

**XXXVII Научно-практический семинар
«Современные достижения диагностики и лечения хронических вирусных гепатитов»
г. Москва, 14 декабря 2016 г.**

Лекарственная устойчивость вируса гепатита С: что мы знаем и умеем сегодня

Булатова К.В.

Референс-центр по мониторингу за вирусными гепатитами Роспотребнадзора
Научно-консультативный клинико-диагностический центр
Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора



Понятия и терминология лекарственной устойчивости

- **Замена, связанная с устойчивостью (Resistance Associated Substitution – RAS)**
 - Аминокислотная замена в вирусном белке, приводящая к возникновению лекарственной устойчивости
- **Вариант вируса, связанный с устойчивостью (Resistance Associated Variant - RAV)**
 - Генетический вариант вируса, обладающий одной или несколькими мутациями резистентности;
- **Генетический барьер к резистентности**
 - комплекс факторов, которые вместе определяют скорость отбора вариантов вируса, устойчивых к ПППД;
- **Фитнес вируса**
 - Способность вируса выживать и размножаться в определенных условиях (например при подавляющей активности противовирусного препарата);



Особенности HCV способствуют развитию резистентности

Высокая частота мутаций



Активная репликация вируса

Одна ошибка на каждый новый
воспроизведенный вирус

- 10^{12} вирусных частиц в день
- Время полужизни вириона 2-5 ч.

8.7×10^{10} вирусов с единичными мутациями каждый день
 4.2×10^9 вирусов с двойными мутациями каждый день

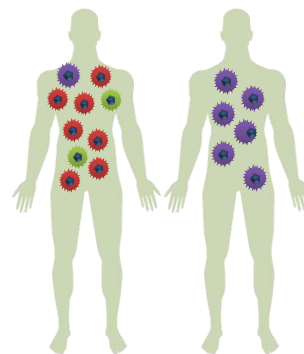
**Все возможные вариации HCV с единичными или двойными мутациями
появляются многократно ежедневно.
Некоторые – нежизнеспособны и элиминируются, другие могут сохранять
резистентность**



При терапии ППД возможен отбор (селекция) резистентных штаммов

Исходно у нелеченого пациента популяция ВГС представлена диким типом (ДТ) (чувствительный вирус) и резистентными штаммами

Терапия не может подавить рекликацию резистентных штаммов

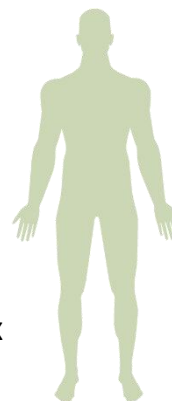


- Вир.прорыв
- Рецидив
- Прекращение терапии

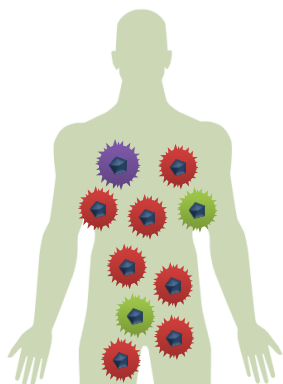
Начало терапии



Терапия подавляет рекликацию резистентных штаммов



УВО



Дикий тип



Резистентный вирус

Исходные МР ≠ МР после ПВТ



Механизмы резистентности

**Вирусная
популяция**

**Чувствительный
(дикий тип)**

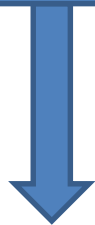
устойчивый



Механизмы резистентности

Вирусная
популяция

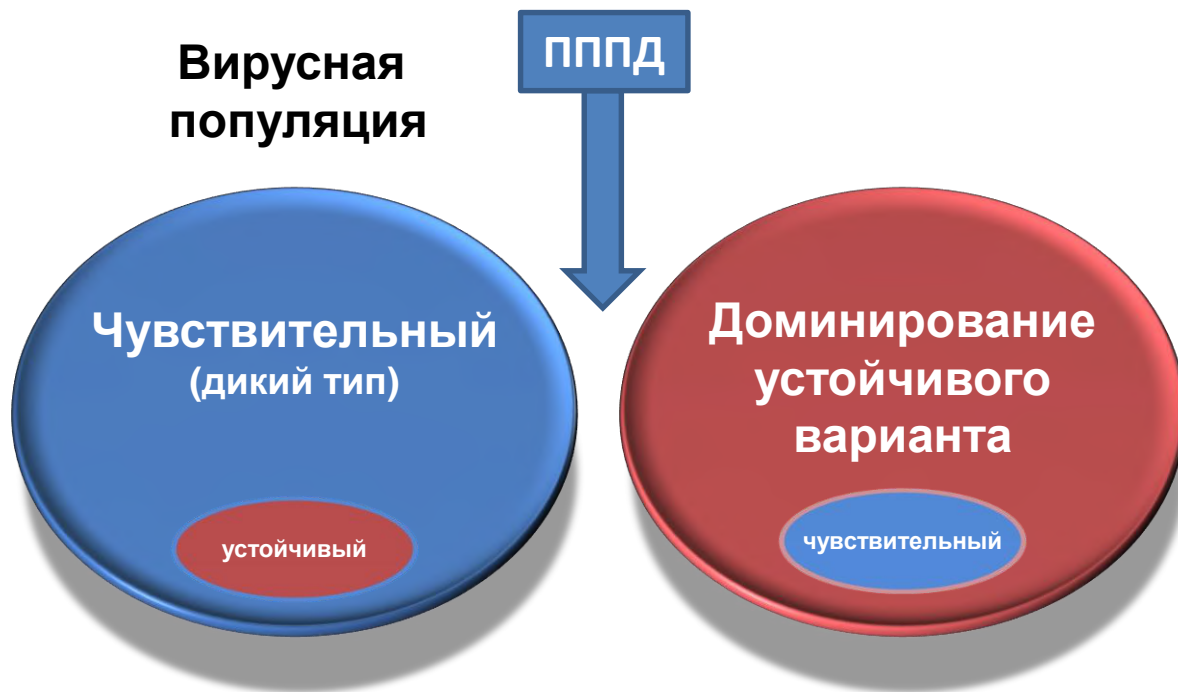
ПППД



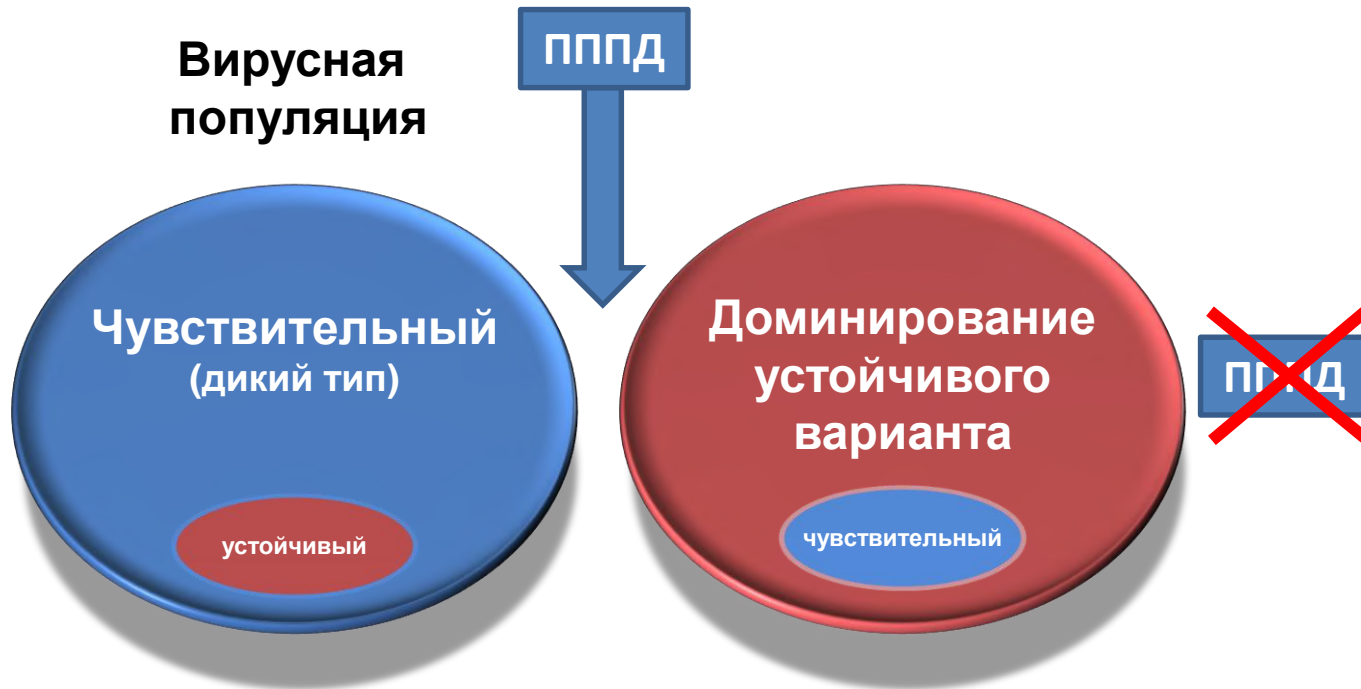
Чувствительный
(дикий тип)

