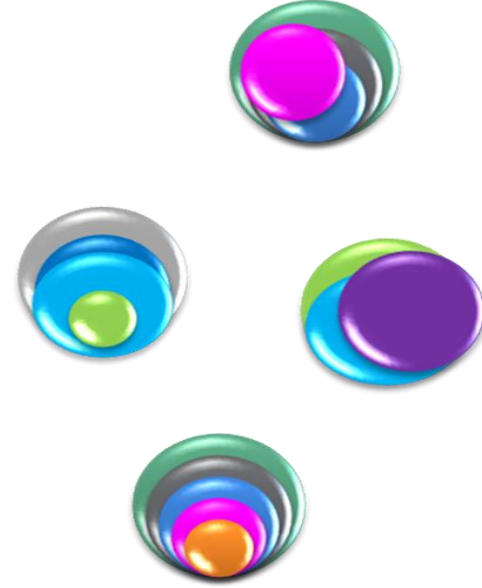
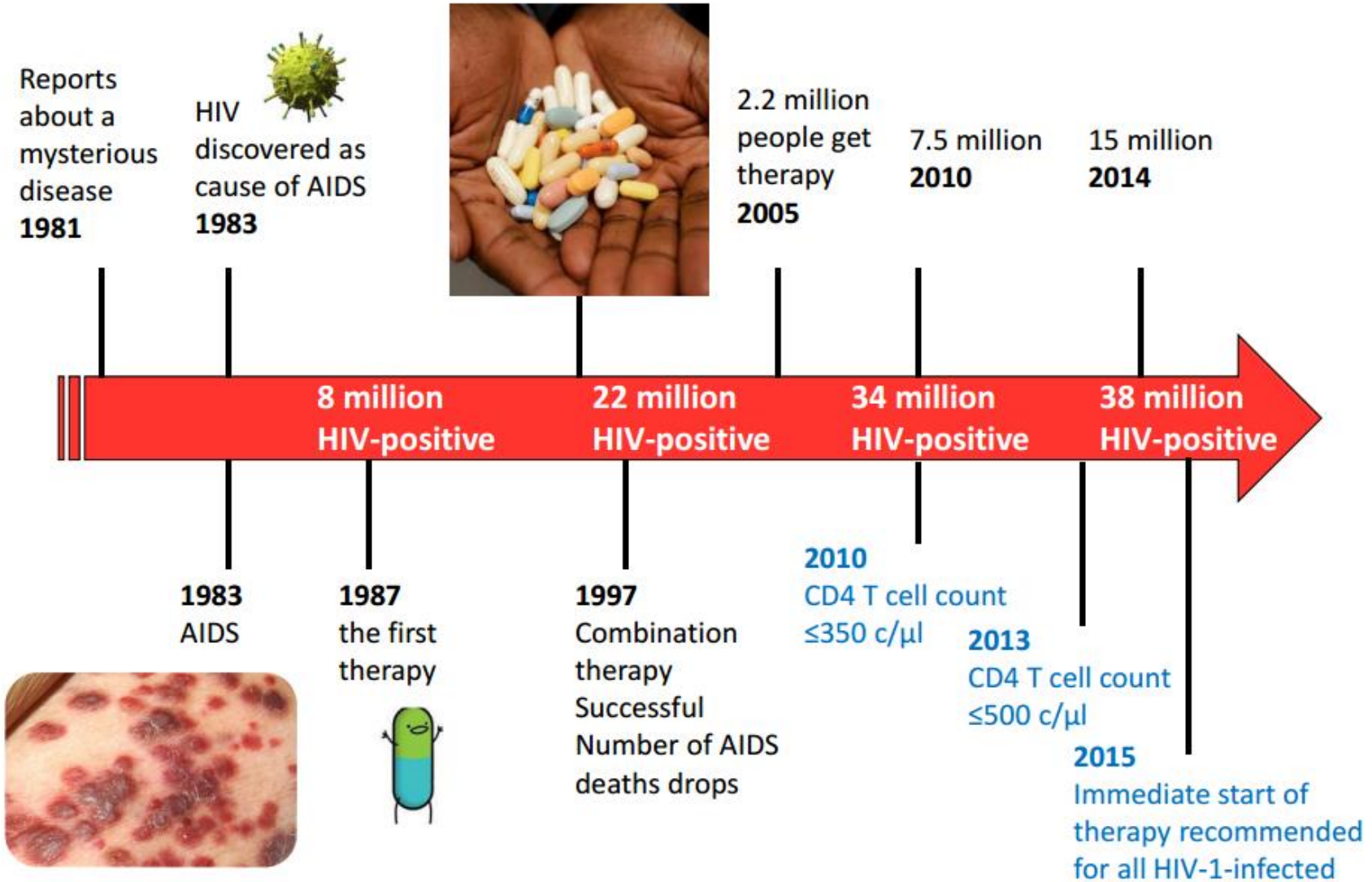


HIV/AIDS Tedavisinde Dolutegravir Bazlı Tedavi Seçimi ve Tek Tablet Rejimi

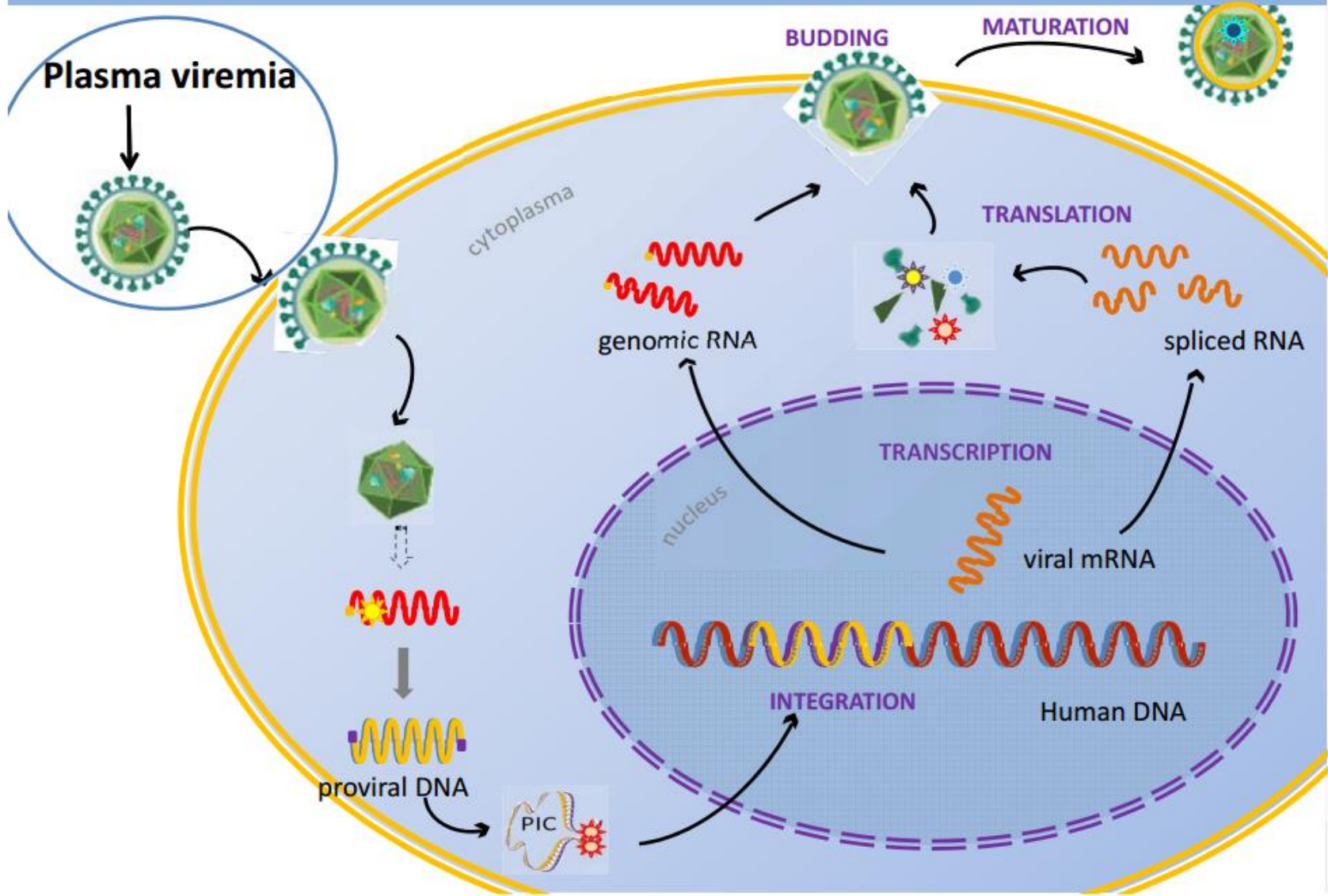


Prof. Dr. Murat Sayan
Kocaeli Üniv., Arařt. ve Uyg. Hast., PCR Lab.
İzmit-Kocaeli, sayanmurat@hotmail.com
0 533 647 9020

