



Kocaeli Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Bilimsel ve insancıl sağlık hizmeti için...



HCV enfeksiyonlarında NS3 inhibitörleri direnci ve IL28B polimorfizminin önemi

Doç.Dr.Murat SAYAN



UVHS

ULUSAL VİRAL
HEPATİT SİMPOZYUMU

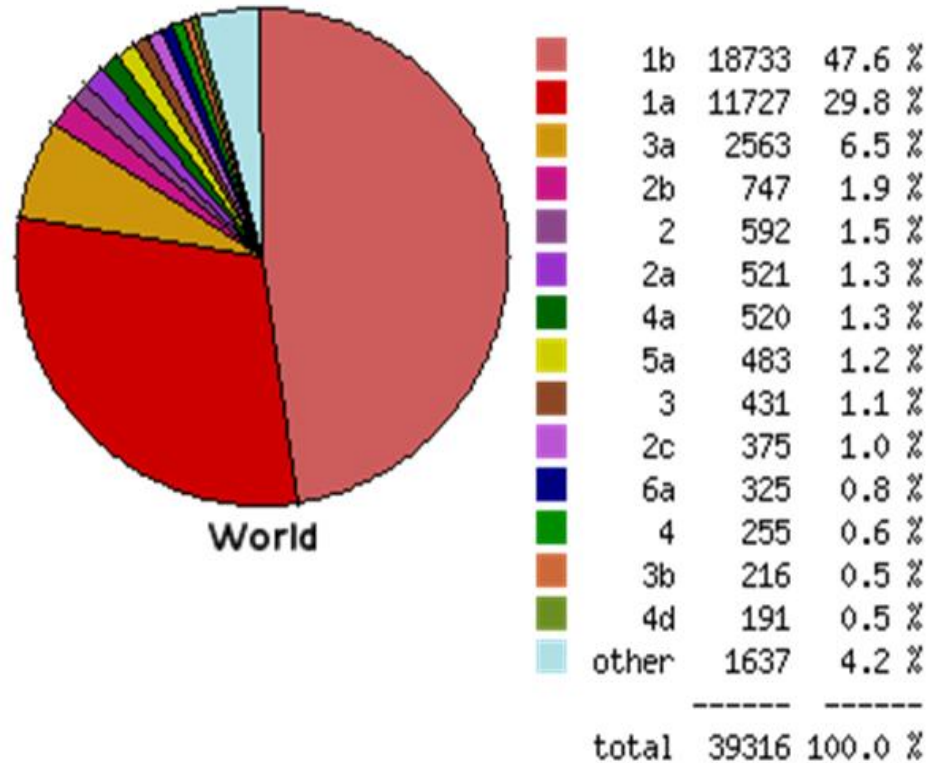
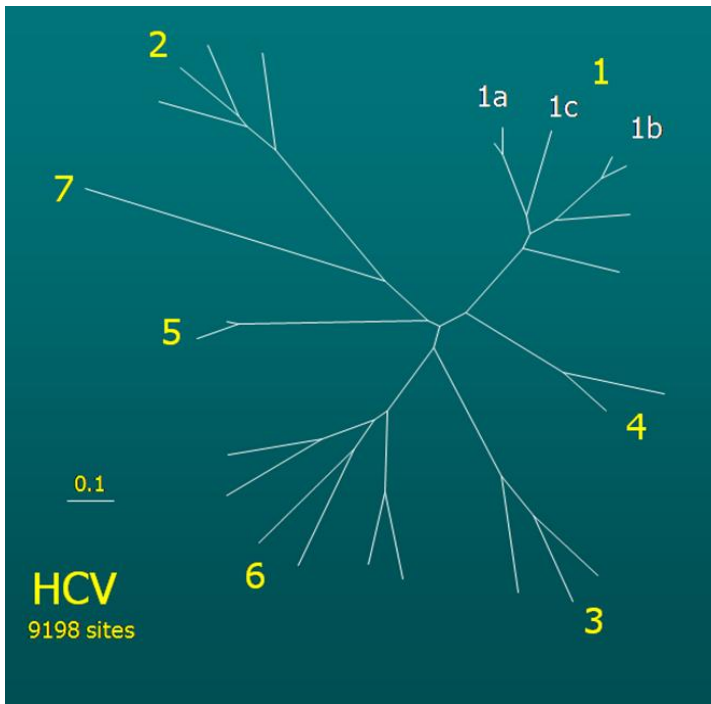
Taksonomi

Familya: Flaviviridae

Genus: Hepacivirus

Tür: Hepatit C virusu genotip 1

HCV, (+) iplikli bir RNA virusudur ve oldukça değişkendir.



HCV'nin HBV ve HIV'den ayrılan özellikleri bulunmaktadır.

Virus	HIV	HBV	HCV
Genom	RNA	DNA	RNA
Mutasyon sıklığı	Çok yüksek	Yüksek	Çok yüksek
Günlük viral üretim	10^{10}	10^{13}	10^{12}
Viral genetik arşiv	Evet	Evet	Hayır*
İlaç hedefleri	Çoklu	Tek	Çoklu
Kesin tedavisi	Yok (entegre viral DNA)	Yok (cccDNA)	Olabilir
Tedavinin amacı	Hayatboyu süpresyon	Hayatboyu süpresyon	Kür: Plazma + KC'in HCV'den temizlenmesi

*Neden HCV enfeksiyonunda viral genetik arşiv oluşmaz?

