مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره پنجم ـ شماره دوم ـ تابستان ۹۰
صفحات ۳۹ الی ٤٤

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تعیین فراوانی جهش‌های موتیف YMDD در بیماران هپاتیت B مزمن تحت درمان با لامیوودین

رقیه احسانی[۱]، رباب رفیعی طباطبایی[۲]، علی پوریاسین[۳]، عبدالرضا سودبخش[٤]، حیدر شرفی[۵]

[۱] دانشجوی کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد شمال، تهران، ایران.
[۲] استادیار میکروب‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد شمال، تهران، ایران.
[۳] استادیار ژنتیک مولکولی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران.
[٤] دانشیار بیماری‌های عفونی، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
[۵] دانشجوی کارشناس ارشد هماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: لامیوودین اولین آنالوگ نوکلئوزیدی است که به‌منظور مداوای بیماران هپاتیت B مزمن به کار گرفته می‌شود. این دارو در مهار همانندسازی ویروس هپاتیت B و کاهش فعالیت بیماری مؤثر است. اما مهم‌ترین مشکلی که در درمان با لامیوودین وجود دارد؛ پیدایش سویه‌های حاوی جهش مقاوم به لامیوودین در طول مداوا می‌باشد که در این سویه‌های حاوی جهش، تغییر آمینو اسیدی در موتیف YMDD پلیمراز ویروس رخ داده است. هدف این مطالعه بررسی فراوانی جهش‌های موتیف YMDD در بیماران هپاتیتB مزمن تحت درمان با لامیوودین می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه، ۵۶ بیمار هپاتیت مزمن که پیشتر اینترفرون و یا آنالوگ نوکلئوزیدی/ نوکلئوتیدی دریافت نکرده بودند و حداقل برای ۶ ماه تحت درمان با لامیوودین قرار داشتند، بررسی شدند. ابتدا DNA ویروس هپاتیت B از سرم بیماران استخراج شد و جهش‌های موتیف YMDD در ژن پلیمراز ویروس با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، سپس توالی‌یابی مستقیم محصول PCR، تعیین گردید. میزان ویروس هپاتیت B در سرم بیماران به روش PCR کمّی مشخص شد.

یافته‌ها: ۵۶ بیمار هپاتیت B مزمن (۳۹ مرد و ۱۷ زن) با میانگین سنی ۱۳/۶±۳۴/۱۲ سال بررسی شدند. در ۱۵ بیمار (۲۶/۷٪) از ۵۶ بیمار، جهش‌های موتیف YMDDدر ژن پلیمراز ویروس هپاتیت B مشاهده گردید. جهش‌ها در ۸ بیمار (۱۴/۲٪) به‌صورت YIDD و در ۷ بیمار (۱۲/۵٪) به‌صورت YVDD بود. جهش سرین در موتیف YMDD در هیچ‌یک از بیماران این مطالعه مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان داد فراوانی جهش‌های موتیف YMDD که منجر به مقاومت به داروی لامیوودین می‌گردد، در بین بیماران هپاتیت B مزمن در کشور ایران متداول است (۲۶/۷٪) و تشخیص مولکولی جهش‌های موتیف YMDD با استفاده از روش‌هایی مانند توالی‌یابی مستقیم DNA می‌تواند رخداد مقاومت دارویی را در مراحل اولیه پیدایش در بیماران هپاتیت B مزمن تعیین کند.

کلید واژه‌ها: ویروس هپاتیت بی؛ هپاتیت بی مزمن؛ لامیوودین؛ جهش‌های موتیف YMDD.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد شمال، تهران، ایران؛
تلفن: ۰۹۱۲۷۳۶۱۳۵۲ آدرس پست الکترونیکی: rrtabatabaei@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/۱۸

مقدمه

هپاتیت B مزمن از جمله بیماری‌های عفونی چالش‌برانگیز در جهان است. طبق برآورد سازمان بهداشت جهانی حدود ۳۵۰ میلیون حامل مزمن ویروس هپاتیت B (Hepatitis B Virus) در سراسر جهان وجود دارد (۱) که جان ۴۰-۱۵٪ این بیماران به‌علت امکان پیشرفت بیماری به‌سمت سیروز و سرطان کبد به خطر

www.SID.ir

می‌افتد (۲). درمان‌های رایج برای بیماران هپاتیت B مزمن شامل اینترفرون آلفا، که در کمتر از ۴۰٪ بیماران مفید واقع می‌شود (۳) و آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/ نوکلئوتیدی:

Lamivudine، Entecavir، Telbivudine، Adefovir، Tenofovir می‌باشد (۴). درمان به‌وسیله آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/ نوکلئوتیدی گام بزرگی در درمان بیماران هپاتیت B مزمن محسوب می‌شود؛ زیرا در اکثر بیماران مفید واقع شده است (۵). لامیوودین (ß-L-2',3'-Dideoxy-3'-Thiacytidine) اولین دارو از دسته آنالوگ‌های نوکلئوزیدی است که از طریق رقابت با سوبسترای طبیعی آنزیم DNA پلیمراز ویروس، همانندسازی ویروس را مهار کرده (۶) و این امر به کاهش میزان ویروس (HBV DNA) و آلانین آمینو ترانسفراز (Alanine Amino Transferase) در سرم بیماران می‌انجامد و در نهایت پیشرفت بیماری به تأخیر می‌افتد (۷). اما مشکل عمده‌ای که در استفاده از لامیوودین وجود دارد؛ پیدایش سویه‌های جهش‌یافته مقاوم به دارو است. به‌گونه‌ای که در ۳۲-۱۴٪ بیماران پس از یک‌سال درمان، جهش‌های منجر به مقاومت دارویی در ژنوم ویروس رخ می‌دهد، و با افزایش مدت زمان مصرف دارو خطر پیدایش مقاومت نیز افزایش می‌یابد (۱۰-۸). اساس پیدایش سویه‌های مقاوم به لامیوودین، وقوع جهش در ژن پلیمراز ویروس است که منجر به تغییر آمینو اسیدی در موتیف YMDD (تیروزین- متیونین- آسپارتات- آسپارتات) می‌شود. این موتیف که در موقعیت کدون‌های ۲۰۶-۲۰۳ دومین ریورس ترانس کریپتاز از ژن پلیمراز ویروسی قرار دارد، بخشی از جایگاه فعال آنزیم پلیمراز ویروس و محل اثر لامیوودین است (۱۲،۱۱). تغییر آمینو اسیدی به‌صورت تبدیل متیونین به ایزولوسین (rtM204I،YIDD) و یا والین (rtM204V YVDD) (۱۳) و ندرتاً سرین (rtM204S،YSDD) می‌باشد (۱۴). با پیدایش سویه‌های مقاوم به لامیوودین ابتدا میزان ویروس، سپس آلانین آمینو ترانسفراز سرم بیماران افزایش یافته که در نهایت به‌شدت یافتن بیماری می‌انجامد (۱۵). از سوی دیگر جهش در موتیف YMDD منجر به مقاومت متقاطع با دیگر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/ نوکلئوتیدی مانند Entecavir و Telbivudine می‌شود و انتخاب دیگر گزینه‌های درمانی را مختل می‌کند (۱۷،۱۶). لذا با توجه به اهمیت بالینی شناسایی سویه‌های جهش‌یافته موتیف YMDD، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی چنین رخدادی در بین بیماران هپاتیت B مزمن تحت درمان با لامیوودین صورت گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی- مقطعی (Cross-Sectional)، نمونه‌های سرمی ۵۶ بیمار هپاتیت B مزمن مراجعه‌کننده به آزمایشگاه تشخیص طبی قلهک تهران، جمع‌آوری شد. تمام بیماران بین ۶ ماه الی ۷ سال تحت درمان با لامیوودین قرار داشتند، و پیش از آن اینترفرون و یا سایر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی/ نوکلئوتیدی را دریافت نکرده بودند. تمام بیماران مورد بررسی بیش از ۶ ماه HBsAg مثبت داشتند. DNA ویروسی از ۳۰۰µl نمونه‌های سرمی بیماران با استفاده از کیت QIAamp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) استخراج گردید. به‌منظور تعیین جهش‌های موتیف YMDD، قطعه ژنی مربوطه از ژن پلیمراز ویروسی به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر شد. براساس انتهای '۳ و '۵ قطعه موردنظر از ژن پلیمراز ویروسی یک جفت پرایمر با توالی‌های زیر توسط پژوهشگران این تحقیق طراحی، سپس توسط شرکت سیناژن (CinnaGen, Tehran, Iran) سنتز گردید.

