

= НА ДОПОМОГУ ПРАКТИКУЮЧОМУ ЛІКАРЮ =

УДК 615.015.8+578.833.:616-036+616.98.578.833.

ТЕНОФОВИР ЕФФЕКТИВЕН ПРИ РАЗВИТТИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ НВУ К ИНТЕРФЕРОНУ/ ПЕГИНТЕРФЕРОНУ У ПАЦІЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ НВеAg-НЕГАТИВНЫМ ГЕПАТИТОМ В

С. В. Федорченко, Т. Л. Мартынович, О. В. Ляшок, Ж. Б. Клименко,
В. И. Янченко, В. А. Резник

ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины», г. Киев, Украина

27 пациентов с хроническим НВеAg-негативным гепатитом получали лечение ламивудином в связи с неэффективностью предыдущей терапии интерфероном/пегинтерфероном. Через 48 недель лечения у 18 больных уровень виремии ДНК-НВУ снизился до менее 10^4 коп./мл, а у 9 человек – был неопределяемый уровень виремии (менее 300 коп./мл). В процессе лабораторного мониторинга у 5 (18,5 %) пациентов был диагностирован вирусологический прорыв: у 3 пациентов он был обусловлен слабой приверженностью к лечению, у 2 – установлена YIDD мутация. В этой связи пациентам рекомендовали тенофовир. Последующий мониторинг кинетики виремии продемонстрировал быстрое её снижение до неопределяемого уровня с нормализацией активности печёночных ферментов. Терапия тенофовиром является эффективной и безопасной у пациентов с НВеAg-негативным хроническим гепатитом В в случае индукции у них резистентности к интерферону/пегинтерферону и ламивудину.

Ключевые слова: НВеAg- негативный гепатит В, вирусная нагрузка, пегинтерферон, тенофовир, ламивудин, YMDD- мутация.

ТЕНОФОВИР ЕФЕКТИВНИЙ ПРИ РОЗВИТКУ РЕЗИСТЕНТНОСТІ НВУ ДО ЛАМІВУДИНУ ТА ІНТЕРФЕРОНУ/ ПЕГІНТЕРФЕРОНУ У ПАЦІЕНТІВ З ХРОНІЧНИМ НВеAg-НЕГАТИВНИМ ГЕПАТИТОМ В

С. В. Федорченко, Т. Л. Мартинович, О. В. Ляшок, Ж. Б. Клименко,
В. І. Янченко, В. А. Резник

ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України», м. Київ, Україна

27 хворих з HBeAg-негативним гепатитом В отримували лікування ламівудином у зв'язку з неефективністю попередньої терапії інтерфероном/пегінтерфероном. Через 48 тижнів лікування у 18 хворих рівень віремії ДНК-HBV знизився до менш ніж 10^4 коп./мл, а у 9 пацієнтів – був невизначеним рівень віремії (менше 300 коп./мл). Протягом лабораторного моніторингу у 5 (18,5%) пацієнтів був діагностований вірусологічний прорив: у 3 з них він був обумовлений низькою прихильністю до лікування, у 2 – за рахунок виникнення YIDD- мутації. В зв'язку з цим хворим рекомендували тенофовір. Наступний моніторинг кінетики віремії продемонстрував швидке її зниження до рівня, який не визначається, з нормалізацією активності печінкових ензимів. Терапія тенофовіром являється ефективною та безпечною у пацієнтів з HBeAg-негативним гепатитом В у випадку індукції у них резистентності до інтерферону/пегінтерферону та ламівудину.

Ключові слова: HBeAg-негативний гепатит В, вірусне навантаження, пегінтерферон, тенофовір, ламівудин, YMDD- мутація.

TENOFOVIR IS EFFECTIVE IN DEVELOPMENT OF HBV RESISTANCE TO LAMIVUDINE (M 204 I MOTIF MUTATION) AND TO INTERFERON/ PEGYLATED INTERFERON IN PATIENTS WITH CHRONIC HBeAg- NEGATIVE HEPATITIS B

S. Fedorchenko, T. Martynovych, O. Lyashok, Z. Klymenko, V. Yanchenko, V. Reznik.

SE “Institute of Epidemiology and Infectious Diseases named after L. V. Gromashevskiy of National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

