

## دارای رتبه علمی- پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

### جهش های مقاومت دارویی ژن HIV-1RT در بیماران تحت درمان با داروهای ضد رتروویروسی (HAART)

#### چکیده

**زمینه و هدف:** استفاده از داروهای ضد رتروویروسی HAART به طور موثری مانع از پیشرفت همانند سازی ویروس HIV-1 و افزایش طول عمر بیماران می شود. دلایل فراوانی برای عدم موفقیت درمان بیماران وجود دارد. یکی از مهمترین دلایل عدم موفقیت درمان بیماران، مقاومت دارویی است. هدف این مطالعه، تعیین جهش های مقاومت دارویی ژن RT این ویروس در بیماران تحت درمان با داروهای ضد رترو ویروسی بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه توصیفی- مقطعی از ۱۳۰ بیمار HIV مثبت تحت درمان با داروهای ضد رتروویروسی (HAART) خون وریدی گرفته شد. جهت تعیین جهش های مقاومت دارویی، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن RT مراحل RT-PCR و PCR انجام و تعیین توالی شدند. زیر واحد ها و جهش ها با استفاده از Stanford HIV drug resistance sequence database تعیین شدند.

**یافته ها:** در ۱۲۲ بیمار تحت درمان، اکثر جهش های اصلی مربوط به داروهای نوکلئوزیدی و غیر نوکلئوزیدی بودند. در ۶۶/۴ درصد از بیماران زیر واحد A، ۲۶/۲ درصد زیر واحد D و ۷/۴ درصد زیر واحد B یافت شد. بیماران به داروهای نوکلئوزیدی مهارکننده RT (NRTI) ۲۳/۷ درصد و غیر نوکلئوزیدی مهارکننده RT (NNRTI) به میزان ۳۰/۳ درصد مقاوم بودند. بیشترین مقاومت مربوط به نوبراپین و افایرنز بود که به ترتیب ۲۱/۳ و ۱۹/۷ درصد بودند. کمترین مقاومت مربوط به زیدویدین و تنوفویر بود و ۱۱/۲ (۹۱/۵٪) از بیماران به هر دو دارو حساس بودند.

**نتیجه گیری:** استفاده از دو داروی مهارکننده نوکلئوزیدی RT و یک داروی مهارکننده پروتئاز در درمان HAART می تواند موثر باشد.

**واژه های کلیدی:** HIV، مهارکننده نوکلئوزیدی RT، مهارکننده غیر نوکلئوزیدی

RT، مقاومت دارویی

#### رضا گل محمدی

کارشناس ارشد ویروس شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### علیجان تبرانی

دانشیار ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### عبدالله عباسی

دانشیار بیماری های عفونی، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### ناهید خادمی

پزشک عمومی، مدیر گروه بیماری های استان کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

#### بهزاد مهدویان

متخصص بیماری های عفونی، مسئول علمی برنامه HIV ایدز، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

#### ناعمه جاوید

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### حسن کالچی

کارشناس ارشد ویروس شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### آرش علیخانی

کارشناس علوم آزمایشگاهی، مرکز مشاوره بیماری های رفتاری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

#### مسعود بازوری

کارشناس میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

#### عبدالوهاب مرادی

استاد ویروس شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

نویسنده مسئول: عبدالوهاب مرادی

پست الکترونیک: abmoradi@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۱۷۳۲۱۰۷

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

دریافت: ۹۳/۱۲/۷

ویرایش پایانی: ۹۳/۱۲/۱۵

پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۸

#### آدرس مقاله

محمدی ر، تبرانی ع، عباسی ع، خادمی ن، مهدویان ب، جاوید ن، کالچی ح، علیخانی آ، بازوری م " جهش های مقاومت دارویی ژن HIV-1RT در بیماران تحت درمان با داروهای ضد رتروویروسی (HAART) " مجله علوم آزمایشگاهی، فروردین و اردیبهشت

