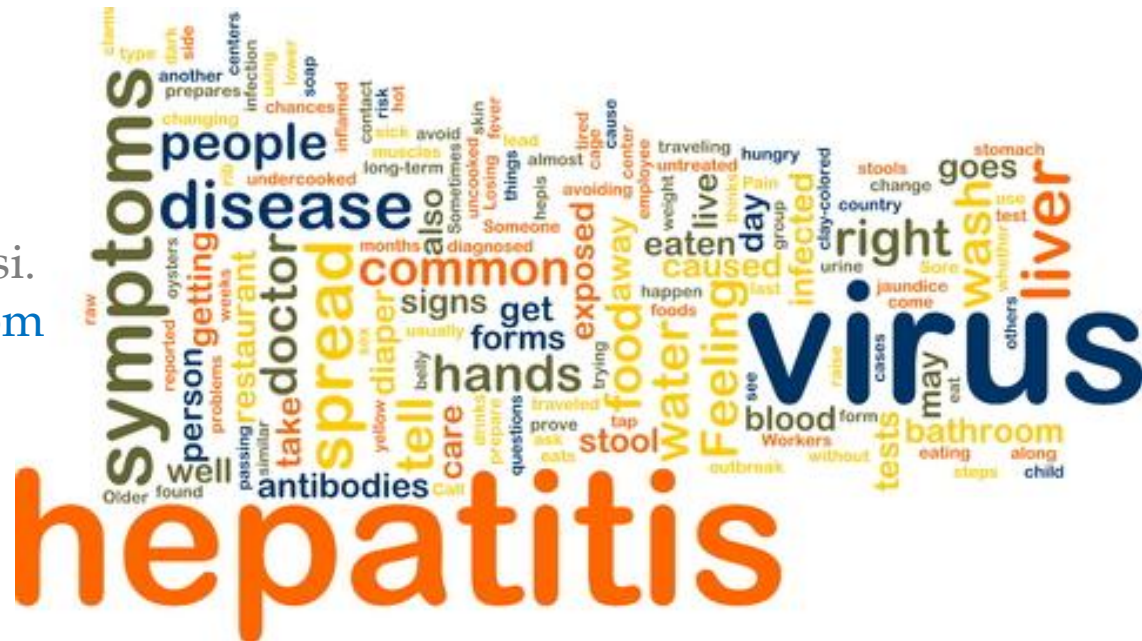


HCV Proteaz İnhibitörlerinde Türkiye Direnç Profili

Doç. Dr. Murat Sayan
Kocaeli Üniv. Hast.
PCR Birim Sorumlusu Öğr. Üyesi.
e-posta: sayanmurat@hotmail.com
Tel: 0533 6479020

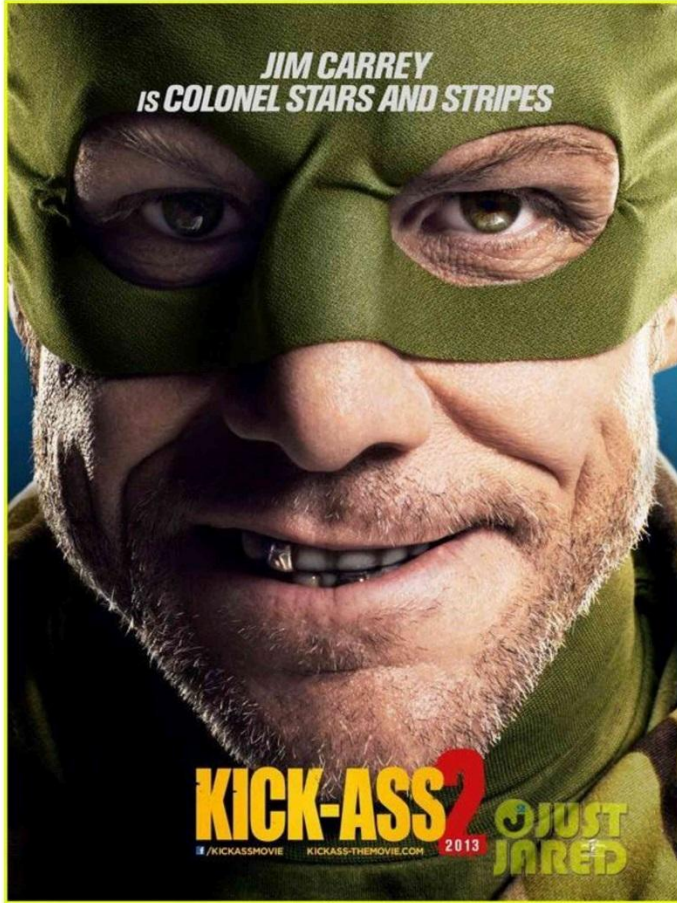


23 - 25 Mayıs 2014, Nevşehir.

