

XXXII Научно-практический семинар
ВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ СЕГОДНЯ:
НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
Москва, 9 декабря 2015 г

**Мутантные варианты вируса гепатита В,
резистентные к лечению:
как избежать появления, как обнаружить,
принципы эффективной терапии**

И.В. Карандашова

Лаборатория вирусных гепатитов ОМДиЭ
ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора Москва

Факторы, определяющие эффективность лечения хронических вирусных гепатитов

Характеристики препарата

- Эффективность
- Профиль резистентности
- Безопасность и переносимость

Характеристики болезни

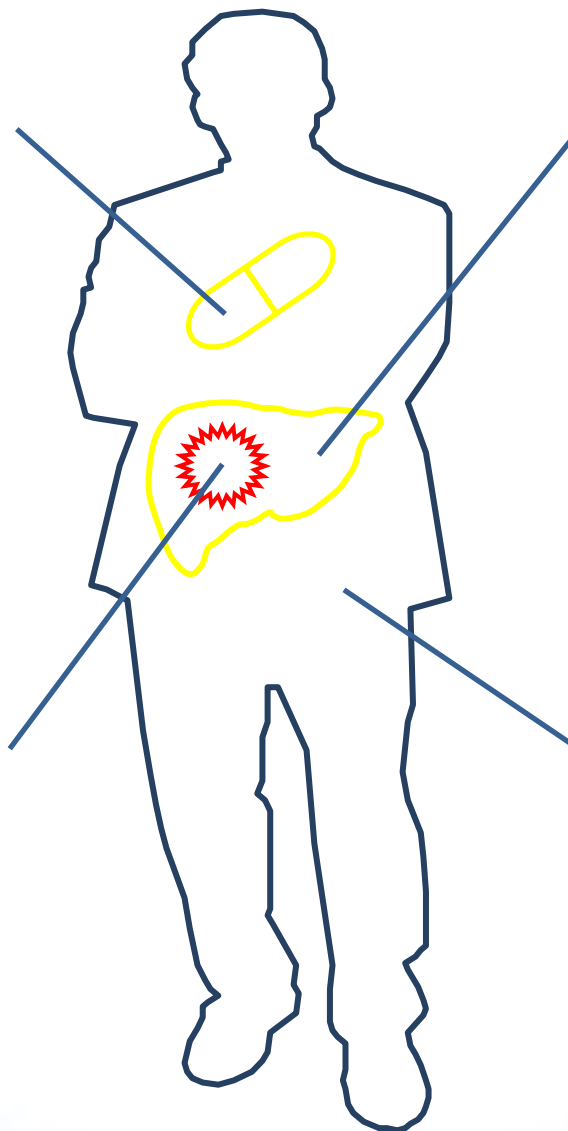
- Стадия фиброза
- Степень гистологической активности
- Уровень АЛТ

Характеристики вируса

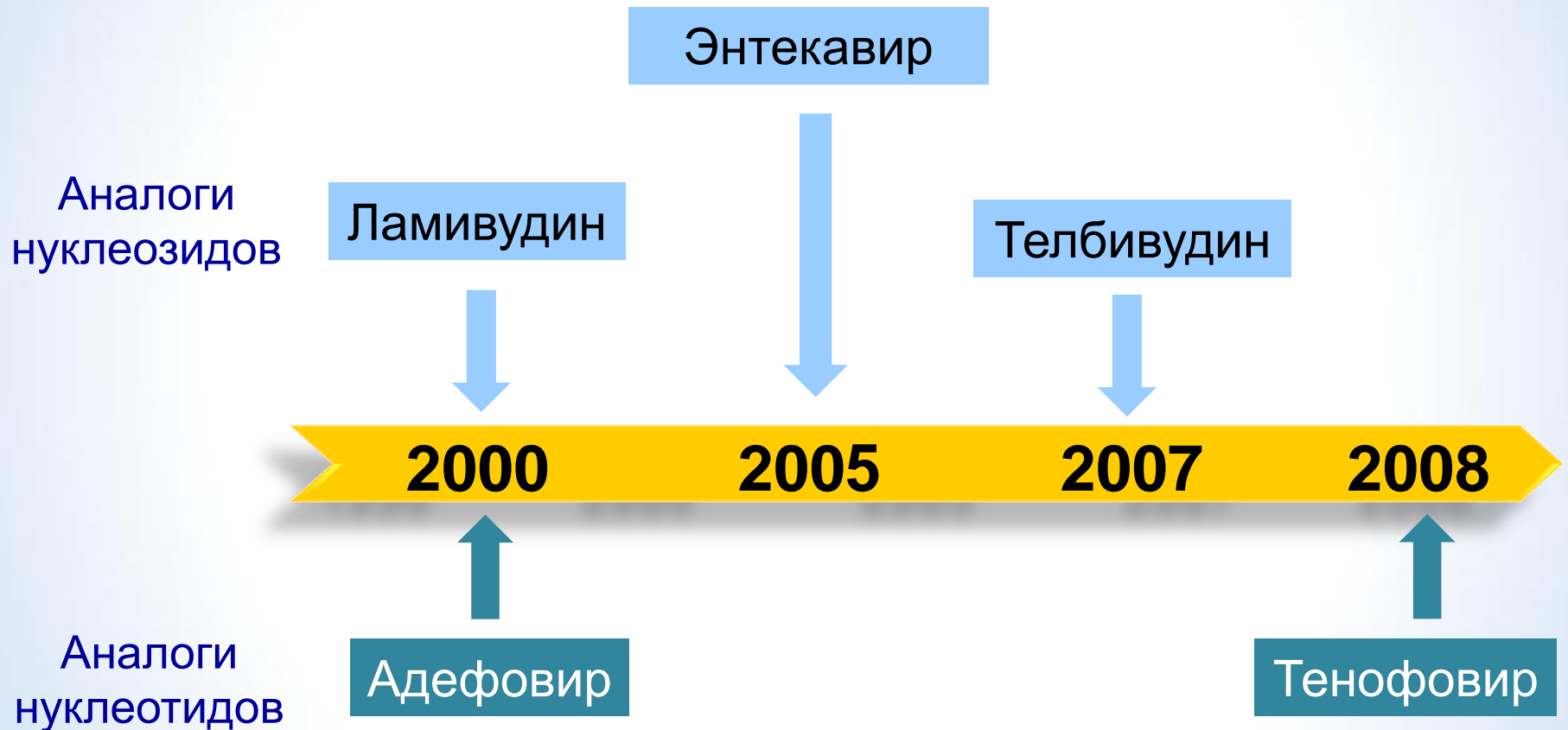
- Генотип
- Вирусная нагрузка
- **Мутации**