Twenty seven patients with chronic HBeAg- negative hepatitis B received LAM-therapy due to non-effective previous treatment with interferons / pegylated interferons. In 48 weeks of treatment HBV- DNA level decreased below 10^4 copies/ml in 18 patients, in 9 patients was undetectable level of viremia (< 300 copies/ml). During laboratory monitoring the virological breakthrough was diagnosed in 5 patients (18.5%): 3 patients showed low response to treatment, 2 – due to occurrence of YIDD mutation. Thus, tenofovir was recommended. Following monitoring of viral kinetics demonstrated its rapid decrease to undetectable level with normalization of activity of liver enzymes. Tenofovir therapy is effective and safe for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B in case of resistance to interferon/ peginterferon and lamivudine.

Key words: HBeAg- negative hepatitis B, viral load, pegylated interferon, tenofovir, lamivudine, YMDD- mutation.

Вступление. Современная антивирусная терапия хронического HBeAg-негативного гепатита В включает применение нуклеозидных/нуклеотидных аналогов, пегилированных интерферонов или их комбинаций. Пегинтерферон α -2а помимо антивирусного действия обладает иммуномодулирующими свойствами, позволяющими добиваться снижения концентрации ДНК-HBV в сыворотке и в ряде случаев элиминации HBeAg в отдалённые сроки после окончания лечения [1, 2]. Терапия пегинтерфероном α -2а в течение 48 недель позволяет достичь устойчивого вирусологического ответа у 43 % пациентов на протяжении года после окончания лечения [3, 4]. Недостатком применения пегинтерферона может служить выраженность побочных эффектов и ограничение его использования в группе пациентов с циррозом печени. Терапия нуклеозидными/нуклеотидными аналогами хорошо переносится больными, является более эффективной, однако, до настоящего времени не определена длительность их применения. Ограничение их использования может быть связано с возможностью инфицирования «наивных» пациентов резистентными штаммами HBV, как это было показано в отношении ламивудина [5, 6] и адефовира [7] (первичная резистентность). Это приводит к необходимости определения чувствительности штаммов HBV к нуклеозидным/нуклеотидным аналогам до назначения терапии. Однако, одной из наиболее острых проблем является индукция резистентности в процессе антивирусной терапии и развитие пе-

рекрестной резистентности к другим нуклеозидным/нуклеотидным аналогам. Наиболее изученными являются механизмы развития резистентности к ламивудину за счёт мутации гена ДНК-зависимой полимеразы у пациентов HBeAg-негативным вариантом ХГВ (pre-core мутация).

Задачей настоящего исследования являлось изучение эффективности тенофовира с целью преодоления резистентности к ламивудину и пегинтерферону у пациентов с HBeAg-негативным вариантом ХГВ.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 27 пациентов с хроническим HBeAg-негативным гепатитом В, 18 из них получали линейные интерфероны в различных дозах длительностью от 18 до 42 месяцев до назначения ламивудина. 9 человек лечились пегинтерфероном α -2а (40 kDa) по схеме 180 мкг 1 раз в неделю в течение 48 недель с последующим лабораторным мониторингом после ее завершения на сроках от 24 до 48 недель. Антивирусная терапия интерфероном/пегинтерфероном оказалась не эффективной (нулевой ответ, вирусологический прорыв, рецидив). В связи с этим пациентам был рекомендован ламивудин (Zeffix, GlaxoSmithKline) 100 мг в сутки внутрь. До назначения ламивудина больным определяли статус HBeAg/анти-HBeAg, концентрацию ДНК-HBV в сыворотке крови, генотип HBV, наличие YMDD мутации. Все пациенты оказались анти-HIV,

анти-HCV, анти-HDV негативными. Сывороточные маркеры HBV определяли с использованием коммерческих тест-систем ИФА «Abbott», «Bio-Red» США, «Diagnostic Pasteur» Франция, «Organon» Нидерланды. Уровень виремии оценивали используя PCR (real time) COBAS AMPLICOR HBVM ONITOR (Roche Diagnostics, Branchburg NJ, USA), нижний порог чувствительности 300 коп./мл. Исследования по генотипизации HBV, наличию YMDD мутаций в геноме проводили в лаборатории ФГУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия.

