



## ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΥΨΗΛΟΤΕΡΟΥ ΡΥΘΜΟΥ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΕ ΑΝΤΙΡΕΤΡΟΪΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ ΣΕ NNRTIs ΤΟΥ HIV-1 ΥΠΟΤΥΠΟΥ A ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΟΝ B ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Κωστάκη Ευαγγελία<sup>1</sup>, Σύψα Βάνα<sup>1</sup>, Νικολόπουλος Γεώργιος<sup>2</sup>, Γαργαλιάνος Παναγιώτης<sup>3</sup>, Ξυλωμένος Γεώργιος<sup>3</sup>, Λαζανάς Μάριος Κ.<sup>4</sup>, Χίνη Μαρία<sup>4</sup>, Σκουτέλης Αθανάσιος<sup>5</sup>, Παπασταμόπουλος Βασίλειος<sup>5</sup>, Αντωνιάδου Αναστασία<sup>6</sup>, Παπαδόπουλος Αντώνιος<sup>6</sup>, Ψυχογιού Μήνη<sup>7</sup>, Δαΐκος Γεώργιος Α.<sup>7</sup>, Χρύσος Γεώργιος<sup>8</sup>, Παπαρίζος Βασίλειος<sup>9</sup>, Κουρκουντή Σοφία<sup>9</sup>, Σαμπατάκου Ελένη<sup>10</sup>, Σύψας Νικόλαος Β.<sup>11</sup>, Λαδά Μαλβίνα<sup>12</sup>, Παναγόπουλος Περικλής<sup>13</sup>, Μαλτζέζος Ευστράτιος<sup>13</sup>, Δριμής Στυλιανός<sup>8</sup>, Χατζάκης Άγγελος<sup>1</sup>, Παρασκευής Δημήτριος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Υγιεινής, Επιδημιολογίας και Ιατρικής Στατιστικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα, <sup>2</sup>Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κύπρου, Λευκωσία, Κύπρος, <sup>3</sup>Α' Παθολογικό Τμήμα και Μονάδα Λοιμώξεων, Γ.Ν.Α. «Γ. Γεννηματάς», Αθήνα, Ελλάδα, <sup>4</sup>Γ' Παθολογικό Τμήμα & Μονάδα Λοιμώξεων, Γ.Ν.Α. «Κοργιαλένιο-Μπενάκειο Ε.Ε.Σ.», Αθήνα, Ελλάδα, <sup>5</sup>Ε' Παθολογική Κλινική & Μονάδα Λοιμώξεων, Γ.Ν.Α. «Ο Ευαγγελισμός», Αθήνα, Ελλάδα, <sup>6</sup>Π.Γ.Ν.Α. «Αττικόν», Αθήνα, Ελλάδα, <sup>7</sup>Α' Παθολογική Κλινική, Γ.Ν.Α. «Λαϊκό», Αθήνα, Ελλάδα, <sup>8</sup>Β' Παθολογική Κλινική και Μονάδα Λοιμώξεων, Γ.Ν. Πειραιά «Τζάνειο», Πειραιάς, Ελλάδα, <sup>9</sup>Νοσοκομείο Αφροδισίων και Δερματικών Νόσων «Α. Συγγρός», Αθήνα, Ελλάδα, <sup>10</sup>Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο», Αθήνα, Ελλάδα, <sup>11</sup>Κλινική Παθολογικής Φυσιολογίας, Γ.Ν.Α. «Λαϊκό», Αθήνα, Ελλάδα, <sup>12</sup>Γ.Ν.Α. «Σισμανόγλειο», Αθήνα, Ελλάδα, <sup>13</sup>Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη, Ελλάδα

### Περίληψη

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι οι E138A και K103N αποτελούν τις πιο συχνές μεταλλαγές αντοχής σε NNRTIs στους μη-θεραπευμένους HIV(+) στην Ελλάδα. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση της δυναμικής της μετάδοσης των ανθεκτικών στελεχών με E138A και K103N, και η διερεύνηση πιθανής ύπαρξης διαφορών μεταξύ των υπότυπων A και B. Για το σκοπό αυτό αναλύθηκαν 179 αλληλουχίες υπότυπου A και 68 υπότυπου B με μεταλλαγή αντοχής E138A, και 56 υπότυπου A και 18 υπότυπου B με K103N, από μη-θεραπευμένους HIV(+). Πραγματοποιήθηκε φυλοδυναμική ανάλυση χρησιμοποιώντας μεθόδους Μπεϋζιανής συμπερασματολογίας.

