دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

# مقایسه جهش های مرتبط با مقاومت دارویی و زیر واحدهای ویروس HIV-1 در بیماران HIV مثبت درمان نشده با افراد تحت درمان با داروهای ضد رترو ویروسی

**حامد نذیری**
کارشناس ارشد ویروس شناسی پزشکی،
گروه‌میکروب شناسی دانشگاه
علوم‌پزشکی گلستان ،گرگان، ایران

**علیجان تبرایی**
استادیار ویروس شناسی پزشکی،
مرکز تحقیقات‌عفونی، گروه میکروب شناسی
دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**امیر قائمی**
استادیار ویروس شناسی پزشکی،
گروه‌میکروب‌شناسی دانشگاه
علوم‌پزشکی گلستان، گرگان،ایران

**محمد علی داور پناه**
متخصص عفونی، مرکز تحقیقات ایدز و HIV ،
دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران

**ناعمه جاوید**
کارشناس ارشد میکروبیولوژی،
گروه‌میکروب‌شناسی دانشگاه
علوم‌پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**عبدالوهاب مرادی**
استادیار ویروس شناسی پزشکی،
گروه‌میکروب‌شناسی دانشگاه
علوم‌پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**نویسنده مسئول : عبدالوهاب مرادی**

**پست الکترونیک:**abmoradi@yahoo.com

**تلفن:۰۹۱۱۱۷۷۲۱۰۷**

**آدرس:**گرگان ، کیلومتر ۵ جاده گرگان-ساری، مجموعه فلسفی ، دانشگاه علوم پزشکی گلستان ، دانشکده پزشکی ، گروه میکروب شناسی

## چکیده

***مقدمه :*** *ایجاد مقاومت به داروهای ضد رتروویروسی به یک نگرانی بزرگ در مدیریت کلینیکی افراد مبتلا به HIV-1 تبدیل شده است. در واقع مقاومت در نتیجه جهش در پروتئین های ویروسی که مورد هدف داروهای ضد رترو ویروسی هستند ایجاد می شود.*

***روش بررسی:*** *در این مطالعه مقطعی نمونه خون ۴۰ بیمار HIV مثبت جمع آوری شد که ۲۰ نفر این بیماران درمان نشده و ۲۰ نفر دیگر حداقل یک سال تحت درمان با داروهای ضد رترو ویروسی بودند . ژنوم ویروس از پلاسما بیماران با استفاده از کیت استخراج شد سپس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن های پروتئاز و آنزیم نسخه برداری معکوس (RT) ، تکثیر و تعیین توالی گردید. توالی ژن های مورد بررسی با استفاده از پایگاه Stanford University HIV Drug Resistance Database جهت تعیین زیر واحد و نوع جهش های مرتبط با مقاومت نسبت به داروهای ضد رترو ویروسی صورت گرفت.*

***یافته ها :*** *در بیماران درمان نشده، ۱۵درصد مقاومت نسبت به مهار کننده نوکلئوزیدی آنزیم RT و ۲۰درصد مقاومت نسبت به مهار کننده‌های غیر نوکلئوزیدی آنزیم RT مشاهده شد و نسبت به داروهای ضد پروتئاز در هیچ یک از بیماران مقاومت مشاهده نگردید. در گروه بیماران تحت درمان ، ۲۵ درصد مقاومت نسبت به مهار کننده های نوکلئوزیدی ، ۲۰ درصد مقاومت نسبت به مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی و ۵ درصد مقاومت نسبت به مهار کننده های پروتئاز مشاهده شد.*

***نتیجه گیری:*** *این مطالعه شیوع بالایی از جهش های مرتبط با مقاومت دارویی در بیماران ایرانی مبتلا به HIV که هرگز تحت درمان قرار نگرفته بودند را نشان داد. اما مقاومت دارویی در بیماران مصرف کننده دارو نسبت به مطالعات صورت گرفته کمتر می باشد.*

***واژه های کلیدی:*** *HIV ، مهار کننده نوکلئوزیدی RT ، مهار غیر نوکلئوزیدی RT، مهار کننده پروتئاز*

**آدرس مقاله:**
نذیری ح، تبرایی ع، قائمی ا، داور پناه م ع، جاوید ن، مرادی ع" مقایسه جهش های مرتبط با مقاومت دارویی و زیر واحدهای ویروس HIV-1 در بیماران HIV مثبت درمان نشده با افراد تحت درمان با داروهای ضد رترو ویروسی ."مجله علوم آزمایشگاهی،پاییز۱۳۹۲، دوره هفتم(شماره۳): ۱-۸