۱۳۹۴، دوره نهم (شماره ۱): ۸-۱

## مقدمه

لامیوودین، نوبراپین و افایرنز بوده است (۸). در شش کشور آفریقایی شامل کنیا، نیجیریه، آفریقای جنوبی، اوگاندا، زامبیا و زیمبابوه میانگین کل مقاومت دارویی به داروهای ضد رتروویروسی ۵/۶ درصد است (۹). در انگلستان از بیماران تحت درمان با داروهای ضد رتروویروسی در کل ۴/۹ درصد افراد نسبت به مهارکننده های غیر نوکلئوزیدی مقاوم بودند که M184V اصلی ترین جهش در گروه مهارکننده های نوکلئوزیدی RT شناخته شده است (۱۰). در جنوب آفریقا عوامل موثر در ظهور و گسترش مقاومت دارویی به HIV را به عنوان اولین مشکل پس از درمان پروفیلاکسی مورد مطالعه قرار دادند که در طی ۱۰ سال میزان این مقاومت ۹/۲ درصد تعیین شده است (۱۱). از جمله داروهایی که برای درمان HIV در ایران استفاده می شود زیدوودین، بیوودین (لامیوودین)، تنوفویر، افایرنز، نوبراپین و کلترا (لوی ناویر/ ریتوناویر) هستند. در ایران از ۲۵ بیمار تحت درمان، ۲۵ درصد افراد مقاومت بالایی به لامیوودین و افایرنز داشتند و ۲۹/۱ درصد افراد نیز مقاومت بالایی به نوبراپین داشتند (۱۲). در مطالعه دیگری در ایران از ۷۳ بیمار بیشترین جهش در ناحیه RT شامل D67G و V75A بود و میانگین مقاومت در کل بیماران ۵/۱ درصد گزارش شد (۱۳). هدف از انجام این مطالعه تعیین جهش های مقاومت دارویی ژن RT این ویروس در بیماران تحت درمان با داروهای ضد رتروویروسی بود.

## روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - مقطعی تعداد ۱۳۰ بیمار HIV مثبت مراجعه کننده به مرکز مشاوره بیماری های رفتاری که تحت نظر متخصص بیماری های عفونی مرکز، ترکیبات دارویی ضد رتروویروسی HAART (Highly Active Anti Retroviral Therapy) مصرف می کنند، انتخاب شدند. این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گلستان به تصویب رسید. داروهایی که در بیماران مطالعه ی حاضر به عنوان رژیم درمانی مصرف می شوند شامل داروهای نوکلئوزیدی بیوودین، زیدوودین و تنوفویر و داروهای غیر نوکلئوزیدی افایرنز و نوبراپین و یک داروی مهارکننده پروتازاز به نام کلترا است. رژیم درمانی

از سال ۲۰۱۰ در آمریکا و اروپا شروع درمان بیماران HIV مثبت هنگامی است که تعداد سلول های TCD4 در خون محیطی به سطح ۳۵۰ عدد در هر میلی لیتر کاهش یابد. داروهایی که در FDA برای درمان عفونت HIV-1 مورد تایید قرار گرفته اند بر اساس مکانیسم ملکولی آنها، به ۶ گروه شامل مهارکننده های نوکلئوزیدی آنزیم RT، مهارکننده های غیر نوکلئوزیدی آنزیم RT، مهارکننده های پروتازاز، مهارکننده های اینتگراز، مهارکننده های ورود به سلول و آنتاگونیست های گیرنده همراه، تقسیم می شوند (۱). با توجه به نقش حیاتی آنزیم RT در چرخه همانند سازی HIV، این آنزیم به عنوان یک هدف مناسب در درمان ضد رتروویروسی است (۲). دلایل زیادی برای عدم موفقیت درمان وجود دارد، یکی از مهمترین آنها مقاومت دارویی است (۳). مقاومت در نتیجه ظهور جهش در پروتیین های ویروسی که مورد هدف داروهای ضد رتروویروسی قرار گرفته اند ایجاد می شود. میزان مقاومت در مکان های مختلف با هم متفاوت هستند. برای نمونه در ایالات متحده ۵۰ درصد از بیمارانی که دارو دریافت می کنند حداقل به یکی از داروهای ضد رتروویروسی مقاومت نشان می دهند (۴). از طرفی انتقال سویه های مقاوم به دارو نیز نگرانی بزرگی را ایجاد کرده است (۵). در بیمارانی که رژیم HAART را به عنوان اولین خط درمان ضد رتروویروسی دریافت می کنند ظهور مقاومت در صورتی بروز می کند که میزان دارو برای بلوک کردن همانند سازی ویروس ناکافی باشد و از طرفی همین میزان دارو برای ایجاد یک فشار انتخابی مثبت دارویی کافی است که موجب کاهش حساسیت بیماران نسبت به داروها شود (۶). استفاده ترکیبی از داروهای ضد رتروویروسی برای درمان عفونت HIV در حال حاضر رایج شده است که این درمان ترکیبی را به اصطلاح HAART می نامند. این رژیم ترکیبی معمولاً از دو آنالوگ نوکلئوزیدی و یک مهارکننده پروتازاز یا یک مهارکننده غیر نوکلئوزیدی RT تشکیل شده است. در واقع استفاده از کلاس های متفاوت در درمان عفونت HIV به عنوان ابزاری در کنترل مقاومت دارویی استفاده می شود (۷). در کامرون بعد از یک دوره ده ماه درمان بیماران با HAART بیشترین مقاومت مربوط به

