

LAMİVUDİN TEDAVİSİ UYGULANMIŞ VE ENTEKAVİR NAİF KRONİK HEPATİT B'Lİ HASTALARDA ENTEKAVİR İLAÇ DİRENCİ

ENTECAVİR RESISTANCE IN ENTECAVİR NAIVE LAMIVUDINE TREATED CHRONIC HEPATITIS B PATIENTS

Murat SAYAN¹, Sadettin HÜLAGÜ², Sıla ÇETİN AKHAN³, Ömer ŞENTÜRK², Meliha MERİÇ³, Mustafa ÇEKMEN⁴

¹ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi, Kocaeli. (sayanmurat@hotmail.com)

² Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Anabilim Dalı, Kocaeli.

³ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Kocaeli.

⁴ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kocaeli.

ÖZET

Onaylanmış hepatit B virus (HBV) enfeksiyonu tedavisi interferon- α ve nükleoz(t)id analoglarını içermektedir. Bir nükleozid analogu olan lamivudinin (LVD) uzun süreli kullanımında yüksek oranlarda viral direnç ortaya çıkmaktadır. Entekavir (ETV), HBV'ye karşı kronik olarak enfekte hastalarda güçlü aktiviteye sahip yeni bir deoksiguanozin analogudur. Nükleozid analogu kullanmamış ve LVD'ye dirençli hastalarda oldukça etkili olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada, hem LVD tedavisi almış/ETV naif (çalışma grubu) hem de hiçbir tedavi uygulanmamış (kontrol grubu) kronik B hepatitli hastalarda, HBV polimeraz geninde 80 ve 250. pozisyonları arasında kalan aminoasit bölgesi, DNA dizi analizi metodu kullanılarak ETV ilaç direnci, HBV polimeraz geni ile örtüşen hepatit B yüzey geni (S geni) mutasyonları ve HBV genotipi yönünden araştırıldı. Çalışma grubunda %42.6 oranında (37/87) primer LVD direnci ve %4.5 oranında (4/87) primer ETV ilaç direnci tanımlandı. ETV ilaç direncine yol açan mutasyonlar rtT184A, rtT184I ve rtT184S olarak belirlendi. Ayrıca primer ETV ilaç direnci saptanan hastalarda rtL180M ve rtQ215S onarıcı mutasyonları ve 204. aminoasit pozisyonunda YVDD ve YIDD varyantları saptandı. Kontrol grubunda ise primer LVD ve ETV direnci saptanmadı. Çalışma grubunda 2 hastada sG145R ve sC137G S geni mutasyonları saptandı. Ancak ETV primer direncine yol açan mutasyonların HBV S geninde mutasyona yol açmadığı belirlendi. Çalışma ve kontrol grubundaki olguların tamamında HBV genotip D saptandı. Sonuç olarak, LVD tedavisi almış ve LVD direncinden sorumlu mutasyonların geliştiği ETV naif, kronik B hepatitli hastalarda elde ettiğimiz bulgular, ETV'nin tedavi seçeneği olarak düşünülmesi durumunda yol gösterici olabilir.

Anahtar sözcükler: HBV, lamivudin direnci, entekavir direnci.

ABSTRACT

Approved hepatitis B virus (HBV) therapies include interferon- α and nucleos(t)ide analogues. Lamivudine (LVD) is a nucleoside analogue and following long term LVD therapy, resistance emerges in a significant number of patients. Entecavir (ETV) is a novel deoxyguanosine analogue with potent activity against HBV in chronically infected patients. ETV is highly efficacious in treating nucleoside naive and LVD refractory patients. The aim of the present study was to determine the prevalence of ETV drug resistance in LVD treated/ETV naive (study group) and in untreated naive (control group) patients with chronic B hepatitis. DNA sequencing was applied to 80.-250. amino acid positions on HBV polymerase gene to investigate the ETV resistance and also HBV genotype and HBV polymerase gene overlapped S-gene segment mutations. Primary LVD and ETV drug resistance were detected in 37 (42.6%) and 4 (4.5%) of 87 patients, respectively in the study group. rtT184A, rtT184I and rtT184S mutations were found related to primary ETV resistance. In these patients also rL180M and rQ215S mutations were detected as compensatory mutations and YVDD and YIDD variants were observed at the 204. amino acid codon position. None of the patients in the control group had LVD or ETV resistance. Two of the patients in the study group had mutations at the positions sG145R and sC137G in the overlapped S-gene segment. However, mutations at the overlapped S-gene segment were not affected by the mutations associated with ETV resistance. All of the patients in the study and the control group were of HBV genotype D. The results obtained from this study may guide the treatment choices with ETV in chronic HBV patients treated with LVD and developed resistance to LVD.