Характеристики пациента

- Возраст
- Пол
- Индекс массы тела
- Генетические факторы



Аналоги нуклеозидов/нуклеотидов, применяемые для лечения ХГВ



Лекарственная устойчивость

- **Лекарственная устойчивость (резистентность) возбудителя** - отбор генетических вариантов возбудителя со сниженной чувствительностью к лекарственному препарату

Почему развивается резистентность?

**Высокая скорость
репликации HBV**

10¹¹ вирионов
образуется
ежедневно

Почему развивается резистентность?

**Высокая скорость
репликации HBV**

10¹¹ вирионов
образуется
ежедневно

**Низкая точность
полимеразы HBV**

Почему развивается резистентность?

Высокая скорость репликации HBV

10¹¹ вирионов
образуется
ежедневно

**Низкая точность
полимеразы HBV**

**Ошибки при синтезе
геномной ДНК
на матрице прегеномной РНК**

1 ошибка на 10⁴ оснований

Почему развивается резистентность?

Высокая скорость репликации HBV

10^{11} вирионов
образуется
ежедневно

**Низкая точность
полимеразы HBV**

**Ошибки при синтезе
геномной ДНК
на матрице прегеномной РНК**

1 ошибка на 10^4 оснований

**Отсутствие
редактирующей активности
у полимеразы HBV**

Почему развивается резистентность?

Высокая скорость репликации HBV

10¹¹ вирионов
образуется
ежедневно

Низкая точность полимеразы HBV

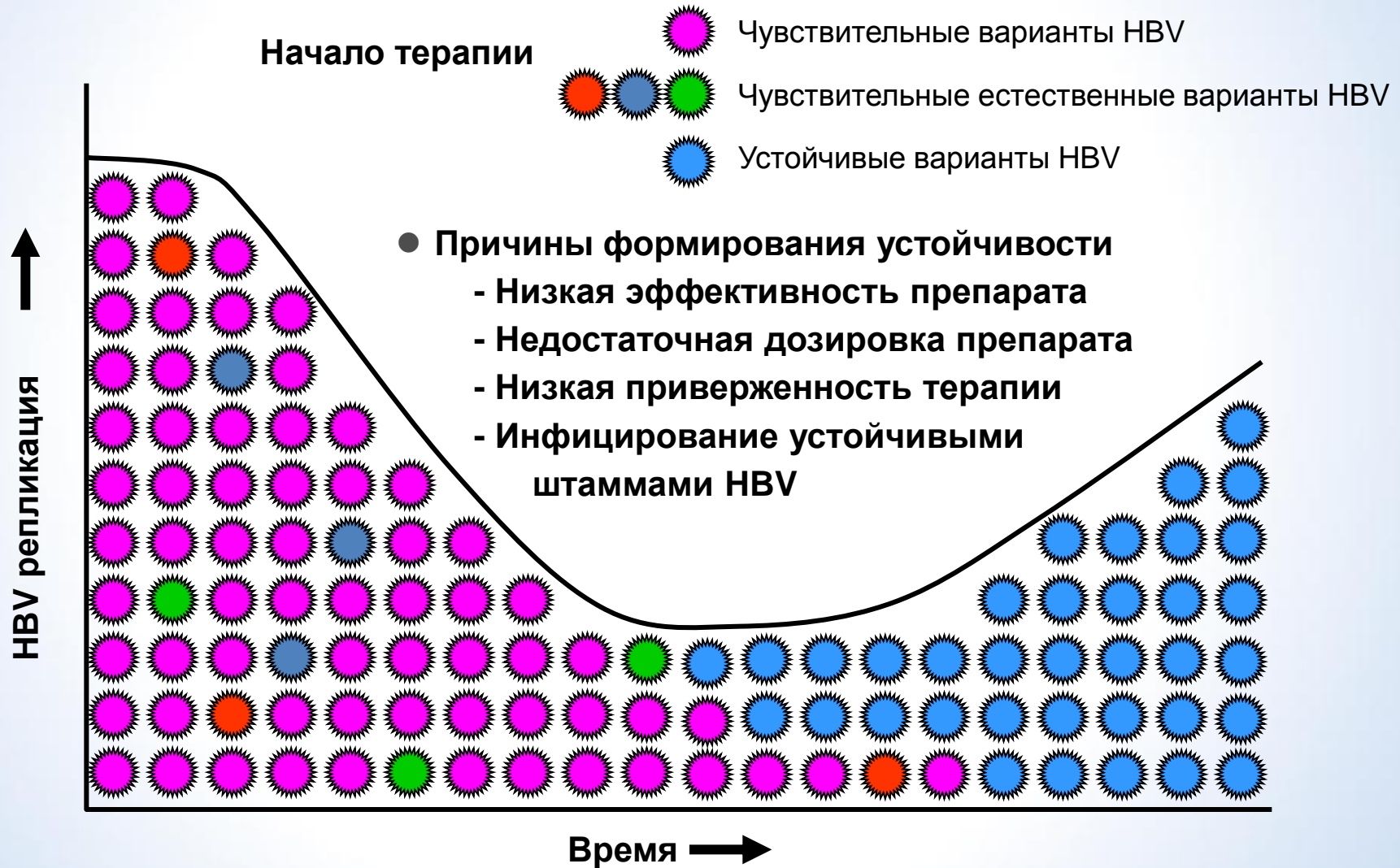
Ошибки при синтезе геномной ДНК на матрице прегеномной РНК