۱۰X، ۲۰۰ میکرومول از dNTP ۱۰ میلی مولار، ۳ میلی مول از Taq DNA ۵۰ Mgcl2 میلی مولار، ۱/۵ واحد از آنزیم Polymerase (5unit/μl) (Genet Bio)، از پرایمرهای اختصاصی بیرونی Forward و Reverse هر کدام ۱۰ پیکومول (جدول ۱). سپس در دستگاه ترموسایکلر (PeqLab ساخت UK) مرحله اول Nested PCR انجام شد (جدول ۲). ناحیه تکثیر شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی بیرونی برای ژن RT شامل ۸۰۳ جفت باز بود. مرحله دوم Nested PCR همانند مرحله اول بود با این تفاوت که از پرایمرهای اختصاصی داخلی استفاده شد و همچنین ۲ میکرولیتر نمونه تکثیر شده در مرحله اول Nested PCR به عنوان الگو در نظر گرفته شد. مراحل دمایی نیز مشابه مرحله اول بود. ناحیه تکثیر شده برای ژن RT در مرحله دوم شامل ۶۶۵ جفت باز بود. محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد مشخص شد.

برای اکثر بیماران شامل لامیوودین، زیدوودین و افویرنز است. تعداد CD4 بیماران در آزمایشگاه مرکز با روش فلوسیتومتری تعیین شد. پس از اخذ رضایت نامه، فرم اطلاعاتی که در برگیرنده مشخصات فردی و اپیدمیولوژیک بیماران بود تکمیل گردید. سپس با رعایت کامل اصول ایمنی زیستی، مقدار ۵ ml خون وریدی از بیماران گرفته شد و داخل لوله های حاوی ضد انعقاد EDTA ریخته شد و به آزمایشگاه گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان منتقل شدند و در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد ذخیره گردید. استخراج اسید نوکلئیک با استفاده از کیت High Pure Nucleic Extraction kit (Roche) ساخت کشور آلمان و طبق دستور شرکت سازنده، از خون انجام شد. مراحل Nested PCR برای تکثیر ناحیه RT از ژن Pol و ویروس HIV-1 انجام گرفت. مواد و پرایمرهای مورد استفاده در مرحله اول PCR Nested عبارت بودند از: ۵ میکرولیتر از cDNA، 1X از PCR بافر

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای داخلی و بیرونی برای تکثیر ژن RT

ژن RT		توالی پرایمر	Amplicon Size
Outer Pair	Forward	5-GTTGACTCAGATTGGTTGCAC-3	۸۰۳bp
	Revers	5-GTATGTCATTGACAGTCCAGC-3	
Inner Pair	Forward	5-GGATGGCCAAAAGTTAAAC-3	۶۶۵bp
	Revers	5-TATCAGGATGGAGTTCATAAC-3	

جدول ۲- مراحل دمایی انجام PCR بر روی ژن RT

تعداد سیکل ها	زمان	دما (سلسیوس)	مرحله
۱	۵ دقیقه	۹۴	Denaturation initial
	۳۰ ثانیه	۹۴	Denaturation
۳۵	۳۰ ثانیه	۵۷	Annealing
	۵۰ ثانیه	۷۲	Extension
۱	۵ دقیقه	۷۲	Final Extension