Key words: HBV, lamivudine resistance, entecavir resistance.

GİRİŞ

Dünyada yaklaşık 350 milyondan fazla insanda kronik hepatit B virus (HBV) enfeksiyonu bulunmaktadır¹. Günümüzde kronik HBV enfeksiyonu tedavisinde, immünmodülatör ajanlar [interferon- α (IFN- α) peg-interferon vb.] ve oral antiviraller [nükleoz(t)id ters transkriptaz inhibitörleri (NRTI): lamivudin (LVD), adefovir dipivoksil (ADV), entekavir (ETV)] kullanılmaktadır^{2,3}. Ülkemizde bu tedavi seçeneklerine son zamanlarda tenofovir de eklenmiştir.

Kronik hepatit B'li hastalarda NRTI tedavileri, immünmodülatör tedavi seçeneklerine göre uzun süreli etkinliğin optimum düzeylerin üzerinde olması ve kontrendike hastalarda (dekompanse karaciğer hastaları) kullanılabilmesi nedeniyle öne çıkmaktadır⁴. Ancak uzun süreli NRTI tedavisinde, ilaca dirençli mutantların ortaya çıkması önemli bir sorun teşkil etmektedir^{5,6}. Bir nükleozid analogu olan LVD'ye direnç, primer olarak HBV ters transkriptaz geninin katalitik (C) kangalında tirozin-metiyonin-aspartik asit-aspartik asit (YMDD) motifinde gelişmektedir⁷. YMDD motifinde 204. kodon tarafından kodlanan metiyoninde sıklıkla valin (rtM204V, YVDD varyantı) ya da izolösün (rtM204I, YIDD varyantı), nadiren serin (rtM204S, YSDD varyantı) aminoasit değişimleri gözlenmektedir⁸. LVD tedavisinde, rtM204'te saptanan aminoasit değişimlerine ek olarak virusun replikasyon kapasitesini onarıcı etki gösteren mutasyonlar (onarıcı mutasyonlar) da görülmektedir. Bunlar genellikle rL80V/I, rtI169T, rtV173L, rL180M ve rQ215S'de gözlenen onarıcı mutasyonlardır⁸. ADV tedavisinde direncin ortaya çıkması LVD'ye göre daha yavaştır ve bildirilen aminoasit değişimi rtN236T ve/veya rA181V/T'de oluşmaktadır. ADV kullanımında da primer dirence ek olarak onarıcı mutasyonlar görülmekte ve bunlar rL80V/I, rtV84M, rtS85A, rtV214A, rQ215S, rtP237H ve rtN238T/D olarak tanımlanmaktadır⁵.

ETV, yeni bir deoksiguanozin analogu olup HBV-DNA replikasyonunu, ters transkripsiyona hazırlanma, negatif iplikli DNA'dan pozitif iplikli DNA sentezinde uzama ve DNA'ya bağımlı DNA polimeraz aktivitesi basamaklarında durdurur^{9,10}. ETV'nin naif ve LVD'ye dirençli kronik HBV enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılması önerilmektedir^{11,12}. Yapılan klinik çalışmalara göre nükleozid analogu kullanmamış, HBeAg pozitif ve HBeAg negatif kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda uzun süreli ETV tedavisinde ilaç direnci nadirdir^{11,13,14}. ETV ilaç direncinin moleküler karakterizasyonu in vitro endojen polimeraz testleri ve hücre kültürüne dayalı transfeksiyon çalışmalarıyla ortaya konmuştur⁹. Bu çalışmalarla birlikte ve yapılan klinik çalışmaların sonuçlarına göre;

1. LVD'ye primer dirençten sorumlu rtM204V/I mutasyonunun seçilmesi ile ETV'ye çapraz direnç gelişmektedir.

2. ETV ilaç direnci için rtT184, rtS202 ya da rtM250'deki aminoasit değişimlerinden en az birinin olması gerekmektedir.

3. LVD ilaç direnci mutasyonu bulunmuyorsa ek rtT184, rtS202, rtM250 değişimi ETV ilaç direnci için yeterli olmamaktadır^{9,13,15,16}.

