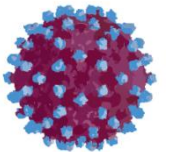


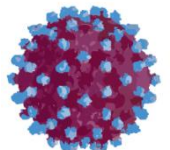
Direnç Gelişmesinin Nedenleri ve Mekanizmaları

Dr. Ziya Kuruüzüm
DEÜTF Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji AD



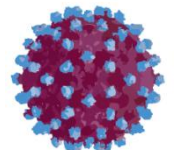
Sunum Planı

- HCV epidemiyolojisi
- HCV'nin genomik yapısı
- HCV'nin yaşam döngüsü
- Doğrudan etkili antiviraller
- Direnç gelişiminin nedenleri
- Direnç gelişiminin mekanizmaları
- DAA'lar ve önemli direnç bölgeleri



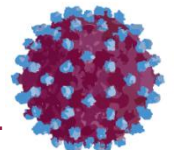
HCV Enfeksiyonu

- Küresel bir halk sağlığı sorunu
- Son 15 yılda seroprevalansta artış (% 2,3 > 2,8)
- 170 milyon kişi enfekte
- 3-4 milyon/yıl yeni enfeksiyon
- 350,000/yıl ölüm



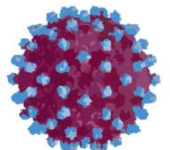
Kronik Hepatit C Tedavisi

- Standart tedavi (2011): PEG IF + RBV
 - ◆ Uzun süreli
 - ◆ Yan etkileri çok
- Doğrudan etkili antiviraller (DAA) çağı
 - ◆ Hedef: Spesifik HCV proteinleri
 - ◆ Virüsün yaşam siklüsünün blokajı
 - ◆ Yan etki az
 - ◆ DAA ± IF

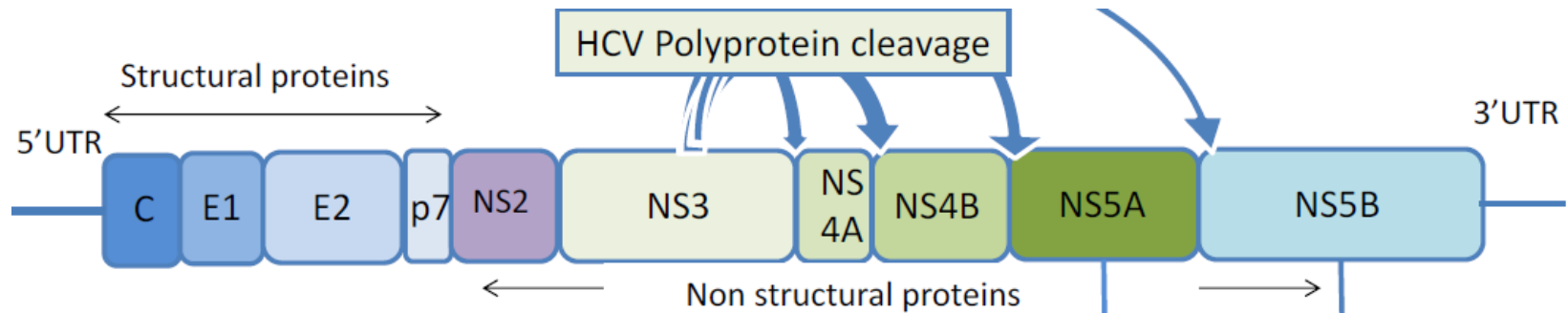


Direnç Gelişiminin Nedenleri

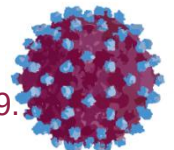
- HCV heterojenitesi
- HCV genotipleri
- HCV subtipleri
- İzolat çeşitliliği
- Direnç bariyeri
- Farmakokinetik
- Kompliyans



HCV Genomik Yapısı

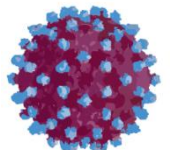


- Genom, 9 kb uzunluğunda
- Bir adet açık okuma bölgesine (ORF) sahip
- Yapısal (3) ve yapısal olmayan (7) proteinler
- Yapısal olmayan proteinler; **viral replikasyon**
- **DAA hedefi** > yapısal olmayan proteinler



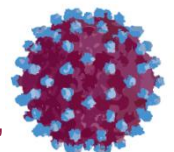
HCV ve Yaşam Döngüsü

- Çok hızlı yaşam döngüsü
 - ◆ Yarılanma ömrü 2-5 saat
 - ◆ 10^{10} - 10^{12} viriyon/gün üretim/klirens
- HCV RNA bağımlı RNA-polimeraz (NS5B) onarım mekanizması sınırlı
- Hata oranı: 1/1000 - 1/100,000 mutasyon/replikasyon
- Çok sayıda viral varyant



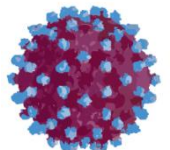
Viral Quasispecies

- Varyantların büyük bölümü yok olur
 - ◆ Replikasyon yeteneği yoktur
 - ◆ Kodladıkları proteinlerin fonksiyonu yoktur
 - ◆ Konak immün sistemi temizler
- Bir bölümü ise değişik izolatlar şeklinde yaşar
 - ◆ “Viral quasispecies”
- Bir izolat genellikle çok baskındır
 - ◆ “Wild type - Vahşi tip”
- Sıklığı replikasyon kapasitesiyle doğru orantılıdır



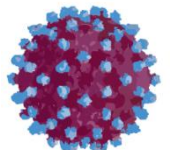
Viral Quasispecies ve Direnç

- Varyantlar, doğal ortamlarında, ilaç baskısı olmaksızın varlıklarını koruyabilirler
- Antivirallere karşı farklı direnç profillerine sahip olabilirler
- Tedavi sırasında dirençli olanlar seleksiyona uğrayıp tedavi yanıtısızlığına neden olabilirler
- Başlangıçta yanıt var gibi gözüken, aslında saptanabilir seviyenin altında canlılığını sürdüren popülasyonlar bulunabilir (relaps)



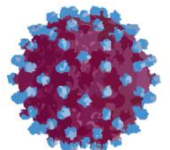
HCV Genotip ve Subtipleri

- HCV'nin filogenetik gelişiminde
 - ◆ >6 genotip (nükleotid sekanslarında %31-33 fark)
 - ◆ >100 subtip (nükleotid sekanslarında %20-25 fark)
- Dolayısıyla antiviraller her hastada farklı genotip, subtip ya da izolatla karşılaşmakta, hiçbir ilacın etkisi bir diğerinin aynısı olmamaktadır