L210W (بیمار ۲) L74I (بیمار ۲) T215Y (بیمار ۲) و سایر جهش های مهم NNRTI به ترتیب فراوانی شامل: E138A (۱۰ بیمار)، P225H (۶ بیمار)، G190A (۶ بیمار)، V179F (۳ بیمار)، Y181S (۳ بیمار)، V108I (۳ بیمار)، K238N (۳ بیمار)، Y181C (۲ بیمار) و A98G (۲ بیمار) بودند. مهمترین جهش در این مطالعه مربوط به M184V، M41L، K103N و E138A بود. جهش M41L در تمام رده های سنی ۱۴-۱، ۲۹-۱۵، ۴۴-۳۰ و ۴۵-۶۰ سال مشاهده شد. در کدون ۲۱۵ بیشترین تنوع جهشی وجود داشت که شامل T215Y/A/S/P/F بود. در مجموع، ۴۴ نفر از بیماران (۳۶٪) حداقل به یکی از داروهای مهارکننده RT مقاومت نشان دادند. در مجموع داروهای NNRTI به میزان (۳۰/۳٪) و داروهای NRTI به میزان (۲۳/۷٪) مقاومت نشان دادند. در دسته داروهای نوکلئوزیدی بیشترین مقاومت سطح بالا مربوط به لامیوودین و امتریستابین بود که برای هر کدام از این داروها ۱۹ نفر (۱۵/۵٪) از بیماران مقاومت داشتند. در مجموع بیشترین مقاومت دارویی مربوط به لامیوودین، امتریستابین و آباکاویر بود و کمترین مقاومت مربوط به زیدوویدین و تنوفویر بود که ۱۱۲ نفر (۹۱/۵٪) از بیماران به این دو دارو حساس بودند. در دسته داروهای غیر نوکلئوزیدی با توجه به اینکه افایرنز در ۱۰۴ نفر از بیماران به عنوان خط اول درمان استفاده می شد، بیشترین مقاومت مربوط به نوریپین و افایرنز بود که به ترتیب ۲۵/۳ و ۲۴/۶ درصد از بیماران مقاومت نشان دادند.

محصولات PCR با استفاده از کیت (Bioneer) Gel purification خالص سازی شد و برای تعیین توالی به شرکت Macrogen ارسال گردید. سپس توالی های دریافت شده با استفاده از نرم افزار Bioedit ویرایش شدند. زیر واحد و جهش ها توسط Stanford HIV drug resistance sequence database مشخص شدند (شکل ۱).

### یافته ها

از ۱۳۰ بیمار تحت درمان ۱۲۲ نفر تعیین توالی و آنالیز شدند که از این تعداد ۸۰ نفر مرد (۶۵/۶٪) و ۴۲ نفر زن (۳۴/۴٪) بودند. میانگین سنی در بیماران  $9 \pm 37$  سال بود و میانگین سلول های CD4 در بیماران  $19 \pm 250$  عدد در هر میلی لیتر خون بود. در این مطالعه ۸۱ نفر از بیماران (۶۶/۴٪) دارای زیر واحد A بودند که زیر واحد غالب بود. تعداد ۳۲ بیمار (۲۶/۲٪) زیر واحد D و ۹ بیمار (۷/۴٪) زیر واحد B داشتند. بیشترین جهش مربوط به داروهای غیرنوکلئوزیدی مهار کننده آنزیم NNRTI (RT) شامل K103N بود که در ۱۸ نفر از بیماران (۱۴/۸٪) مشاهده شد و بیشترین جهش مربوط به داروهای نوکلئوزیدی مهار کننده آنزیم NRTI (RT) شامل M184V بود که در ۱۷ نفر از بیماران (۱۳/۹٪) مشاهده شد. دیگر جهش های مهم NRTI به ترتیب شامل: M41L (۶ بیمار)، K70R (۵ بیمار)، T69P (۵ بیمار)، D67N (۴ بیمار)، K219E (۴ بیمار) و V75M (۴ بیمار) و M184I (۲ بیمار)

بیه

#### Drug Resistance Interpretation: RT

<b>NRTI Resistance Mutations:</b>		<b>M184V</b>	
<b>NNRTI Resistance Mutations:</b>		<b>K103N, E138A, P225H</b>	
<b>Other Mutations:</b>		L34I, V35I, E36D, V60I, K102Q, D121Y, K122E, I135L, K166R, K173N, V179I, T200R, Q207A, R211K, L234S, H235F	
<b>Nucleoside RTI</b>		<b>Non-Nucleoside RTI</b>	
lamivudine (3TC)	High-level resistance	efavirenz (EFV)	High-level resistance
abacavir (ABC)	Low-level resistance	etravirine (ETR)	Susceptible
zidovudine (AZT)	Susceptible	nevirapine (NVP)	High-level resistance
stavudine (D4T)	Susceptible	rilpivirine (RPV)	Low-level resistance
didanosine (DDI)	Potential low-level resistance		
emtricitabine (FTC)	High-level resistance		
tenofovir (TDF)	Susceptible		

