

Резистентность ВГС - теоретические основы и практическое значение

проф. Чуланов В.П.

*Руководитель Референс-центра по мониторингу
за вирусными гепатитами*



Bristol-Myers Squibb

Evolution of HCV Treatment Revolution



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 ВГС способствуют развитию резистентности

Высокая частота мутаций



Активная репликация вируса

Одна ошибка на каждый новый
воспроизведенный вирус

$> 10^{12}$ вирусных частей в день

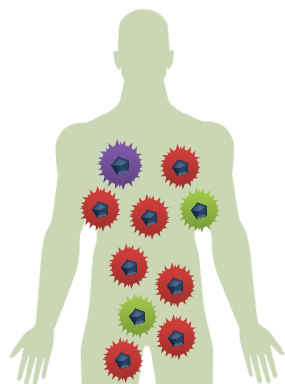


8.7×10^{10} вирусов с единичными мутациями каждый день
 4.2×10^9 вирусов с двойными мутациями каждый день

**Все возможные вариации ВГС 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 дитикм типом (ДТ) (чувствительный вирус) и резистентными штаммами



Дикий тип

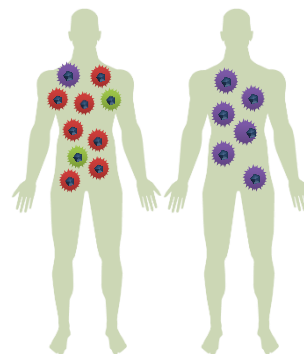


Резистентный вирус

Начало терапии



Терапия не может подавить репликацию резистентных штаммов



Вир.прорыв

Реуидив

Прекращение терапии

Терапия подавляет репликацию резистентных штаммов



УВО

Исходные МР ≠ МР после ПВТ

McHutchison JG., et al. N Engl J Med. 2009;360(18):1827-183.
Sarrazin, C. & Zeuzem, S. Gastro. 2010;138:447-62.
Hezode C., et al. N Engl J Med. 2009;360(18):1839-1850
Kwo PY., et al. Hepatology. 2008;48:1027A

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.

Преодоление лекарственной резистентности

- Комбинация ≥ 2 препаратов различных классов ПППД повышает барьер резистентности
 - Барьер резистентности будет отличаться в зависимости от комбинации препаратов и генотипа ВГС (субтипа)
 - Концептуальные исследования комбинации DCV + ASV показали низкий барьер резистентности при подавлении ВГС GT 1a и высокий барьер резистентности для GT 1b ¹
 - Исследования 2 фазы комбинации DCV + SOF показали высокий барьер резистентности для этого режим против ВГС GT 1a и GT 1b ²

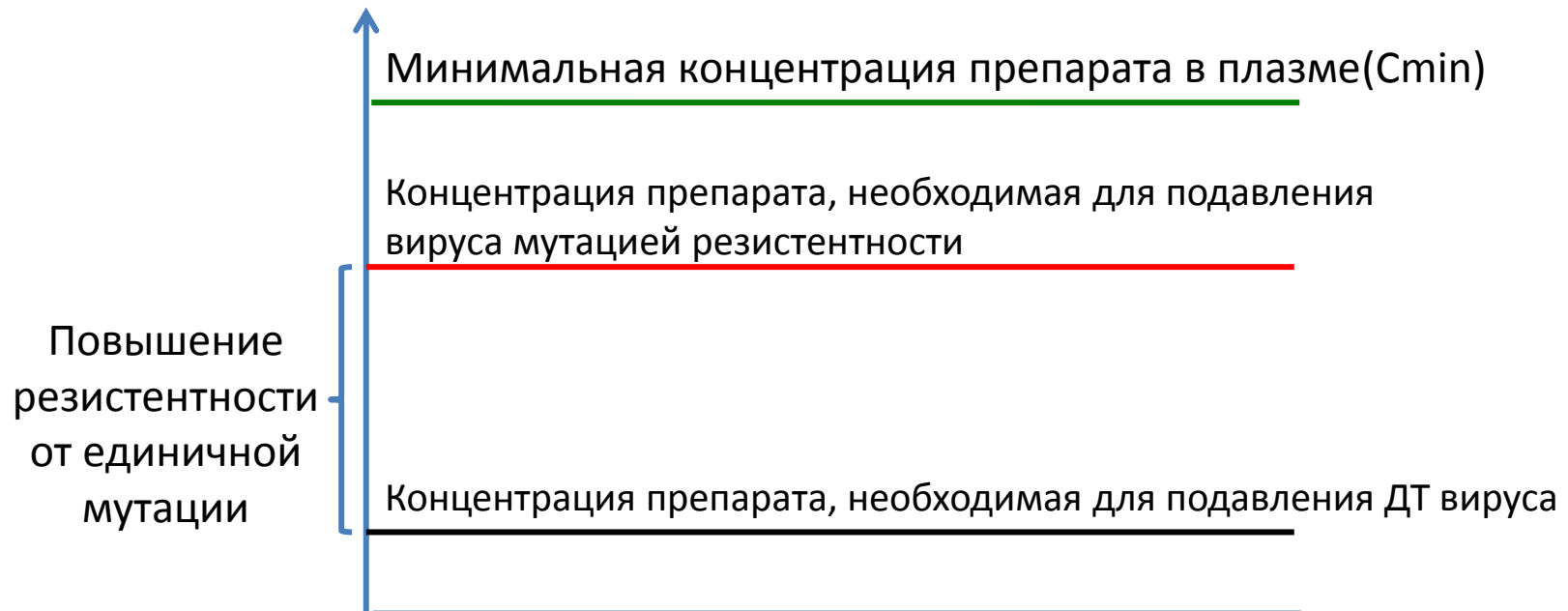
ASV, asunaprevir; DCV, daclatasvir; SOF, sofosbuvir.