устойчивый

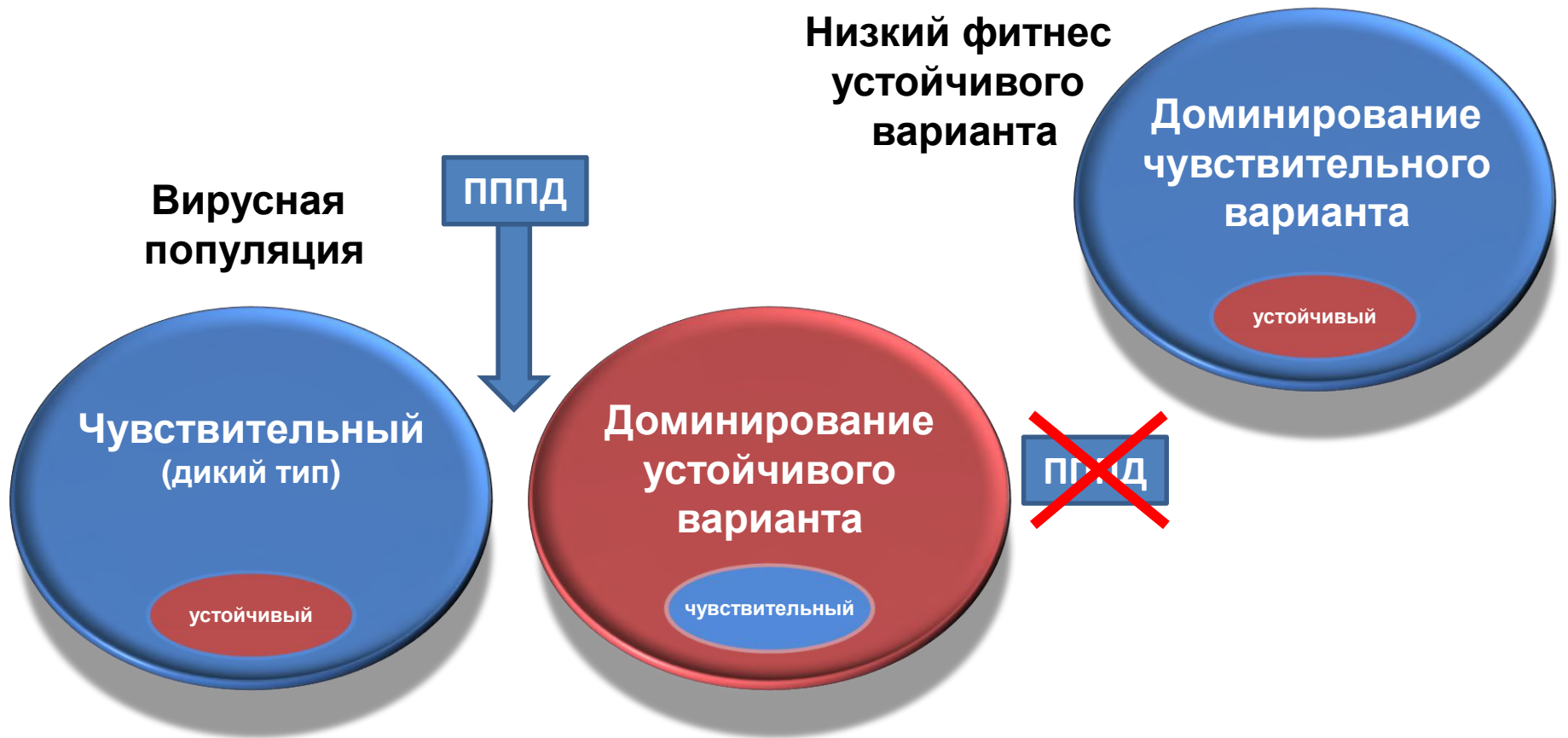
Механизмы резистентности



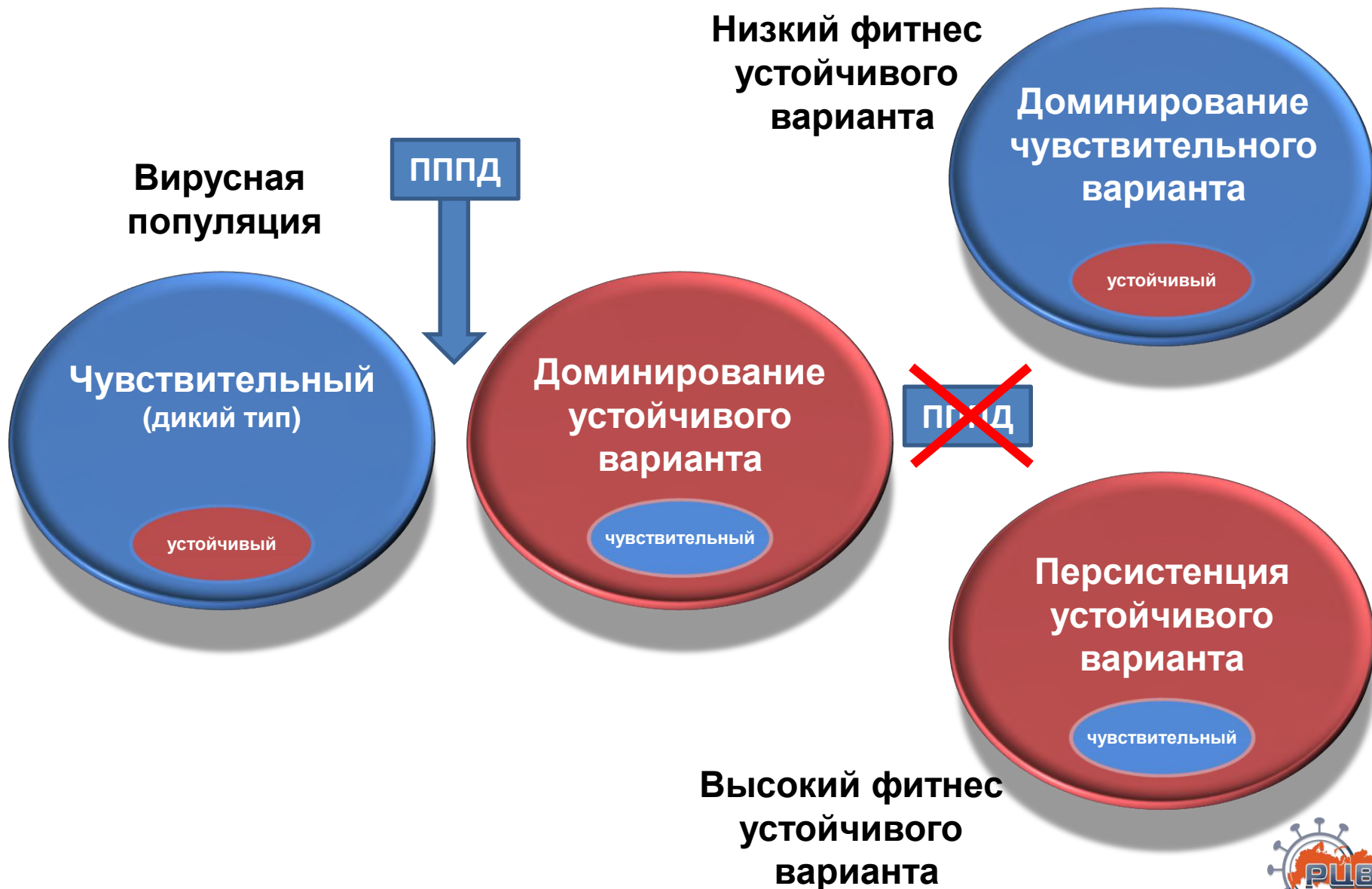
Механизмы резистентности



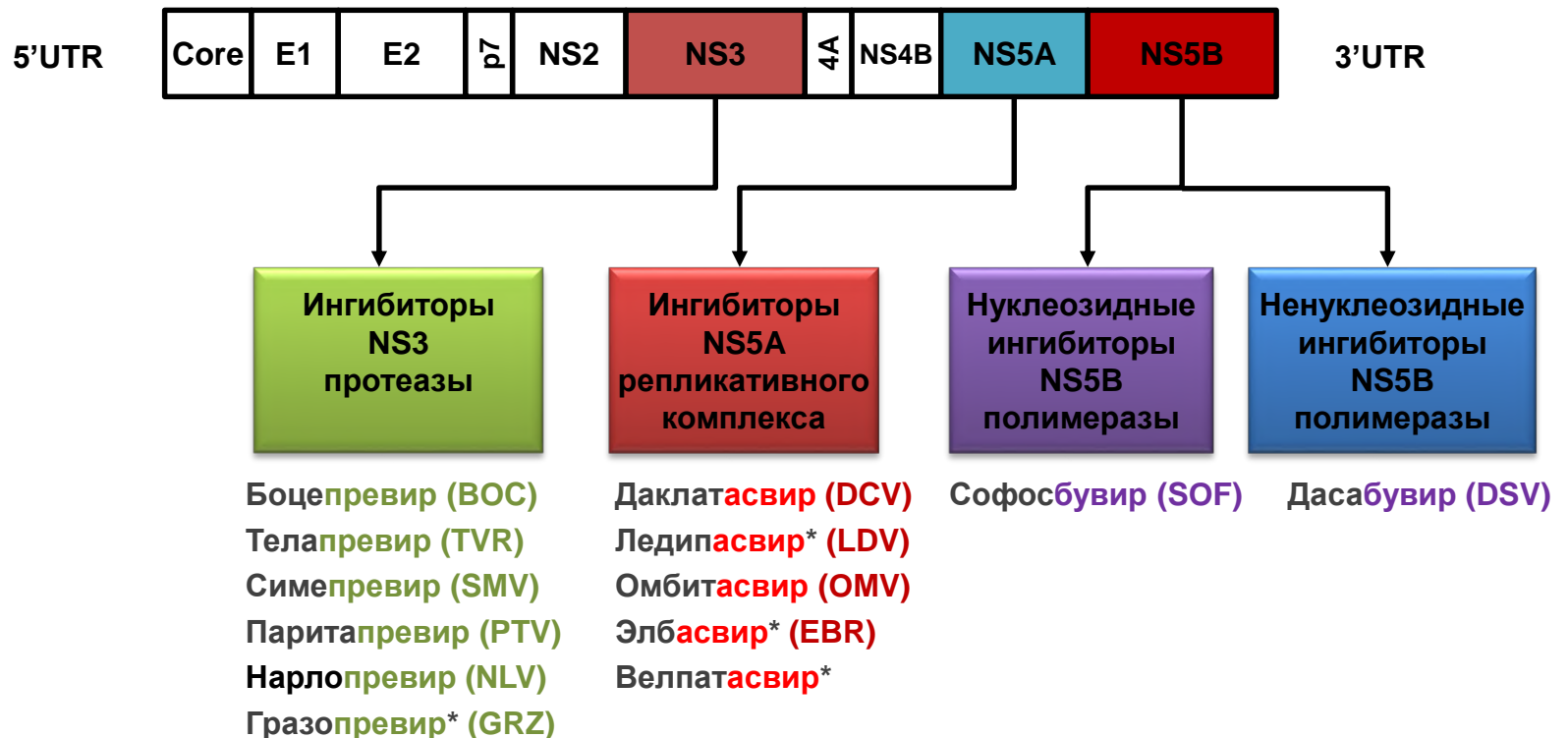
Механизмы резистентности



Механизмы резистентности

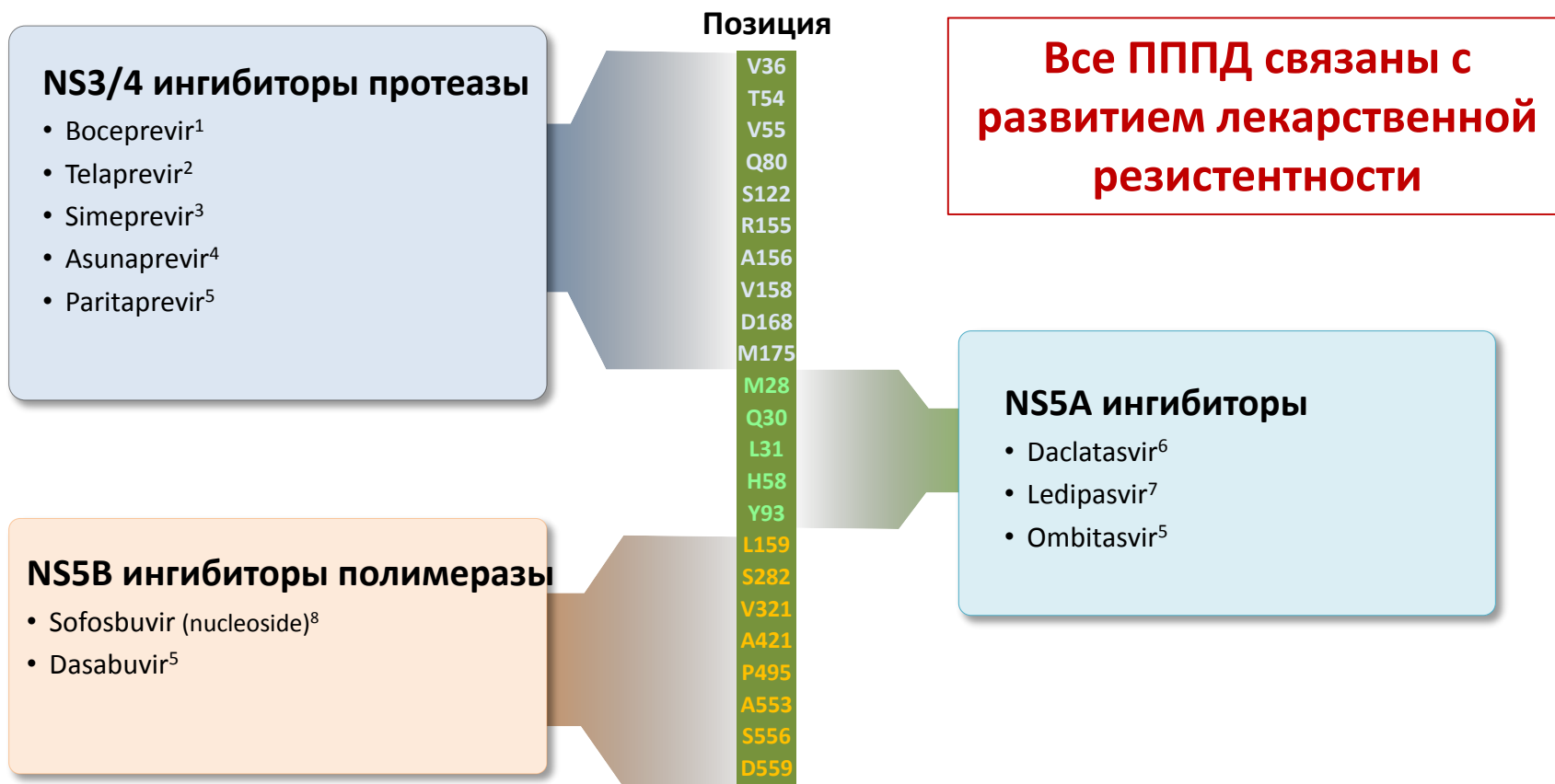


Классы прямых противовирусных препаратов



*препарат в РФ не зарегистрирован

Класс-специфический спектр мутаций описан для ПППД по данным пациентов не достигших УВО в клинических исследованиях

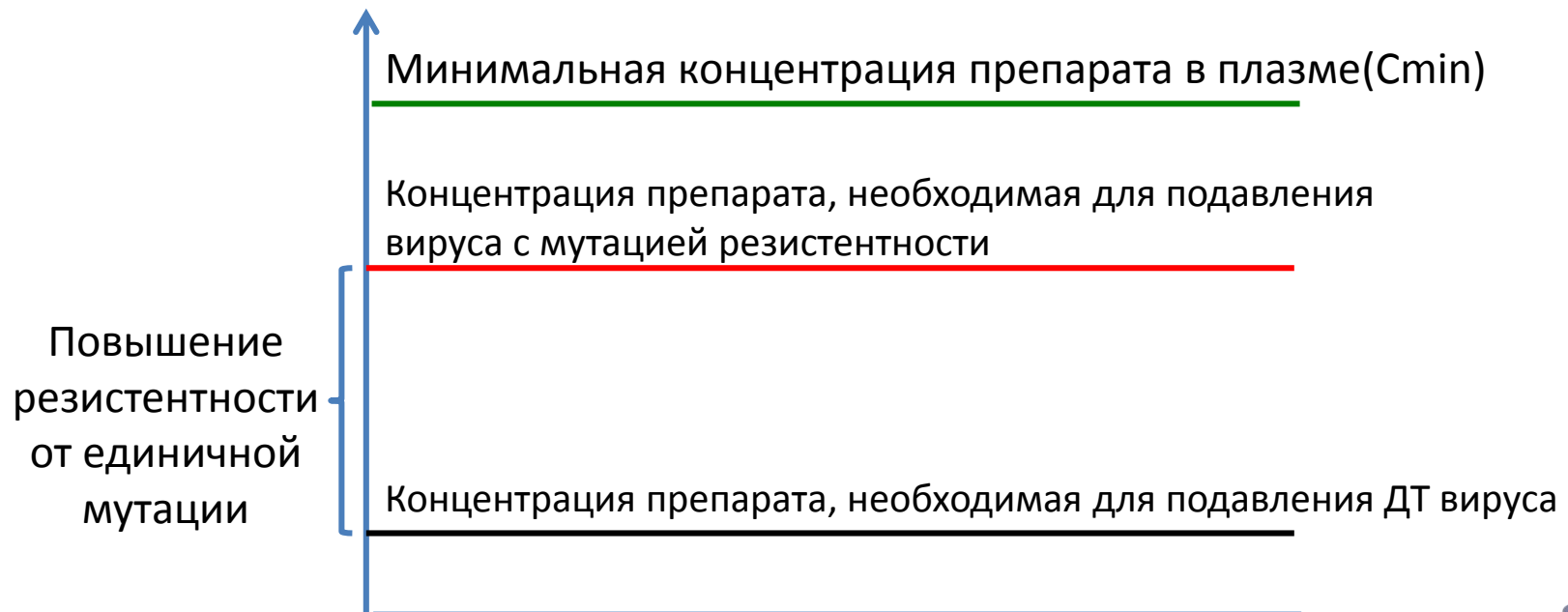


1. Boceprevir prescribing information. 2011. 2. Telaprevir prescribing information. 2011. 3. Simeprevir prescribing information. 2015. 4. Asunaprevir Japan Label. October 2015. 5. Viekira Pak prescribing Information. 2015. 6. Daclatasvir prescribing information. 2015. 7. HARVONI prescribing information. 2015. 8. SOVALDI prescribing information. 2015.

Генетический барьер вирусной резистентности

- Генетический барьер может быть оценен по изменению ИК₅₀ (IC₅₀)

ИК₅₀: полумаксимальная ингибирующая концентрация (концентрация препарата, необходима чтобы ингибировать 50% биохимической активности *in vitro*)



Характеристики классов ПППД

Класс препарата	Мишень	Чувствительные генотипы	Генетический барьер	Название
NS3 ингибиторы	NS3	1 и 4	Умеренный	Телапревир, Боцепревир Симепревир Паритапревир Асунапревир Гразопревир*
Нуклеотидные NS5B ингибиторы	NS5B	1-6	Очень высокий	Софосбувир
Ненуклеотидные NS5B ингибиторы	NS5B	1	Очень низкий	Дасабувир
NS5A ингибиторы	NS5A	1, 4-6 (+/- 2,3)	Низкий	Ледипасвир* Омбитасвир Даклатасвир Элбасвир* Велпатасвир*

*препарат в РФ не зарегистрирован

Bertino G et al. *World J Hepatol.* 2016;8:92; Echeverría N et al. *World J Hepatol.* 2015;7:831.

