

Профилактика и преодоление резистентности к препаратам для лечения гепатита В

Prevention and management of drug resistance for antihepatitis B treatment

Man-Fung Yuen, James Fung, Danny Ka-Ho Wong, Ching-Lung Lai

Развитие лекарственной резистентности противовирусной терапии хронического гепатита В снижает эффективность лечения. Риск развития резистентности ниже для лекарственных препаратов с быстрой и мощной супрессией вирусной репликации и высоким генетическим барьером к мутациям, связанным с резистентностью. Измерение уровня вирусной нагрузки через 24 нед. лечения является обязательным для пациентов, получающих лекарственные препараты с более высоким риском резистентности. Комбинированная терапия лекарственными препаратами, принадлежащими к различным группам, сопряжена с более низкой вероятностью развития резистентности. Для подавления вирусной репликации у пациентов с лекарственной резистентностью добавление еще одного лекарственного препарата без перекрестной резистентности с первым должно производиться как можно раньше, желательно на момент развития генотипической резистентности. При таком подходе у большинства пациентов возможно поддержание клинической ремиссии. Однако для возможности предотвращения риска селекции мультирезистентных штаммов исследовательская работа должна быть продолжена.

Введение

Несмотря на существующие и ожидаемые мощные противовирусные препараты для лечения хронического гепатита В, полная эрадикация вируса гепатита В (HBV) остается практически невозможной. Данные по естественному течению хронического гепатита В и эффективности долгосрочной терапии противовирусными препаратами подчеркивают первостепенную значимость длительного подавления вируса до очень низких уровней. Несмотря на то что нуклеозидные и нуклеотидные аналоги известны своей способностью мощно подавлять вирусную репликацию, что продемонстрировано по снижению концентрации HBV-ДНК в сыворотке, при долгосрочном лечении возникает проблема развития лекарственной резистентности. При развитии лекарственной резистентности снижается эффективность проводимой терапии. Лекарственно-резистентные штаммы HBV также могут сохраняться в циркулярной ковалентно замкнутой ДНК HBV.

Частота спонтанных мутаций для HBV, согласно оценкам, составляет $1,4\text{--}3,2 \times 10^{-5}$ нуклеотидных замен на участок на цикл.^{1,2} При высоком показателе вирусной репликации (более 10^{11} вирионов в день³), ежедневно возможно появление как минимум 10^{10} новых точечных мутаций HBV. Учитывая, что общая длина генома составляет 3,2 kb, все возможные одноосновные изменения могут произойти в течение суток. Встраивание нуклеотидов часто наблюдается в связи с отсутствием механизма коррективки ошибок вирусной репликации путем обратной транскрипции. Основным ограничением в формировании нового вирусного штамма на фоне высокой частоты мутаций является внутренний сдвиг, смещающий организацию четырех открытых рамок считывания генома HBV. Однако при высокой частоте мутаций нередко наблюдаются лекарственно-резистентные штам-

мы HBV, уже существующие в популяции вирусов, еще не подвергавшейся воздействию какого-либо нуклеозидного аналога.

Ламивудин-резистентные и энтекавир-резистентные штаммы HBV обнаружены у пациентов, не получавших указанные лекарственные препараты.⁴⁻⁶ Нуклеозидные аналоги обладают селективным преимуществом по отношению к штаммам, резистентным к данному частному препарату. Эти штаммы с лекарственной резистентностью имеют мутации в доменах обратной транскриптазы гена вирусной полимеразы (рис. 1), при этом большинство замен возникает в доменах В, С и D. Некоторые мутации могут быть связаны с первичной резистентностью, тогда как другие являются компенсаторными, восстанавливающими способность вируса к репликации мутаций, отвечающих за первичную резистентность, а также мутации, связанные с вторичной резистентностью, повышающие резистентность к лекарственному препарату при их накоплении на том же вирусном геноме.^{6,7} Быстрота развития мутантных штаммов с лекарственной резистентностью зависит от их способности к репликации в присутствии лекарственного препарата, то есть от специфической репликационной емкости мутанта, уровня резистентности, связанного с мутацией, а также от репликационного пространства, доступного для распространения мутанта.⁸⁻¹⁰ Таким образом, для снижения риска развития резистентности рекомендовано использование нуклеозидных аналогов с высокой противовирусной активностью, ограничивающих вирусную репликацию и распространение в печени, а также с высоким генетическим барьером к развитию резистентности, когда для развития резистентности требуется большое число мутаций, которые, в свою очередь, могут нарушить приспособляемость вирусов. Различия этих свойств у нуклеозидных и нуклеотидных аналогов перечислены в **таблице 1**.

