

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/250306026>

Detection of the YMDD Motif Mutations Rate in Chronic Hepatitis B Patients Treated with Lamivudine

Article · January 2011

CITATIONS

0

READS

29

5 authors, including:



[Ali Pouryasin](#)

Armin Pathobiology Laboratory & Islamic Aza...

25 PUBLICATIONS 95 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Heidar Sharafi](#)

Middle East Liver Disease Center

62 PUBLICATIONS 205 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Molecular Tracing of Hepatitis C Virus Genotype 1 Isolates in Iran: A NS5B Phylogenetic Analysis [View project](#)



Occult Hepatitis C [View project](#)

All content following this page was uploaded by [Heidar Sharafi](#) on 15 June 2017.

The user has requested enhancement of the downloaded file. All in-text references underlined in blue are added to the original document and are linked to publications on ResearchGate, letting you access and read them immediately.

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

رقیه احسانی^۱, رباب رفیعی طباطبایی^۲, علی پوریاسین^۳, عبدالرضا سودبخش^۴, 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.

^۴ دانشیار بیماری‌های عفونی، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

^۵ دانشجوی کارشناس ارشد همایوپلوزی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: لامیوودین اولین آنانلوگ نوکلئوزیدی است که به منظور مداوای بیماران هپاچیت B مزمن به کار گرفته می‌شود. این دارو در مهار همانندسازی ویروس هپاچیت B و کاهش فعالیت بیماری مؤثر است. اما مهم ترین 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 آمنو اسیدی در موتیف YMDD پلیمراز ویروس رخ داده است. هدف این مطالعه بررسی فراوانی جهش‌های موتیف YMDD در بیماران هپاچیت B مزمن تحت درمان با لامیوودین می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه، ۵۶ بیمار هپاچیت مزمن که پیشتر اینترفرون و یا آنانلوگ نوکلئوزیدی/نوکلئوتیدی دریافت نکرده بودند و حداقل برای ۶ ماه تحت درمان با لامیوودین قرار داشتند، بررسی شدند. ابتدا DNA ویروس هپاچیت 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 هپاچیت B در سرم بیماران به روش PCR کمی مشخص شد.

یافته‌ها: ۵۶ بیمار هپاچیت B مزمن (۳۹ مرد و ۱۷ زن) با میانگین سنی $۳۴/۱۲\pm ۱۳/۶$ سال بررسی شدند. در ۱۵ بیمار (۲۶٪) از ۵۶ بیمار، جهش‌های موتیف YMDD در ژن پلیمراز ویروس هپاچیت B مشاهده گردید. جهش‌ها در ۸ بیمار (۱۴٪) به صورت YIDD و در ۷ بیمار (۱۲٪) به صورت YVDD بود. جهش سرین در موتیف YMDD در هیچ یک 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 هپاچیت B مزمن در کشور ایران متداول است (۲۶٪). 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 هپاچیت B مزمن تعیین کند.

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

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشگاه آزاد اسلامی تهران واحد شمال، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی: rrtabatabaei@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۲۷۳۶۱۳۵۲

تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/۱۸

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۵

مقدمه

میلیون حامل مزمن ویروس هپاچیت B (Hepatitis B Virus) در

سراسر جهان وجود دارد (۱) که جان ۴۰-۱۵٪ این بیماران به علت امکان پیشرفت بیماری به سمت سیروز و سرطان کبد به خطر

جهان است. طبق برآورد سازمان بهداشت جهانی حدود ۳۵۰

جهش یافته موتیف YMDD، این مطالعه با هدف تعیین فراوانی چین رخدادی در بین بیماران هپاتیت B مزمن تحت درمان با لامیوودین صورت گرفت.