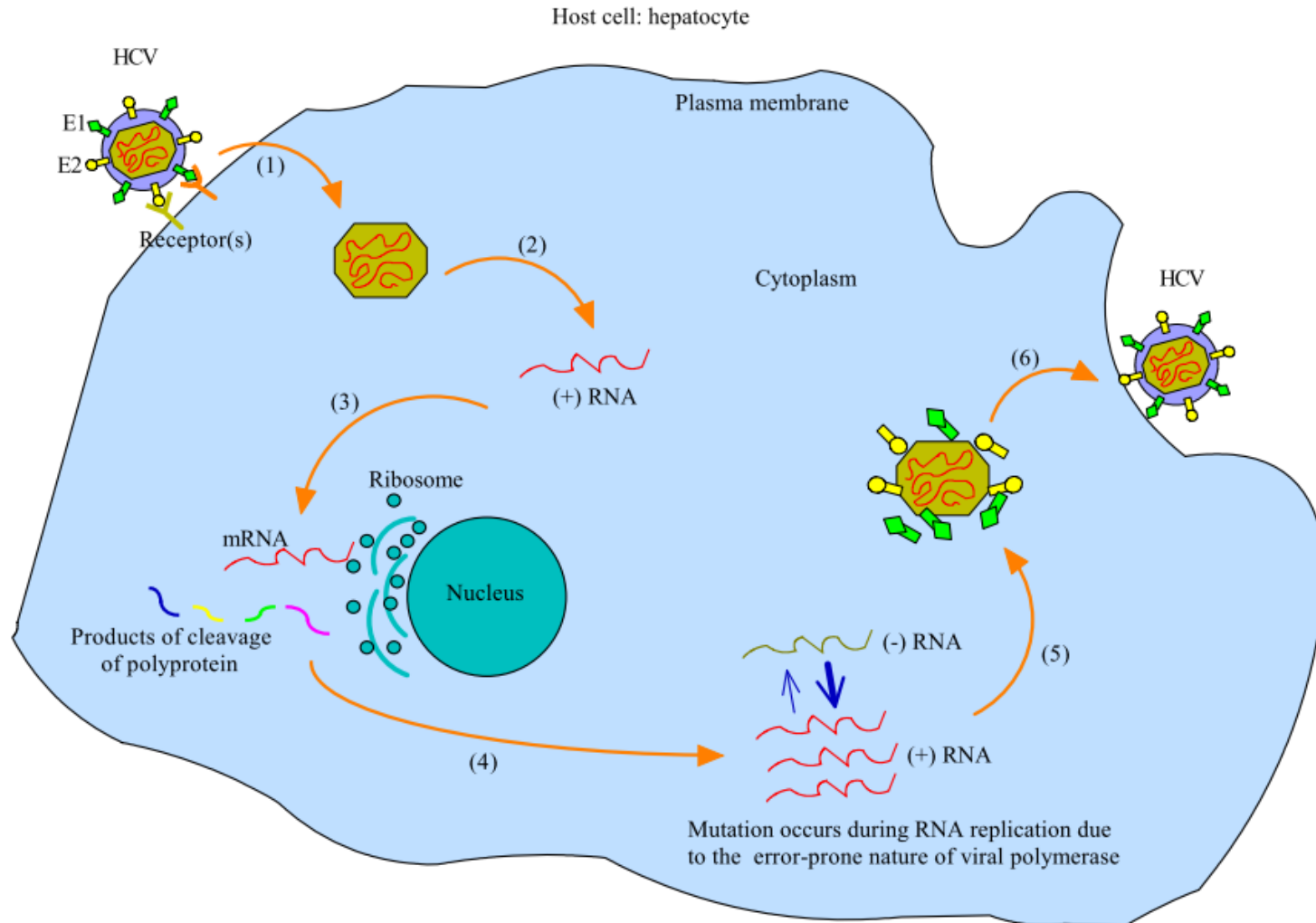


Fig. 1 HCV life cycle. (1) Following viral binding, receptor-mediated endocytosis, and membrane fusion,

HCV'nin enzim kodlayan gen bölgeleri, ilaçlar için iyi birer hedeftir.

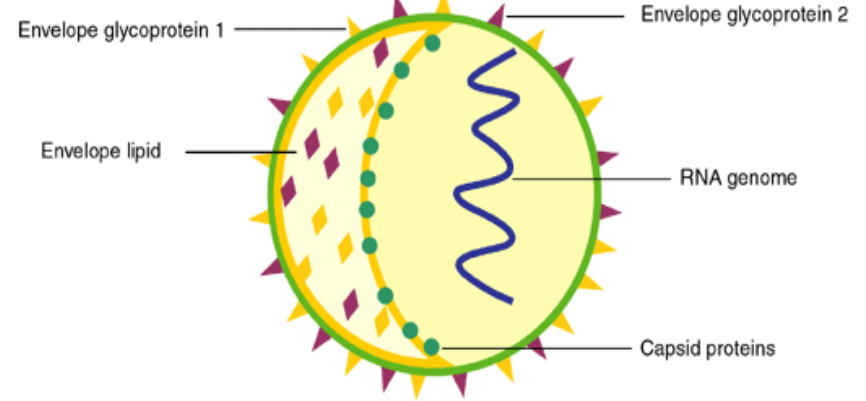
[NS3
proteaz/
helikaz](#)

İki fonksiyonlu protein:
NS3 serine proteinaz ve
NTP bağımlı RNA/DNA helikaz

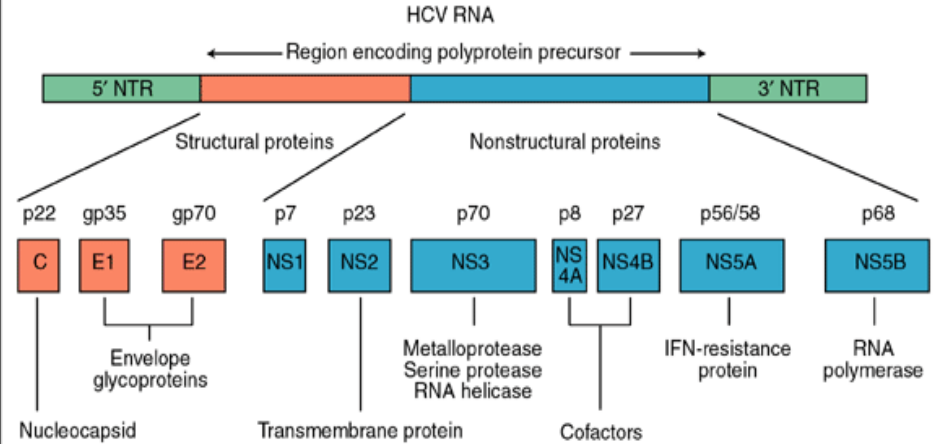
[NS5
RNA-bağımlı
RNA polimeraz](#)

Viral replikasyon

a Model structure of HCV



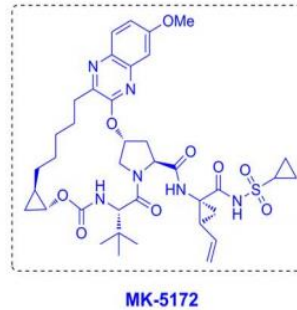
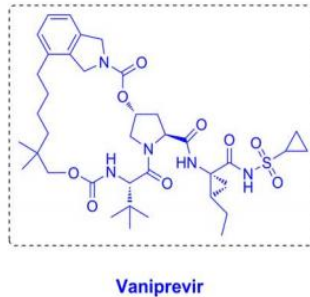
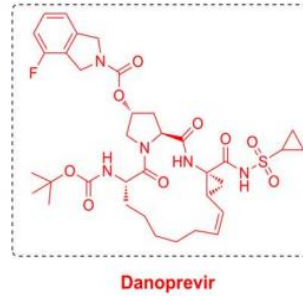
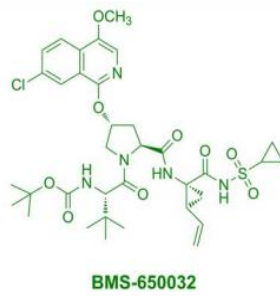
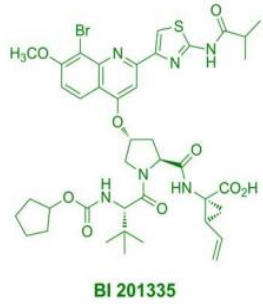
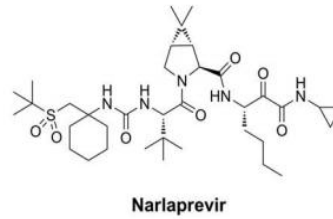
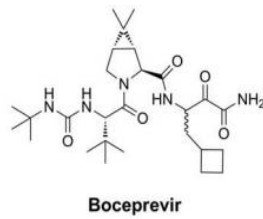
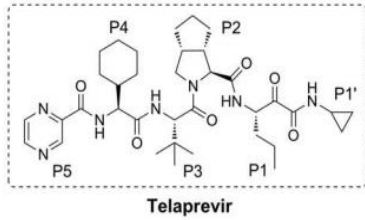
b Proteins encoded by the HCV genome