1. Lok A et al. N Engl J Med. 2012;366(3):216-24; 2. Sulkowski MS et al. N Engl J Med. 2014; 370(3):211-21

Генетический барьер вирусной резистентности

- Генетический барьер может быть оценен по изменению ИК50

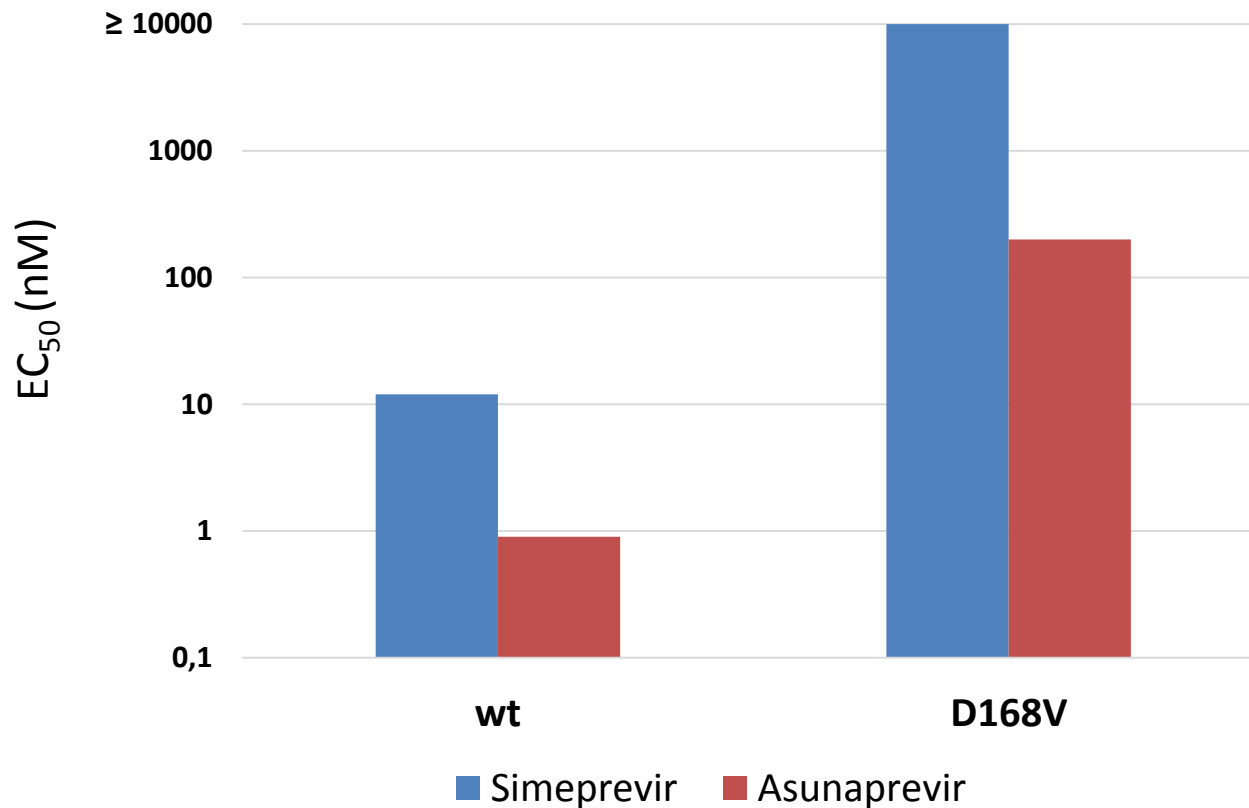
ИК50: полумаксимальная ингибирующая концентрация (концентрация препарата, необходима чтобы ингибировать 50% биохимической активности *in vitro*)



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	Низкий	Дасабувир
NS5A ингибиторы	NS5A	1, 4-6	Очень низкий	Ледипасвир* Омбитасвир Даклатасвир Элбасвир*

Генетический барьер ингибиторов NS3 протеазы



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.

Влияние мутации Q80K на УВО12у пациентов с ХГС генотипа 1а, получавших лечение с Симепревиrom

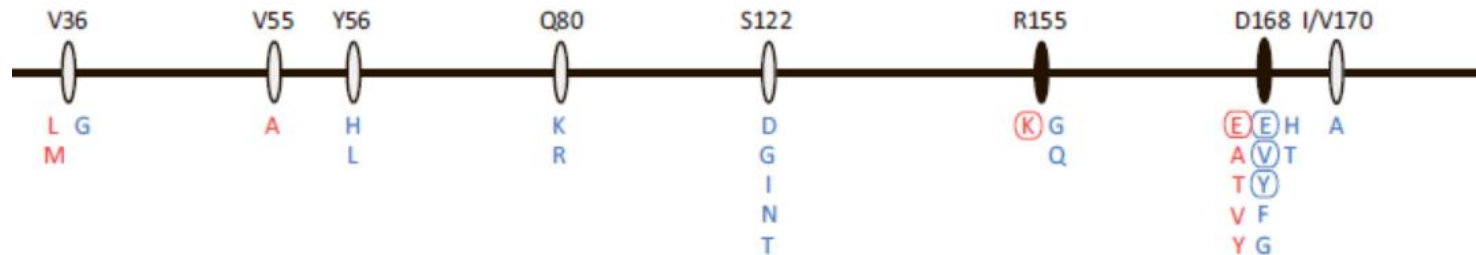
- До начала терапии, мутация Q80K встречалась ~ 30% пациентов (48% в США и 19% в Европе) с генотипом 1а в клинических исследованиях 3 фазы

Группа пациентов	распространенность	УВО12 у пациентов с ХГС GT1a			
		Q80K +		Q80K -	
		Плацебо	Симепревир	Плацебо	Симепревир
Тне получавшие терапию	~ 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 NS3

NS3 протеаза (180 аа)

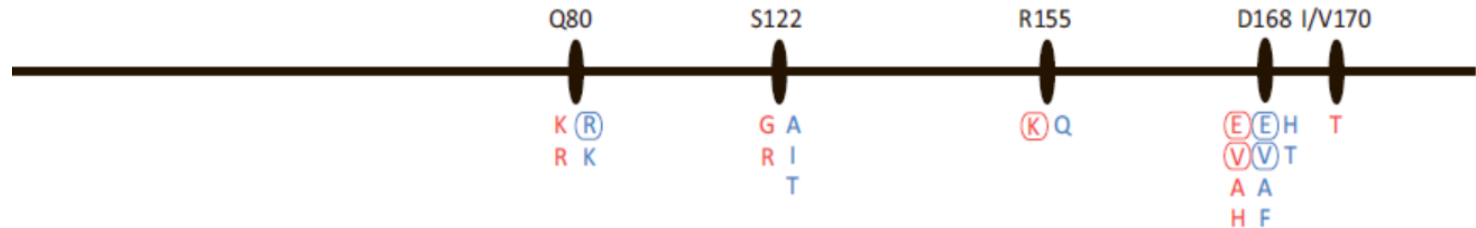
Асунапревир



Паритапревир



Симепревир



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

Ошибки генотипирования и рекомбинантные варианты HCV

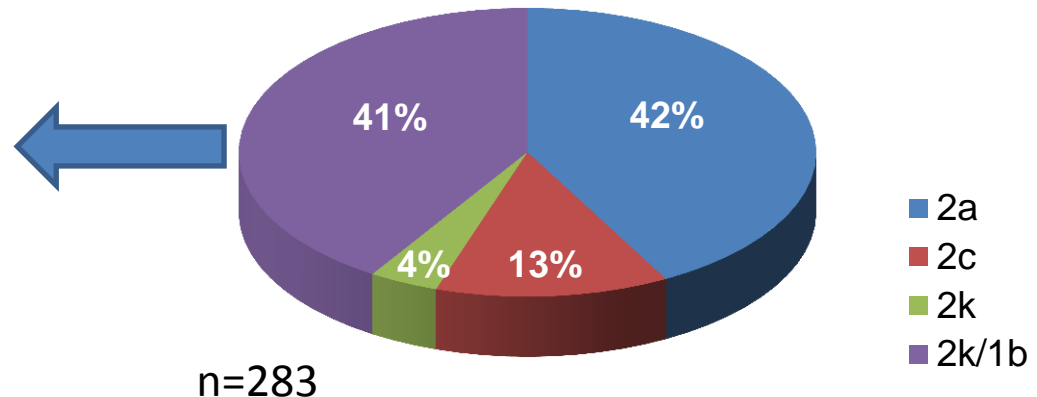
Частота ошибочного определения генотип HCV в клинической практике