Lancet Infect Dis 2009; 9:256-64

Department of Medicine,
University of Hong Kong,
Queen Mary Hospital,
Hong Kong (Prof. M-F Yuen MD,
J Fung MBChB, D Ka-Ho Wong
PhD, Prof. C-L Lai MD)

Контактное лицо:
Prof. Man-Fung Yuen,
Department of Medicine,
University of Hong Kong, Queen
Mary Hospital, Pokfulam Road,
Hong Kong
mfyuen@hkucc.hku.hk

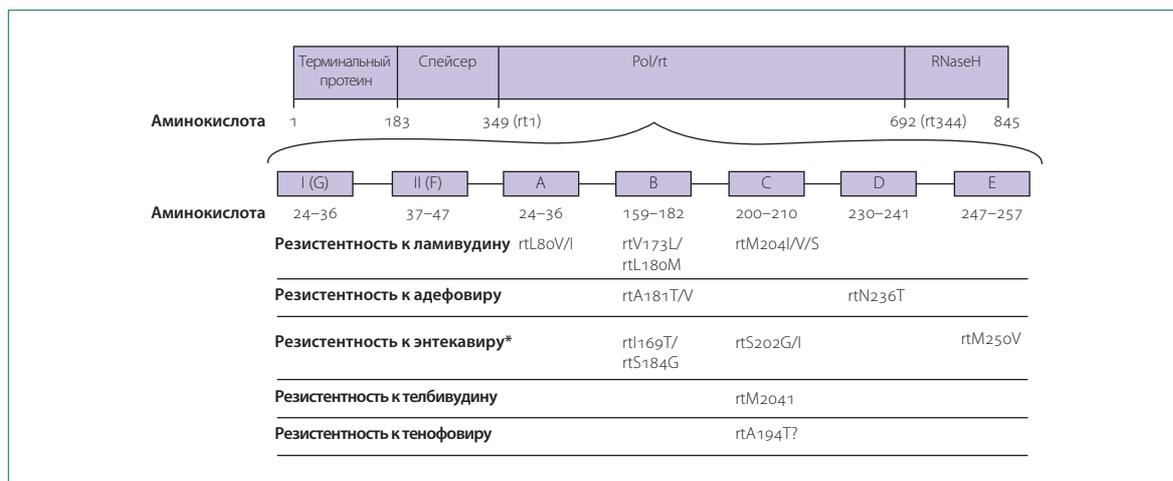


Рис. 1. Схематическая диаграмма гена HBV-полимеразы

Фермент имеет четыре функциональных домена (терминальный белок, спейсер, pol/rt и RNaseH) и семь каталитических субдоменов А–G. Показаны мутации, определяющие развитие лекарственной резистентности к конкретным противовирусным препаратам.

Мутации, обуславливающие развитие резистентности к различным нуклеозидным аналогам в результате нарушения взаимодействия между HBV-полимеразой и лекарственными препаратами, описаны посредством трехмерного моделирования в нескольких исследованиях. К примеру, мутация rtM204V/I, обуславливающая резистентность к ламивудину, вызывает стерическое несоответствие между боковой цепью rtM204V/I и атомом серы в оксатиолоновом кольце ламивудина. Компенсаторная мутация в rtL180M может также ненапрямую влиять на связывание ламивудина посредством перестройки дезоксирибонуклеозидных остатков трифосфат-связывающего кармана.¹¹ Мутации rtN236T и rtA181T/V обуславливают резистентность к адефовиру. Более низкая частота вирусной резистентности к адефовиру может быть вызвана его ациклической структурой, менее подверженной стерическому несоответствию, так как меньшее число атомов вовлечено в связывание ациклических фосфонатов. Кроме того, ациклическая структура обладает более высокой молекулярной гибкостью, которая позволяет лекарственному препарату связываться с ДНК-полимеразой HBV даже при мутациях, вызывающих незначительные нарушения связывающего кармана.¹² Мутации rtA184G, rtS202I и rtM250V, ответственные за резистентность к эн-

текавиру, существенно не влияют на чувствительность к энтекавиру в отсутствие мутаций, обуславливающих резистентность к ламивудину. Это наблюдение позволяет предположить, что указанные мутации ненапрямую влияют на связывание энтекавира посредством совместного взаимодействия с предсуществующими мутациями, обуславливающими резистентность к ламивудину, дополнительно изменяя положение YMDD-петли и размер кармана, с которым связывается энтекавир.^{13,14}