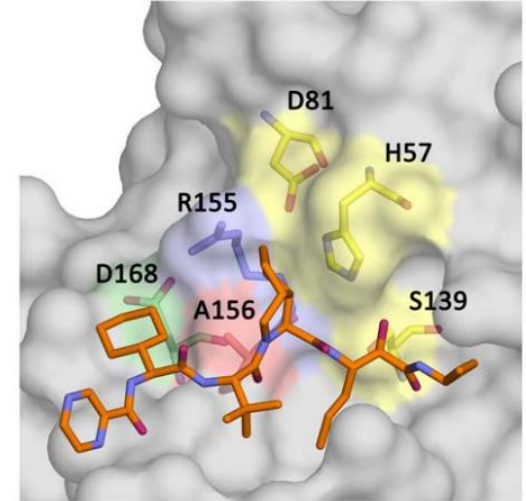
Hepatitis C virus (HCV): model structure and genome organisation

Expert Reviews in Molecular Medicine ©2003 Cambridge University Press

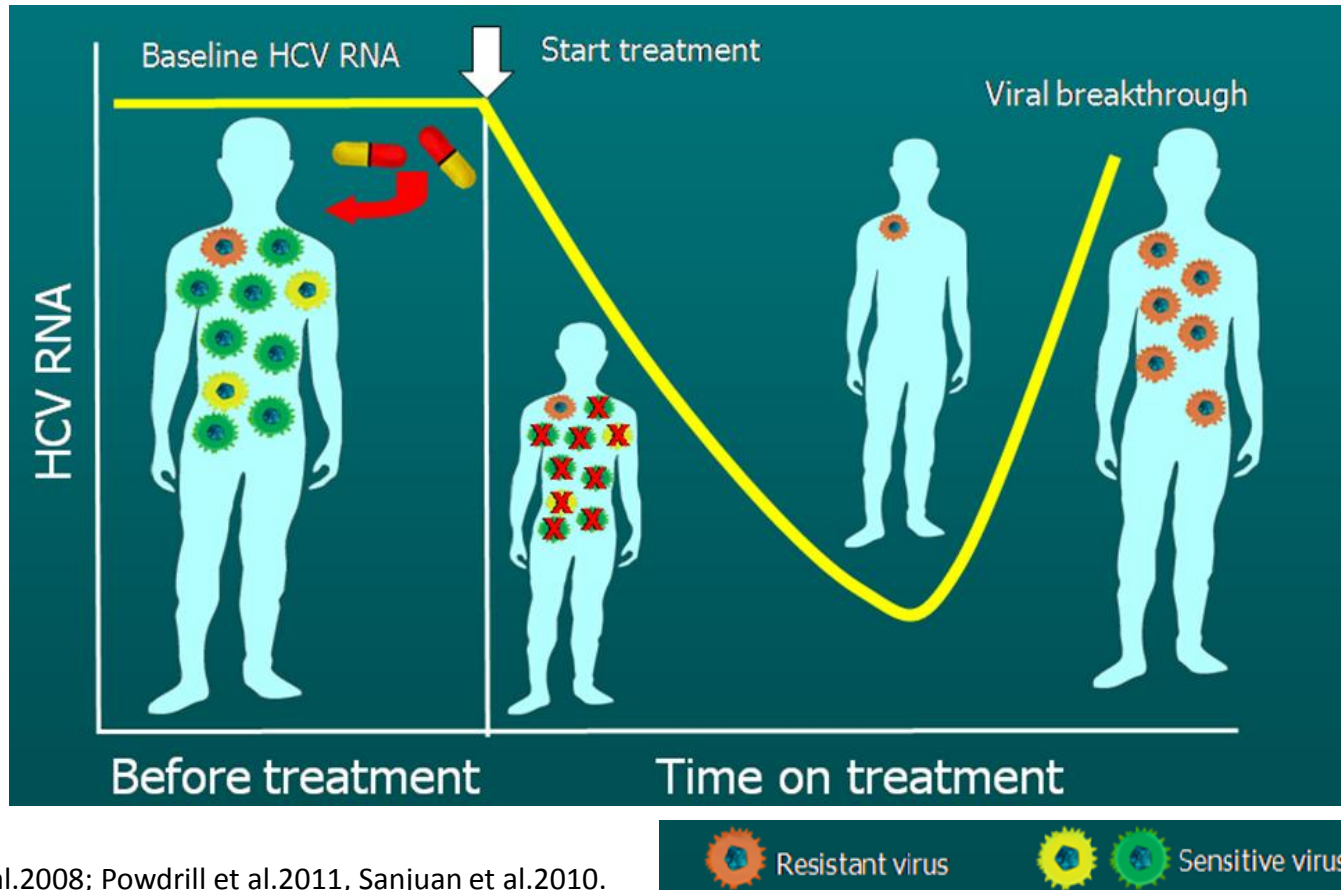
Tüm antiviral ajanlar dirençli varyantların seçilimine neden olur.



(a) Telaprevir



Dirençli varyantlar doğal olarak meydana gelebilir ve tedavi öncesinde bulunabilir.



Türkiye’de naif hastalarda ilaç direnci

Viral popülasyonun dizi analizi ile

HBV

n=88

ilaç direnci; **%17**

Sayan M., *et al.* Journal of Viral Hepatitis, 2010;17(1):

HIV

n=117

ilaç direnci; **%7.6**

Sayan M., *et al.* Jpn J Infectious Diseases, 2013 (baskıda);

HCV

Klinik VHÇG Ulusal Projesi:

Türkiye’nin HCV ilaç direnci haritası

n=200?, ilaç direnci; ?

