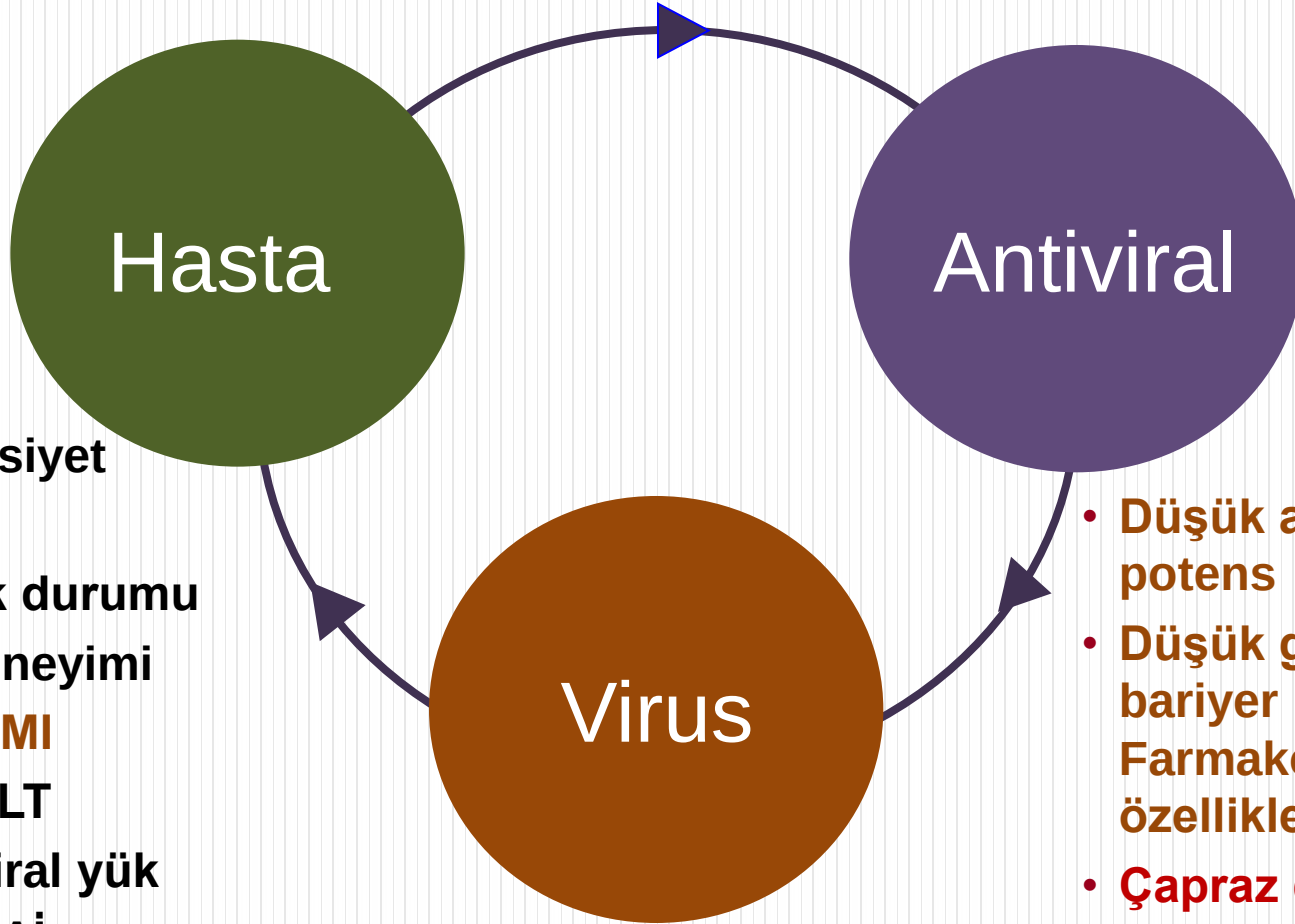
- Antiviral tedavi sırasında veya
- Daha önce tedavi alanlarda

► Direnç gelişen hastalarda viral yük artışı saptanır saptanmaz tedavi yeniden düzenlenmelidir (B1)

HBV mutasyonları



İlaç Direncinin Gelişmesini Etkileyen Faktörler



- Erkek cinsiyet
- İleri yaş
- Bağışıklık durumu
- Tedavi deneyimi
- **Yüksek BMI**
- Yüksek ALT
- Yüksek viral yük
- Yüksek HAI
- **Tedavi uyumu**

- **Düşük antiviral potens**
- **Düşük genetik bariyer**
- **Farmakokinetik özellikler**
- **Çapraz direnç varlığı**

- Viral replikasyon kapasitesi
- Mutasyonların viral uygunluk üzerinde etkisi
- Genotip A-D?

Antiviral Direnç ve Sonuçları

- Viral yük artışı
- Hepatit alevlenmeler
- Histolojik iyileşmede durma veya eski duruma dönme
 - Sirozlu hastalarda hepatik dekompanasyon
- İlaç direncinin yayılması....