**دریافت:۹۱/۸/۲۶**
**ویرایش پایانی:۹۱/۹/۲۶**
**پذیرش:۹۱/۹/۲۸**

Archive of SID
www.SID.ir

**مقدمه**

استفاده از درمان ترکیبی ضد رترو ویروسی در کاهش همانند سازی ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) موثر بوده و موجب افزایش طول عمر بیماران می شود.(۱) داروهایی که هم اکنون برای درمان عفونت HIV استفاده می شوند در چهار گروه جداگانه شامل مشابه های نوکلئوزیدی و نوکلئوتیدی به عنوان مهار کننده آنزیم نسخه برداری معکوس (RT) ، مهار کننده های پروتئاز و مهار کننده های ورود ویروس به درون سلول می باشند.(۲) درمان ترکیبی ضد رترو ویروسی شامل سه ترکیب دارویی ، معمولا شامل دو مشابه نوکلئوزیدی و یک مهار کننده غیر نوکلئوزیدی آنزیم RT می باشد . این ترکیب دارویی به اصطلاح HAART (Highly Active Anti- Therapy) Retroviral) نامیده می شود(۳). ایجاد مقاومت به داروهای ضد رتروویروسی به یک نگرانی بزرگ در مدیریت کلینیکی افراد مبتلا به HIV-1 تبدیل شده است.(۴) ممکن است در کارآیی رژیم درمانی HAART به وسیله مقاومت نسبت به داروهای ضد رتروویروسی اختلال به وجود آید. (۵) در واقع مقاومت در نتیجه جهش در پروتئین های ویروسی که مورد هدف داروهای ضد رترو ویروسی هستند ایجاد می شود.(۲) این ویژگی موجب مهار ناکافی همانند سازی ویروس و در نهایت موجب افزایش تیتر ویروسی در پلاسما می شود. مطالعات مختلف درصد های متفاوتی را از مقاومت دارویی گزارش کردند. برای نمونه در ایالات متحده در نیمی از بیماران مبتلا به HIV، مقاومت به حداقل یک داروی ضد رترو ویروسی دیده می شود(۶). مقاومت دارویی ممکن است باعث کاهش خواص فارماکولوژیکی داروهای ضد رترو ویروسی شده که این می تواند موجب شکست درمان شود. مطالعات کمی درباره مقاومت دارویی در بیماران مبتلا به HIV در ایران وجود دارد. در اکثر کشور های پیشرفته یا صنعتی آزمایش تعیین مقاومت دارویی (Genotyping resistance test) به طورگسترده ای به منظور نظارت بر عملکرد داروهای ضد رترو ویروسی‌در بیماران‌مبتلابه HIVاستفاده می‌شود.(۷و۸) تنوع ژنوتایپی HIV-1 در نتیجه میزان جهش بالا در عملکرد آنزیم RT به همراه میزان تجدید (Turn Over) بالای ویروسی ایجاد می شود. این پدیده می تواند در نتیجه فشار داروهای ضد رتروویروسی (Drug pressure) یا سیستم ایمنی باشد. (۹) مطالعات مختلفی درباره نقش نوع زیر واحد در پیشرفت به سمت بیماری ایدز وجود دارد.(۱۰) این در حالی است که بعضی مطالعات هیچ نقشی از زیر واحد در پیشرفت به سوی بیماری ایدز گزارش نکرده اند.(۱۱) نوع زیر واحد ویروس HIV-1 ممکن است در توسعه مقاومت دارویی و همچنین میزان حساسیت به داروهای ضد ویروسی در دسترس مهم باشد. مطالعات مختلفی درباره اثر نوع زیر واحد در نتیجه درمان وجود دارد که بعضی از آنها تفاوتهایی را میان زیر واحد B در مقایسه با زیر واحد غیرB در ایجاد مقاومت دارویی گزارش کرده اند. (۱۲) در حالی که بعضی مطالعات هیچ تفاوتی را بین نوع زیر واحد و نتیجه درمان یا ایجاد مقاومت گزارش نکرده اند. (۱۳) اطلاعات کمی درباره زیر واحد ویروس HIV-1 در گردش در ناحیه خاور میانه و به خصوص در ایران وجود دارد. (۱۴) زیر واحد C تا سال ۲۰۰۸ به عنوان زیر واحد غالب در سراسر جهان گزارش شده است .(۱۵) زیر واحد غیر B به عنوان زیر واحد های غیر غالب در آسیا و افریقا می باشد. زیر واحد B ویروس HIV به عنوان اصلی ترین زیر واحد در کشور های غربی ، زیر واحد A در مرکز و غرب آفریقا ، زیر واحد C در جنوب و شرق آفریقا ، هند و چین گزارش شده است. در نهایت زیر واحد CRF1AE به عنوان اصلی ترین زیر واحد در جنوب شرق آسیا و تایلند شناخته شده است. (۱۶–۱۸) هدف از این مطالعه تعیین جهش های مرتبط با مقاومت های دارویی و نوع زیر واحد در بیماران مبتلا به HIV درمان نشده در مقایسه با بیماران HIV مثبت تحت درمان با داروهای ضد رتروویروسی بود.

