

بررسی مقاومت دارویی مربوط به ژن پروتئاز ویروس نقص ایمنی انسان نوع ۱ در بین بیماران مبتلا به ایدز در مرکز تحقیقات ایدز ایران

کاظم باغی^۱، مهرداد روانشاد^{۲*}، مریم قنبری صفری^۳، اسمائیل صابرفر^۴، محبوبه حاجی عبدالباقی^۵

- ۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۲- استادیار، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۳- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه نانویوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- ۴- دانشیار، مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران
- ۵- دانشیار، مرکز تحقیقات ایدز، بیمارستان امام خمینی، دانشکده علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۱۴۱۷۱۳۱۱۶، دانشکده تربیت مدرس، گروه ویروس‌شناسی
Email: ravanshad@modares.ac.ir

پذیرش مقاله: ۹۰/۱۱/۱۱

دریافت مقاله: ۹۰/۰۸/۰۳

چکیده

هدف: استفاده از داروهای ضد رتروویروسی تأثیر زیادی در کنترل پیشرفت بیماری ایدز داشته است، اما در سال‌های اخیر به دلیل به وجود آمدن سویه‌های مقاوم به دارو، نگرانی زیادی در درمان مؤثر بیماری به وجود آمده است. هدف از این مطالعه تعیین جهش‌های مقاومت دارویی ژن پروتئاز در بین بیماران تحت درمان و هم‌بیمارانی که دارو دریافت نمی‌کنند، است. **مواد و روش‌ها:** در گروه اول پلاسما ۳۰ بیمار مبتلا به ویروس نقص ایمنی انسان که تحت درمان ضد رتروویروسی نیستند و در گروه دوم پلاسما ۱۶ بیمار مبتلا به ایدز که ترکیب دارویی زیدوودین، لامیوودین و کلاترا دریافت می‌کنند، مورد آزمایش قرار گرفت. پس از استخراج ژنوم، Nested RT-PCR انجام شد و نمونه‌ها پس از تأیید توسط الکتروفورز توالی‌یابی شد و سپس برای تشخیص جهش و تعیین تحت‌تیپ‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. **نتایج:** نتایج نشان داد که در نمونه‌های گروه اول که دارو مصرف نمی‌کنند، هیچ‌گونه جهشی رخ نداده است اما در گروه دوم که تحت درمان هستند ۴۰ درصد مقاومت به مهارکننده‌های پروتئاز وجود دارد. همچنین تعیین تحت‌تیپ‌ها نیز نشان می‌دهد که ۵۰ درصد نمونه‌ها تحت تیپ A، ۴۰/۶ درصد تحت تیپ B، ۶/۲ درصد تحت تیپ D و ۳/۲ درصد تحت تیپ C است. **نتیجه‌گیری:** انتقال سویه‌های مقاوم در بین جامعه از نظر اپیدمیولوژیکی مهم است و تشخیص سریع این سویه‌های مقاوم از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. با توجه به مطالعات دیگران و نتایج مطالعه حاضر بهتر است که به جای کلاترا، یکی دیگر از مهارکننده‌های پروتئازی را جایگزین این دارو نمایند.

کلیدواژه‌گان: ایدز، جهش، مقاومت دارویی، پروتئاز

مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی، دوره ۱۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۰، صفحات: ۱۳-۲۱

مقدمه

داشته است؛ اما در سال‌های اخیر به دلیل به وجود آمدن سویه‌های مقاوم به دارو، نگرانی زیادی در درمان مؤثر بیماری به وجود آمده است [۱].

استفاده از داروهای ضد رترو ویروسی تأثیر زیادی در کنترل پیشرفت بیماری ایدز (Acquired Immunodeficiency Syndrome)

سبب تغییر اسید آمینه می‌شود و می‌تواند باعث ایجاد مقاومت ویروس به مهار کننده‌های پروتئازی شود. این جهش‌ها در دو گروه اصلی یا ماژور (Major Mutations) (جهش‌هایی که سبب ایجاد مقاومت شدید به مهار کننده‌های پروتئاز می‌شود) و مینور (Minor Mutations) (جهش‌هایی که سبب ایجاد مقاومت در سطح پایین به مهار کننده‌های پروتئاز می‌شود) طبقه‌بندی می‌شوند. در گروه اصلی جهش‌ها شامل جهش در کدون‌های L90M و V82A، L76V، I54V، I50V، M46I و در گروه مینور جهش‌ها شامل L24I، V32I، L33F، I47V، G48V، V82I و I84V و N88S است.