A recent history



The HIV life cycle

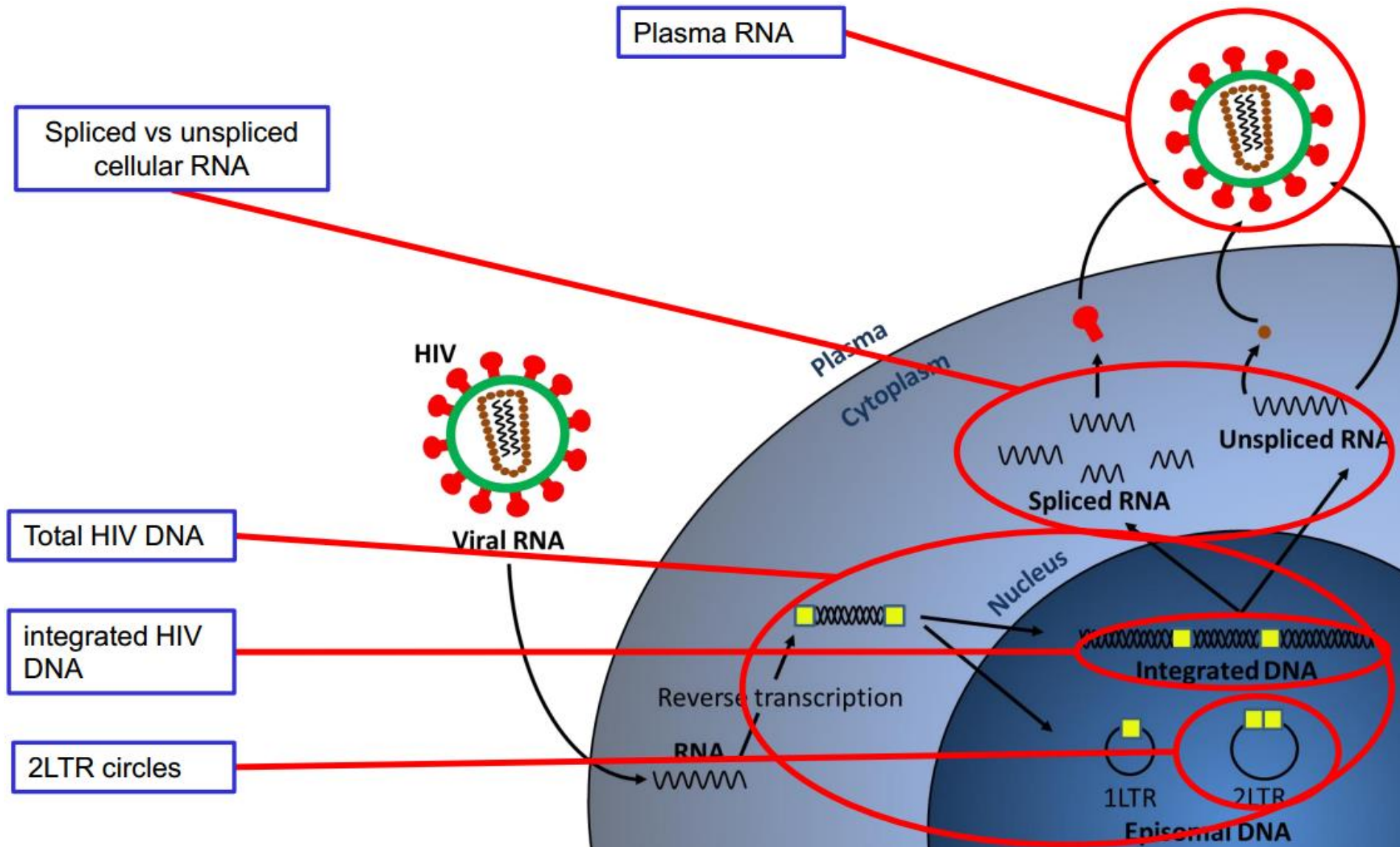


HIV'in k r n   nleyen temel sorun: Samanlıktaki iğne

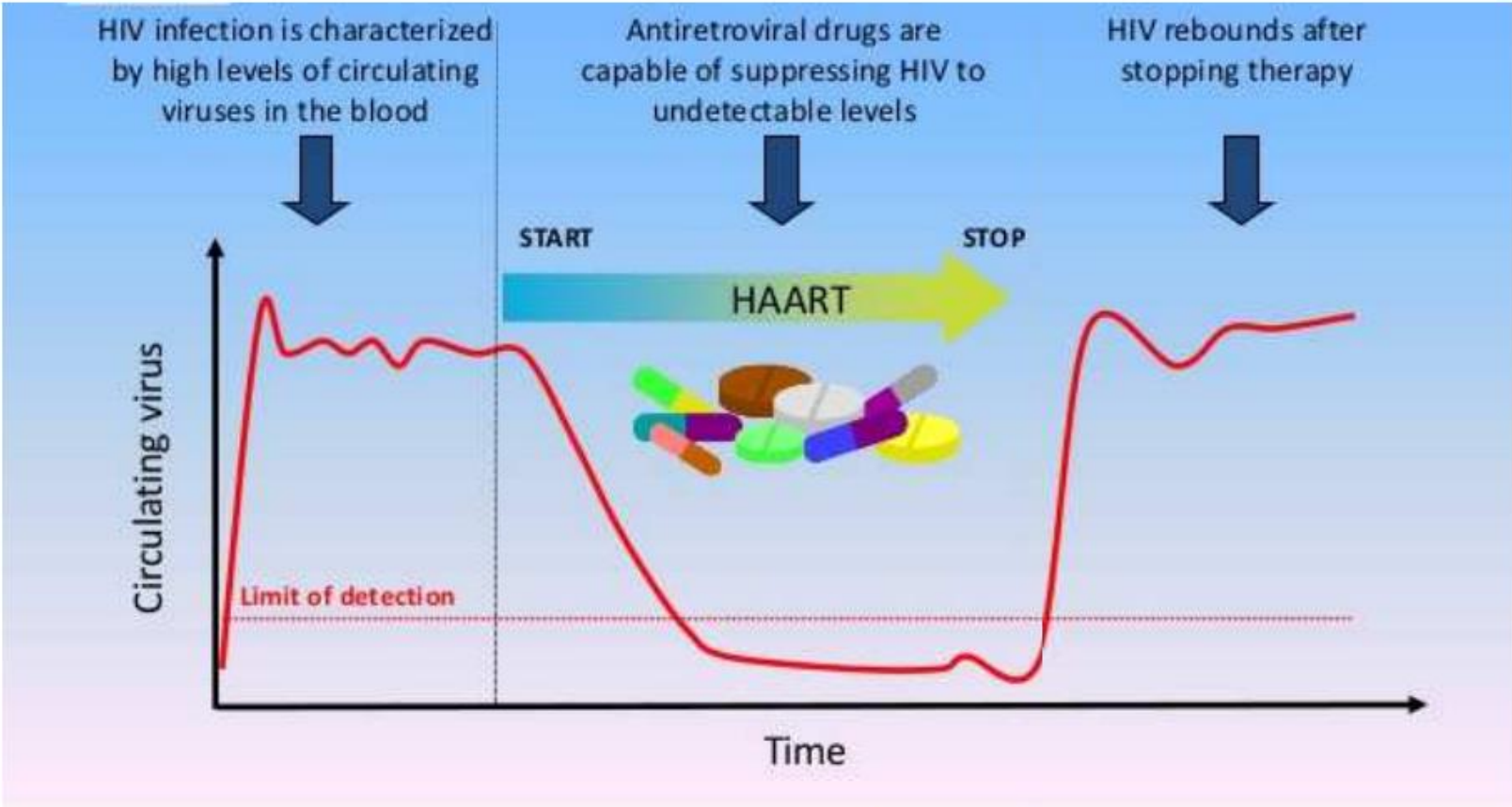


<http://theflyingtortoise.blogspot.com.tr/2014/12/for-my-next-trick-says-artist-sven.html>

HIV rezervuarları



HIV rebound after treatment stop



viral reservoir

Perelson et al - Nature. 1997; Finzi et al - Nature medicine. 1999; Archin et al - Curr Opin Infect Dis. 2014

Latent HIV enfekte hücreler: CD4 + T hücreleri	Durum
Sıklığı	HIV taşıyan tüm hastalarda bulunur.
Sayısı	1/100 000 – 1/1 000 000
Ömür	T $\frac{1}{2}$ = 44 ay
Dayanıklılık	T hücre onarım ve çoğalma mekanizmalarına rağmen hayatta kalırlar
Klirensi için ART tedavi sürekliliği	Tahminen 60 yıldan fazla

FIG. 4

Global HIV Prevention R&D Investments 2005–2012



HIV PREVENTION OPTION	TOTAL INVESTMENT 2005 – 2012
Preventive Vaccines	US\$7 billion
Microbicides	US\$1.8 billion
Pre-Exposure Prophylaxis	US\$0.3 billion
Adult Male Circumcision	US\$0.1 billion
Treatment as Prevention	US\$0.2 billion
Total 2005 – 2012	US\$9.4 billion

- Preventive Vaccines
- Microbicides
- Pre-Exposure Prophylaxis
- Adult Male Circumcision
- Treatment as Prevention*

* The Working Group began tracking funding for treatment as prevention in 2010.

HIV’i önleme stratejilerinin arasında antiretroviral ilaçların payı hızla artmaktadır..

Başarılı antiretrovirallere rağmen başarısız tedaviler mümkün:

Compliance; tedaviye bağlılık



ilaç kullanımında ilk 6 ay kritik (virolojik başarısızlık!)