Diğer taraftan, LVD ilaç direncinde onarıcı mutasyonlar olarak tanımlanmış olan rtI169T, rtV173L ve rtL180M değişimleri ETV direncinde de onarıcı olarak tanımlanmaktadır¹⁶.

Bu çalışmada, LVD tedavisi almış ancak ETV naif kronik HBV hastaları ile hiçbir tedavi almamış kronik HBV hastalarında ETV ilaç direncinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma ve Kontrol Grubu

Çalışmaya, nükleozid analogu (Zeffix®-100 mg/gün, Glaxo Wellcome Laboratories, Middlesex, İngiltere) ve/veya nükleotid analogu (Hepsera®-10 mg/gün, Gilead Sciences, Inc. Foster City, ABD) tedavisi gören ve HBV ilaç direnci testleri için hastanemiz Merkez Laboratuvarı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Ünitesine Mart 2007-Eylül 2008 tarihleri arasında başvuran 87 hasta (33'ü kadın, 54'ü erkek; yaş aralığı: 13-68 yıl) ile hiç tedavi almamış (IFN- α ve NRTI naif) kronik hepatit B'li 75 hasta (21'i kadın, 54'ü erkek; yaş aralığı: 14-61 yıl) kontrol grubu olarak dahil edildi.

Kronik HBV enfeksiyonu tanısı; 6 aydan daha fazla süren serum HBsAg pozitifliği, serum HBV-DNA (HBeAg pozitif hastalarda > 20.000 IU/mL ve HBeAg negatif hastalarda > 2000 IU/mL) yüksekliği, alanin aminotransferaz/aspartat aminotransferaz (ALT/AST) seviyelerinde kalıcı ya da aralıklı yükseklik ve karaciğer biyopsilerinde saptanan kronik hepatik inflamatuvar hasarla koyuldu¹⁷⁻¹⁹.

Seroloji

HBV serolojisi, mikropartikül enzim immünassay (AxSYM System, v 3.0, Abbott Laboratories, IL, ABD) ile çalışıldı. Hepatit B virusu yüzey antijeni (HBsAg) sonuçları S/N \geq 2.0 olanlar pozitif olarak raporlandı.

DNA İzolasyonu ve Gerçek Zamanlı PCR

HBV-DNA'sı manyetik partikül teknolojisi (NucliSENS-easyMAG, bioMérieux, Boxtel, Hollanda) kullanılarak izole edildi. HBV-DNA yükü gerçek zamanlı PCR (iCycler IQ, v 3.0a-Bio Rad Laboratories Inc., California, ABD) ile belirlendi ve bu amaçla linearitesi 10^2 - 10^6 IU/ml aralığında bulunan (WHO HBV-DNA NAT Standardı -NIBSC Code 97/746- ile kalibre edilmiş serum örneği dilüsyon serisi ile elde edilmiştir), analitik duyarlılığı 20 IU/ml (%95 GA) olan ve HBV-DNA genotip (HBV A-H) performans paneli (PHD 201 E, BBI Diagnostics) ile analiz edilmiş olan Fluorion HBV QNP v2.0 (İntek Biyoteknoloji A.Ş., İstanbul, Türkiye) kiti kullanıldı. Kit, amplifikasyon hedef bölgesi olarak HBV polimeraz genini kullanmaktadır.

DNA Dizileme

Bu amaçla HBV-direnç-ileri yönlü (F) ve -geri yönlü (R) primerler kullanıldı (HBV-direnç-F: TCGTGGTGGACTTCTCTCAATT, HBV-direnç-R: CGTTGACAGACTTTCCAATCAAT) ve HBV polimeraz geninin 742 baz çift (bç)'lik bölümü çoğaltıldı. Termal döngü, 95°C 'de 15 dakika, 45 döngü boyunca 95°C 'de 45 saniye, 56°C 'de 45 saniye ve finalde 72°C 'de 45 saniye olacak şekilde uygulandı. Primerlerin final konsantrasyonu $0.3 \mu\text{M}$ olarak ayarlandı. PCR ürünleri dizileme öncesi saflaştırıldı ve bu amaçla High Pure PCR Products Purification Kit® (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) kullanıldı. Dizileme reaksiyonu, HBV-direnç-R primeri (finalde $5 \mu\text{M}$) ile 35 döngü boyunca 95°C 'de 20 saniye, 50°C 'de 25 saniye ve finalde 60°C 'de 2 dakikalık termal koşullarda gerçekleştirildi. Dizileme ürünleri saflaştırma sonrası ABI PRISM 310® genetik analizörüne yüklendi. Bu amaçla DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit® (Amersham Pharmacia Biotech Inc, Piscataway, ABD) kullanıldı.