- HBV DNA →12-24 haftada bir
- KcFT →12 haftada bir
- HBeAg + →24 haftada bir HBeAg/anti-HBe
- HBeAg - → 6-12 ayda bir HBsAg
- ADV veya TDF alanlarda→ 12 hafta arayla kreatinin
- HSK için tarama testlerine devam edilmelidir

(AASLD-2016)

Ülkemizde KHB Hastalarında Antiviral Direnç

Lamivudine resistance in untreated chronic hepatitis B patients in Turkey

Turk J Gastroenterol 2008; 19 (2): 99-103

Türkiye'deki tedavi görmemiş kronik hepatit B'li hastalarda lamivudin direnci

Semra TUNÇBİLEK¹, Şükran KÖSE², Ahmet ELALDI³, Sezin AKMAN⁴

Tedavi naiv KHB

- n=77 [HBeAg (+) 24, A.HBe (+) 33]
 - **YMDD mutasyonları: Real Time PCR**
 - **Konfirmasyon : DNA sekanslama**
- **YMDD mutasyon :**
 - HBeAg (+) → % 12.5,
 - HBe Ag (-) → %7.8
- **YMDD motifleri : YIDD, YVDD**

Amaç: Hepatit B virus enfeksiyonu tüm dünyada ve Türkiye'de yaygın olarak görülen kronik bir hastalıktır. Kronik hepatit B, dünya genelinde önemli bir sağlık problemi olarak kabul edilmektedir. Lamivudin hepatit B virus replikasyonunu baskılamak için kullanılan bir nükleozid türetilmiş ilaçtır. Bu ilaç, kronik hepatit B virus enfeksiyonunda kullanılmaktadır. Lamivudin direnci ilaç tedavisi sonrası oluşabileceği gibi tedavi almamış hastalarda da görülebilmektedir. Bu direnç polimeraz enzim geninin tirozin-metionin-aspartat-aspartat motifindeki yapısal değişikliklerle ilişkilidir. Bu çalışmada Türkiye'deki D genotip'li kronik hepatit B'li hastalarda antiviral tedavi öncesi lamivudin direncinin prevalansını belirlemeyi amaçladık. **Yöntem:** 77 kronik hepatit B virus enfeksiyonlu yetmiş yedi hastanın viral yükü, antiHBe antikorları ve tirozin-metionin-aspartat-aspartat motif mutasyonları değerlendirildi. **Bulgular:** Tirozin-metionin-aspartat-aspartat motif mutasyonu 24 HBeAg pozitif hastanın 3'ünde, 53 antiHBe pozitif hastanın 3'ünde %7.8 oranında görüldü. Mutasyonların ikisi YIDD, dördü YVDD olarak saptandı. **Sonuç:** Kronik hepatit B virus hastalarında lamivudin direncinin değerlendirilmesi ve tedaviyi buna göre ayarlamak komplikasyonları önleyecek ve tedavinin etkinliğini artıracaktır.

Table 1. The mutations, HBeAg/anti-HBe status and viral loads of the patients with mutations

Age	Gender	HBeAg/anti-HBe	Viral load copies/ml	Mutation	Genotype
41	Male	Negative/Positive	13.870	YIDD	D
12	Male	Positive/Negative	3858x10 ⁶	YVDD	D
8	Male	Positive/Negative	64x10 ⁷	YIDD	D
7	Female	Positive/Negative	64x10 ⁷	YVDD	D
30	Male	Negative/Positive	1.42 ⁷	YVDD	D
45	Male	Negative/Positive	11.730	YVDD	D

Naturally occurring amino–acid substitutions to nucleos(t)ide analogues in treatment naive Turkish patients with chronic hepatitis B

Journal of Viral Hepatitis, 2010, 17, 23–27

M. Sayan,¹ S. Ç. Akhan² and M. Meric² ¹PCR Unit, Clinical Laboratory, Faculty of Medicine, University of Kocaeli, Kocaeli, Turkey; and ²Faculty of Medicine, Department of Clinical Bacteriology and Infectious Diseases, University of Kocaeli, Kocaeli, Turkey

Patients (n)	88
Male n (%)	65 (73.8)
Age, median years (range)	34 (15–61)
HBeAg positive n (%)	22 (25)
ALT, median IU/L (range)	36 (12–515)
AST, median IU/L (range)	27 (13–284)
HBV DNA, median log IU/mL (range)	3.3 log ₁₀ (2.0–6.0)
HBV genotype (%)	D (100)
Clinical status	Patients newly diagnosed: 38
	Patients with Knodel fibrosis scores: 20
	Patients awaiting biopsy: 13
	Patients in the immunetolerant phase: 12
	Patients in waiting period for 6 months: 3
	Patients under antiviral treatment: 2