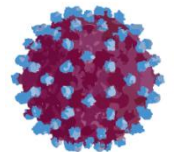
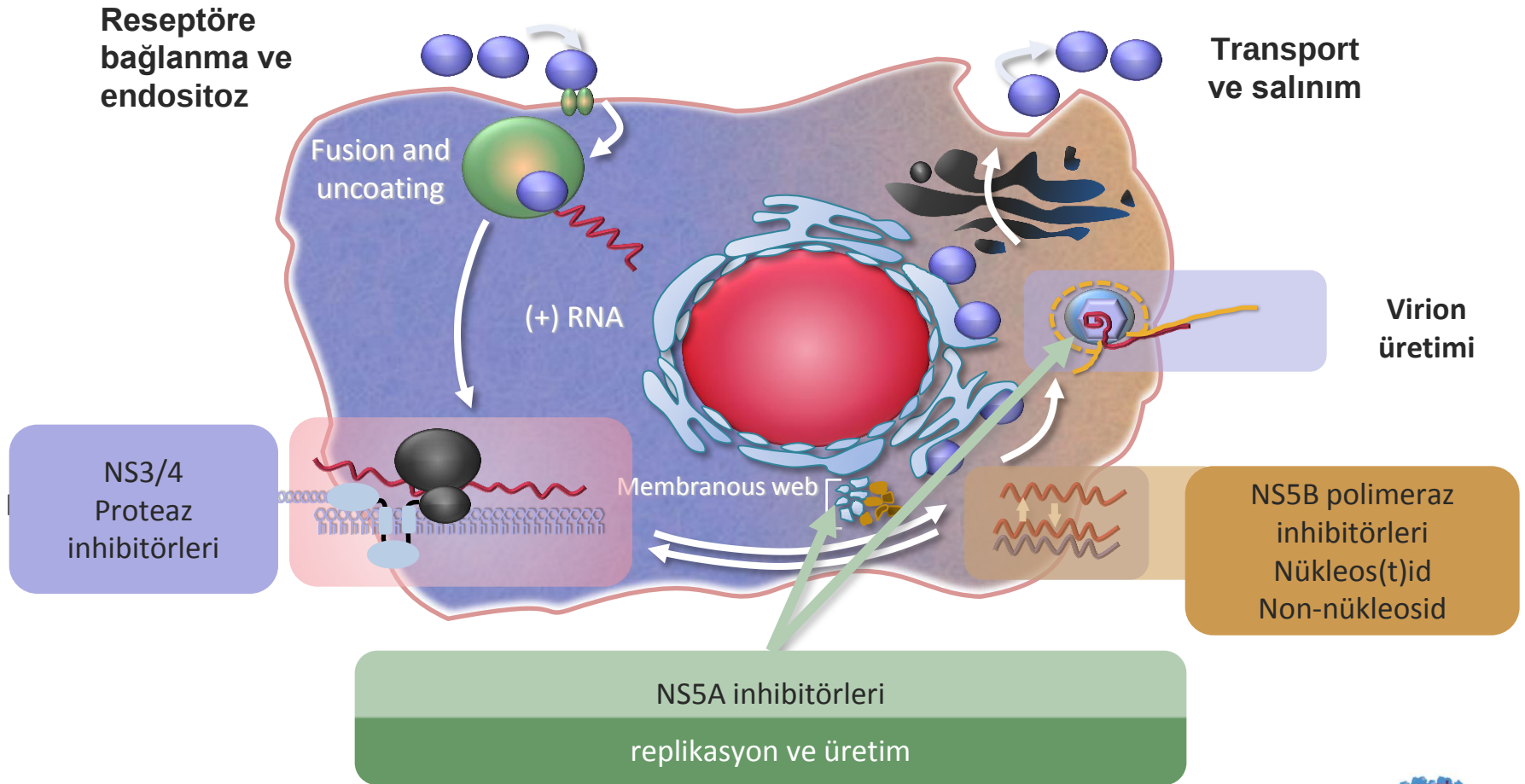


HCV Genomunda Korunmuş Bölgeler

- İyi haber; varyasyonlar HCV genomuna eşit dağılmamıştır
- En fazla korunmuş bölgeye etkili antiviral = daha etkili
 - ◆ RNA bağımlı RNA-polimeraz (NS5B) aktif bölgesi

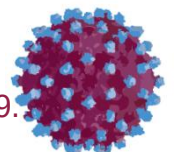


HCV Yaşam Siklusu İçin Hedefler



Doğrudan Etkili Antiviraller

- NS3/NS4A inhibitörleri
- NS5A inhibitörleri
- NS5B nükleozid inhibitörleri
- NS5B non-nükleozid inhibitörleri



Doğrudan Etkili Antiviraller

NS5B-NI

Orta potens
Pangenotipik etkililik
Dirence karşı yüksek bariyer

NS5B-NNI

Orta potens
Sınırlı genotipik etkililik
Dirence karşı düşük bariyer

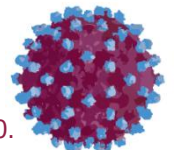
DAA

NS3/4A Inhibitörleri

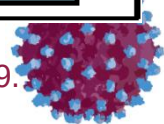
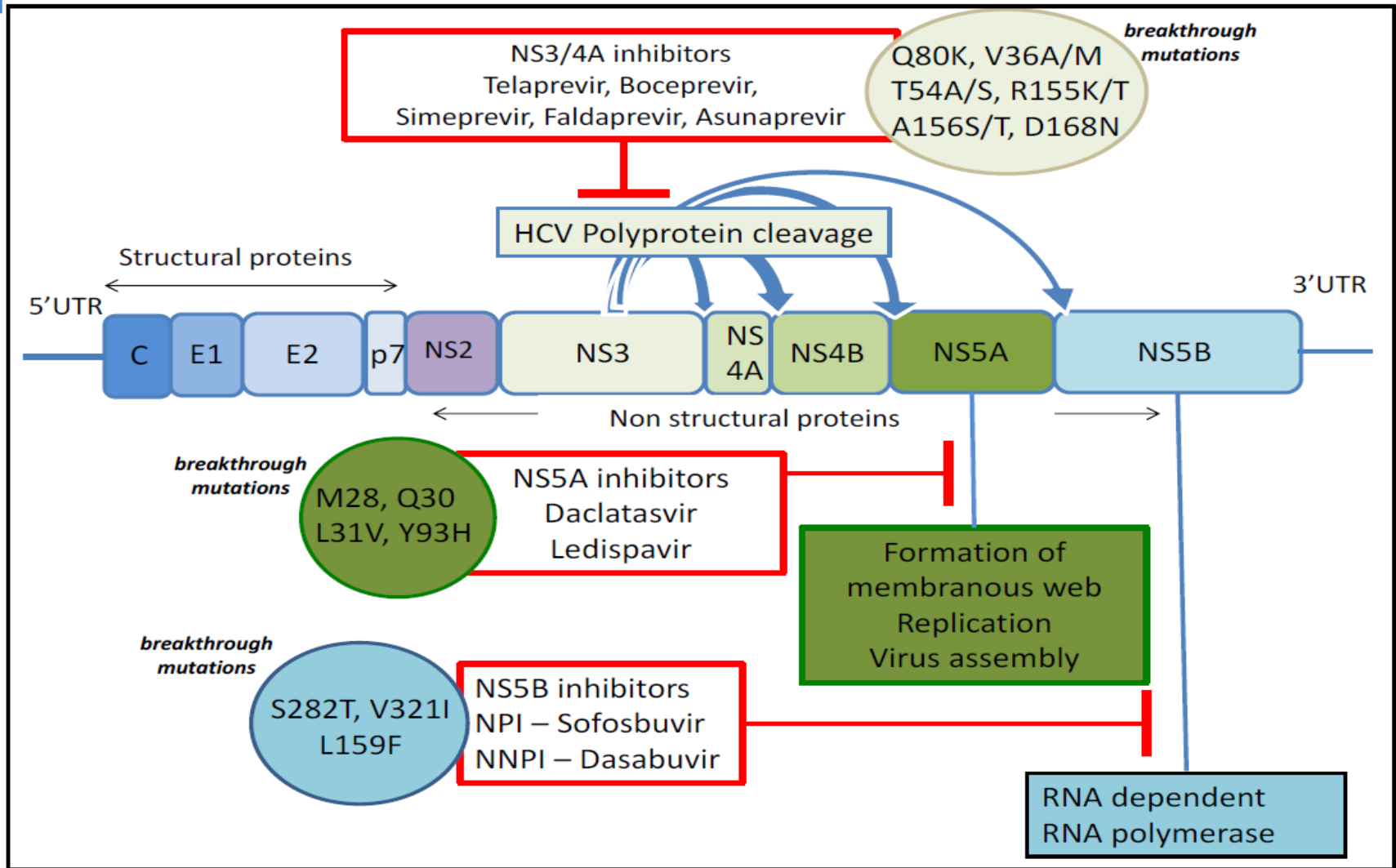
Yüksek potens
Sınırlı genotipik etkililik
Dirence karşı düşük bariyer