شکل ۱- تفسیر مقاومت دارویی ژن RT با استفاده از پایگاه اطلاعات استنفورد

## بحث

اکثر داروهای موجود در این گروه می شود که در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد (۲۲، ۲۳). مقاومت به نیراپین و افویرنز به ترتیب در ۲۵/۳ و ۲۴/۶ درصد از بیماران مشاهده شد که با مطالعه باغی و همکاران که آنها به همان ترتیب ۲۹/۱ و ۲۵ درصد را گزارش کرده بودند هم خوانی داشت. پروفایل جهش ها و تعداد بیماران در مطالعه حاضر تا حد زیادی شبیه به مطالعه Laurent و همکاران بود (۸). کدون ۲۱۵ بیشترین تنوع جهشی را در این مطالعه داشت که شامل T215Y/A/S/P/F بود که مشابه مطالعه Yahi و همکاران و Grossman و همکاران بود (۲۴، ۲۵). T215Y باعث مقاومت به زیدوودین و استاودین می شود و به طور نسبی حساسیت دارویی آباکاویر، دیدانوزین و تنوفویر را کاهش می دهد که در یکی از بیماران که به تمام داروهای نوکلئوزیدی و غیر نوکلئوزیدی مقاوم بود و بیمار دیگری که غیر از ریلی ویرین و اتراویرین به همه داروهای نوکلئوزیدی و غیر نوکلئوزیدی مقاوم بود این جهش، همراه با جهش های اصلی مشاهده شد. در مقایسه با مطالعه بهمنی و همکاران (۲) که بیشترین جهش های مرتبط با مهارکننده های غیرنوکلئوزیدی را به صورت M230G و L234M, K238H نشان داده بودند، در مطالعه حاضر بیشترین جهش های غیرنوکلئوزیدی به صورت زیر گزارش شد:

K103N, E138A, P225H, G190A, Y181C, F227L, G190T, K101E, H221Y, A98G

در این مطالعه ۵ نفر از بیماران به تمام داروهای نوکلئوزیدی و غیرنوکلئوزیدی مقاوم بودند و ۸ نفر نیز به بیش از ۹ دارو مقاوم بودند. جهش V75M در ۳/۲ درصد از بیماران مشاهده شد که این جهش در ایجاد مقاومت به استاودین و دیدانوزین و دیگر داروهای نوکلئوزیدی دخیل است. جالب است که در این مطالعه اکثر جهش های مربوط به NRTI و NNRTI مشاهده شده است. همچنین جهش K65R که در دیگر مطالعات کمتر دیده می شود، در مطالعه حاضر در یکی از بیماران مشاهده شد، که به داروهای آباکاویر، دیدانوزین و تنوفویر مقاومت بالا و به داروهای لامیوودین، استاودین و امتریستابین مقاومت متوسط داشت. جهش K65R با افزایش فرکانس در بیمارانی که در آنها درمان