Kronik hastalıklarda uyum (ortalama);

HIV...%60

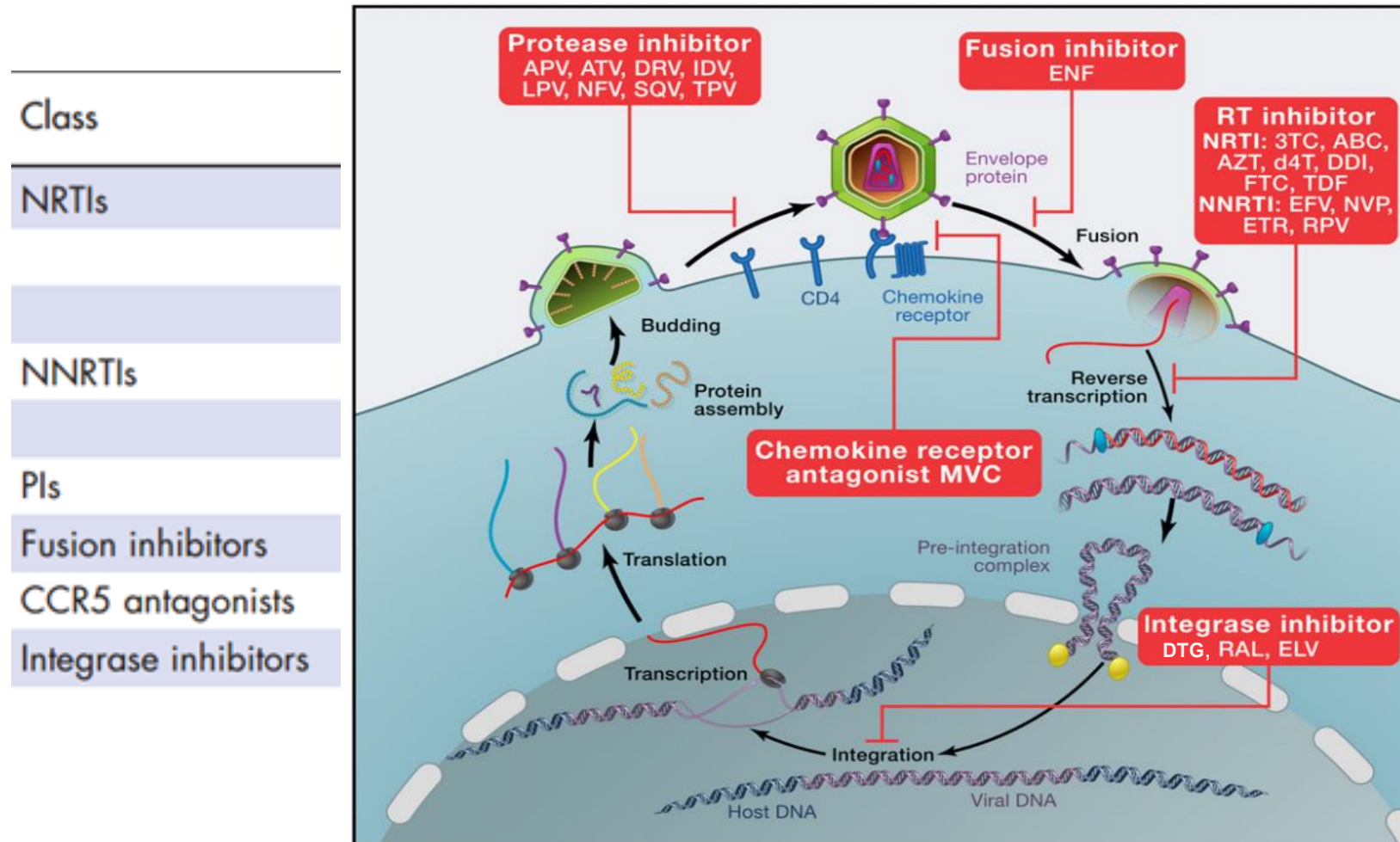
Gastroözafajial reflü...%68

Statin...%70

HBV...%81-99

HCV...%74-100

Kronik HIV enfeksiyonunun tedavisinde elimizde çok sayıda ilaç ve gen hedefi bulunmaktadır.



Class

NRTIs

NNRTIs


PIs

Fusion inhibitors

CCR5 antagonists

Integrase inhibitors

Dolutegravir

- 1. ve 2. basamak tedavilerde yüksek antiviral etkinlik
- İyi tolere edilebilirlik
- Uzun yarılanma ömrü
- **Direnç gelişimine karşı yüksek genetik bariyer** 
- Daha az ilaç etkileşimi
- Günde tek doz kullanım

DTG'ye özgü;

1. Primer direnç mutasyonu ve
2. Kompansatuvar mutasyonlar henüz tanımlanmış değildir.
3. Farmakodinami: Plazmatik t_{1/2}; 15.3 saat, inhibitör bölümü t_{1/2}; 19 saat, INI-DNA kompleksinden ayrılma t_{1/2}; 71 saat

REVIEW

Clinical effectiveness of dolutegravir in the treatment of HIV/AIDS

Taha H, Das A, Das S

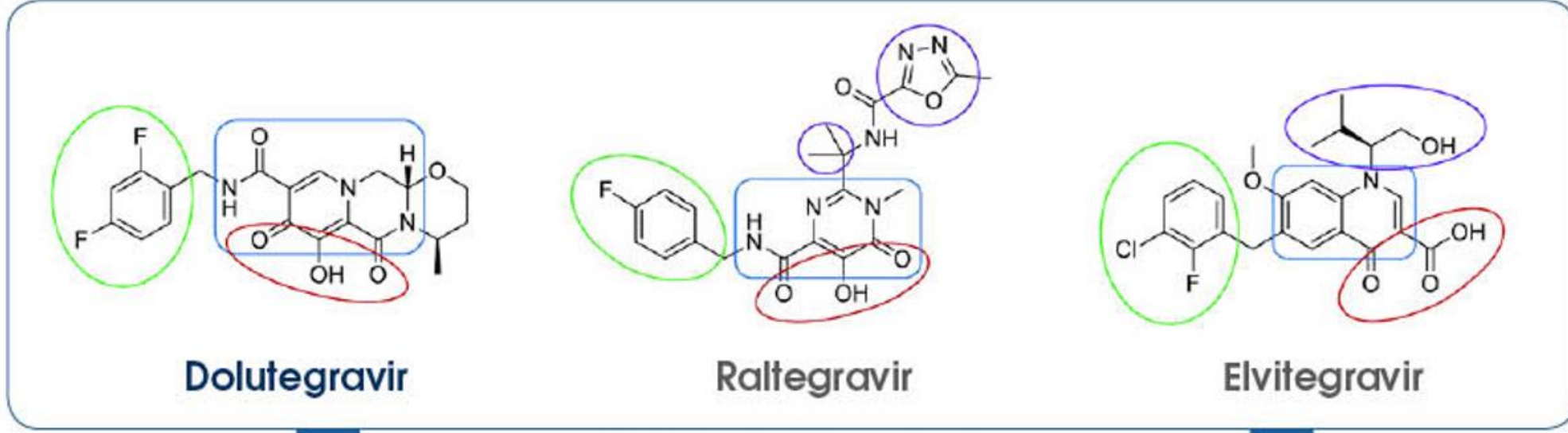
[Infection and Drug Resistance 2015](#), 8:339-352

[J Int AIDS Soc.](#) 2015 Dec 4;18:20824. doi: 10.7448/IAS.18.1.20824. eCollection 2015.

Implications for the future of the HIV epidemic if drug resistance against dolutegravir cannot occur in first-line therapy.

[Wainberg MA](#)¹, [Mesplede T](#)².

Dolutegravir yapısı gereği HIV-1 integraz-DNA kompleksine **raltegravir** veya **elvitegravirden** daha uzun süre bağlı kalmaktadır.¹



DeAnda et. al. Şekil 1'den uyarlanmıştır

DTG'nin vahşi tip integrazdan ayrışma yararı ömrü daha uzundur²

- DTG: 71 saat
- RAL: 8.8 saat
- ELV: 2.7 saat

Bu potent bağlanmanın sonucu olarak birinci basamak tedavide bugüne kadar DTG'ye karşı direnç gelişimi gösterilmemiştir²

- Y143R, Q148R, N155H, E92Q mutasyonları olan virüslerde DTG ile RAL ve ELV'ye göre daha potent bağlanma³

1.DeAnda F, et al. PLoS One 2013;6e77448,

2.Hightower KE, et al. Antimicrob Agent Chemother 2011; 55:4552-4559,

3.Hore S, et al. MolPharmacol 2011; 80:556-572.

- HIV, kendini çok yüksek miktarda ve çok hızlı üretir (T1/2 - gün).
- Kendini çoğaltırken kullandığı rt enzimi, hatalarını düzeltemez (3×10^{-5} mutasyon/baz/replikasyon siklusu).
- Her gün yaklaşık 100 milyon yeni HIV ortaya çıkar.



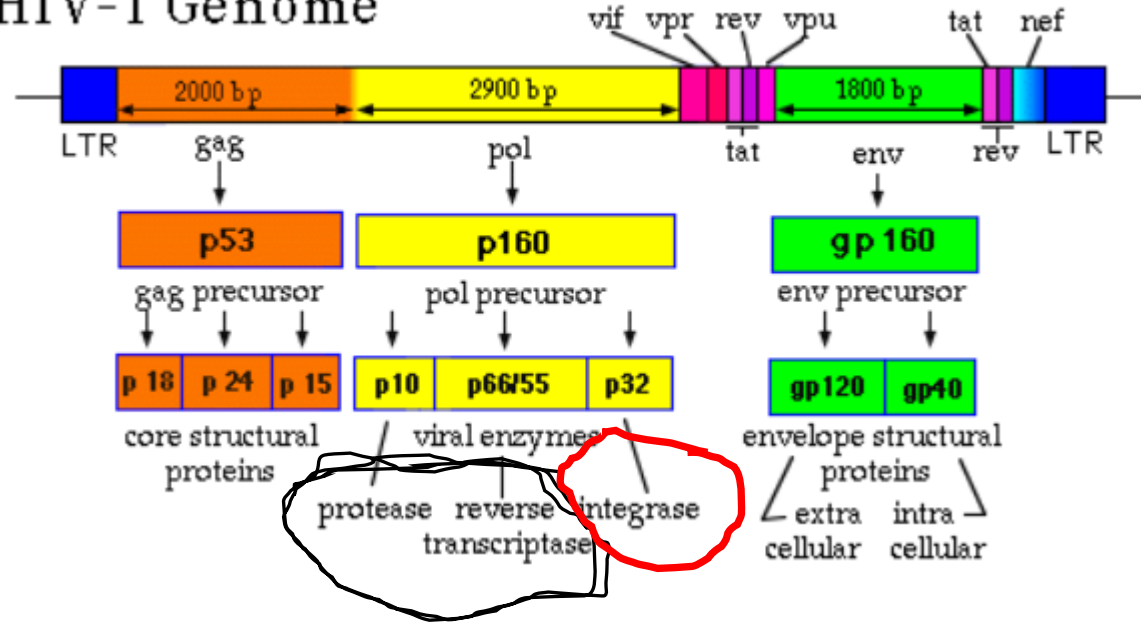
Evolutionary Dynamics	HIV
Population size	large
Mutation rate	0.33/generation
Generation time	2 days, $R_0 = 20$
Special mechanisms	evolution of a new enzymatic activity (excision of AZT)

İlaç direnci nasıl gelişir?