- **Tedavi naiv 88 KHB olgusu**
 - **NA mutasyonları: DNA sekanslama**
- **Mutasyon oranı : % 19**
 - **Mutasyonlar : rtA194T, rtV214A, rtQ215S, rti233V, rtN236T**
- **YMDD mutasyonu: Yok**
- **SONUÇ: KHB tedavisi öncesi her hasta direnç yönünden izlenmeli**



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Infectious Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijid



Monitoring of hepatitis B virus surface antigen escape mutations and concomitantly nucleos(t)ide analog resistance mutations in Turkish patients with chronic hepatitis B

M. Sayan ^{a,*}

^a Clinical Laboratory

^b Department of

^c Department of

^d Department of

- n=327 (185 naiv ve 142 tedavi deneyimli KHB)
- Direnç mutasyon oranı:
 - Naiv → %3.8
 - Ted.deneyimli → %7.7
- HBsAg kaçış mutasyon oranı → %8.3 (%8.1-8.5)
- **SONUÇ:** HBV genomundaki polimeraz ve 's' geni çakışması direnç dışında tanısal sorunlara da neden olmakta

Frequency and Mutation Patterns of Resistance in Patients with Chronic Hepatitis B Infection Treated with Nucleos(t)ide Analogs in Add-On and Switch Strategies

Murat Savan ^{1*}, Sila Cetin Akhan ², Omer Senturk ³

Demographic Data and Clinical Features of Patients in Each Study Group

	Add-on Strategy, (n = 88)	Switch Strategy, (n = 106)
Male, No. (%)	66 (75)	70 (66)
Age, median y (range)	45 (13-68)	38 (16-61)
HBeAg positive, No. (%)	30 (34)	36 (33.9)
ALT ^b , median U/L (range)	68 (16-537)	84 (12-1082)
AST ^b , median U/L (range)	61 (14-709)	55 (13-579)
HBV DNA, median log10 IU/mL (range)	4.4 (2.0-6.0)	3.8 (2.0-6.1)
HBV subgenotype D, No. (%)		
D1	74 (84)	82 (77)
D2	12 (14)	12 (11)
D3	2 (2)	0
D4	0 (0)	0
History of chronic hepatitis B infection		
Patients in the immune-tolerant phase	24	24
Patients in the immune-reactive phase	6	6
HBeAg-negative patients	58	58
Biopsy status		
Patients with Knodell fibrosis scores	40	40
Patients without biopsy	48	48
Therapy status ^c		
LAM ^b to LAM + ADV ^b	74	74
ADV to ADV + ETV ^b	14	14
LAM to ADV + ETV	-	12
LAM to ADV + TDF ^b	-	10
LAM to ETV	-	24
ADV to ETV	-	30
Treatment duration, median mon. (range)		
LAM	28.7 (3-60)	24.8 (2-126)
LAM + ADV	23.3 (6-48)	-
ADV	-	13.1 (3-36)
ADV + ETV	16 (6-22)	-
ETV	-	11.4 (6-24)

Determination of NUC-Associated Mutational Patterns in Different Therapy Strategies

Genotypic Resistance Mutation (n = 194)	Patients, No. (%)	Add-On Strategy (n = 88)	Switch Strategy (n = 106)	P value ^b
No mutations	72 (37%)	20	52	< 0.001
Primary mutations				
LAM ^a	84 (43%)	42	42	
rtN236T	8	4	4	
rtA181T + rtN236T	2	0	2	
LdT ^{a, c}	60 (31%)	30	30	> 0.05
rtM204I	24	14	10	
rtM204I + rtL180M or rtL80I/V	28	12	16	
rtM204I + rtL180M + rtV173L or rtL80I/V	8	4	4	
Compensatory mutations	12 (6%)	12	0	
rtQ215H/P/S ± rtV214A/P	12	12	0	< 0.01

- n=194 (88 add-on, 106 switch tedavi)
- En sık rtL180M ve rtM204V
- Tenofovir direnci yok
- 1 hasta çoklu ilaç direnci (ADV+LAM)

Lamivudine resistance mutations in patients infected with hepatitis B virus genotype D

Orhan Yıldız, Bilgehan Aygen, Nese Demirtürk, Tuna Demirdal, Dilara Inan, Taner Yıldırım, Arzu Kantürk, Ediz Tütüncü, Hepatitis B Study Group

- n=267 (234 KHB + 33 inaktif taşıyıcı)
- Lamivudin direnci : 25 hasta (%10.7)
 - Primer direnç : 8 hasta (%4)
 - Sekonder direnç : 17 hasta (%53.1)
- YMDD mutasyon oranı : %9.7
- YMDD motifleri : YVDD+YIDD

SONUÇ: YMDD mutasyonları ile Viral yük, BMI, KC fonk. testleri, HBeAg (+), KC histopatoloji ilişkisi yok