روش بردسی

در این مطالعه توصیفی- مقطعی (Cross-Sectional)، نمونه‌های سرمی ۵۶ بیمار هپاتیت B مزمن مراجعه کننده به آزمایشگاه تشخیص طبی قلهک تهران، جمع آوری شد. تمام بیماران بین ۶ ماه الی ۷ سال تحت درمان با لامیوودین قرار داشتند، و پیش از آن ایترفرون و یا سایر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی / نوکلئوتیدی را دریافت نکرده بودند. تمام بیماران مورد بررسی بیش از ۶ ماه QIAamp[®] DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) بیماران با استفاده از کیت (Qiagen, Hilden, Germany) استخراج گردید. به منظور تعیین جهش‌های موتیف YMDD، قطعه ژن مربوطه از ژن پلیمراز ویروسی به وسیله 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) ستر گردید.

Hbad-F: 5'-CTCGAGGATTGGGGACCCCTG-3'
Hbad-R: 5'-TGGTAACAGCGGTAAAAAGGGAC-3'
واکنش PCR با حجم نهایی ۱۰۰ μl بهینه‌سازی شد. در هر واکنش ۲۰ μl ویروس (به عنوان الگو)، هر پرایمر به غلظت M_{0/2} μM، dNTP ۱/۵ mM MgCl₂ (Qiagen, Hilden, Germany) به غلظت ۱/۵ mM (Qiagen, Hilden, Germany) Taq DNA Polymerase (Qiagen, Hilden, Germany) استفاده گردید. برنامه حرارتی مورد استفاده برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) طبق جدول شماره ۱ می‌باشد.

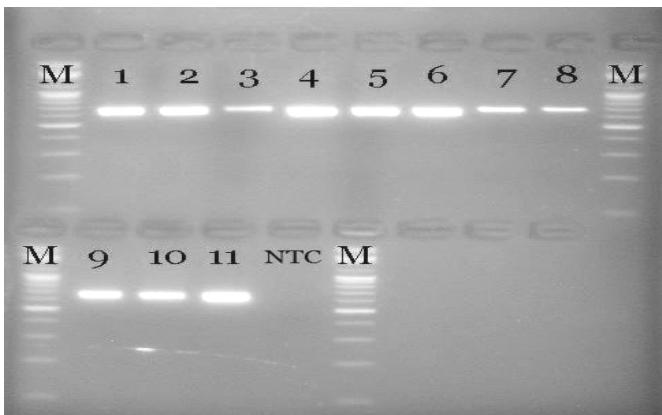
جدول شماره ۱: برنامه حرارتی مورد استفاده به منظور تکثیر قطعه حاوی موتیف YMDD از ژن پلیمراز HBV

مراحل	درجه حرارت (سانتی گراد)	زمان
Initial Denaturation	۹۴	۵ دقیقه
Denaturation	۹۴	۴۰ ثانیه
Annealing	۵۵	۴۰ ثانیه
Extention	۷۲	۴۰ ثانیه
Final Extention	۷۲	۱۰ دقیقه

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:

Tenofovir، Adefovir، Telbivudine، Entecavir، Lamivudine می‌باشد (۴). درمان به وسیله آنالوگ‌های نوکلئوزیدی / نوکلئوتیدی گام بزرگی در درمان بیماران هپاتیت B مزمن محسوب می‌شود؛ زیرا در اکثر بیماران مفید واقع شده است (۵). لامیوودین (Dideoxy-3'-L-2',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 عملهای که در استفاده از لامیوودین وجود دارد؛ پیدایش سویه‌های جهش یافته مقاوم به دارو است. به گونه‌ای که در ۳۲-۴۳٪ بیماران پس از یک سال درمان، جهش‌های منجر به مقاومت دارویی در ژنوم ویروس رخ می‌دهد، و با افزایش مدت زمان مصرف دارو خطر پیدایش مقاومت نیز افزایش می‌یابد (۸-۱۰). اساس پیدایش سویه‌های مقاوم به لامیوودین، وقوع جهش در ژن پلیمراز ویروس است که منجر به تغییر آلانین آسیدی در موتیف YMDD (تیروزین- متیونین- آسپارتات- آسپارتات) می‌شود. این موتیف که در موقعیت کدون‌های ۲۰۳-۲۰۶ دومین ریورس ترانس کریپتاز از ژن پلیمراز ویروسی قرار دارد، بخشی از جایگاه فعال آنزیم پلیمراز ویروس و محل اثر لامیوودین است (۱۱، ۱۲). تغییر آلانین آسیدی به صورت تبدیل متیونین به ایزوولوسین (rtM204I, YIDD) و یا والین (rtM204S, YSDD) (۱۳) و ندرتاً سرین (YVDD) می‌باشد (۱۴). با پیدایش سویه‌های مقاوم به لامیوودین ابتدا میزان ویروس، سپس آلانین آمینو ترانسفراز سرم بیماران افزایش یافته که در نهایت به شدت 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 گرینه‌های درمانی را مختل می‌کند (۱۶، ۱۷). لذا با توجه به اهمیت بالینی شناسایی سویه‌های