هدف از مطالعه حاضر توالی‌یابی کامل ژن پروتئاز و تعیین جهش‌های مقاومت دارویی مرتبط با این ژن در بین بیماران تحت درمان و بیمارانی است که دارو مصرف نمی‌کنند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

این مطالعه براساس یک نمونه‌گیری ساده و از نوع تجربی بود. پلاسمای ۴۶ بیمار مبتلا به ایدز در دو گروه مورد مطالعه قرار گرفت. در گروه اول پلاسمای ۳۰ بیمار عفونت‌یافته با HIV بود که تحت درمان نبوده و تاکنون هیچ دارویی مصرف نکرده بودند. گروه دوم شامل پلاسمای ۱۶ بیمار مبتلا به ایدز تحت درمان با رژیم دارویی زیدودین (Zidovudine)، لامیوودین (Lamivudine) و کلاترا (Kaletra) (لویی ناویر: Lopinavir) بود که داروی کلاترا از گروه داروهای مهار کننده پروتئاز محسوب می‌شود و دو داروی دیگر از داروهای مهار کننده آنزیم نسخه‌بردار معکوس است. بیماران در این گروه یک سال یا بیشتر دارو مصرف کرده بودند و میزان لنفوسیت‌های T دارای CD4 آن‌ها از ۲۵۰-۳۰۰ سلول در هر میلی‌لیتر خون تجاوز نمی‌کرد.

نمونه‌گیری در مرکز تحقیقات ایدز بیمارستان امام خمینی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. قبل از نمونه‌گیری در

فاکتورهای مهم مرتبط با شکست درمان عبارتند از: عدم پایبندی به دارو، تجویز نامناسب دارو [۲]، کاهش آثار فارماکولوژیکی عوامل ضد رتروویروسی و از همه مهم‌تر به‌وجود آمدن جهش‌های مربوط به مقاومت دارویی [۳].

زمانی که ویروس توانایی ادامه تکثیر در حضور داروها را داشته باشد، سویه‌های مقاوم به دارو ایجاد می‌شود [۴]. مقاومت دارویی نتیجه سرکوب ناکامل تکثیر ویروس است [۵]. در حال حاضر تمام سویه‌های این ویروس قادر هستند به تمام داروهای ضد رتروویروسی مقاومت ایجاد کنند [۶].

ایجاد مقاومت دارویی در یک فرد به دو عامل تنوع ژنتیکی و نوترکیبی بستگی دارد. تنوع ژنتیکی در ویروس HIV به دلیل عدم توانایی آنزیم نسخه‌بردار معکوس در تصحیح اشتباهاتش است [۵، ۷].

مطالعات نشان داده‌اند که در ۱۰ درصد از بیمارانی که دارو مصرف می‌کنند پس از گذشت دو سال از درمان، مقاومت دارویی ایجاد می‌شود. همچنین حدود ۳۰ درصد از بیمارانی که حداقل یک جهش مربوط به مقاومت را دارند پس از شش سال دچار شکست درمان می‌شوند [۸].

ویروس‌های مقاوم به دارو می‌توانند از فردی به فرد دیگری منتقل شوند و باعث به‌وجود آمدن یک نگرانی در سطح سلامت عمومی جامع شوند. مطالعات گوناگون، میزان‌های متفاوتی از انتقال سویه‌های مقاوم به دارو از کمتر از ۱۰ درصد در اروپا تا ۱۵ درصد در آمریکای شمالی را گزارش کرده‌اند [۹، ۱۰].