Всем 27 пациентам в сроки 1,5–4 года до назначения ламивудина проводили пункционную биопсию печени с оценкой ИГА по Knodell и степени фиброза по METAVIR. В группу не вошли пациенты с циррозом печени (F-4 по METAVIR). Эффективность терапии ламивудином оценивали по уровню виремии ДНК-HBV и активности АлАТ на 6-й, 12-й, 18-й и 24-й неделях терапии с момента её начала и проводили мониторинг в среднем каждые 4-6 месяцев. У всех больных к окончанию первых 48 недель лечения концентрация ДНК-HBV в сыворотке регистрировалась ниже 10^4 коп./мл (у 9 человек был документирован неопределяемый уровень виремии — менее 300 коп./мл.), показатели активности АлАТ не превышали верхней границы нормы. В случае нарастания уровня виремии и активности АлАТ в процессе терапии ламивудином больным проводили повторные исследования на YMDD мутацию в

геноме HBV. В случае обнаружения мутаций (M 204 M, M 204 I, M 204 V, M 204 S) пациентам рекомендовали приём тенофовира дизопроксила фумарат (Viread, Gilead) в дозе 300 мг в сутки внутрь. Эффективность терапии тенофовиром оценивали по уровню виремии и активности АлАТ на 6-й, 12-й, 24-й неделях с момента её начала и каждые 6 месяцев в процессе лечения. У 5-ти из 27-ми пациентов (18,5 %), получавших ламивудин, документирован вирусологический прорыв. На этом этапе все больные были обследованы на наличие YMDD мутации. У 2-х из них была диагностирована YIDD мутация (M 204 I). При сборе анамнеза у 3 пациентов была обнаружена низкая приверженность к лечению (пропуск приёма ламивудина), поэтому вирусологический прорыв был обусловлен нерегулярным приёмом препарата.

Двум больным с индукцией резистентности к ламивудину рекомендовали тенофовир. Оба пациента – мужчины, нормостеники, 38-ми и 52-х лет, инфицированные D генотипом HBV, со степенью фиброза F-1 и F-2 соответственно. В феврале 2008 г. пациенту с HBeAg-негативным гепатитом B был назначен пегинтерферон α -2a в дозе 180 мкг в неделю в течение 48 недель. Стартовая концентрация ДНК-HBV составила 10^6 коп./мл, АлАТ – 58 ед./мл. При гистологическом исследовании печени констатировали высокую активность процесса: ИГА – 13 баллов по Knodell, степень фиброза F-1 по METAVIR. В процессе терапии через 6 меся-

цев после её начала уровень вирусемии снизился до 10^5 коп./мл, а затем вновь повысился. Через полгода после окончания лечения пегинтерфероном α -2а (72 недели), концентрация ДНК-НВВ в сыворотке – 10^6 коп./мл, активность АлАТ – 61 ед./мл. В связи с неэффективностью терапии больному были проведены исследования на YMDD мутацию (отрицательный результат) и назначен ламивудин. В течение первых 3-х месяцев терапии уровень вирусемии быстро снизился до 10^3 коп./мл, активность АлАТ нормализовалась. Последующие 58 недель лечения ламивудином характеризовались хорошей переносимостью препарата, низким уровнем ДНК-НВВ (менее 600 коп./мл) и нормальной активностью АлАТ. В апреле 2010 года при очередном обследовании выявили резкое повышение концентрации ДНК-НВВ в сыворотке крови до 10^8 коп./мл и умеренное повышение активности АлАТ – 51 ед./мл. Повторное исследование на наличие генетической мутации в Р-регионе генома НВВ констатировало М 204 I мотив мутацию. В связи с индукцией резистентности больному назначен тенофовир в дозе 300 мг в сутки. Кинетика вирусемии в течении последующих 6 месяцев продемонстрировала её драматическое снижение. Через 6 недель терапии концентрация ДНК-НВВ – 10^6 коп./мл, 12 недель – 10^3 коп./мл, 24 недели – неопределяемый уровень. На 8-м месяце лечения тенофовиром ДНК-НВВ в сыворотке крови не определяется, активность АлАТ – в пределах нормы. Вторым случаем

сходный с представленным с той лишь разницей, что индукция резистентности к ламивудину развилась в более короткие сроки (в течении первых 6-ти месяцев лечения). Вирусологический прорыв характеризовался повышением активности АлАТ более чем в 3 раза по сравнению с нормой, а уровень ДНК-НВВ был сравним с предстартовым (перед лечением ламивудином). У больного диагностирована М 204 I мотив мутация. Лечение тенофовиром привело к постепенному снижению уровня вирусемии с 10^6 коп./мл до 10^4 коп./мл на 6-й неделе лечения, 10^3 коп./мл – на 12-й неделе и менее 750 коп./мл к 24 неделе лечения с последующей нормализацией АлАТ.