HCV'nin viral kinetiği ve oral antiviral tedavide önemi

Özellik	HCV
Genom	RNA
Viral turnover	10^{12} virion/gün
RNA polimeraz hatası	1/10 000 nükleotid
Viral genetik arşiv	Oluşmaz (HIV ve HBV'nin aksine stoplazmada replike olur). Hepatosit turnoveri düşüktür.
İlaç hedefleri	Çoklu
Kesin tedavisi	Olabilir
Tedavinin amacı	Kür: Plazma + KC'in HCV'den temizlenmesi

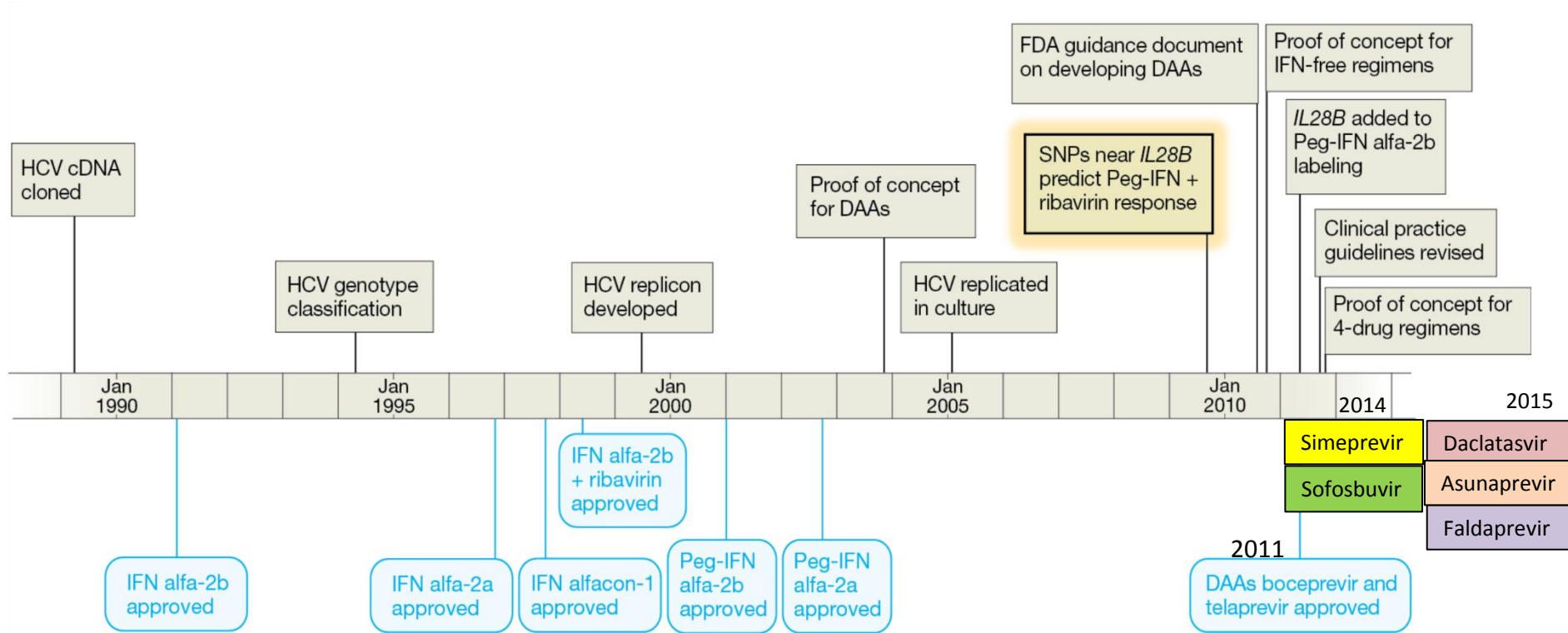
HCV ile savaşacak bir süper kahramanımız yok.