**روش بررسی**

در این مطالعه مقطعی ۴۰ بیمار HIV مثبت مراجعه کننده بـه مـرکـز تغییرات رفتاری شیراز طبق مصوبه کمـیته اخلاق

Archive of SID

www.SID.ir

اسفند ماه ۱۳۹۰ دانشگاه علوم پزشکی وارد مطالعه گردید. نیمی از آنها تحت درمان با هیچ داروی ضد رتروویروسی نبودند و نیمی دیگر حداقل یک سال تحت درمان با داروهای ضد رتروویروسی قرار گرفته بودند. رژیم دارویی برای اکثر بیماران تحت درمان شامل زیدوودین ، افاویرنز و لامی وودین بود. CD4 بیماران با روش فلوسیتومتری تعیین شده بود. پس از اخذ رضایت نامه و تکمیل فرم اطلاعاتی شامل مشخصات فردی واپیدمیولوژیک از بیماران ، خون این بیماران در لوله های حاوی EDTA گرفته شد و بعد از جداسازی پلاسما در ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد . جداسازی اسید نوکلئیک RNA از پلاسما توسط کیت ROCHE total RNA and DNA extraction بر طبق روش کار پیشنهادی کیت جداسازی گردید. سنتز cDNA در دمای ۵۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه توسط کیت یک مرحله ای (one step kit Invitrogene) که در آن از آنزیم نسخه برداری معکوس M-MLV استفاده شده است، انجام گرفت. بر روی دو ناحیه از ژن Pol ویروس HIV-1 ، Nested PCRبر اساس مراحل دمایی در جدول ۲ انجام شد(۱۹).

مواد و پرایمر های مورد نیاز برای تکثیر ژن پروتئاز و RT عبارتند از: ۵ میکرولیتر از cDNA ، ۴/۵ میکرولیتر بافر 10x ، یک میکرولیتر از dNTP ۱۰ میلی مولار ، ۰/۳ میکرولیتر از آنزیم پلی مراز ۵ pfu یونیت ، ۶ میکرولیتر از MgCl2 ۱۰۰ میلی مولار ،۰/۱ میکرولیتر از هر کدام از می باشد. در مرحله دوم Nested PCR مراحل دمایی مشابه مرحله اول بوده فقط با این تفاوت که به تعداد ۲۵ سیکل تکرار شد. ناحیه تکثیر شده برای ژن پروتئاز شامل ۲۷۰ نوکلئوتید(کدون ۹ الی ۹۹) جفت باز و برای ژن RT ۶۶۵ نوکلئوتید (کدون ۱۷ الی ۲۳۷) جفت باز بود. محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید مشاهده شد. محصولات PCR توسط کیت Gel purification از شرکت Bioneer خالص سازی شد و برای تعیین سکانس به روش bi-directional به شرکت Macrogen (کره جنوبی) فرستاده شد. سکانس های به دست آمده توسط نرم افزار Bioedit نسخه 7.0.5.3 ویرایش شدند سپس با استفاده از هر دو رشته، جهش ها و زیر واحد ها توسط Stanford University HIV Drug Resistance Database تعیین شدند. در پایان فراوانی جهش ها در ژن های مذکور با درنظر گرفتن شاخص های مرکزی و پراکندگی توسط نمودارها و جداول مناسب نشان داده شد. ارتباط جهش ها با متغیرهای مورد بررسی کیفی با آزمون های آماری مناسب مانند کای دو، آزمایش دقیق فیشر و آزمون های مناسب غیر پارا متریک مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## یافته ها