Результаты и обсуждения

Основная стратегия терапии хронического НВеАg-негативного гепатита заключается в супрессии вирусной репликации и снижении уровня вирусемии менее 10^4 коп./мл ДНК-НВВ или желательнее до неопределяемого уровня. Высокая концентрация ДНК-НВВ в сыворотке прямо коррелирует с активностью АлАТ [8], выраженностью гистологической активности процесса [9], темпами формирования цирроза печени [10] и вероятностью развития первичной гепатоцеллюлярной карциномы [11].

В представленном исследовании продемонстрирована эффективность и безопасность тенофовира у пациентов с хроническим НВеАg-негативным гепатитом после неудачной терапии интерфероном/пе-

гинтерфероном и ламивудином. В отличие от механизмов индукции резистентности HBV к нуклеозидным/нуклеотидным аналогам, ещё очень мало известно о молекулярно-генетических путях развития устойчивости к пегинтерферону. Одним из таких факторов является генотип HBV. Известно, что генотипы А, В, Е и F наиболее чувствительные к интерферону, в отличие от генотипов С и D [12, 13, 14]. Наиболее резистентным считается D генотип HBV, при котором вероятность индукции устойчивого вирусологического ответа после монотерапии пегинтерфероном α -2а ниже более чем в 2 раза, по сравнению с генотипами А и В [4, 15, 16]. Доминирующим генотипом HBV на территории Украины является D генотип. Этим можно объяснить высокую резистентность наших пациентов к предложенной противовирусной терапии интерфероном/пегинтерфероном. Неудача терапии пегинтерфероном определяет необходимость добавления к нему нуклеозидных/нуклеотидных аналогов или проведение дальнейшего лечения монотерапией нуклеозидами/нуклеотидами. Наиболее часто с этой целью использовался ламивудин [17, 18]. Переход на терапию нуклеозидными/нуклеотидными аналогами может приводить к спонтанной мутации Р гена, что приводит к изменению конфигурации доменов молекулы ДНК-полимеразы вируса и потере противовирусного эффекта (вторичная резистентность). Основной участок ДНК-полимеразы образован 7-регионами (обозначается от А до G). Наи-

более часто мутациям подвержены В и С регионы с заменой одного аминокислотного остатка на другой. Ламивудин связывается с аминокислотным остатком 204. При замене метионина изолейцином или валином аффинность этого участка к ламивудину утрачивается, препарат теряет способность ингибировать репликацию HBV. Чаще всего встречаются два типа мутаций: замена метионина на валин, изолейцин или серин в позиции 204 (M 204 V/I/S) и лейцина на метионин в позиции 180 (L 180 M). M 204 V/I/S является основной мутацией и определяет резистентность HBV к ламивудину, L 180 M усиливает репликацию мутантного штамма.

Селекция ламивудин-резистентных штаммов оценивается в 20 % после первого года лечения и более 70 % – после 5 лет [19, 20]. В нашем случае резистентность к ламивудину развилась на 61 и 24 неделях терапии. К факторам риска развития YMDD-мутации в ходе лечения ламивудинном относят: высокий стартовый уровень ДНК-HBV; мужской пол; ожирение; концентрация ДНК-HBV на 6-м месяце лечения выше 10^3 коп./мл, некоторые генотипы HBV. В двух представленных случаях оба пациента были мужского пола, с высоким стартовым уровнем вирусии (10^6 коп./мл), без избыточного веса, инфицированные D генотипом HBV. Согласно данным, полученным в Италии, наиболее эффективной была монотерапия ламивудином при В и С генотипах HBV, наименьшей – при А и D [4]. Индукция устойчивого

вирусологического ответа достигнута лишь у 11 % пациентов с D генотипом в отличие от В – 38,7 % и С – 26,3 % генотипах HBV. Исходя из этого, помимо низкой чувствительности D генотипа к интерферону/пегинтерферону этот генотип обладает слабой чувствительностью к ламивудину.