Клинические проявления сформировавшейся лекарственной резистентности весьма специфичны. Первоначально отмечается развитие генотипической резистентности, определяемой по наличию мутаций в геноме HBV, обуславливающих резистентность к лекарственному препарату.¹⁵ После этого развивается вирусологический рецидив, клинически проявляющийся повышением концентрации HBV-ДНК в сыворотке по крайней мере на 1 log₁₀ от наименьшего достигнутого в процессе терапии уровня, определяемый в двух последовательных образцах, с минимальным интервалом 1 мес.¹⁵ И наконец, биохимические прорывы, определяемые по повышению концентрации аланинаминотрансферазы (обострения гепатита).^{15,16} Фенотипическая резистентность определяется по снижению чувствительности резистентных HBV-штаммов, выделенных от пациентов с вирусологическими прорывами, к противовирусным препаратам *in vitro*. Перекрестная резистентность определяется по сниженной чувствительности более чем к одному противовирусному препарату, связанной с соответствующей аминокислотной заменой(ами).

Обострения гепатита, вызываемые лекарственно-резистентными штаммами HBV, могут привести к декомпенсации печени и в конечном итоге к смертельному исходу.^{17,18} Это обуславливает необходимость тщательного контроля пациентов с хроническим гепатитом В, получающих нуклеозидные аналоги, с целью сведения к минимуму вероятности развития лекарственно-резистентных

	Противовирусная активность	Генетический барьер резистентности	Показатель резистентности
Ламивудин	++	+	+++
Адефовир	+	++	++
Телбивудин	+++	+	++
Энтекавир	+++	+++	+
Тенофовир*	+++	+++	+

Примечание: +++ — высокий уровень; ++ — промежуточный уровень; + — низкий уровень.
*Необходимо подтверждение по результатам долгосрочных исследований.

Таблица 1. Характеристики различных противовирусных препаратов

штаммов HBV. При развитии лекарственной резистентности эффективность всей последующей терапии, а также ее возможные варианты будут существенно ограничены.

Факторы, сопряженные с развитием лекарственной резистентности

Вероятность развития лекарственной резистентности зависит от исходных характеристик пациента и вируса, свойств лекарственного препарата и режимов терапии.

Несколько исходных характеристик пациента и вируса коррелируют с развитием лекарственной резистентности (**блок 1**). Согласно результатам нескольких исследований,¹⁸⁻²³ мужской пол, более старший возраст, высокий индекс массы тела, высокая концентрация аланинаминотрансферазы, высокая концентрация HBV-ДНК, высокие й уровень гистологической активности (указывающие на высокую степень некротического воспаления) и наличие мутаций ядерного промотора сопряжены с высоким риском резистентности к ламивудину. В небольшом числе исследований продемонстрирована более высокая частота мутаций, обуславливающих резистентность к ламивудину и адефовиру, для генотипов А и D HBV соответственно.²⁴⁻²⁷ Также возможна некоторая корреляция между генотипами и уровнем селекции специфических мутаций. Однако в большинстве исследований не выявило влияния HBV-генотипа на ответ на лечение и частоту развития мутаций, связанных с лекарственной резистентностью.²⁸⁻³⁰

Другим фактором, сопряженным с развитием лекарственной резистентности, является продолжение вирусной репликации на фоне противовирусного лечения. Yuep с коллегами³¹ показал, что частота развития ламивудин-резистентных штаммов HBV была прямо пропорциональна концентрации HBV-ДНК на 24 нед. после лечения (8%, 13%, 32% и 64% для пациентов с концентрацией HBV-ДНК через 24 нед. ниже 200 копий/мл, 3 log копий/мл, 4 log копий/мл, а также 4 log копий/мл и выше соответственно при медиане наблюдения в 29 мес.). Это наблюдение подкреплено несколькими последующими исследованиями. Fukai с коллегами³² выявил, что у пациентов с неопределяемыми методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) концентрациями HBV-ДНК через 24 нед. лечения ламивудином отмечалась более низкая частота вирусологического прорыва. Согласно результатам многофакторного анализа (с такими параметрами, как концентрация аланинаминотрансферазы до лечения, концентрация HBV-ДНК до лечения и концентрация HBV-ДНК через 24 нед.), концентрация HBV-ДНК через 24 нед. была единственным независимым фактором, сопряженным с развитием вирусологического прорыва.