Telaprevir ve boseprevirle doğal ilaç direnci

Hastaların <%2.8'inde dirençli varyantlar tespit edilebilmektedir^{1,2}

Başlangıçta varyantlar mevcut olması SVR'yi engellememektedir^{1,3,4}

Çalışma 1

Daha önce tedavi görmemiş 570 hastaya ilişkin popülasyon dizi analizi¹

- <%1

Çalışma 2

Daha önce tedavi görmemiş olan 570 hastaya ilişkin direkt dizi analizi ²

- %0.3–2.8

Çalışma 3

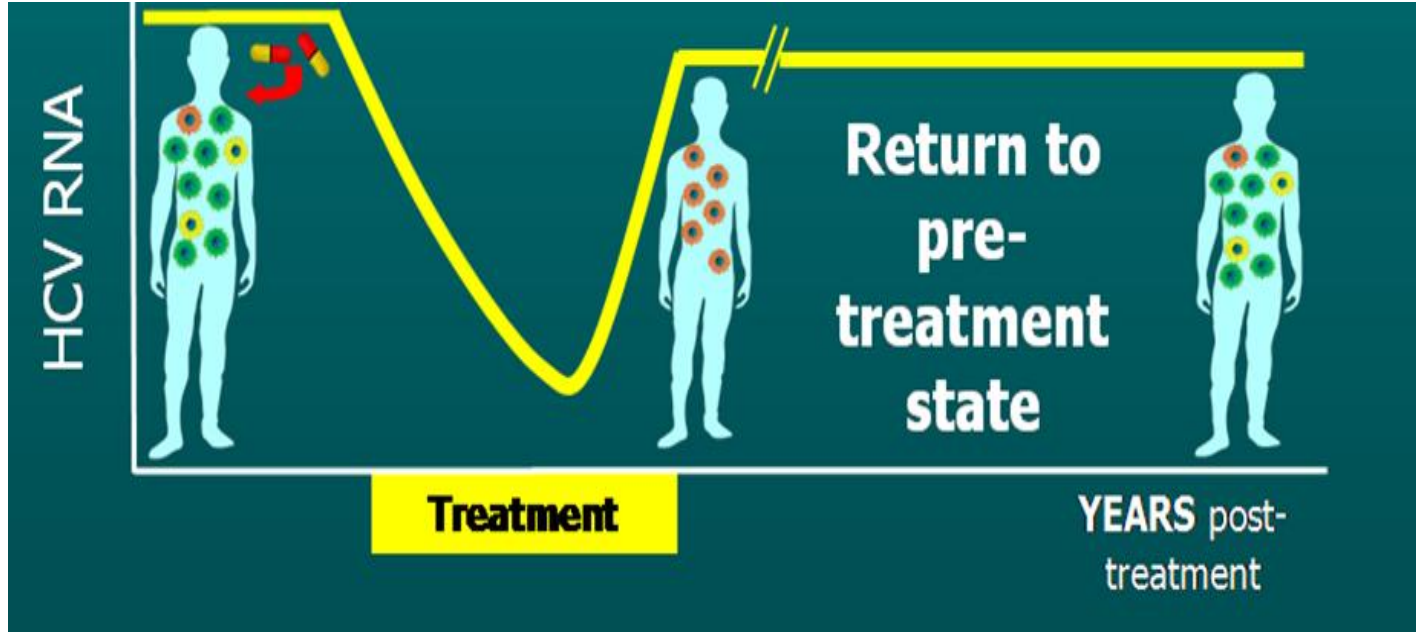
Daha önce Peg-IFN/RBV ile tedavi edilmiş olan hastalara ilişkin popülasyon dizi analizi ⁴

- %0.3–1.8

1. Bartels DJ, et al. J Infect Dis 2008;198:800–7; 2. Kuntzen T, et al. Hepatology 2008;48:1769–78

3. Vierling JM, et al. Hepatology 2010;52(Suppl.):702A; 4. De Meyer S, et al. J Hepatol 2011;54(Suppl. 1):S475

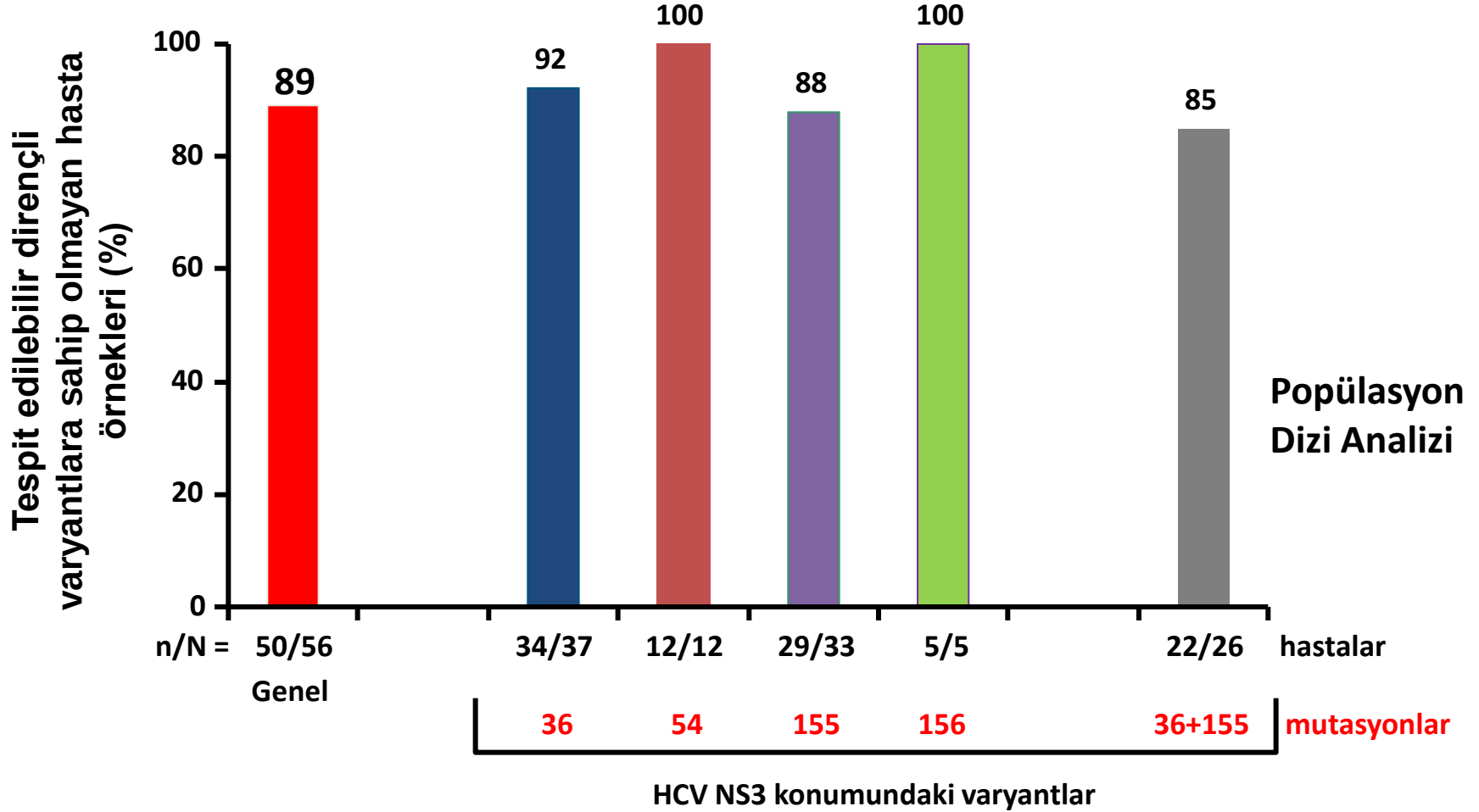
Uyumsuz hasta tedavilerinde, var olan telaprevir ve boseprevir direnci yeniden ortaya çıkabilir.



EXTEND: tasarım ve amaçlar

- Faz II ve III klinik çalışmalarında telaprevir bazlı bir rejimle tedavi edilen hastalar üzerinde yürütölen çok uluslu, 3 yıllık takip çalışması.
- Amaçlar:
 - Daha önceki bir çalışmada telaprevir bazlı tedaviyi takiben SVR elde etmiş olan hastalarda **virolojik yanıtın uzun süreliiliğinin değeriendirilmesi**
 - SVR elde edememiş olan hasta özdeş gruplarında **HCV varyantlarında zaman içinde meydana gelen değışikliklerin değeriendirilmesi**
- Hastalar çalışmaya dahil edildikleri sırada ve dahil edilmelerinin ardından 6 ay ve 1, 2 ve 3 yıl sonra değeriendirilmiştir.

EXTEND: hastaların %89'u artık tespit edilebilir dirençli varyantlara sahip değiller.