SPSS نسخه ۱۵ تجزیه و تحلیل شدند و $p < 0.05$ سطح معنی‌دار اختلاف‌ها در نظر گرفته شد.



شکل شماره ۱: الکتروفورز مخصوص PCR بر روی ژل آگارز ۱٪ با بافر ۶۷۹bp (Tris-Boric Acid-EDTA) جداسازی شد. حضور قطعه ۶۷۹bp نشان‌دهنده صحبت انجام PCR بوده است (شکل شماره ۱)، سپس قطعه تکثیر شده از ژن پلیمراز ویروسی مستقیماً توالی یابی گردید. توالی یابی PCR توسط کیت توالی یاب (ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kits, Version 3.1, Foster City, CA, USA) (Model 3130, Applied Biosystems) دستگاه توالی یاب اتوماتیک ABI 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 کمی توسط کیت HBV Artus Kit (Qiagen, Hilden, Germany) Artus 3000 Real-Time PCR (Corbett Research, New South Wales, Australia) تعیین شد. داده‌ها با استفاده از برنامه نرم‌افزار مارکر (Bioneer, Korea)، مارکر بدون الگو (NTC) میزان ویروس (تعداد کپی در میلی لیتر) میانگین (انحراف استاندارد) میانگین (انحراف استاندارد) تعداد کل بیماران = ۴ (۰.۷۳/۳)٪

