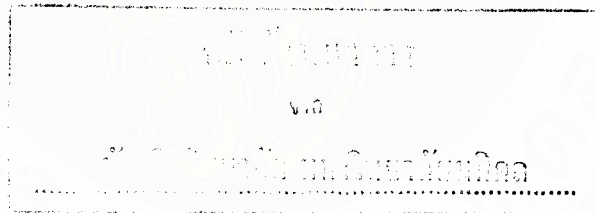




**MOLECULAR ANALYSIS OF HIV-1 DRUG RESISTANT
MUTATION AND DEFECTIVE CCR 5 ALLELE IN HIV-1
INFECTED NAÏVE PREGNANT WOMEN AND THEIR INFANTS
IN THAILAND**

SOMSRI AUSWINPORN



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE (CLINICAL PATHOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2001

ISBN 974-665-289-3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH

2697m

3001

C.2

Copyright by Mahidol University

4137127 RACP/M : MAJOR : CLINICAL PATHOLOGY ; M.Sc.
(CLINICAL PATHOLOGY)
KEY WORDS : HIV-1/ PERINATAL TRANSMISSION/ MUTATION/
GENOTYPING/DRUG RESISTANCE/ CCR5/THAILAND

SOMSRI AUSWINPORN: MOLECULAR ANALYSIS OF HIV-1 DRUG RESISTANT MUTATION AND DEFECTIVE CCR5 ALLELE IN HIV-1 INFECTED NAÏVE PREGNANT WOMEN AND THEIR INFANTS IN THAILAND. THESIS ADVISORS: WASUN CHANTRATITA PH.D., PANYU PANBURANA., M.D., SAYOMPORN SIRINAVIN, M.D., ASDA VIBHAGOOL M.D. 116 P. ISBN 974-665-289-3

The purpose of this study was to determine the molecular analysis of HIV-1 drug-resistance mutation, identify the correlation between pairs of infected mothers and their children, and assess the defective CCR 5 allele in naïve HIV-1 infected pregnant women and their infants in Thailand.

HIV-1 drug resistance genotyping was performed on twenty-two infected naïve pregnant women and 4 infected infants born to infected mothers. Blood samples were collected at week 34 of gestation. HIV-1 RNA was reverse transcribed and amplified by RT-PCR. Direct sequencing of the HIV-1 reverse transcriptase and protease was then performed. Changes in nucleotide and amino acid sequences were determined by comparing with the pNL4-3 and CM-240 reference sequence. Data on mutations associated with resistance to antiretroviral drugs were obtained from literature. Apart from HIV-1 drug-resistance genotyping, defective CCR5 allele genotyping was performed by using all mother-child pairs including infected and uninfected subjects. Human CCR5 DNA was carried out by PCR and followed with direct sequencing. Changes in nucleotide and amino acid sequences were determined by comparing with the mutant human CCR5 sequence.

In HIV-1 drug-resistance genotyping, almost all mothers (n=21/95.45%) were infected with HIV-1 clade E, which was similar to 2(50%) of their HIV 1 infected infants. One (4.55%) mother and her 2(50%) infants at birth were all infected with clade B. Mutation in the RT gene associated with NRTIs and NNRTIs had not occurred before among infected mothers and their infants, which included both E and B clades. In the PR gene, M36I occurred in all mothers infected with clade E (100%), but L10I occurred in only one(4.55%). However, no codon mutation associated with protease inhibitor-resistance was found in infected infants born to mothers with clade E or a mother-child pair with clade B. The HIV-1 strain from the naïve group had very few pre-existing mutations to NRTIs, NNRTIs and PIs, which suggested that the transmission of resistant strains was uncommon in HIV-1 infected naïve Thai pregnant women. There was no significant difference in the correlation between the HIV-1 drug-resistance profile and a mother-child pair. In defective human CCR5 allele genotyping, no 32-bp deletion was found in both the homozygote and heterozygote of the CCR5 gene.