NS5A Inhibitorleri

Yüksek potens
Multi genotipik etkililik
Orta derecede direnç bariyeri

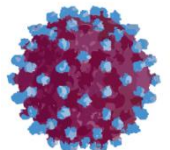


Doğrudan Etkili Antiviraller İçin Hedefler



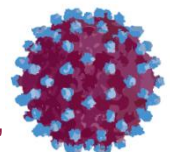
HCV Genotipleri ve Direnç

- Çoğu DAA genotip-1 izolatları için dizayn edilmiştir
- Çalışmaların çoğu da genotip-1 hastalarda yapılmıştır
- Telaprevir; NS3 proteaz inhibitörü
 - ◆ Genotip-1: 4,4 Log düşüş
 - ◆ Genotip-2: 3,9 Log düşüş
 - ◆ Genotip-3: 0,5 Log düşüş
 - ◆ Genotip-4: 0,9 Log düşüş
- Boceprevir; genotip 2-3'de benzer



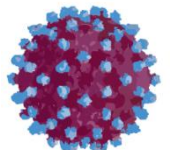
HCV Subtipleri ve Direnç

- HCV genom sekanslarında değişiklik
 - ◆ Genotipler>subtipler
- Antiviral etkinlikte daha az değişkenlik beklentisi
- Telaprevir; (PROVE) 12 hastada viral breakthrough
 - ◆ Genotip-1a: 11/12 hasta (tek bir nükleotid değişikliği yeterli)
 - ◆ Genotip-1b: 1/12 (iki nükleotid değişikliği gerekli)
 - ◆ R155K
- Boceprevir; genotip 2-3'de benzer



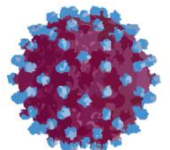
HCV İzolatları ve Direnç

- Herhangi bir subtip içinde bile aminoasit sekanslarında değişiklik gözlenebilir
- Bu izolatlar antiviral etkinliği değiştirebilir
- Direnç bariyerini etkileyebilir
 - ◆ PROVE 1/2'de, 4/570 hasta
 - ◆ Başlangıçta R155K varyant (dominant suş)
 - ◆ KYY yok



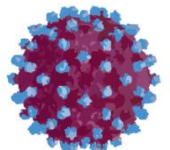
Direnç Bariyeri

- DAA'lara karşı direnç bariyeri bir çok faktörden etkilenmektedir
 - ◆ HCV genotipi
 - ◆ HCV subtipi
 - ◆ Antiviralin aktivitesi
 - ◆ Antiviralin farmakokinetiği
 - ◆ Hedefe bağlanma kapasitesi
 - ◆ Hasta kompliyansı



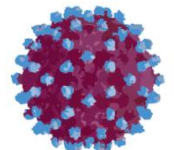
“Yüksek” Direnç Bariyeri

- HIV ve HBV çalışmalarından çıkarılan dersler
 - ◆ Esnek bağlanabilme yeteneği (mutasyon olsa bile)
 - ◆ Direnç gelişebilmesi için birden fazla aminoasit değişikliğinin gerekmesi
- Nükleozid analogları > NS3 inhibitörleri > Non-Nükleozid analogları



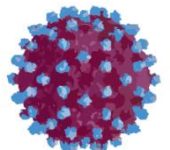
Farmakokinetik ve Direnç

- Tüm DAA'lar oral alım için geliştirilmiştir
- Yarılanma ömürleri uzundur
 - ◆ Telaprevir (orta)
 - ◆ Boceprevir (orta)
- Telaprevir Faz-1 çalışmasında
 - ◆ 2 X 1250 mg, 6/10 hastada direnç
 - ◆ 3 X 750 mg, 1/8 hastada direnç (standart tedavi)

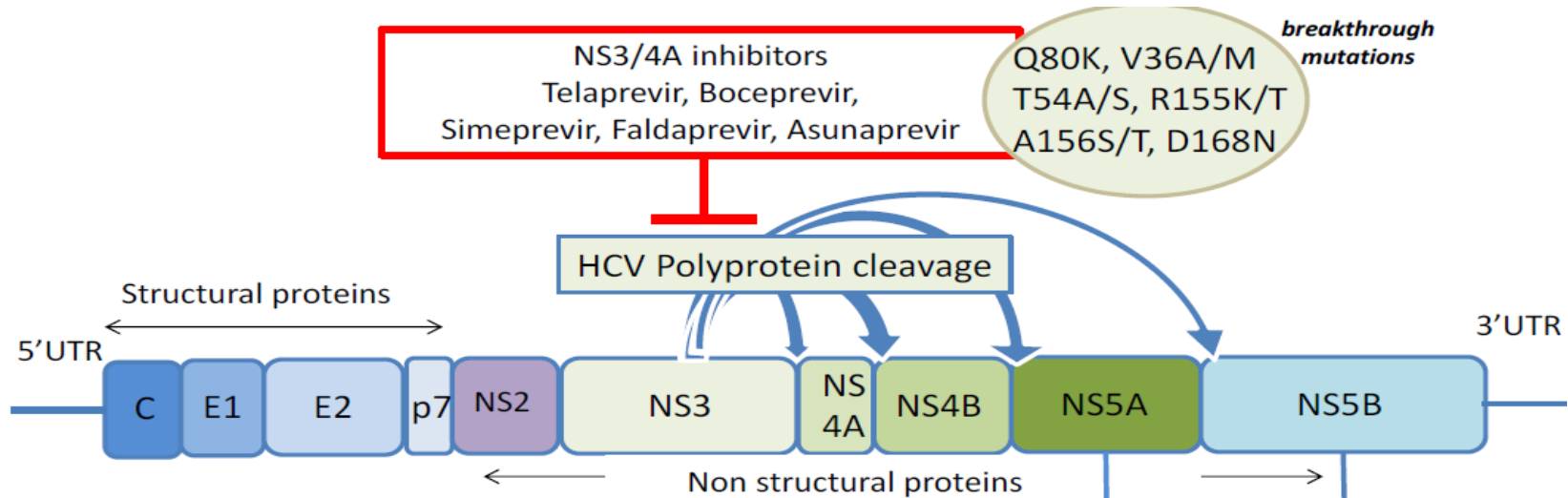


Kompliyans ve Direnç

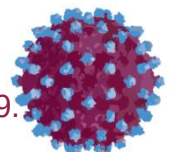
- HIV enfeksiyonu için kompliyans birinci derecede önemli
 - ◆ 3 X 1 tedavi rejimleri ile direnç gelişimi çok yüksek
 - ◆ 1 X 1 tedavi rejimleri ile direnç gelişimi azalmış
- Çoğu DAA'ların yarılanma ömürleri uzundur
 - ◆ Günde tek doz