1 ошибка на 10⁴ оснований

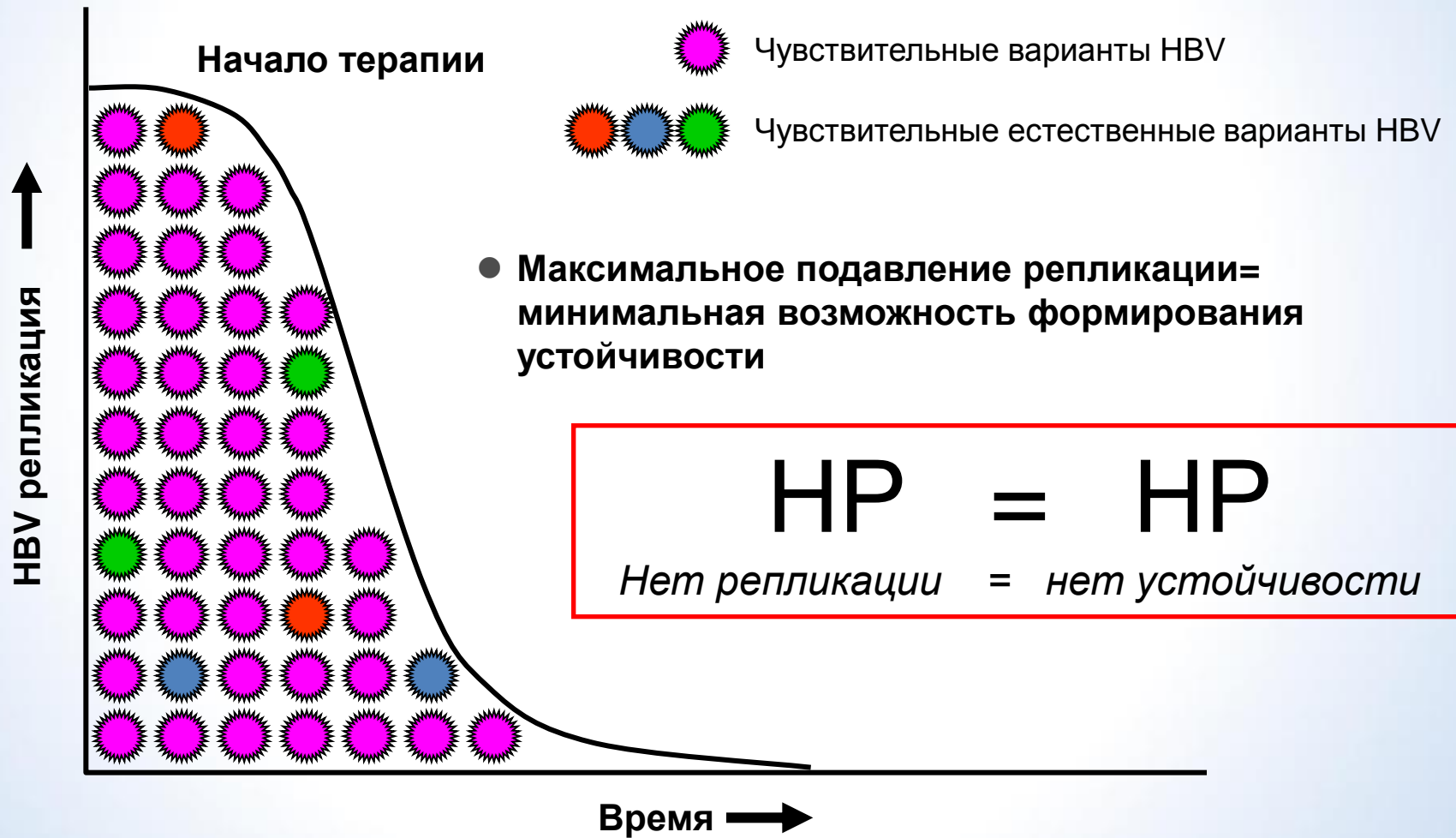
Отсутствие редактирующей активности у полимеразы HBV