Kaynak: www.digitalspy.com

Ancak çok sayıda oral antiviral hayatımıza girdi ya da girmek üzere...

Kronik hepatit C tedavisinde kilometre taşları



Başarılı antiretrovirallere rağmen başarısız tedaviler mümkün.

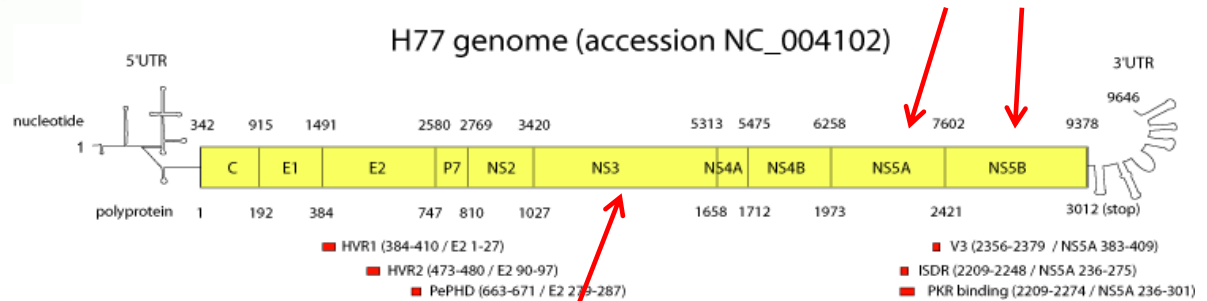


Oral antiviral ilaç direnci



Applied Biosystem 3130

Sanger Sequencing - populasyon sekanslama



PCR-forward

Sequencing primer

CTGGC GGC GTG CCTA ATACATGCAA GTCGAGCGAA CGGA-----C GAGAAGCTTG CTTCTCT--- --GATGTTAG CGGCGGACGG GTGAGTAACA
CTGGC GGC GTG CCTA ATACATGCAA GTCGAGCGAA CAGA-----C GAGGAGCTTG CTCCTCT--- --GACGTTAG CGGCGGACGG GTGAGTAACA
CTGGC GGC GTG CCTA ATACATGCAA GTCGAACGCT TCTTTCCTCC CGAGTGCTTG CACTCAATTG GAAAGAGGAG TGGCGGACGG GTGAGTAACA
CTGGC GGC GTG CCTA ATACATGCAA GTAGAACGCA CAGGATGCAC CGTAGTTTAC TACACCGTA- -TTCTGTGAG TTGCGAACGG GTGAGTAACG
CTGGC GGC GTG CCTA ATACATGCAA GTCGAGCGGA CTTGATG--- -GAGTGCTTG CACTCCT--- -GAAGGTTAG CGGCGGACGG GTGAGTAACA
CTGGC GGC GTG CCTA ACACATGCAA GTCGAGCGAG AGGA----- --GTTCCTT GGGAAC---- --AAATCTAG CGGCGGACGG GTGAGTAACA
CTGGC GGCAGGCCTA ACACATGCAA GTCGAGCGGA TGAAG----A GAG---CTT- G-CTCTCT-- -GAT--TCAG CGGCGGACGG GTGAGTAATG
CTGGC GGCAGGCTTA ACACATGCAA GTCGAGCGGG GGA-G----A TTG---CTTC G-GTAATT-- -GAC--CTAG CGGCGGACGG GTGAGTAATA
CTGGC GGCAGGCTTA ACACATGCAA GTCGAGCGGG GGAAG----G TAG---CTT- G-CTACTG-- -GAC--CTAG CGGCGGACGG GTGAGTAATG
CTGGC GGCAGGCCTA ACACATGCAA GTCGAACGCT AACAG----C AAGAAGCTTG C-TTCTTT-- -GCTGACGAG TGGCGGACGG GTGAGTAATG
CTGGC GGCATGCTTT ACACATGCAA GTCGAACGGC AGCGG----G GTAGTGCTTG CACTACTG-- -TCCGGCGAG TGGCGAACGG GTGAGTAATA
CTGGC GGTGTGCTTA ACACATGCAA GTCGAACGGT AAGG-----C C-----CTT CGGGGGT--- --AC-ACGAG TGGCGAACGG GTGAGTAACA
CTGGC GGC GTG CTTA ACACATGCAA GTCGAACGAT GAAG-----G CTCCTGCTTG CGGGGGT--- --TGGATTAG TGGCGAACGG GTGAGTAATA
CTGGC GGC GTG CTTA ACACATGCAA GTCGAACGCT GAAG-----C CT--GGCTT TGTGGG--- --TGGATGAG TGGCGAACGG GTGAGTAACA