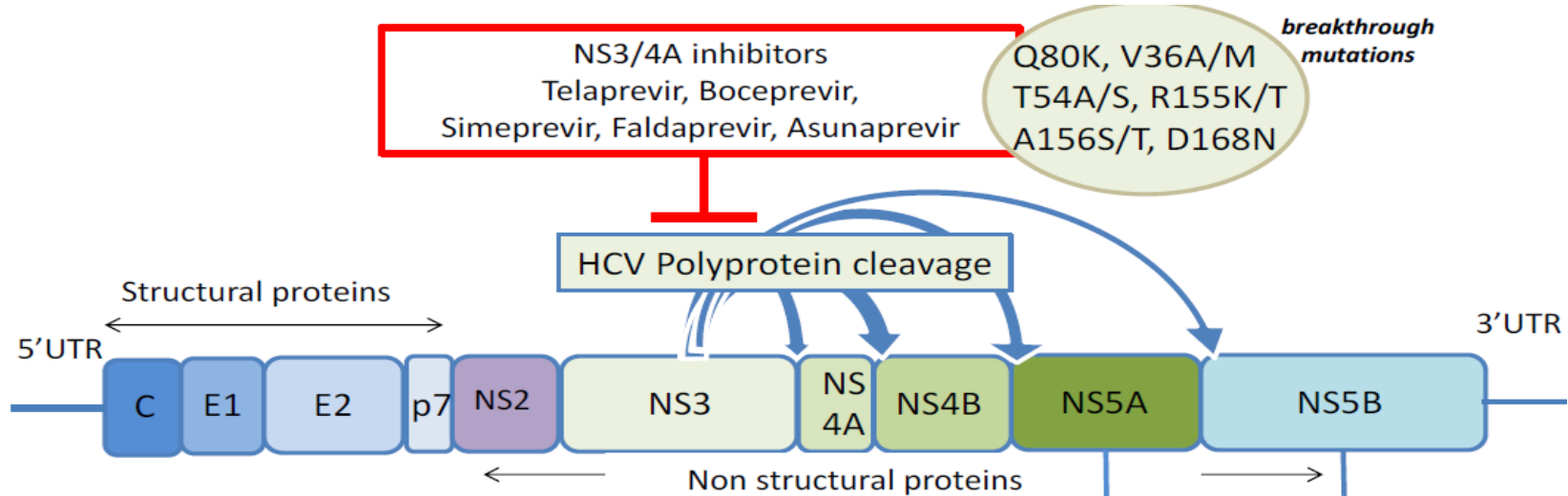
NS3/NS4A Proteaz İnhibitörleri



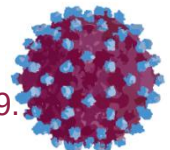
- Hedef viral proteaz NS3/4A
- Bu enzim HCV tarafından kodlanan poliproteini non-structural proteinlere ayırıyor
- NS3; proteolitik bölge, NS4; Kofaktör
- NS3/NS4A proteaz inhibitörleri X NS3



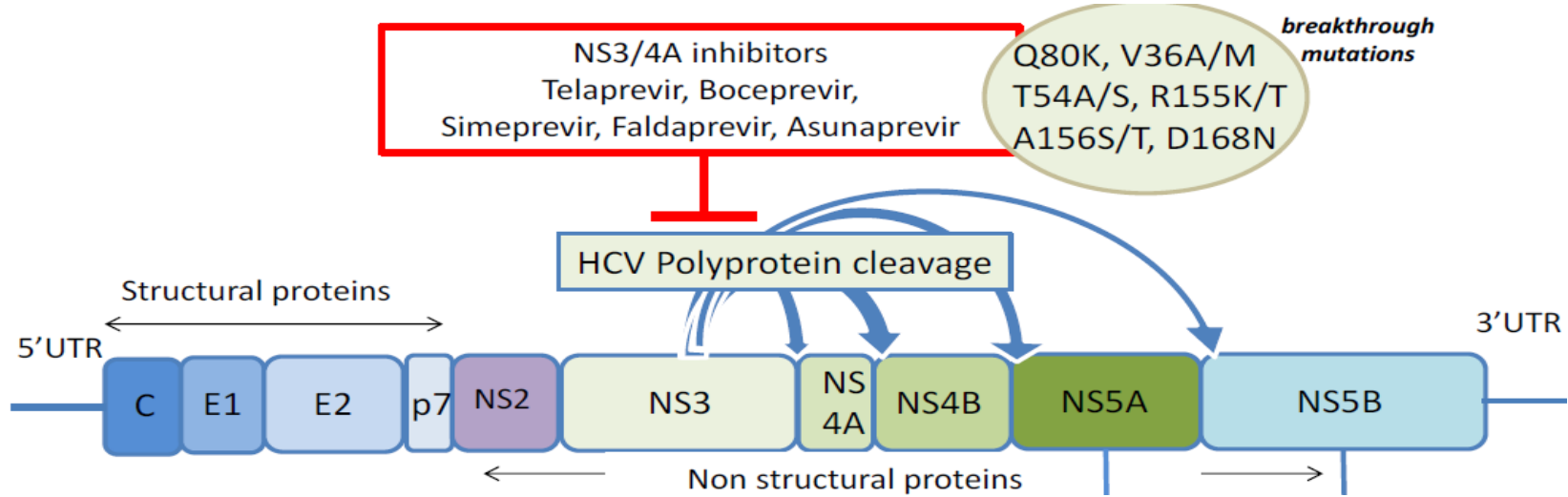
NS3/NS4A Proteaz İnhibitörleri ve direnç



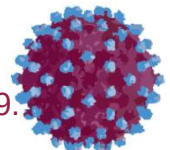
- Interferon üretiminin baskılanması
- NS3 proteaz = Serin/histidin/aspartat
- Bu enzim, inhibitörlerle gevşek bağlanmaktadır
- Birkaç kritik mutasyon = **Belirgin direnç**



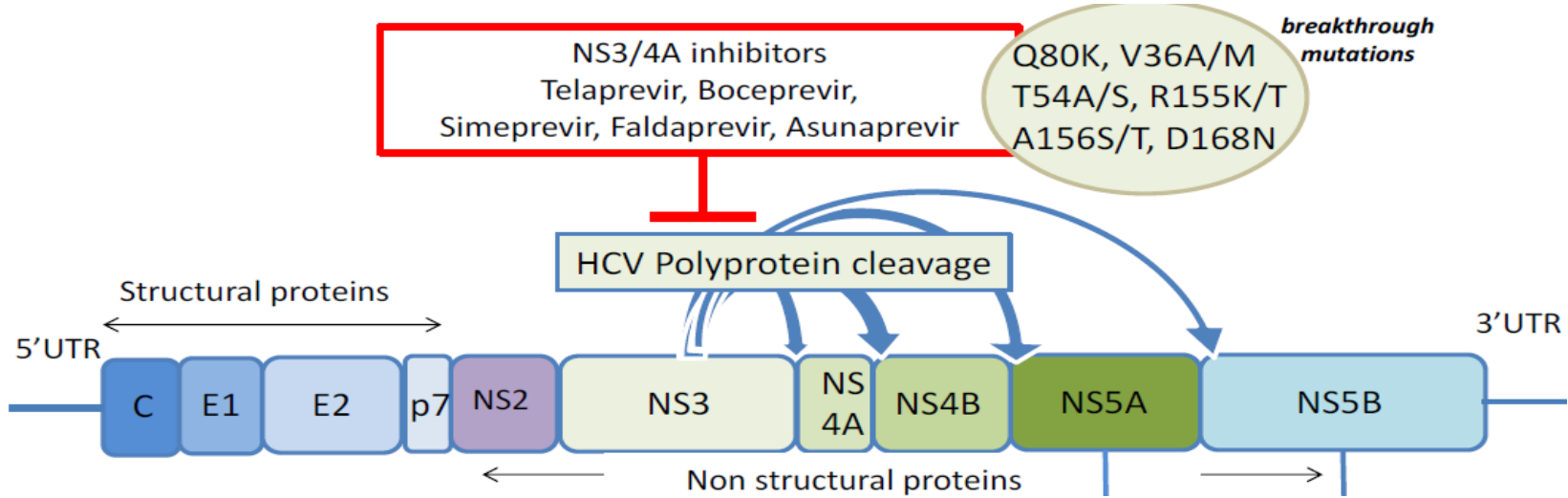
NS3/NS4A Proteaz İnhibitörleri ve direnç



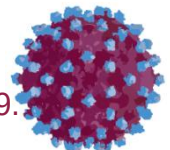
- Birinci kuşak; **TVR/BOC**
- İlk ruhsat alanlar
- Genotip - 1
- PEG IF/RBV/TVR veya BOC
- Düşük genetik bariyer



