



SOCIEDADE PAULISTA DE INFECTOLOGIA

II FÓRUM DE HIV E HEPATITES VIRAIS DA
SOCIEDADE PAULISTA DE INFECTOLOGIA

REPERCUSSÃO CLÍNICA DA RESISTÊNCIA AOS NOVOS
ANTI-VIRAIS DE AÇÃO DIRETA
RESISTÊNCIA AOS INIBIDORES DE PROTEASE (IPS)

EDNA STRAUSS
PROFESSORA LIVRE-DOCENTE
DA FMUSP
HEPATOLOGISTA PELA AMB

DECLARO → Não há conflito de interesse para o tema em questão

Evolução da Resistência na Hepatite pelo HCV



HCV existe como *quasispecies* – grande população de variantes virais



Esquemas com IFN/RBV

- IFN: Múltiplos alvos antivirais exclui mutações específicas no genoma de HCV que conferem resistência^{2,3}
- RBV: Ação inibitória sobre RdRp, mas esse efeito é muito fraco e transitório para selecionar RAVs, exceto em alguns casos^{4,5}
- O insucesso do tratamento é devido a fatores do hospedeiro, as características da doença e fatores virais

Primeiros DAAs

- Tem como alvos regiões específicas do genoma do VHC
- Seleção de variantes virais altera interações com o alvo, conferindo resistência ao DAA²

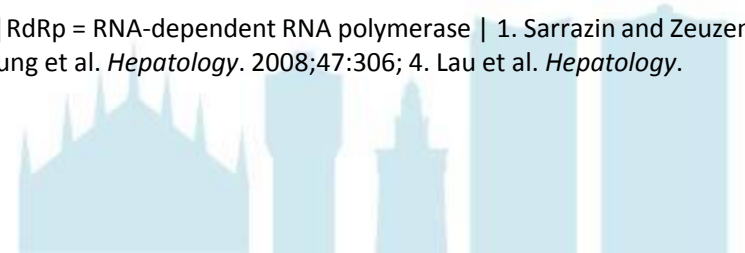
1986

1998


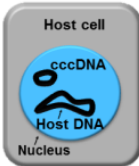

2001

2011

DAA = direct-acting antiviral; IFN = interferon; PegIFN = pegylated interferon; RBV = ribavirin | RdRp = RNA-dependent RNA polymerase | 1. Sarrazin and Zeuzem. *Gastroenterology*. 2010;138:447; 2. Pawlotsky. *Therap Adv Gastroenterol*. 2009;2:205 | 3. Chung et al. *Hepatology*. 2008;47:306; 4. Lau et al. *Hepatology*. 2002;35:1002; 5. Young et al. *Hepatology*. 2003;38:869.



HCV vs HBV e HIV: Comparação da Replicação Viral e Resistência

| | HIV (retrovirus) | HBV (double-stranded DNA virus) | HCV (single-stranded RNA virus) |
|--|--|---|---|
| Taxa de Replicação Viral/dia | 10 ¹⁰ | 10 ¹² – 10 ¹³ | 10 ¹² |
| Estratégia de Replicação | <ul style="list-style-type: none"> Replicação no núcleo e Integração no genoma Reservatório Latente <ul style="list-style-type: none"> – Não curável – Archived resistance for RAVs  | <ul style="list-style-type: none"> Replication of cccDNA occurs in host nucleus Latent reservoir <ul style="list-style-type: none"> – Not curable for most patients – Archived resistance for RAVs  | <ul style="list-style-type: none"> Replication occurs in host cytoplasm No latent reservoir <ul style="list-style-type: none"> – Curable – Mutations not preserved over time  |
| Emergência das RAVs “Variantes associadas a Resistência viral” | <ul style="list-style-type: none"> Rápida <ul style="list-style-type: none"> – Vida média do vírus intracelular → dias e das células infectadas → dias (dependentes) – Escape imunológico efetivo | <ul style="list-style-type: none"> Lenta <ul style="list-style-type: none"> – Vida média do vírus intracelular → meses e das células infectadas → meses – Escape imunológico menos efetivo | <ul style="list-style-type: none"> Rápida <ul style="list-style-type: none"> – Vida média do vírus intracelular → horas e das células infectadas → dias (independentes) – Escape imunológico efetivo |