PCR-reverse

Sequence Information				
Identifier:	Kayseri, S.G			
Predicted subgenotype based on NS3:	1b (similarity to closest subgenotype reference = 88.34%)			
Included NS3 region codons:	39 - 181 (similarity to reference = 93.01%)			
Mutations NS3 region:	T42S, P86Q, P89S, M94L, V114I, V150A, I170V, N174S, L175M			
Used reference for NS3 region:	D90208			
Drug Resistance				
Drugs	Scored mutations	Resistance analysis	Fold Change	
Boceprevir	none	susceptible	-	
Telaprevir	none	susceptible	-	
Simeprevir	none	susceptible	-	
Faldaprevir	none	susceptible	-	

Sequence Information				
Identifier:	Kocaeli, R.N			
Predicted subgenotype based on NS3:	1b (similarity to closest subgenotype reference = 87.59%)			
Included NS3 region codons:	43 - 181 (similarity to reference = 92.09%)			
Mutations NS3 region:	V48F, V51A, K68R, T72I, P86Q, M94L, V114I, I132V, V150A, N174S, L175M			
Used reference for NS3 region:	D90208			
Drug Resistance				
Drugs	Scored mutations	Resistance analysis	Fold Change	
Boceprevir	none	susceptible	-	
Telaprevir	132V	possibly resistant	1.8	
Simeprevir	none	susceptible	-	
Faldaprevir	none	susceptible	-	

Sequence Information				
Identifier:	Gaziantep, H.G			
Predicted subgenotype based on NS3:	1b (similarity to subgenotype reference = 87.82%)			
Included NS3 region codons:	43 - 170 (similarity to reference = 94.53%)			
Mutations NS3 region:	V55A, P89S, M94L, V114I, I132V, V150A, I170V			
Used reference for NS3 region:	D90208			
Drug Resistance				
Drugs	Scored mutations	Resistance analysis	Fold Change	
Boceprevir	55A	resistant	6.9	
Telaprevir	55A,132V	resistant	3.1	
Simetrevir	none	susceptible	-	
Faldaprevir	none	susceptible	-	

Sequence Information				
Identifier:	Gebze –Novak, E.T			
Predicted subgenotype based on NS3:	1a (similarity to subgenotype reference = 94.88%)			
Predicted clade of subgenotype based on NS3:	I (similarity to subgenotype clade reference = 94.88%)			
Included NS3 region codons:	39 - 181 (similarity to reference = 97.2%)			
Mutations NS3 region:	Q80K, P86T, L153I			
Used reference for NS3 region:	H77			
Drug Resistance				
Drugs	Scored mutations	Resistance analysis	Fold Change	
Boceprevir	none	susceptible	-	
Telaprevir	none	susceptible	-	
Simeprevir	80K	resistant	420	
Faldaprevir	80K	resistant	2.2	

Treatment with simeprevir: Simeprevir, given in combination with pegylated interferon and ribavirin, is recommended for persons with genotype 1b HCV infection and for persons with genotype 1a HCV infection without the Q80K polymorphism rather than pegylated interferon and ribavirin alone. (Strong recommendation, high quality of evidence)

Treatment of hepatitis C

Issues related to treatment access

Laboratory capacity

The diagnosis and clinical management of HCV infection requires sophisticated laboratory capacity. Diagnosing HCV infections requires serologic testing followed by NAT to confirm the presence of chronic infection. Assessment for treatment requires NAT to measure HCV viral load and to determine HCV genotype, and if the use of simeprevir is being considered, the detection of the Q80K mutation. In many low-income countries there are no laboratories that can perform these tests. Even in countries where this capacity exists, it is available only in some large cities, and the tests are very expensive. The new direct-acting agents provide an opportunity to simplify the laboratory requirements for HCV therapy as combinations of these medicines will be effective against all genotypes, thus obviating the need for genotyping, and much safer, thus reducing the complexity of monitoring for adverse events.