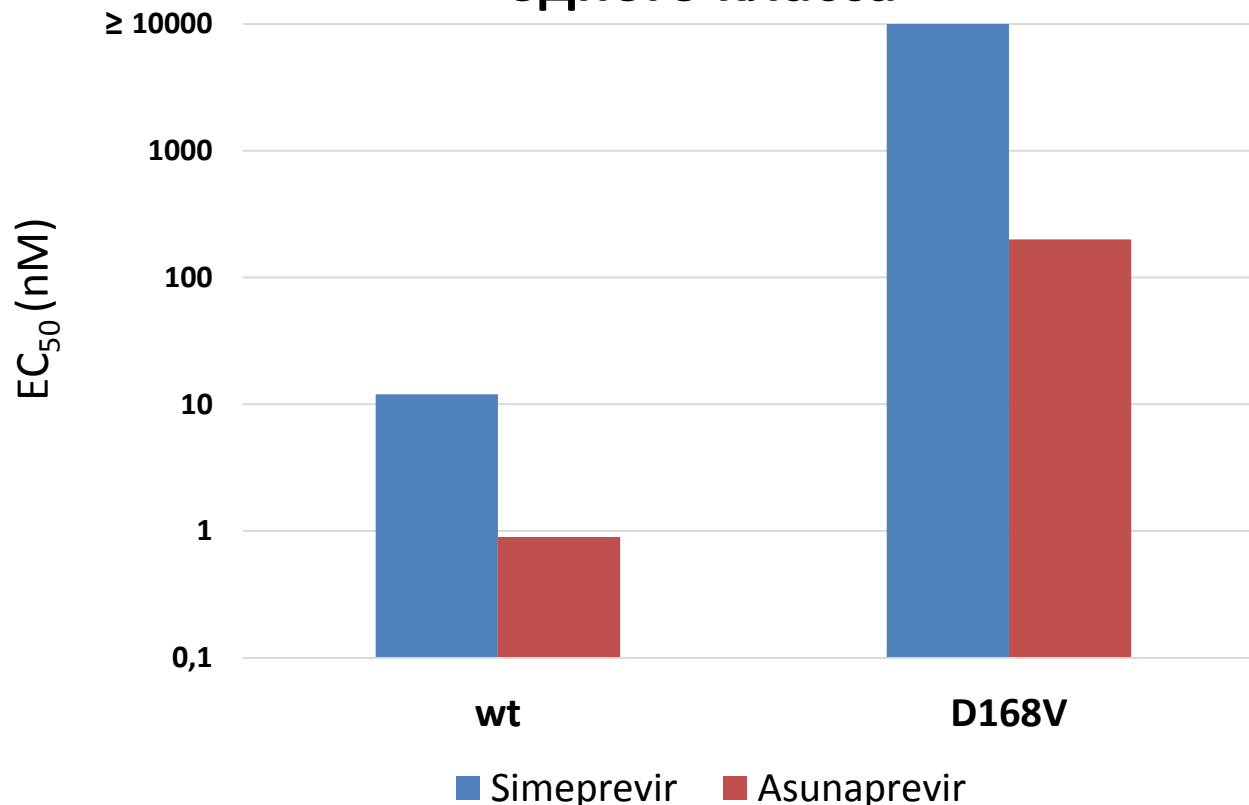
Rong L et al. *Science Trans Med.* 2010;2:30ra32; Schaefer EA et al. *Gastroenterology.* 2012;142:1340.

ZEPATIER™ Prescribing Information 2016.; http://www.iasusa.org/sites/default/files/uploads/2016hivsny_naggie.pdf



Генетический барьер ингибиторов NS3 протеазы

Генетический барьер может различаться для препаратов
одного класса



Cheng G. et al. Antimicrob Agents Chemother 2016, ePub
Fridell RA et al. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54:3641.
Krishnan P. et al. Antimicrob Agents Chemother 2015; 59:979-987.
Lenz O. et al. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54:1878-1887.
McPhee F. et al. Antimicrob Agents Chemother 2012; 56:3670-3681.



Генетический барьер ингибиторов NS3 протеазы

Генетический барьер к одному препарату может различаться среди субтипов одного генотипа



A G G

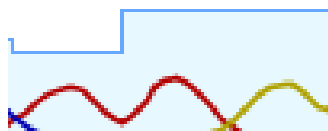
155

R

A G G

R

Кодон вируса дикого типа

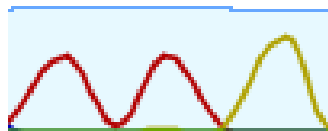


A A G

155

K

Кодон реального образца
HCV 1a с заменой R155K



A A G

155

K

- R155K – устойчивость ко всем препаратам из класса ингибиторов протеазы
- 1a: AGG→AAG
- 1b: CGG→CAG→AAG – замена менее вероятна, ГБ выше

Ошибки генотипирования и рекомбинантные варианты HCV

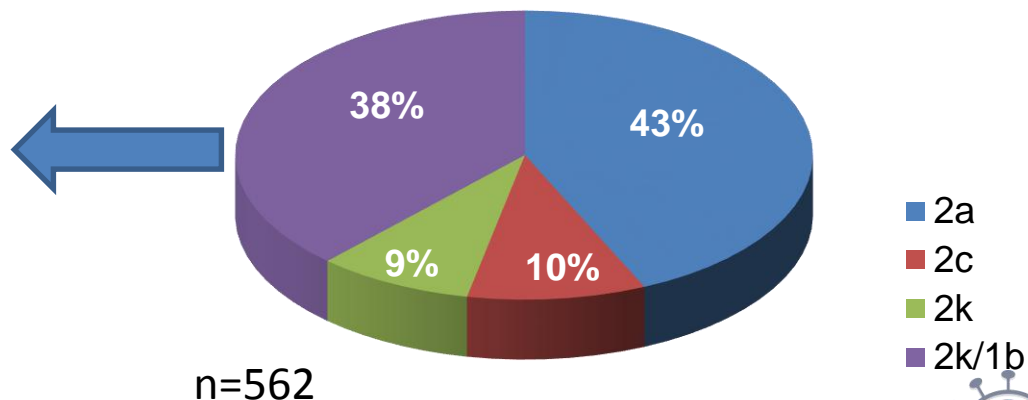
Частота ошибочного определения генотип HCV в клинической практике

Генотип в направлении	АмплиСенс Генотип-FL	Сиквенс	Количество пациентов
1b	3a	3a	1
1a	1b	1b	2
1a+1b	1b	1b	1
2	3a	3a	1
ВСЕГО (n=128)			5/128 (3,9%)

В 4% случаев генотип может быть определен ошибочно

Частота рекомбинантных вариантов HCV в России

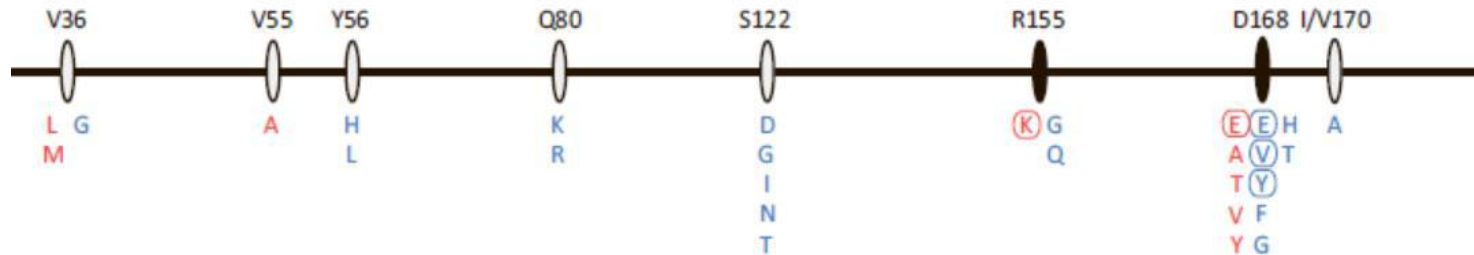
В 38% случаев HCV определенный как генотип 2 может оказаться рекомбинантом 2k/1b



Аминокислотные замены, связанные с устойчивостью к ингибиторам NS3

NS3 протеаза (180 аа)

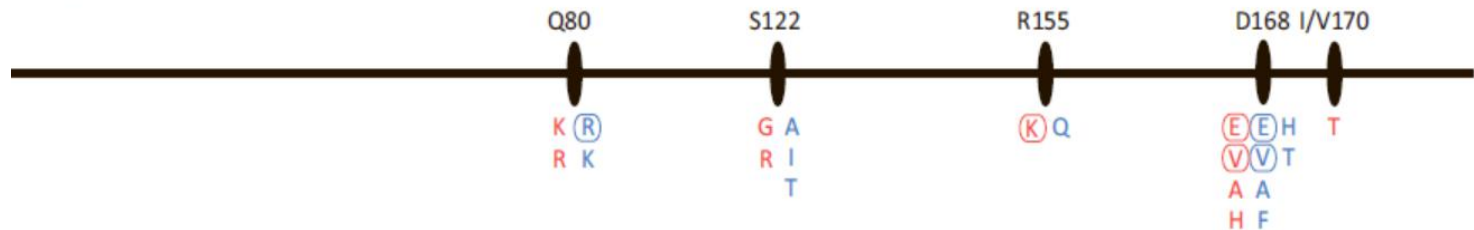
Асунапревир



Паритапревир



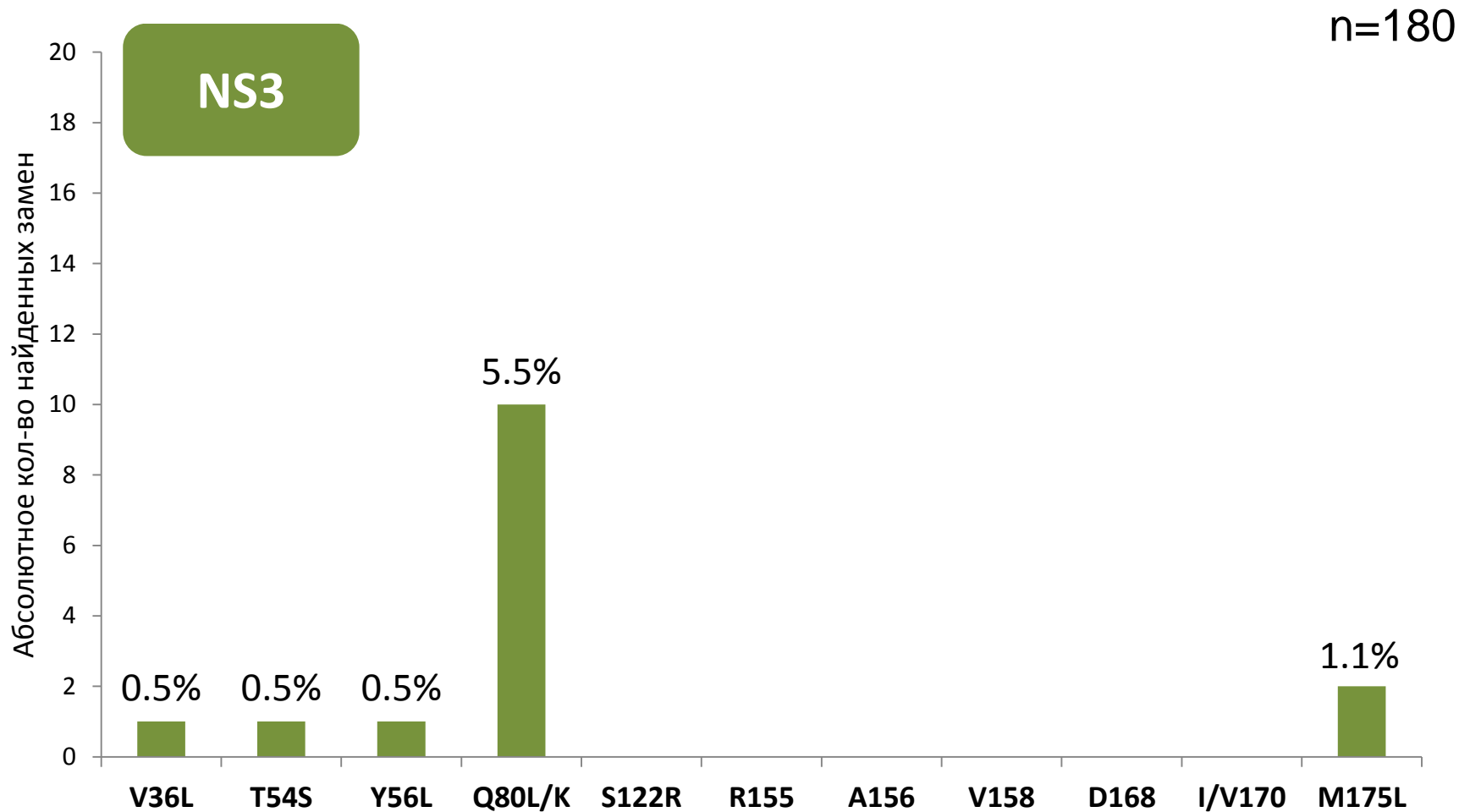
Симепревир



Генотип HCV: 1a – красный, 1b – синий, 2 – коричневый, 3a – зеленый, 4 – оранжевый