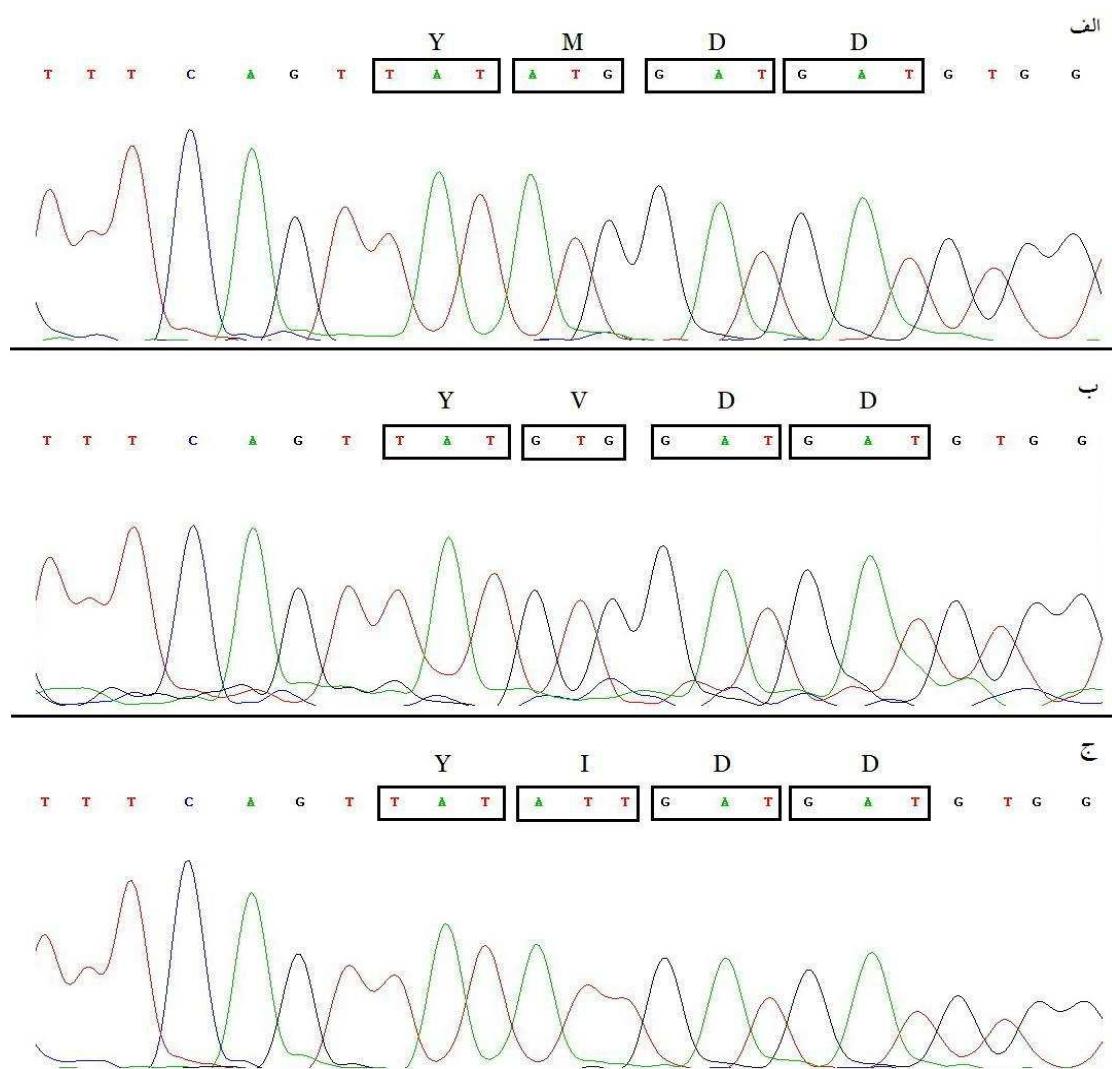
نتایج آزمون	جهش در موتیف YMDD و مشخصات دموگرافیک			جهول شماره ۲: توزیع بیماران مبتلا به هپاتیت B براساس جهش در موتیف YMDD		
	گروه دارای جهش	تعداد کل بیماران = ۱۵ (۰.۲۶/۷)	متغیرها	گروه بدون جهش	تعداد کل بیماران = ۴ (۰.۷۳/۳)٪	متغیرها
مقایسه گروه‌ها	میانگین (انحراف استاندارد)	متغیرها	میانگین (انحراف استاندارد)	میانگین (انحراف استاندارد)	متغیرها	میانگین (انحراف استاندارد)
	تعداد (درصد)		تعداد (درصد)	تعداد (درصد)		تعداد (درصد)
t=-۸/۶۴۳	۲(٪۲۰)	زن	جنسيت	۱۴(٪۴۴)	زن	جنسيت
p=۰.۰۳	۱۲(٪۸۰)	مرد		۲۷(٪۵۶)	مرد	
t= ۰/۰۷۱	۳۳±۱۱/۴۱	(سن (سال))		۳۴/۲±۱۴/۴۳	(سن (سال))	
P=۰/۷۱۲						
t=۰/۰۸۵۵	۴۲۰.۷۶۰±۱۰۳۴۵۷۶	میزان ویروس (تعداد کپی در میلی لیتر)		۲۲۰.۸۴۷±۷۴۹۳۴۲/۵	میزان ویروس (تعداد کپی در میلی لیتر)	
P=۰/۳۹۶						
t=۱/۸۶۱	۲/۸±۲/۰۵	مدت زمان مصرف دارو (سال)		۱/۶±۲/۴۶	مدت زمان مصرف دارو (سال)	
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 YMDD در ژنوم ویروس هپاتیت B دچار جهش شده و به صورت YIDD یا YVDD یا YVDD در آمده است (جهش یافته‌های مقاوم به لامیوودین).