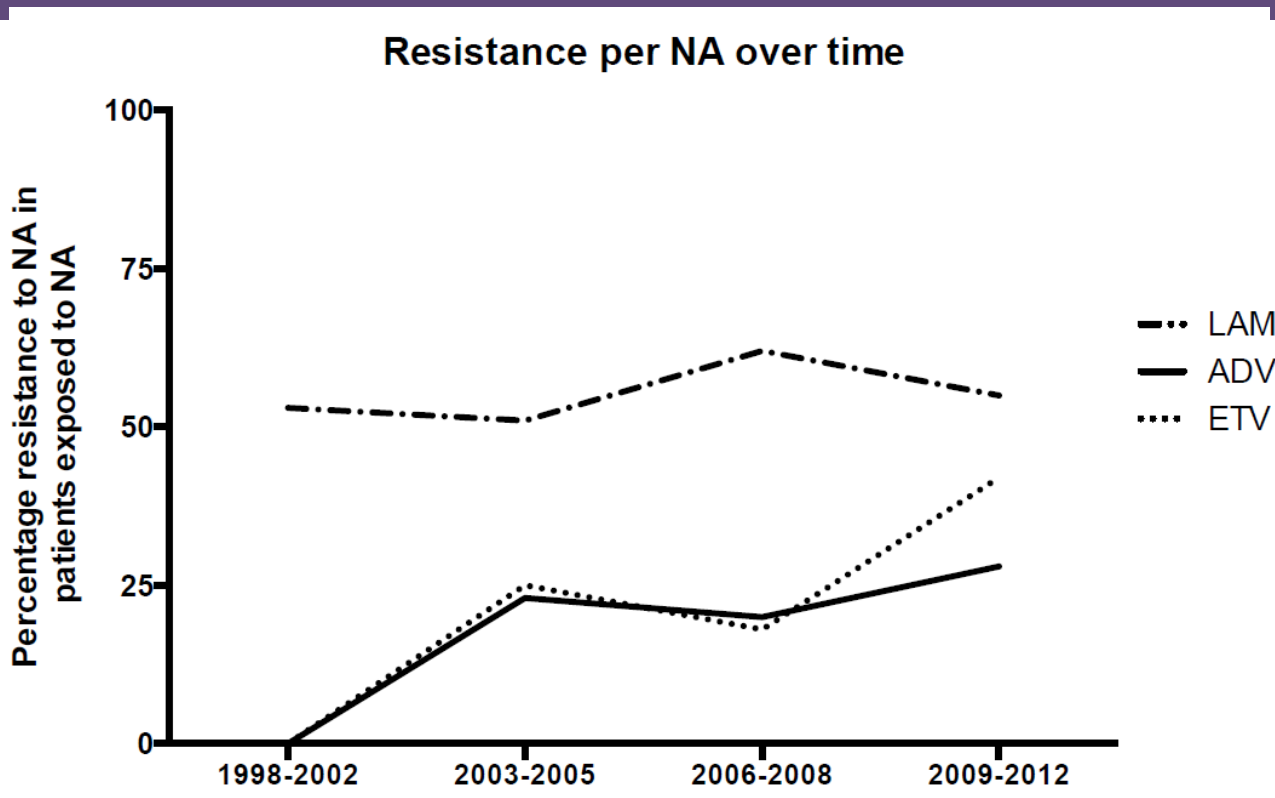
Table 3 Rates of tyrosine-methionine-aspartate-aspartate mutation in patients with chronic hepatitis B virus infection *n* (%)

	Chronic hepatitis B		Inactive HBsAg carriers	Total	
	Previous lamivudine treatment				
	Yes ¹	No			
YVDD + YIDD positive	17 (53.1)	8 (4)	25 (10.7)	1 (3)	26 (9.7)
YMDD negative	15 (46.9)	194 (96)	209 (89.3)	32 (97)	241 (90.3)
Total	32	202	234	33	267

¹Patients who are receiving or received lamivudine previously. YMDD: Tyrosine-methionine-aspartate-aspartate; YIDD: Tyrosine-isoleucine-aspartate-aspartate; YVDD: Tyrosine-valine-aspartate-aspartate.

Combined Analysis of the Prevalence of drug Resistant HBV in antiviral therapy Experienced patients in Europe (CAPRE)