Genotipleme

HBV genotiplemede, ABD Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nin (National Center for Biotechnology Information, NCBI, U.S National Library of Medicine, Bethesda, ABD) genotipleme aracı (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/form-page.cgi>) kullanıldı. NCBI genotipleme aracı, nükleik asit sekanslarını temsil eden bir metin temelli format (FASTA) kullanarak DNA sekanslarını A'dan H'ye kadar veritabanında bulundurduğu referans genotip sekanslarıyla karşılaştırmakta ve viral diziyi genotiplelemektedir.

İlaç Direnci ve HBsAg Mutasyon Analizi

HBV ilaç direnci ve HBsAg mutasyon analizleri, hem DNA kromatogramını oluşturan sinyalin manuel analizi, hem de Max Planck Enstitüsü biyoinformatik servisleri arasında yer almakta olan (<http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de/>) Genafor/Arevir geno2pheno HBV ilaç direnci değerlendirme aracı (Center of Advanced European Studies and Research, Bonn, Almanya) ile yapıldı. Genafor/Arevir HBV ilaç direnci değerlendirme aracı, FASTA formatındaki DNA dizilerini konsensus dizilerle karşılaştırmakta ve HBV polimeraz genindeki aminoasit değişimlerini tanımlayıp analiz etmektedir. Genafor/Arevir HBV ilaç direnci değerlendirme aracının taradığı aminoasit değişimi toplam 13 adettir. Bunlar

HBV polimeraz geninde yer alan 80., 169., 173., 180., 181., 184., 194., 202., 204., 215., 233., 236. ve 250. pozisyondaki aminoasitlerdir (Şekil 1). Bunlara ek olarak ayrıca 84., 85., 214., 237. ve 238. pozisyondaki aminoasit değişimleri manuel olarak tarandı⁵. Genafor/Arevir'de taranan HBsAg aminoasit değişimi ise toplam 5 adettir ve bunlar HBsAg'yi kodlayan gen bölgesinde yer alan 137., 141., 144., 145. ve 147. pozisyonundaki aminoasitlerdir. Bunun yanında manuel değerlendirmeye 121., 135., 139., 140., 142., 146., 148., 149., 151., 152., 153., 155., 156. ve 157. pozisyondaki aminoasit değişimleri de arandı²⁰.

HBV-DNA polimeraz gen dizileri, LVD'ye dirençten sorumlu rtM204V/I ± I169T ± V173L ± L180M aminoasit değişimleri varlığında rtT184A/C/F/G/I/L/M/S, rtS202C/G/I ya da rtM250I/L/V aminoasit değişimlerinden en az birisinin bulunması durumunda ETV'ye primer dirençli olarak tanımlandı^{1,5}.

BULGULAR

Çalışma grubunu oluşturan hastaların %42.6 (37/87)'sında primer LVD direnci saptandı [LVD ilaç direnci gelişen hastaların %10.8 (4/37)'inde, tüm çalışma grubunun ise %4.5 (4/87)'inde primer ETV ilaç direnci tanımlandı]. ETV ilaç direncini rtT184A, rtT184I, rtT184S mutasyonları oluşturdu. Hasta 1, 2 ve 3'te saptanan ETV direnci hem Genafor/Arevir HBV ilaç direnci değerlendirme aracı ile hem de kromatogramın manuel analizi ile belirlendi. Ancak hasta 4'ün ETV direnci sadece manuel analiz ile saptandı. ETV direnci saptanan hastaların demografik bilgileri ve bazı analiz bulguları Tablo I'de yer almaktadır.

Kontrol grubunda primer LVD ve ETV direnci saptanmadı.