Hbad-F: 5'-CTCGAGGATTGGGGACCCTG-3'
Hbad-R: 5'-TGGTAACAGCGGTAAAAAGGGAC-3'

واکنش PCR با حجم نهایی ۵۰µl بهینه‌سازی شد. در هر واکنش DNA۲۰µl ویروس (به‌عنوان الگو)، هر پرایمر به غلظت ۰/۲µM، $Mgcl_2$ (Qiagen, Hilden, Germany) به غلظت ۱/۵mM، dNTP (Qiagen, Hilden, Germany) به غلظت ۰/۲µM و ۲ واحد Taq DNA Polymerase (Qiagen, Hilden, Germany) استفاده گردید. برنامه حرارتی مورد استفاده برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) طبق جدول شماره ۱ می‌باشد.

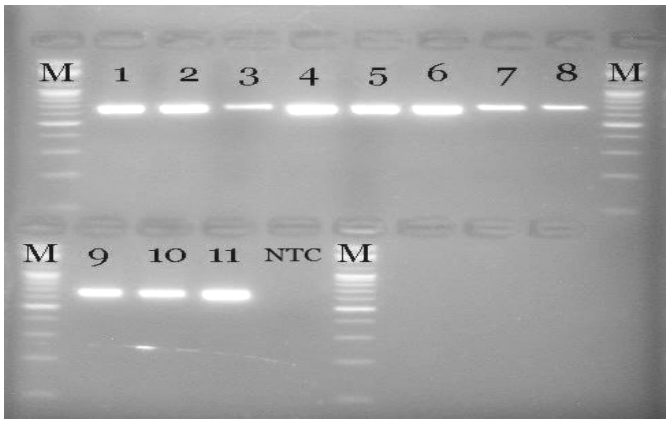
جدول شماره ۱: برنامه حرارتی مورد استفاده به‌منظور تکثیر قطعه حاوی موتیف YMDD از ژن پلیمراز HBV

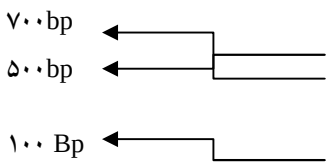
زمان		درجه حرارت (سانتی‌گراد)	مراحل
۵ دقیقه		۹۴	Initial Denaturation
۴۰ ثانیه		۹۴	Denaturation
۴۰ ثانیه	۳۵ چرخه	۵۵	Annealing
۴۰ثانیه		۷۲	Extention
۱۰ دقیقه		۷۲	Final Extention

Archive of SID

www.SID.ir

محصول PCR هر نمونه بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ با بافر TBE (Tris-Boric Acid-EDTA) جداسازی شد. حضور قطعه ۶۷۹bp نشان‌دهنده صحت انجام PCR بوده است (شکل شماره ۱)، سپس قطعه تکثیرشده از ژن پلیمراز ویروسی مستقیماً توالی‌یابی گردید. توالی‌یابی محصول PCR توسط کیت توالی‌یاب (ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kits, Version 3.1, Foster City, CA, USA) و با دستگاه توالی‌یاب اتوماتیک ABI (Model 3130, Applied Biosystems) صورت گرفت. نتایج توالی نوکلئوتیدهای هر نمونه توسط نرم‌افزار CLC (Sequence Viewer, Version 6.3) به توالی اسید آمینه‌های پروتئین پلیمراز ویروس ترجمه و سکانس موتیف YMDD هر بیمار از نظر وجود جهش بررسی گردید. همچنین میزان ویروس تمام بیماران به روش PCR کمّی توسط کیت HBV Artus Kit (Qiagen, Hilden, Germany) و دستگاه Artus 3000 Real-Time PCR (Corbett Research, New South Wales, Australia) تعیین شد. داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ تجزیه و تحلیل شدند و $p<0/05$ سطح معنی‌دار اختلاف‌ها در نظر گرفته شد.