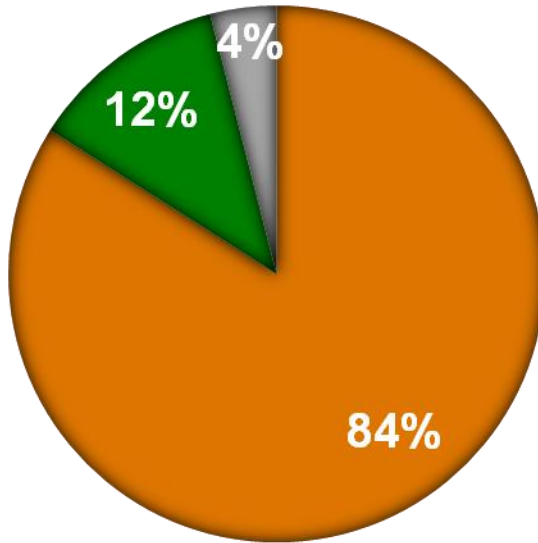


Önceki çalışmanın sonundan itibaren geçen medyan süre 25 aydır (range 7–36 ay)

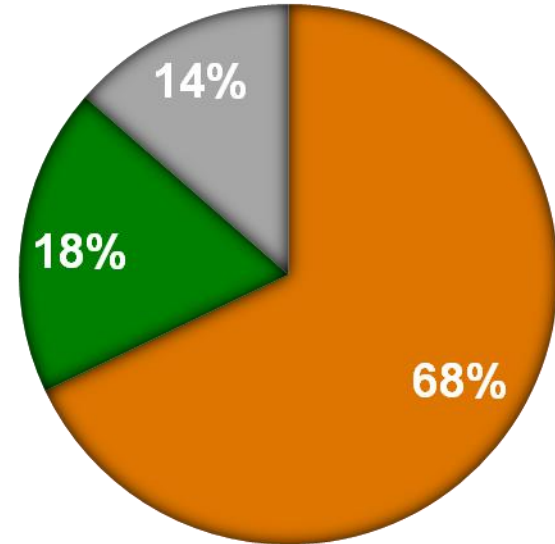
Tedavi başarısızlığında,
yüksek oranda ilaç direnci oluşmaktadır.

**Faz III klinik aşamada, telaprevir tedavisi altındaki hastalarda,
ilacın eksikliğinde saptanan HCV varyantları :**

**Virolojik alevlenme görülen hastalar
(n=125)**



**Relaps görülen hastalar
(n=90)**

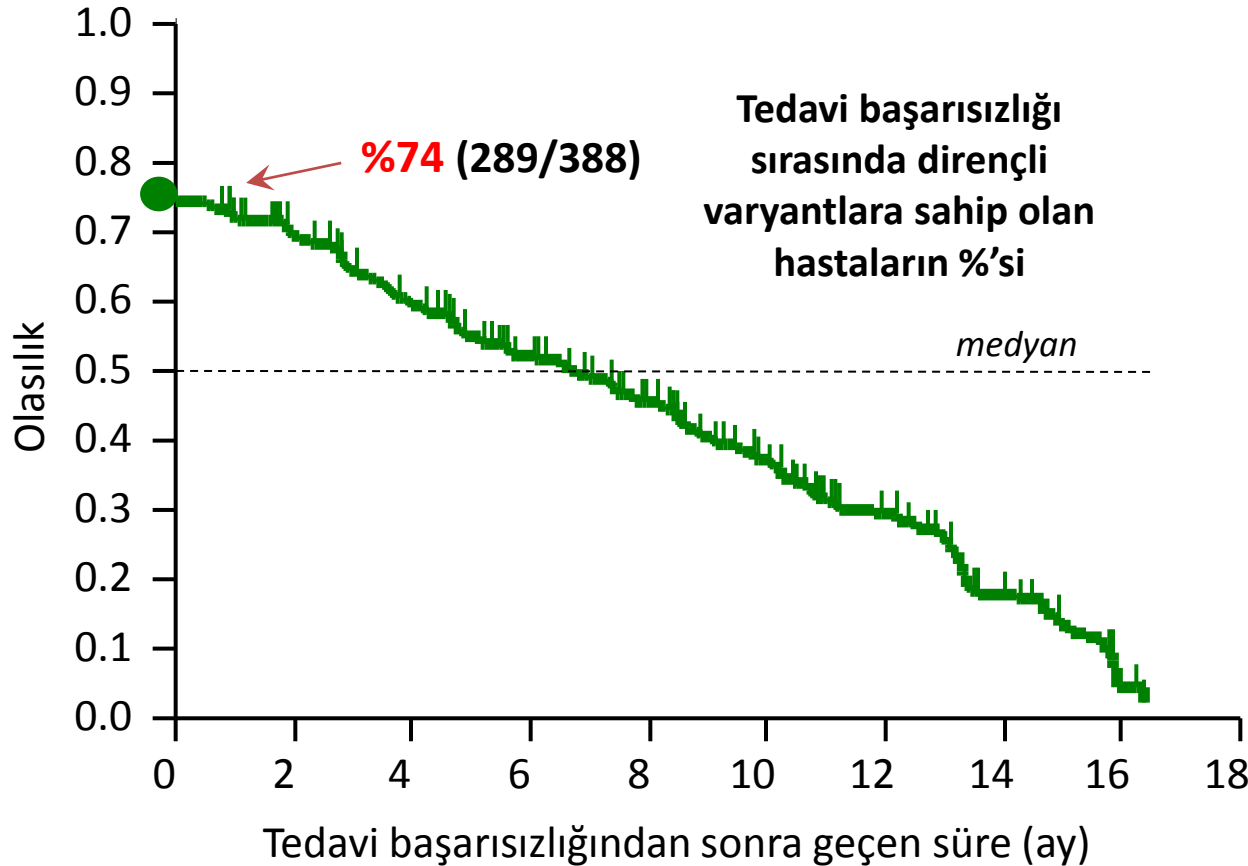


■ Dirençli varyant

■ Doğal tip

■ Veri yok

Telaprevir Faz III çalışmaları: tedavi başarısızlığının ardından dirençli varyantların tespit edilme olasılığı