Efeito do HCV no desenvolvimento de resistência

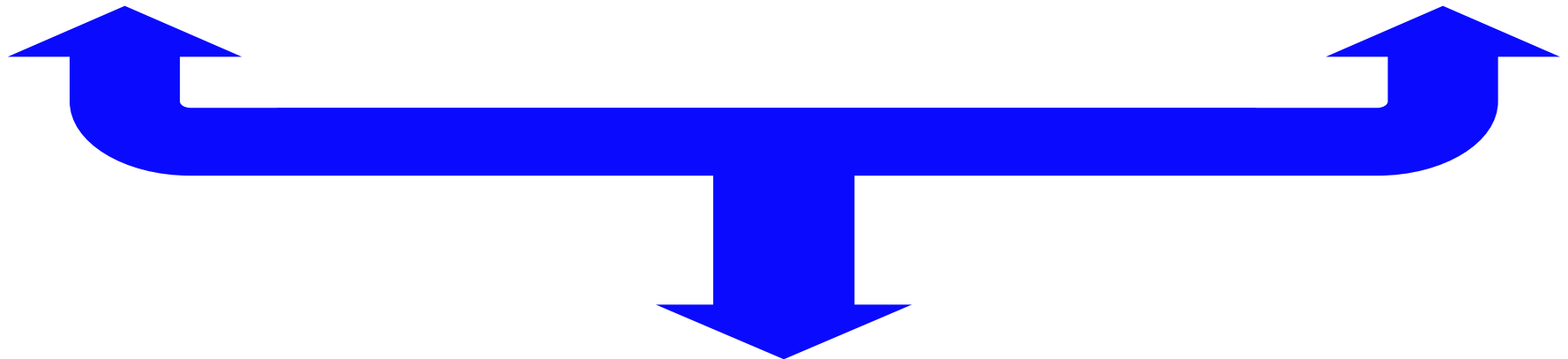
Elevada taxa de mutação



Elevada produção viral

1 erro introduzido por HCV virus produzido

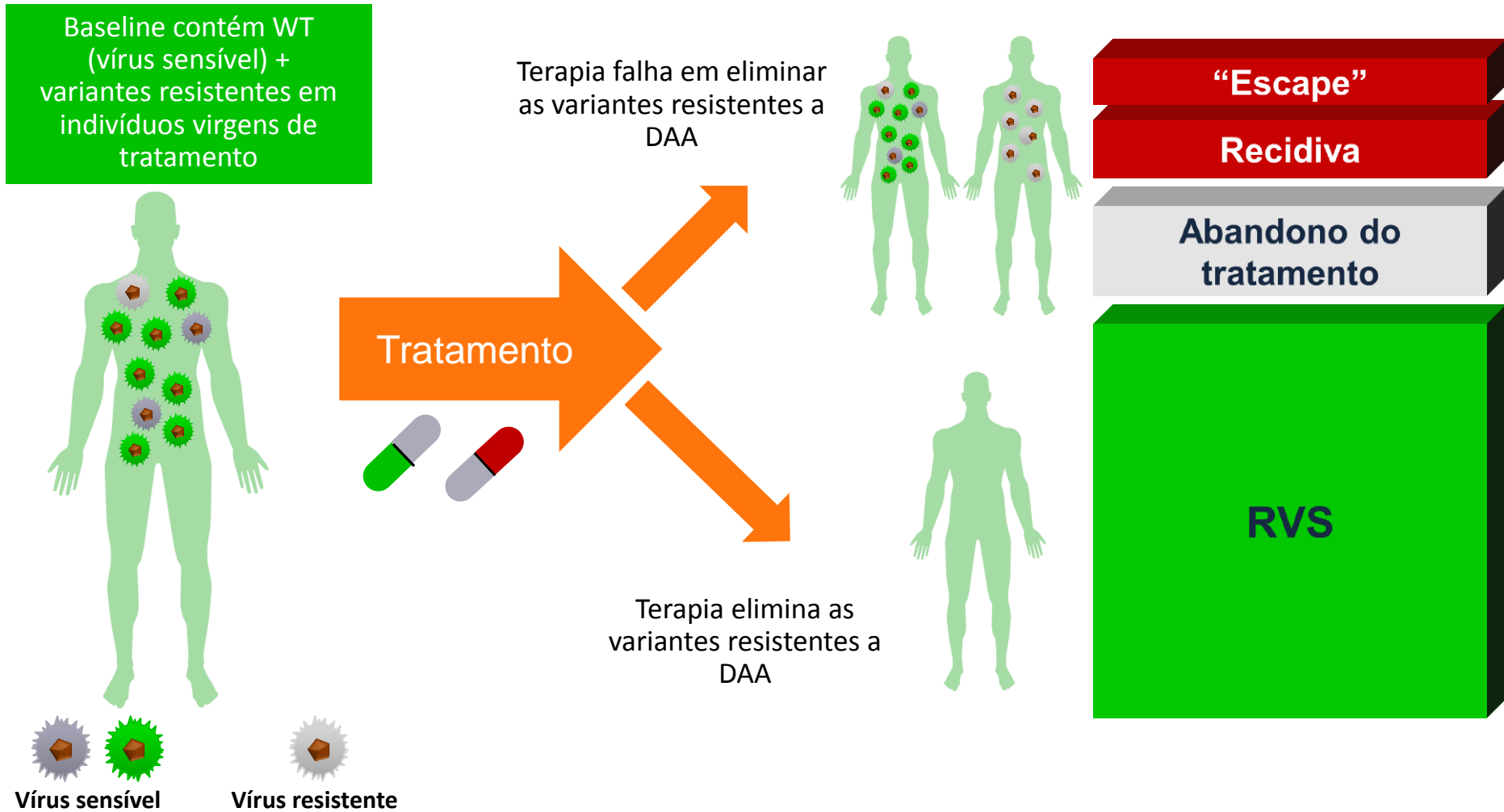
$>10^{12}$ partículas virais produzidas por dia



8.7×10^{10} virus com mutação única/dia
 4.2×10^9 virus com mutações duplas /dia

**Todos os mutantes, unico ou duplo, possíveis são criados várias vezes ao dia.
Alguns são inviáveis e eliminados; outros conferem resistência.**

A terapia com DAA pode selecionar cepa resistente



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

Barreira Genética para Resistência Viral

Definição

- ◆ Número e tipo de substituições de nucleotídeos necessárias para que um vírus adquira resistência a um esquema antiviral

Quanto $>$ Barreira Genética

$<$ Resistência à droga

- ◆ IC50: Half maximal inhibitory concentration (Drug concentration required to inhibit 50% of biochemical activity *in vitro*)