Βρέθηκε ότι η κατανομή της ομάδας κινδύνου δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των υπότυπων A και B στους HIV(+) με E138A και K103N. Επιπρόσθετα βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στη δυναμική της μετάδοσης ανθεκτικών στελεχών μεταξύ των υπότυπων A και B. Ο ρυθμός μετάδοσης των ανθεκτικών στελεχών με E138A και K103N είναι υψηλότερος στον υπότυπο A. Δεδομένου ότι η κατανομή της ομάδας κινδύνου δε βρέθηκε να διαφέρει σημαντικά, οι παρατηρούμενες διαφορές στη δυναμική της μετάδοσης θα μπορούσαν να οφείλονται σε υψηλότερη μεταδοτικότητα του A ή υψηλότερη συμπεριφορά κινδύνου των HIV(+) που έχουν μολυνθεί από το συγκεκριμένο στέλεχος.

**Εισαγωγή:** Ως αντοχή στην αντιρετροϊκή θεραπεία ορίζεται η μείωση στην ανασταλτική επίδραση της θεραπείας στον ιικό πολλαπλασιασμό. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι οι E138A και K103N αποτελούν τις πιο συχνές μεταλλαγές αντοχής σε NNRTIs στους μη-θεραπευμένους HIV(+) στην Ελλάδα (*Paraskevis et al. 2014*).

**Σκοπός:** Η εκτίμηση της δυναμικής της μετάδοσης των ανθεκτικών στελεχών με E138A και K103N, και η διερεύνηση πιθανής ύπαρξης διαφοράς μεταξύ των υπότυπων A και B.

**Υλικό:** Αναλύθηκαν 179 αλληλουχίες υπότυπου A και 68 υπότυπου B με μεταλλαγή αντοχής E138A, και 56 υπότυπου A και 18 υπότυπου B με K103N, από μη-θεραπευμένους HIV(+) στην Ελλάδα με δειγματοληψία το διάστημα 01/01/2003-30/06/2015. Οι αλληλουχίες ήταν διαθέσιμες στο γονίδιο *pol* (PR/RT).

**Μέθοδοι:** Η φυλοδυναμική ανάλυση βασίστηκε σε μεθόδους Μπεϋζιανής συμπερασματολογίας και πραγματοποιήθηκε στο πρόγραμμα BEASTv1.8, χρησιμοποιώντας το HKY μοντέλο νουκλεοτιδικής αντικατάστασης με κατανομή Γάμμα για το ρυθμό ετερογένειας, uncorrelated lognormal relaxed μοντέλο μοριακού ρολογιού, και μοντέλα γέννησης-θανάτου (BDM). Ο MCMC αλγόριθμος έτρεξε για κάθε dataset 30 x 10<sup>6</sup> επαναλήψεις, με βήμα δειγματοληψίας 3.000 και το πρώτο 10% των επαναλήψεων να έχει ορισθεί ως burn-in. Δεν χρησιμοποιήθηκαν πληροφοριακές prior κατανομές στην ανάλυση. Η σύγκλιση ελέγχθηκε μέσω του προγράμματος Tracer v1.6 και η εκτίμηση του δένδρου μέγιστης αξιοπιστίας έγινε στο πρόγραμμα TreeAnnotatorv1.8.

Η στατιστική ανάλυση βασίστηκε στο Pearson's chi-square test και πραγματοποιήθηκε στο πρόγραμμα STATA 12.

**Πίνακας 1.** Κατανομή των ανθεκτικών στελεχών με E138A και K103N που απομονώθηκαν από μη-θεραπευμένους HIV(+) στην Ελλάδα ανά ομάδα κινδύνου και υπότυπο.