• 1



• E

• D

önc

• S

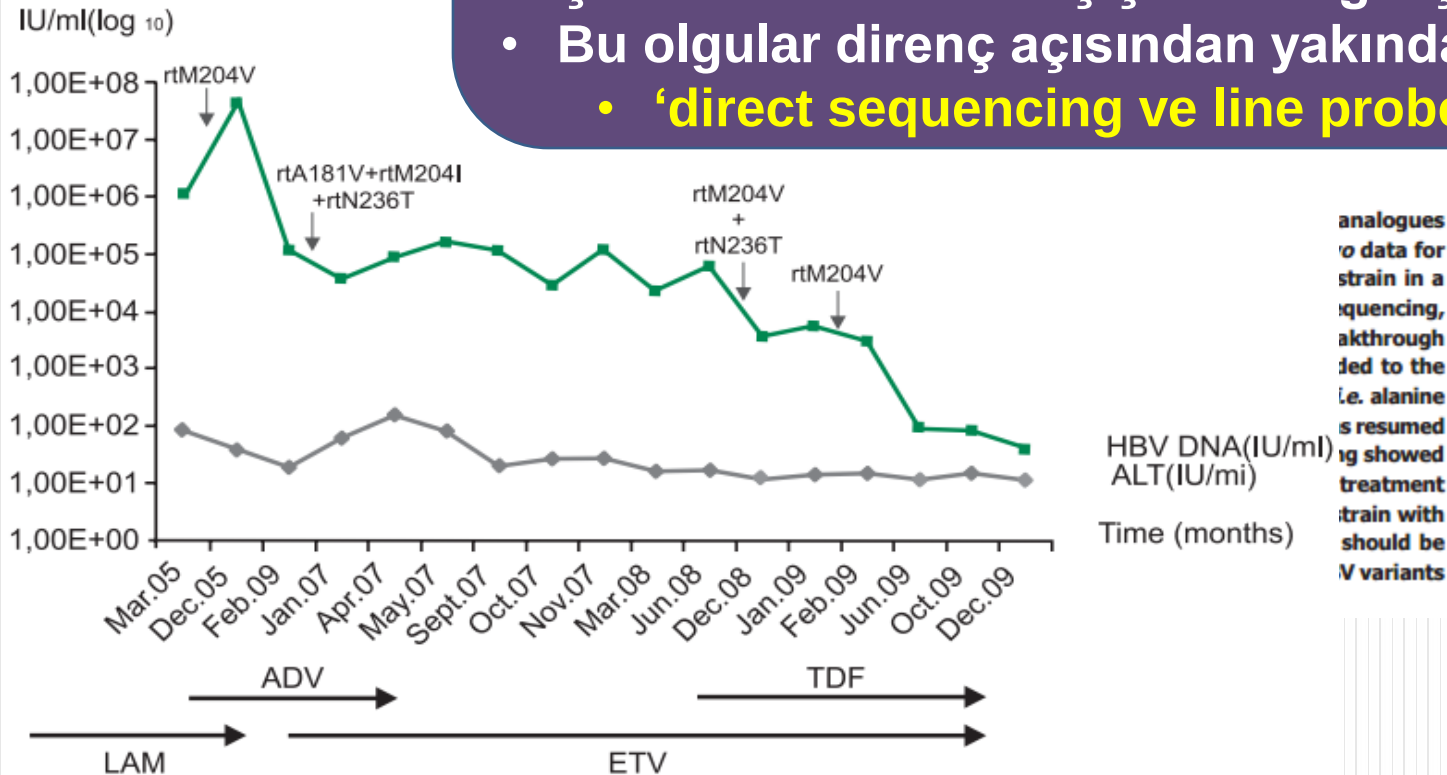
gelişiminde önemli

• NA ile tedavi başarısızlığında direnç testlerine başvurulmalı

CASE

Multidrug-Resistant

- Virolojik alevlenme:
 - 12 ay LAM → rtM204V varyantı
 - 11 ay LAM+ADV → rtN236T ADV direnci
 - 18 ay ETV → rtL180M+rtM204V varyantı
 - ETV+TDF → HBV DNA geriledi
- SONUÇ:
- Çoklu antiviral direnç çok hızlı gelişebilir
- Bu olgular direnç açısından yakından izlenmeli
 - 'direct sequencing ve line probe assay'



Molecular Characterization of Hepatitis B Viruses Isolated from Chronically Infected Patients in Turkey.

Ali ...
... İlgehan Aygen⁶, Fatma Sirmatel⁷, Haluk

- n=528 (naiv→%51.3, HBeAg(-)→%66.5 yaş ort.→38)
- NA ilişkili HBV polimeraz mut.→ %32.9 Bu olguların;
 - Naiv→%45.4
 - Ted.deneyimli→%54.6
- Aşıdan kaçış (ADAPVEM), hepatit B tanı kaçağı mutasyonları da araştırıldı
 - ADAPVEM mutasyonu→%5.3
 - HBsAg mutasyonu→ %34.8

Resit	is(t)ide	Patient no (Naive/experienc ed)
	, L-FMAU, ADV,	1/8
		0/9
	, L-FMAU, FTC	9/50
	, ETV	0/1
		3/1
		1/1
	Total	14/70
		0/1
		4/6
		1/6
		1/1
	Total	6/14
		23/23
		19/15
	LAM, L-FMAU, FTC, TDF	2/3

n=143 (27.0)

rtv214A

LAM, L-FMAU, FTC, TDF

SONUÇ: NA ile tedavi edilen KHB'de ilaç direnç analizi takibinin bir parçası olmalıdır