Mudanças de nucleotídeos

- ◆ Exemplo: códon 155 na protease do HCV

Subtype 1a – WT AGG → AAG

AGG → AAG
R155 K155

Requires 1 step

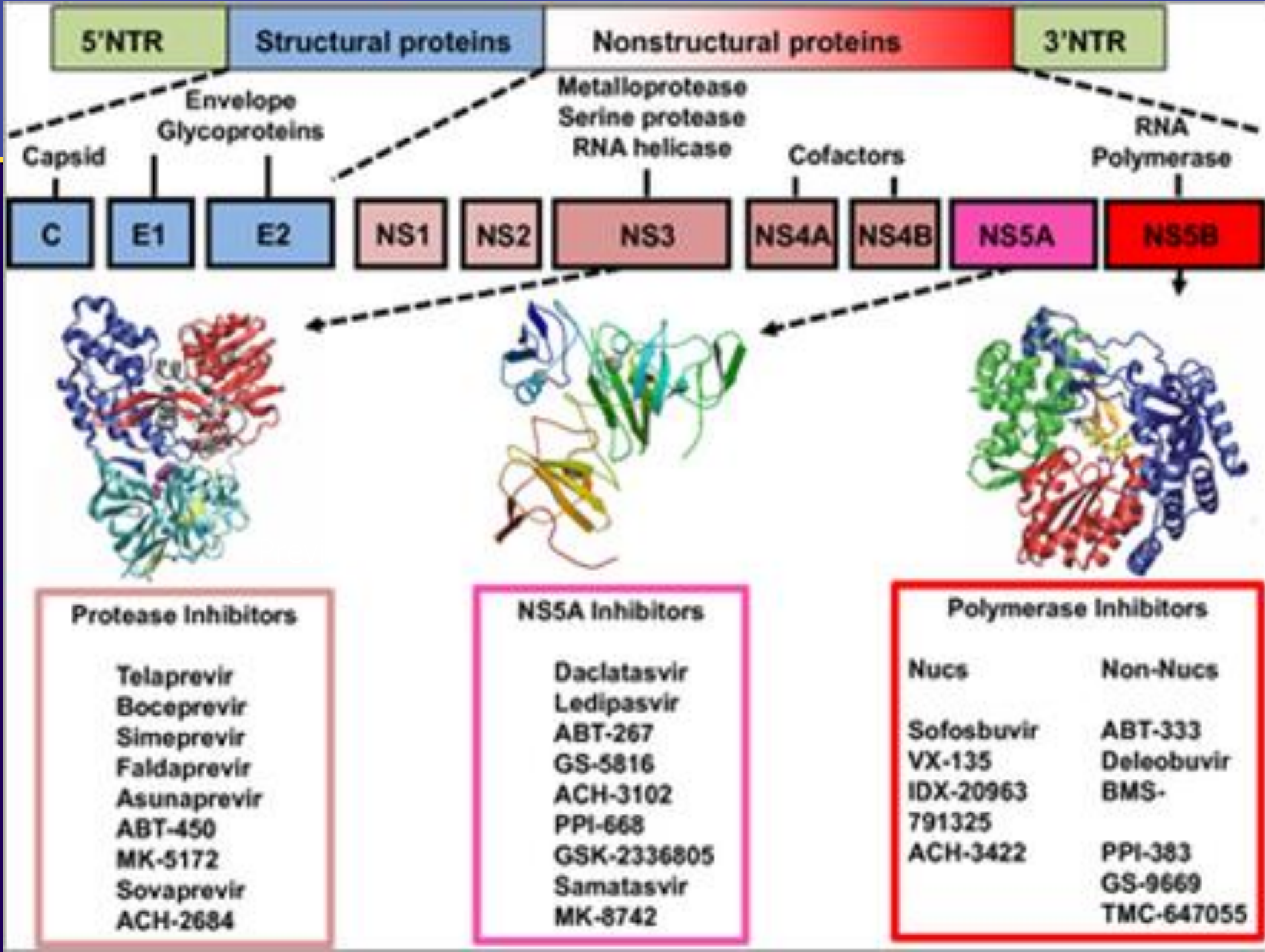
Subtype 1b – WT CGG → AAG

CGG → AGG
R155 R155



AGG → AAG
R155 K155

Requires 2 steps



Impacto Clínico das RAVs

- ◆ **Qual a frequência basal das RAVs?**
- ◆ Qual o significado clínico da presença de RAVs para DAAs no baseline?
- ◆ Quais as consequências da presença de RAVs variantes resistentes a longo prazo?

Protease Inhibitor Resistance Mutations in Untreated Brazilian Patients Infected with HCV: Novel Insights about Targeted Genotyping Approaches

Isabel M.V.G. de Carvalho,^{1,2} Rafael Alves,² Polyana A. Vasconcelos-Medeiros de Souza,¹ Edvaldo F. da Silva,³ Daniel Mazo,³ Flair J. Carrilho,³ Artur T.L. Queiroz,^{4*} and Mário G. Pessoa³

¹*Viral Immunology, Butantan Institute, Avenida Doutor Vital Brasil, São Paulo, Brazil*

²*Applied Molecular Hepatology Laboratory (LHeMA), Hepatitis Sector, Gastroenterology Division, São Paulo Federal University, São Paulo, Brazil*

³*Department of Gastroenterology, University of São Paulo School of Medicine, São Paulo, Brazil*

⁴*Immunoparasitology Laboratory, Gonçalo Moniz Research Center (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brazil*

171 pac VHC Gen 1a/1b Avaliar RAVs da protease NS3
G 1a → 7,4% de mutações → V36L; T54S, Q80K; R155K
G 1b → 5,1% de mutações → V36L; Q41R; T54S; D168S