Частота исходных мутаций в регионе NS3 HCV субтипа 1b (Российская популяция)



Влияние мутации Q80K на УВО12 у пациентов с HCV субтипа 1a, получавших лечение с Симепревиrom

- До начала терапии, мутация Q80K встречалась ~ 30% пациентов (48% в США и 19% в Европе) с генотипом 1a в клинических исследованиях 3 фазы

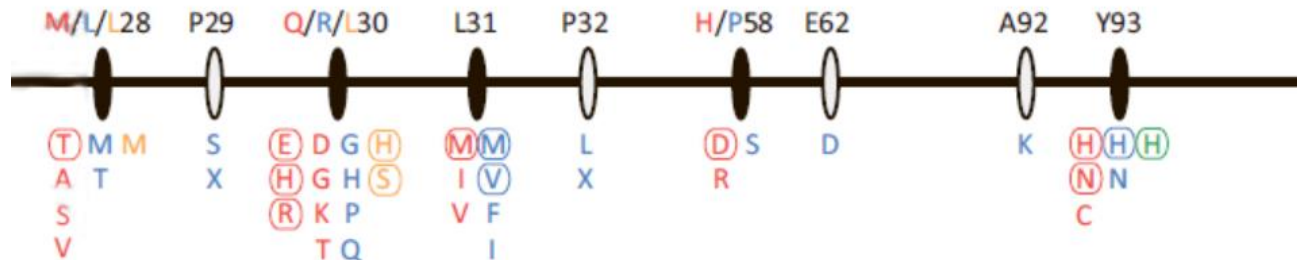
Группа пациентов	распространенность	УВО12 у пациентов с ХГС GT1a			
		Q80K +		Q80K -	
		Плацебо	Симепревиrom	Плацебо	Симепревиrom
Не получавшие лечения	~ 30%	52%	58%	43%	84%
Рецидив		30%	47%	27%	79%
Частичный ответ		0%	38%	17%	65%
Нулевой ответ		0%	75%	0%	38%



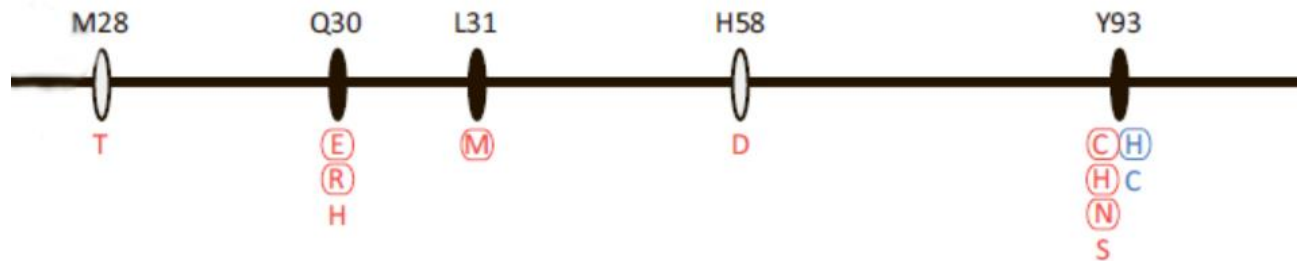
Аминокислотные замены, связанные с устойчивостью к ингибиторам NS5A

NS5A 1ый домен (213 aa)

Даклатасвир



Ледипасвир



Омбитасвир



Генотип HCV: 1a – красный, 1b – синий, 2 – коричневый, 3a – зеленый, 4 – оранжевый

Резистентность к ингибиторам NS5A

NS5A ингибитор	1a											1b		
	M28		Q30			L31		H58	Y93			L31		Y93
	T	V	E	H	R	M	V	D	C	H	N	M	V	H
Даклатасвир	205	-	7,500	435	365	105	1,000	-	555	1,600	14,100	3	15	12
Элбасвир	15	1	56	-	16	10	61	6	-	220	929	-	-	-
Ледипасвир	61	-	952-5,458	183	632	554	-	1,127	1,602	1,677-3,309	14,706	-	-	1,319
Омбитасвир	8,965	58	-	3	800	2	-	243	1,675	41,383	66,740	1	8	77
Велпатасвир	8	-	18	2	2	16	68	7	4	609	2,758	2	3	3