آزمون‌های ژنوتیپی مقاومت دارویی به‌طور گسترده‌ای برای نشان دادن مقاومت‌ها در سطح جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد و یک عامل مهم برای انتخاب نوع رژیم دارویی برای بیماران است [۱۰، ۱۱].

ژنوم ویروس نقص ایمنی انسان (Human Immunodeficiency Virus: HIV) دارای نه ناحیه ژنی است که ژن پروتئاز مربوط به ناحیه ژنی Pol است که بعد از ژن آنزیم نسخه‌بردار معکوس قرار دارد. جهش‌هایی در سطح این ژن رخ می‌دهد که

مقاومت دارویی ویروس نقص ایمنی انسان نوع ۱

اتصال آغازگر (Annealing) در ۵۷ درجه به مدت ۴۰ ثانیه و توسعه رشته‌ها (Extension) در ۷۲ درجه به مدت ۵۵ ثانیه و سپس توسعه نهایی رشته‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد. در دور دوم بافر ۱/۲x PCR، ۲/۲۵ میلی‌مولار $MgCl_2$ ، ۰/۲ میلی‌مولار dNTP، ۰/۳ میکرولیتر از آغازگرهای (۱۲/۵ میکرومولار) دور دوم، ۱ واحد آنزیم TaqDNA پلیمرز و ۳/۵ میکرولیتر cDNA در حجم ۲۵ میکرولیتر با برنامه زمانی ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل باز شدن دو رشته در ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در ۵۸ درجه به مدت ۳۵ ثانیه و توسعه رشته‌ها در ۷۲ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و سپس توسعه نهایی رشته‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

در دور اول طول قطعه حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ۶۵۶ نوکلئوتید و در دور دوم که از آغازگرهای داخلی استفاده شد طول قطعه نهایی ۵۱۴ نوکلئوتید بود. توالی آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه در جدول ۱ آمده است. پس از تخلیص نمونه‌ها از ژل توسط کیت Bioneer کره، توالی‌یابی به صورت دو طرفه با دستگاه ABI 3700 DNA analyzer automated انجام شد (شکل ۱).

جدول ۱ توالی آغازگرهای استفاده شده در دور اول و دوم

	محل اتصال آغازگر	آغازگرهای دور اول
رشته سنس	نوکلئوتید ۱۶۲۴	5' AGG CTA ATT TTT TAG GGAAGA TCT 3'
آنتی سنس	نوکلئوتید ۲۲۵۷ (طول قطعه: ۶۵۶ نوکلئوتید)	5' GCA AAT ACTGGAGTATTG TATGGA 3'
آغازگرهای دور دوم		
رشته سنس	نوکلئوتید ۱۶۸۲	5' TCAGAGCAGACCAGCCAACAGC 3'
آنتی سنس	نوکلئوتید ۲۱۷۳ (طول قطعه: ۵۱۴ نوکلئوتید)	5' AAT GCT TTT ATT TTT TCT TCT GTC 3'

مربوط به دانشگاه استنفورد [http://hivdb.stanford.edu] نسخه ۴/۲/۶ مورد تجزیه و تحلیل و تفسیر برای تعیین جهش‌های مربوط به مقاومت دارویی و تعیین تحت‌تیپ‌ها، قرار گرفت.