Mutações primárias relacionadas com resistência aos DAA's

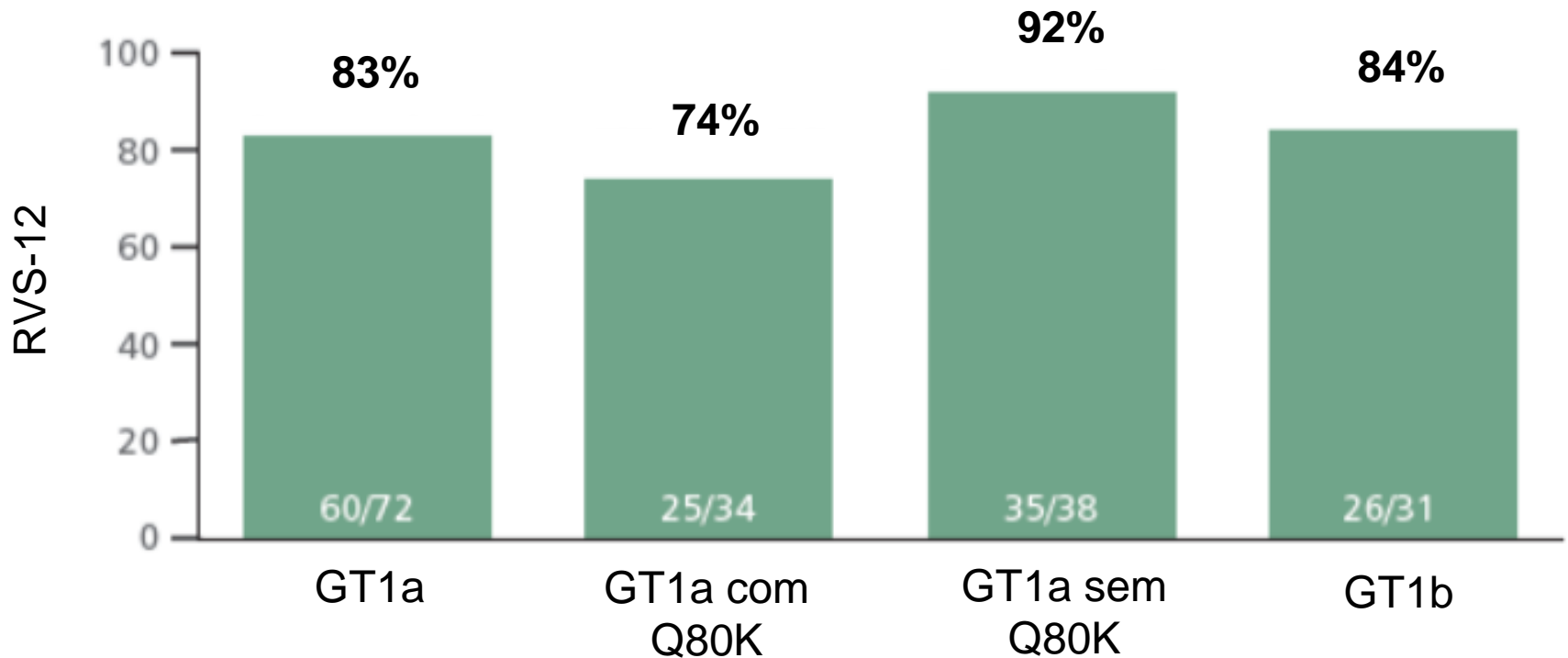
Prevalence of key polymorphisms at NS3/4A, NS5B polymerase and NS5A protein sequences associated with resistance to DAA agents.

| Drug family | Mutation | Fold-change in EC50 | 1a | 1b | 2 | 3 | 4 | DAA agents potentially affected by specific polymorphisms |
|--|--------------|---------------------|--------|---------|---|--------------|---|--|
| NS3/4A protease inhibitors | <u>Q80K</u> | 10.9 | 19–48% | 0 | 0 | 0 | 0 | Simeprevir WHO (2013) Asunaprevir European Association for the Study of the Liver (2011) Sovaprevir WHO (2013) |
| | <u>D168Q</u> | >700 | 0 | 0 | 0 | <u>99.2%</u> | 0 | Second PI generation McHutchison et al. (2009) |
| NS5B non-nucleoside analogs inhibitors | C316N | >30* | | 13.3% | | | | Setrobuvir Pawlotsky et al. (2007) (NNI-site 3 inhibitors) ABT-072 Pawlotsky et al. (2007) (NNI-site 3 inhibitors) ABT-333 Pawlotsky et al. (2007) (NNI-site 3 inhibitors) |
| | L419V | <4 | | | | 13% | | Filibuvir Soriano et al. (2011) (NNI-site 2 inhibitors) VX-222 Poordad et al. (2011) (NNI-site 2 inhibitors) GS-9669 Poordad et al. (2011) (NNI-site 2 inhibitors) |
| NS5A inhibitors | L31M | 3–341 | | 7% | | | | Daclatasvir Bacon et al. (2011) Ledipasvir Jacobson et al. (2011) |
| | Y93H | 5.4–24 | | 6–12.5% | | | | Daclatasvir Bacon et al. (2011) Ledipasvir Jacobson et al. (2011) |