شکل شماره ۱: الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪
تمام نمونه‌ها (شماره ۱۱-۱) نتیجه PCR مناسب داشتند.
M: مارکر ۱۰۰bp(Bioneer ,Korea) ، NTC: کنترل بدون الگو)

جدول شماره ۲: توزیع بیماران مبتلا به هپاتیت B براساس جهش در موتیف YMDD و مشخصات دموگرافیک

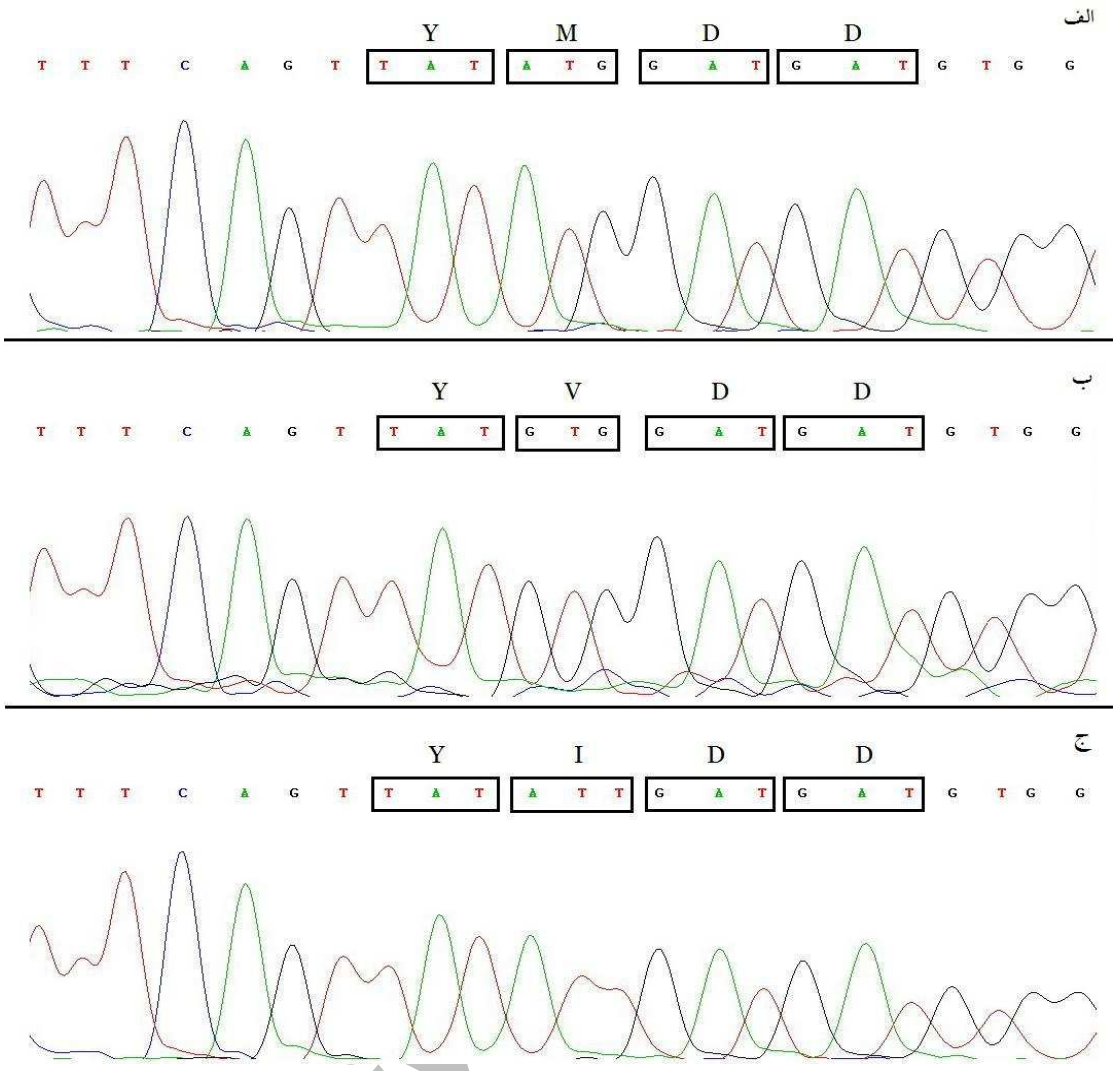
گروه بدون جهش			گروه دارای جهش		نتایج آزمون
تعداد کل بیماران=۴۱ (۷۳/۳٪)			تعداد کل بیماران=۱۵ (۲۶/۷٪)		مقایسه گروه‌ها
متغیرها		میانگین(انحراف استاندارد) تعداد (درصد)	متغیرها	میانگین(انحراف استاندارد) تعداد (درصد)	
جنسیت	زن	۱۴(٪۳۴)	جنسیت	زن ۳(٪۲۰)	t=۸/۶۴۳
	مرد	۲۷(٪۶۶)		مرد ۱۲(٪۸۰)	p=۰/۰۰۳
سن(سال)		۳۴/۲±۱۴/۴۳	سن(سال)	۳۳±۱۱/۴۱	t= ۰/۳۷۱ P=۰/۷۱۲
میزان ویروس (تعداد کپی در میلی‌لیتر)		۲۲۰۸۴۷±۷۴۹۳۴۲/۵	میزان ویروس (تعداد کپی در میلی‌لیتر)	۴۲۰۷۶۰±۱۰۳۴۵۷۶	t=۰/۸۵۵ P=۰/۳۹۶
مدت زمان مصرف دارو (سال)		۱/۶±۲/۴۶	مدت زمان مصرف دارو(سال)	۲/۸±۲/۰۵	t=۱/۸۶۱ p=۰/۰۴۸