NNRTI-μεταλλαγή αντοχής	HIV-1 Υπότυπος			
	A		B	
	E138A	K103N	E138A	K103N
Ομάδα κινδύνου				
MSM	124 (69)	38 (68)	43 (63)	11 (61)
MSW	18 (10)	3 (5)	11 (16)	1 (6)
XEN	9 (5)	1 (2)	4 (6)	2 (11)
Άλλη/Άγνωστη	28 (16)	14 (25)	10 (15)	4 (22)
Σύνολο	179 (100)	56 (100)	68 (100)	18 (100)

**MSM:** Men who have Sex with Men      **MSW:** Men who have Sex with Women      **XEN:** Χρήστες Ενδοφλέβιων Ναρκωτικών

### Αποτελέσματα

- Η κατανομή της ομάδας κινδύνου δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των υπότυπων A και B στους HIV(+) με E138A και K103N (Πίνακας 1). Συγκεκριμένα:
  1. Οι άνδρες που έκαναν σεξ με άνδρες (MSM) αντιπροσώπευαν το 69% (N=124) και 63% (N=43) των HIV(+) με E138A στους A και B, αντίστοιχα (Πίνακας 1).
  2. Ομοίως, οι MSM αντιπροσώπευαν το 68% (N=38) και 61% (N=11) των HIV(+) με K103N στους A και B, αντίστοιχα (Πίνακας 1).

**Πίνακας 2.** Χαρακτηριστικά των ανθεκτικών στελεχών με E138A και K103N που απομονώθηκαν από μη-θεραπευμένους HIV(+) στην Ελλάδα ανά υπότυπο.

HIV-1 Υπότυπος	NNRTI-μεταλλαγή αντοχής	tMRCA (διάμεση τιμή)	95% HPD διάστημα
A	E138A	1992,0	1987,6-1995,6
	K103N	1999,0	1994,7-2002,5
B	E138A	1982,6	1973,7-1990,6
	K103N	1991,8	1979,1-2000,8

tMRCA: time of the Most Recent Common Ancestor

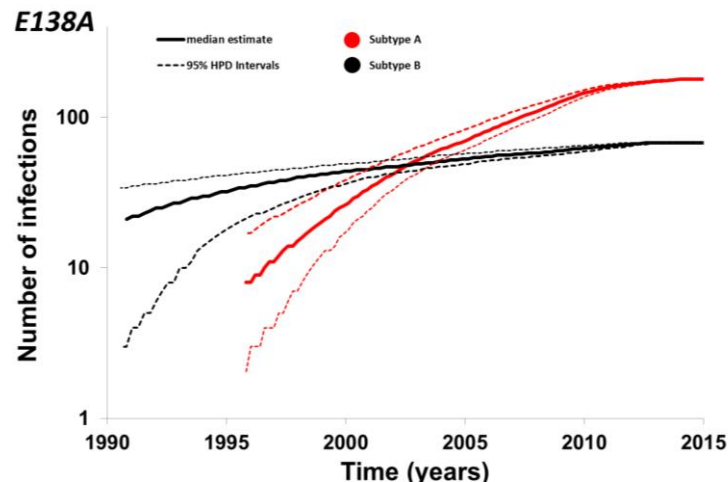
95% HPD: 95% Higher Posterior Density

### Αποτελέσματα (συνέχεια)

- Η ανάλυση μοριακού ρολογιού έδειξε ότι:
  1. Ο εκτιμώμενος χρόνος προέλευσης (tMRCA) για την E138A ήταν το 1992 [95%HPD: 1987,6-1995,6] για τον A και το 1982,6 [95%HPD: 1973,7-1990,6] για τον B (Πίνακας 2).
  2. Για την K103N ο tMRCA για τον A ήταν το 1999 [95%HPD: 1994,7-2002,5] και το 1991,8 [95%HPD: 1979,1-2000,8] για τον B (Πίνακας 2).
- Μέσω της φυλοδυναμικής ανάλυσης και των BDM διαγραμμάτων που αναπαριστούν τον αριθμό των μεταδόσεων διαχρονικά εκτιμήθηκε ότι:

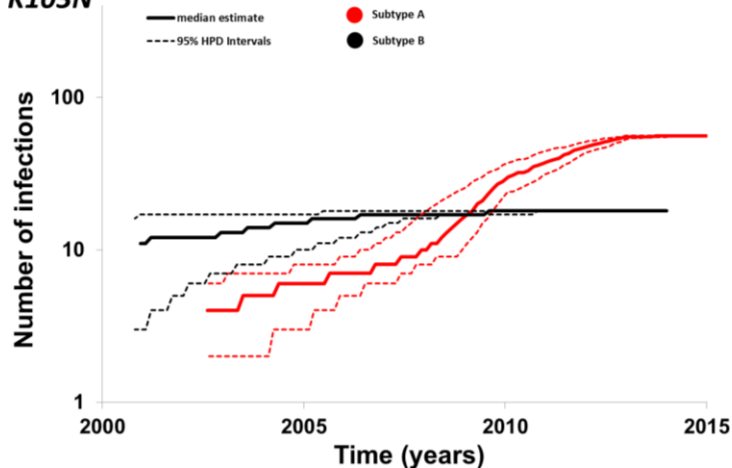
### Αποτελέσματα (συνέχεια)

1. Η δυναμική της μετάδοσης ανθεκτικών στελεχών με E138A και K103N μεταξύ των υπότυπων A και B διέφερε σημαντικά (Σχήμα 1, 2).
2. Για την E138A ο ρυθμός αύξησης των μεταδόσεων κατά την εκθετική φάση της επιδημίας για τον A (διάμεση εκτίμηση: 10,1; 95%CI: 9,3-10,9) ήταν δεκαπλάσιος του αντίστοιχου ρυθμού για τον B (διάμεση εκτίμηση: 1,04; 95%CI: 0,96-1,11) (Σχήμα 1).



**Σχήμα 1** Διάγραμμα το οποίο εκτιμήθηκε στο πρόγραμμα BEASTv1.8 χρησιμοποιώντας μοντέλα γέννησης-θανάτου (BDM) και αναπαριστά τον αριθμό των μεταδόσεων διαχρονικά για την E138A NNRTI-μεταλλαγή αντοχής για διαφορετικούς HIV-1 υπότυπους (A και B).

## K103N



Σχήμα 2 Διάγραμμα το οποίο εκτιμήθηκε στο πρόγραμμα BEASTv1.8 χρησιμοποιώντας μοντέλα γέννησης-θανάτου (BDM) και αναπαριστά τον αριθμό των μεταδόσεων διαχρονικά για την K103N NNRTI-μεταλλαγή αντοχής για διαφορετικούς HIV-1 υπότυπους (A και B).

## Αποτελέσματα (συνέχεια)

3. Για την K103N ο ρυθμός αύξησης των μεταδόσεων για τον A (διάμεση εκτίμηση: 6,2; 95%CI: 5,8-6,5) ήταν 2,5 φορές μεγαλύτερος του B (διάμεση εκτίμηση: 2,50; 95%CI: 2,45-2,55) (Σχήμα 2).

## Συμπεράσματα

- ✓ Βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στη δυναμική της μετάδοσης ανθεκτικών στελεχών μεταξύ διαφορετικών υπότυπων.
- ✓ Ο ρυθμός μετάδοσης των ανθεκτικών στελεχών με E138A και K103N είναι υψηλότερος στον υπότυπο A.
- ✓ Δεδομένου ότι η κατανομή της ομάδας κινδύνου δε βρέθηκε να διαφέρει σημαντικά μεταξύ των υπότυπων A και B, οι παρατηρούμενες διαφορές στη δυναμική της μετάδοσης θα μπορούσαν να οφείλονται σε υψηλότερη μεταδοτικότητα του A ή υψηλότερη συμπεριφορά κινδύνου των HIV(+) που έχουν μολυνθεί από το συγκεκριμένο στέλεχος.



### Στοιχεία Επικοινωνίας

dparask@med.uoa.gr, ekostakh@med.uoa.gr

### Βιβλιογραφία

Paraskevis D, Zavitsanou A, Magiorkinis E et al. Patterns of drug resistance among newly diagnosed HIV-1 infected patients in Greece during the last decade: the crucial role of transmission networks. J Int AIDS Soc. 2014;17(4 Suppl 3):19742

### Ευχαριστίες

Ελληνική Επιστημονική Εταιρεία Έρευνας AIDS και Σεξουαλικά Μεταδιδόμενων Νοσημάτων