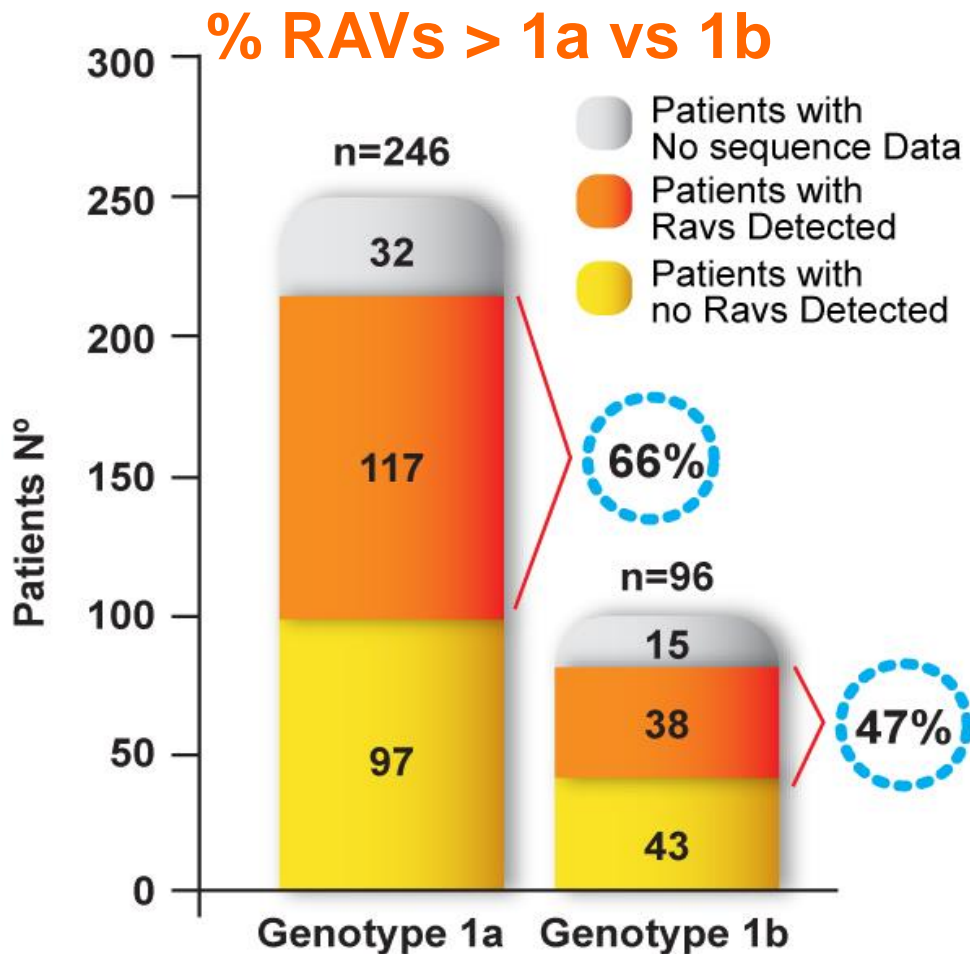
* In combination with mutations Y448H, D559G or Y555C. 1. [Bae et al. \(2010\)](#); 2. [Mcphee et al. \(2012a,b\)](#); 3. [Lenz et al. \(2013\)](#); 4. [Lawitz et al. \(2010\)](#); 5. [Troke et al. \(2012\)](#); 6. [Lawitz et al. \(2012\)](#); 7. [Fridell et al. \(2011\)](#); 8. [Gao \(2013\)](#).

ESTUDO FASE 3 OPTIMIST-2 (pacientes com CIRROSE) **SOF / SMV por 12 semanas**

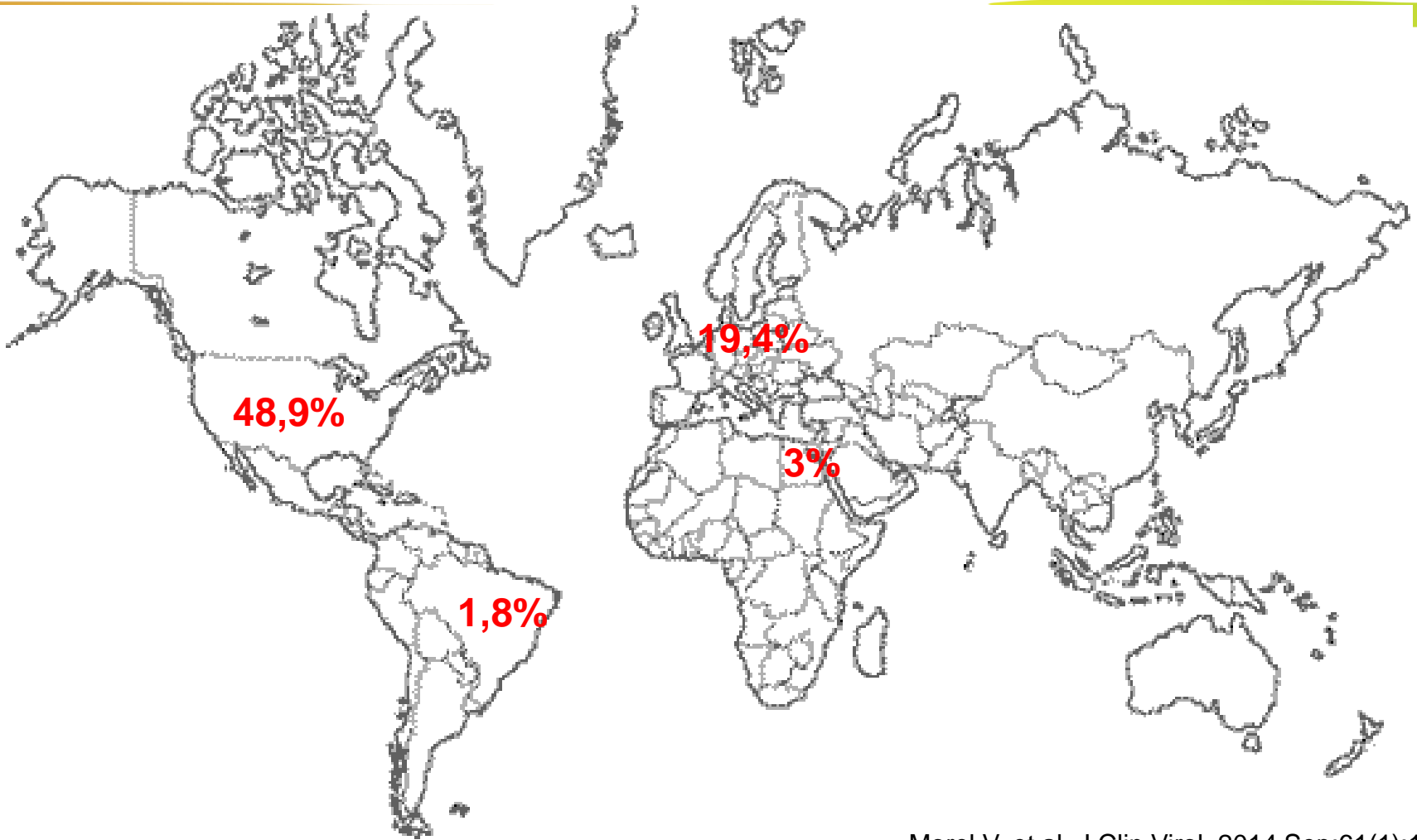
N = 103 pacientes GT1 com cirrose (58% com elastografia >20kPa; 51% experimentados)