Важность супрессии HBV-ДНК через 24 нед. лечения также продемонстрирована в рамках III фазы многоцентрового клинического исследования препарата телбивудин (исследование GLOBE). У 18 из 203 (9%) пациентов с е-антиген-положительным гепатитом В (HBeAg) и у 11 из 177 (6%) пациентов с HBeAg-отрицательным заболеванием и неопределяемыми уровнями HBV-ДНК через

Блок 1: Значимые факторы в развитии и профилактике лекарственной резистентности

Высокий риск резистентности

- Высокая вирусная нагрузка
- Высокий индекс массы тела
- Высокий показатель гистологической активности
- Высокая концентрация аланинаминотрансферазы
- Персистирующая виремия на фоне терапии

Профилактика резистентности

- Активность противовирусного лекарственного препарата и уровень подавления вируса
- Высокий генетический барьер резистентности
- Высокий фармакологический барьер
- Приверженность пациента терапии

24 нед. от начала терапии определялась резистентность к телбивудину через 2 года лечения по сравнению с 46 из 107 (43%) и 7 из 10 (70%) пациентов с концентрацией HBV-ДНК выше 4 log копий/мл спустя 24 нед. лечения.³³ В связи с более медленным развитием противовирусного действия адефовира, оценка значения уровня HBV-ДНК на фоне лечения проводилась через 48 нед., а не через 24 нед. У пяти из 89 (6%) пациентов с концентрацией HBV-ДНК через 48 нед. — ниже 300 log копий/мл, спустя 192 нед. терапии развивалась резистентность к адефовиру по сравнению с 17 из 35 (49%) пациентов с концентрацией HBV-ДНК выше 3 log копий/мл.³⁴ Во всех этих исследованиях подчеркнута важность быстрой и глубокой вирусной супрессии для минимизации риска развития лекарственной резистентности на фоне долгосрочного лечения нуклеозидными аналогами.

Профилактика развития лекарственной резистентности

Монотерапия

Монотерапия различными нуклеозидными аналогами сопряжена с различной суммарной частотой развития лекарственной резистентности (**рис. 2**). Помимо уровня приверженности пациентов режиму терапии,³⁶ противовирусная активность лекарственного препарата связана с субоптимальным ответом и лекарственной резистентностью к частному нуклеозидному аналогу; также важная роль отводится молекулярной структуре. По молекулярной структуре выделяют три группы нуклеозидных аналогов, а именно: L-нуклеозиды, ациклические фосфонаты и циклопентановые группы.

Терапия тремя наиболее мощными нуклеозидными аналогами — телбивудином (L-нуклеозид), энтекавиром (циклопентан) и тенофовиром (ациклический фосфонат) — сопряжена со снижением концентрации HBV-ДНК на 6 log копий/мл через 1 год лечения.³⁷ Терапия телбивудином сопряжена с более высокой частотой лекарственной резистентности по сравнению с энтекавиром и тенофовиром. Адефовир, принадлежащий к группе ациклических фосфонатов, приводит лишь к небольшому снижению концентрации HBV-ДНК — на 4 log копий/мл

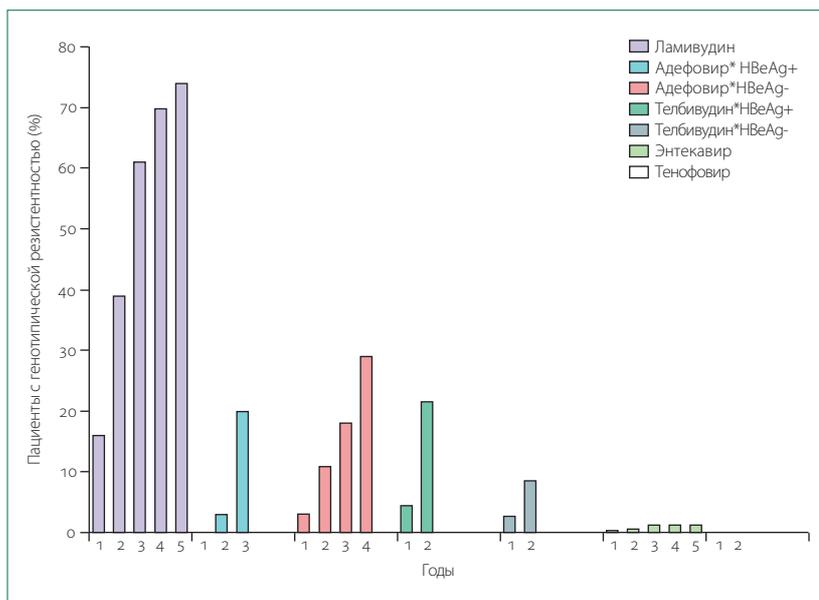


Рис. 2. Суммарная частота мутаций, связанных с лекарственной резистентностью к различным противовирусным препаратам

Данные из отдельных исследований, а не из прямых сравнений.³⁵ *Рикошет заболевания в связи с резистентностью.