**GUIDELINES FOR THE SCREENING,
CARE AND TREATMENT OF PERSONS
WITH HEPATITIS C INFECTION**

APRIL 2014



OLYSIO (simeprevir) - FDA tarafından G1 tedavisi için onaylanan ilk «2. nesil DAA»



Q80K polimorfizm: QUEST-1 çalışması

*HCV genotip 1a ile enfekte hastalarda 1b'ye göre %20 daha az SVR.

*Tedavi öncesi hastaların 1/3'ün de Q80K mutasyonu

*Q80K'nın yanı sıra R155K mutasyonu ile genotip 1a'da tedavi başarısızlığı

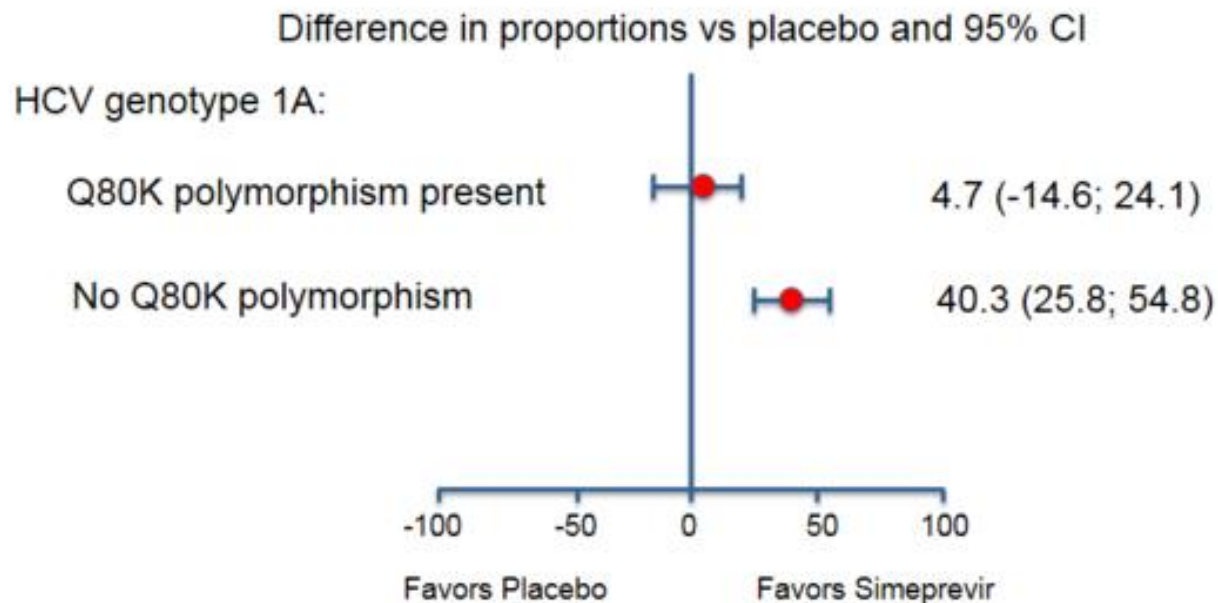


Maliyet: 12 haftalık tedavi maliyeti 66 000 \$ (bu maliyetin içinde peg-IFN ve Rib bulunmuyor).

<http://www.hepatitisc.uw.edu/page/treatment/drugs/simeprevir-drug>.

Simeprevir + PEG + Ribavirin for Treatment-Naïve HCV GT1 QUEST-1 Trial: Results

Difference in SVR12 by Presence of Baseline Q80K Polymorphism



Source: Jacobson I, et al. 48th Annual Meeting of EASL. Abstract 1425.