Множество естественно возникающих генетических вариантов вируса

Формирование лекарственной устойчивости



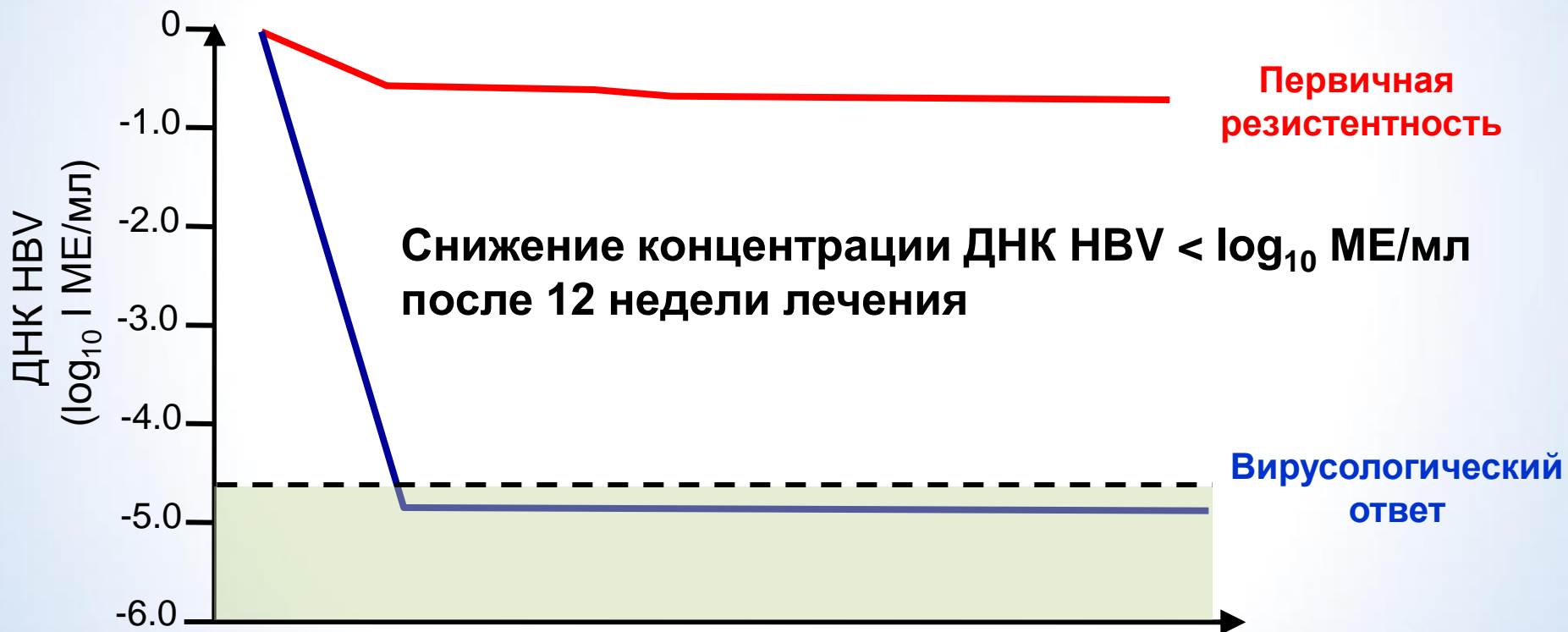
Формирование лекарственной устойчивости



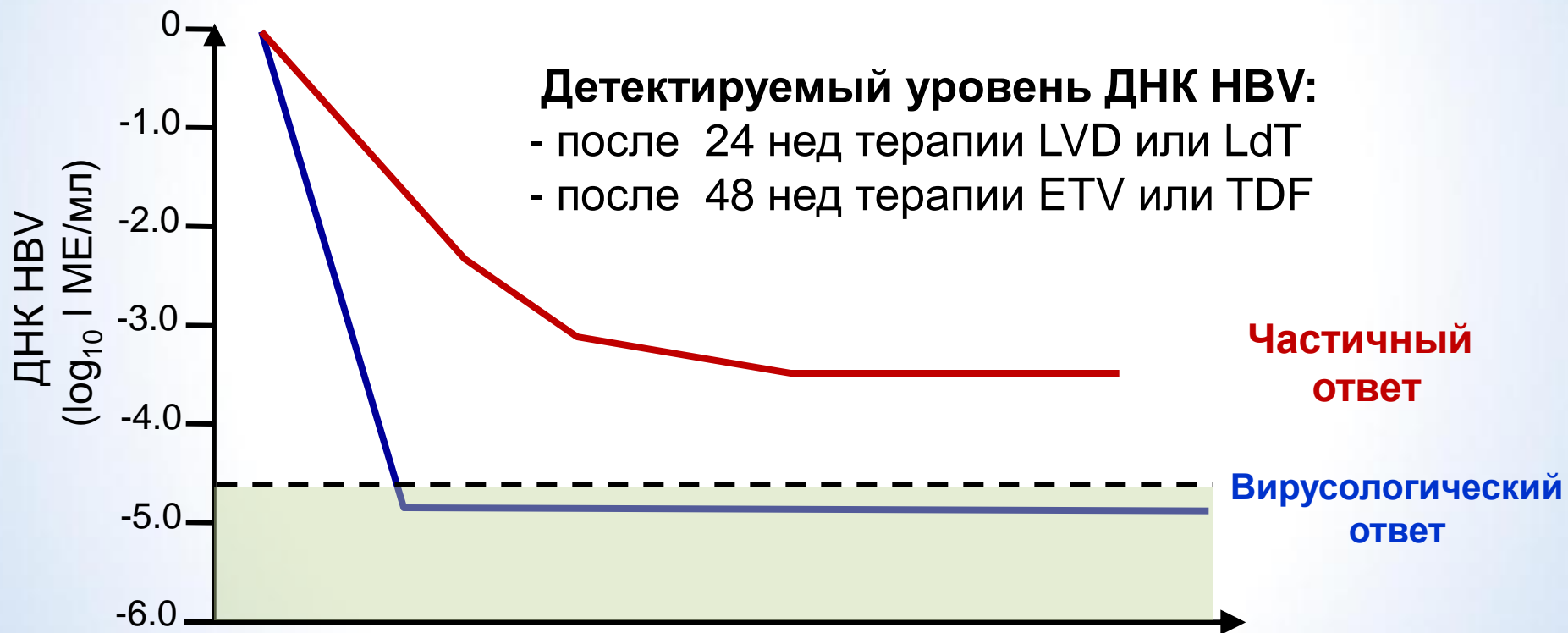
Мониторинг эффективности противовирусной терапии