- Doğal gelişen mutasyonların bazıları ilaç direnci yaratır.
- Ya da kişi, ilaç direncini bir başkasından alır (TDR).

HIV-1 ilaç direnci mutasyonlarının ortaya çıkarılması için *pol* geninin analiz edilmesi gerekir.

HIV-1 Genome



- Standart HIV-1 ilaç direncinde analizinde; RT (NRTI ve NNRTI) ve Proteaz inhibitörleri (PI) analiz edilmektedir.
- Integraz inhibitörleri (INI) kullanıma girdiği için bu bölgeyi de analize eklemiş durumdayız.
- Plazma ve BOS için bu işlemler ayrı ayrı yapılmalıdır.

HIV ilaç direnci analiz panelinde ele aldığımız antiretroviral grup ve ilaçlar

1. Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTIs)		
Eczanede	Antiretroviral	Üretici
Combivir	lamivudine, zidovudine	GSK
Emtriva	emtricitabine	Gilead
EpiVir	lamivudine	GSK
Epzicom, Kivexa	abacavir and lamivudine	GSK, ViiV
Retrovir	zidovudine, azidothymidine	GSK
Trizivir	abacavir, zidovudine, lamivudine	GSK
Truvada	tenofovir, emtricitabine	Gilead
Videx	didanosine	BMS
Viread	tenofovir	Gilead
Zerit	stavudine	BMS
Ziagen	abacavir	GSK

2. Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs)		
Eduvant	rilpivirine	Tibotec
Intelence	etravirine	Tibotec
Sustiva	efavirenz	BMS
Viramune	nevirapine	Boehringer Ing.

3. Protease Inhibitors (PIs)		
Aptivus	tipranavir	Boehringer Ing.
Crixivan	indinavir	Merck
Fortovase	saquinavir	H-La Roche
Kaletra	lopinavir/r	Abbott Lab.
Lexiva	fosamprenavir	GSK
Prezista	darunavir	Tibotec, Inc.
Reyataz	atazanavir	BMS
Viracept	nelfinavir	Agouron Pharma

4. Integrase strand transfer inhibitors (INIs)		
Isentress	raltegravir	Merck & Co.
Vitekta	elvitegravir	Gilead
Tivicay	dolutegravir	GSK

- Başarısız tedavilerde Timidin Analogu Mutasyonları (TAM) oluşur. Bu nedenle TA backbone tedavileri terkedildi.

Multi-nRTI Resistance: Thymidine Analogue-Associated Mutations^{d,e} (TAMs; affect all nRTIs currently approved by the US FDA)

M	D	K	L	T	K
41	67	70	210	215	219
L	N	R	W	Y	Q
				F	E

Poor and non-recommended backbones

Almost all guidelines now explicitly recommend avoiding the previously popular d4T+ddI combination. Mitochondrial toxicity is too high, and it is inferior to AZT+3TC (Robbins 2003). In cases of treatment failure, thymidine analog mutations (TAMs) are usually present, which can limit future options. In view of the wide selection of NRTIs available today, ddI+d4T is no longer justified at least for first-line therapy.

Farklı antiretroviral ilaç sınıflarında direnç gelişimi; genetik bariyer.

Class	ARVs	Genetic barrier	X-resistance
NRTIs	ZDV/3TC, d4T/3TC	+ / ++	+++
	ABC/3TC, TDF/3TC	+	+++
	TDF/FTC	+ / ++	+++
NNRTIs	EFV, NVP, RPV	+	+++
	ETV	+ / ++	+++
PIs	Unboosted	+ / ++	++ / +++
	Boosted	+++ / +++++	+ / ++
Fusion inhibitors	T20	+	-
CCR5 antagonists	MVC	+ / ++	-
Integrase inhibitors	RAL, EVG	+	+++
	DTG	++ / +++	++

Düşük genetik bariyer;
tek mutasyon yeterli. Örn;

- K103N: Efavirenz
- D30N: Nelfinavir

Yeni bir antiretroviral ilaç sınıfı: integraz inhibitörleri (INI).

HIV-1 integraz enzimi;

- Proviral DNA'nın konak DNA'sına entegrasyonundan sorumludur (ligasyon, strand transfer).
- Pre-entegrasyon kompleksini stabilize eder.
- *pol* geninin 3' ucunda yer alan 288 aa. büyüklüğünde bir bölge tarafından kodlanır.
- N-terminal (1–50 aa), katalitik çekirdek (51–212 aa), ve C-terminal (213–288 aa) domainlerinden oluşur.

INI, strand transfer aksiyonunu bloklamak için dizayn edilmiştir.

- RAL: raltegravir, (FDA onayı; 2007)
- EVG: elvitegravir (FDA onayı; 2012)
- DTG: dolutegravir (FDA onayı; 2013)

İntegraz inhibitörü direncine yol açan mutasyonlar tedavi öncesinde bulunabilir mi?

Evet, bulunabilir.

- İntegraz sekansları doğal aa varyasyonlarına açıktır.
- Tedavi naif bireylerde; bölgenin %16'sında primer dirençle ilişkili polimorfik mutasyonlar bulunur.
- Bu mutasyonların zamanla toplumda birikeceğini düşünebiliriz.

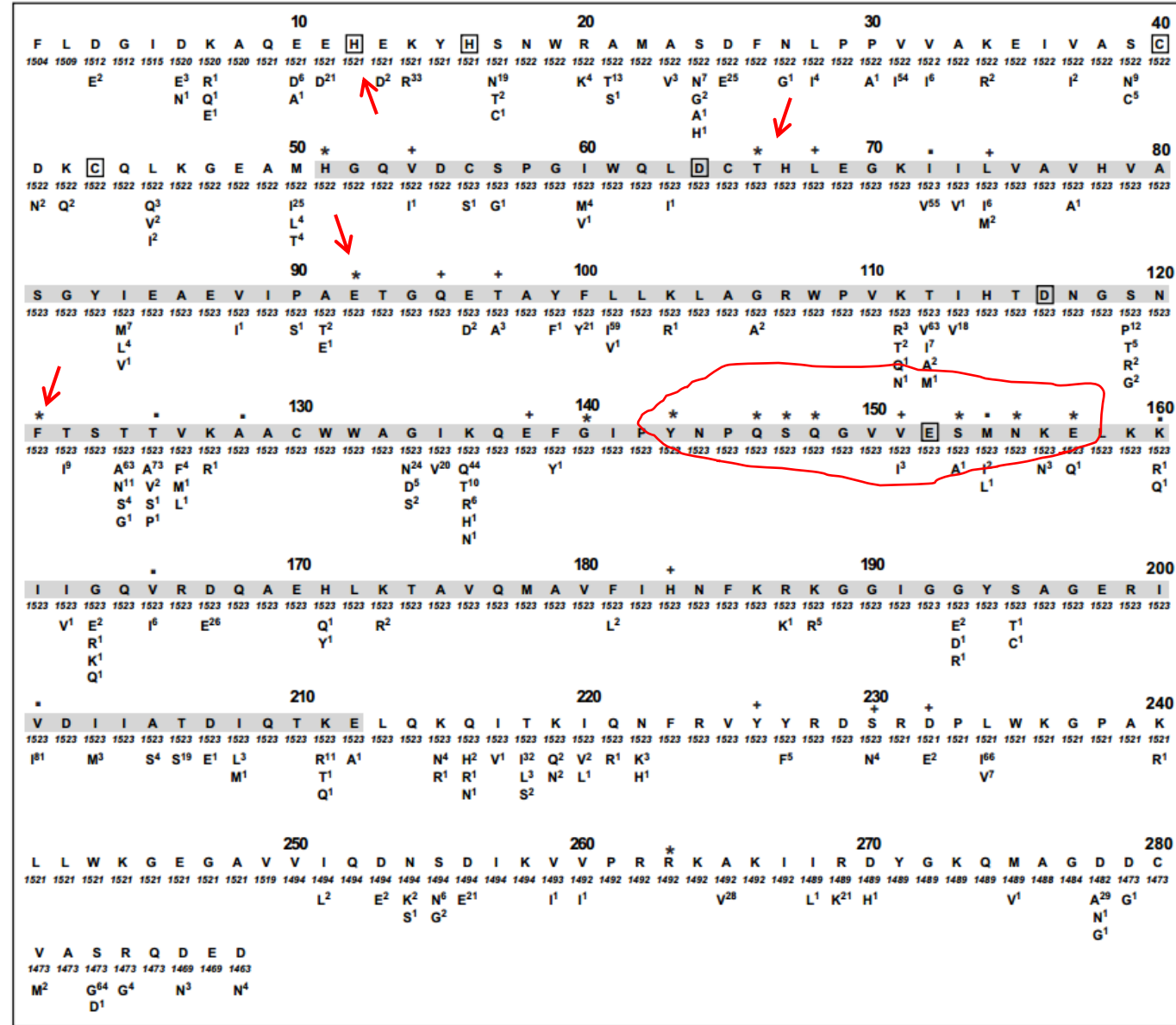


Figure 1
Distribution of variants among group M HIV-1 integrase sequences.