میانگین سنی بیماران ۶ ± ۳۷ سال بود ۶۰ درصد بیماران

**جدول ۱- مشخصات پرایمرها به منظور تکثیر ژن RT و پروتئاز**

| Gene | | | Primer | Amplicon Size |
|---|---|---|---|---|
| RT | Outer | Forward | 5-GTT GAC TCA GAT TGG TTG CAC-3 | |
| | | Revers | 5-GTA TGT CAT TGA CAG TCC AGC -3 | |
| | Inner | Forward | 5-GGA TGG CCC AAA AGT TAA AC -3 | 665bp |
| | | Revers | 5-TAT CAG GAT GGA GTT CAT AAC -3 | |
| Protease | Outer | Forward | 5-CAG AGC CAA CAG CCC CAC CAG -3 | |
| | | Revers | 5-ATC AGG ATG GAG TTC ATA ACC CAT CCA -3 | |
| | Inner | Forward | 5-CCT CAR ATC ACT CTT TGG CAA CG -3 | 270bp |
| | | Revers | 5-CTG GTA CAG TYT CAA TAG GRC TAA T -3 | |

Archive of SID

www.SID.ir

مذکر بود. میانگین سلول های CD4 در گروه بیماران درمان نشده $cells/mm^3$ ۱۶۳ ± ۳۹۱ و در گروه بیماران تحت درمان $cells/mm^3$ ۱۶۲ ± ۲۴۵ بود. شایع ترین راه انتقال به ترتیب طریق اعتیاد تزریقی (۵۰٪) ، ابتلا از همسر آلوده (۲۰٪) ، شرکای جنسی متعدد (۱۷/۵٪) ، خون و محصولات خونی آلوده (۱۷/۵٪) ، خالکوبی (۲/۵٪) و یک مورد ناشناخته بود. ۷۷/۵ درصد بیماران دارای زیر واحد A ، ۱۲/۵درصد زیر واحد A/D ، ۷/۵درصد زیر واحد CRF01-AE و ۲/۵ درصد زیر واحد B بودند .در گروه بیماران درمان نشده به میزان ۱۵ درصد مقاومت به مهار کننده های نوکلئوزیدی آنزیم RT (NRTI) و ۲۰ درصد نسبت به مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی آنزیم RT (NNRTI) مشاهده شد. مهم ترین جهش های مرتبط با مقاومت دارویی نسبت به مهار کننده های نوکلئوزیدی A62V(۵٪) ، (۵٪) Y115F و T215I(۵٪) بود. در حالی که مهم ترین جهش ها در گروه مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی V179T(۱۰٪) ، Y181I (۵٪)، G190S (۵٪) و P225H (۵٪) بود. در گروه مهار کننده های پروتئاز، تنها یک جهش مینور L90V مشاهده شد. تفسیر الگوریتم ژنوتیپی به میزان ۵ درصد، مقاومت نسبت به داروهای زیدوودین ، استاووودین و دیدانوزین را در گروه مهار کننده های نوکلئوزیدی و به میزان ۱۵ درصد مقاومت نسبت به داروهای افاویرنز و نویراپین و ۱۰ درصد نسبت به داروی اتراویرین و ریلپیویرین در گروه مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی را نشان داد. در گروه بیماران تحت درمان شایع ترین جهش مرتبط با مقاومت نسبت به مهار کننده های نوکلئوزیدی K103N (۱۵٪) بود و همچنین دو جهش P225H و B179T هر کدام به اندازه ۵ درصد گزارش شد. مهم ترین جهش های مرتبط با مقاومت نسبت به مهار کننده های نوکلئوزیدی عبارت بودند از: T69I ، K219I ، K65A ، V75M و M184I (۵٪ برای هر کدام). تنها جهش ماژور در ارتباط با مهار کننده های پروتئاز V82C بود که موجب مقاومت سطح پایین نسبت به بسیاری از داروهای مهار کننده پروتئاز می شد . مهم ترین جهش های مینور در گروه مهار کننده های پروتئاز (۱۰%) L10V ، (۵%) L10I و (۵%) V11L بود. بیشترین میزان مقاومت سطح بالا نسبت به داروی افاویرنز ، ۲۰ درصد و نسبت به داروی نویراپین ۱۵ درصد مشاهده شد. اکثر بیماران دارای جهش مرتبط با مقاومت دارویی تنها نسبت به یک گروه از داروها مقاوم بودند و تنها در یک بیمار از این گروه مقاومت در هر دو گروه مهار کننده های نوکلئوزیدی و غیر نوکلئوزیدی مشاهده شد . بیشترین سطح مقاومت نسبت به مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی (۲۵٪) بود که نسبت به مقاومت به مهار کننده های نوکلئوزیدی (۲۰٪) و مهار کننده های پروتئاز (۵٪) سطح بالاتری از خود نشان داد. در بیمارانی که دارو مصرف می کردند مقاومت به گروه داروهای NRTI در بین بیماران مرد در دو نفر مشاهده گردید (یک نفر بالای ۳۵ سال و یک نفر با سن زیر ۳۵ سال) و در بین زنان نیز در دو نفر مقاومت به این گروه از داروها مشاهده گردید( هر دو نفر سن زیر ۳۵ سال داشتند). در همین گروه مقاومت نسبت به دارو های گروه NNRTI در دو زن با سن زیر ۳۵ سال و در دو نفر مرد بالای ۳۵ سال گزارش شد و تنها در یک مرد با سن کمتر از ۳۵ سال نسبت به داروهای گروه PI مقاومت مشاهده گردید. در بیمارانی که دارو مصرف نمی کردند نسبت به داروهای گروه NRTI در دو نفر مرد با سن زیر ۳۵ سال مقاومت مشاهده شد و مقاومت نسبت به داروهای گروه NNRTI در بین مردان ۳ نفر زیر ۳۵ سال و یک نفر سن بالای ۳۵ سال سن داشتند و در بین زنان نیز یک نفر با سن کمتر از ۳۵ سال نسبت به این گروه داروها دارای مقاومت بود. در بین افرادی که دارو مصرف می کردند از ۵ نفر مرد فقط دو نفر با سن زیر ۳۵ سال به داروهای مصرفی مقاوم بودند و در بین زنان ۴ نفر که تمام آنها زیر ۳۵ سال سن داشتند نسبت به داروهای مصرفی مقاوم بودند در بین افرادی که دارو مصرف نمی کردند از ۶ نفر مرد ۵ نفر آنها که زیر ۳۵ سال سن داشتند نسبت به داروها مقاوم بودند و در بین زنان نیز فقط یک نفر مقاوم به دارو که زیر ۳۵ سال سن داشت مشاهده شد. بیشترین میزان مقاومت در گروه بیماران تحت درمان به ترتیب در بیماران