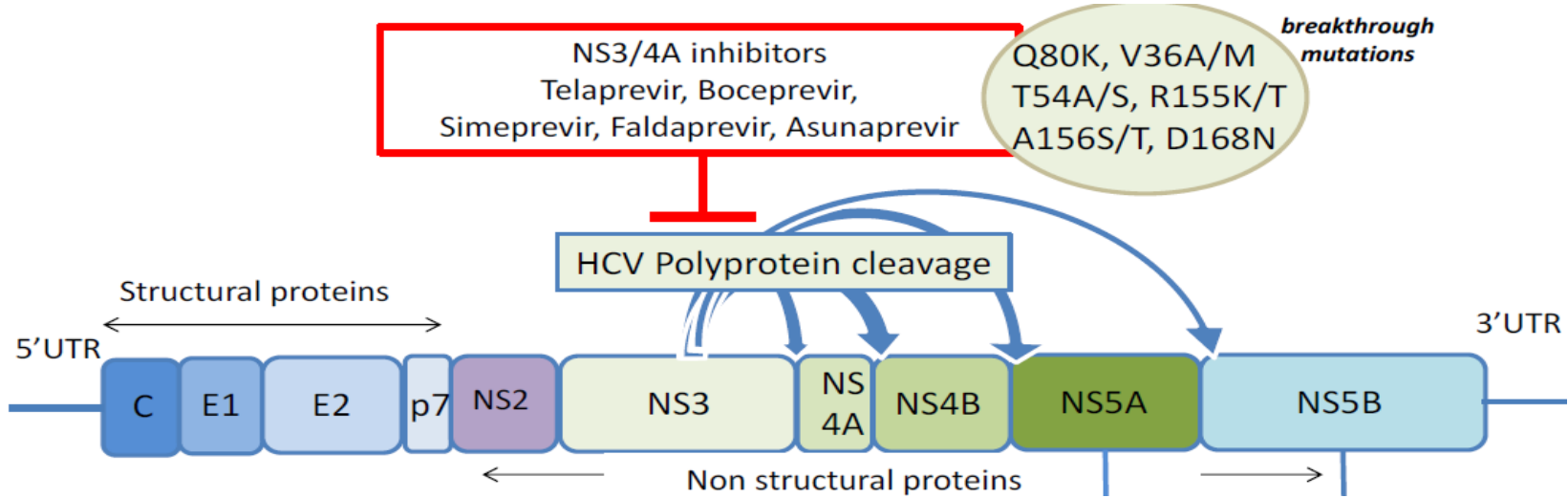
NS3/NS4A Proteaz İnhibitörleri ve direnç



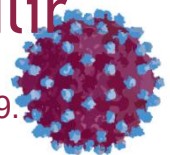
- Naive populasasyonda, direnç ilişkili varyant (RAV)
 - ◆ Genotip-1a: %8,6
 - ◆ Genotip-1b: %1,4
 - ◆ R155K
- Varlığı, her zaman tedavi başarısızlığı anlamına gelmez



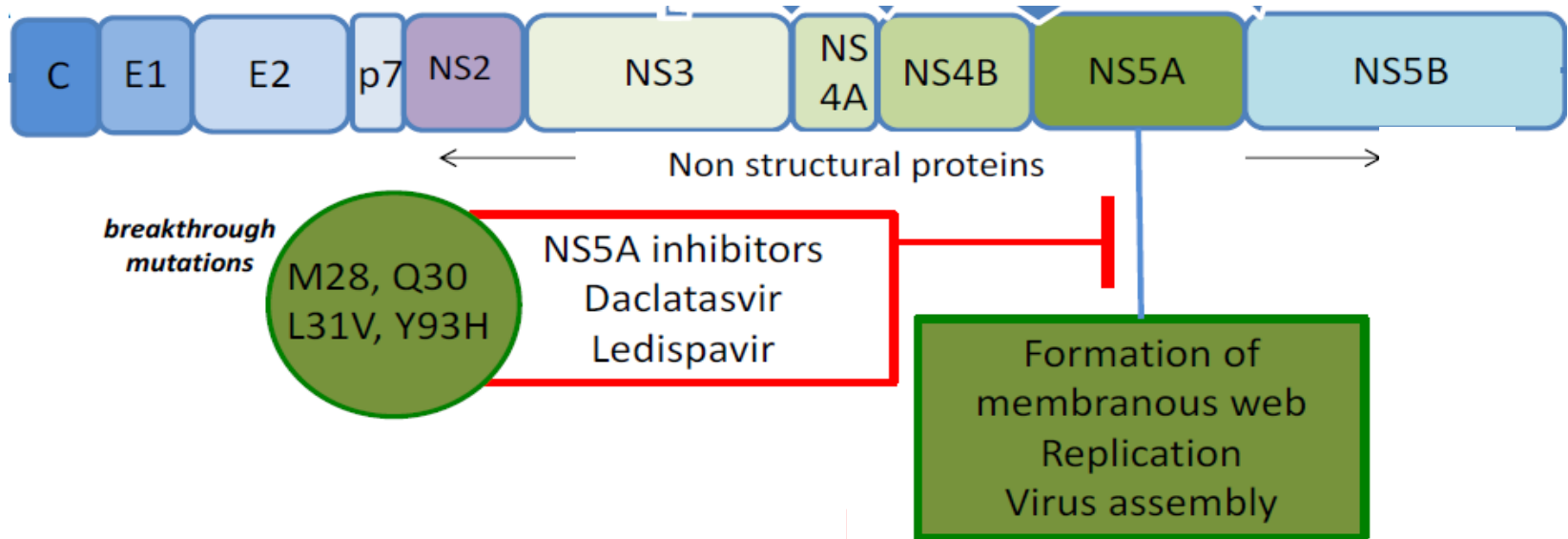
NS3/NS4A Proteaz İnhibitörleri ve direnç



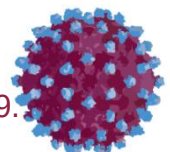
- İkinci kuşak; Simeprevir, Asunaprevir, Grazoprevir
- Daha etkin, ancak gene düşük genetik bariyer
- Genotip - 1a; **Q80K** polimorfizmi: % 19-48
- Simeprevirde **10 kat** duyarlılık azalması
- Sovaprevir ve Asunaprevirde daha az, tarama **önerilir**