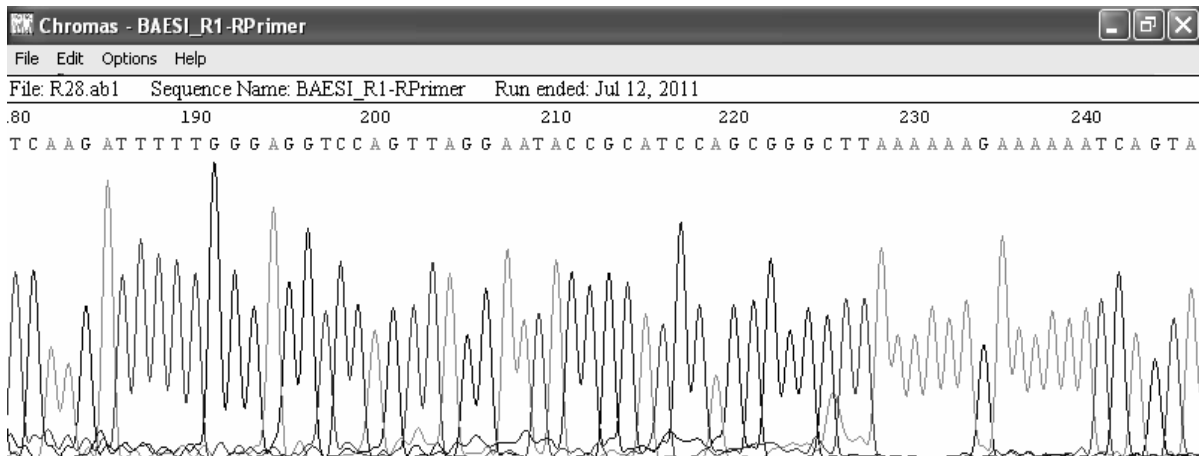
ابتدا با تأییدیه کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، هدف این پژوهش برای تمام بیماران توضیح داده شد و فرم رضایت‌نامه را تکمیل و تأیید نمودند.

Nested RT-PCR و توالی‌یابی

استخراج ژنوم توسط کیت QIAamp viral RNA mini kit شرکت Qiagen آلمان انجام شد. از آنجایی که این ویروس، یک ویروس RNA دار است، بنابراین پس از استخراج ژنوم، قبل از تکثیر طی فرایند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) می‌بایست RNA ویروس تبدیل به cDNA شود. برای ساخت cDNA از آغازگر (Primer) اختصاصی استفاده شد. پس از این مرحله، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز آشیانه‌ای (Nested PCR) در دو دور انجام شد. دور اول در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی PCR 1X بافر، ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$ ، ۰/۲ میلی‌مولار dNTP، ۰/۳ میکرولیتر از آغازگرهای (۱۲/۵ میکرومولار) دور اول، ۱ واحد آنزیم TaqDNA پلیمرز و ۵ میکرولیتر cDNA تحت برنامه زیر در دستگاه ترموسایکلر (ABI) انجام گرفت: ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل باز شدن دو رشته (Denaturation) در ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه،

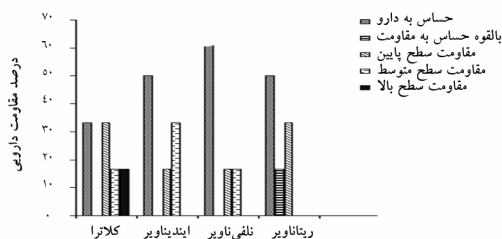
تجزیه و تحلیل مقاومت دارویی و تعیین تحت‌تیپ‌ها

توالی‌ها در ابتدا توسط نرم‌افزار BioEdit مورد ویرایش قرار گرفت و پس از این مرحله، توالی‌ها در بانک اطلاعاتی HIV Drug Resistance Database HIVdb



شکل ۱ قطعه‌ای از توالی ژن RT

بودن میزان بار ویروسی در فرد بیمار است؛ اما در گروه اول که دارو دریافت نمی‌کردند تمام نمونه‌ها مثبت شدند. در گروه اول تحت مطالعه، ۳۰ نمونه بیماری‌زایی بودند که دارو دریافت نمی‌کنند. نتایج تجزیه و تحلیل جهش‌ها نشان داد که در این گروه هیچ‌گونه جهشی مربوط به مقاومت دارویی وجود نداشت.