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%)

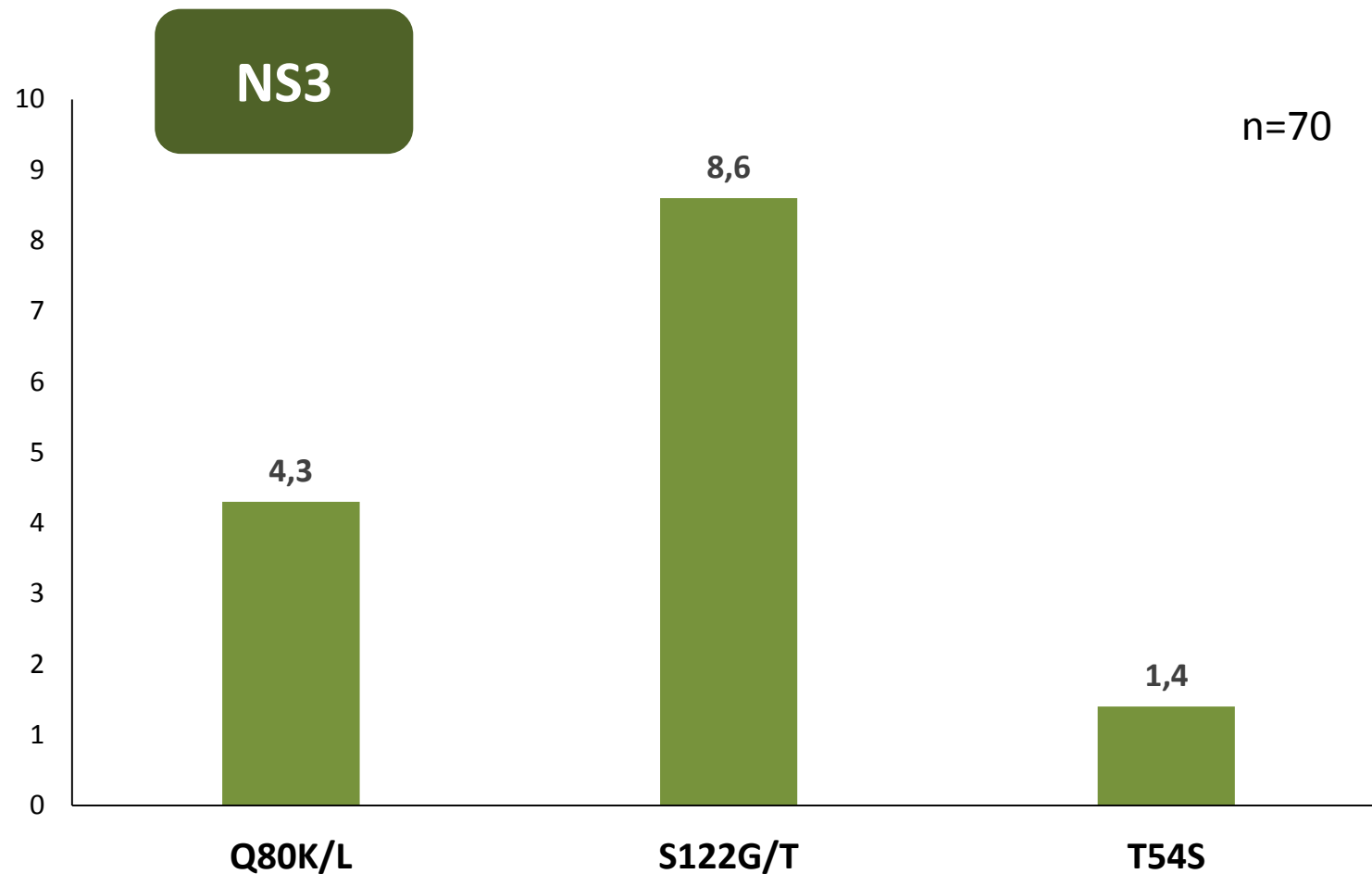
В 4% случаев генотип может быть определен ошибочно