□ No data

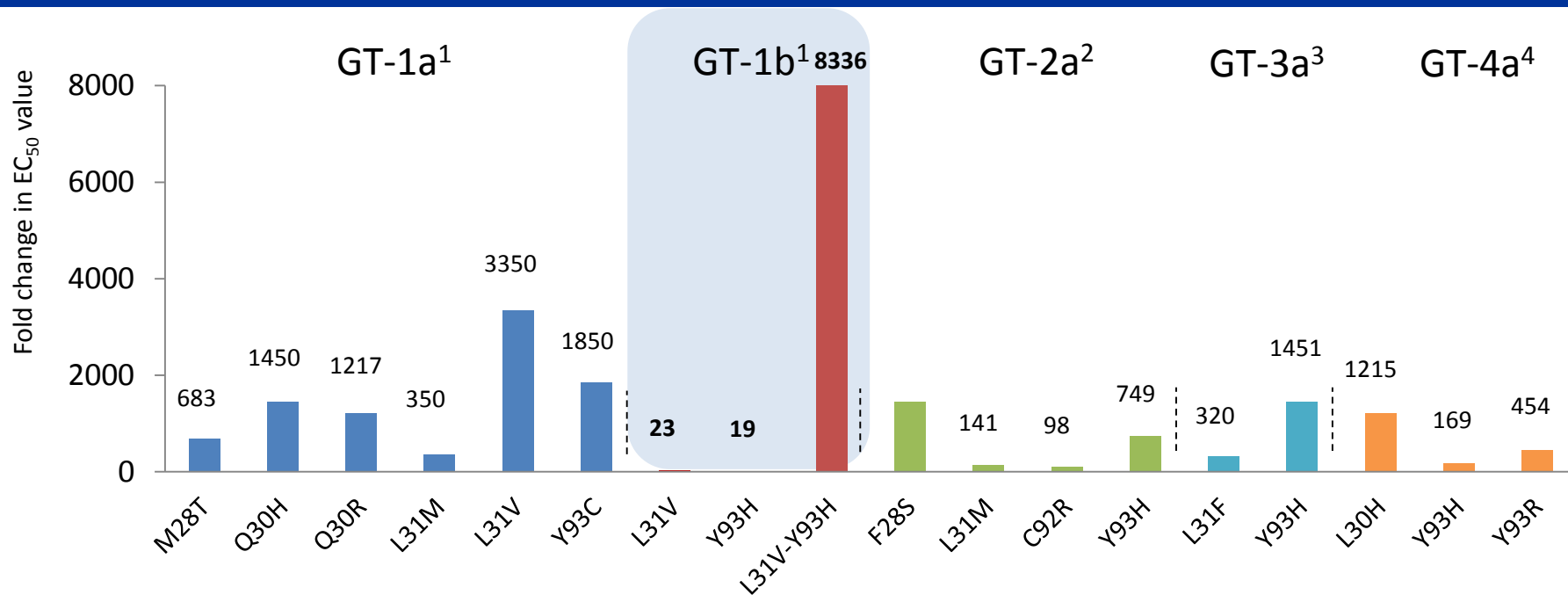
□ <5 fold

□ 5-100 fold

□ >100 fold



Профиль резистентности Даклатасвира in vitro



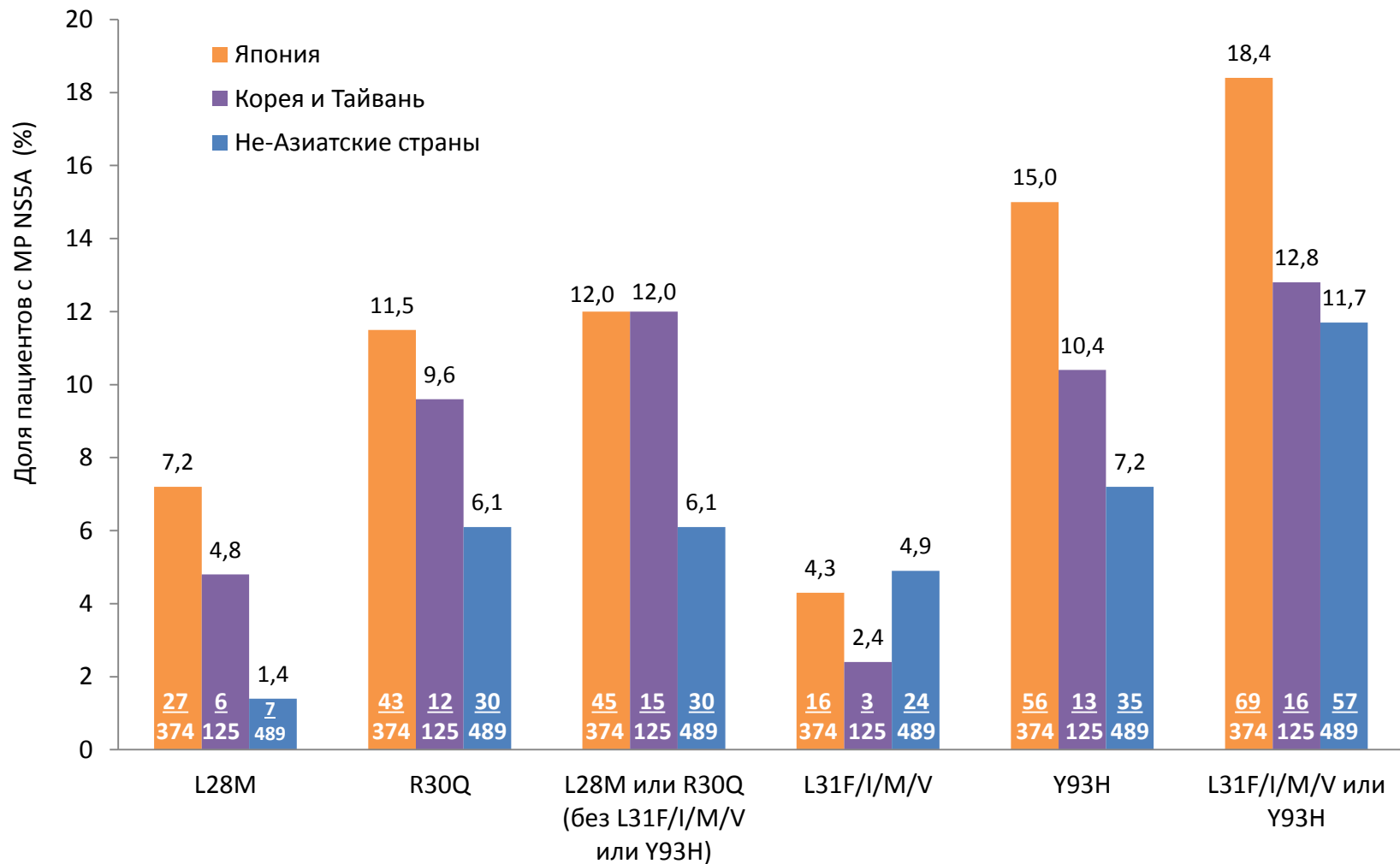
- С возникновением резистентности к ДКВ связаны замены в позициях 28, 30, 31 и 93 в N-регионе NS5A
- Очень редко наблюдается исходное сочетание NS5A мутаций L31 и Y93H
- Изменение ингибирующей концентрации препарата (IC₅₀) зависит от генотипа (субтипа) ВГС
- Барьер резистентности зависит от генотипа

;

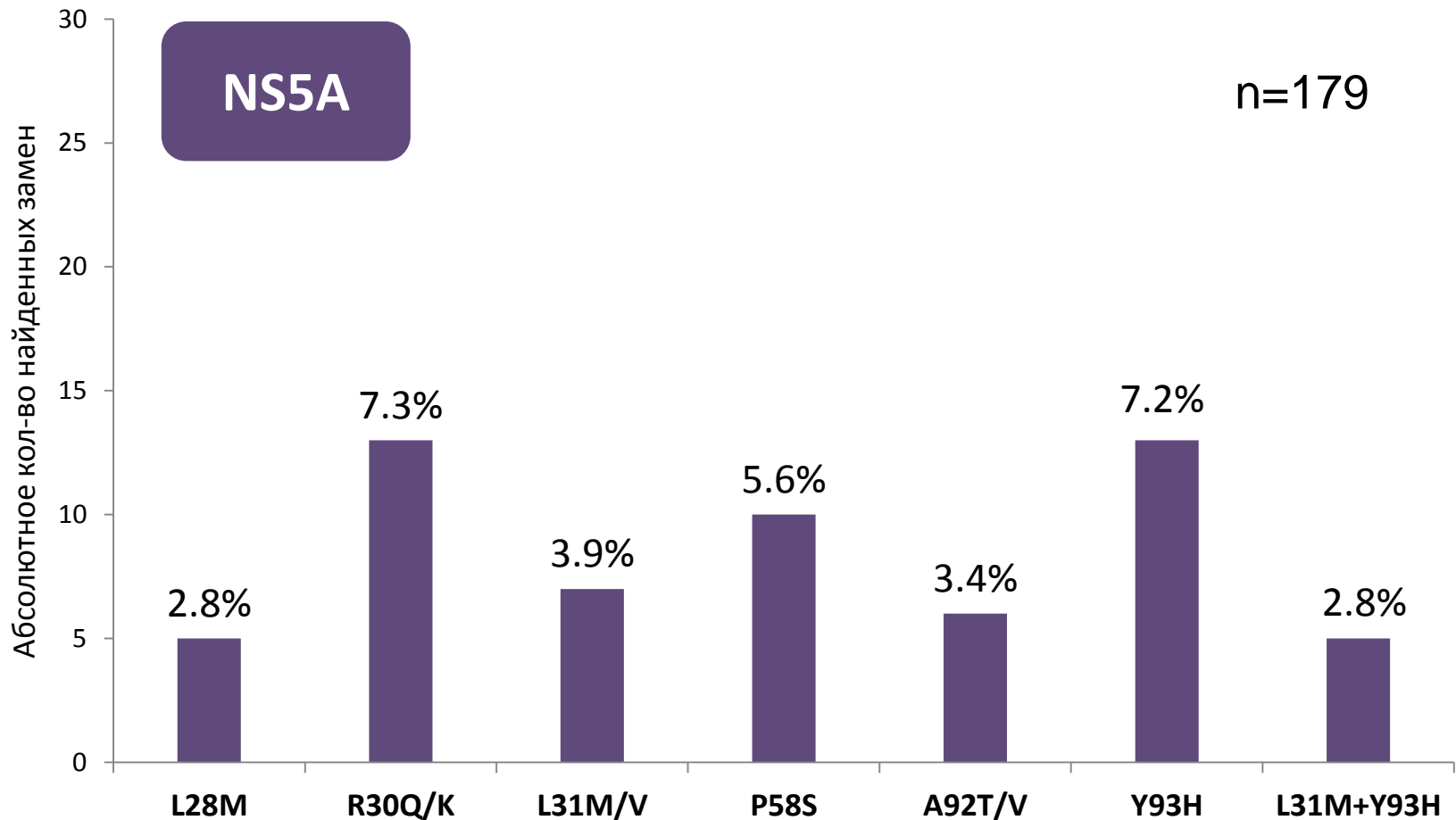
1. Fridell et al. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54:3641. 2. Fridell et al. J Virol. 2011;85:7312. 3. Wang et al. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57:611. 4. Wang et al. Antimicrob Agents Chemother. 2012;56:1588.



Исходная распространенность мутаций NS5A при ХГС генотипа 1b

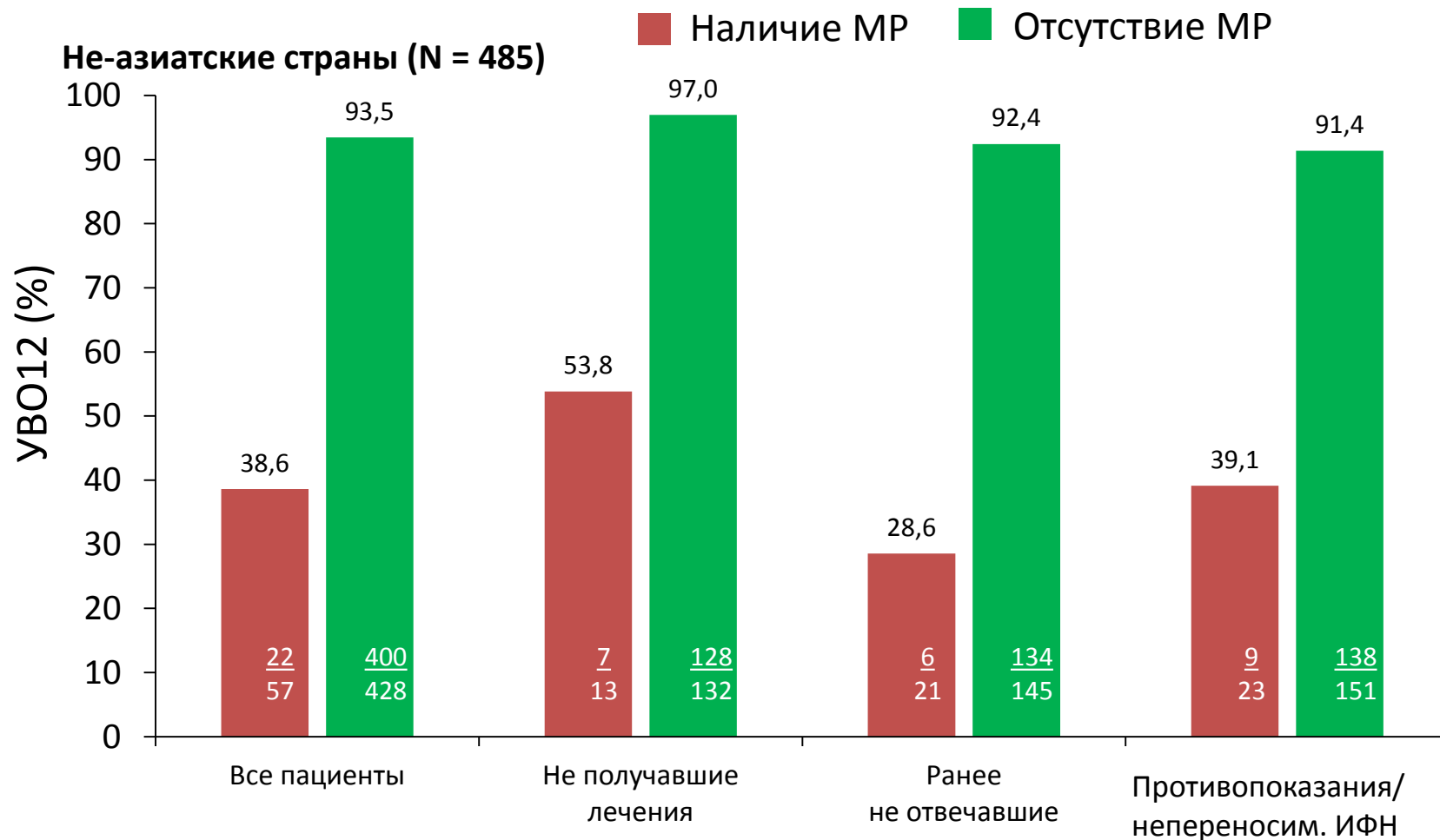


Частота исходных мутаций в регионе NS5A HCV субтипа 1b (Российская популяция)