نمودار ۱ میزان مقاومت دارویی به مهارکننده‌های پروتئاز در بین بیماران گروه دوم تحت مطالعه

در گروه تحت درمان ۴۰ درصد نمونه‌ها دارای مقاومت به داروهای مهارکننده پروتئاز بودند که از این میان ۴/۲ درصد مقاومت سطح بالا (High Level Resistance)، ۱۶/۶ درصد مقاومت سطح متوسط (Intermediate Level Resistance)، ۲۵ درصد مقاومت سطح پایین (Low Level Resistance)، ۴/۲ درصد پتانسیل مقاومت به سطح پایین و ۵۰ درصد به مهار

نتایج

در بین بیماران تحت مطالعه، ۳۶ نفر مرد (۷۹درصد) و ۱۰ نفر زن (۲۱ درصد) بودند که میانگین سنی آنها بین ۲۵ تا ۳۰ سال بود. همان‌گونه که در جدول ۲ آورده شده است، در این پژوهش براساس داده‌های موجود در پرونده بیماران که در مرکز تحقیقات ایدز موجود است، ۶۱ درصد بیماران تحت مطالعه از طریق تزریق مواد مخدر و استفاده از سرنگ آلوده، ۱۹/۵ درصد از طریق جنسی، ۶/۵ درصد از طریق فرآورده‌های خونی و ۱۳ درصد از راه‌های ناشناخته مبتلا به بیماری ایدز شده‌اند.

جدول ۲ راه‌های انتقال عفونت HIV در بیماران تحت مطالعه

راه انتقال	تعداد	درصد
تزریق مواد مخدر و استفاده از سرنگ آلوده	۲۸ نفر	۶۱
جنسی	۹ نفر	۱۹/۵
فرآورده‌های خونی	۳ نفر	۶/۵
راه‌های ناشناخته	۶ نفر	۱۳

نتیجه آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای یکی از بیماران گروه دوم که تحت درمان است، منفی شد و هیچ بانندی در روی ژل الکتروفورز مشاهده نشد که احتمالاً به دلیل پایین

بحث

ویروس‌های مقاوم به دارو می‌توانند از فردی به فرد دیگری منتقل شوند و باعث به‌وجود آمدن یک نگرانی در سطح سلامت عمومی جامع شوند. مطالعات گوناگون میزان‌های متفاوتی از انتقال سویه‌های مقاوم به دارو را از کمتر از ۱۰ درصد در اروپا تا ۱۵ درصد در آمریکای شمالی گزارش کرده‌اند [۹، ۱۰]. با توجه به اهمیت بسیار بالای انتقال سوش‌های مقاوم در بین جامعه از نظر اپیدمیولوژیکی و تشخیص سریع این سوش‌های مقاوم در افراد و جلوگیری از انتقال به دیگران و ایجاد گردش سویه‌های مقاوم در جامعه، در مطالعه حاضر نمونه پلاسمای ۳۰ بیمار مبتلا به عفونت HIV که تاکنون هیچ داروی ضد رتروویروسی دریافت نکرده‌اند برای حضور یا عدم حضور جهش‌های مربوط به مقاومت دارویی ژن پروتئاز مورد آزمایش قرار گرفت که نتایج نشان داد هیچ‌گونه مقاومتی در این بیماران وجود ندارد.

در این مطالعه مشخص شد که در گروه درمان که در رژیم دارویی آن‌ها از کلاترا به‌عنوان مهارکننده پروتئازی استفاده می‌شود، ۴۰ درصد نمونه‌ها به کلاترا و دیگر داروهای مهارکننده پروتئاز موجود در ایران [نلفی ناویر (Nelfinavir)، ایندیناویر (Indinavir) و ریتوناویر (Ritonavir)] مقاومت دارویی دارند.

با توجه به این‌که آزمایش تعیین مقاومت دارویی برای این بیماران تاکنون انجام نشده است، نمی‌توان به درستی بیان کرد که این جهش‌ها پس از مصرف دارو در فرد بیمار ایجاد شده است. ممکن است این جهش‌ها در ویروسی که در ابتدا وارد بدن فرد شده است، وجود داشته‌اند که در آن صورت باید گفت که فرد با یک ویروس مقاوم به دارو مبتلا به عفونت شده است.