Resistência IPs: gen1a > 1b



Mutação Q80K – Prevalência Mundial



Morel V, et al. J Clin Virol. 2014 Sep;61(1):149-51
Poveda E, et al. Antiviral Res. 2014 Aug;108C:181-91
Aissa Larousse J, et al. J Med Virol. 2014 Aug;86(8):1350-9
de Carvalho IMVG, et al. J Med Virol. 2014 Oct;86(10):1714-21
Pessoa MG, Mazo DF, et al. Rev Panam Infectol. 2014;16(1):57-61

EVIDENCE OF DISTINCT PHENOTYPES OF HCV SUBTYPES 1A AND 1B CONFERRING RESISTANCE TO DIRECT-ANTIVIRAL AGENTS IN ISOLATES FROM BRAZILIAN THERAPY-NAIVE PATIENTS

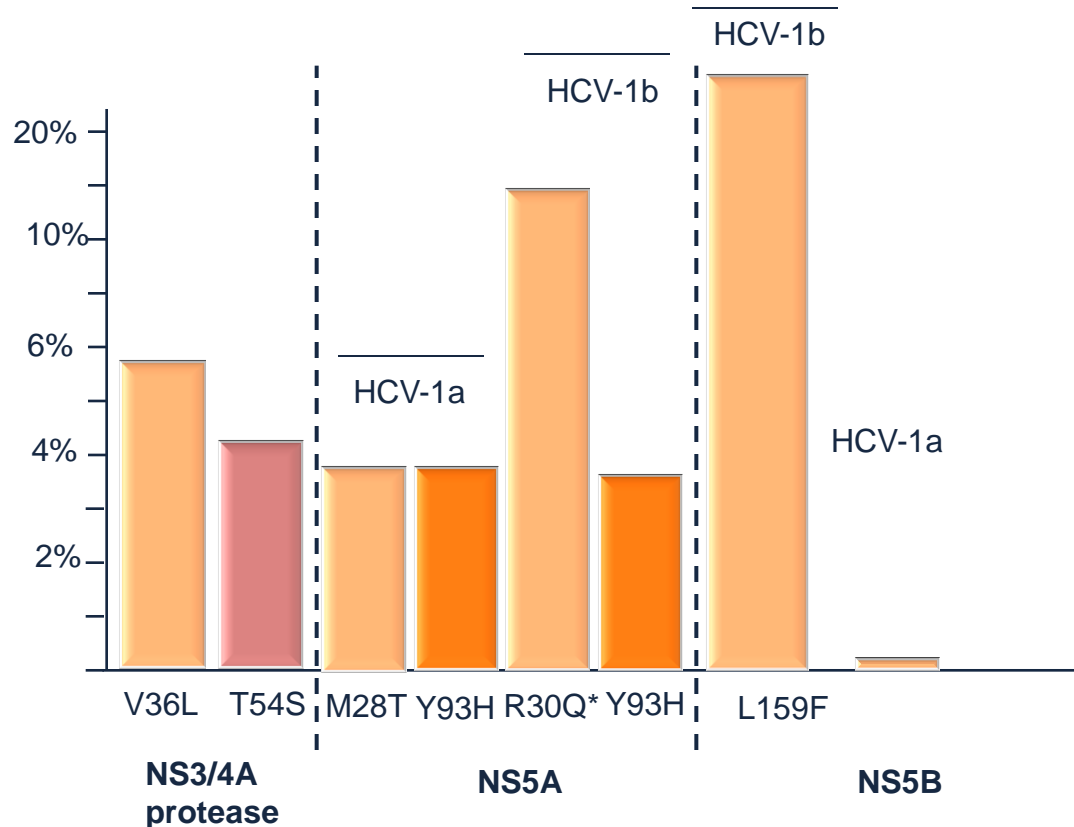
- In the NS5A protein HCV-1b isolates, 3.70% displayed Y93H ; 14.8% exhibited the secondary mutations: R30Q, L31M, P58S, and I280V* .