Çalışma ve kontrol grubundaki olguların tamamında HBV genotip D bulundu. Çalışma grubunda 2 hastada HBsAg mutasyonu saptandı. Bu mutasyonlar sG145R ve sC137G olarak tanımlandı. ETV primer direncine yola açan mutasyonların HBV S geninde mutasyona yol açmadığı belirlendi.

ETV ilaç direnci saptanan hastaların 2'sinde rtM204V değişimi ile YVDD varyantı, 2'sinde de rtM204I değişimi ile YIDD varyantının geliştiği görüldü. YVDD varyantlarına ve bir YIDD varyantına 10⁶ IU/ml'den daha yüksek seviyede HBV-DNA yükü eşlik etti. ETV ilaç direnci gelişen olgularda onarıcı mutasyonlar da saptandı. Bu mutasyonlar rtL180M ve rtQ215S olarak belirlendi.

ETV ilaç direnci saptanan hastalarda, uzun süreli LVD tedavisi uygulanmış olduğu görüldü. Bu olguların birinde tek başına ADV ile tedavisine devam edildiği belirlendi.

In vitro kültürlerde ETV duyarlılığının, primer LVD direncine yol açan rtM204V ± L180M mutasyonlarının varlığında 8 kat azalma gösterdiği gözlemlenmiştir²¹. ETV tedavisinde yapılan faz II klinik denemelerde de benzer şekilde LVD ile ilişkili mutasyonların, ETV duyarlılığını azalttığı bildirilmektedir¹⁴. Yapılan klinik çalışmalara göre ETV tedavisi öncesinde LVD'ye dirençli hastaların %6'sında rtT184, rtS202 ya da rtM250'de aminoasit değişiminin saptandığı belirtilmektedir¹³. NRTI naif hastalarda %2.7 oranında

Tablo 1. ETV İlaç Direnci Saptanan Hastaların Demografik ve Bazı Analiz Bulguları

ETV primer dirençli hastalar ^a	Hasta 1	Hasta 2	Hasta 3	Hasta 4
Yaş	55	49	48	52
Cinsiyet	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
ALT ^b	34 IU/L	170 IU/L	21 IU/L	27 IU/L
AST ^c	48 IU/L	125 IU/L	28 IU/L	38 IU/L
HBeAg	-	+	+	+
HBV-DNA yükü	> 10 ⁶ IU/ml	> 10 ⁶ IU/ml	20.800 IU/ml	> 10 ⁶ IU/ml
HBV genotip	D	D	D	D
HBsAg mutasyonu	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı
NRTI tedavisinde süre	2 yıl LVD + 8 ay ADV	2 yıl LVD	2 yıl LVD	3 yıl LVD
YMDD varyantları	YVDD	YVDD	YIDD	YIDD
Kompensatuar mutasyonlar	rtL180M	rtL180M	rtQ215S	rtL180M + rtQ215S
ETV mutasyonu	rtT184A	rtT184A	rtT184I	rtT184S

^a Hastaların tümünde anti-HIV, anti-HCV ve HDV-RNA negatif olarak saptandı.
^b ALT normal üst sınırı 41 IU/L'dir.
^c AST normal üst sınırı 37 IU/L'dir.
ETV: Entekavir, HBV: Hepatit B virus, NRTI: Nükleozid ters transkriptaz inhibitörleri.

rt202S/I değişiminin gözlemlendiği ve aynı hastaların LVD ile tedavi edilmeleri sırasında %9.2 oranında ETV ilaç direnci ile ilişkili aminoasit değişiminin (rtI169T, rtT184A, rtS202S/I ve rtM250V) belirlendiği bildirilmektedir¹⁴. Bulgularımıza göre NRTI tedavisi almamış kronik B hepatitli hastalarda doğal ETV ilaç direncinin gelişmediği ancak ETV naif, LVD kullanmış kronik B hepatitli hastalarda %4.5 oranında ETV ilaç direncinin geliştiği görülmektedir. Yukarıdaki bilgilerin ışığında ETV'nin, LVD kullanmış kronik B hepatitli hastalarda bir tedavi seçeneği olarak gündeme gelmesi durumunda, ETV ilaç direncinin göz önünde bulundurulması yararlı olacaktır.