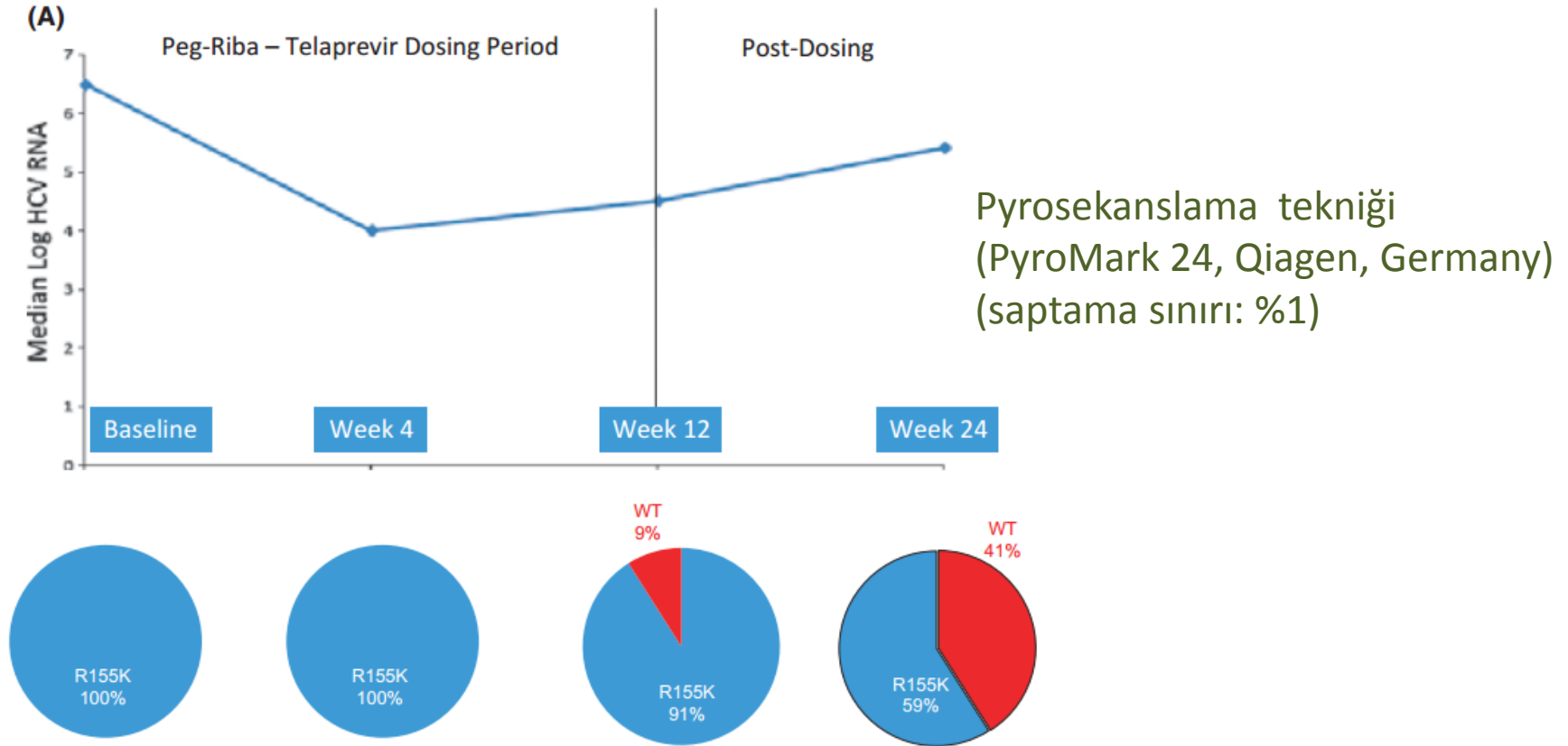


Doğal tip olma olasılığı ¹	
Süre (ay)	Olasılık
0	%26
3	%36
6	%48
12	%71
16	%96

- Popülasyon dizi analiziyle doğal tip oluşumuna kadar geçen medyan süre: 7 ay (%95 CI: 5 - 8)

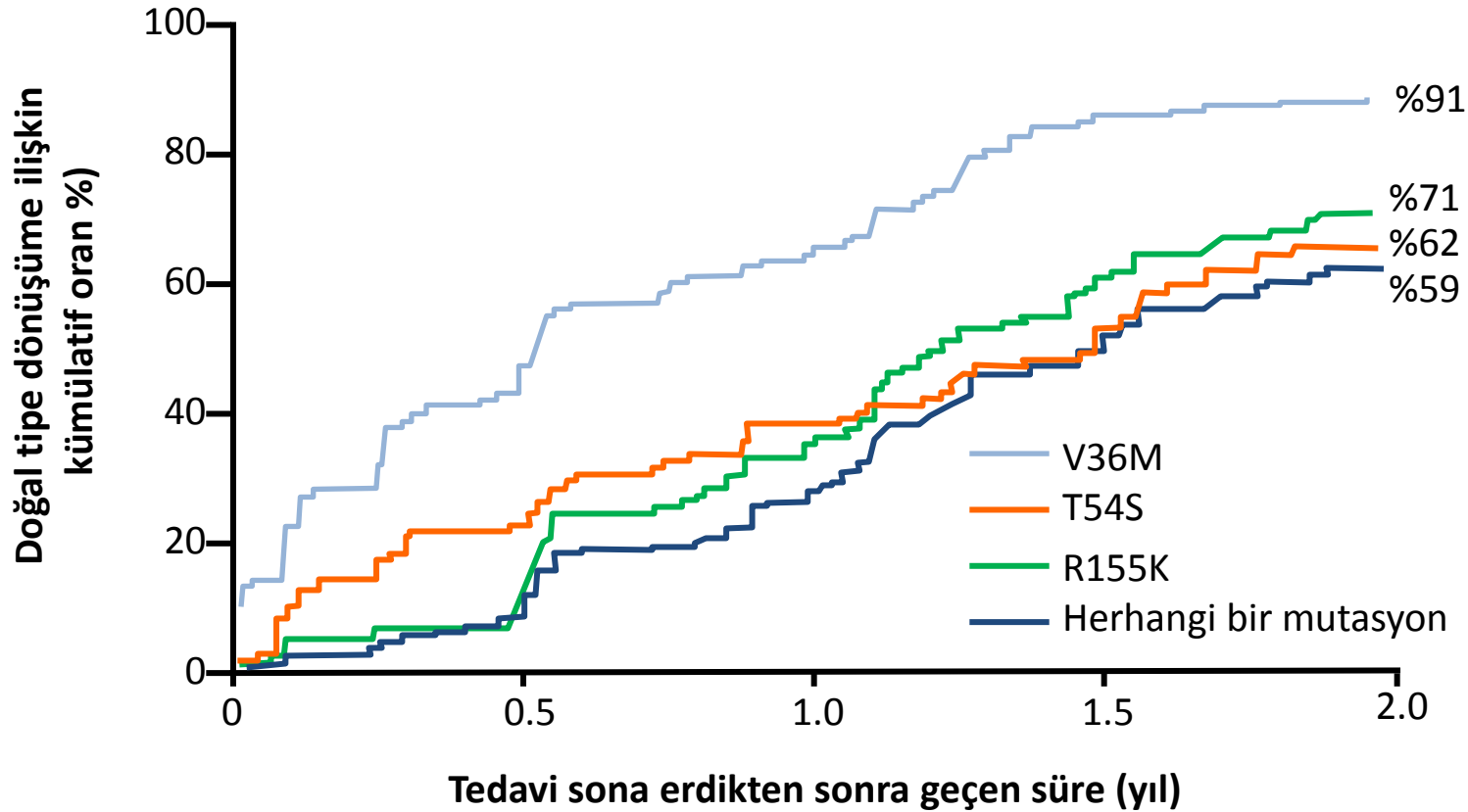
¹Popülasyon dizi analizi kullanılarak elde edilen Kaplan-Meier tahminlerine dayanmaktadır;

SVR elde edilemeyen naif hastalarda (HCV genotip 1, n=39)
NS3 inhibitörü mutasyonu (R155K); viral breakthrough
dinamiği, -klinik önemini anlamada ileri çalışmalara ihtiyaç var-.



Boseprevire ilişkin uzun dönemli takipte doğal HCV tipine dönüşüm

SVR elde edilemeyen 174 hasta ≥ 2 yıl takip edilmiştir



SVR geliştiremeyen hastalarda NS3 inhibitörü mutasyonları genotip 1 içinde farklılıklar gösterebilir.

Variant	% of sequenced patients	
	Subtype 1a	Subtype 1b
WT	16%	46%
V36M	10%	3%
R155K	20%	0%
V36M+R155K	46%	0%
V36A	3%	16%
T54A	<1%	22%
A156S/T	3%	13%

Peg-IFN + RBV + oral antiviral kombinasyonu arasında çapraz direnç bulunmamaktadır.