- 3.85% of HCV-1a isolates showed the primary mutations: M28T and Y93H; 13.46% presented the secondary substitutions H58P, E62D or E62D-H58P

- **At position 80, the mutation Q80K which confers resistance to simeprevir was found in only 2,08% of HCV-1a Brazilian sequences.**

- In the NS5B protein, 25% of HCV-1b sequences present the L159F variation in the dominant viral population, while no HCV-1a sequences showed such variation.

- **Whereas 48% of HCV-1a North America patients and 19% of European patients had the Q80K polymorphism at baseline, only 2,08% of HCV-1a Brazilian sequences present this polymorphisms in NS3 protease.;**



Impacto Clínico das RAVs

- ◆ Qual o significado clínico da presença de RAVs para DAAs no baseline?
- ◆ Qual as consequências da presença de RAVs variantes resistentes a longo prazo?

Poveda E et al. *Antivir Res.* 2014;108:181-191

Persistência de variantes DAA-Resistentes

Potenciais consequências

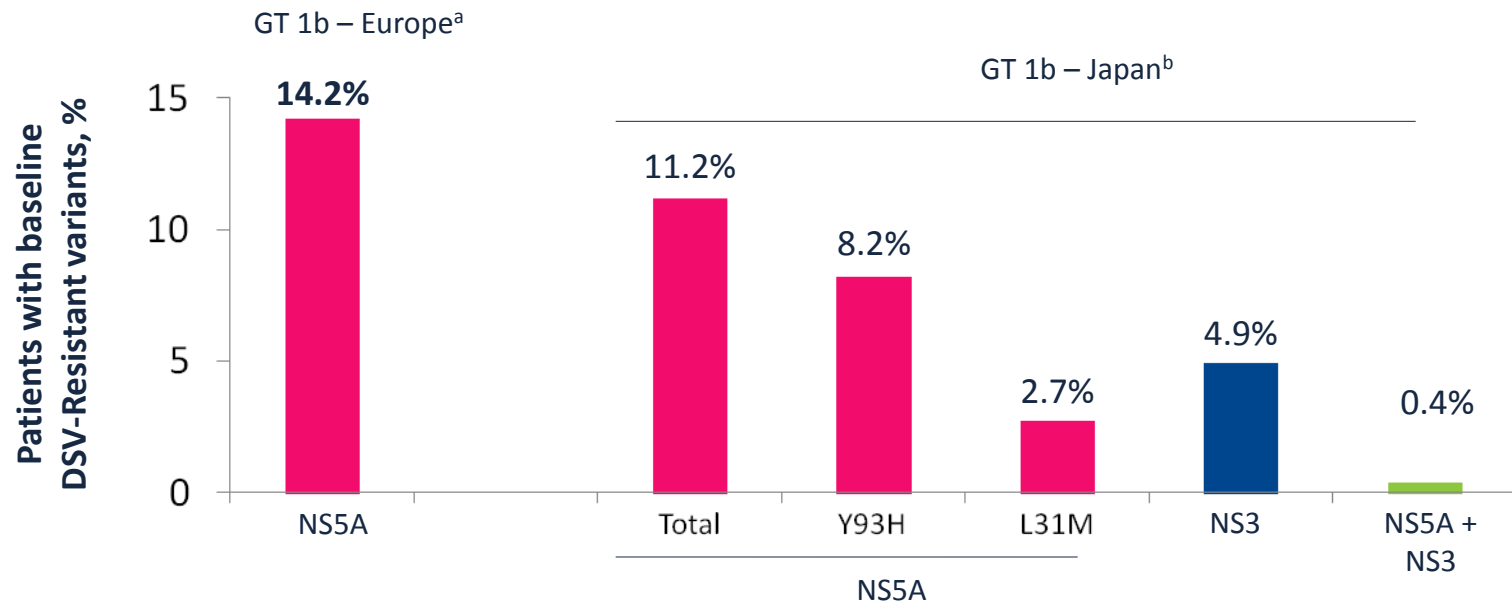
- Nenhum efeito sobre o curso natural da doença hepática

Não há → progressão mais rápida
→ descompensação

HCV não é citopático!

Variantes resistentes **não são** →
mais agressivas comparada
ao tipo selvagem

Naturally Occurring DCV-Resistant Variants Are Common in DAA Treatment-Naive Patients



- NS3-inhibitor resistant variants are also common, but mutations conferring resistance to both classes are very infrequent

- NS3-inhibitor resistant variants are also common, but mutations conferring resistance to both classes are very infrequent

^aFrom sequences of GT1b retrieved from 1796 GT 1b patients in the European HCV database; ^bFrom 362 GT1b NS5A inhibitor- and NS3 protease inhibitor-naïve patients treated at a hospital in Tokyo | DAA = direct-acting antiviral; DCV = daclatasvir; RAV = resistance-associated variant | 1. Suzuki et al. *J Clin Virol.* 2012;54:352; 2. Wang et al. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:2054.