HBV polimeraz gen bölgesi mutasyonları aynı zamanda zarf proteinlerini de etkilemektedir²². Polimeraz genindeki A ve B domainleri, HBsAg'deki ortak "a" determinantını kodlayan 99.-169. aminoasitleri arasındaki bölgeyle çakışmaktadır (overlapping). Bu bölgelerde gelişen herhangi bir aminoasit değişimi, HBsAg ile ilişkili aminoasit değişimlerine yol açabilmekte, bu mutasyonlar da tanısal sorunlara ve anti-HBs oluşumunda yetersizliğe yol açabilmektedir^{22,23}. HBV S geninde görülen mutasyonlar genellikle 112.-157. aminoasit pozisyonunda görülmekte ve sıklıkla 145. aminoasitte değişim bildirilmektedir²⁰. Çalışmamızda, HBV polimeraz geni ile örtüşen bölgede saptanan S gen ile ilişkili aminoasit değişimlerinin (sG145R ve sC137G) sırasıyla ADV ve LVD ilaç direnciyle ilişkili olduğu, ETV ilaç direnciyle ilişkili aminoasit değişimlerinin HBsAg'yi kodlayan gen-de bir aminoasit değişimiyle sonuçlanmadığı görülmektedir (Tablo I). Baldick ve arkadaş-

ları, ETV ilaç direncini kapsamlı bir şekilde değerlendirdikleri çalışmada, zeminde rtM204V + rtL180M mutasyonlarının bulunduğu rtT184A/I ETV ilaç direncinde, eşlik eden herhangi bir HBsAg mutasyonu bildirmemektedir. Ancak bugüne kadar ETV ilaç direncinde bildirilen bazı HBsAg mutasyonları bulunmaktadır. Bunlar sF161L, sL175F, sL176V, sL176 stop ve sV194F HBsAg mutasyonlarıdır^{15,16}.

DNA kromatogramlarını oluşturan sinyallerin manuel analizinde aynı baz için iki kromatografik uç gözlenebilmektedir. FASTA formatındaki DNA dizilerini analiz eden mutasyon değerlendirme aracı programları, kullandıkları baz atama algoritması nedeniyle sadece en belirgin kromatografik ucu görmektedir. Bu nedenle sadece FASTA dizilerine göre değil kromatogramı oluşturan sinyallerin uçlarına göre de analiz yapılmalıdır. Bu sayede normal baz sinyalinin altında kalan ve okunmayan mutant baz sinyal ucu kaçırılmamış olacaktır. Bulgularımıza göre hasta 4'te hem doğal hem de mutant rtT184 sinyali kromatograma yansımış olduğundan rtT184S değişimi manuel belirlenebilmiştir.

Ülkemizde yapılan HBV genotip çalışmalarına göre genotip D, dominant genotiptir^{6,24,25}. Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan olgularımızın tümünde genotip D'nin saptanması bölgemizdeki HBV genotiplerinin bu bulgularla uyumlu olduğunu göstermektedir. Öte yandan ETV ilaç direnci saptanan olgularda uzun süren LMV kullanımı öyküsü ve yüksek HBV-DNA yükleri göze çarpmakta, 3 olguda HBeAg pozitifliği, 3 olguda normalin üzerinde AST ve bir olguda normalin üzerinde ALT seviyesi gözlenmektedir. Bu bulguların ETV ilaç direnci ile olası ilişkisinin ortaya çıkarılması, ETV ilaç direnci saptanan hasta sayısının yeterli olmayışı nedeniyle olası görünmemektedir.

Sonuç olarak; ETV'nin kronik HBV enfeksiyonlu hastalarda tedavi seçeneği olması durumunda LVD dirençli varyantların varlığı önem kazanmaktadır. Bu nedenle NRTI tedavilerinde direncin izlenmesi, hem gelişen direncin mekanizmalarını ve prevalansını aydınlatmak hem de hastaların tedavi seçeneklerini daha etkin bir biçimde ele almak açısından yararlı olacaktır. Ancak LVD tedavisi almış ve LVD direncinden sorumlu rtM204V/I + L180M mutasyonların geliştiği ETV naif, kronik B hepatitli hastalarda, ETV'ye direnç gelişebileceği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al. Two-year assessment of entecavir resistance in LVDe-refractory hepatitis B virus patients reveals different clinical outcomes depending on the resistance substitutions present. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 902-11.
2. Langley DR, Walsh AW, Baldick CJ, et al. Inhibition of hepatitis B virus polymerase by entecavir. *J Virol* 2007; 81: 3992-4001.
3. Krastev ZA. The "return" of hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7081-6.
4. Fontana, RJ. Management of patients with decompensated HBV cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2003; 23: 89-100.
5. Shaw T, Bartholomeusz A, Locarnini S. HBV drug resistance: mechanisms, detection and interpretation. *J Hepatol* 2006; 44: 593-606.
6. Akarsu M, Şengönül A, Tankurt E, et al. YMDD motif variants in inactive hepatitis B carriers detected by Inno-Lipa HBV DR assay. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1783-8.