این مطالعه روی نمونه های افراد HIV مثبت که تحت درمان دارویی هستند صورت گرفته است. میانگین سنی افراد حاضر در این مطالعه  $37 \pm 9$  سال است که مشابه میانگین سنی افراد بیمار در مطالعات قبلی انجام شده در ایران است، میانگین سنی در مطالعه همکار و همکاران  $38 \pm 9$  بود که مانند نتایج این مطالعه بود (۱۴). محدوده سنی در مطالعه حاضر از ۱ تا ۵۹ سال می باشد که نسبت به دیگر مطالعات انجام شده در ایران مانند سارمی فروشانی ۲۲ تا ۴۰ سال، بهمنی ۲۴ تا ۵۶ سال و همکار و همکاران ۱۳ تا ۵۶ سال وسیع تر است که این شاید به دلیل تعداد زیادتر بیماران در مطالعه ما نسبت به آنها باشد (۲، ۱۵، ۱۶). در این مطالعه زیر واحد غالب بیماران، A ( $66/4\%$ ) گزارش شد که با اکثر مطالعات انجام شده در ایران مطابقت دارد (۱۵، ۱۶). در این مطالعه در مجموع ۳۶ درصد از بیماران (۴۴ نفر) حداقل به یکی از داروهای مهارکننده RT مقاومت نشان دادند. که تا حدودی شبیه به مطالعات Smith و همکاران که ۲۵ درصد و SU Q و همکاران که ۲۸ درصد را گزارش کرده بودند می باشد (۱۷، ۱۸). همچنین مهمترین جهش مرتبط با داروهای NRTI جهش M184V بود که در ۱۳/۹ درصد از بیماران (۱۷ نفر) مشاهده شد و شبیه به مطالعه Laurent و همکاران بود که آنها ۱۱/۷ درصد (نفر ۱۵) را گزارش کرده بودند و تعداد بیماران مورد مطالعه آنها نیز با مطالعه حاضر همخوانی داشت (۸). لازم به ذکر است که لامیوودین به غیر از یکی از بیماران، جزء رژیم دارویی تمام بیماران در این مطالعه بود که جهش مقاومت به آن در ۱۳/۹ درصد از بیماران دیده شد. مهمترین و بیشترین جهش مربوط به NNRTI در این مطالعه شامل K103N به میزان (۱۴/۸٪) بود که مثل مطالعات قبلی مانند Smith و همکاران به میزان (۱۱/۶٪)، Perez و همکاران و Fernandez و همکاران بود (۱۹، ۲۰). جهش K103N از لحاظ بالینی مهمترین جهش مقاومت به داروهای NNRTI است که مقاومت نسبت به داروی نیراپین را ۵۰ برابر و نسبت به افویرنز ۲۰ برابر افزایش می دهد (۲۱). همچنین جهش K103N و Y188C که مرتبط با مقاومت به داروهای مهارکننده غیر نوکلئوزیدی است موجب مقاومت به

بیمار، ۲۴ نفر (۱۹/۷٪) و ۲۶ نفر (۲۱/۳٪) به ترتیب نسبت به افویرنز و نوبراپین مقاومت سطح بالا نشان دادند.

### نتیجه گیری

رژیم درمانی مرکب از دو داروی مهارکننده نوکلئوزیدی RT و یک داروی مهار کننده پروتاز (2NRTI+1PI) در درمان HAART میتواند موثرتر باشد.

### تشکر و قدر دانی

از آقای مهندس کماسی کارشناس ایدز مرکز بهداشت استان کرمانشاه به خاطر تلاش ها و زحماتشان و همچنین از آقای شهريار پارسا کارشناس مرکز مشاوره در اجرای این طرح قدردانی می نمایم. همچنین لازم است از کلیه کارکنان آزمایشگاه گروه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی گلستان و همچنین آزمایشگاه مرکز مشاوره بیماری های رفتاری استان کرمانشاه و کارکنان اداری این مرکز که در اجرای این طرح ما را یاری نمودند صمیمانه سپاسگزاریم. هزینه طرح تحقیقاتی مطالعه طبق قرارداد ۳۵/۲۹۰۵/پ/گک توسط معاونت فناوری و تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی گلستان تامین گردید.

### References

- Arts EJ, Hazuda DJ. *HIV-1 antiretroviral drug therapy*. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2012; 2(4): a007161.
- Bahmani MK, Khosravi A, Mahboodi F, Sarrami-Forooshani R. *Genotypic correlation of a virologic response to lamivudine, stavudine and nevirapine in patients for whom combination therapy had failed*. Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases. 2008; 3(4): 215-9.
- De Gascun CF, Waters A, Regan C, O'Halloran J, Farrell G, Coughlan S, et al. *Documented prevalence of HIV type 1 antiretroviral transmitted drug resistance in Ireland from 2004 to 2008*. AIDS research and human retroviruses. 2012; 28(3): 276-81.
- Richman D, Bozzette S, Morton S, Wrin T, Dawson K, Hellman N. *The prevalence of antiretroviral drug resistance in the US [abstract LB-17]*. Program and abstracts of the 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Chicago) Washington, DC: American Society for Microbiology; 2001.
- Yerly S, Kaiser L, Race E, Bru J, Clavel F, Perrin L. *Transmission of antiretroviral-drug-resistant HIV-1 variants*. The Lancet. 1999; 354(9180): 729.
- Clavel F, Hance AJ. *HIV drug resistance*. New England Journal of Medicine. 2004; 350(10): 1023-35.
- Yeni PG, Hammer SM, Carpenter CC, Cooper DA, Fischl MA, Gatell JM, et al. *Antiretroviral treatment for adult HIV infection in 2002*. JAMA: the journal of the 8.