مطالعات نشان داده است که دو مسیر برای ایجاد مقاومت به کلاترا وجود دارد، یکی مسیری شبیه به مسیر ایجاد مقاومت به ایندیناویر که به‌وسیله جهش‌های M46I/L، I54V/L/M/A، I54V/L/M/A، V82A/T/F/S، ایجاد می‌شود [۱۲، ۱۳] و دیگری مسیری شبیه به مسیر فوسامپریناویر (Fosamprenavir) که به‌وسیله

کننده‌های پروتئاز حساس بودند و ۶۰ درصد نمونه‌ها هیچ‌گونه مقاومتی نداشته و به داروهای مهارکننده پروتئاز حساس بودند. (نمودار ۱).

جدول ۳ جهش‌هایی که باعث ایجاد مقاومت دارویی به مهارکننده‌های پروتئاز می‌شوند.

جهش‌های اصلی	درصد	جهش‌های مینور	درصد
M46I	۴۷	V32I	۵۸
I50V	۲۲	I47V	۳۷
I54V	۳۰	G48V	۶۳
V82A	۱۷	V82I	۲۸
L90M	۵۳	I84V	۱۷
-	-	N88S	۱۷

مهم‌ترین جهش‌های اصلی که در بیماران تحت مطالعه رخ داد و مشخص شد که باعث ایجاد مقاومت به داروها شده‌اند شامل I54V، M46I، V82A، L90M و I54V بود. مهم‌ترین جهش‌های مینور نیز که در این بیماران رخ داده‌اند و سبب مقاومت شده‌اند، جهش در کدون‌های V32I، I47V، V82I، I84V، N88S و G48V بود که میزان شیوع آن‌ها در جدول ۳ آورده شده است.

تجزیه و تحلیل تحت‌تیپ‌ها به‌طور همزمان با تجزیه و تحلیل جهش‌ها انجام شد که نتایج نشان داد، ۵۰ درصد نمونه‌ها تحت تیپ A، ۴۰/۶ درصد تحت تیپ B، ۶/۲ درصد تحت تیپ D و ۳/۲ درصد تحت تیپ C هستند. جهش‌های مقاومت دارویی بیشتر در تحت تیپ A (۵۸ درصد) و تحت تیپ B (۲۶ درصد) شناسایی شدند. (جدول ۴)

جدول ۴ تجزیه و تحلیل تحت‌تیپ‌ها و نوع جهش‌های شناسایی شده در این مطالعه

تحت تیپ	درصد	جهش‌های شناسایی شده
A	۵۸	M46I, I50V, I54V, V82A, L90M, V32I, I47V, G48V, V82I, I84V, N88S
B	۲۶	M46I, I50V, I54V, L90M, V32I, I47V, G48V, V82I, I84V, N88S
D	۱۶	M46I, I50V, I54V, V32I, I47V, G48V, V82I, I84V

ترکیبی از دو مهار کننده نوکلئوزیدی آنزیم نسخه‌بردار معکوس به اضافه یک مهار کننده غیر نوکلئوزیدی آنزیم نسخه‌بردار معکوس است در مقایسه با رژیم‌های دارویی که ترکیبی از دو مهار کننده نوکلئوزیدی آنزیم نسخه‌بردار معکوس به اضافه یک مهار کننده پروتئازی است، بیشتر جهش‌های M184V و K65R رخ می‌دهد. این جهش‌ها باعث ایجاد مقاومت سطح بالا به مهار کننده‌های نوکلئوزیدی آنزیم نسخه‌بردار معکوس به‌ویژه لامیوودین می‌شود [۸].

در بین ۴۰ درصد بیماری که در گروه دوم تحت مطالعه دارای جهش‌های مربوط به مقاومت دارویی بودند، همان‌طور که در نتایج آورده شد ۵۸ درصد نمونه‌ها تحت تیپ A، ۲۶ درصد تحت تیپ B و ۱۶ درصد تحت تیپ D بودند اما به دلیل تعداد کم نمونه‌های دارای جهش، نمی‌توان به‌طور دقیق بیان کرد که ارتباطی بین تحت‌تیپ‌ها و جهش‌ها در این مطالعه وجود دارد. برای این هدف باید مطالعات بیشتری در آینده انجام شود.