- **Определение вирусной нагрузки**
- **Определение мутаций устойчивости HBV**

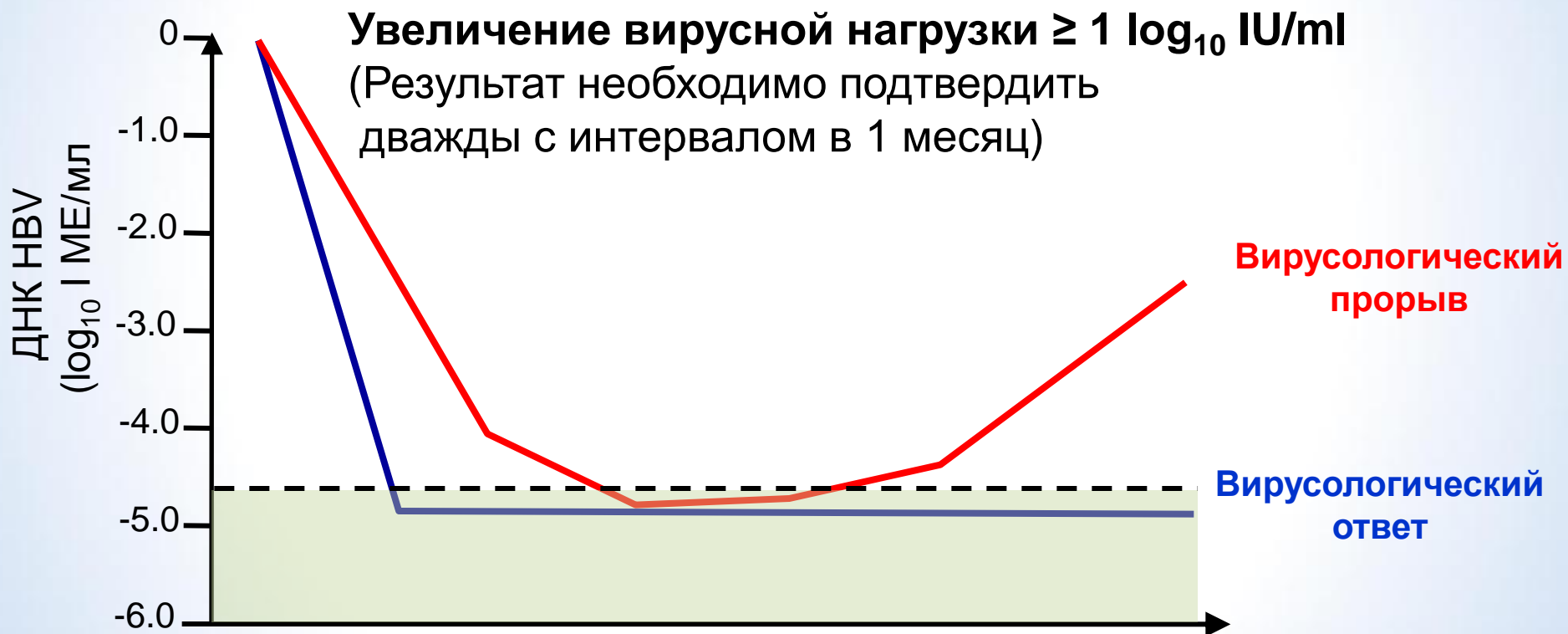
Первичная резистентность