در جدول شماره ۲، گروه بدون جهش بیمارانی هستند که موتیف YMDD در ژنوم ویروس هپاتیت B دچار جهش نشده است، و گروه دارای جهش بیمارانی هستند که موتیف YMDDدر ژنوم ویروس هپاتیت B دچار جهش شده و به‌صورتYIDD یا YVDD در آمده است (جهش یافته‌های مقاوم به لامیوودین).

یافته‌ها

در این مطالعه، از ۵۶ بیمار مورد بررسی با متوسط سنی ۱۳/۶±۳۴/۱۲ سال، ۳۹ نفر (۶۹/۶٪) مرد و ۱۷ نفر (۳۰/۴٪) آنها زن بودند. در ۱۵ بیمار (۲۶/۷٪) جهش در منطقه YMDD ژن پلیمراز ویروس مشاهده گردید که ۸ بیمار (۱۴/۲٪) به‌صورت YIDD و ۷ بیمار (۱۲/۵٪) به‌صورت YVDD بودند. YSDD جهش‌یافته در هیچ‌یک از بیماران، مشاهده نشد (جدول شماره ۲). کدون طبیعی متیونین موقعیت ۲۰۴، دومین ریورس ترانس کریپتاز پروتئین پلیمراز ویروس که ATG می‌باشد در تمام بیماران حاوی جهش rtM204V به GTG تبدیل شده بود؛ درحالی‌که در ۷ بیمار حاوی جهش rtM204I تبدیل به ATT و تنها در یک بیمار تبدیل به ATA صورت گرفت (شکل شماره ۲).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل شماره ۲: نتایج توالی‌یابی مستقیم موتیف YMDD در ژن پلیمراز ویروس هپاتیت B
الف: ویروس هپاتیت B بدون جهش، ب: ویروس هپاتیت B دارای جهش YVDD
ج: ویروس هپاتیت B دارای جهش YIDD