Частота рекомбинантных вариантов HCV в России

В 40% случаев HCV определенный как генотип 2 может оказаться рекомбинантом 2k/1b



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

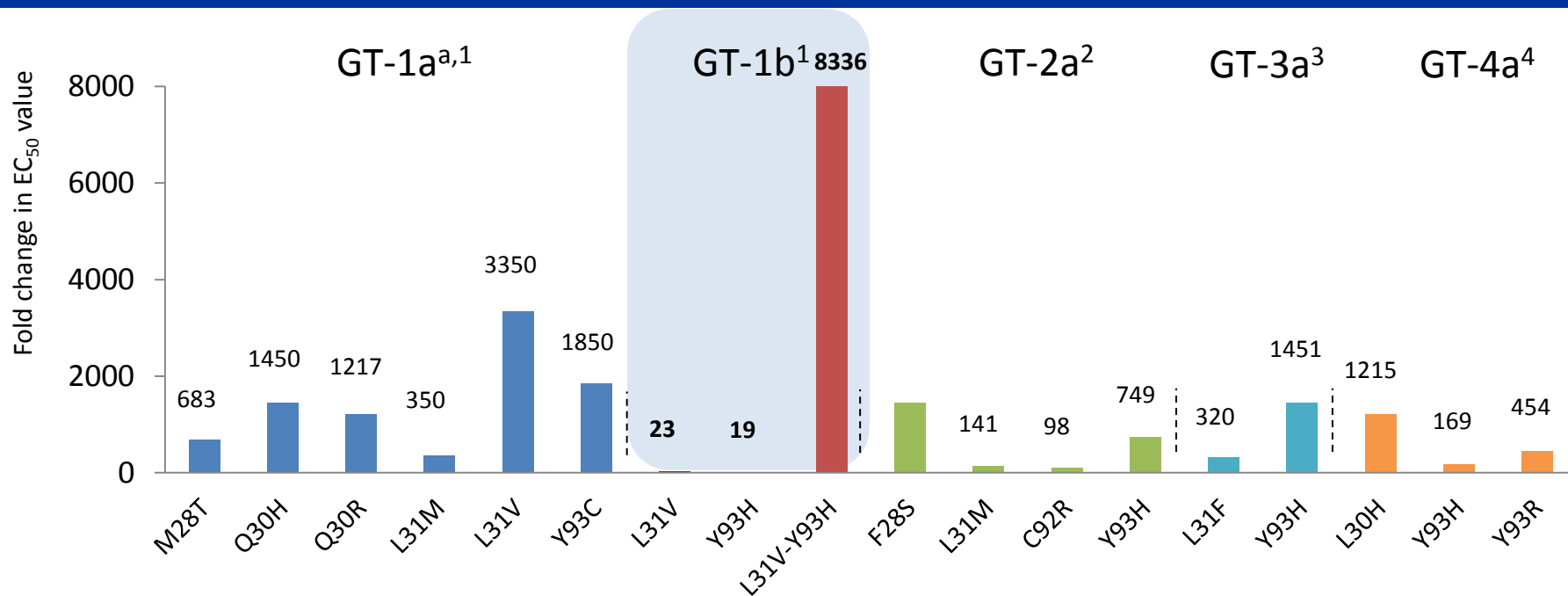


Перекрестная резистентность к ингибиторам NS5A

Генотип ВГС, мутация пппд	1a				1b	
	M28T	Q30R	L31M/V	Y93H/N	L31V	Y93H/N
Ледипасвир	20x	>100x	>100x/ >100x	>1000x/ >10000x		>100x/-
Омбитасвир	>1000x	>100x	<3x	>10000x/ >10000x	<10x	20x/50x
			>100x			
Даклатасвир	>100	>1000x	>100x/ >1000x	>1000x/ >10000x	<10x	20x/50x
Элбасвир	20x	>100x	>10x	>1000x/ >1000x	<10x	>100x/-
			>100x			
Велпатасвир	<10x	<3x	20x/50x	>100x/ >1000x		<3x/-
АСН-3102	30x	20x	<10x	>100x/>100x		<3x/<3x
АВТ-530	<3x	<3x	<3x	<10x/<10x	<3x	<3x/<3x
МК-8408	<10x	<10x	<10x	<10x	<10x	<10x

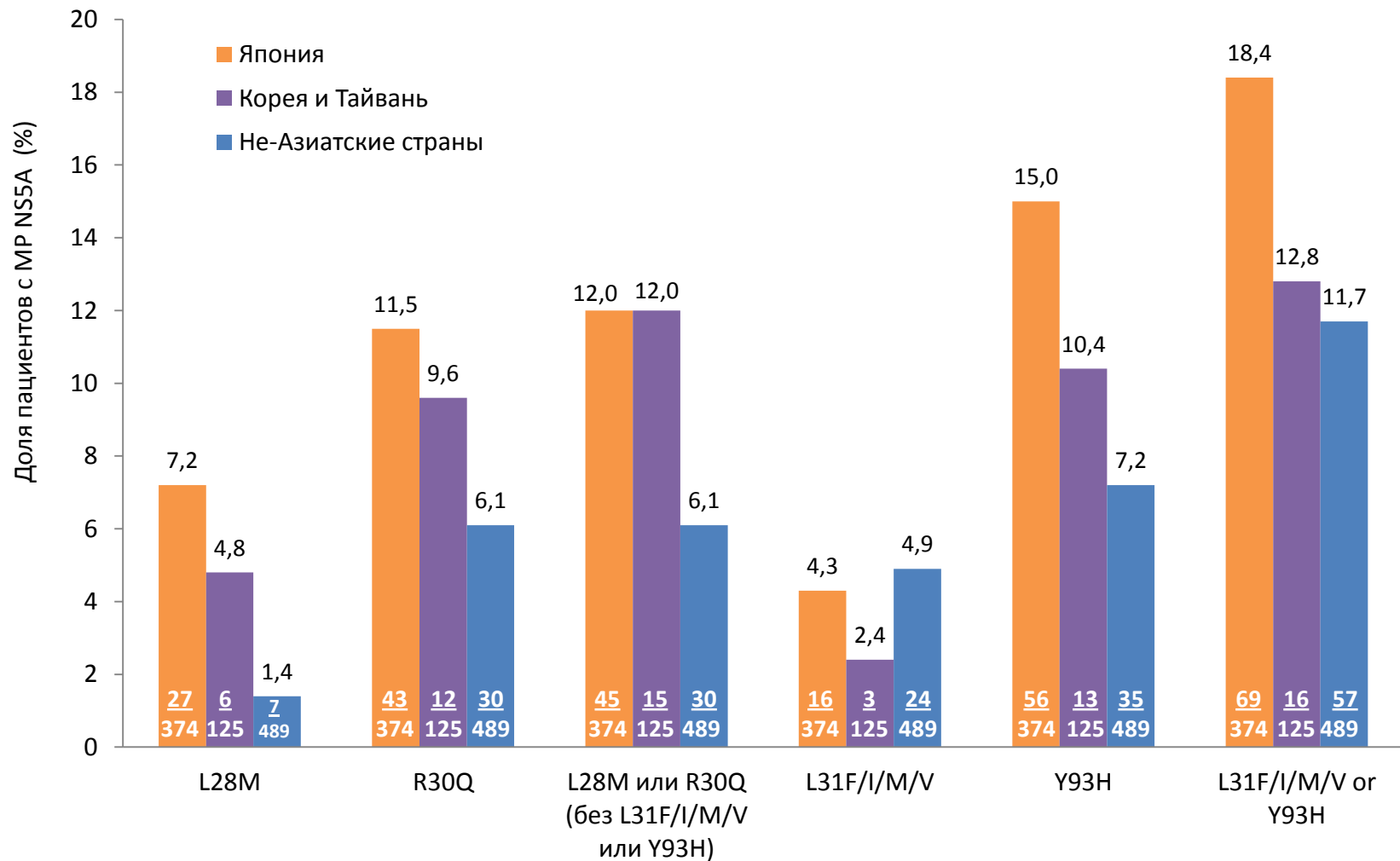
RAV per DAA class or specific DAA?