Sequence Information				
Identifier:	Kahramanmaraş, K.A			
Predicted subgenotype based on NS3:	1a (similarity to closest subgenotype reference = 93.36%)			
Predicted clade of subgenotype based on NS3:	II (similarity to closest subgenotype clade reference = 93.36%)			
Included NS3 region codons:	42 - 181 (similarity to reference = 95.71%)			
Mutations NS3 region:	P67S, S91A, L153I, R155K, I170T, N174S			
Used reference for NS3 region:	H77			
Drug Resistance				
Drugs	Scored mutations	Resistance analysis	Fold Change	
Boceprevir	155K,170T	resistant	4.7	
Telaprevir	155K	resistant	7.4	
Simeprevir	155K	resistant	420	
Faldaprevir	155K	resistant	360	

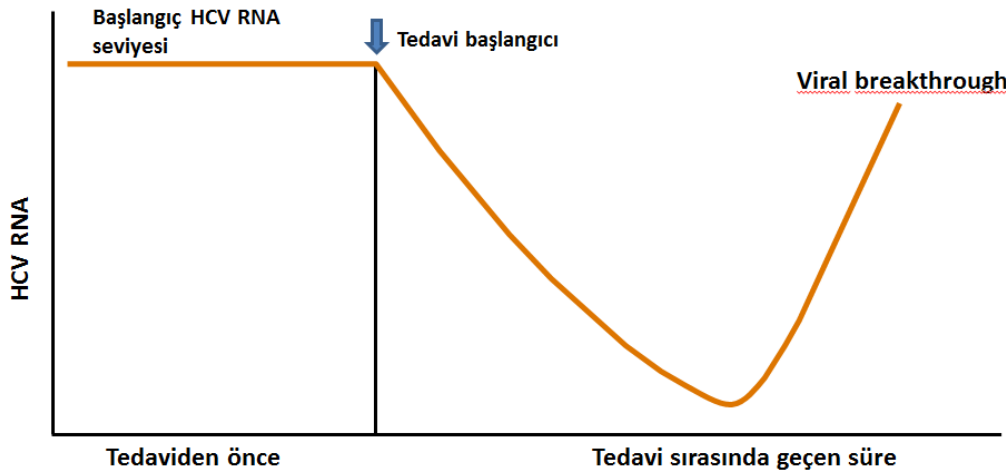
Tedavi öncesinde Telaprevir direnci mutasyonları ve prevalans

Yazarlar	Ülke	Yıl	Hasta, n	HCV genotip	Mutasyon paterni	Prevalans	Kaynak
Andonov ve ark.	Kanada	2013	85	1a	V36L, T54S, V55A	%10.6	Can J Gastr 2013; 27(7):414-46
Hoffman ve ark.	Brezilya	2013	68	1	V36L, T54S, V55A	%4.4	Virol J_2013;14;10:57
Palanisamy ve ark.	İsveç	2013	126	1a	V36L, Q80K/R, T54A/S, V55A	%28	Antiviral Res 2013; 99(1):12-17
De Meyer ve ark. <u>REALIZE Faz III</u>	Belçika	2012	662	1	V36A/M, T54A/S, <u>R155I/K/M/T,</u> <u>A156S</u>	%18	Hepatology 2012; 56(6):2106-15
Vicenti ve ark.	İtalya	2012	106	1a + 1b	Q80K, V36L, T54S, V55A	%19.3	J Antimicrob Chemother 2012; 67(4):984-7
Vallet ve ark.	Fransa	2011	233	1,2,3,4,5	V36L, T54S, Q80K/R, D168Q, V170T	%2-100	Antivir Ther 2011; 16(7):1093-102

Sık yapılan, basit bir laboratuvar hatası (RNA virusları için geçerlidir):

Hasta serum numunesinde yapılan viral yük ölçümü plazma numunesine göre daha düşük çıkar.

HCV RNA ve HIV RNA ölçümleri plazma ile yapılmalıdır.



- Zayıf viral yükle seyreden hastaların takibinde örnekleme hatası sorun yaratacaktır.
- HIV ve HCV (+) bireyler, RNA negatif olduklarında motivasyonları ve tedaviye bağlılıkları artıyor. Bu motivasyon bozulacaktır.
- HCV RNA yükünün sık takibi ile tedavide başarısızlık ve direnç erkenden tespit edilebilir.
- Gelişen ilaç direncinin bir göstergesi olan viral breakthrough'un büyüklüğü tam anlaşılamayacaktır.

HCV’de klinik önemi bulunan mutasyonların yarattığı direnç nasıl tanımlanmalıdır?