با توجه به مطالعات دیگران و نتایج این مطالعه، پیشنهاد می‌شود که به جای جایگزینی یکی از مهار کننده‌های غیر نوکلئوزیدی آنزیم نسخه‌بردار معکوس با کلآترا، یکی دیگر از مهار کننده‌های پروتئازی را جایگزین این دارو نمایند.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری رشته ویروس‌شناسی و با حمایت مالی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

جهش‌های I50V, I47A/V, V32I, L76V ایجاد می‌شود [۱۳-۱۵].

در یک نمونه مقاومت به لوی‌ناویر (کلآترا)، مقاومت در سطح بالا است که این مقاومت به دلیل جهش‌های ایجاد شده در کدون‌های I84V, V82A, I54V, M46I, L90M و I84V است. جهش‌های I54V, M46I, V82A، در گروه جهش‌های اصلی ایجاد مقاومت به کلآترا هستند. زمانی که این ۳ جهش با هم رخ دهد سبب ایجاد مقاومت در سطح متوسط به کلآترا می‌شود [۱۶].

جهش‌های I84V و L90M در گروه جهش‌های مینور قرار دارند. این جهش‌ها وقتی با یکدیگر رخ دهند سبب ایجاد مقاومت در سطح پایین به دارو می‌شود اما مطالعات دیگری نشان داده است که در صورت همراهی این جهش‌ها با جهش‌های گروه اصلی مقاومت به کلآترا در سطح بالا ایجاد می‌شود [۱۷].

در نمونه دیگری مقاومت به کلآترا در سطح متوسط ایجاد شده است که در این نمونه جهش‌های I47A و V32I رخ داده است. در این‌جا نیز مطالعات نشان داده است که جهش I47A به‌ندرت رخ می‌دهد [۱۸] ولی اگر به همراه جهش V32I اتفاق افتد، سبب ایجاد مقاومت در سطح متوسط به کلآترا می‌شود [۱۹، ۲۰].

در ایران مطالعه دیگری توسط دکتر همکار (Hamkar) و همکارانش [۲۱] در مورد مقاومت دارویی HIV انجام شده است که در آن مطالعه مقاومت به مهار کننده‌های پروتئاز ۴۵ درصد گزارش شده است که این میزان تقریباً با میزان مقاومت به‌دست آمده در مطالعه حاضر (۴۰ درصد) همخوانی دارد. به هر حال بررسی‌ها نشان داده است که در رژیم‌های دارویی که

منابع

- [1] Clavel F, Hance AJ. HIV drug resistance. *N Engl J Med* 2004; 350(10): 1023-35.
- [2] Palma AC, Araújo F, Duque V, Borges F, Paixão MT, Camacho R; Portuguese SPREAD Network. Molecular epidemiology and prevalence of drug resistance-associated mutations in newly diagnosed HIV-1 patients in Portugal. *Infect Genet Evol* 2007; 7(3):391-8.
- [3] Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995; 267(5197): 483-9.