Профиль резистентности Даклатасвира in vitro

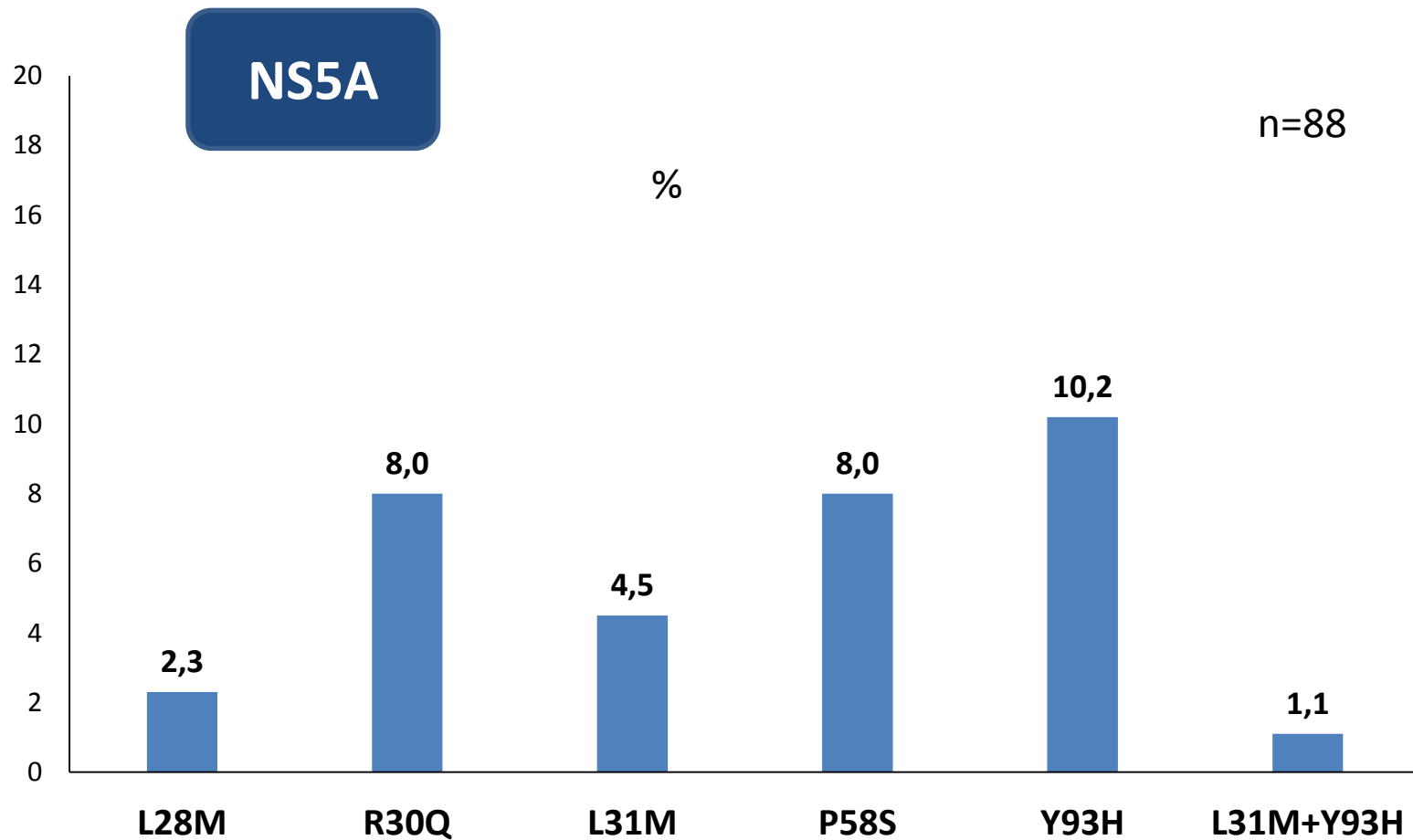


- С возникновением резистентности к ДКВ связаны замены в позициях 28, 30, 31 и 93 в N-регионе NS5A
 - Основные мутации резистентности специфичны для каждого генотипа
- Изменение ингибирующей концентрации препарата (IC₅₀) зависит от генотипа (субтипа) ВГС
- Барьер резистентности зависит от генотипа. Для значительного повышения резистентности в GT-1b необходимы 2 замены.
 - Очень редко наблюдается исходное сочетание NS5A мутаций L31 и Y93H (~ 1%)

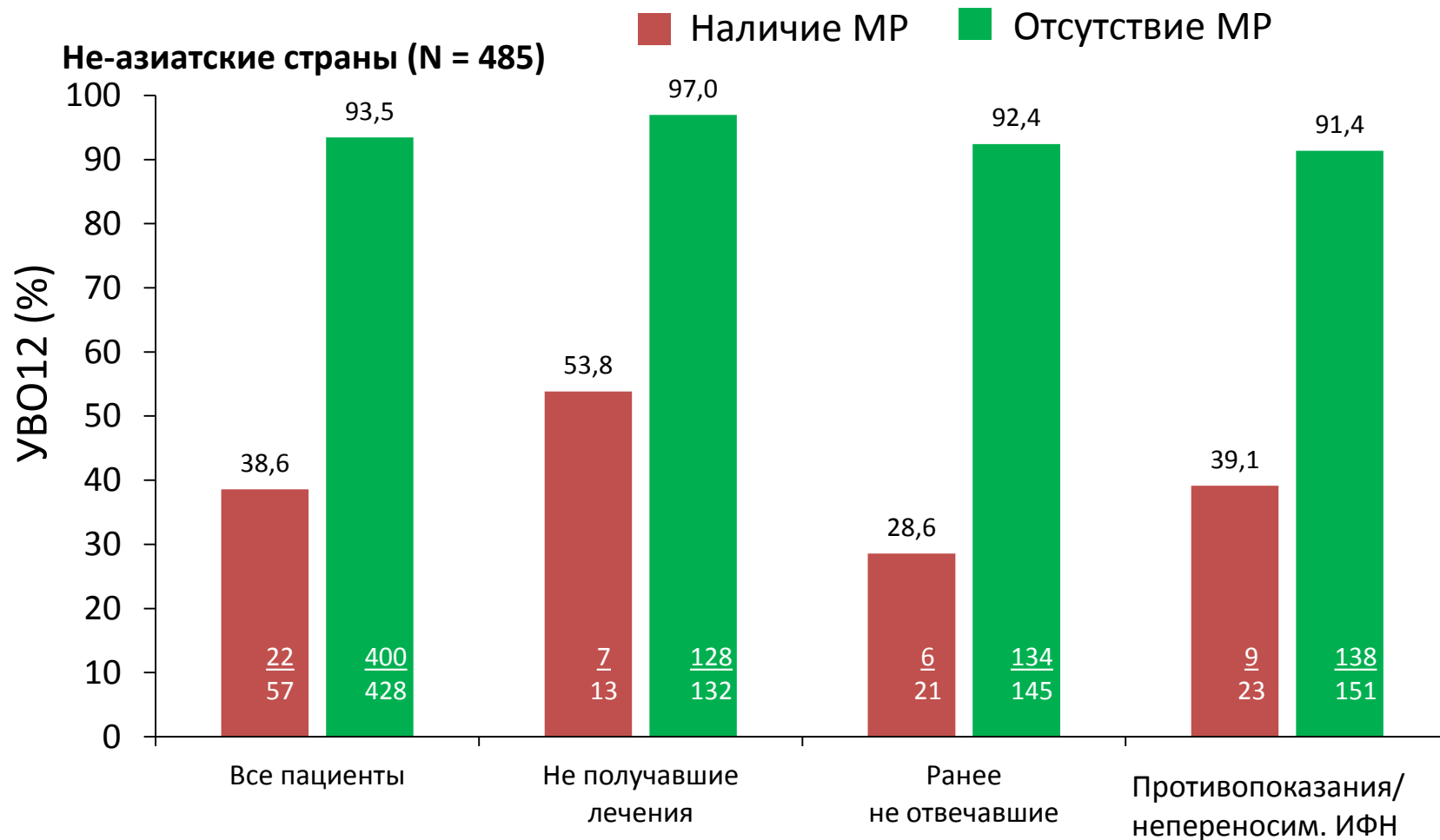
Исходная распространенность мутаций NS5A при ХГС генотипа 1b



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



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 печени и т.п.)