Target	Variant	NS3 Covalent: Slow Reversible	NS3 Non- covalent: Linear and Macrocylic	NS5A inhibitor	NS5B nucleoside	NS5B Palm	NS5B Thumb 1	NS5B Thumb 2	Peg-IFN	RBV
NS3 Protease	V36M	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	T54A	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	R155K	R	R	S	S	S	S	S	S	S
	A156T	R	R	S	S	S	S	S	S	S
	D168V	S	R	S	S	S	S	S	S	S
NS5A	L31V	S		R	S	S	S	S	S	S
	Y93H	S		R	S	S	S	S	S	S
NS5B	S282T	S		S	R	S	S	S	S	S
	C316Y	S		S	S	R	S	S	S	S
	M414T	S		S	S	R	S	S	S	S
	R422K	S		S	S	S	S	R	S	S
	M423T	S		S	S	S	S	R	S	S
	P495S	S		S	S	S	R	S	S	S

S = Susceptible
(< 4 fold shift in HCV replicon
EC50)

R = Resistant
(>4 fold increase in EC50)

HIV’de yaşam süresi ne kadar uzadı?

1985: aylar

1995: yıllar

2005: on yıllar

Genetik bariyerin önemi.

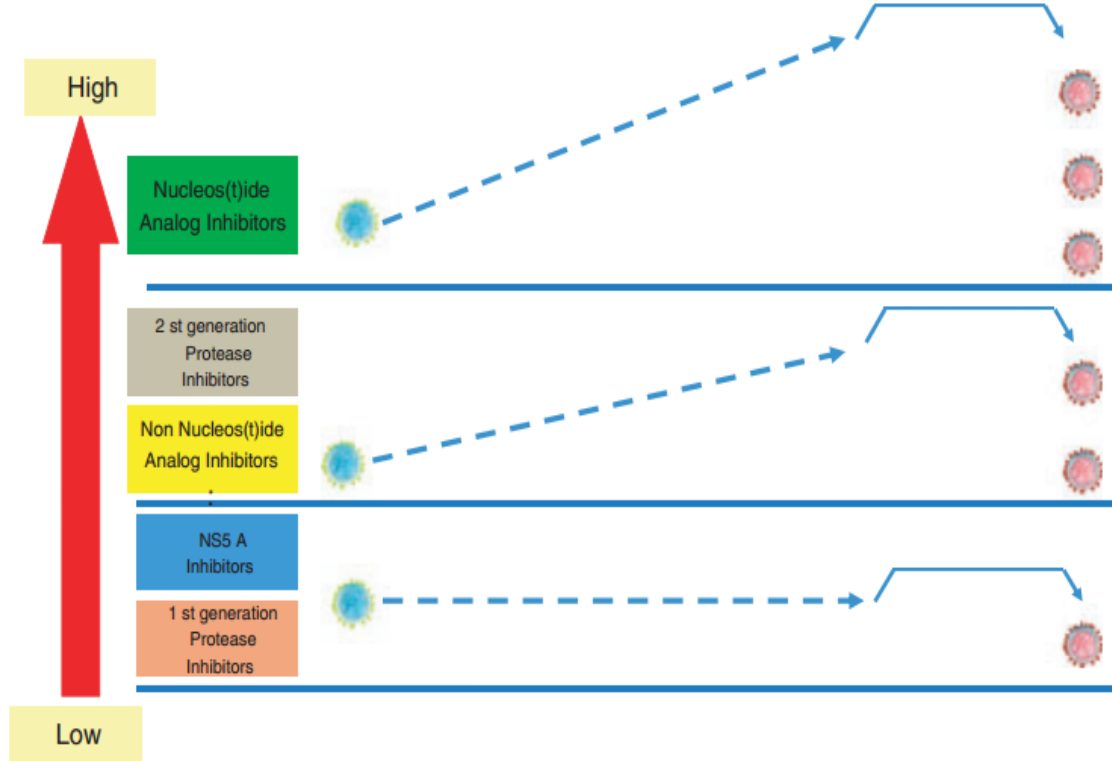


Fig. 1. Genetic barriers (low to high) for HCV direct acting antiviral agents. The genetic barrier is defined by the number of mutations required for a virus to become drug resistant and the probability to select mutation in presence of a drug. Low barrier: primary mutation = low cost to fitness, can emerge quickly in contrast to high barrier: primary mutation = high cost to fitness and may require second or third mutation(s) to increase fitness.

Yeni HCV tedavilerinde NS3 ilaç direnci talebinizi belirleyecek olan önemli bir terminoloji:

- **Saptanamaz HCV RNA seviyesi:** Kullanılan tanı testinin saptama sınırlarının altında kalan HCV RNA yüküdür.
- Bu seviye “negatif” olmak zorunda değildir.

- **EASL HCV kılavuzu:**
2.4. The current standard of care and developing therapies., p 246:
The primary goal of HCV therapy is to cure the infection, which results in eliminating detectable circulating HCV after cessation of treatment.
- Sustained virological response (SVR), is defined as an undetectable HCV RNA level (<50 IU/ml) 24 weeks after treatment withdrawal.
- **4.4.2. HCV RNA detection and quantification, p 249, Recommendation:**
- HCV RNA detection and quantification should be made by a sensitive assay (**lower limit of detection of 50 IU/ml or less**), ideally a **real-time PCR assay**, and HCV RNA levels should be expressed in **IU/ml** (C1).

IL28B polimorfizm analizi: yeni tedavilerdeki yeri?

IL28B SNP rs1297 9860	PR (Ideal)		Telaprevir ⁵ (ADVANCE)		Boceprevir ⁶ (SPRINT-2)	
	ITT ⁴ Population	Adherent ³ Population	TVR/PR	PR control	BOC/PR*	PR control
CC	69%	~79%	90%	64%	80-82%	78%
CT	33%	~38%	71%	25%	65-71%	28%
TT	27%	~26%	73%	23%	55-59%	27%

