

## KRONİK HBV ENFEKSİYONLU ÇOCUKLARDA TEDAVİ ÖNCESİ PLAZMA DEMİR DÜZEYLERİ INTERFERON TEDAVİSİNE VERİLECEK YANIT İÇİN PROGNOSTİK FAKTÖR OLARAK KULLANILABİLİR Mİ?

### Pre-Treatment Plasma Iron Levels in Children with HBV Infection Could be Used As a Prognostic Factor Related to Outcome of Interferon (IFN) Therapy

Necati Balamtekin<sup>1</sup>, Avni Atay<sup>1</sup>, Ediz Yeşilkaya<sup>1</sup>

#### Özet

**Amaç:** Bu çalışmada kronik hepatit B virus (HBV) enfeksiyonlu çocuk hastalarda tedavi öncesi plazma demir düzeyinin interferon (IFN) tedavisinin sonucuyla ilgili prognostik faktör olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırıldı.

**Hastalar ve Yöntem:** Çalışmaya kronik HBV enfeksiyonu olan 3-13 yaş arası 35 hasta ve 3-14 yaş arasında 27 sağlıklı kontrol alındı. Hastalara altı ay süreyle haftada üç kez 5 milyon U/m<sup>2</sup> dozunda IFN alfa-2a verildi. Hastaların tedavi öncesi ve tedavi bitiminden bir yıl sonra serum ALT ve HBV DNA ve karaciğer biyopsileri bakıldı. ALT'nin 40 IU/L altına düşmesi biyokimyasal, HBV DNA'nın negatifleşmesi virolojik, Knodell skorlamasına göre histolojik olarak skorun 2 puan ve üzerinde azalması histopatolojik yanıt kabul edildi. Tedaviye yanıt veren hastalar grup I, vermeyenler grup II, kontrol grubu grup III olarak isimlendirildi. Plazma demir düzeyi alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi yöntemiyle ölçüldü.

**Bulgular:** Üç kriter - biyokimyasal, virolojik, histopatolojik-yanıtı göre de grup I ve grup II'nin tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri arasında fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Hem grup I hem grup II'nin tedavi öncesi demir düzeyleri ile grup III'ün demir düzeyleri arasında fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

**Sonuç:** Sonuçlar kronik HBV enfeksiyonlu çocuk hastaların tedavi öncesi plazma demir düzeyinin IFN tedavisinin sonucuyla ilgili bir prognostik faktör olarak kullanılmayacağını düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Çocuk; Demir; Hepatit B; İnterferon alfa-2a; Tedavi.

#### Abstract

**Aims:** The aim of this study was to determine whether the pre-treatment plasma iron levels could be used as a prognostic factor, related to the outcome of interferon (IFN) therapy, in children with HBV infection

**Patients and Methods:** The study was carried out on a group of 35 patients aged from 3 to 13 years with HBV infection treated with IFN and 27 healthy control subjects aged from 3 to 14. IFN alpha 2a was administered at a dose of 5 mil U/m<sup>2</sup> three times a week for 6 months. Serum ALT levels and HBV DNA were measured and liver biopsies performed one year before and after the completion of the treatment. Biochemical response was accepted as a reduction of serum ALT levels under 40 IU/L, virological response disappearance of HBV DNA, histopathologic response as a reduction is histologic score by two points or more according to Knodell histological scoring system. Patients responding to treatment were named as group I, non-responders as group II and controls as group III. Absorption spectrophotometry was used to determine plasma iron level.

**Results:** In respect to three criteria-biochemical, virological and histopathological, pre-treatment plasma iron levels were not found to be statistically different between groups I and II ( $p>0.05$ ). Pre-treatment plasma iron levels of group I and II were not different from those of group III ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study suggest that pre-treatment plasma iron levels in children with HBV infection cannot be used as a prognostic factor related to the outcome of IFN therapy.

**Key Words:** Child; Hepatitis B; Interferon alfa- 2a; Iron; Therapy.

<sup>1</sup>GATA Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD., Ankara, Turkey

Geliş Tarihi: 4 Ocak 2005

## **Giriş**

Kronik hepatit B virus (HBV) enfeksiyonu başta geri kalmış ve gelişmekte olan ülkeler olmak üzere bütün dünyada hala önemli bir halk sağlığı sorunudur. Hastalığın tedavisinde kullanılan en etkili ilaç interferon (IFN) olup değişik çalışmalarda %30-50 arasında tedavi başarı oranı bildirilmektedir (1,2). Hastalığın etkin tedavisi için yeni ilaçlar ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için yoğun araştırmalar sürmektedir. Çalışma konularından birisi de kronik HBV enfeksiyonlarında hepatik ve vücut demir durumuyla IFN tedavisinin etkinliği arasındaki ilişkidir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda kronik HBV ve kronik hepatit C virusu (HCV) hepatitlerinde demir düzeyini azaltıcı ilaç ve yöntemlerin IFN tedavisine verilen yanıtı arttırdığı bildirilmektedir (3,4).