1. Nesil Integraz İnhibitörleri ; RAL ve EVG

- Tüm integras inhitörleri küçük moleküllerdir. HIV integrasın aktif bölgesine tutunurlar.
- Etkinlik miktarları nanomolar seviyesindedir.
- RAL ve EVG geniş ölçekte aynı direnç profiline sahiptir.
- RAL ve EVG direnci çok hızlı gelişir (*In vivo*, *In vitro*).
- İlaça duyarlılık 10 - 100 kat azalıyor.
- RAL ve EVG duyarlılığını azaltan 10 ayrı mutasyon bulunmaktadır: N155H, Y143C/R, Q148H/R, Y143Y/H, L74L/M, E92Q, E138E/A, Y143C, Q148Q, Y143S.

- Major RAL direnç mutasyonları; Y143C/H/R, Q148H/K/R, N155H/S
- Major EVG direnç mutasyonları; T66I, E92G/Q, Q148H/K/R, N155H/S

**RAL ve EVG arasında
çapraz (overlapping) direnç
mümkündür.**

Y143H (RAL), Q148H (EVG + RAL) paternleri hastalar arasında aktarılabilmektedir.

You J, PLoS One. 2016 Aug 17;11(8):e0160087

White KL, *Viruses* 2014;6: 2858-2879

Geretti AM, *Antiviral Therapy* 2010; 15 (Suppl 2): A62

Ceccherini SF, XVII Int HIV Drug Res Workshop 2008 Waters

J, XVII Int HIV Drug Res Workshop 2008

Dimonte S, *Infection* 2013; 41:1097-1102

Rhee SY, *Retrovirology* 2008;5:74

2. Nesil Integraz Inhibitörleri ; DTG

- DTG genetik bariyeri RAL ve EVG'ye göre çok yüksektir.
- Henüz DTG ilişkili spesifik direnç mutasyonları tanımlanmış değil.
- DTG ile ilişkili olan ve ilaca duyarlılığı etkilemeyen non-polimorfik varyasyonlar var.

DTG direnci; **Q148X** +

*en az 2 ya da 3 polimorfik- sekonder- mutasyon; **L74I, E138A/K/T, G140S/A/C** eşlik ederse DTG duyarlılığı azalabilir

**RAL ve EVG mutasyonları
DTG'de çapraz dirence yol
açmıyor.**

2016 Ağustos tarihli bir metaanalize göre (2010-2015 yılları, 7863 hasta, 26 makale) integras inhibitörü tedavilerinde ilaç direnci sıklığı:

RAL; %3.9

EVG; %1.2

DTG; %0.1

You J, PLoS One. 2016 Aug 17;11(8):e0160087

White KL, *Viruses* 2014;6: 2858-2879,

Libre JM, *Enferm Infec Microbiol Clin* 2015;33 Suppl 1:20-5

Cavalcanti JS, *J Antimicrob Chemother* 2015; 70: 926–929



HIV Clin Trials. 2016 May; 17(3):109-13. doi: 10.1080/15284336.2016.1153303. Epub 2016 Mar 15.

Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTIs) Resistance Mutations in HIV-1 Infected Turkish Patients.

Sayan M^{1,2}, Gündüz A³, Ersöz G⁴, İnan A⁵, Deveci A⁶, Özgür G⁷, Sargın F⁸, Karagöz G⁹, İnci A¹⁰, İnan D¹¹, Ülçay A¹², Karaoğlan I¹³, Kaya S¹⁴, Kutlu SS¹⁵, Süer K¹⁶, Çağatay A¹⁷, Akalın H¹⁸.

+ Author information

Abstract

OBJECTIVES: Integrase strand transfer inhibitor (INSTI) is a new class of antiretroviral (ARV) drugs designed to block the action of the integrase viral enzyme, which is responsible for insertion of the HIV-1 genome into the host DNA. The aim of this study was to evaluate for the first time INSTI resistance mutations in Turkish patients.

METHODS: This study was conducted in Turkey, between April 2013 and April 2015 using 169 HIV-1-infected patients (78 ARV naive patients and 91 ARV-experienced patients). Laboratory and clinical characteristics of ARV naive and ARV-experienced patients were as follows: gender (M/F): 71/7 and 80/11, median age: 38 and 38.4; median CD4(+) T-cell: 236 and 216 cells/mm³, median HIV-1 RNA: 4.95+E5 and 1.08E+6 copies/ml. Population-based sequences of the reverse transcriptase, protease, and integrase domains of the HIV-1 pol gene were used to detect HIV-1 drug resistance mutations.

RESULT: INSTI resistance mutations were not found in recently diagnosed HIV-1-infected patients. However, ARV-experienced patients had major resistance mutations associated with raltegravir and elvitegravir; the following results were generated: F121Y, Y143R, Q148R and E157Q (6/91 - 6.6%).

CONCLUSIONS: The prevalence of INSTI resistant mutations in ART-experienced patients suggested that resistance testing must be incorporated as an integral part of HIV management with INSTI therapies.

KEYWORDS: DNA sequencing; Dolutegravir; Drug resistance; Elvitegravir; HIV-1 integrase; Integrase inhibitors; Raltegravir

[Integrase Strand Transfer Inhibitors \(INSTIs\) Resistance Mutations in HIV-1 Infected Turkish Patients.](#)

Sayan M, Gündüz A, Ersöz G, İnan A, Deveci A, Özgür G, Sargın F, Karagöz G, İnci A, İnan D, Ülçay A, Karaoğlan I, Kaya S, Kutlu SS, Süer K, Çağatay A, Akalın H.

HIV Clin Trials. 2016 May;17(3):109-13. doi: 10.1080/15284336.2016.1153303. Epub 2016 Mar 15.

PMID: 27125365

[Similar articles](#)

Table 1 Clinical and laboratory characteristics of the patients studied

Characteristic	Antiretroviral naive	Antiretroviral experienced
Patient, no.	78	91
Gender, M/F (%)	71/7 (91%/9%)	80/11 (88%/12%)
Age, median years (range)	38 (23–61)	38.4 (2.5–66)
CD4 ⁺ T-cell count, median mm ³ (range)	236 (6–626)	216 (3–884)
HIV-1 RNA load, median, copies/ml (range)	4.95E+5 (3.06E+2–3.33E+6)	1.08E+6 (1.48E+2–1.57E+7)
<i>Acquisition route, n (%)</i>		
Heterosexual contact	52 (67%)	62 (68%)
MSM	24 (31%)	20 (22%)
Bisexual contact	2 (2%)	4 (5%)
Blood transfusion	–	2 (2%)
Dental surgery	–	1 (1%)
Vertical transmission	–	2 (2%)

[Integrase Strand Transfer Inhibitors \(INSTIs\) Resistance Mutations in HIV-1 Infected Turkish Patients.](#)

Sayan M, Gündüz A, Ersöz G, İnan A, Deveci A, Özgür G, Sargın F, Karagöz G, İnci A, İnan D, Ülçay A, Karaoğlan I, Kaya S, Kutlu SS, Süer K, Çağatay A, Akalın H.

HIV Clin Trials. 2016 May;17(3):109-13. doi: 10.1080/15284336.2016.1153303. Epub 2016 Mar 15.

PMID: 27125365

[Similar articles](#)

Table 2 Integrase strand transfer inhibitors (INSTIs) resistance analysis in Turkish patients infected with HIV-1

Drug class	Resistance mutation pattern					
	Antiretroviral naïve, (n = 78)	n	%	Antiretroviral experienced, (n = 91)	n	%
INI	–	–	–	INSTI – naïve, (n = 89)		
				F121Y, Q148R, E157Q	4	4.4
				INSTI – experienced, (n = 2)		
				Y143R, E157Q	2	2.2
			Total	6	6.6	

[Integrase Strand Transfer Inhibitors \(INSTIs\) Resistance Mutations in HIV-1 Infected Turkish Patients.](#)

Sayan M, Gündüz A, Ersöz G, İnan A, Deveci A, Özgür G, Sargın F, Karagöz G, İnci A, İnan D, Ülçay A, Karaoğlan I, Kaya S, Kutlu SS, Süer K, Çağatay A, Akalın H.

HIV Clin Trials. 2016 May;17(3):109-13. doi: 10.1080/15284336.2016.1153303. Epub 2016 Mar 15.

PMID: 27125365

[Similar articles](#)

Table 3 Resistance mutation patterns on the revers transcriptase and protease domains of HIV-1 in the patients studied

Drug class	Drug resistance mutation pattern			
	Treatment naive (<i>n</i> = 78)		Antiretroviral experienced (<i>n</i> = 91)	
		<i>n</i> (%)		<i>n</i> (%)
NRTI	M184V	1 (1.2)	K65R, M184V ± TAM1, TAM2 or TAM1 + TAM2	39 (43)
NNRTI	K103N	2 (2.5)	L100I, K101E, K103N/S, V106A/M, Y188L, Y181C, G190A/S	46 (51)
PI	M46L	2 (2.5)	L24I, M46I, I54V, L76V, V82A/T, N83D, N88D, L90M	12 (13)
Total		4 (5)*		56 (62)

NRTI; nucleoside revers transcriptase inhibitors, NNRTI; non- nucleoside revers transcriptase inhibitors, PI; protease inhibitors, ARV; antiretroviral, TAM; thymidine analogue - associated mutation, TAM1; M41L, L210W, T215Y, TAM2; D67N, K70R, K219E/Q/N/R, T215F, T215C/D/S, TAM1 + TAM2; M41L + K219N, M41L + T215C/D/S.