Эффективность комбинации ДКВ + АСВ у пожилых пациентов с ХГС GT-1 (Япония)

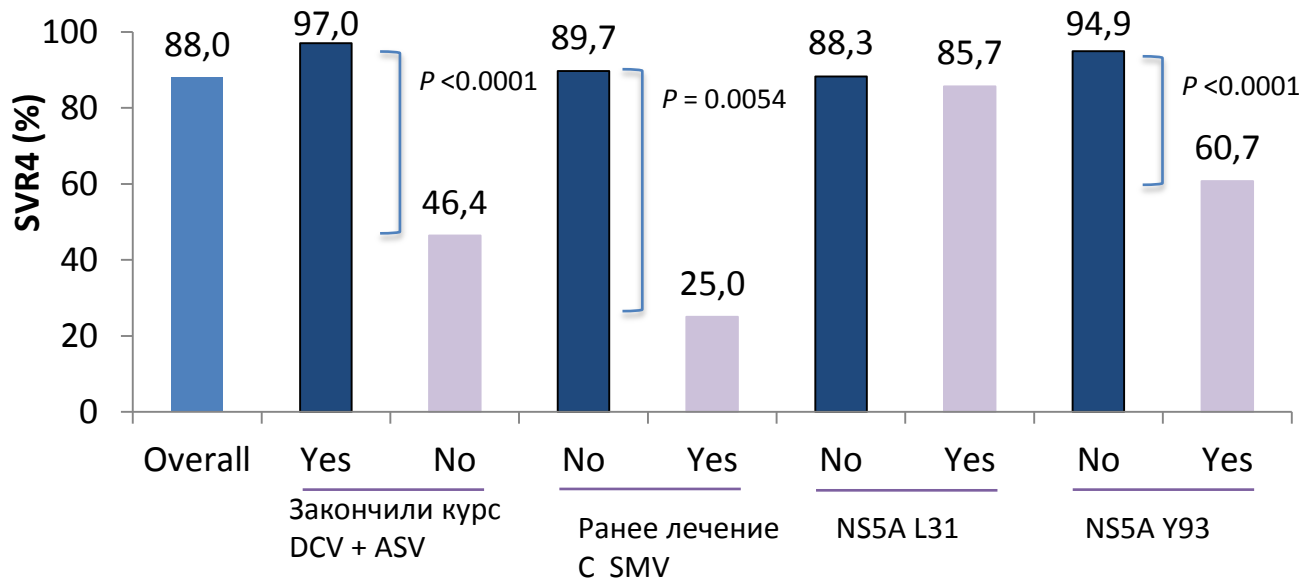
N = 180 пациентов с ХГС GT-1
получали ДКВ + АСВ*
Госпиталь Фукуока, Япония (Сент 2014–Сент 2015)



N = 159 с зарегистрированным УВО4:

- Средний возраст 71 г
- Ранее лечены с SMV, 2.5%
- MP NS5A L31, 8.8%
- MP NS5A Y93, 17.6%