Bu çalışmada kronik HBV enfeksiyonlu çocuk hastalarda tedavi öncesi plazma Fe düzeyinin IFN tedavisinin sonucuyla ilgili bir prognostik faktör olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırıldı.

## **Hastalar ve Yöntem**

Bu çalışma 1993-2002 yılları arasında GATA Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'nde kronik HBV enfeksiyonu tanısı konularak IFN tedavisi verilen, yaşları 3 ile 13 yıl arasında (ortalama: 7,3 yıl) değişen 35 hasta ve transaminaz düzeyleri normal, HBsAg negatif, yaşları 3 ile 14 yıl arasında (ortalama 7.4 yıl) 27 sağlıklı kontrol üzerinde yapılmıştır.

Çalışma grubunu oluşturan olgulara aşağıda belirtilen kriterlere göre seçilip 6 ay süreyle haftada 3 kez 5 milyon U/m<sup>2</sup> dozunda IFN alfa-2a verildi. Bu kriterler, 6 aydan uzun süredir devam eden HBsAg pozitifliği, HBV DNA pozitifliği, biyopside Knodell skorunun 3/18'den büyük olması, serum ALT düzeyinin 60 U/L'nin üzerinde olması, serum ALT düzeyleri normal olan hastalarda Knodell skorunun 5/18'den büyük veya portal inflamasyon skorunun 2' den büyük olması, hemoglobin, lökosit ve trombosit değerlerinin normal olması, eşlik eden karaciğer hastalığı olmaması (HCV, Wilson hastalığı, alfa-1 antitripsin eksikliği gibi) idi.

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası serum ALT düzeyleri, HBV DNA ve karaciğer biyopsileri yapıldı. Tedaviye yanıt üç parametreyle değerlendirildi. IFN tedavisinin bitiminden 12 ay sonra yapılan değerlendirmede serum ALT düzeylerinin 40 IU/L altına düşmüş olması biyokimyasal yanıt, HBV DNA'nın negatifleşmesi virolojik yanıt, Knodell skorlamasına göre 18 puan üzerinde değerlendirilen karaciğer biyopsisinde histolojik olarak skorun 2 puan veya daha fazla azalması histopatolojik yanıt kabul edildi (5). Tedaviye yanıt veren hastalar grup I, tedaviye yanıt vermeyen hastalar grup II, kontrol grubu grup III olarak isimlendirildi.

Alınan kan örnekleri K3-EDTA'lı tüplere konulup hemen 4 °C'de 4000rpm'de 6 dakika süre ile santrifüj edilip plazma kısımları polipropilen tüplere konulup -25 °C'de analizler yapıncaya kadar saklandı. Alınan örneklerde plazma Fe düzeyleri alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Varian Mod 30/40, ABD) ile plazma örneklerinin gerekli dilüsyonundan sonra önceden hazırlanmış standart kalibrasyon grafiğine göre ölçüldü.

Bu araştırma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için T-testi ve tek yönlü ANOVA testi kullanıldı. İstatistiksel olarak p<0,05 olan değerler anlamlı kabul edildi.

## **Bulgular**

Çalışma grubuyla kontrol grubunun tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0,05) (Tablo I).

IFN tedavisine biyokimyasal yanıt veren ve yanıt vermeyen hastaların tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Her iki grubun tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri ile kontrol grubunun ortalama plazma demir düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05). (Tablo II).

IFN tedavisine virolojik yanıt veren ve yanıt vermeyen hastaların tedavi öncesi ortalama plazma demir

düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Her iki grubun tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri ile kontrol grubunun ortalama plazma demir düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). (Tablo III).

IFN tedavisine histopatolojik olarak yanıt veren ve yanıt vermeyen hastaların tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık saptanmadı. Her iki grubun tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri ile kontrol grubunun ortalama plazma demir düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ ). (Tablo IV).

### Tartışma

Demir organizmada pek çok biyokimyasal ve metabolik reaksiyonlarda yer alan çok önemli bir elementtir. Karaciğer vücutta demirin depolandığı temel organdır. Demir normal büyüme için şarttır, hem DNA hem RNA sentezi için gereklidir. Hem içeren enzimlerin bütünüleyici bileşenidir. Organizmanın hem immün hem non-immün savunma sistemi için kritik önemdedir. Demir ve demir bağlayan protein, lenfositlerin ve naturel killer hücrelerin çoğalması, fonksiyonlarını yerine getirebilmesi; mononükleer hücrelerin fagositik aktivitelerini tam olarak yapabilmesi için gereklidir (6).