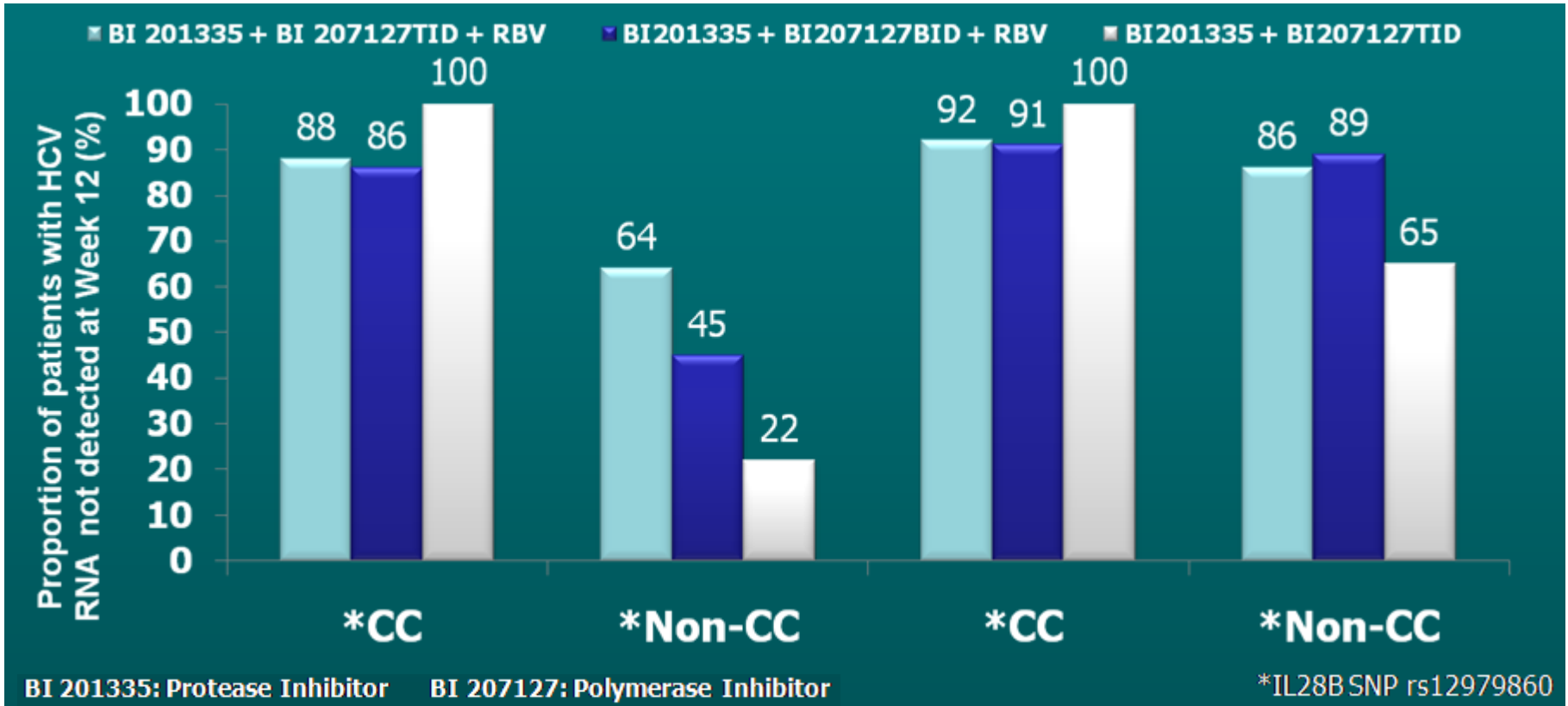
Tanaka Y., et al. Nature Genetics, 2009; 41:1105-1109.

Thompson AJ., et al. Gastroenterol, 2010; 139:120-129.

Ge D., et al. Nature, 2009; 461:399-401

IL28B polimorfizm etkinliği, Peg-IFN'suz rejimlerde de gösterildi.

HCV tip 1 tedavisinin 12.haftasında saptanamaz HCV RNA seviyelerine göre:



NS3 inhibitör direncinin esasları: sonuçlar

- Direnç, tedavi başarısızlığı nedeniyle ortaya çıkmaktadır.
- SVR elde edilen hastalarda ilaç direnci sorun oluşturmamaktadır.
- Uyumsuz hasta tedavileri, ilaç direncini bulaştırılabilir hale getirebilir.
- Daha önce tedavi görmüş ve görmemiş olan hastalarda popülasyon dizi analizlerine göre dirençli varyantlar zaman içinde azalmaktadır.
 - Ancak bu durumun gelecekteki tedaviler açısından klinik anlamı henüz bilinmemektedir.
- Aynı sınıf ilaçlarla yeniden tedavilerde ilaca direnci mutasyonlar, daha hassas yöntemlerle (Pyrosekans) ele alınmalıdır.
- Saptanamaz HCV RNA düzeyi, NS3 inhibitör tedavilerinde başarı kriterlerinden biridir.
- IL28B polimorfizm analizi, yeni HCV tedavilerinde başarıyı kestirmede kullanılabilir.



VHÇG ulusal projesi

“Türkiye’nin kronik hepatit C
oral antiviral ilaç direnci
haritası”

Amaç

Ulusal ölçekte;

- NS3 ve NS5 inhibitörlerine karşı gelişen ilaç direnci ve sorumlu mutasyonların ortaya çıkarılması
- HCV genotip/subgenotiplemenin yapılması

Projenin özellikleri

- Proje, “gerçek yaşam” temeline dayanmaktadır.
- Proje, anlık ve sürekli bir izleme dayanmaktadır
- Analiz edilecek hasta sayısı önceden tanımlanmış değildir.
- Projenin belirlenmiş bir bütçesi bulunmamaktadır.
- Proje, kaynak bulunduğu sürece devam edecektir.

VHÇG'nin projedeki hakları

- Proje verileri bilim dünyasına VHÇG tarafından yıllık olarak sunulacaktır.
- Ortaya çıkan veriler, katılımcı lokal merkezler tarafından sunulmayacak ve yayınlanmayacaktır.
- Makale, olgu sunumu, derleme vb. yazımı VHÇG tarafından organize edilecektir.
- Verilerin hangi uluslararası toplantılara götürüleceği ve nasıl sunulacağı VHÇG tarafından belirlenecektir.

Analiz, metodoloji, çıktılar:

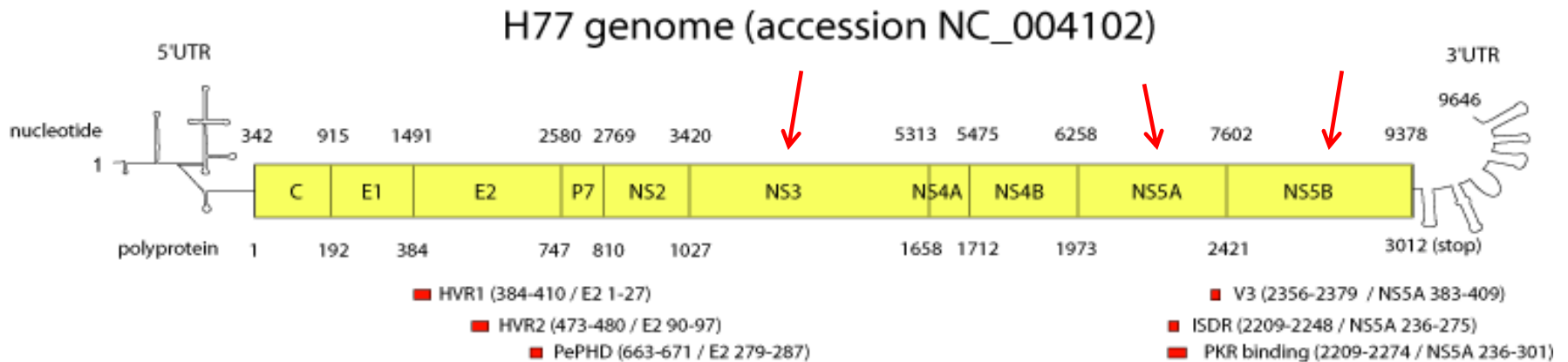
Projenin metodolojisi

- Proje, direkt (populasyon) sekanslama yöntemi ile veri üretecektir.
 - RNA izolasyonu
 - cDNA yapımı
 - HCV PCR (nested)
 - PCR ürün saflaştırma
 - HCV sekanslama
 - Analiz ve raporlama

Analiz edilecek bölgeler

REVERS TRANSKRIPTAZ (RT): kodon: 2421-3012

PROTEAZ : kodon: 1027-1658



HCV projesinin ana çıktıları

1. NS3 (proteaz) geni mutasyon analizi
2. NS5A/B (RT) geni mutasyon analizi
3. Çoklu ilaç direnci analizi
4. HCV genotipleme
5. HCV subtipleme
6. HCV rekombinasyon analizi

*VHÇG üyeleri, analiz sonuçlarını kendi rutin takiplerinde kullanabilecektir.

S & C