*One patient had M184V + K103N patterns.

Seq ID: ~~B.0.0~~

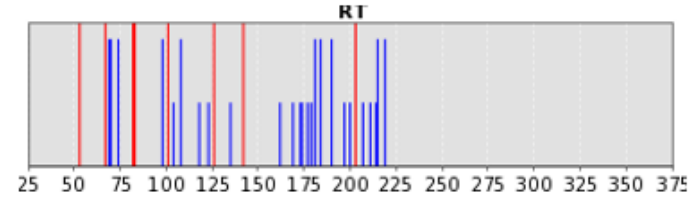
Summary Data

Sequence includes RT: codons: 41 - 221

There are no insertions or deletions.

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
RT	Stop Codons	67, 74, 101, 126, 142, 203
RT	Ambiguous Positions:	None
RT	Unusual Residues:	53, 82, 83



Blue lines indicate differences from consensus B; tall blue lines indicate sites associated with drug resistance. Red lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: RT

NRTI Resistance Mutations: T69D, K70R, L74I, M184V, T215F, K219Q

NNRTI Resistance Mutations: A98G, V108I, Y181C, G190A

Other Mutations: E53V, K82E, R83S, K101N, K104R, V118I, D123E, I135T, S162D

Nucleoside RTI

lamivudine (3TC)	High-level resistance
abacavir (ABC)	High-level resistance
zidovudine (AZT)	High-level resistance
stavudine (D4T)	High-level resistance
didanosine (DDI)	High-level resistance
emtricitabine (FTC)	High-level resistance
tenofovir (TDF)	Low-level resistance

Non-Nucleoside RTI

efavirenz (EFV)	High-level resistance
etravirine (ETR)	High-level resistance
nevirapine (NVP)	High-level resistance
rilpivirine (RPV)	High-level resistance

Hastada HIV-1 proteaz bölgesi sekanslama başarılı değildir. Bu nedenle PI duyarlılıkları analiz edilememiştir.

Ancak yoğun bir şekilde saptanan NRTI ve NNRTI ilaç direnci mutasyonları hasta için integras (INI) ilaç direnci analizini zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle yeni bir numune ile hem PI hem de INI analizinin yapılması önerilir.

[Doc.Dr.Murat SAYAN](#)

Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

PCR Ünitesi, İzmit, Kocaeli.

sayanmurat@hotmail.com, <http://facebook.com/muratsayan.HIV>

Cep: 0 533 647 9020

Seq ID: B.0.0

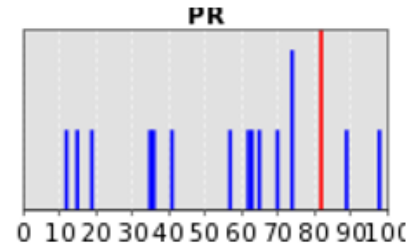
Summary Data

Sequence includes PR: codons: 1 - 99

There are no insertions or deletions

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts:	82
PR	Ambiguous Positions:	None
PR	Unusual Residues:	None



Blue lines indicate differences from consensus B; tall blue lines indicate sites associated with drug resistance. Red lines indicate QA problems.

Drug Resistance Interpretation: PR

PI Major Resistance Mutations: None

PI Minor Resistance Mutations: **T74S**

Other Mutations: T12K, I15V, L19F, E35D, M36I, R41K, R57K, I62V, L63T

Protease Inhibitors

atazanavir/r (ATV/r)	Susceptible
darunavir/r (DRV/r)	Susceptible
fosamprenavir/r (FPV/r)	Susceptible
indinavir/r (IDV/r)	Susceptible
lopinavir/r (LPV/r)	Susceptible
nelfinavir (NFV)	Low level resistance
saquinavir/r (SQV/r)	Susceptible
tipranavir/r (TPV/r)	Susceptible

Doc. Dr. Murat SAYAN

Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

PCR Ünitesi, İzmit, Kocaeli.

sayanmurat@hotmail.com, <http://facebook.com/muratsayan.HIV>

Cep: 0 533 647 9020

Sequence: B.C.3

Sequence Date

25-Apr-2016

Algorithms

GRADE ANRS

Length of included Sequences:

- Sequence includes INT: codons: 70 - 173

<u>Gene</u>	<u>Differences from Consensus B</u>	<u>Drug Resistance Mutations</u>
INT	I72V, K111T, T124N	

II	GRADE 12/2015			ANRS 25_09/2015			<u>Final Rating</u>
	<u>Mutation List</u>	<u>Algorithm Result</u>	SIR	<u>Mutation List</u>	<u>Algorithm Result</u>	SIR	
<u>Dolutegravir</u>		<u>Susceptible</u>	S		<u>Susceptible</u>	S	
<u>Dolutegravir BID</u>					<u>Susceptible</u>	S	
<u>Elvitegravir</u>		<u>Susceptible</u>	S		<u>Susceptible</u>	S	
<u>Raltegravir</u>		<u>Susceptible</u>	S		<u>Susceptible</u>	S	

Doc.Dr.Murat SAYAN

Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

PCR Ünitesi, İzmit, Kocaeli.

sayanmurat@hotmail.com, <http://facebook.com/muratsayan.HIV>

Cep: 0 533 647 9020

Sequence: Y1D

Sequence Date	27-Jun-2014
Algorithms	ANRS_09/2013

Length of included Sequences:

- Sequence includes INT: codons: 62 - 177

Gene	Differences from Consensus B	Drug Resistance Mutations
INT	L74I, L101I, G106G_T, R107E, P109Q, V110Y, K111T, T112V, I113V, G118S, S119A, S119A_*, N120H, F121Y, T124S, T125A	L74I, G118S, S119A, S119A_*, F121Y, G163E

ANRS_09/2013			
	Mutation List	Algorithm Result	SIR
Dolutegravir		Susceptible	S
Elvitegravir	F121Y	Resistance	R
Raltegravir	F121Y	Resistance	R

Doç.Dr.Murat SAYAN

Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi

İzmit, Kocaeli. e-posta: sayanmurat@hotmail.com

Tel: 0 262 303 8571, Cep: 0 533 647 9020

Sequence: ████████

Sequence Date 27-Nov-2015
Algorithms GRADE_06/2014 ANRS_09/2013

Length of included Sequences:

- Sequence includes INT: codons: 62 - 181|

<u>Gene</u>	<u>Differences from Consensus B</u>	<u>Drug Resistance Mutations</u>
INT	I72V, L74I, T97A, K111R, T112V, I113V, S119P, T124S, T125A, G134N, K136Q, Y143R	L74I, T97A, S119P, Y143R

	ANRS_09/2013		<u>Final Rating</u>
II	<u>Mutation List</u>	<u>Algorithm Result</u>	SIR
<u>Dolutegravir</u>		<u>Susceptible</u>	S
<u>Elvitegravir</u>	Y143R	<u>Resistance</u>	R
<u>Raltegravir</u>	Y143R	<u>Resistance</u>	R

Doc.Dr.Murat SAYAN

Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi

İzmit, Kocaeli. e-posta: sayanmurat@hotmail.com

Cep: 0 533 6479020

Sequence: **R.11V**

Sequence Date

22-Mar-2015

Algorithms

GRADE_06/2014 ANRS_09/2013

Length of included Sequences:

- Sequence includes INT: codons: 63 - 181

<u>Gene</u>	<u>Differences from Consensus B</u>	<u>Drug Resistance Mutations</u>
INT	I72V, T112V, T124A, K156N, E157Q	E157Q

II	ANRS_09/2013			<u>Final Rating</u>
	<u>Mutation List</u>	<u>Algorithm Result</u>	SIR	
<u>Dolutegravir</u>		<u>Susceptible</u>	S	
<u>Elvitegravir</u>	E157Q	<u>Resistance</u>	R	
<u>Raltegravir</u>	E157Q	<u>Resistance</u>	R	

Doc.Dr.Murat SAYAN

Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi

İzmit, Kocaeli. e-posta: sayanmurat@hotmail.com

Cep: 0 533 647 9020

Sequence: ██████████

Sequence Date 5-Mar-2016

Algorithms Rega

Length of included Sequences:

- Sequence includes INT: codons: 62 - 151

Gene	Differences from Consensus B	Drug Resistance Mutations
INT	E92Q, F100Y, L101I, K111*, T112V, I113L, N117K, S119P, F121I, T124N, T125A, V151L	E92Q, S119P, F121I

	Rega 9.1.0		Final Rating
II	Mutation List	Algorithm Result	SIR
<u>Dolutegravir</u>	E92Q	Susceptible GSS 1 (Score:0.5)	S
<u>Elvitegravir</u>	E92Q	Resistant GSS 0 (Score:2)	R
<u>Raltegravir</u>	E92Q	Intermediate Resistant GSS 0.25 (Score:1)	I

Doc.Dr.Murat SAYAN

Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

PCR Ünitesi, İzmit, Kocaeli.