Nükleoz(t)idler ve çapraz direnç

Direnç sınıfı	RT bölgesinde aminoasit değişimi	LAM	LdT	ETV	ADV	TDF
	Wild-tip	■	■	■	■	■
LAM-LdT	M204I/V	■	■	■	■	■
ADV	N236T	■	■	■	■	■
LAM-LdT+ADV	A181T/V	■	■	■	■	■
ADV+TDF	A181T/V + N236T	■	■	■	■	■
ETV	L180M + M204I/V ± I169 ± T184 ± S202 ± M250	■	■	■	■	■
TDF	A194T	■	■	■		■

LAM: lamivudin; ADV: adefovir; LdT: telbivudin; ETV: entekavir; TDF: tenofovir



Duyarlı



Dirençli



intermediate

Çapraz direnç tablosu-2011

	NÜKLEOZİD			NÜKLEOTİD	
	Lamivudin	Telbivudin	Entekavir	Adefovir	Tenofovir
Wild-type	S	S	S	S	S
M204I	R	R	I/R	S	S
L180M + M204V	R	R	I	S	S
A180T/V	I	S	S	R	S
N236T	S	S	S	R	I
L180M + M204V/I ± I169T ± V173L ± M250V	R	R	R	S	S
L180M + M204V/I ± T184G ± S202I/G	R	R	R	S	S