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲-مراحل دمایی انجام PCR بر روی ژن RT و پروتناز در دستگاه ترموسایکلر

| ژن | دما | زمان | تعداد سیکل | شرایط |
|---|---|---|---|---|
| RT | ۹۴درجه | ۳ دقیقه | ۱ | Initial Denaturation |
| | ۹۴ درجه | ۳۰ثانیه | ۳۰ | Denaturation |
| | ۵۵ درجه | ۳۰ ثانیه | | Annealing |
| | ۷۲ درجه | ۴۵ ثانیه | | Extention |
| | ۷۲ درجه | ۴ دقیقه | ۱ | Final Extentin |
| پروتناز | ۹۴درجه | ۵۰ ثانیه | ۱ | Initial Denaturation |
| | ۹۴ درجه | ۵۰ثانیه | ۳۰ | Denaturation |
| | ۵۸ درجه | ۴۰ ثانیه | | Annealing |
| | ۷۲ درجه | ۵۰ ثانیه | | Extention |
| | ۷۲ درجه | ۵ دقیقه | ۱ | Final Extentin |

مونث زیر ۳۵ سال و بیماران مذکربالای ۳۵ سال و بیشترین میزان مقاومت در گروه بیماران درمان نشده در بیماران مذکر زیر ۳۵ سال مشاهده شد.

