

Analiza wpływu polimorfizmu genetycznego wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) na przebieg terapii przeciwwirusowej

Promotor: Prof. dr hab. Krzysztof Piotr Bielawski

Promotor pomocniczy: dr n. med. Piotr Stalke

Zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu B (HBV) jest ogóln światowym problemem dotyczącym około 30% całej populacji, spośród której ponad 350 milionów cierpi na przewlekłe zapalenie wątroby. U blisko 1/3 tych osób proces ten prowadzi do rozwoju marskości wątroby, a następnie raka wątrobowokomórkowego (HCC). Wieloletnia terapia przeciwwirusowa, niezbędna ze względu na obecność formy cccDNA wirusa HBV w zakażonych hepatocytach, sprzyja selekcji szczepów opornych na lek i utracie efektu terapeutycznego. Ponadto warianty warunkujące niewrażliwość na leczenie mogą występować także u pacjentów uprzednio nigdy nieleczonych. Obecnie stosowane metody oznaczania wariantów lekoopornych wirusa HBV umożliwiają wykrywanie mutacji dopiero, gdy stanowią one co najmniej 5% ($\geq 20\%$ w przypadku sekwencjonowania DNA metodą Sangera) całkowitej populacji wirusa. Ponadto zastosowanie tych metod możliwe jest dla próbek krwi o stosunkowo wysokich wiremiach (powyżej 10^4 kopii/ml).

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie metody detekcji materiału genetycznego wirusa HBV z próbek klinicznych o niskich wiremiach oraz optymalizacja czułej techniki oznaczania mieszaniny wariantów wirusa. Następnie zastosowanie zaproponowanych metod do oceny wpływu polimorfizmu wirusa HBV na przebieg leczenia przeciwwirusowego oraz próba ustalenia zależności pomiędzy niepowodzeniem terapii a liczbą i różnorodnością obecnych przed leczeniem wariantów HBV.

Badania prowadzone były w grupie pacjentów przewlekłe zakażonych, którzy zostali zakwalifikowani do leczenia analogami nukleotydów/nukleozydów. Opracowano metodykę badania próbek krwi pochodzących od osób z niską wiremią HBV oraz zaproponowano dwie czułe metody oznaczania mieszaniny wariantów lekoopornych HBV oparte o technikę MSSCP oraz spektrometrię mas typu MALDI-TOF. Zastosowanie wyżej wymienionych metod w niniejszym projekcie doktorskim pozwoliło na dokładne monitorowanie zmian w dominacji określonych wariantów genetycznych wirusa w trakcie leczenia. Dzięki temu udowodniono, że wzrost zawartości procentowej wariantów lekoopornych HBV w trakcie leczenia analogami jest pierwszym objawem oporności wirusa i może stanowić użyteczne narzędzie diagnostyczne. Wykazano również, że czułość rutynowo stosowanych metod oznaczania lekooporności wirusa HBV jest niewystarczająca.