К одному из факторов риска развития YMDD мутации относят продолжающуюся виремию 10^3 коп./мл, регистрируемую на 24 неделе лечения. Ни у одного из двух наших пациентов с индукцией YMDD мутации не был достигнут неопределяемый уровень виремии в процессе лечения. В среднем концентрация ДНК-HBV в сыворотке колебалась от 300 до 750 коп./мл. Исследования последних лет по кинетике виремии на протяжении лечения ламивудином показали, что даже низкая концентрация ДНК-HBV вплоть до blips signal существенно увеличивает риск развития YMDD-мутации [21, 22]. Полагают, что в этом случае происходит более быстрая селекция ламивудин-резистентных штаммов HBV. Индукция резистентности к ламивудину заставляет менять лечебную тактику с заменой ламивудина на пегинтерферон [23, 24] или другие нуклеозидные/нуклеотидные аналоги [25, 26]. Принимая во внимания неэффективность предыдущей терапии интерфероном/

пегинтерфероном, обязательно было решить какой из групп нуклеозидных или нуклеотидных аналогов отдать предпочтение? Основываясь на медицинских литературных данных о том, что индукция резистентности к ламивудину может приводить к быстрому развитию перекрёстной резистентности к другим нуклеозидным аналогам (телбивудину, эмцитритабину, энтекавиру) [27, 28], выбор пал на тенофовир (нуклеотидный аналог). Продолжение терапии ламивудином у пациентов с YMDD мутацией может привести к усилению некрозо-воспалительного процесса в печени и вызвать декомпенсацию с летальным исходом [29, 30]. Терапия тенофовиром с последующим анализом кинетики виремии констатировало её быстрое снижение до неопределяемого уровня в одном случае и уменьшение концентрации ДНК-HBV менее 750 коп./мл. – во втором при нормальной активности АлАТ.

Выводы. Анализируя полученные данные можно заключить, что применение тенофовира у пациентов с HBeAg-негативным вариантом гепатита В (pre-core мутация) после неудачной терапии пегинтерфероном и ламивудином (M 204 I мотиф мутация) является эффективным и безопасным методом лечения.

Литература

1. Hui KE, Lau GK. Peginterferon-alfa 2a (40 kDa) (Pegasys) for hepatitis B. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2005; 3 (4): 495-504.
2. Lai L, Hui CK, Leung N, Lau GK. Pegylated interferon-alpha 2a (40 kDa) in the treatment of chronic hepatitis B. *International J of Nanomedicine* 2006; 1 (3): 255-262.