- [4] Steegen K, Demecheleer E, De Cabooter N, Nges D, Temmerman M, Ndumbe P, Mandaliya K, Plum J, Verhofstede C. A sensitive in-house RT-PCR genotyping system for combined detection of plasma HIV-1 and assessment of drug resistance. *J Virol Methods* 2006; 133(2): 137-45.
- [5] Clark SA, Calef C, Mellors JW. Mutations in Retroviral Genes Associated with Drug Resistance. 2005; <http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/RESDB/>
- [6] Van Vaerenbergh K. Study of the impact of HIV genotypic drug resistance testing on therapy efficacy. *Verh K Acad Geneesk Belg* 2001; 63(5): 447-73.
- [7] Shafer RW, Kantor R, Gonzales MJ. The Genetic Basis of HIV-1 Resistance to Reverse Transcriptase and Protease Inhibitors. *AIDS Rev* 2000; 2(4): 211-228.
- [8] 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. *Clin Infect Dis* 2008; 47(5): 712-22.
- [9] Babic DZ, Zelnikar M, Seme K, Vandamme AM, Snoeck J, Tomazic J, Vidmar L, Karner P, Poljak M. Prevalence of antiretroviral drug resistance mutations and HIV-1 non-B subtypes in newly diagnosed drug-naïve patients in Slovenia, 2000-2004. *Virus Res* 2006; 118(1-2): 156-63.
- [10] Chen JH, Wong KH, Chan K, Lam HY, Lee SS, Li P, Lee MP, Tsang DN, Zheng BJ, Yuen KY, Yam WC. Evaluation of an in-house genotyping resistance test for HIV-1 drug resistance interpretation and genotyping. *J Clin Virol* 2007; 39(2): 125-31.
- [11] Hirsch MS, Brun-Vézinet F, D'Aquila RT, Hammer SM, Johnson VA, Kuritzkes DR, Loveday C, Mellors JW, Clotet B, Conway B, Demeter LM, Vella S, Jacobsen DM, Richman DD. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2000; 283(18): 2417-26.
- [12] Kempf DJ, Isaacson JD, King MS, Brun SC, Xu Y, Real K, Bernstein BM, Japour AJ, Sun E, Rode RA. Identification of genotypic changes in human immunodeficiency virus protease that correlate with reduced susceptibility to the protease inhibitor lopinavir among viral isolates from protease inhibitor-experienced patients. *J Virol* 2001; 75(16): 7462-9.
- [13] Vermeiren H, Van Craenenbroeck E, Alen P, Bachelier L, Picchio G, Lecocq P; Virco Clinical Response Collaborative Team. Prediction of HIV-1 drug susceptibility phenotype from the viral genotype using linear regression modeling. *J Virol Methods* 2007; 145(1): 47-55.
- [14] Delaugerre C, Flandre P, Chaix ML, Dellamonica P, Raffi F, Jager H, Schurmann D, Ngo Van, Norton M, Cohen Codar I, Delfraissy JF, Rouzioux C. Protease gene mutations in a trial comparing first-line lopinavir/ritonavir monotherapy to lopinavir/ritonavir + zidovudine/lamivudine (Monark Trial). *Antivir Ther* 2007; 12: S83. (abstract no. 75)
- [15] Nijhuis M, Wensing AMJ, Bierman W, de

- Jong D, van Rooyen WJM, Katan R, Jaspers C, Schurink K, Lu L, Pilot-Matias T, Molla A, van Agtmael MA, Boucher CAB. A novel genetic pathway involving L76V and M46I leading to lopinavir/r resistance. *Antivir Ther* 2007; 12: S140. (abstract no. 127)
- [16] Grant P, Wong EC, Rode R, Shafer R, De Luca A, Nadler J, Hawkins T, Cohen C, Harrington R, Kempf D, Zolopa A. Virologic response to lopinavir-ritonavir-based antiretroviral regimens in a multicenter international clinical cohort: comparison of genotypic interpretation scores. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(11): 4050-6.
- [17] Rhee SY, Taylor J, Wadhwa G, Ben-Hur A, Brutlag DL, Shafer RW. Genotypic predictors of human immunodeficiency virus type 1 drug resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(46): 17355-60.
- [18] Parkin NT, Chappey C, Petropoulos CJ. Improving lopinavir genotype algorithm through phenotype correlations: novel mutation patterns and amprenavir cross-resistance. *AIDS* 2003; 17(7): 955-61.
- [19] Friend J, Parkin N, Liegler T, Martin JN, Deeks SG. Isolated lopinavir resistance after virological rebound of a ritonavir/lopinavir-based regimen. *AIDS* 2004; 18(14): 1965-6.
- [20] Kagan RM, Shenderovich MD, Heseltine PN, Ramnarayan K. Structural analysis of an HIV-1 protease I47A mutant resistant to the protease inhibitor lopinavir. *Protein Sci* 2005; 14(7): 1870-8.
- [21] Hamkar R, Mohraz M, Lorestani S, Aghakhani A, Truong HM, McFarland W, Banifazl M, Eslamifar A, Foroughi M, Pakfetrat A, Ramezani A. Assessing subtype and drug-resistance-associated mutations among antiretroviral-treated HIV-infected patients. *AIDS* 2010; 24 Suppl 2: S85-91.