Hepatosite giren hepatit B ve C virusleri hücrenin protein ve nükleik asit sentez mekanizmalarını çoğalmak için kullanırlar. Demir DNA ve RNA sentezi için kofaktördür. Virus kendi çoğalması için gerekli olan demiri konaktan karşılamak zorundadır. Chouteau ve ark. (7) demir içeriği azaltılmış HepG2.2.15 hücrelerinde viral m-RNA, sitoplazmik DNA replikasyonu araçları ve virus üretimini araştırmışlar. Demir azaltılmasının HBV üremesini, hücrelerde hücre siklusunu durdurarak indirekt, viral DNA sekresyonunu direkt olarak inhibe ederek etkilediğini saptamışlardır. Ters durumda hepatik demir içeriğinin yüksekliğinin aktif viral DNA senteziyle ilişkili olabileceğini vurgulamışlardır.

Mekanizması tam olarak anlaşılammakla birlikte kronik HBV ve HCV hepatitinde karaciğer içi demir miktarında artış olduğu, bunun fibrozisi hızlandırdığı ve hepatoselüler karsinoma gelişimini indükleyen nedenlerden biri olabileceğini bildirilmektedir (8). Piperno ve ark. (9) kronik hepatitli hastalarda hepatik demir birikiminden genetik ve edinsel faktörlerin birlikte sorumlu olduğunu; hepatik demir birikiminin hepatik fibrozisi hızlandırdığını bildirmişlerdir.

Van Thiel ve ark. (10) IFN tedavisine yanıt vermeyen kronik hepatit C enfeksiyonlu erişkin hastaların hepatik demir içeriğinin IFN tedavisine yanıt veren hastaların hepatik demir içeriğinin neredeyse iki katı olduğunu; bununla birlikte serum demir, total demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeylerinin her iki grup arasında farklılık göstermediğini bildirmişlerdir.

Jurczyk ve ark. (11) erişkinlerde yaptıkları çalışmada hepatositlerdeki hasar ile serum ve depo demiri durumu arasındaki ilişkiyi araştırmışlar. Kronik hepatitlerde serum demiri ve depo demiri düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif bozukluk gözlemişlerdir. Etiyolojisi ne olursa olsun sirozlu hastalarda demir düzeyleri belirgin yüksek bulunmuş, en belirgin bozukluğun alkolik sirozlu hastalarda olduğunu saptamışlar. Cao ve ark. (12) kronik HBV enfeksiyonu olan 103 erişkin hastada yaptıkları çalışmada hepatosit hasarı ne kadar şiddetliyse serum ferritin ve serum demir düzeyinin o kadar yüksek; hemoglobin, transferritin ve total demir bağlama kapasitesinin o kadar düşük olduğunu gözlemişlerdir. Demir yüklenmesinin kronik HBV enfeksiyonuna bağlı hepatosit hasarını arttırdığını bildirmişlerdir. Bu nedenle demir metabolizmasının serum belirteçlerinin HBV enfeksiyonunun prognozunu değerlendirmede yardımcı olabileceğini belirtmişlerdir.

Chrobot ve ark. (13) 2-16 yaşları arasında 38 kronik HBV enfeksiyonu olan çocuk hastada demir metabolizmasında bozukluk saptamamışlardır. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte HBV serokonversiyonu olan hastalarda serum demir düzeyi ve ferritin düzeyinin düşük olduğunu saptamışlar.

Hastaların karaciğer biyopsilerinde demir birikimi olmadığını saptamışlardır. Kronik HBV enfeksiyonu olan çocuk hastaların IFN tedavisine verecekleri yanıtın değerlendirilmesinde rutin serum demir ve ferritin düzeyleri ölçümünün prognostik bir faktör olarak kullanılamayacağını bildirmişlerdir.

Bu çalışma da, kronik HBV enfeksiyonlu çocuk hastaların IFN tedavisi öncesi serum demir düzeyi ile sağlıklı kontrol grubunun serum demir düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılığın olmadığını göstermektedir ( $p>0,05$ ). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte hasta grubunda serum demir düzeyinin düşük olması kronik hastalıkla ilişkili beslenme bozukluğuna yorumlanabilir. Her üç parametreye-biyokimyasal, virolojik ve histopatolojik-göre de INF tedavisine yanıt veren ve vermeyen hastaların tedavi öncesi serum demir düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p>0,05$ ).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar kronik HBV enfeksiyonlu çocuk hastalarda IFN tedavisi öncesi serum demir düzeyinin, IFN tedavisine verilecek yanıt tahmin etmede bir prognostik faktör olarak değerlendirilemeyeceğini düşündürmektedir.