بحث

درمان کوتاه‌مدت با داروی لامیوودین در پاک‌سازی کامل ویروس از سرم بیمار کافی نیست و درمان طولانی‌مدت با پیدایش سویه‌های جهش‌یافته مقاوم به دارو همراه است (۱۸). براساس مطالعات پیشین این مقاومت با تغییر در موتیف YMDD مرتبط می‌باشد. در حال حاضر، لامیوودین به‌طور رایج در ایران به‌منظور مداوای بیماران هپاتیت B مزمن تجویز می‌شود (۱۹). در این مطالعه با بررسی ۵۶ بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن، در ۱۵ بیمار (۲۶/۷٪) جهش‌های موتیف YMDD مشاهده شد، که نشان می‌دهد میزان مقاومت به داروی لامیوودین در بیماران هپاتیت B مزمن در کشور ایران رایج است. البته مقایسه فراوانی مقاومت دارویی مشاهده‌شده در این مطالعه با تحقیقات صورت گرفته توسط پژوهشگرانی که جمعیت مورد بررسی آنها از نظر مدت زمان مصرف دارو کنترل شده بود، مشکل می‌باشد، به دلیل اینکه در این مطالعه، بیماران در مدت زمان‌های متفاوت تحت درمان با لامیوودین قرار داشتند. Masaadeh و همکارانش در سال ۲۰۰۸، با بررسی فراوانی مقاومت دارویی بیماران هپاتیت B مزمن در کشور اردن که تحت درمان با لامیوودین به‌مدت ۱۳-۱ سال قرار داشتند، نشان دادند در ۳۱٪ این بیماران ویروس‌های جهش‌یافته مقاوم به لامیوودین وجود دارد (۲۰). در مطالعه حاضر، علاوه بر تعیین فراوانی جهش‌های موتیف YMDD که به مقاومت دارویی لامیوودین در بیماران هپاتیت B مزمن می‌انجامد، ویژگی‌های بیماران از نظر جنسیت، متوسط سنی، متوسط میزان ویروس و مدت زمان مصرف دارو در دو گروه بیماران دارای جهش و