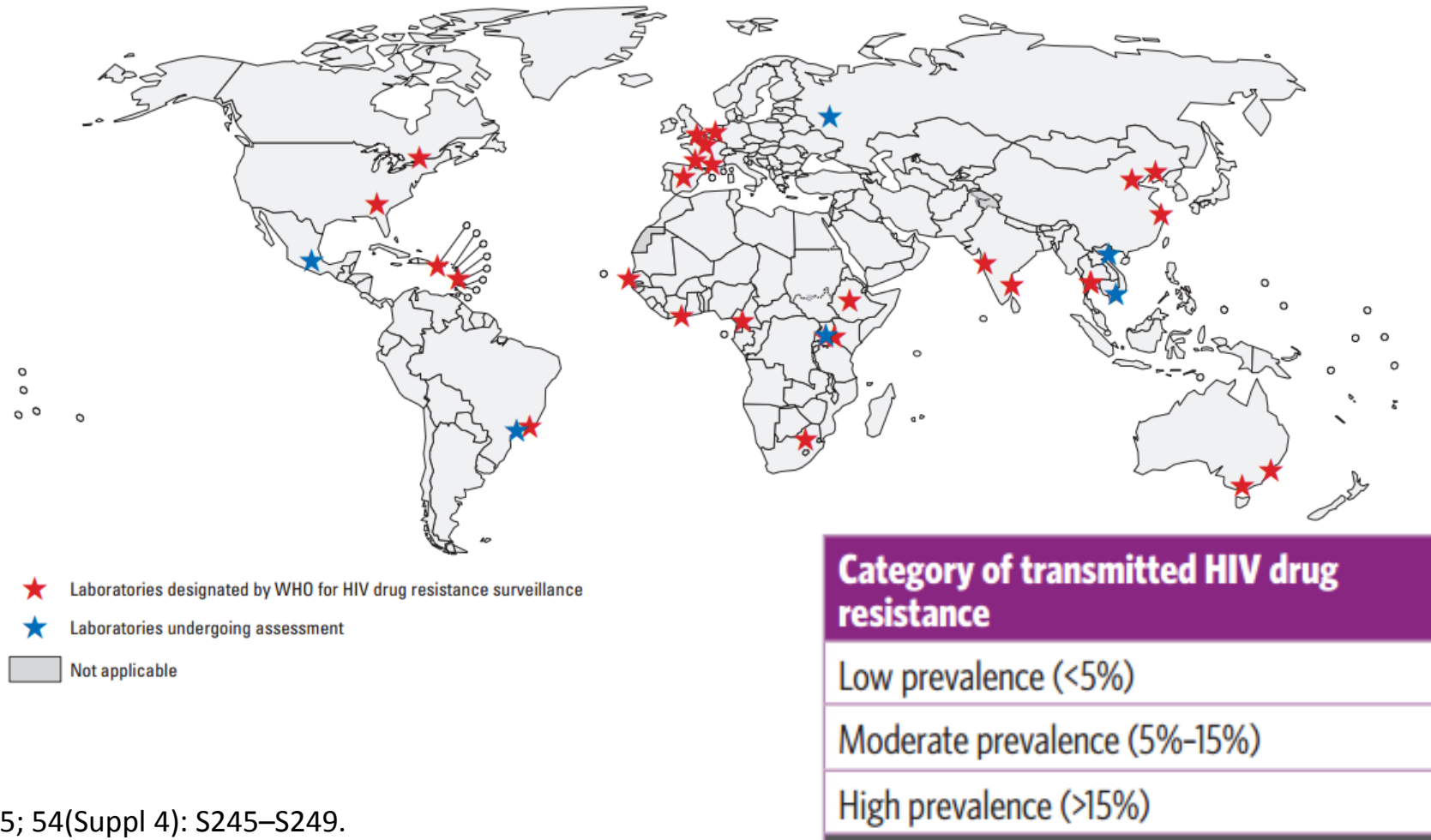
sayanmurat@hotmail.com, http://facebook.com/muratsayan.HIV

Cep: 0 533 647 9020



WHO transmitted HIV drug resistance surveys

Figure 1.1 HIV drug resistance testing laboratories designated for public health surveillance by the WHO, 2011



Sonuçlar

- Ülkemizde, yeni tanı almış ve antiretroviral naif hastalarda integras inhibitörü direnci mutasyonları bulunmuyor.
- İntegras inhibitörleri, başlangıç tedavilerinde güçlü bir seçenek olabilir.
- Viral rebound gelişen hastalarda RAL ve EVG direnci bulunabilir.
- INI naif deneyimli hastalarda DTG direnci bulunmuyor. DTG, tedavi geçişlerinde güçlü bir seçenek olabilir.
- Tedavi geçişleri öncesinde integras inhibitörü direnci mutasyonları mutlaka analiz edilmelidir.

Yeni sorular

- Yeni tanı alan HIV-1 ile enfekte hastaların DTG tedavilerinde viral rebound gelişebilir mi?
- RAL ve EVG tedavilerinde direnç gelişmesi durumunda DTG'e geçilebilir mi?
- INI direnci mutasyonları zamanla birikebilir mi?

DTG bazlı tek tablet rejimi: ABC + 3TC + DTG

HLA-B*57:01 allel taraması

Human leukocyte antigen (HLA)

İmmün sistem yabancıyı nasıl tanıyor?

- HLA-B gen lokusu, yabancı proteinleri sunan sınıf 1 major histocompatibility complex (MHC) kodlamaktadır.
- İnsanda 1500'den fazla farklı HLA-B allelleri bulunur.
- Bunlardan biri: HLA-B*57:01 allelidir.

Abacavir sülfat (1592U89): bir sentetik karbosilik nükleozid (NRTI)

- Abacavir'e bağlı hipersensitivite reaksiyonu, genotipik testlerle önceden taranabilir.
- Çünkü HLA-B*57:01 lokusu ile abacavir sülfat arasında kuvvetli -tanısal bir ilişki bulunmaktadır.
- PREDICT - 1 Çalışması: 2008 yılında, 19 ülkeden 1956 hasta (randomize, double blind).
- FDA, HLA-B*57:01 tarama testini onaylıyor (2008).

Abacavir sülfat, HLA-B*5701 proteinlerine bağlanıyor, F oyuğu oluşuyor. Bir yabancı olarak algılanan F oyuğu, CD8+T hücreleri tarafından otoimmün reaksiyonun tetiklenmesi ile hipersensitiviteye yol açıyor.

Table 1 Pharmacogenetics and highly active antiretroviral therapy toxicity

ARVs	Polymorphisms	Effects
NRTIs		
Abacavir (ABC)	HLA-B*5701	Hypersensitivity Reaction Syndrome
Tenofovir (TDF)	ABCC2-MRP2 (1249G > A)	Increased risk of tubulopathy
Lamivudine (3TC)	MRP4 4131T > G	Increased plasma concentrations
Zidovudine (AZT)	MRP4 3724 G > A	Increased plasma concentrations
Didanosine (ddI)	CFTR 1717-1G > A, IV585T,	Higher risk of pancreatitis
Didanosine (ddI), Zalcitabine (ddC), Stavudine (d4T)	SPINK-1 112C > T MTND1 LHON4216C, MTND2 LHON4917G	Leber's Hereditary Optic Neuropathy, Peripheral Neuropathy
NNRTIs		
Nevirapine (NVP)	HLA-B*58:01, *15:02, *35:05 ABCC10rs2125739, CYP2B6 516G > T	Cutaneous rash, SJS/TEN Increased plasma concentration, hepatotoxicity Reduced risk of hepatotoxicity
Efavirenz (EFV)	MDR1 3435C > T CYP2B6 G516T, T983C	Higher plasma concentrations, SNC side effects
PIs		
Atazanavir (ATV)	UGT1A1*28, MDR1 3435C/C	Hyperbilirubinemia and jaundice
All PIs	TNF gene 238G > A APOA5 (1131T > C, 64G > C), APOC3 (482C > T, 455C > T, 3238C > G) ABCA1 2962A > G APOE (ε2, ε3 haplotypes)	Early onset of lypodistrophy High risk of dyslipidemia
Others		
Maraviroc (MVC)	SLC01B1 521T > C (rs4149056)	Increased plasma concentrations
Raltegravir (RAL)	UGT1A1*28	Increased plasma concentrations

Abacavir tedavisinin ilk 4 - 6 haftasında hastaların %5 - 8'inde meydana gelmektedir (PREDICT -1 Çalışması).

İmmünolojik olarak hipersensitivite, HLA-B*5701 allel genotipinde %100 NPV ve %50 PPV değerine sahiptir.

HLA-B*57:01 allel sıklığını tarayan testler

LIFECODES^{SSO -Typing} HLA-Luminex platform (Immucor, USA)

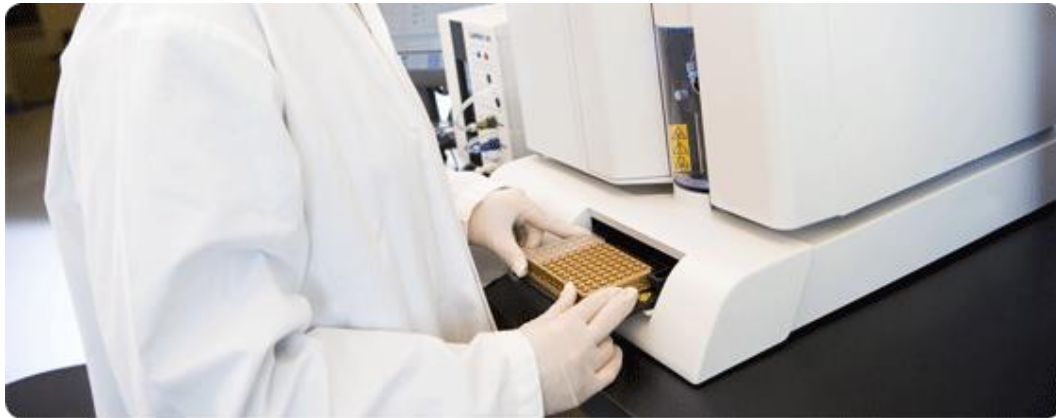
Olerup SSP^{SSP -Typing} HLA-B*57:01 kit (Olerup SSP AB, Sweden)

LightSNiP^{Real-Time} rs2395029 HPC5 Assay (TIB Molbiol, Germany)

Duplica^{Real-Time} HLA-B*57:01 Genotyping kit (Euroclone, Italy)

GenVinSet^{Real-Time} HLA-B*57:01 Genotyping kit (BDR, Spain)

FACSCanto II instrument^{Flow cytometry} (BD Biosciences, USA).