Virus	Tedavi şekli	Naif hastada	Tedavi hastasında
HIV	HAART; kombinasyon	Primer ilaç direnci	Sekonder ilaç direnci
HBV	Nükleoz(t)id analogu; monoterapi/kombinasyon	Primer ilaç direnci, Kompansatuvar direnç	Primer ilaç direnci, Kompansatuvar direnç
HCV	NS3/4 ve NS5A/B inh; monoterapi kombinasyon?	?	Primer ilaç direnci? Klinik direnç? Zayıf/orta/yüksek direnç?

IL BUONO IL BRUTTO IL CATTIVO/İYİ KÖTÜ ÇİRKİN (1966)



Yönetmen: **Sergio Leone**

Oyuncular: **Clint Eastwood, Lee Van Cleef, Eli Wallach**

IMDB Puanı: 9/10

Klimik VHÇG
Ulusal HCV NS3 İnhibitörleri
Moleküler Analiz Sonuçları

Kronik Hepatit C
(n=133)

Tedavi Naif

n=42

Telaprevir

n=83

Boseprevir

n=8

Üçlü tedavi naif hastalarda demografik ve klinik durum
(n=42, numune sayısı=42)

Sıra	Şehir	Hasta	Cins		Yaş	ALT	AST	HCV RNA	HCV genotip	
		(n)	K	E	̄ (range)	̄ (range) (U/L)	̄ (range) (U/L)	̄ (range) (IU/ml)	1a	1b
1	Kocaeli	39	16	23	*	*	*	*	4	35
2	Zonguldak	2	*	2	*	*	*	*	*	2
3	Edirne	1	*	1	*	*	*	*	*	1
	Toplam	42	16	26	55 (19-93)	78 (16-280)	63 (18-220)	2.38x10⁶ (9.1x10 ⁵ -16.4x10 ⁷)	4	38

* Yaş, ALT, AST ve HCV RNA verileri; ortalama (aralık) olarak verilmiştir.

Üçlü tedavi naif hastalarda HCV NS3 inhibitör direnci mutasyonları
(n=42, numune sayısı=42)

Direnç durumu	Telaprevir		Boseprevir		Simeprevir		Faldaprevir	
	Mutasyon	Hasta, n(%)	Mutasyon	Hasta, n(%)	Mutasyon	Hasta, n(%)	Mutasyon	Hasta, n(%)
Zayıf direnç	T54S I132V R117H N174F	3 (7) 20 (47) 1 (2) 1 (2)	T54S R109K R117H N174F	3 (7) 2 (5) 1 (2) 1 (2)			T54S Q80L	2 (5) 2 (5)
Orta direnç	R155T*	1 (2)	R155T	1 (2)				
Yüksek direnç	I155L R155G*	1 (2) 1 (2)	R155G A156G*	1 (2) 1 (2)	A156G	1 (2)		

* R155T, R155G ve A156G çapraz dirençten sorumlu mutasyonlardır.

Telaprevir'li üçlü tedavi başlanan ve ilaç direnç analizi yapılabilen hastalarda demografik ve klinik durum (n=83, numune sayısı 90)

Sıra	Şehir	Hasta (n)	Cins		Yaş X̄ (range)	ALT X̄ (range) (U/L)	AST X̄ (range) (U/L)	HCV RNA X̄ (range) (IU/ml)	HCV genotip	
			K	E					1a	1b
1	Kocaeli	31							2	29
2	Kayseri	20								20
3	Konya	6								6
4	Urfa	5								5
5	Afyon	3								3
6	İzmir	3							1	2
7	Bursa	3								3
8	Mersin	2								2
10	Eskişehir	2								2
11	Gaziantep	2								2
12	Giresun	1								1
13	K.Maraş	1							1	
14	Sakarya	1								1
15	Yalova	1								1
16	Zonguldak	1								1
	Toplam	83	47	36	56 (25-77)	62 (14-180)	51 (8-132)	1.03x10⁷ (3x10² -1.88x10⁸)	4 (%5)	79 (%95)

Telaprevir’li üçlü tedavi başlanan hastalarda HCV NS3 inhibitör direnci mutasyonları (n=83, numune sayısı 90)