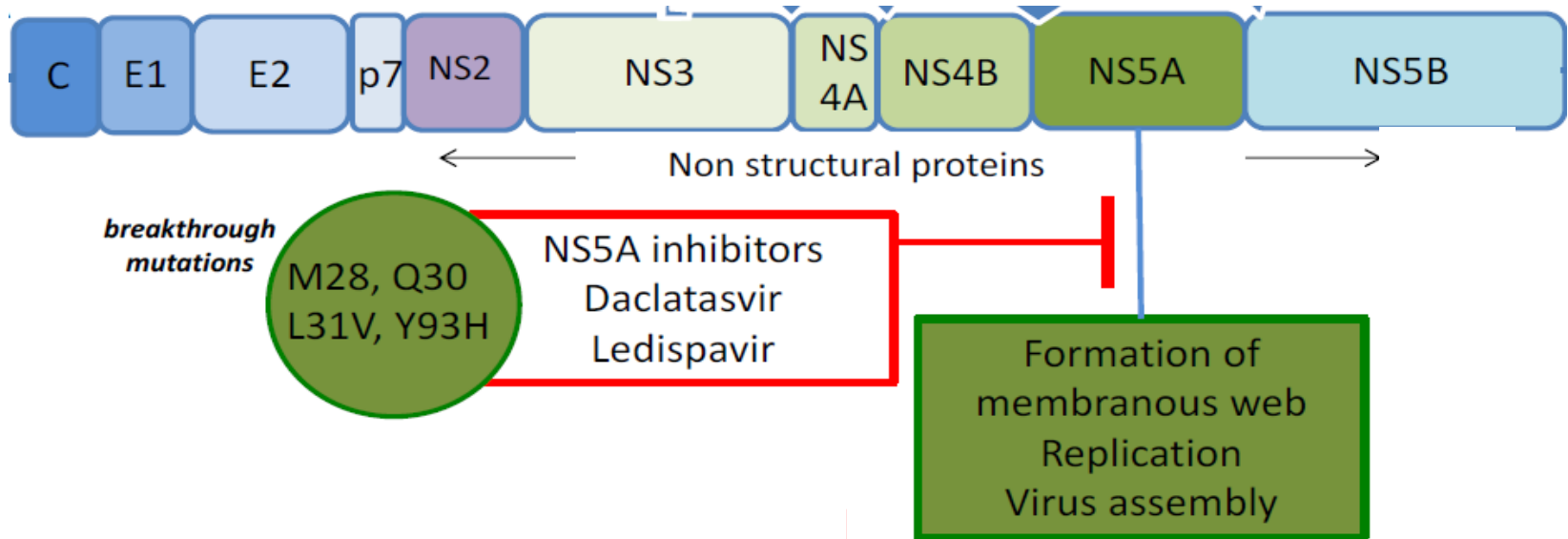
NS5A İnhibitörleri



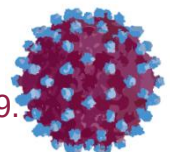
- NS5A proteini; Viral replikasyon, assembly, salınım
- Domain-1: (rep), Domain-2:(rep), Domain-3: (ass)
- İnhibitörler, NS5A'nın membranöz ve sellüler protein üretimini engeller



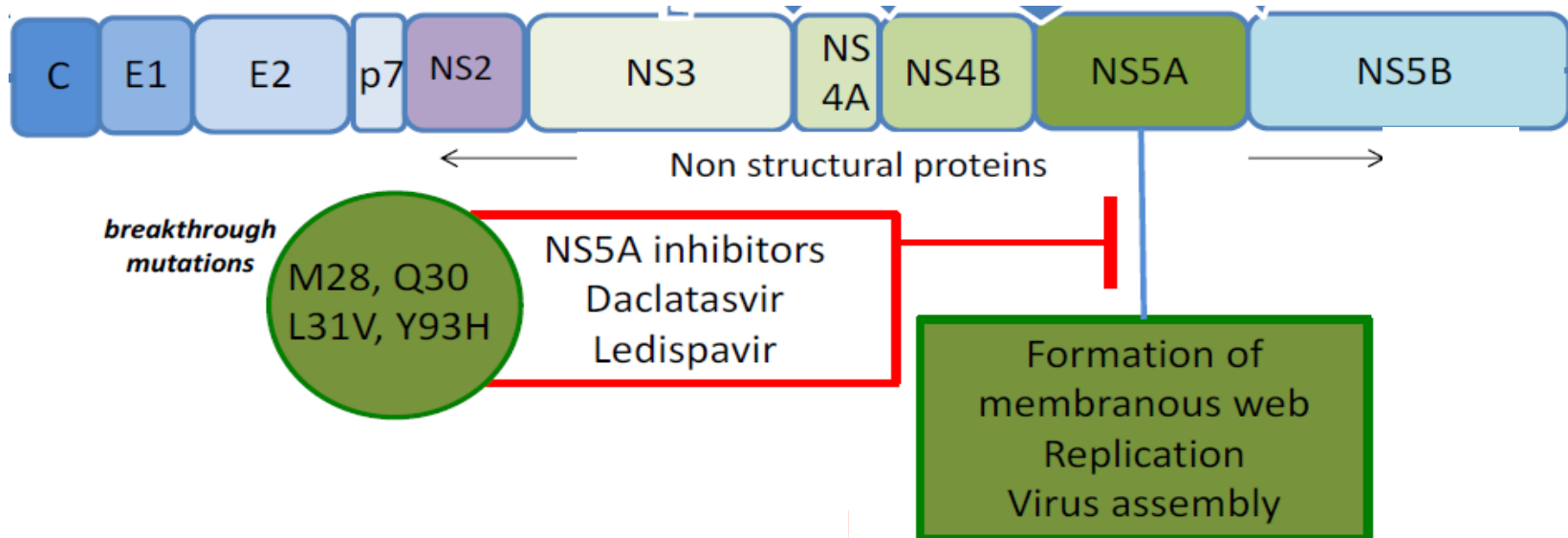
NS5A İnhibitörleri



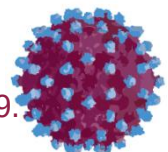
- Daclatasvir, Ledipasvir, Ombitasvir, Elbasvir, Veltapasvir
- Potent antiviral
- Geniş genotipik kapsam
- Ancak, düşük genetik bariyer



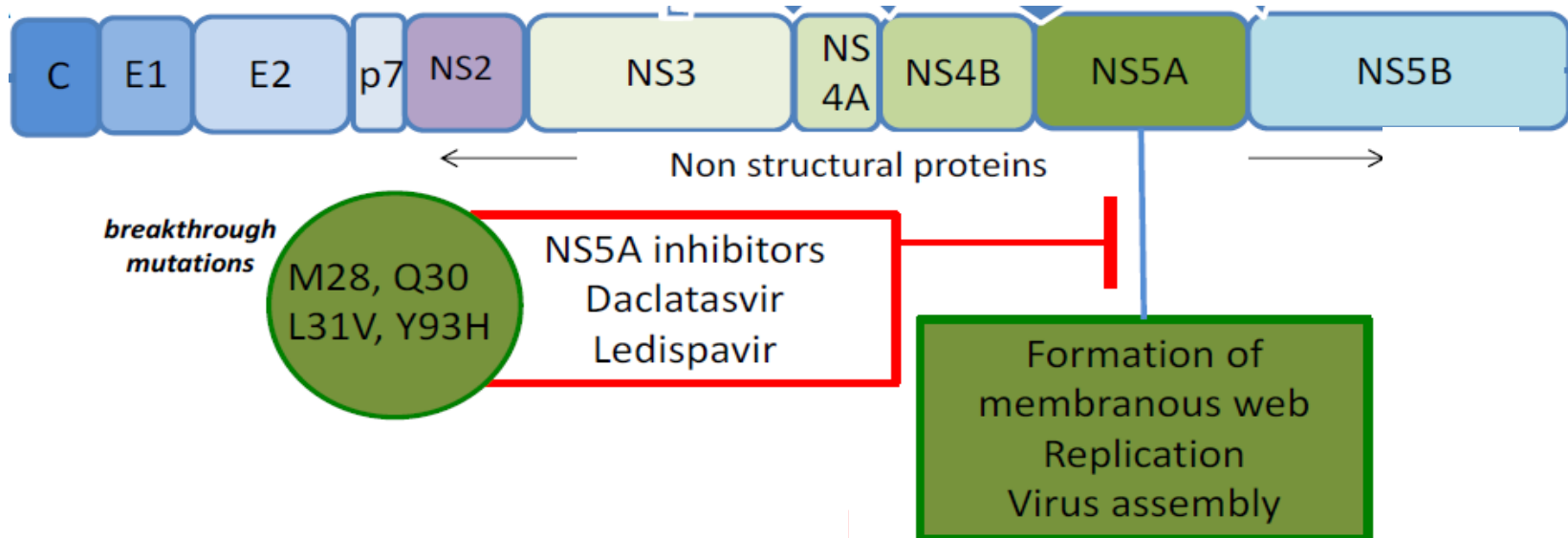
NS5A İnhibitörleri ve Direnç



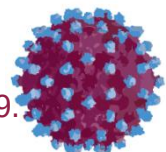
- Daclatasvir etkinliği; Genotip - 1b > 1a
- Genotip - 1b için yüksek genetik bariyer
- Genotip - 1a'da direnç için tek bir mutasyon yeterli
- G1b; L31V, Y93H > **yüksek düzey direnç**