با آنالوگ های نوکلئوزیدی و غیر نوکلئوزیدی با شکست مواجه شده اند دیده شده است، به خصوص وقتی که رژیم درمانی شامل تنوفویر یا آباکاویر بوده است و این جهش که مرتبط با NRTI است، به جز زیدوودین به بیشتر داروهای نوکلئوزیدی مقاومت می دهد (۶). در این مطالعه بیشترین مقاومت، مربوط به داروهای غیرنوکلئوزیدی مهارکننده آنزیم RT و به میزان ۳۰/۳ درصد بود. باعثی و همکاران ۳۲ درصد مقاومت به داروهای NNRTI را گزارش کرده بودند که به مطالعه حاضر نزدیک است. بیشترین مقاومت در این مطالعه مربوط به نوبراپین و افویرنز بود که به ترتیب ۲۵/۳ و ۲۴/۶ درصد از بیماران مقاوم بودند که خیلی شبیه به مطالعه باعثی و همکاران است، این در حالی بود که افویرنز رژیم درمانی ۱۰۴ نفر از بیماران مورد مطالعه بود. در مجموع کمترین مقاومت مربوط به زیدوودین و تنوفویر بود که ۹۱/۳ درصد از بیماران نسبت به این دو دارو حساس بودند. در این مطالعه اکثر جهش های مقاومت به هر دو کلاس داروهای آنتی رتروویرال در بیماران تحت درمان مشاهده شد و نسبت به تمام داروهای دو دسته مقاومت وجود داشت. با توجه به اینکه از ۱۲۲

- Laurent C, Kouanfack C, Vergne L, Tardy M, Zekeng L, American Medical Association. 2002; 288(2): 222-35.
- Noumsi N, et al. *Antiretroviral drug resistance and routine therapy, Cameroon*. Emerging infectious diseases. 2006; 12(6): 1001.
- Hamers RL, Wallis CL, Kityo C, Siwale M, Mandaliya K, Conradie F, et al. *HIV-1 drug resistance in antiretroviral-naive individuals in sub-Saharan Africa after rollout of antiretroviral therapy: a multicentre observational study*. The Lancet infectious diseases. 2011; 11(10): 750-9.
- Gupta R, Hill A, Sawyer AW, Pillay D. *Emergence of drug resistance in HIV type 1-infected patients after receipt of first-line highly active antiretroviral therapy: a systematic review of clinical trials*. Clinical infectious diseases. 2008; 47(5): 712-22.
- Abbas UL, Hood G, Wetzel AW, Mellors JW. *Factors influencing the emergence and spread of HIV drug resistance arising from rollout of antiretroviral pre-exposure prophylaxis (PrEP)*. PloS one. 2011; 6(4): e18165.
- Baesi K, Ravanshad M, Hosseini Y, Abdolbaghi MH. *Drug resistance profile and subtyping of HIV-1 RT gene in Iranian patients under treatment*. Iranian Journal of Biotechnology. 2012; 10(1): 1-7.
- Mousavi SM, Hamkar R, Gouya MM, Safaie A, Zahraei SM, Yazdani Z, et al. *Surveillance of HIV drug resistance transmission in Iran: experience gained from a*

*pilot study*. Archives of virology. 2010; 155(3): 329-34.