Archive
www.SID.ir

بیماران بدون جهش با استفاده از آزمون‌های آماری ارزیابی گردید (جدول شماره ۲)، نتایج بررسی نشان داد فراوانی جنسیت (زن و مرد) در دو گروه بیماران دارای جهش و بیماران بدون جهش، تفاوت معنی‌داری دارد ($p<۰/۰۰۳$). همچنین مقایسه متوسط مدت زمان مصرف دارو در بیماران دارای جهش و بیماران بدون جهش نشان داد متوسط مدت زمان مصرف دارو در بیماران دارای جهش به‌طور معنی‌داری از گروه بدون جهش بیشتر است ($p<۰/۰۴$)، و تنها در یک بیمار که زیر یک‌سال تحت درمان با لامیوودین بود، ویروس جهش‌یافته مقاوم به دارو مشاهده گردید. همچنین مقایسه متوسط میزان ویروس و متوسط سنی در دو گروه از بیماران، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. با توجه به اینکه جهش‌های ایجادکننده مقاومت به لامیوودین به مقاومت متقاطع با دیگر داروهای نوکلئوزیدی مانند Entecavir، Telbivudine می‌انجامد، لذا بررسی فراوانی جهش‌یافته‌های موتیف YMDD در بیماران هپاتیت B مزمن از لحاظ بالینی حایز اهمیت است و می‌تواند اطلاعات مفیدی را جهت اتخاذ شیوه‌های درمانی مناسب توسط پزشکان در اختیار آنان قرار دهد. پزشکان در بررسی بالینی بیماران با تکیه بر میزان ویروس و آلانین آمینو ترانسفراز سرم بیماران، پیدایش مقاومت دارویی را نیز ارزیابی می‌کنند. البته میزان ویروس پیش از آلانین آمینو ترانسفراز در سرم بیمار افزایش می‌یابد و از لحاظ بالینی مهم‌ترین نشانگر پیدایش مقاومت دارویی در بیماران هپاتیت B مزمن است. اگر در بیماران هپاتیت B مزمن، با شروع درمان با لامیوودین پس از ۱۲ هفته میزان ویروس (HBV DNA) در سرم کاهش قابل ملاحظه‌ای یابد، بدین معناست که بیمار پاسخ مناسبی به دارو داده است و در اغلب موارد با ادامه مصرف دارو، ویروس از سرم بیمار کاملاً حذف شده و بیمار بهبود می‌یابد. اما در برخی بیماران سطح میزان ویروس به حداقل ممکن (Nadir Value) می‌رسد، ولی کاملاً از سرم بیمار حذف نمی‌شود و این بیماران مستعد پیدایش مقاومت دارویی هستند، و باید به‌دقت توسط پزشک تحت نظر قرار گیرند و هر ۳ الی ۶ ماه یک‌بار میزان ویروس و سطح آلانین آمینو ترانسفراز سرم بیمار اندازه‌گیری شود. از آنجا که احتمال پیدایش مقاومت دارویی پس از ۲ سال افزایش می‌یابد، در این بیماران از سال دوم مداوا به بعد، بهتر است هر ۳ ماه یک‌بار میزان ویروس و سطح آلانین آمینو ترانسفراز سرم بیمار بررسی شود، و اگر میزان ویروس از پایین‌ترین حد خود (Nadir Value) حداقل به میزان ۱۰ برابر ($\geq$1.0–log10) افزایش یابد، از لحاظ بالینی به‌عنوان Viral Rebound نامیده شده و احتمال پیدایش مقاومت دارویی در این مرحله وجود دارد و باید ژن پلیمراز ویروس از نظر جهش‌های ایجادکننده مقاومت دارویی به‌وسیله آزمایشات مولکولی بررسی گردد (۲۱)، درصورتی‌که مقاومت دارویی در این مرحله شناسایی نشود، در پی تکثیر فعال ویروس‌های جهش‌یافته مقاوم به دارو، بافت کبدی آسیب دیده و بیماری پیشرفت می‌کند. بنابراین هرچه پیدایش مقاومت دارویی در مراحل ابتدایی‌تر شناسایی شود، بیمار شانس بیشتری برای درمان مؤثرتر خواهد داشت. لذا پیشنهاد می‌شود در کشور ایران با توجه به فراوانی نسبتاً بالای مقاومت به لامیوودین در بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن، پزشکان با بررسی کامل و دقیق مقاومت دارویی، اندازه‌گیری میزان ویروس و سطح آلانین آمینو ترانسفراز سرم، بیماران را در طی ۲ سال اول مداوا هر ۳ الی ۶ ماه یک‌بار و از سال دوم به بعد هر ۳ ماه یک‌بار لحاظ کرده و در صورت مشاهده Viral Rebound، شناسایی جهش‌های احتمالی در ژن پلیمراز ویروس را به روش مولکولی مدنظر قرار دهند. روش تعیین توالی مستقیم DNA که در این مطالعه به کار رفته است، یکی از روش‌های مولکولی استاندارد با دقت بالا می‌باشد که امکان ردیابی جهش‌ها را در هر منطقه از ژنوم ویروس هپاتیت B امکان‌پذیر می‌سازد (۲۲) و در صورت استانداردسازی و به کارگیری در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می‌تواند کمک شایان توجهی به بهبود راهکارهای درمانی انتخاب‌شده توسط پزشکان برای درمان بیماران هپاتیت B بنماید.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج این مطالعه، فراوانی جهش‌های موتیف YMDD که منجر به مقاومت به لامیوودین می‌شود، در بین بیماران هپاتیت B مزمن در کشور ایران متداول است (۲۶/۷٪)، لذا تشخیص مقاومت دارویی با استفاده از تکنیک‌های مولکولی در مراحل اولیه پیدایش، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و در صورت به کارگیری در زمان مناسب می‌تواند به تشخیص زودهنگام مقاومت دارویی بیانجامد. در این صورت پزشکان می‌توانند با انتخاب گزینه درمانی دیگری که فاقد مقاومت متقاطع با لامیوودین است، تکثیر ویروس‌های جهش‌یافته مقاوم به لامیوودین را مهار کرده و خطر پیشرفت بیماری به سمت سیروز و سرطان کبد را کاهش دهند.

Archive of SID

www.SID.ir

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از جناب آقای دکتر ابراهیم کلانتر مهرجردی و پرسنل محترم مرکز تحقیقات مولکولی آزمایشگاه قلهک تهران، همچنین شرکت کاوش فن‌آور کوثر به دلیل تعیین توالی تقدیر می‌گردد.

References:

1. Hanazaki K. Antiviral Therapy for Chronic Hepatitis B: A Review. Curr Drug Targets Inflamm Allergy 2004;3:63-70.

2. Gane MD, Prince AM. Hepatitis B Virus Infection-Natural History and Clinical Consequences. N Engle J Med 2004;350(11):1118-29.

3. Wong DK, Cheung AM, Rourke K, Naylor CD, Detsky AS, Heathcote J. Effects of Alpha-Interferon in Patients with Hepatitis B E Antigen Positive Chronic Hepatitis B: A Meta-Analysis. Ann Intera Med 1993;119:312-23.