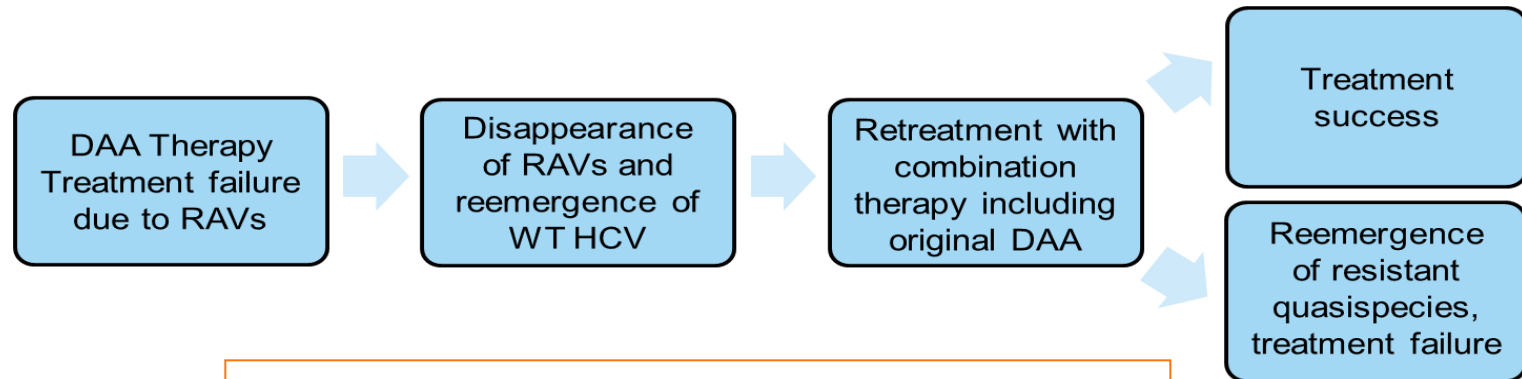
Impacto Clínico das RAVs

- ◆ Qual o significado clínico da presença de RAVs para DAAs no baseline?
- ◆ Qual a consequência da presença de RAVs a longo prazo?

Poveda E et al. *Antivir Res.* 2014;108:181-191

Persistência de variantes DAA-Resistentes

Potenciais consequências



- Re-tratamento com droga da mesma classe quando
 - População de HCV de tipo selvagem foi restaurada como dominante
 - Combinação com outra droga ou várias DAAS potentes (sem reação cruzada)

Novos tratamentos – o que teremos em 2015

SUPERB
WALLPAPERS

O que

Onde

Para quem

SIMEPREVIR

**Inibidor de
protease NS3/4**

Genótipo 1 e 4

SOFOSBUVIR

**Inibidor de NS5B
nucleotídeo**

Genótipos 1-6

DACLATASVIR

Inibidor de NS5A

Genótipos 1-4

A terceira onda

SOF/LDV

3D ABBVIE

MKs

Long-term follow-up of treatment-emergent resistance-associated variants in NS3, NS5A and NS5B paritaprevir/r-, ombitasvir- and dasabuvir-based regimens

- Pooled resistance analysis included 2510 patients in Phase 2 and 3 trials that received DAAs irrespective of dose or duration of treatment
- 67 G1a and 7 G1b failures (2.9% of total population)

| Target | RAV | G1a | G1b | F/U 24 | F/U 48 |
|--------|-----------------|-------------|------------|-----------------------|------------------------|
| NS3 | R155K | 9 (13%) | 0 | 10/13 (77%) | 2/7 (29%) |
| NS3 | D168V | 35 (52%) | 3 (43%) | 21/55 (38%) | 2/53 (4%) |
| NS5A | M28V/T | 20 (30%) | 0 | 32/33 (97%) | 21/21 (100%) |
| NS5A | Q30E/K/R | 29 (43%) | 0 | 38/41 (93%) | 25/28 (89%) |
| NS5B | S556G | 23 (35%) | 1 (14%) | 27/30 (90%) | 17/22 (77%) |

- NS5A RAVs persists beyond F/U 48
- NS3 RAVs decline to low levels by F/U 48
- NNI RAVs persist but not a lot of cross over across

Barreiras para resistência aos DAAs

◆ Fatores virais:

- ◆ RAVs no *baseline*

- ◆ *Fitness* viral

NS5B: baixo

NS3/4: baixo

NS5A: alto

◆ Fatores Genéticos:

- DAAs com potências diferentes: Pressão seletiva da droga
- Genótipo e subtipo: G1b > G1a

◆ Estágio da doença: cirrose

◆ Exposição da droga

Prevenção do aparecimento de RAVs

◆ Rápida e profunda supressão viral

- Alta potência antiviral
- Alta barreira genética
- Combinação de DAAs com diferentes mecanismos de ação

◆ Adesão do paciente

- Evitar flutuação da exposição da droga

Opções de Retratamento da HCV Resistente - 2015

- ◆ 1º Cenário: Falha com o uso de IPs (1ª e 2ª onda)
 - ◆ Esquema IFN-free
 - ◆ Drogas sem resistência cruzada
 - Análogo nucleosídico da região NS5B
 - Inibidor da região NS5A
 - ± Ribavirina
- ◆ Sofosbuvir + Daclatasvir + RBV – 12 semanas
- ◆ Sofosbuvir + Ledipasvir + RBV – 12 semanas

Resistência aos Inibidores de Protease

Conclusões

- Não há indicação de seqüenciamento para pesquisa de RAVs no pré-tratamento com DAAs.
- As RAVs da região NS3/4 após tratamento declinam com o tempo (meses) e volta a ser dominante o vírus selvagem. Esse declínio é mais rápido no genótipo 1b do que no 1a
- Os IPs embora tenham baixa barreira genética com fácil desenvolvimento de RAVs , perdem essa variantes mais rapidamente do que outros DAAs.
- Assim, é possível usar IPs novamente nas falhas terapêuticas, respeitado o tempo para a volta do vírus selvagem
- A melhor opção para prevenir o surgimento de RAVs é a terapia combinada com DAAs de diferentes classes.

FIM

GRATA PELA ATENÇÃO!