14. Hamkar R, Mohraz M, Lorestani S, Aghakhani A, Truong H-HM, McFarland W, et al. *Assessing subtype and drug-resistance-associated mutations among antiretroviral-treated HIV-infected patients*. Aids. 2010; 24: S85-S91.
15. Sarrami-Forooshani R, Das SR, Sabahi F, Adeli A, Esmaeili R, Wahren B, et al. *Molecular analysis and phylogenetic characterization of HIV in Iran*. Journal of medical virology. 2006; 78(7): 853-63
16. Naderi H, Tagliamonte M, Tornesello M, Ciccozzi M, Rezza G, Farid R, et al. *Molecular and phylogenetic analysis of HIV-1 variants circulating among injecting drug users in Mashhad-Iran*. Infect Agent Cancer. 2006; 1: 4.
17. Su Q, Liang H, Cen P, Bi Z, Zhou P. *HIV Type 1 Subtypes Based on the pol Gene and Drug Resistance Mutations Among Antiretroviral-Naive Patients from Guangxi, Southern China*. AIDS research and human retroviruses. 2012; 28(7): 725-8.
18. 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.
19. Pérez L, Correa C, Campos Y, Alemán J, González I, Pérez J, et al. *Drug-resistant HIV-1 in Cuban children and their seropositive mothers*. MEDICC review. 2011; 13(2): 24.
20. Couto-Fernandez J, Silva-de-Jesus C, Veloso V, Rachid M, Gracie R, Chequer-Fernandez S, et al. *Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy*. Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz. 2005; 100(1): 73-8.
21. Shafer RW, Kantor R, Gonzales MJ. *The genetic basis of HIV-1 resistance to reverse transcriptase and protease inhibitors*. AIDS reviews. 2000; 2(4): 211-228.
22. Varella RB, Ferreira SB, Castro MBd, Tavares MD, Zalis MG. *Prevalence of resistance-associated mutations in Human Immunodeficiency Virus type 1-positive individuals failing HAART in Rio de Janeiro, Brazil*. Brazilian Journal of Infectious Diseases. 2008; 12(5): 380-4.
23. Santoro MM, Ciccozzi M, Alteri C, Montieri S, Alexiev I, Dimova I, et al. *Short Communication: Characterization of Drug-Resistance Mutations in HIV Type 1 Isolates from Drug-Naive and ARV-Treated Patients in Bulgaria*. AIDS research and human retroviruses. 2008; 24(9): 1133-8.
24. Grossman Z, Lorber M, Maayan S, Yacov NB, Levy I, Averbuch D, et al. *Drug-resistant HIV infection among drug-naive patients in Israel*. Clinical infectious diseases. 2005; 40(2): 294-302.
25. Yahi N, Tamalet C, Tourrès C, Tivoli N, Ariasi F, Volot F, et al. *Mutation patterns of the reverse transcriptase and protease genes in human immunodeficiency virus type 1-infected patients undergoing combination therapy: survey of 787 sequences*. Journal of clinical microbiology. 1999; 37(12): 4099-106.

## Drug-Resistant HIV-1 RT Gene Mutations in Patients under Treatment with Antiretroviral Drugs (HAART) in Iran

### Gol Mohammadi, R. (MSc)

MSc of Medical Virology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

### Tabaraei, A. (PhD)

Associate Professor of Virology, Infectious Diseases Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

### Abbasi, A. (MD)

Associate Professor of Infectious Diseases, Infectious Diseases Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

### Khademi, N. (MD)

General Practitioner, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

### Mahdavian, B. (MD)

Infectious Disease Specialist, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

### Javid, N. (MSc)

MSc of Microbiology, Department of Microbiology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

### Kaleji, H. (MSc)

MSc of Virology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

### Alikhani, A. (BSc)

BSc of Medical Laboratory, Consultation center of behavioral disorders, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

### Bazoori, M. (BSc)

BSc of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

### Moradi, A. (PhD)

Professor of Medical Virology, Department of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Corresponding Author:** Moradi, A.

**Email:** abmoradi@yahoo.com

**Received:** 26 Feb 2015

**Revised:** 6 Mar 2015

**Accepted:** 9 Mar 2015

### Abstract

**Background and Objective:** Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) can effectively prevent the progression of HIV-1 replication and increase life expectancy. There are numerous causes of treatment failure and the leading one is drug resistance. Thus, we aimed to determine the HIV RT gene drug resistance mutations in patients treated with antiretroviral medications.

**Material and Methods:** In this cross-sectional study, venous blood was taken from 130 HIV-positive patients treated with antiretroviral medications. In order to determine drug resistance mutations, RT-PCR and PCR steps were performed using RT gene specific primers. Subtypes and mutations in the virus genome were determined using the Stanford HIV drug resistance sequence database.

**Results:** In 122 treating patients, most of the major mutations were associated with nucleoside and non-nucleoside drugs. subtype A in 66.4%, subtype D in 26.2% and subtype B in 7.4% of the participants were reported. They were resistant to Nucleoside RT Inhibitor drugs (23.7%) and Non-Nucleoside RT Inhibitor drugs (30.3%). The highest were related to Nevirapine (21.3%) and Efavirenz (19.7%) and the lowest to both Tenofovir and Zidovudine (91.5%).

**Conclusion:** The use of two nucleoside RT inhibitor drugs combined with one protease inhibitor drug could be effective in the treatment of HAART.

**Key words:** HIV, Nucleoside RT Inhibitor, Non- Nucleoside RT Inhibitor