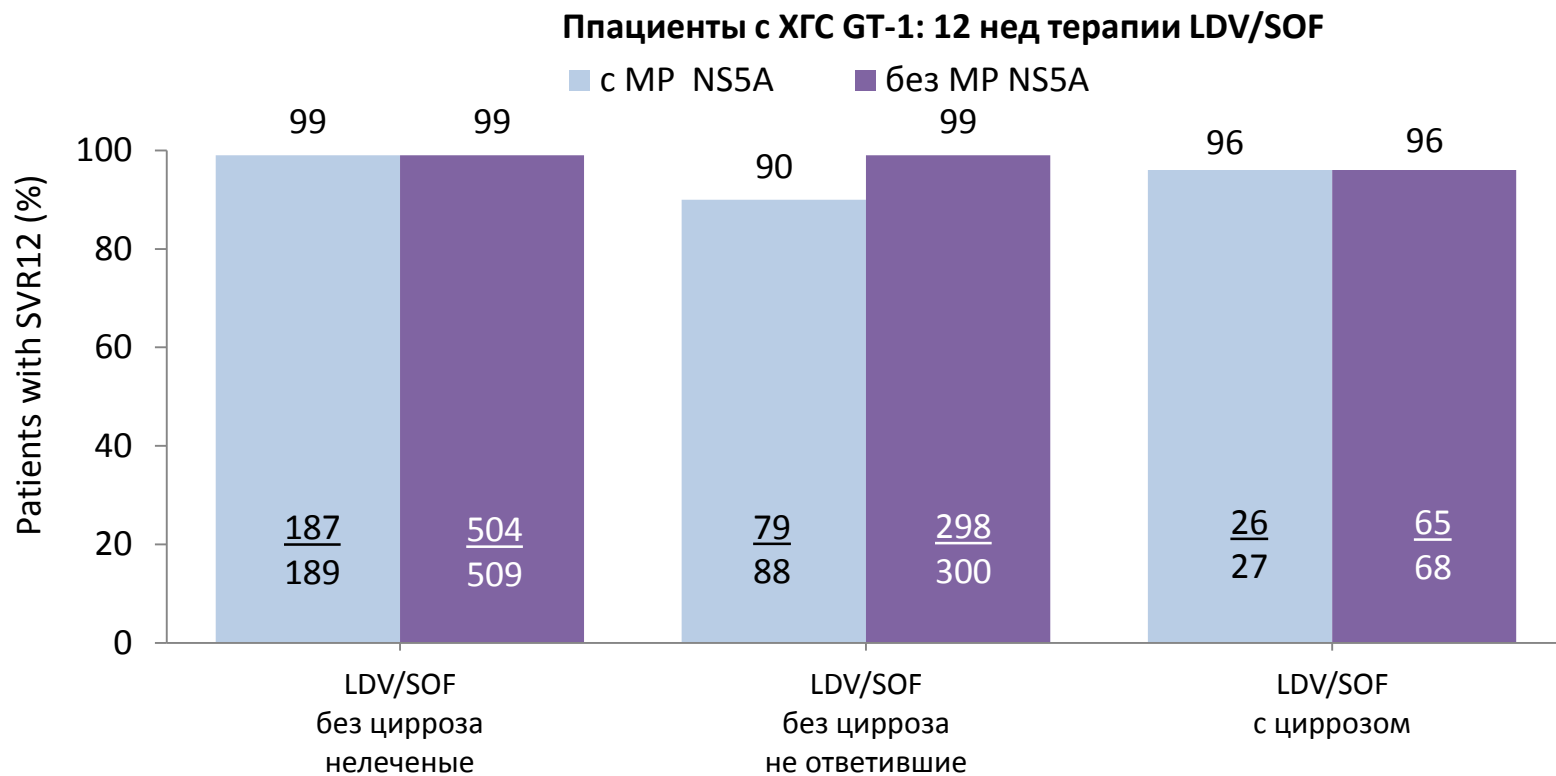
SVR4 у пациентов с ХГС GT-1



*DCV 60 mg QD + ASV 100 mg BID for 24 weeks

ASV, asunaprevir; BID, twice daily; DCV, daclatasvir; GT-1, genotype 1; NS5A, non-structural protein 5A; QD, once daily; RAV, resistance-associated variant; SMV, simeprevir; SVR4, sustained virologic response at post-treatment follow-up Week 4