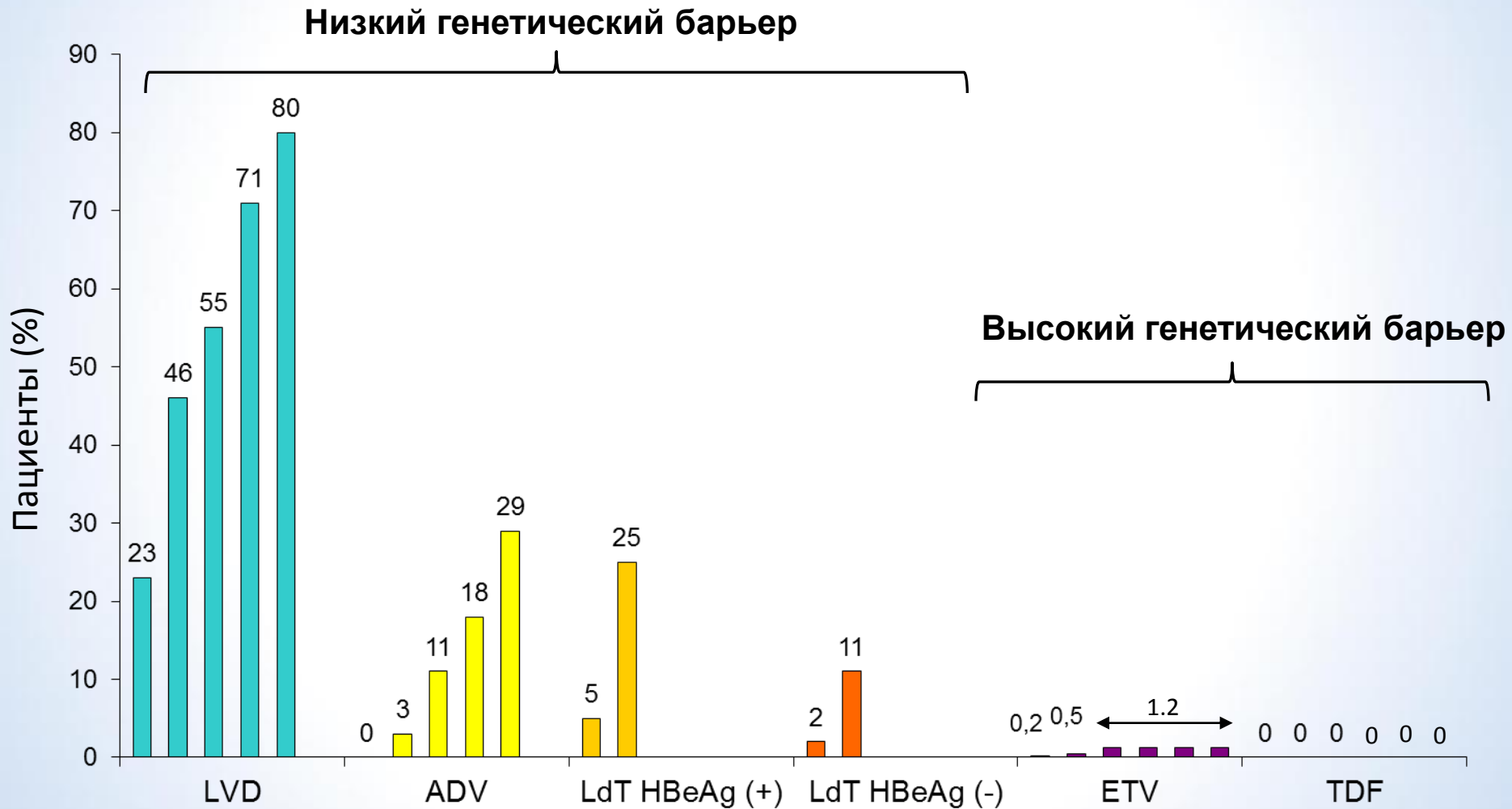
Частичный вирусологический ответ



Вирусологический прорыв



Формирование устойчивости HBV к аналогам нуклеозидов (нуклеотидов)