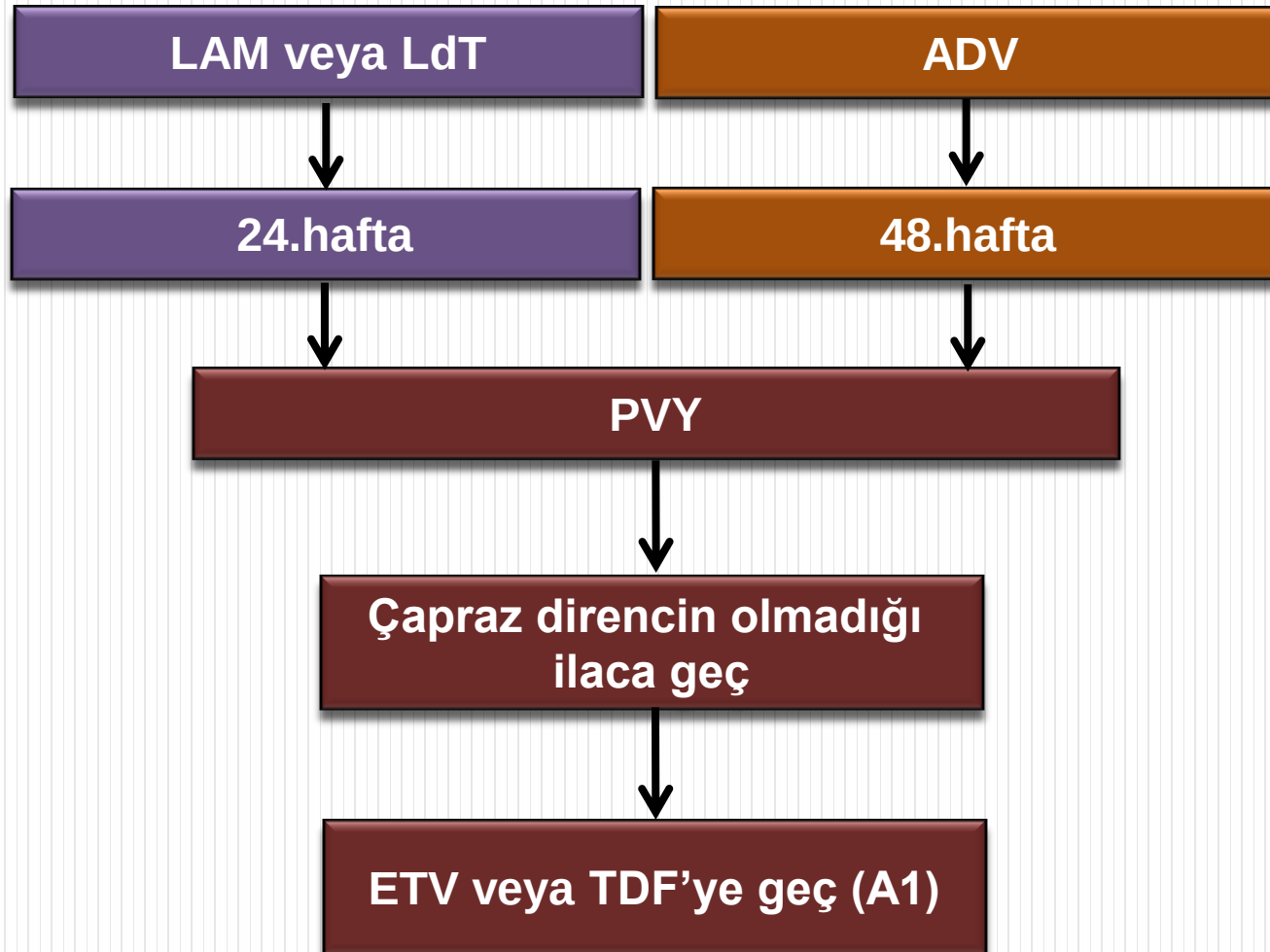
Başarısız KHB Tedavisinde Yaklaşım

1. Primer yanıtsızlık
2. Parsiyel virolojik yanıt
3. Virolojik “breakthrough”

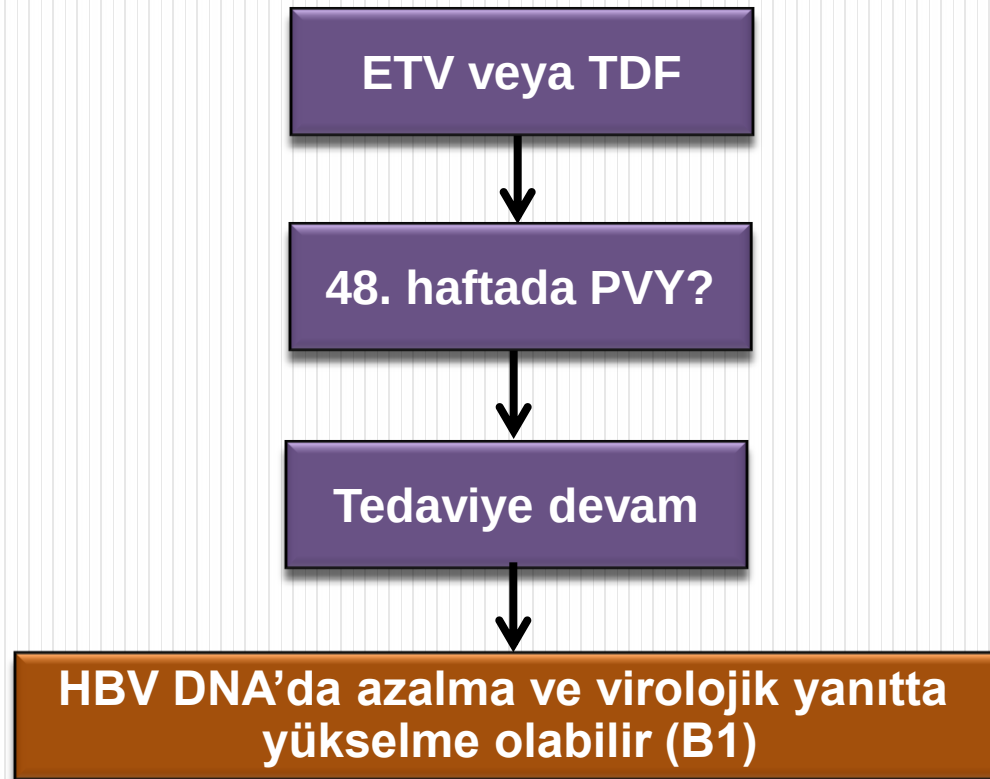
Yanıtsız hastalarda tedavi

- NA'ya primer yanıtsız hastalarda potent bir ilaca geçilir veya çapraz direncin olmadığı bir ilaç eklenir (IIIA)
 - LAM, LdT ve ADV'ye primer yanıtsızlık veya direnç (3.ay) varsa **ETV+TDF** kombinasyonu kullanılır (IIA)
 - ADV'ye primer yanıtsızlık: **TDF veya ETV**'ye geçilir (B1)
- LAM, LdT, TDF, ETV'ye primer yanıtsızlık son derece nadir
 - Uyum kontrol edilmeli
 - Hasta uyumlu ise direnç araştırılmalıdır
 - Böylece **daha potent bir tedaviye erken** dönemde geçmeye olanak sağlanır (kurtarma stratejisi) (B1)

Parsiyel yanıt alınan hastalarda tedavi (1)



Parsiyel yanıt alınan hastalarda tedavi (2)