7. Tipplés GA, Ma MM, Fischer KP, et al. Mutation in HBV RNA-dependent DNA polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996; 24: 714-7.
8. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, et al. and The HEP DART International Committee. Nomenclature for anti-viral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *Hepatology* 2001; 33: 751-7.
9. Zoulim F. New Antivirals. Entecavir: a new treatment option for chronic hepatitis B. *J Clin Virol* 2006; 36: 8-12.
10. Lok ASF, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. AASLD Practice Guidelines. *Hepatology* 2007; 45: 507-39.
11. Dimou E, Papadimitropoulos V, Hadziyannis SJ. The role of entecavir in the treatment of chronic hepatitis B. *Ther Clin Risk Manag* 2007; 3: 1077-86.
12. Sherman M, Yurdaydın C, Sollano J, et al. Entecavir for treatment of lamivudine-refractory, HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterol* 2006; 130: 2039-49.
13. Colonna RJ, Rose R, Baldick CJ, et al. Entecavir resistance is rare in nucleoside naive patients with hepatitis B. *Hepatology* 2006; 44: 1656-65.
14. Jardi R, Frias RF, Schaper M, et al. Hepatitis B virus polymerase variants associated with entecavir drug resistance in treatment-naive patients. *J Viral Hepatitis* 2007; 14: 835-40.
15. Tenney DJ, Levine SM, Rose RE, et al. Clinical emergence of entecavir-resistant hepatitis B virus requires additional substitutions in virus already resistant to LVDe. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3498-507.
16. Baldick CJ, Tenney DJ, Mazzucco CE, et al. Comprehensive evaluation of hepatitis B virus reverse transcriptase substitutions associated with entecavir resistance. *Hepatology* 2008; 47: 1473-82.
17. Akhan SÇ, Yuluğkural Z, Vahaboğlu H. Response to interferon-alpha in chronic hepatitis B patients with and without precore mutant strain and effects on HBsAg titers. *Chemotherapy* 2007; 53 :402-6.
18. Çetin Akhan S, Gürbüz Y, Üçkardeş H. Kronik hepatit B enfeksiyonu alan hastalarda ileri evre ile ilişkili biyokimyasal parametreler. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009; 29: 36-41.
19. Rüzgar M, Akhan SÇ, Vahaboğlu H. Comparison of quantitative hepatitis B virus DNA levels in serum and liver biopsy samples of chronic hepatitis B patients. *Mikrobiyol Bul* 2008; 42: 283-91.
20. Avellon A and Echevarria JM. Frequency of hepatitis B virus 'a' determinant variants in unselected Spanish chronic carriers. *J Med Virol* 2006; 78: 24-36.
21. Colonna RJ, Rose RE, Levine SM, et al. Entecavir (ETV) resistance is not observed in nucleoside-naive subjects and is observed infrequently by week 48 in lamivudine-refractory subjects with chronic HBV infection. *J Hepatol* 2005; 40(Suppl 2): 173.
22. Locarnini SA. Hepatitis B virus surface antigen and polymerase gene variants: potential virological and clinical significance. *Hepatology* 1998; 27: 294-7.
23. Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J Clin Virol* 2005; 32: 102-12.
24. Bozdayı AM, Aslan N, Bozdayı G, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B, C and D viruses in Turkish patients. *Arch Virol* 2004; 149: 2115-29.
25. Şentürker GN, Abacıoğlu YH. S-gene sequences and genotype related restriction sites in hepatitis B virus carriers in Turkey. *Infection* 2004; 32: 344-9.