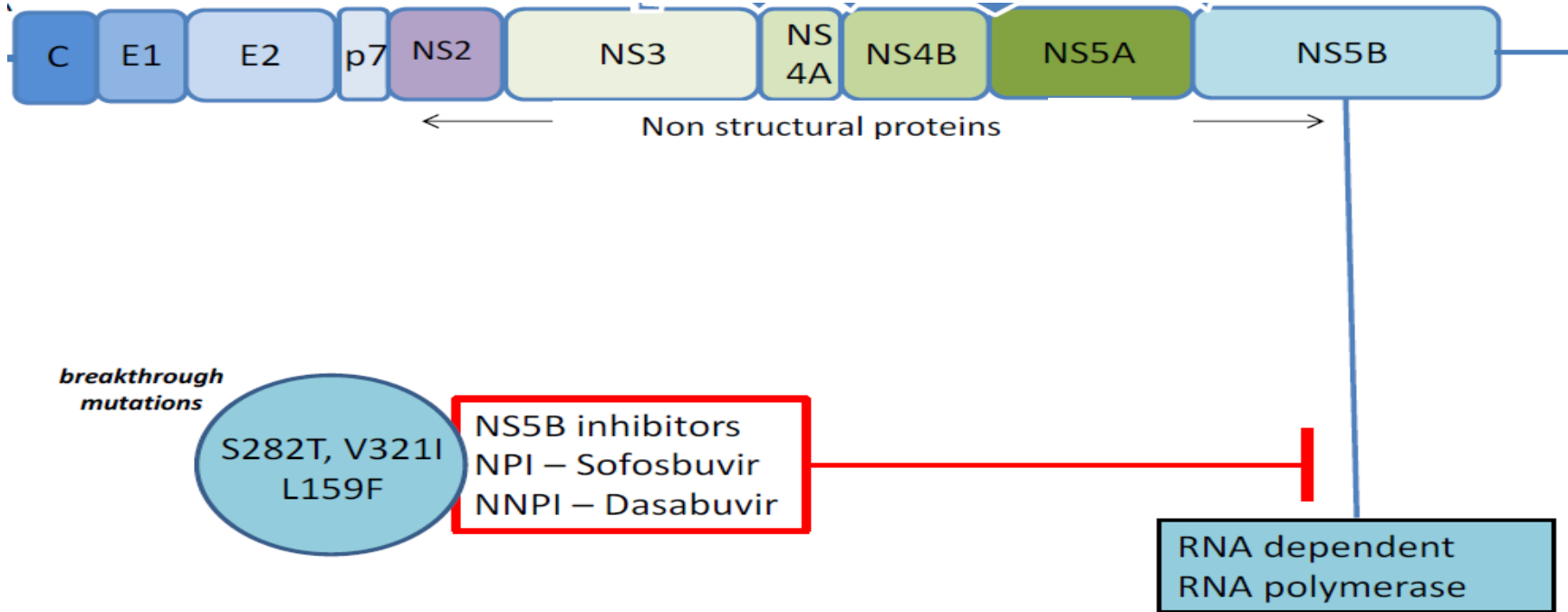
NS5A İnhibitörleri ve Direnç



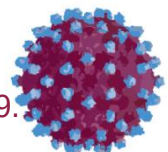
- NS5A doğal polimorfizmi (L31M);
 - ◆ Genotip; 2 > 1b ve 4 > 1a ve 3
- Genotip - 2: % 50-85
- Tarama testleri önerilmemektedir



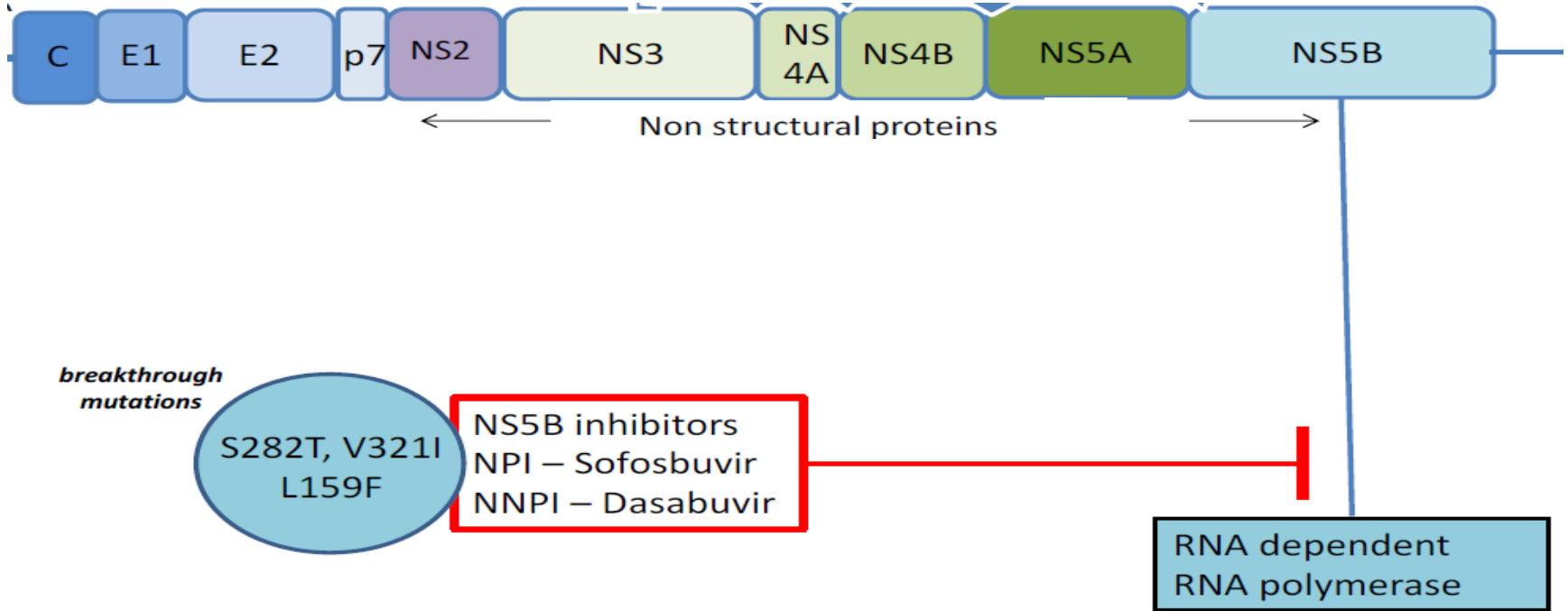
NS5B Özellikleri



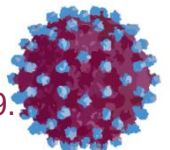
- NS5B = RNA bağımlı RNA polimeraz
- Negatif iplikçik ve yavru kopyaların oluşturulması
- Yüksek düzeyde korunmuş bir bölge > inhibitörler tüm genotiplere etkin



NS5B Özellikleri

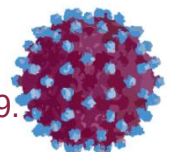


- Sağ el motifi;
 - ◆ Başparmak; Katalitik bölge (nükleozid polimeraz inhibitörleri)
 - ◆ Parmaklar; Allosterik değişim bölgesi (non-nükleozid polimeraz inhibitörleri)