через 1 год лечения.³⁶ Терапия адефовиром сопряжена с более низкой частотой лекарственной резистентности по сравнению с телбивудином и ламивудином (другой L-нуклеозид), однако с более высоким риском лекарственной резистентности по сравнению с энтекавиром. У ранее не проходивших лечение пациентов энтекавир характеризовался минимальным риском лекарственной резистентности (1,2% за 5 лет), однако в скором времени должны появиться данные о резистентности при долгосрочной терапии тенофовиром.³⁷ Низкая частота резистентности к энтекавиру может быть объяснена мощной супрессией HBV-ДНК и его молекулярной структурой, а именно: циклопентановой группой. Более того, энтекавир характеризуется высоким генетическим барьером к развитию резистентности; это подтверждается тем, что резистентность к лекарственному препарату развивается лишь при наличии связанных с резистентностью мутаций в двух участках (rtL180M и rtM204I/V), определяющих также резистентность к ламивудину, а также третьей мутацией, связанной с развитием вторичной резистентности, например: rtT184G, S202I, M250V.^{7,13}

Тенофовир недавно был разрешен для лечения хронического гепатита В. В двух исследованиях III фазы, в которых проводилось сравнение тенофовира и адефовира у HBeAg-положительных и HBeAg-отрицательных пациентов, получавших лечение в течение 48 нед,³⁸ на фоне лечения тенофовиром отмечался более высокий уровень супрессии HBV-ДНК (в обеих группах пациентов), а также более высокие показатели нормализации уровня аланинаминотрансферазы (для HBeAg-положительных пациентов) и HBeAg-сероконверсии (для HBeAg-положительных пациентов) по сравнению с лечением адефовиром. Через 48 нед. пациенты из группы лечения адефовиром пере-

ключались на лечение тенофовиром, а пациенты из группы лечения тенофовиром продолжили лечение тенофовиром. Через 96 нед. у пациентов из группы лечения тенофовиром не было выявлено аминокислотных замен в домене HBV-полимеразы, обуславливающих резистентность к тенофовиру.³⁹ Спорным остается вопрос о возможности отнесения мутации rtA194T к группе мутаций, определяющих развитие резистентности к тенофовиру. Согласно двум исследованиям *in vitro*, наличие мутаций rtA194T обуславливает снижение чувствительности к тенофовиру в 1,5 или 7,6 раза.^{40,41}

С целью достижения максимальной вирусной супрессии и низкого уровня лекарственной резистентности разработана «дорожная карта» для лечения пациентов с хроническим гепатитом В.⁴² Эта стратегия предполагает контроль концентрации HBV-ДНК через 12 нед. для выявления пациентов с первичной неэффективностью терапии, определяемой по снижению концентрации HBV-ДНК менее чем на 1 log копий/мл. Для пациентов с первичной неэффективностью терапии и хорошей приверженностью показано добавление еще одного нуклеозидного аналога. Повторное определение концентрации HBV-ДНК должна проводиться через 24 нед. Пациентам с полным ответом на терапию, определяемым по достижению неопределяемого уровня HBV-ДНК методом ПЦР-анализа, следует продолжить лечение. У пациентов с частичным ответом на лечение (концентрация HBV ДНК более от 300 до 10⁴ копий/мл), следует рассмотреть три варианта: (1) при приеме лекарственного препарата с низким генетическим барьером показано добавление дополнительного нуклеозидного аналога; (2) при приеме лекарственного препарата с высоким генетическим барьером лечение должно быть продолжено и (3) при приеме пациентом лекарственного препарата с отсроченным эффектом (например, адефовира) оценка концентрации HBV-ДНК должна быть повторена через 48 нед., а добавление дополнительного нуклеозидного аналога возможно при сохранении у пациента неполного ответа. Наконец, для пациентов с неадекватным ответом на терапию через 24 нед., определяемым по концентрации HBV-ДНК выше 10⁴ копий/мл, следует добавить еще один нуклеозидный аналог.⁴² Использование данного алгоритма, как ожидается, приведет к снижению развития лекарственной резистентности.