**Tablo I.** Hasta grubunun tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri ile kontrol grubunun ortalama plazma demir düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar	n	Plazma Fe Düzeyi ( $\mu$ /ml) X $\pm$ SD
Çalışma grubu	35	2,12 $\pm$ 0,22
Kontrol grubu	27	2,16 $\pm$ 0,25
		<b>p&gt;0,05</b>

**Tablo II.** İnterferon tedavisine verilen biyokimyasal yanıtı göre olguların tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri ile kontrol grubunun ortalama plazma eser element düzeyleri ve karşılaştırılmaları

Gruplar	n	Plazma Fe düzeyi ( $\mu$ g/ml) X $\pm$ SD
Grup I	14	2,13 $\pm$ 0,29
Grup II	21	2,11 $\pm$ 0,17
Grup III	27	2,16 $\pm$ 0,25
		<b>F=0,333 p&gt;0,05</b>

**Tablo III.** İnterferon tedavisine verilen virolojik yanıtı göre olguların tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri ile kontrol grubunun ortalama plazma demir düzeyleri ve karşılaştırılmaları

Gruplar	n	Plazma Fe düzeyi ( $\mu$ g/ml) X $\pm$ SD
Grup I	17	2,13 $\pm$ 0,22
Grup II	18	2,10 $\pm$ 0,23
Grup III	27	2,16 $\pm$ 0,25
		<b>F=0,353 p&gt;0,05</b>

**Tablo IV.** İnterferon tedavisine verilen histopatolojik yanıtı göre olguların tedavi öncesi ortalama plazma demir düzeyleri ile kontrol grubunun ortalama plazma demir düzeyleri ve karşılaştırılmaları

Gruplar	n	Plazma Fe düzeyi (µg/ml) X±SD
Grup I	10	2,24±0,23
Grup II	11	2,07±0,27
Grup III	27	2,16±0,25
		<b>F=1,13 p&gt;0,05</b>

#### KAYNAKLAR

1. Di Bisceglie AM, Long-term outcome of interferon-alpha therapy for chronic hepatitis. *Br J Hepatol* 1995;22:65-67.
2. Hoofnagle JH. Therapy of acute and chronic viral hepatitis. *Adv Intern Med* 1994;39:107-114.
3. Bayraktaroğlu Y, Sağlam F, Temizer A, Uzunalimoğlu B, van Thiel DH. The effect of Interferon and desferrioxamine on serum ferritin and hepatic iron concentrations in chronic hepatitis. *Br Hepato Gastroenterology* 1998;45:2322-2327.
4. Tandon N, Thakur V, Raj Kumar C, Sarin G, Sarin SK. Beneficial influence of an indigenous low-iron diet on serum indicators of iron status in patients with chronic liver disease. *Br J Nutr* 2000;83 :235 -239.
5. Knodell RG, Isak K, Black WC et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-435.
6. DiBisceglie AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, Bacon BR. Measurement of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterol* 1992;102:2108-2113.
7. Chouteau P, Le Seyec J, Saulier-Le Drean B et al. Inhibition of hepatitis B virus production associated with high levels of intracellular viral DNA intermediates in iron-depleted HepG2.2. 15 cells. *J Hepatol* 2001;34:108-113.
8. Fargion S, Mattioli M, Fracanzani AL, Fiorelli G. Iron and liver diseases. *Can J Gastroenterol* 2000;14:89-92.
9. Piperno A, Vergani A, Malosio I et al. Hepatic iron overload in patients with chronic viral hepatitis: role of HFE gene mutation. *Hepatology* 1998;28:1105-1109.
10. Van Thiel DH, Friedlander L, Fagioli S, Wright HI, Irish W, Gavalier JS. Response to interferon-alfa therapy is influenced by the iron content of the liver. *J Hepatol* 1994;20:410-415.
11. Jurczyk K, Wawrzynowicz-Szczewska M, Boron-Kaczmarek A, Sych Z. Serum iron parameters in patients with alcoholic and chronic cirrhosis and hepatitis. *Med Sci Monit* 2001;75:962-965.
12. Cao Z, Bai Y, Yang X, Liu J, Li B, Li F. Study of iron metabolism abnormality in the hepatocyte damage of hepatitis B. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi (Abstract)* 2001;9:37-39.
13. Chrobot A, Chrobot AM, Szaflarska-Szczepanik A. Assessment of iron metabolism in children with chronic hepatitis B prognostic factor in interferon alpha therapy. *Med Sci Moint* 2002;8:269-273.