Direnç durumu	Telaprevir		Boseprevir		Simeprevir		Faldaprevir	
	Mutasyon	Hasta, n(%)	Mutasyon	Hasta, n(%)	Mutasyon	Hasta, n(%)	Mutasyon	Hasta, n(%)
Zayıf direnç	V36L	1 (1)	V36L	1 (1)				
	T54S	2 (2)	T54S	1 (1)				
	V55A	5 (5.5)	R109K	1 (1)			Q80L	2 (2)
	I132V	26 (29)	I170T	1 (1)			T54S	1 (1)
			D168N	1 (1)	D168N	1 (1)		
Orta direnç	R155K*	1 (1)	V55A	5 (5.5)	R155K	1 (1)	R155K	1 (1)
Yüksek direnç	L155I	1 (1)						
	A156S*	1 (1)	A156S	1 (1)				
	G156S*	2 (2)	G156S	2 (2)				

*R155K, A156S ve G156S çapraz dirençten sorumlu mutasyonlardır.

*Mutasyon oranı numune sayısına göre hesaplanmıştır ve yaklaşıktır.

Telaprevir tedavisi sırasında ya da sonrasında saptanan virolojik başarısızlık;
klinik telaprevir direnci

Direnç durumu	HCV genotip		Telaprevir	
	1a	1b	Mutasyon	Hasta, n
Zayıf direnç		3	V55A V36L	3 1
Orta direnç	1		R155K	1
Yüksek direnç		1	A156S	1
Toplam	1	4		5 (%6)

Kocaeli
Gaziantep
Kahramanmaraş

Boceprevir'li üçlü tedavi başlanan hastalarda demografik ve klinik durum
(n=8, numune sayısı=8)

Sıra	Şehir	Hasta	Cins		Yaş	ALT	AST	HCV RNA	HCV genotip	
		(n)	K	E	 (range)	 (range) (U/L)	 (range) (U/L)	 (range) (IU/ml)	1a	1b
1	Kocaeli	3							-	3
2	Kayseri	3								3
3	Eskişehir	1								1
4	Zonguldak	1								1
	Toplam	8	5	3	59 (55-65)	55 (27-98)	53 (33-76)	2.3x10⁶ (3.6x10⁴ - 5.9x10⁶)	-	8 (100%)

Boseprevir’li üçlü tedavi başlanan hastalarda HCV NS3 inhibitör direnci mutasyonları
(n=8, numune sayısı=8)

Direnç durumu	Telaprevir		Boseprevir		Simeprevir		Faldaprevir	
	Mutasyon	Hasta, n(%)	Mutasyon	Hasta, n(%)	Mutasyon	Hasta, n(%)	Mutasyon	Hasta, n(%)
Zayıf direnç			I132V	4 (50)				
Orta direnç								
Yüksek direnç								

Klinik VHÇG Ulusal HCV NS3 İnhibitörleri Moleküler Analiz Sonuçları

Kronik Hepatit C
(n=133)

Tedavi Naif

n=42

Telaprevir

n=83

Boseprevir

n=8

Toplam

zayıf direnç mutasyonu;
%54 (n=72)

orta direnç mutasyonu;
%5 (n=7)

yüksek direnç mutasyonu;
%5 (n=7)

HCV oral antiviral ilaç direnci analizi;

İlaç direnci kişiler arasında aktarılabılır midir?

Tedavi öncesinde yapılmalı mıdır?

Maliyet etkin bir analiz için o toplumda ilaç direnci prevalansı ne olmalıdır?

European Recommendations for the Clinical Use of HIV Drug Resistance Testing: 2011 Update

Anne-Mieke Vandamme^{1,2}, Ricardo J. Camacho^{2,3}, Francesca Ceccherini-Silberstein⁴, Andrea de Luca⁵, Lucia Palmisano⁶, Dimitrios Paraskevis⁷, Roger Paredes⁸, Mario Poljak⁹, Jean-Claude Schmit¹⁰, Vincent Soriano¹¹, Hauke Walter¹², Anders Sönnernborg¹³ and the European HIV Drug Resistance Guidelines Panel

AIDS Rev. 2011;13:77-108

count transmitted resistance. Resistance genotyping is considered cost-effective for both recent and chronic infection when levels of TDR are > 1-5% (See: ---)

FIFA BALLON D'OR 2013



Klimik VHÇG, kısa zamanda fark yarattı.

S & C