Один из недостатков выбора 24 нед. как точки контроля эффективности проводимого лечения заключается в возможности развития не проявляющих себя клинически лекарственно-резистентных штаммов HBV, которые могли возникнуть до или на 24-неделе на фоне лечения нуклеозидным аналогом,^{43,44} что может повлиять на выбор и результат добавления или переключения на различные нуклеозидные аналоги. Концентрация HBV-РНК уже через 4 нед. после начала лечения ламивудином недавно признана надежным прогностическим показателем развития резистентности к ламивудину через 5 лет лечения.⁴⁵ У всех пациентов с концентрацией HBV-ДНК ниже 4 log копий/мл через 4 нед. после начала терапии, спустя 5 лет терапии концентрация HBV-ДНК со-

хранялась на уровне ниже 2000 копий/мл, отмечалась сероконверсия HBeAg, нормализация концентрации аланинаминотрансферазы и отсутствие связанных с резистентностью к ламивудину мутаций. Вопрос о применимости данного наблюдения к другим нуклеозидным аналогам остается неразрешенным.

Таким образом, важным параметром является скорость снижения вирусной нагрузки. При быстром снижении вирусной до неопределяемого уровня лечение может быть продолжено без изменения. При неполном вирусологическом ответе важным критерием может выступать тип снижения вирусной нагрузки; если уровень вирусной продолжает снижаться, то можно продолжать монотерапию до достижения неопределяемых уровней, особенно при использовании лекарственных препаратов с высоким генетическим барьером к развитию резистентности; если уровни вирусной выйдут на плато, то потребуются добавление лекарственного препарата с отсутствием перекрестной резистентности.

Комбинированная терапия

Сторонники комбинированной терапии хронического гепатита В придерживаются схемы терапии ВИЧ-инфекции, при которой успешное подавление вируса и снижения риска развития лекарственной резистентности достигаются при комбинации нескольких лекарственных препаратов. Однако при хроническом гепатите В комбинированная терапия двумя различными нуклеозидными аналогами обычно не способствует усилению мощности противовирусного действия и не вызывает более выраженного подавления вирусной репликации. Это наблюдение, возможно, связано с тем, что все доступные нуклеозидные аналоги действуют на одну и ту же часть вируса — ДНК-полимеразу. Наилучший вариант комбинированной терапии заключается в использовании лекарственных препаратов без перекрестной резистентности для предотвращения развития резистентности или отдаления сроков ее формирования.

В исследовании, в котором участвовали 100 пациентов,⁴⁶ комбинации двух нуклеозидных или нуклеотидных аналогов, принадлежащих к различным структурным группам (ламивудин и адефовир), уровень супрессии HBV-ДНК через 2 года у пациентов, получавших ламивудин в комбинации с адефовиром, был аналогичен таковому для пациентов, получавших лишь ламивудин. Доли пациентов с неопределяемыми уровнями HBV-ДНК (комбинированная терапия — 26% против монотерапии — 14%) и с нормализацией аланинаминотрансферазы (34% против 45%) спустя 2 года не различалась между группами. Однако показатели резистентности к ламивудину через 1 и 2 года лечения составляли 9% и 15% в группе комбинированной терапии против 20% и 43% в группе монотерапии ламивудином соответственно. Эти результаты позволяют предположить, что комбинация нуклеозидных или нуклеотидных аналогов из различных групп сопряжена с более низким риском развития лекарственной резистентности по сравнению с монотерапией. Однако развитием резистентности к ни в коем случае нельзя

пренебречь, так как у 15% пациентов наблюдалась резистентность к ламивудину через 2 года комбинированной терапии.

В рамках другого, менее крупного, исследования проведена оценка возможных дополнительных эффектов комбинации эмтрицитабина (L-нуклеозида) и адефовира (n = 14) в сравнении с монотерапией адефовиром (n = 16).⁴⁷ У пациентов из группы комбинированной терапии отмечалась более высокая частота достижения неопределяемых уровней HBV-ДНК (79% против 38%) и нормализации концентрации аланинаминотрансферазы (79% против 38%) через 96 нед. по сравнению с пациентами из группы монотерапии. Эти наблюдения противоречат ранее упомянутому исследованию.⁴⁶ Резистентность к адефовиру и эмтрицитабину не определялась максимум до 96 нед. в группе комбинированной терапии.⁴⁷ Это может быть связано с низкой чувствительностью метода прямого секвенирования. Другая причина может заключаться в прекращении терапии после HBeAg-сероконверсии у 14% и 25% пациентов, получающих монотерапию и комбинированную терапию соответственно. Результаты данного небольшого исследования требуют подтверждения в рамках крупномасштабных исследований.