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

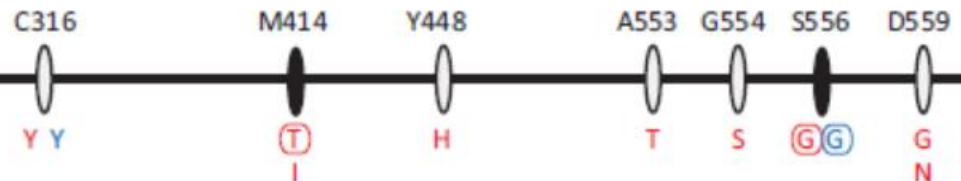
Софосбувир



591 ак

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

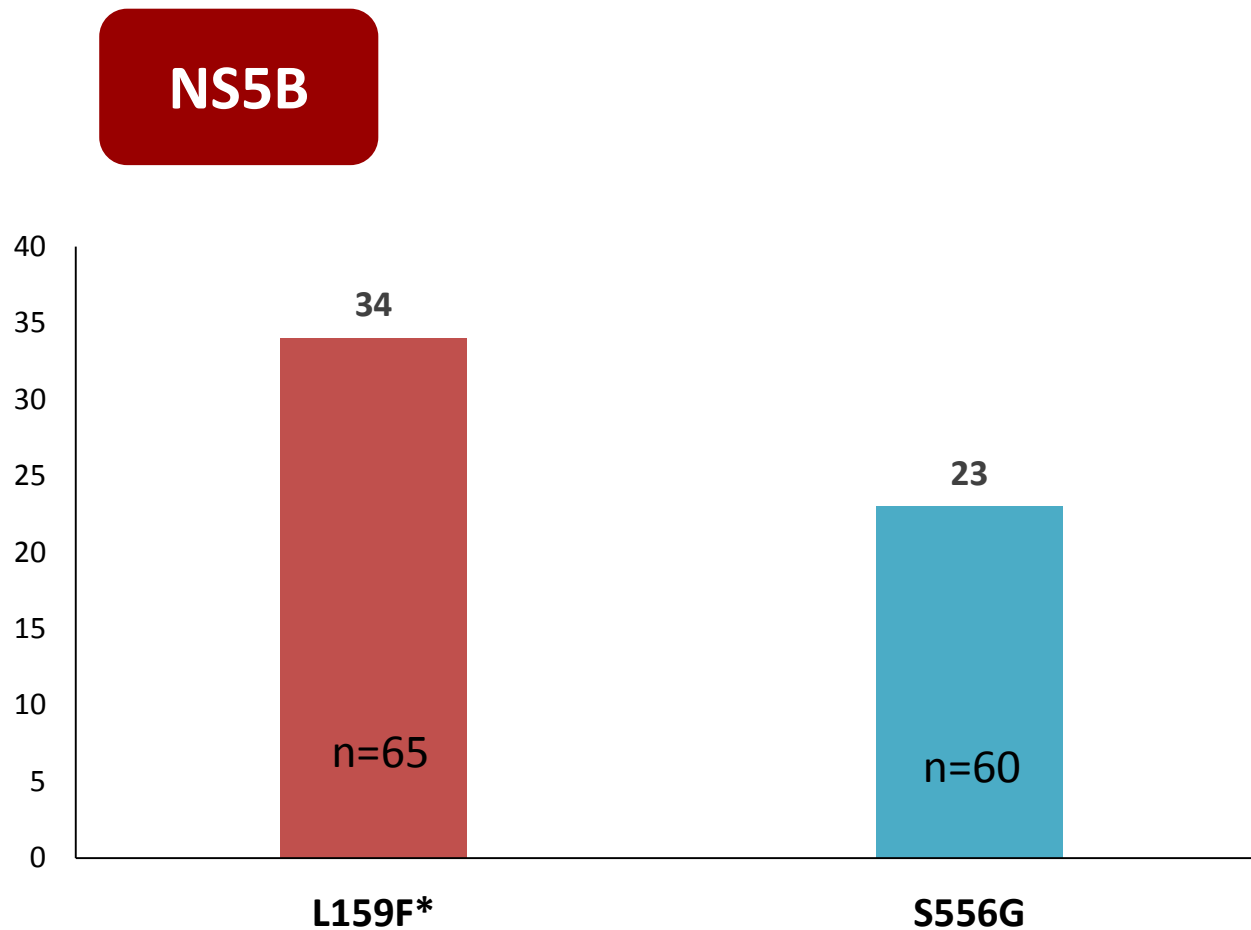
Дасабувир



591 ак

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

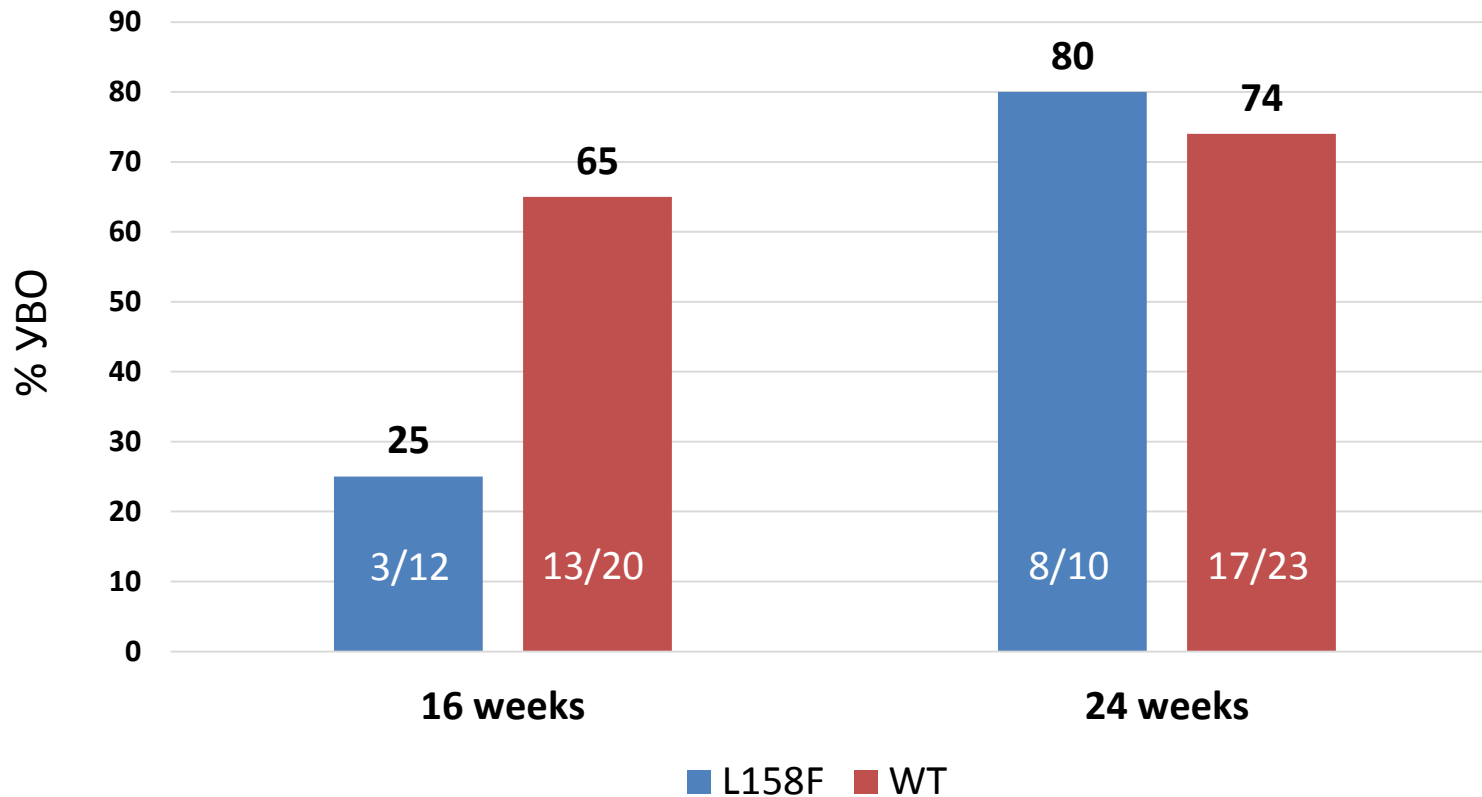
Частота исходных мутаций в регионе NS5B HCV субтипа 1b (Российская популяция)



* Chulanov V.P. et al. AASLD 2014

Референс центр по мониторингу за вирусными гепатитами, 2016

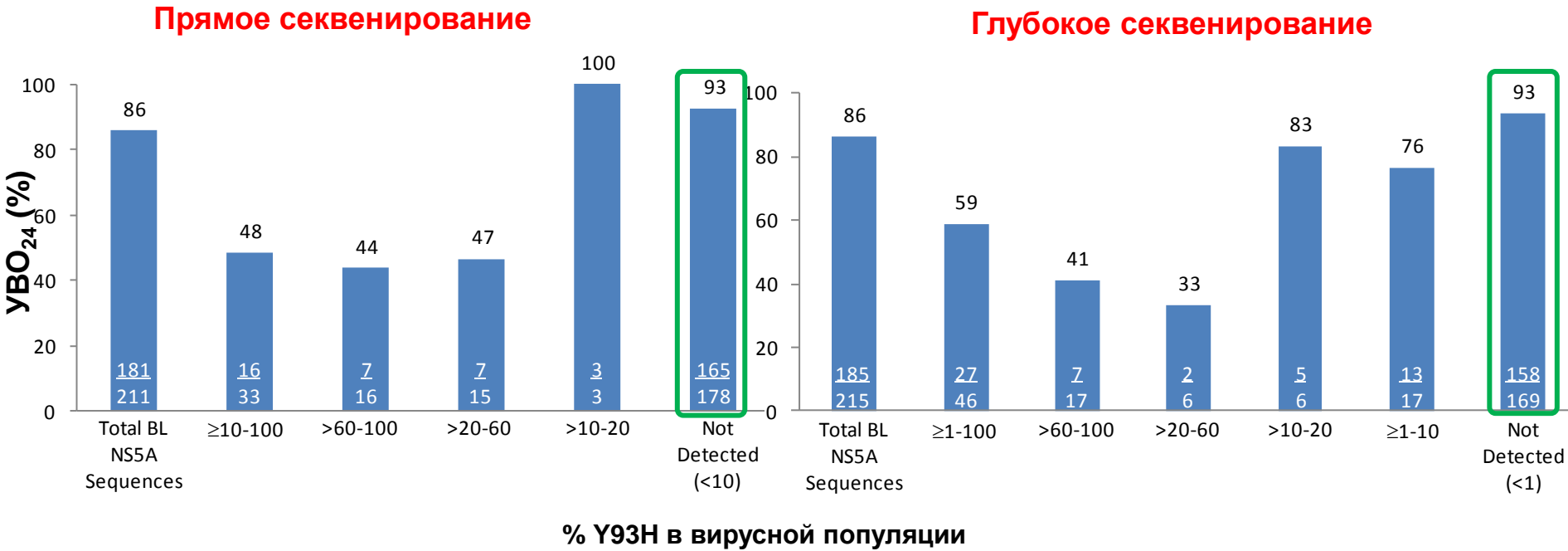
УВО 12 у пациентов с генотипом HCV 1b имевших и не имевших исходные мутации резистентности при лечении СОФ+РБВ в течении 16 и 24 недель



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
Клонирование- секвенирование	5-10%	Трудоемкий, времязатратный, может использоваться только в научных лабораториях
Секвенирование нового поколения (NGS) или глубокое секвенирование	<1%	Высокая пропускная способность, дорогостоящее оборудование и реагенты, высококвалифицированный персонал

Сравнение методов прямого и глубокого секвенирования NS5A-Y93H : влияние на достижение УВО24 при ХГС GT1b



- При терапии ДКВ+АСВ, оптимальные показатели УВО могут быть достигнуты при проведении скрининга исходных мутаций NS5A-Y93H методом прямого секвенирования
- Одинаковые показатели УВО достигнуты при обоих методах секвенирования. Глубокое секвенирование не является необходимым

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.