4. Ghany MG, Doo EC. Antiviral Resistace and Hepatitis B Therapy. Hepatology 2003;49:174-84.

5. Cha-Ze L, Hsuan-Shu L, Guan-Tarn H, Pei-Ming Y, Jin-Chuan S. Detection of YMDD Mutation Using Mutant-Specific Primers in Chronic Hepatitis B Patients before and after Lamivudine Treatment. World J Gastroenterol 2006;12(33):5301-5.

6. Tuncbilek S, Kose S, Elaldi A, Akman S. Lamivudine Resistance in Untreated Chronic Hepatitis B Patients in Turkey. Turk J Gastroenterol 2008;19(2):99-103.

7. Li MW, Hou W, WO JE, Liu KZ. Character of HBV (Hepatitis B Viruse) Polymerase Gene rtM204V/I and rtM180L Mutation in Patients with Lamivudine Resistance. J Zhejiang Univ Sci 2005;6:664-7.

8. Heathcote J. Treatment of HBe Antigen-Positive Chronic Hepatitis B. Semin Liver Dis 2003;23:69-80.

9. Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV, Vassilopoulos D. Treatment of HBe Antigen-Negative Chronic Hepatitis B. Semin Liver Dis 2003;23:81-8.

10. Wright TL. Clinical Trial Results and Treatment Resistance with Lamivudine in Hepatitis B. Semin Liver Dis 2004;24 Suppl 1:31-6.

11. Chayama K, Suzuki Y, Kobayashi M, Kobayashi M, Tsubota A, Miyano Y, et al. Emergence and Takeover of YMDD Motif Mutant Hepatitis B Virus during Long-Term Lamivudine Therapy and Re-Takeover by Wild-Type after Cessation of Therapy. Hepatology 1998;27(6):1711-6.

12. Marcellin P, Lau GK, BoninoF, et al. Peginterferon Alfa-2a Alone, Lamivudine Alone, and the Two in Combination in Patients with HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B. N Engle J Med 2004;351:1206-17.

13. Bottecchia M, Souto FJ, KM O, et al. Hepatitis B Virus Genotypes and Resistance Mutation in Patients Under Long Term Lamivudine Therapy: Characterization of Genotype C in Brazil. BMC Microbial 2008;8:11-20.

14. Hubert GM, Robert AM, Suzan D, Edwin F, Albert DME. Identification of a New Variant in the YMDD Motif of the Hepatitis B Virus Polymerase Gene Selected during Lamivudine Therapy. J Med Microbial 2002;51:695-9.

15. Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Yatsuji H, Hosaka T, Sezaki H, et al. Correlation of YMDD Mutation and Breakthrough Hepatitis with Hepatitis B DNA and Serum ALT during Lamivudine Treatment. Hepatology Research 2010;40:125-34.

16. Baldick CJ, Tenny DJ, Mazzucco CE, et al. Comprehensive Evaluation of Hepatitis B Virus Reverse Transcriptase Substitutions Associated with Entecavire Resistance. Hepatology 2008;47:1473-82.

17. Liaw YF, Gane E, Leung N, et al. 2-Year GLOBE Trial Results: Telbivudine Is Superior to Lamivudine in Patients with Chronic Hepatitis B. Gastroenterology 2009;136:486-95.

18. Nakanishi N, Kurosaki M, Asahina Y, Onuki Y, Ueda K, Nishimura Y, et al. Polymerase Domain B Mutation Associated With Hepatitis Relaps during Long-Term Lamivudine Therapy for Chronic Hepatitis B. Intervirology 2005;48:381-8.

19. Mohebbi SR, Amini-Bavil-Oyaee S, Zali N, Noorinayer B, Derakhshan F, Chiani M, et al. Molecular Epidemiology of Hepatitis B Virus in Iran. Clin Microbial Infect 2008;14:858-66.

20. Masaadeh HA, Hayajneh MA, Alqudah EA. Hepatitis B Virus Genotypes and Lamivudine Resistance Mutations in Jordan. World J Gastroenterol 2008;14(47):7231-4.

21. Zoulim F, Locarinini S. Hepatitis B Virus Resistance to Nucleos(t)ide Analogues. Gastroenterology 2009;137:1593-1608.

22. Clark B, Bloor S. Molecular Genotyping of Hepatitis B Virus. J Clin Virol 2002;25:41-5.

Archive of SID

www.SID.ir