Также изучена комбинированная терапия двумя нуклеозидными аналогами, принадлежащими к одной группе, а именно: ламивудином и телбивудином (оба L-нуклеозиды).⁴⁸ Через 1 год терапии лекарственная резистентность была определена у двух (5%) из 44 пациентов из группы монотерапии телбивудином, у четырех (21%) из 19 пациентов из группы монотерапии ламивудином, а также у пяти (12%) из 41 пациента из группы комбинированного лечения телбивудином и ламивудином. Причина более высокой частоты резистентности при комбинированной терапии по сравнению с монотерапией телбивудином неизвестна; она может заключаться в конкуренции между данными лекарственными препаратами за внутриклеточное фосфорилирование и за один и тот же связывающий участок обратной транскриптазы.

Результаты всех данных клинических исследований четко указывают на то, что комбинированная терапия может проводиться лишь лекарственными препаратами, не обладающими перекрестной резистентностью друг с другом,⁴⁹ что позволяет осуществлять контроль основных предсуществующих лекарственно-резистентных мутантных штаммов. Несмотря на то что данное наблюдение верно для адефовира и ламивудина или эмтрицитабина, их противовирусная активность скорее ограничена по сравнению с лекарственными препаратами нового поколения, такими как энтекавир, тенофовир и телбивудин. Примечательно, что комбинация тенофовира и ламивудина или эмтрицитабина у пациентов с ВИЧ/HBV характеризуется блестящими результатами подавления репликации HBV без развития резистентных мутантных штаммов возбудителя через несколько лет применения.⁵⁰⁻⁵²

Другая интересная стратегия лечения заключается в комбинировании нуклеозидного аналога с интерферо-

ном. Интерферон альфа снижает стабильность вирусного капсида и вирусного транскрипта, а также стимулирует анти-НВВ-иммунный ответ. Более того, интерферон альфа ингибирует репликацию ламивудин-резистентных и адефовир-резистентных мутантов в условиях *in vitro*⁵³ и *in vivo*.¹⁶ В нескольких исследованиях продемонстрирован эффект интерферона альфа на развитие резистентности к ламивудину. Santantonio с коллегами⁵⁴ изучил 50 анти-НВе-положительных пациентов, получавших монотерапию ламивудином (n = 26) или комбинированную терапию интерфероном альфа и ламивудином (n = 24) длительностью 12 мес. У всех пациентов из группы комбинированной терапии отмечались неопределяемые концентрации НВВ-ДНК в конце лечения, тогда как у пяти из 26 пациентов с первоначальным ответом на терапию из группы монотерапии ламивудином наблюдались вирусологические и биохимические прорывы с развитием резистентности к ламивудину. Jang с коллегами⁵⁵ изучил 83 пациента, получавших монотерапию ламивудином до стабильно отрицательных результатов оценки по НВеАг и НВВ-ДНК (использовался метод гибридизации) в течение 24 мес. (n = 42) или комбинированную терапию интерфероном альфа и ламивудином до достижения неопределяемого уровня НВВ-ДНК в течение 6 мес. (n = 41). Исследователи выявили, что суммарная частота вирусологического прорыва через 1, 2 и 3 года терапии составляла 10%, 55%, 56% в группе монотерапии ламивудином и 5%, 20% и 30% в группе комбинированной терапии соответственно. Из пациентов с вирусологическим прорывом резистентность к ламивудину определялась у 82% в группе монотерапии ламивудином и у 56% в группе комбинированной терапии. В связи с этим

предполагается, что добавление интерферона альфа снижает риск развития лекарственной резистентности у пациентов, получающих ламивудин, вероятно в результате дополнительной вирусной супрессии, что показано в крупном многоцентровом исследовании.⁵⁶ Необходимо проведение дополнительных исследований для оценки возможности поддержания данного эффекта на протяжении более длительного периода, так как долгосрочной терапии интерфероном альфа не проводится.

Примечательно, что в рамках одного из исследований и его продолженной фазы^{57,58} комбинированная терапия пегилированным интерфероном и адефовира дипивоксилем приводила к более мощному снижению внутрипеченочного уровня циркулярной ковалентно замкнутой ДНК НВВ по сравнению с монотерапией адефовиром.⁵⁹ Кроме того, такая комбинированная терапия приводит к вирусной супрессии у большинства пациентов.

Тактика лечения при развитии лекарственной резистентности

На рисунке 3 отражены возможные варианты лечения для пациентов с НВВ-инфекцией с лекарственной резистентностью к различным противовирусным препаратам.

НВВ с резистентностью к ламивудину

Так как ламивудин (rtM204I/V) и телбивудин (rtM204I) обладают перекрестной резистентностью, стратегия лечения при резистентности к ламивудину должна быть применима и в случае резистентности к телбивудину.