Мониторинг эффективности лечения

Определение
вирусной нагрузки

До лечения

12 неделя

24 неделя

48 неделя

Далее
каждые 3 месяца

LVD, LdT, ADV

Определение
вирусной нагрузки

До лечения

12 неделя

48 неделя

Далее
каждые 6 месяца

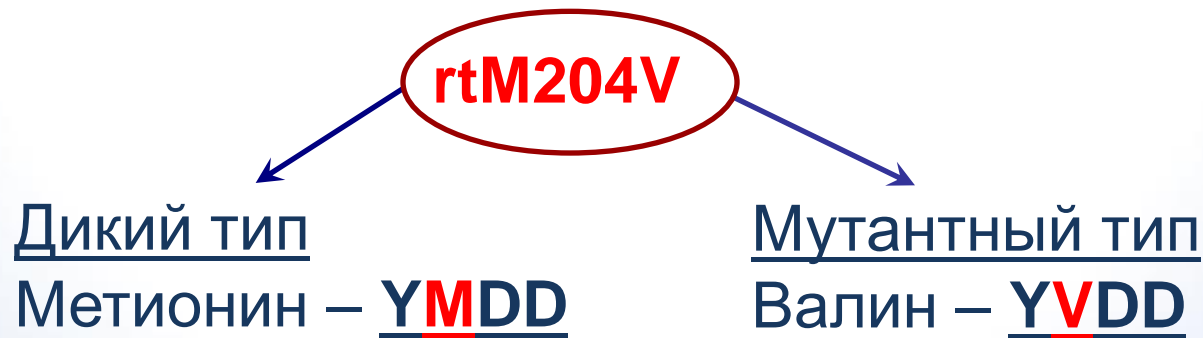
ETV, TDF

Мониторинг эффективности противовирусной терапии

- Определение вирусной нагрузки
- **Определение мутаций устойчивости HBV**

Как обозначают мутации устойчивости HBV?

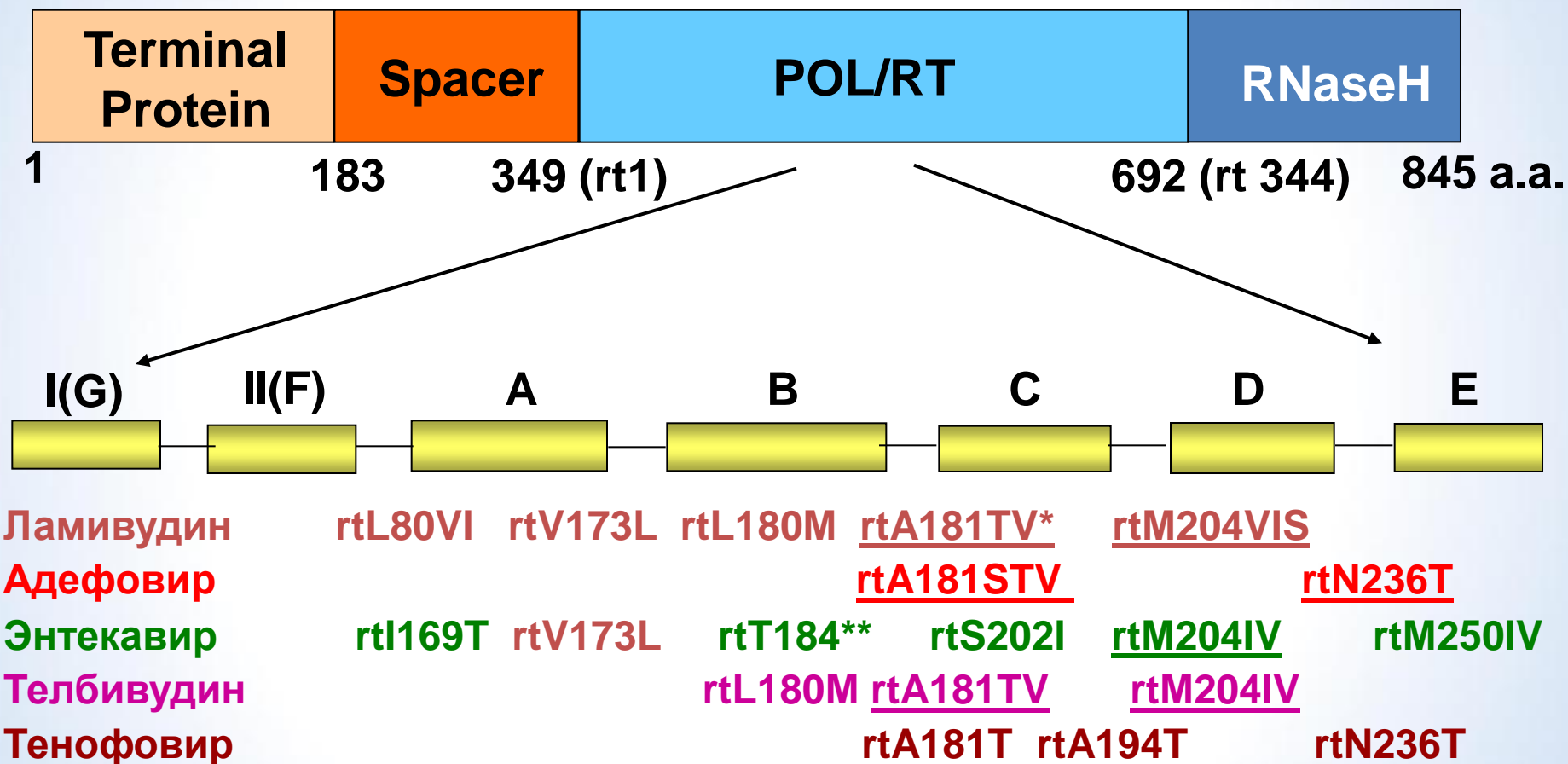
- Мутации лекарственной устойчивости возникают в домене обратной транскриптазы (rt) полимеразы HBV
- Мутации устойчивости определяются по номеру позиции аминокислоты в домене обратной транскриптазы, слева от которой располагается однобуквенное обозначение аминокислоты дикого типа, справа – мутантный вариант