جهش یافته در هیچ یک از بیماران، مشاهده نشد (جدول شماره ۲). کدنون طبیعی متیونین موقعیت ۲۰۴، دومین ریورس ترانس کریپتاز پروتئین پلیمراز ویروس که ATG می‌باشد در تمام بیماران حاوی جهش GTG به rtM204V تبدیل شده بود؛ در حالی که در ۷ بیمار حاوی جهش rtM204I به ATT تبدیل شده بود و تنها در یک بیمار تبدیل به ATA صورت گرفت (شکل شماره ۲).

یافته‌ها

در این مطالعه، از ۵۶ بیمار مورد بررسی با متوسط سنی ۳۴/۱۲±۱۳/۶ 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٪) به صورت YSDD و ۷ بیمار (۱۲/۵٪) به صورت YVDD بودند.



شکل شماره ۲: نتایج توالی‌بایی مستقیم موتیف YMDD در ژن پلیمراز ویروس هپاتیت B

الف: ویروس هپاتیت B بدون جهش، ب: ویروس هپاتیت B دارای جهش YIDD

ج: ویروس هپاتیت B دارای جهش YMDD

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 مختلف تحت درمان با لامیوودین قرار داشتند. Masaadeh با بررسی فراوانی مقاومت دارویی بیماران هپاتیت B مزمن در کشور اردن که تحت درمان با لامیوودین به مدت ۱-۱۳ سال قرار داشتند، نشان دادند در ۳۱٪ این بیماران ویروس‌های جهش یافته 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

بحث

درمان کوتاه‌مدت با داروی لامیوودین در پاکسازی کامل ویروس از سرم بیمار کافی نیست و درمان طولانی مدت با پیدایش سویه‌های جهش یافته مقاوم به دارو همراه است (۱۸). براساس مطالعات پیشین این مقاومت با تغییر در موتیف YMDD مرتبط می‌باشد. در حال حاضر، لامیوودین به طور رایج در ایران به منظور مداوای بیماران هپاتیت B مزمن تجویز می‌شود (۱۹). در این مطالعه با بررسی ۵۶ بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن، در ۱۵ بیمار (۲۶٪) 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 مشاهده شده در این مطالعه با تحقیقات صورت گرفته

یابد، از لحظه بالینی به عنوان Rebound Viral نامیده شده و احتمال پیدایش مقاومت دارویی در این مرحله وجود دارد و باید ژن پلیمراز ویروس از نظر جهش‌های ایجاد‌کننده مقاومت دارویی به وسیله آزمایشات مولکولی بررسی گردد (۲۱)، در صورتی که 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 ابتدایی تر شناسایی شود، بیمار شناس 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، اندازه گیری میزان ویروس و سطح آلانین آمینو ترانسفراز سرم، بیماران را در طی ۲ سال اول مداوا هر ۳ ماه یکبار و از سال دوم به بعد هر ۳ ماه یکبار لحظه کرده و در صورت مشاهده Rebound Viral، شناسایی جهش‌های احتمالی در ژن پلیمراز ویروس را به روش مولکولی مدنظر قرار دهن. 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 کار گیری در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می‌تواند کمک شایان توجیهی به بهبود راهکارهای درمانی انتخاب شده توسط پزشکان برای درمان بیماران هپاتیت B بنماید.

نتیجه گیری

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 (۷/۲۶٪)، لذا تشخیص مقاومت دارویی با استفاده از تکنیک‌های مولکولی در مراحل اولیه پیدایش، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و در صورت به کار گیری در زمان مناسب می‌تواند به تشخیص زودهنگام مقاومت دارویی بینجامد. 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.