*** Bazı otörler uyuma rağmen HBV DNA'nın azalmadığı nadir hastalarda kombinasyon tedavisini önermekte (C2)**

Virolojik “breakthrough” Hastalarında Tedavi

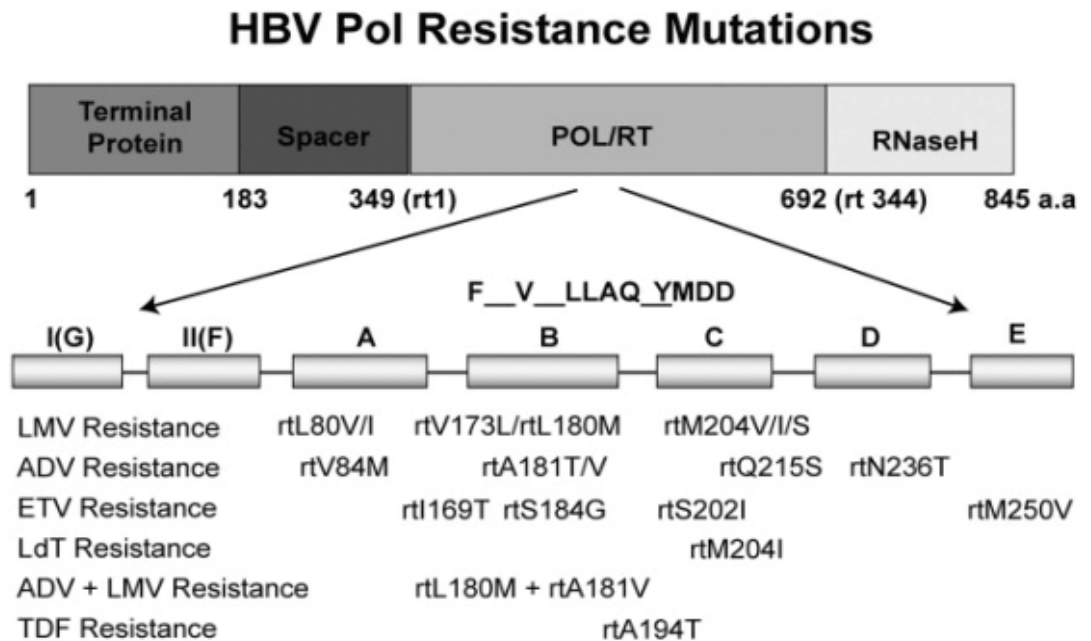
- ETV veya TDF tedavisi altında virolojik “breakthrough” (HBV DNA’da en alt düzeyine göre 1 log artış olması veya saptanamayan (< 10 İÜ/ml) düzeyden ≥ 100 İÜ/ml ‘ye çıkma) gelişirse, bir ilahtan diğetine geçilebileceğı gibi ekleme de yapılabilir
 - “Breakthrough” doğrulanmalıdır, direnç destleri kararda yardımcı olabilir
 - önerinin kanıt düzeyi “çok düşük”, öneri gücü “koşullara bağı”
 - Uyum çok önemli
 - HBV DNA negatifleşene kadar 3 ay aralıklarla, negatifleştikten sonra 3-6 ay aralıklarla izlenmeli
- ETV ve TDF dışında oral antiviral tedavi alanlarda “breakthrough” gelişirse yüksek genetik bariyeri olan bir ilaca geçilmeli veya eklenmelidir

Antiviral direncin yönetiminde tedavi seçenekleri

Antiviral Direnç	Tedavi yaklaşımı	Ek Öneriler (çapraz direnç olmayan iki ilaç)
Lamivudin direnci	Tenofovir	Lamivudine devam; tenofovir ekle (veya alternatif olarak emtrisitabin/tenofovir)
Telbivudin direnci	Tenofovir	Telbivudine devam; tenofovir ekle
Adefovir direnci	Entekavir	Adefovire devam; tenofovir ekle
Entekavir direnci	Tenofovir	Entekavire devam; tenofovir ekle (veya alternatif olarak emtrisitabin/tenofovir)
Çoklu ilaç direnci	Tenofovir	Tenofovir entekavir kombinasyonu

Tenefovir direnci-1

- TNF tedavisi altında seçilen bir direnç mutasyonu henüz tanımlanmamış
 - **D Domain:** rtN236T mutasyonu TNF'ye hassasiyeti azaltır
 - **C Domain:** **rtA194T mutasyonu???**



Tenofovir direnci-2

AASLD	Öneri yok
APASL	Öneri yok
EASL	• Direnç doğrulanırsa ETV, LdT, LAM veya FTC eklenebilir (C2) • Daha önce LAM almamış hastalarda ETV'ye geçmek faydalı olabilir, LAM direnci olanlarda ETV eklenebilir (C2) • Çoklu ilaç direnci (A181T + N2236T + M204V) saptanırsa ETV + TDF kombinasyonu endikasyonu vardır! (C2)

FTC:emtricitabine

SUT

Oral antiviral tedavi sürerken,

- HBV DNA'nın negatif iken **pozitifleşmesi veya 10 kat yükselmesi** durumunda başka antivirale geçilebilir veya eklenebilir
 - LAM veya LdT kullanan hastalarda tedavinin **24 üncü haftasında HBV DNA 50 İÜ/ml** (300 kopya/ml) ve üzerinde ise diğer oral antiviraller kullanılabilir
- **TDF veya ETV** tedavisi alanlarda **bir yıl sonunda HBV DNA pozitif** ise bu iki antiviral arasında geçiş yapılabilir veya bu iki ilaç birlikte kullanılabilir
- **ADV** tedavisi alanlarda veya **yan etki** gelişmesi durumunda koşul aranmaksızın TDF veya ETV'ye geçilebilir
- Oral antiviral tedavi alan hastalarda **gebelik** durumunda oral antiviral değişiminde bu koşullar aranmaz!