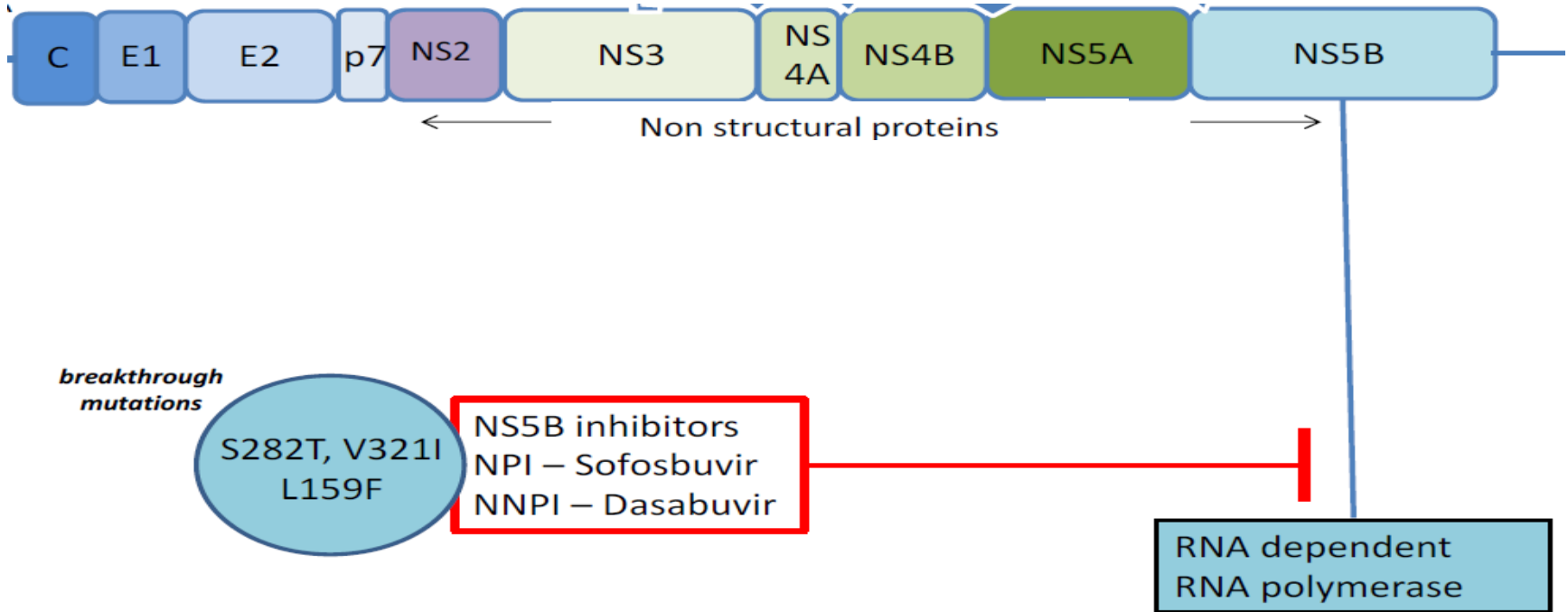


Nükleozid Polimeraz İnhibitörleri (NPI) ve Direnç

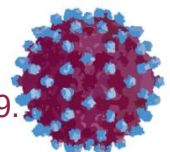
- NPI'ler hepatositte fosforile olarak aktive olurlar
 - ◆ Nükleozit trifosfat > oluşmakta olan RNA zincirinde yer kapma > zincir sonlanması
- Çok yüksek genetik bariyer
- Katalitik bölge; aminoasit değişimlerine intoleran
- Katalitik bölgede mutasyon > allosterik bölgede de mutasyon > RNA polimeraz aktivitesinde bozulma > daha az fit bir virüs > viral replikasyonda ciddi bozulma
- S282T (in vitro)



Nükleozid Polimeraz İnhibitörleri - Direnç

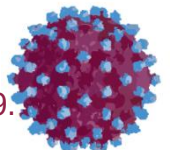


- Sofosbuvir; İlk NPI
 - ◆ S282T , L159F, E341D
 - ◆ En çok G1a - G1B > G2a
 - ◆ Klinik önemi (?)

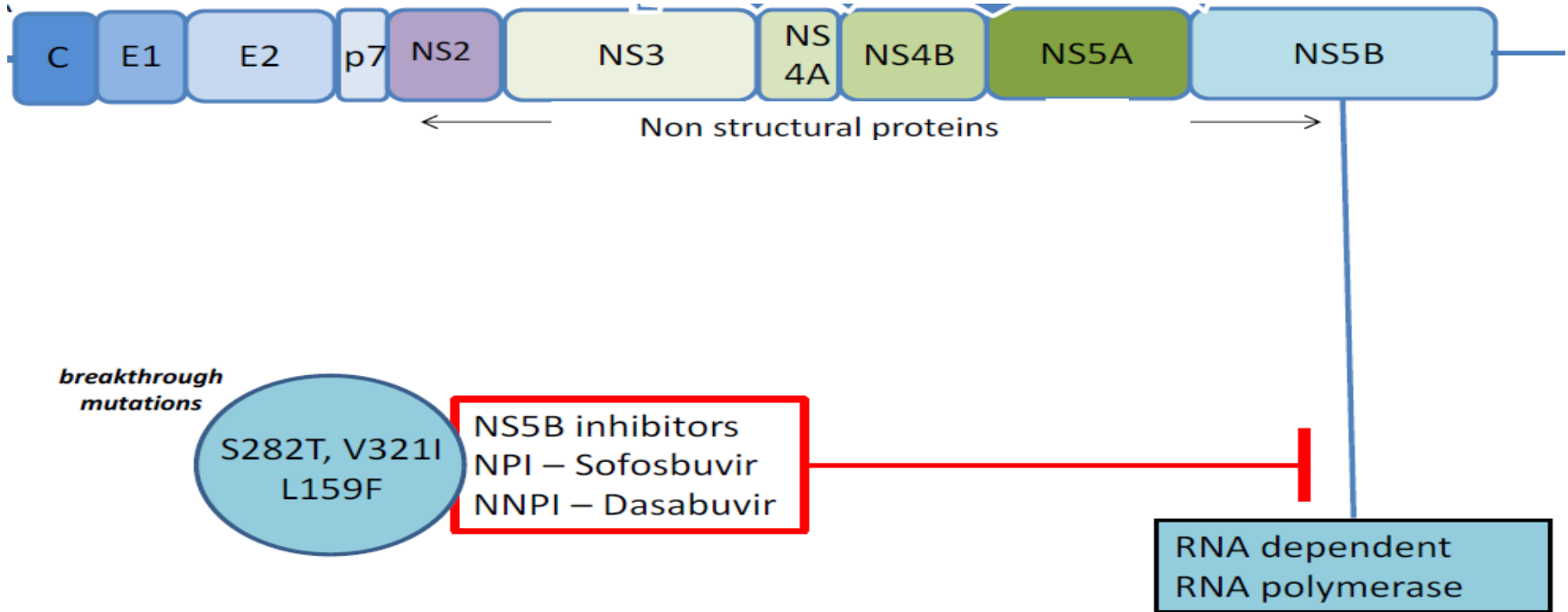


Non-Nükleozid Polimeraz İnhibitörleri (NNPI) ve Direnç

- Dört allosterik değişim bölgesinden herhangi birinde etkin
- RNA bağımlı RNA polimeraz aktivitesinde bozulma
 - ◆ Nükleozit trifosfat > oluşmakta olan RNA zincirinde yer kapma > zincir sonlanması
- Tüm DAA'lar içinde en düşük genetik bariyer
- Kombinasyon tedavilerinde kullanılırlar
- NPI'larla çapraz direnç oluşturmazlar

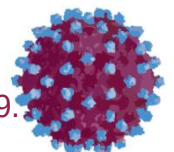


NNPI - Direnç



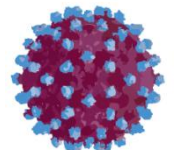
- Dasabuvir, Baclabuvir

- ◆ C316Y , Y448C/H
- ◆ En çok G1a - G1B
- ◆ >900 kat direnç artışı



Sonuç

- HCV küresel sorun olmaya devam etmektedir
- Eski tedaviler
- Yeni ve etkin tedaviler
- Yeni sorunlar



A serene landscape at sunset or sunrise. A large, bright crescent moon hangs in the dark blue sky. The sun is a glowing orb on the horizon, its light reflecting on the calm water below. The horizon is marked by a range of low, dark mountains. The overall mood is peaceful and contemplative.

Sabrınız için teşekkürler