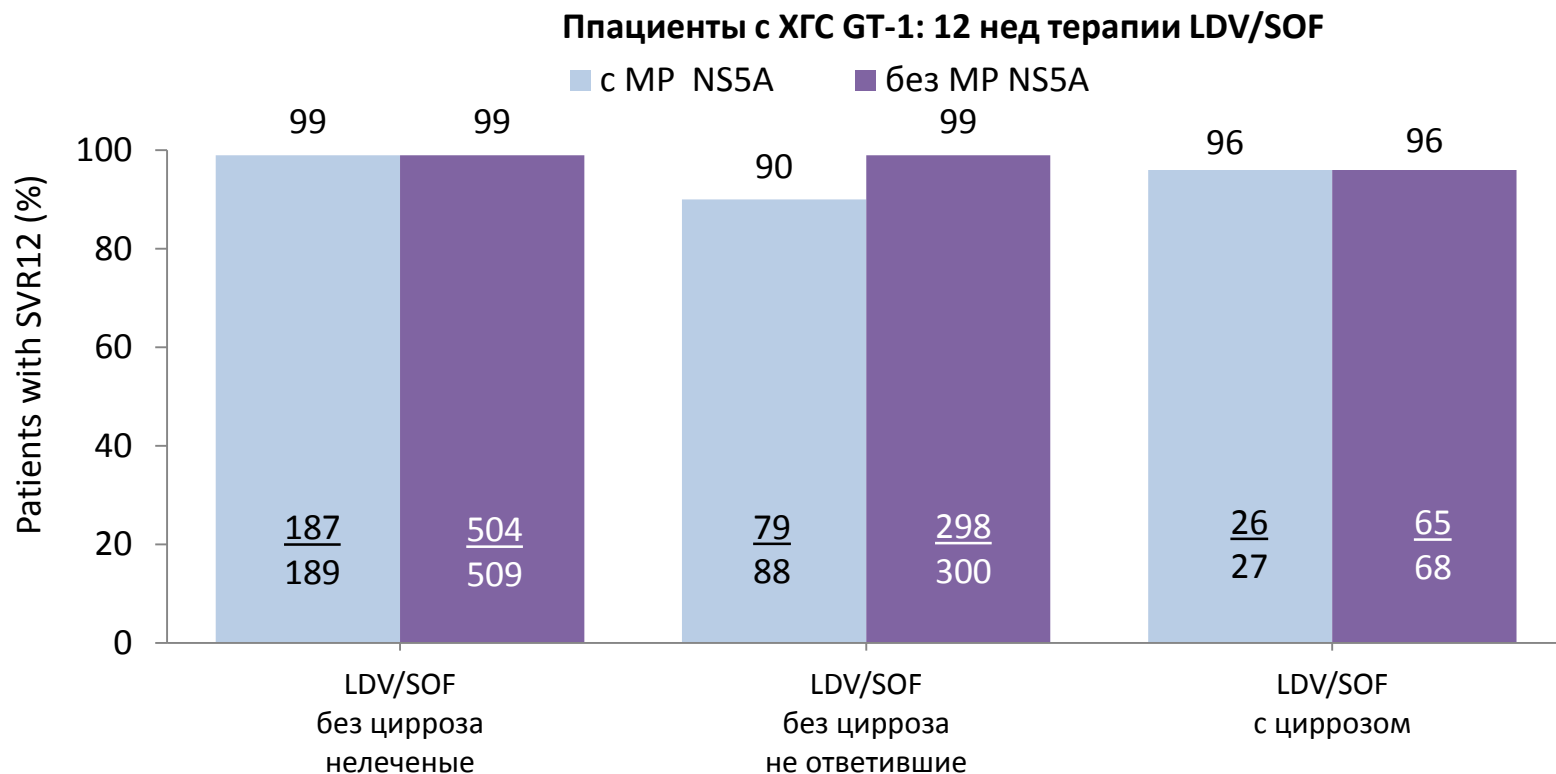
L31M/V или Y93H встречаются в 13,9 % случаев в РФ

УВО при терапии ДКВ+АСВ в зависимости от исходного наличия мутаций резистентности



Клиническое значение мутаций рез-ти зависит от исходных характеристик пациента (предыдущий опыт ПВТ, степень фиброза, возраст и т.п.)

Наличие МР NS5A не оказывает влияния на эффективность терапии LDV/SOF у пациентов с ХГС GT-1



- Исходное наличие мутаций NS5A не оказывало клинически значимого влияния на исходы терапии LDV/SOF, как показал анализ в зависимости от наличия цирроза и предыдущей терапии

Исходные мутации резистентности в NS5A не оказывают значимого влияние на эффективность лечения ДАК+СОФ

ALLY-1

N = 113

- Пациенты с циррозом или после трансплантации печени
- GT 1 to 6
- DCV + SOF + RBV, 12 недель

22 пациента с исходными МР
18 достигли УВО¹

ALLY-2

N = 203

- Пациенты с коинфекцией ВИЧ
- GT 1 to 6
- DCV + SOF, 8 or 12 недель

Y93 – 7 из 8 УВО
L31 – 7 из 8 УВО
R30 – 11 из 13 УВО²

ALLY-3

N = 152

- Пациенты с GT 3
- Ранее не получавшие и получавшие лечение
- DCV + SOF, 12 недель

Исходные мутации не имеют значения для достижения УВО³

ALLY-3+

N = 152

- Пациенты с GT 3
- Пациенты с циррозом и выраженным фиброзом
- DCV + SOF+ RBV, 12 or 16 недель

Y93 – 1 из 2 УВО
A30 – 6 из 6 УВО⁴



Аминокислотные замены, связанные с устойчивостью к ингибиторам NS5B

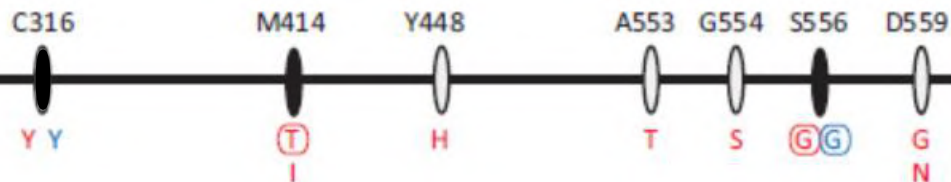
NS5B Полимераза (591 а.о.) – Нуклеотидные ингибиторы

Софосбувир



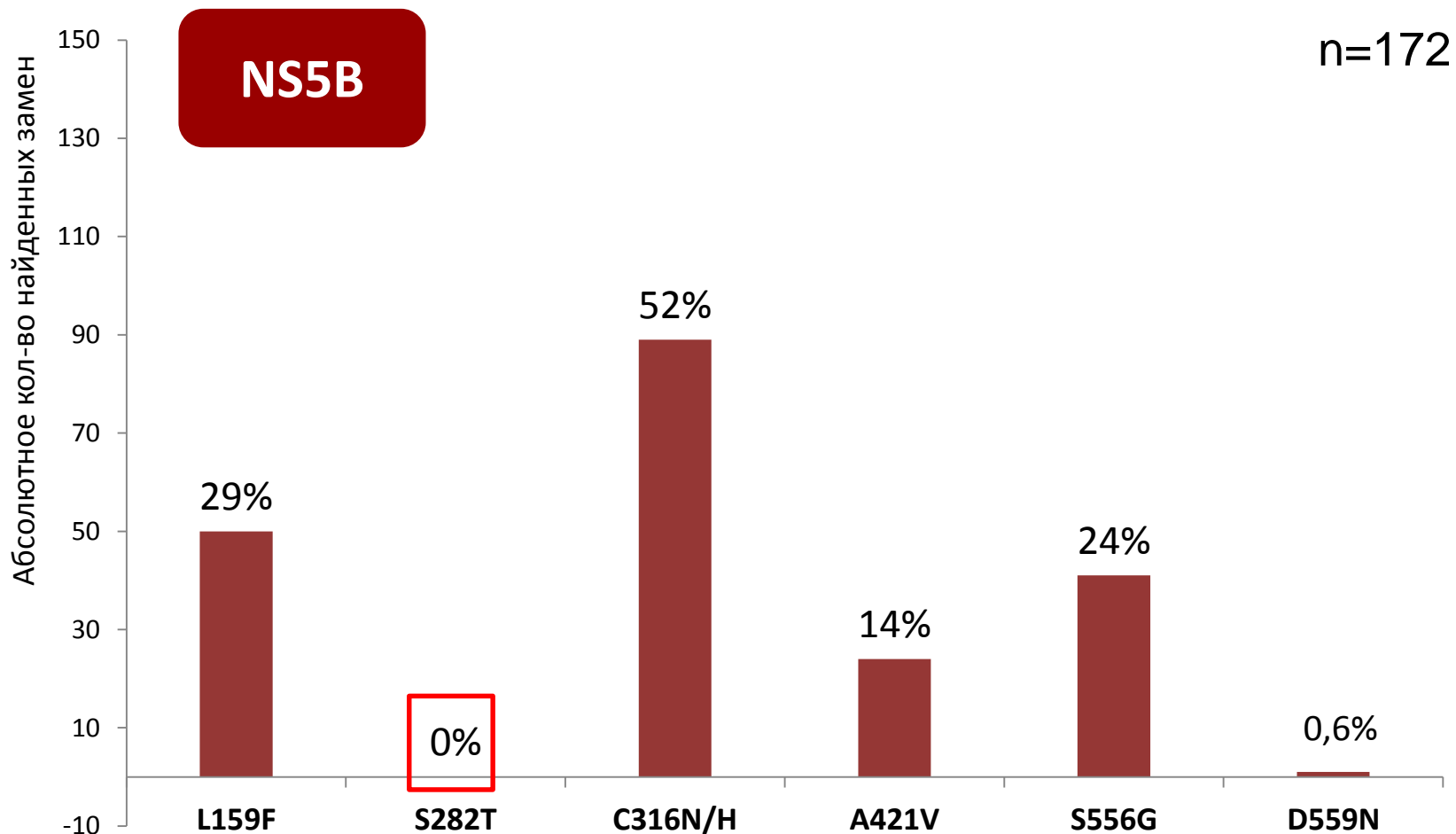
NS5B Полимераза (591 а.о.) – Ненуклеотидные ингибиторы