3. Marcellin P, Lau GKK, Bonino F et al. A phase 3, partially double blinded study evaluating the efficacy of peginterferon-alpha 2a (40 kDa) (Pegasys) alone or in combination with lamivudine in 546 patients with HBeAg negative/anti HBe positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2003; 38 (11): 724A.
4. Bonino F, Marcellin P, Lau GKK et al. Predicting response to peginterferon-alpha 2a, lamivudine and the two combined for HBeAg negative chronic hepatitis B. *Gut* 2007; 56: 699-705.
5. Tuncbilek S, Kofe S, Elaldi A, Akman S. Lamivudine resistance in untreated chronic hepatitis B patients in Turkey. *Turk J Gastroenterol* 2008; 19 (2): 99-103.
6. Alvarado-Esquivel Y, Carrera- Gracia M, Conde- Gonzalez C et al. Genotypic resistance to lamivudine among hepatitis B virus isolated in Mexico. *J of Antimicrobial Chemotherapy* 2005; 22: 1-3.
7. Schildgen O, Sirma H, Func A, Olotu C. et al. Variant of hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. *NEGM* 2006; 357 (17): 1807-1812.
8. Hwai-I Yang, Uchenna H Iloje, Jun Su et al. Association between HBV replication and serum Alt changes is not depended on HBV genotype and mutants. *Digestive Disease week (DDW 2009)*, Chicago. May 30 – June 4, 2009; Abstract W 1800.
9. Croagh C, Bell's, Kong Y et al. Prevalence of significant fibrosis and correlations between histological inflammation and fibrosis scores and serum hepatitis B (HBV) DNA levels in chronic hepatitis B. 44th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL 2009). Copenhagen, Denmark, April 22-26, 2009.
10. Wong GL, Wong PC, Choi PC et al. Evaluation of alanine transaminase and hepatitis B virus DNA to predict liver cirrhosis in hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B using transient elastography. *Amer J of Gastroenterol* 2008; 103 (12): 3071-3081.
11. Chen CJ, Yang HJ, Su J et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 2006; 4: 65-73.
12. Graham W, Cooksley E. The role of interferon therapy in hepatitis B. *Med Jen Med* 2004; 6 (1): 16-19.
13. Akutan, Kumada H. Influence of hepatitis B virus genotypes on the response to antiviral therapies. *J Antimicrobial chemotherapy* 2005; 55: 139-142.
14. Erhardt A, Goblet T, Ludwig A et al. Response to antiviral treatment in patients infected with hepatitis B virus genotypes E-H. *J of Medical Virology* 2009; 81 (10): 1716-1720.
15. Flink HJ, van Zonneveld M, Hansen BE et al. Treatment with Peg-interferon-alpha 2b for HBeAg positive chronic hepatitis B: HBsAg loss is associated with HBV genotype. *Am J Gastroenterology* 2006; 101 (2): 297-303.
16. Kardas O, Guzel Bulut F, Golden Y et al. PidJ FANS are not satisfactory in genotype D chronic HBV infection. 60th Annual Meeting of the American Association for the Study of the Liver Disease (AASLD 2009). Boston. October 30 –November 3, 2009; Abstract 462.
17. Serfaty L, Thabut D, Zoulim F et al. Sequential treatment with lamivudine and interferon monotherapy in patients with chronic hepatitis B not responding to interferon alone: results of a pilot study. *Hepatology* 2001; 34: 573-577.
18. Hadziyannis SJ. Treatment options for chronic hepatitis B not responding to interferon. *Hepatology* 2003; 38 (6): 853-855.
19. Lok AS, Lai CL, Leung N et al. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2003; 125: 1714-1722.
20. Lok AS, McMahon BY. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; 45: 507-539.
21. Mascolini M. HBV resistance to lamivudine at undetectable and low levels of viremia. 18th HIV Drug Resistance Workshop June 9-12, 2009. Ft Myers Florida.
22. Stornaiuolo G, Stanzione M, Brancaccio G et al. Viral blips during long-term treatment with standard or double dose lamivudine in HBe antigen negative chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2007; 13 (42): 5642-5647.
23. Hou J, Sun J, Xie Q et al. On- treatment quantification of HBsAg in difficult -to treat patients with lamivudine resistance can help identify those most likely to achieve sustained post- treatment

response to peginterferon-alpha 2a rescue therapy. 60th AASLD, 2009. Boston, MA. October 30 –November 3, 2009.

24. Marcellin P, Sung J, Piratvisuth T. Avoiding and managing lamivudine resistance in chronic hepatitis B: current approaches and potential strategies including pegylated interferon. *Liver International* 2010, 657-668.

25. Lampertico P, Vigano M, Manenti E et al. Adefovir rapidly suppresses hepatitis B in HBeAg negative patients developing genotypic resistance to lamivudine. *Hepatology* 2005; 45 (6): 1414-1419.

26. Scott K, Fung J, Mazzulli T et al. Tenofovir (TDF) is effective in lamivudine (LAM) –resistant chronic hepatitis B patients who harbor rtA194T at base line. 60th AASLD 2009. Boston. October 30 –November 3, 2009.

27. Cho SW, Koh KH, Cheong JY et al. Low efficacy of entecavir therapy in adefovir-refractory hepatitis B patients with prior lamivudine resistance. *J Viral Hepatology* 2010; 17 (3): 171-177.

28. Leemans WF, Niesters HG, van der Eijk AA et al. Selection of an entecavir-resistant mutant despite prolonged hepatitis B virus DNA suppression in a chronic hepatitis B patient with preexistent lamivudine resistance: successful rescue therapy with tenofovir. *Europ J of Gast and Hepatol* 2008; 20 (8): 773-777.

29. Kwon SY, Choe WH, Lee CH et al. Rapid re-emergence of YMDD mutation of hepatitis B virus with hepatic decompensation after lamivudine retreatment. *World J of Gastroenterol* 2008; 14 (27): 4416-4419.

30. Kagawa T, Watanabe N, Kanouda H et al. Fatal liver failure due to reactivation of lamivudine-resistant HBV mutant. *World J of Gastroenterol* 2004; 10 (11): 1686-1687.