(^{SSO -Typing} Luminex, Immucor)

HLA-B allellerinin tiplendirilmesinde Luminex sistemi

- HLA tiplerede SSP, **Sekans Spesifik Oligonukleotid Prob Hibridizasyon (SSOP)**, RFLP ve ters SSOP dot blot teknikleri kullanılmaktadır.
- **Hibridizasyon** ve elektroforetik sistemlere dayanan bu teknikler real-time PCR'a göre daha karmaşık donanım repertuarı ve deneyim gerektiriyor.

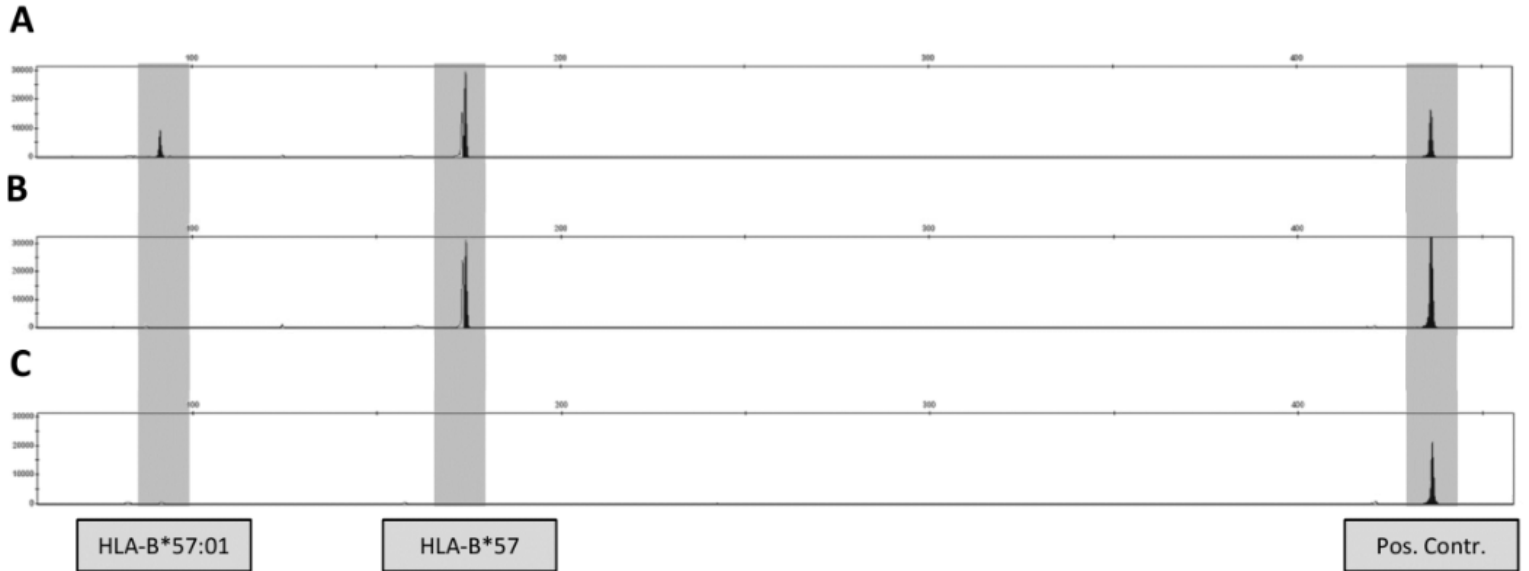
- Purify Genomic DNA.....
- Amplification.....
- Hybridization.....
- Analyze with Luminex Instrument.....

56 °C'da PCR ürününün kuvvetli bir şekilde bağlanmasını sağlar.



LCT-B LIFECODES HLA-B SSO Typing Kit, Catalog # 628915

LM-B LIFECODES HLA-B Typing Kit for use with Luminex



Türkiye’de abacavir hipersensitivite olasılık taraması

HLA-B* 57:01 allel analizi

GenVInSet
HLA-B57_{v3}

NPV: %100
PPV: >%95

Kocaeli deneyimi (Real – time PCR tekniği)

2015 - 2016 Ekim tarihleri arasında

15 Şehir 35 Klinik 704 hasta

42/704 hastada pozitiflik saptandı: %6

OLERUPSSP®
HLA-B*57:01

NPV: %100
PPV: %100

Samsun deneyimi (SSP tekniği)

2016 yılı

Ordu, Samsun, Giresun

3/100 hastada pozitiflik saptandı: %3

Dünyada abacavir hipersensitivite olasılık taraması sonuçları

Bölge	HLA-B* 57:01 allel frekansı	Durum
Avrupa	~ %5	İsviçre; %7,7 Polonya; %4,7 Finlandiya; %1.5
Kuzey Amerika	<%6	ABD; %3-6 Kanada; %4,1
Güney Amerika	<%3	Şili; %2,2 Brezilya; %3,1
Çin	<%1	Çin; %0,8
Asya	<%4	Tayland; %4 Kamboçya; %3,4
Beyaz ırk	%2 - 8	Australian Caucasian popülasyonda yüksek prevalans
Siyah ırk	%0.4	African American popülasyonda düşük prevalans

Tangamornsuksan W, *et al.* J Pharm Pharm Sci 2015;18(1):68-76,

Hetherington S, *et al.* Clin Ther 2001; 23:1603-14,

Hughes AR, *et al.* Pharmacogenomics 2004;5(2):203-1,

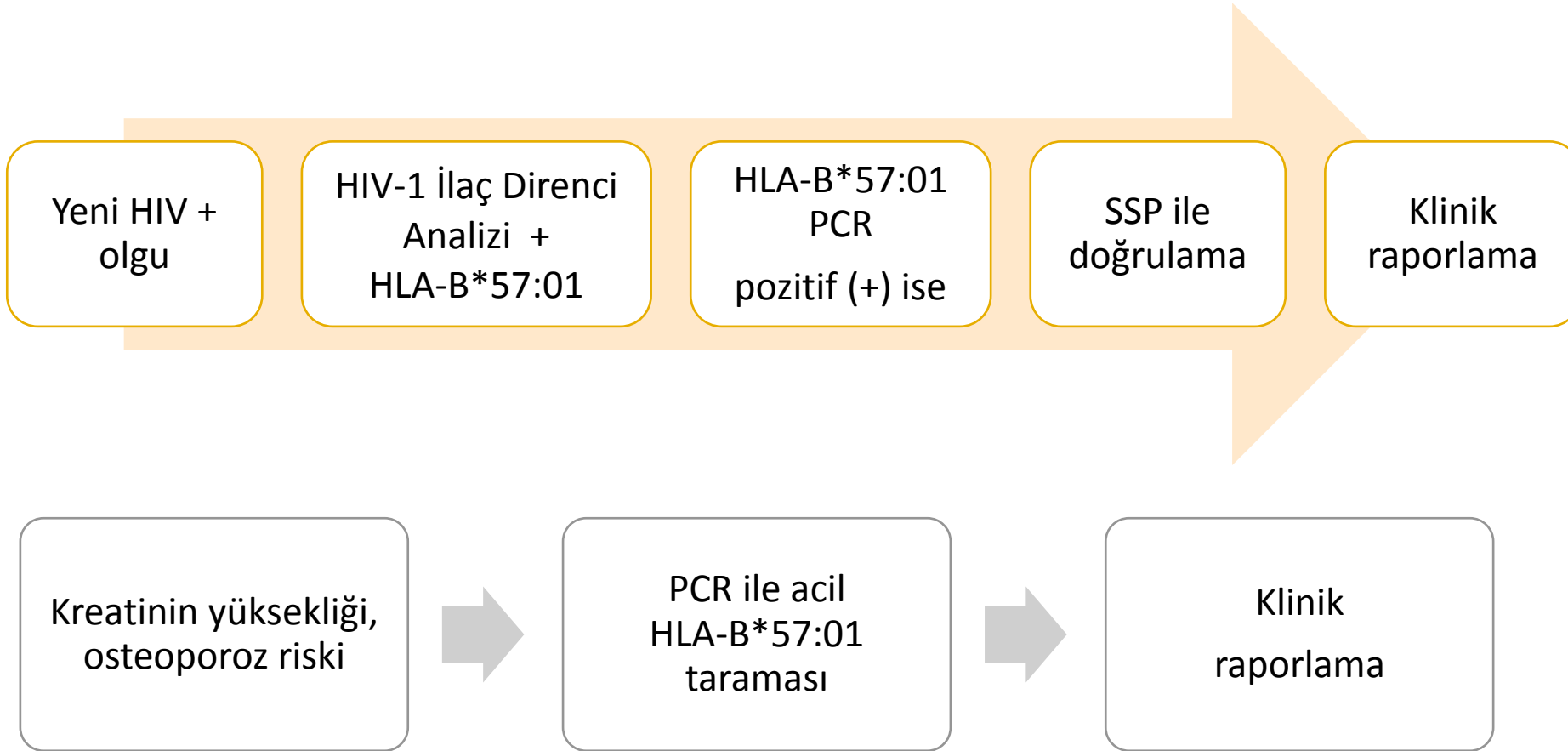
Kocaeli Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi, PCR Laboratuvarı

HIV-1 İlaç Direnci Analizi (5 Ekim 2016 itibariyle)

Merkez	ART naif	ART deneyimli	Toplam
7 Bölge 28 Şehir 76 Klinik	2945	640	3585

DTG bazlı tek tablet rejimi: ABC + 3TC + DTG

İş akış önerileri:



Soru & Cevap