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 ($p < 0.003$). همچنین مقایسه متوسط مدت زمان مصرف دارو در بیماران بدون جهش نشان داد متوسط مدت زمان مصرف دارو در بیماران دارای جهش به طور معنی‌داری از گروه بدون جهش بیشتر است ($p < 0.04$)، و تنها در یک بیمار که زیر یک سال 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 Telbivudine، Entecavir دیگر داروهای نوکلئوزیدی مانند YMDD در می‌انجامد، لذا بررسی فراوانی جهش‌یافته‌های موتیف YMDD در بیماران هپاتیت B مزمن از لحظه بالینی حائز 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 لحظه 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) رسد، ولی کاملاً از سرم بیمار حذف نمی‌شود و این بیماران مستعد پیدایش مقاومت دارویی هستند، و باید به دقت توسط پزشک تحت نظر قرار گیرند و هر ۳ ماه یکبار میزان ویروس و سطح آلانین آمینو ترانسفراز سرم بیمار اندازه گیری 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 پایین ترین حد خود (Nadir Value) حداقل به میزان $10^{-\log_{10}} \geq 1.0$ برابر افزایش

تشکر و قدردانی

محترم مرکز تحقیقات مولکولی آزمایشگاه قلهک تهران، همچنین

شرکت کاوش فن آور کوثر به دلیل تعیین توالی تقدیر می گردد.

بدین وسیله از جناب آقای دکتر ابراهیم کلاتر مهرجردی و پرسنل

References:

- [Hanazaki K. Antiviral Therapy for Chronic Hepatitis B: A Review. Curr Drug Targets Inflamm Allergy 2004;3:63-70.](#)
- [Gane MD, Prince AM. Hepatitis B Virus Infection-Natural History and Clinical Consequences. N Engl J Med 2004;350\(11\):1118-29.](#)
- [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 Intern Med 1993;119:312-23.](#)
- [Ghany MG, Doo EC. Antiviral Resistance and Hepatitis B Therapy. Hepatology 2003;49:174-84.](#)
- [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.](#)
- [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.](#)
- [Li MW, Hou W, Wu JE, Liu KZ. Character of HBV \(Hepatitis B Virus\) Polymerase Gene rtM204V/I and rtM180L Mutation in Patients with Lamivudine Resistance. J Zhejiang Univ Sci 2005;6:664-7.](#)
- [Heathcote J. Treatment of HBe Antigen-Positive Chronic Hepatitis B. Semin Liver Dis 2003;23:69-80.](#)
- [Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV, Vassilopoulos D. Treatment of HBe Antigen-Negative Chronic Hepatitis B. Semin Liver Dis 2003;23:81-8.](#)
- [Wright TL. Clinical Trial Results and Treatment Resistance with Lamivudine in Hepatitis B. Semin Liver Dis 2004;24 Suppl 1:31-6.](#)
- [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.](#)
- [Marcellin P, Lau GK, Bonino F, et al. Peginterferon Alfa-2a Alone, Lamivudine Alone, and the Two in Combination in Patients with HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B. N Engl J Med 2004;351:1206-17.](#)
- [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 Microbiol 2008;8:11-20.](#)
- [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 Microbiol 2002;51:695-9.](#)
- [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.](#)
- [Baldick CJ, Tenny DJ, Mazzucco CE, et al. Comprehensive Evaluation of Hepatitis B Virus Reverse Transcriptase Substitutions Associated with Entecavir Resistance. Hepatology 2008;47:1473-82.](#)
- [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.](#)
- [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.](#)
- [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 Microbiol Infect 2008;14:858-66.](#)
- [Masaadeh HA, Hayajneh MA, Alqudah EA. Hepatitis B Virus Genotypes and Lamivudine Resistance Mutations in Jordan. World J Gastroenterol 2008;14\(47\):7231-4.](#)
- [Zoulim F, Locarnini S. Hepatitis B Virus Resistance to Nucleos\(t\)ide Analogues. Gastroenterology 2009;137:1593-1608.](#)
- [Clark B, Bloor S. Molecular Genotyping of Hepatitis B Virus. J Clin Virol 2002;25:41-5.](#)