Типы мутаций устойчивости

- **Первичная (основная) мутация устойчивости**
 - Приводит к снижению или потере противовирусного эффекта
 - Часто связана со снижением репликативной способности вируса
- **Вторичная (компенсаторная) мутация**
 - Является дополнительной мутацией
 - Восстанавливает или улучшает репликативную способность резистентного штамма вируса, что приводит к его доминированию в вирусной популяции

Мутации устойчивости HBV к противовирусным препаратам



• Подчеркиванием выделены основные мутации устойчивости

** **ACGILMS**

<http://www.hiv-grade.de/cms/grade/hbv-tool/algorithm.html>

Locarnini S, et al. Hepatol Int. 2008;2:147-51. 2. Locarnini S, et al. Antivir Ther. 2007;12:H15-23

Перекрестная устойчивость

Препарат	Мутация	LDV	LdT	ETV	ADV	TFV
L-Nucleoside	rtM204V/I	R	R	I	S	S
Acyclic phosphonate	rtN236T	S	S	S	R	I
L-Nucleoside /Acyclic phosphonate	rtA181T/V	R	R	S	R	I
ADV, TFV	rtA181T/V+ rtN236T	R	R	S	R	R
D-cyclopentane	rtL180M + rtM204V T184 S202 M250	R	R	R	S	S
Multi-drug resistance	rtA181T + rtN236T + rtM250L	R	R	R	R	R

Обнаружение мутаций устойчивости в клинической практике:

Когда назначать исследование на мутации устойчивости?

До начала ПВТ	Пациент лечения ранее не получал	Нет
	Ранее прерванное лечение	Да
	Неудачное лечение	Да
Во время ПВТ	Первичная резистентность	Да
	Вирусологический прорыв	Да

«АмплиСенс HBV-Resist-seq»



- ПЦР-амплификация RT-домена гена полимеразы вируса гепатита В



- Прямое секвенирование продукта амплификации



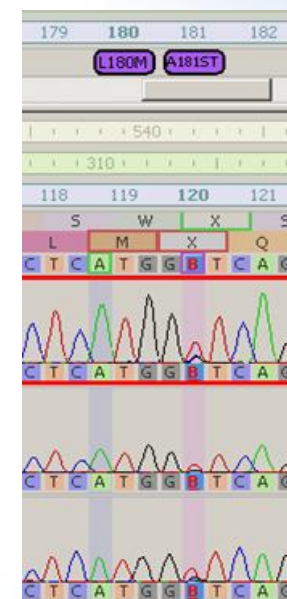
- Анализ электрофореграммы при помощи программного обеспечения «ДЕОНА»



- Интерпретация результатов

Участие в программе QCMD-2012 по выявлению мутаций устойчивости HBV к противовирусным препаратам

Позиция кодона в RT-домене Р-гена HBV	Наименование образца в панели									
	HBVDR12-01		HBVDR12-02		HBVDR12-03		HBVDR12-04		HBVDR12-05	
	Результаты тестирования (нуклеотидная последовательность)									
	QCMD	АмплиСенс	QCMD	АмплиСенс	QCMD	АмплиСенс	QCMD	АмплиСенс	QCMD	АмплиСенс
RT_80	CTA	CTA	ATA	ATA	TTA	TTA	CTA	CTA	TTA	TTA
RT_173	GTG	GTG	GTG	GTG	GTG	GTG	GTG	GTG	GTG	GTG
RT_180	CTG	CTG	MTG	MTG	CTG	CTG	ATG	ATG	CTG	CTG
RT_181	GCT	GCT	GCT	GCT	GTT	GTT	GBT	GBT	GCT	GCT
RT_184	ACT	ACT	ACT	ACT	ACT	ACT	ACT	ACT	ACT	ACT
RT_194	GCT	GCT	GCT	GCT	GCT	GCT	GCT	GCT	GCT	GCT
RT_202	AGT	AGT	AGT	AGT	AGT	AGT	AGT	AGT	AGT	AGT
RT_204	ATG	ATG	RTK	RTK	ATG	ATG	GTG	GTG	ATG	ATG
RT_236	AAT	AAT	AAC	AAC	AMC	AMC	AAT	AAT	AAC	AAC
RT_250	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG	ATG



HBV-Resist-seq показал **100%** совпадений с заявленными характеристиками образцов

Заключение

- Лекарственная устойчивость HBV – основная причина неудачной противовирусной терапии ХГВ
- Для проведения терапии лучше использовать противовирусные препараты, обладающие высоким генетическим барьером – ETV и TFV
- В процессе терапии необходимо определять вирусную нагрузку и мутации лекарственной устойчивости на определенных этапах терапии
- Информация о наличии мутаций устойчивости в геноме HBV необходима для выбора оптимальной тактики лечения и своевременной коррекции схемы лечения ХГВ

Благодарю за внимание