## بحث

در این مطالعه زیر واحد غالب ، A بود که مشابه مطالعات قبلی انجام شده در ایران بوده (۲۱) و با یافته های برخی از مطالعات که زیر واحد غالب را زیر واحد A/D گزارش کرده بودند متفاوت است (۲۲). این اختلاف می تواند ناشی از متفاوت بودن منطقه جغرافیایی مورد مطالعه باشد. برای اولین بار در ایران ، مطالعه بر روی بیماران مبتلا به HIV درمان نشده از نظر جهش های دارویی صورت گرفت که در مجموع ۲۰ درصد مقاومت نسبت به مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی و ۱۵ درصد نسبت به مهار کننده های نوکلئوزیدی مشاهده شد. با توجه به تحقیقات زیادی که در مطالعات صورت گرفته در نقاط مختلف دنیا، نسبت به مقرون به صرفه بودن انجام آزمایش مقاومت دارویی قبل از شروع درمان در بیماران درمان نشده انجام شده است، میزان مقاومت در بیماران این پژوهش تایید کننده انجام آزمایش قبل از شروع درمان می باشدکه برخی مطالعات وجود مقاومت داروئی ۸ الی ۱۰ درصد به بالا را برای انجام آزمایش مقرون به صرفه می دانند. (۲۳) سه جهش در ارتباط با مقاومت به NRTI ، ۴ جهش در ارتباط با مقاومت به NNRTI و تنها یک جهش مینور در ارتباط با مقاومت به PI شناسایی شد. جهش V179T در دو بیمار گزارش شد که موجب کاهش میزان حساسیت به اتراویرین در ترکیب با جهش های دیگر می شود. جهش در ناحیه P225H ، Y181I و G190S مشابه مجموعه جهشی شناسایی شده در مطالعات اسمیت و همکارانش بود. (۲۴). جهش های مذکور در بیماران درمان نشده مورد مطالعه بیشتر از میزان آن در کشورهای اروپایی می‌باشد.همچنین میزان مقاومت داروئی در بیماران درمان نشده تقریبا مشابه مطالعات انجام شده در کشورهای امریکا و انگلستان می باشد. (۲۶-۲۴) علاوه بر این شیوع مقاومت دارویی در بیماران درمان نشده در این پژوهش تا حدودی بالاتر از میزان آن در گروه مشابه در آفریقای جنوبی است (۲۷)از ۲۰ بیمار درمان نشده تنها یک بیمار زیر واحد B داشت که هیچ گونه مقاومت یا جهشی در آن مشاهده نشد. به طور معمول ، شیوع مقاومت طبیعی نسبت به مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی در زیر واحد غیر B ویروس HIV-1 بیشتر از زیر واحد B است (۲۸) که تا حدودی مشابه یافته های ما در

Archive of SID

www.SID.ir

این پژوهش بود. بیماران تحت درمان به میزان ۲۰درصد نسبت به مهار کننده های نوکلئوزیدی و ۲۵ درصد نسبت به مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی مقاومت نشان دادند. جهش های مرتبط با مقاومت نسبت به مهار کننده های پروتئاز تنها در یک بیمار(۵٪) مشاهده گردید که میزان آن نسبت به مطالعات قبلی انجام شده در ایران بسیار کمتر می باشد.(۲۲) تمامی بیماران تحت درمان حداقل به مدت یک سال داروهای ضد رترو ویروسی مصرف می کردند. در ۵۰٪ از این بیماران تعداد سلول های CD4 کمتر از ۲۰۰cells/mm$^3$ بود. قابل توجه است که تنها بیماری که دارای جهش های مرتبط با مهار کننده های پروتئاز بود دارای بیشترین مقدار سلول های CD4 در مقایسه با دیگر بیماران در این گروه بود (۵۱۵ cells/mm$^3$). احتمال دارد این پدیده به دلیل عدم استفاده از مهار کننده های پروتئاز در رژیم درمانی فرد مذکور باشد. جهش K103N شایع ترین جهش شناسایی شده در این بیماران بود که به تازگی به عنوان مهم ترین جهش مرتبط با مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی RT به دلیل افزایش ۲۰ تا ۵۰ برابری مقاومت نسبت به این داروها شناخته شده است (۲۹،۳۰). این یافته ها پیشنهاد می کند که استفاده از مهار کننده های پروتئاز می تواند در خط اول درمان مفید باشد. نسبت جهش های مقاومت مرتبط با مهار کننده های غیر نوکلئوزیدی در بیماران تحت درمان در مقایسه با بیماران درمان نشده میزان بیشتری از خود نشان می دهد که ممکن است به دلیل فشار و تاثیر دارو در ایجاد مقاومت دارویی باشد. (۳۱) بیشترین میزان مقاومت در افاویرنز (۲۰٪ مقاومت سطح بالا و ۵٪ مقاومت متوسط) و نویراپین (۱۵٪ مقاومت سطح بالا و ۵٪ مقاومت سطح پایین ) مشاهده گردبد، هر دوی این داروها از جمله داروهای پرمصرف در رژیم درمانی بیماران وارد شده در این پژوهش بودند. مقاومت به لامی وودین (دیگر داروی پرمصرف در رژیم درمانی بیماران) به میزان ۱۵ درصد گزارش شد. در این مطالعه ، میزان مقاومت به مهار کننده های نوکلئوزیدی و غیر نوکلئوزیدی RT میزان کمتری نسبت به مطالعات دیگر از خود نشان داد. (۳۲)

## نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از دو مهار کننده نوکلئوزیدی به همراه یک مهار کننده پروتئاز نسبت به استفاده از دو مهار کننده نوکلئوزیدی به همراه یک مهار غیر نوکلئوزیدی ارجح می باشد. همچنین نتایج این مطالعه پیشنهاد کننده استفاده از آزمایش تعیین مقاومت دارویی در بیماران ، قبل از شروع درمان با داروهای ضد رترو ویروسی می باشد.

## تشکر و قدر دانی

این پژوهش به صورت طرح تحقیقاتی با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان با شماره ۳۵/۲۴۶/پ گ مورخه ۱۳۹۱/۲/۳انجام گردید.

**References**

1. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. *Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators*. N Engl J Med. 1998; 338(13): 853-60.

2. Calmy A, Pascual F, Ford N. *HIV drug resistance*. N Engl J Med. 2004; 350(26): 2720-1.

3. Yeni PG, Hammer SM, Carpenter CC, Cooper DA, Fischl MA, Gatell JM, et al. *Antiretroviral treatment for adult HIV infection in 2002: updated recommendations of the International AIDS Society-USA Panel*. JAMA. 2002; 288(2): 222-35.

4. Cortez KJ, Maldarelli F. *Clinical management of HIV drug resistance*. Viruses. 2011; 3(4): 347-78.

5. DeGruttola V, Dix L, D'Aquila R, Holder D, Phillips A, Ait-Khaled M, et al. *The relation between baseline HIV drug resistance and response to antiretroviral therapy: re-analysis of retrospective and prospective studies using a standardized data analysis plan*. Antiviral therapy. 2000; 5(1): 41-8.

6. Richman DD, Morton SC, Wrin T, Hellmann N, Berry S, Shapiro MF, et al. *The prevalence of antiretroviral drug resistance in the United States*. Aids. 2004; 18(10): 1393-401.

7. Hirsch MS, Brun-Vezinet F, D'Aquila RT, Hammer SM, Johnson VA, Kuritzkes DR, et al. *Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: recommendations of an International AIDS Society-USA Panel*. JAMA. 2000; 283(18): 2417-26.

Archive of SID

www.SID.ir

8. Snoeck J, Van Dooren S, Van Laethem K, Derdelinckx I, Van Wijngaerden E, De Clercq E, et al. *Prevalence and origin of HIV-1 group M subtypes among patients attending a Belgian hospital in 1999*. Virus research. 2002; 85(1): 95-107.

9. Thomson MM, Perez-Alvarez L, Najera R. *Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy*. The Lancet infectious diseases. 2002; 2(8): 461-71.

10. Kaleebu P, French N, Mahe C, Yirrell D, Watera C, Lyagoba F, et al. *Effect of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 envelope subtypes A and D on disease progression in a large cohort of HIV-1-positive persons in Uganda*. J Infect Dis. 2002; 185(9): 1244-50.

11. Alaeus A, Lidman K, Bjorkman A, Giesecke J, Albert J. *Similar rate of disease progression among individuals infected with HIV-1 genetic subtypes A-D*. Aids. 1999; 13(8): 901-7.

12. Pieniazek D, Rayfield M, Hu DJ, Nkengasong J, Wiktor SZ, Downing R, et al. *Protease sequences from HIV-1 group M subtypes A-H reveal distinct amino acid mutation patterns associated with protease resistance in protease inhibitor-naive individuals worldwide. HIV Variant Working Group*. Aids. 2000; 14(11): 1489-95.

13. Frater AJ, Dunn DT, Beardall AJ, Ariyoshi K, Clarke JR, McClure MO, et al. *Comparative response of African HIV-1-infected individuals to highly active antiretroviral therapy*. Aids. 2002;16(8):1139-46.

14. Naderi HR, Tagliamonte M, Tornesello ML, Ciccozzi M, Rezza G, Farid R, et al. *Molecular and phylogenetic analysis of HIV-1 variants circulating among injecting drug users in Mashhad-Iran*. Infectious agents and cancer. 2006; 1: 4.

15. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S. *Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004*. Aids. 2006; 20(16): 13-23.

16. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, et al. *HIV-1 nomenclature proposal*. Science. 2000; 288(5463): 55-6.

17. Tatt ID, Barlow KL, Nicoll A, Clewley JP. *The public health significance of HIV-1 subtypes*. Aids. 2001;15(5): 59-71.

18. Peeters M, Toure-Kane C, Nkengasong JN. *Genetic diversity of HIV in Africa: impact on diagnosis, treatment, vaccine development and trials*. Aids. 2003; 17(18): 2547-60.

19. Stuyver L. *Method for Detection of Drug-Selected Mutations in The HIV Protease Gene.* WO Patent . 1999; 428.

20. Edelstein RE, Nickerson DA, Tobe VO, Manns-Arcuino LA, Frenkel LM. *Oligonucleotide Ligation Assay for Detecting Mutations in the Human Immunodeficiency Virus Type 1 polGene That Are Associated with Resistance to Zidovudine, Didanosine, and Lamivudine.* Journal of clinical microbiology. 1998; 36(2): 569-72.

21. Soheilli ZS, Ataiee Z, Tootian S, Zadsar M, Amini S, Abadi K, et al. *Presence of HIV-1 CRF35_AD in Iran. AIDS* research and human retroviruses. 2009; 25(1): 123-4.

22. Hamkar R, Mohraz M, Lorestani S, Aghakhani A, Truong HM, McFarland W, et al. *Assessing subtype and drug-resistance-associated mutations among antiretroviral-treated HIV-infected patients*. Aids. 2010; 24(2): 85-91.

23. Weinstein MC, Goldie SJ, Losina E, Cohen CJ, Baxter JD, Zhang H, et al. *Use of genotypic resistance testing to guide hiv therapy: clinical impact and cost-effectiveness*. Annals of internal medicine. 2001; 134(6): 440-50.

24. Smith D, Moini N, Pesano R, Cachay E, Aiem H, Lie Y, et al. *Clinical utility of HIV standard genotyping among antiretroviral-naive individuals with unknown duration of infection*. Clinical infectious diseases. 2007; 44(3): 456-8.

25. Wensing AM, van de Vijver DA, Angarano G, Asjo B, Balotta C, Boeri E, et al. *Prevalence of drug-resistant HIV-1 variants in untreated individuals in Europe: implications for clinical management*. The Journal of infectious diseases. 2005; 192(6): 958-66.

26. Cane P, Chrystie I, Dunn D, Evans B, Geretti AM, Green H, et al. *Time trends in primary resistance to drugs in the United Kingdom: multicentre observational study*. Bmj. 2005; 331(7529): 1368.

27. Pillay V, Ledwaba J, Hunt G, Rakgotho M, Singh B, Makubalo L, et al. *Antiretroviral drug resistance surveillance among drug-naive HIV-1-infected individuals in Gauteng Province, South Africa in 2002 and 2004.* Antiviral therapy. 2008; 13(2): 101-7.

28. Clevenbergh P, Cua E, Dam E, Durant J, Schmit JC, Boulme R, et al. *Prevalence of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) resistance-associated mutations and polymorphisms in NNRTI-naive HIV-infected patients*. HIV clinical trials. 2002; 3(1): 36-44.

29. Marconi VC, Sunpath H, Lu Z, Gordon M, Koranteng-Apeagyei K, Hampton J, et al. *Prevalence of HIV-1 drug resistance after failure of a first highly active antiretroviral therapy regimen in KwaZulu Natal, South Africa*. Clinical infectious diseases. 2008; 46(10): 1589-97.

30. Shafer RW, Kantor R, Gonzales MJ. *The Genetic Basis of HIV-1 Resistance to Reverse Transcriptase and Protease Inhibitors*. AIDS reviews. 2000; 2(4): 211-28.

31. Deeks SG, Wrin T, Liegler T, Hoh R, Hayden M, Barbour JD, et al. *Virologic and immunologic consequences of discontinuing combination antiretroviral-drug therapy in HIV-infected patients with detectable viremia*. The New England journal of medicine. 2001; 344(7): 472-80.

32. Burda ST, Viswanath R, Zhao J, Kinge T, Anyangwe C, Tinyami ET, et al. *HIV-1 reverse transcriptase drug-resistance mutations in chronically infected individuals receiving or naive to HAART in Cameroon*. Journal of medical virology. 2010; 82(2): 187-96.

Archive of SID

www.SID.ir