4137127 RACP/M : สาขาวิชา: พยาธิวิทยาคลินิก; วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

สมศรี อัครวินพร : การวิเคราะห์ลักษณะการดื้อยาของเชื้อ HIV-1 ในระดับโมเลกุลและลักษณะที่บกพร่องของยีน CCR5 ในกลุ่มตัวอย่างหญิงตั้งครรภ์ที่ติดเชื้อซึ่งไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสมาก่อนและบุตรที่คลอดในประเทศไทย (MOLECULAR ANALYSIS OF HIV-1 DRUG RESISTANT MUTATION AND DEFECTIVE CCR5 ALLELE IN HIV-1 INFECTED NAÏVE PREGNANT WOMEN AND THEIR INFANTS IN THAILAND.) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วสันต์ จันทราทิตย์, Ph.D., พญญู พันธุ์บุรณะ, M.D., สมพร ศิรินาวัน, M.D., อัญญา วิชากุล, M.D. 116 หน้า ISBN 974-665-289-3

จุดประสงค์ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้เพื่อที่จะศึกษาลักษณะการเกิดการดื้อยาของเชื้อ HIV-1 ในระดับโมเลกุลและตรวจหาความสัมพันธ์ของลักษณะการดื้อยาของเชื้อ HIV-1 ระหว่างแม่และลูกที่ติดเชื้อรวมถึงประเมินลักษณะความบกพร่องของยีน CCR5 ในกลุ่มตัวอย่างหญิงตั้งครรภ์ที่ติดเชื้อซึ่งไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสมาก่อนและบุตรที่เกิดในประเทศไทย

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษากลุ่มหญิงตั้งครรภ์ที่ติดเชื้อซึ่งไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสมาก่อนจำนวน 22 คนและบุตรที่คลอดแล้วติดเชื้อจำนวน 4 คนเพื่อหาลักษณะการดื้อยาของเชื้อ HIV-1 ในด้าน genotyping ตัวอย่างเลือดของหญิงตั้งครรภ์ถูกเก็บที่อายุครรภ์ที่สัปดาห์ที่ 34 HIV-1 RNA ผ่านกระบวนการ RT-PCR ต่อมาแยก RT และยีน PR ถูกนำไปทำ direct sequencing การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในลำดับยีนของเชื้อ HIV-1 ถูกเปรียบเทียบกับลำดับยีนอ้างอิงได้แก่ลำดับยีน pNL4-3 และ CM-240 ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาได้รับจากบทบทวนวรรณกรรม นอกจากการศึกษาลักษณะการดื้อยาของเชื้อ HIV-1 ทางด้าน genotyping ลักษณะความบกพร่องของยีน CCR5 ได้รับการศึกษาในกลุ่มหญิงตั้งครรภ์ที่ติดเชื้อซึ่งไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสมาก่อนและบุตรจำนวน 23 คู่ DNA ถูกนำไปผ่านกระบวนการ PCR และ direct sequencing การเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสถูกเปรียบเทียบกับลำดับเบสของยีนที่กลายพันธุ์ซึ่งมีการขาดหายไปจำนวน 32 เบสแพร่ภายในยีน CCR5 ลักษณะการดื้อยาของเชื้อ HIV-1 เกือบทั้งหมด (n= 21, 95.45%) มีการติดเชื้อด้วยสับไทป์ซึ่งเด็ก 4 คนที่เกิดมาแล้วติดเชื้อมีการติดเชื้อสับไทป์เหมือนแม่โดยมีเด็ก 2 (50%) คนติดสับไทป์โอและเด็ก 2 (50%) คนติดสับไทป์บี ลักษณะการกลายพันธุ์ในยีน RT ที่มีการเกี่ยวข้องกับการดื้อยาในกลุ่ม NRTIs และ NNRTIs ไม่ปรากฏในการศึกษาครั้งนี้ ในยีน PR แม่ที่ติดเชื้อด้วยสับไทป์โอพบการกลายพันธุ์ลักษณะ M36I ปรากฏในแม่ทุกคน (100%) และพบลักษณะ L10I เพียง 1 คน (4.54%) คู่แม่ลูกที่ติดเชื้อด้วยสับไทป์บีไม่พบการกลายพันธุ์ในยีน PR ซึ่งเกี่ยวข้องกับการดื้อยาในกลุ่ม PI จากการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของลักษณะการดื้อยาระหว่างแม่และลูกและไม่พบลักษณะความบกพร่องของยีน CCR5 ทั้งในลักษณะ homozygote และ heterozygote