Дасабувир

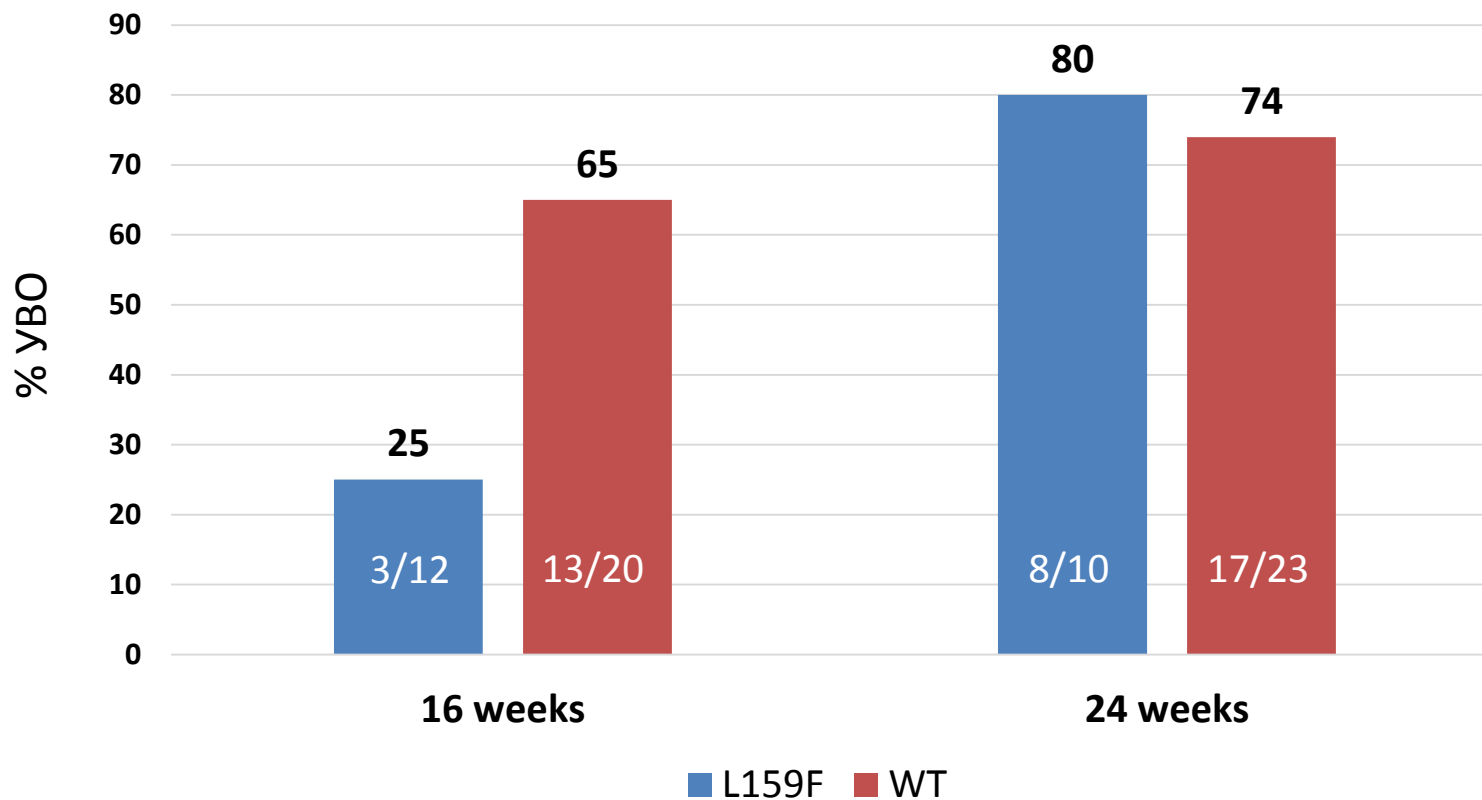


Генотип HCV: 1a – красный, 1b – синий, 2 – коричневый, 3a – зеленый, 4 – оранжевый

Частота исходных мутаций в регионе NS5B HCV субтипа 1b (Российская популяция)



УВО 12 у пациентов с генотипом HCV 1b имевших и не имевших исходные мутации резистентности при лечении СОФ+РБВ в течении 16 и 24 недель



Методы выявления мутаций резистентности

Метод	Чувствительность (доля мутантной популяции, которая может быть обнаружена)	Особенности
Прямое секвенирование	10-20%	Относительно прост, надежен, широко используется в лаб. диагностике
Секвенирование нового поколения (NGS) или глубокое секвенирование	<1%	Высокая пропускная способность, дорогостоящее оборудование и реагенты, высококвалифицированный персонал

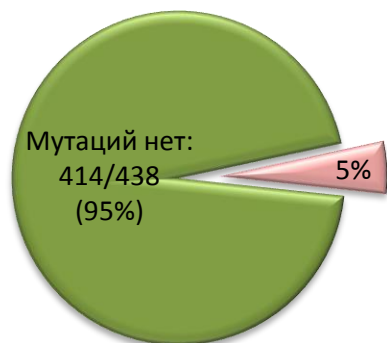


Влияние исходных мутаций NS5A на эффективность лечения Гразопревиrom/Элбасвиrom (12 недель, генотип 1a)

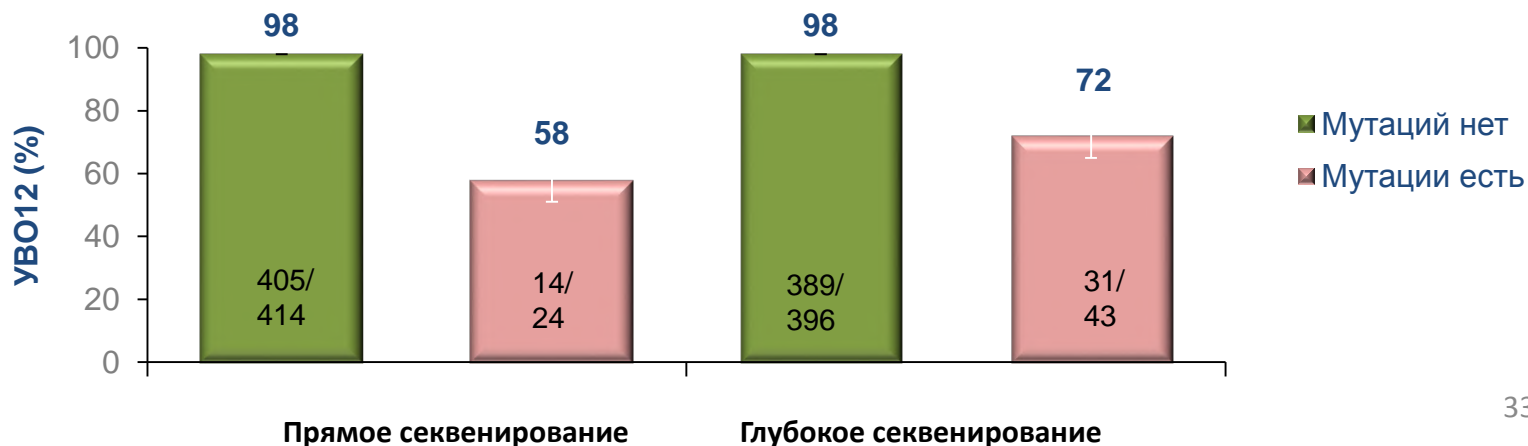
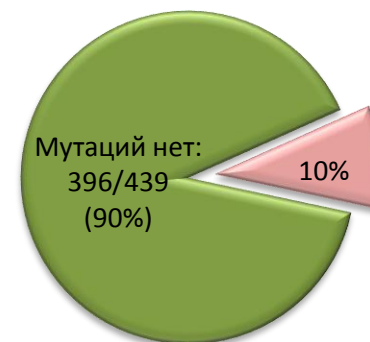
Прямое секвенирование
(чувствительность 20%)

Глубокое секвенирование
(чувствительность 1%)

Мутации к EBR



Мутации к EBR



Мутации к EBR = мутации повышающие EC50 более чем в 5 раз

Jacobson I et al. AASLD 2015; Abstract LB-22. Available at: http://www.natap.org/2015/AASLD/AASLD_39.htm

Проводить или не проводить исследование на мутации резистентности?

- Широта использования данных о мутациях резистентности зависит от доступности надежного и стандартизованного метода их обнаружения;
- Клиническое значение мутаций резистентности определяется комбинацией факторов: влияние на ингибирующую активность препарата, сочетания мутаций, группы пациентов, режима терапии и др.
- Исследование на мутации вероятно не требуется в группах пациентов и при режимах лечения, где частота УВО >99%;
- Исследование на мутации вероятно имеет клиническую и экономическую целесообразность в группах пациентов и при режимах лечения с субоптимальной частотой УВО (<90-95%?) (пациенты, имевшие опыт лечения, пациенты с циррозом, комбинация ПППД с низким генетическим барьером, при решении вопроса о применении короткого курса лечения и др.)
- Исследование на мутации резистентности обязательно для пациентов, не ответивших на лечение ПППД для подбора оптимального режима последующей терапии (наиболее полезно исследование двух образцов: исходного и после неудачи лечения).



Общие принципы повторного лечения у пациентов с мутациями резистентности

- Сменить класс ПППД;
- Включить в схему лечения СОФ;
- Включить в схему лечения РБВ;
- Увеличить продолжительность курса лечения (24 недели);
- Применить комбинацию из трех ПППД разных классов;
- Применить схему, включающую комбинацию ПППД с высоким генетическим барьером и ПЭГ+РБВ;
- Подождать появления новых ПППД второго поколения с хорошим профилем резистентности.

Благодарю за
внимание!