Адефовир обладает доказанной эффективностью в супрессии вирусной репликации ламивудин-резистентного НВВ в условиях *in vitro* и *in vivo*. Согласно результатам исследования на 59 пациентах с компенсированным состоянием с резистентностью к ламивудину, переключение на терапию адефовиром или добавление его в качестве еще одного препарата приводило к снижению концентрации НВВ-ДНК приблизительно на 4 log копий/мл через 48 нед.⁶⁰ Однако подъемы уровня аланинаминотрансферазы отмечались у семи (37%) пациентов из группы переключения терапии на адефовир по сравнению с одним (5%) пациентом из группы добавления адефовира. Наоборот, в исследовании на 28 пациентах из Тайваня продемонстрировано, что переключение на адефовир пациентов с резистентностью к ламивудину было безопасным, даже в случае наличия у них цирроза печени; лишь у 11% пациентов отмечались транзиторные обострения без сопутствующих изменений концентрации билирубина и протромбинового времени.⁶¹

В другом исследовании на 135 пациентах с резистентностью к ламивудину (у 30% также отмечалась декомпенсация функций печени) добавление адефовира приводило к снижению концентрации НВВ-ДНК на 4 log копий/мл после 52 нед. наблюдения.⁶² В последнем исследовании, проведенном на 145 пациентах с резистентностью к ламивудину, получавших дополнительную терапию адефовиром средней продолжительностью 42 мес. у 80% пациентов концентрация НВВ-ДНК была ниже 2000 копий/мл, у 84% — отмечалась нормализация уровня аланинамино-

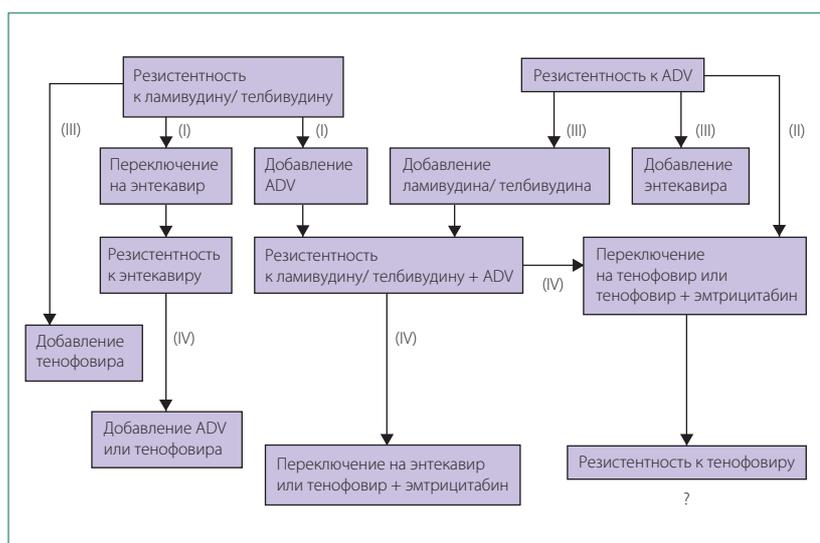


Рис. 3. Противовирусные препараты для различных лекарственно-резистентных НВВ-штаммов

Стратегия лечения зависит от доступности и тактики возмещения расходов на различные лекарственные препараты в разных странах. Уровень доказательности: уровень I — как минимум одно удовлетворительно спроектированное рандомизированное контролируемое исследование. Уровень II — хорошо спроектированные когортные исследования или исследования по типу «случай–контроль». Уровень III — исследование серии случаев, описания случаев или несовершенные клинические исследования. Уровень IV — мнения авторитетных лиц, основанные на клиническом опыте, описательных исследованиях или отчетах экспертных комитетов.

трансферазы, у 100% — отмечалось отсутствие вирусологических и клинических проявлений инфекции.⁶³ Schiff с коллегами⁶⁴ набрал 128 пациентов, которым предстояла трансплантация печени, и 196 пациентов, уже перенесших ее; у всех пациентов отмечалась резистентность к ламивудину.⁶⁴ Добавление адефовира к режиму терапии данных пациентов приводило к снижению концентрации HBV-ДНК на 4 log копий/мл через 48 нед. лечения. Более важно, что стабильный или сниженный индекс по шкале Чайлд–Пью отмечался у 92% пациентов до трансплантации печени (медиана наблюдения — 19 мес.) и у 96% — после трансплантации (медиана наблюдения — 56 мес.). При оценке исходов оказалось, что у 21% пациентов, ожидающих трансплантации печени, операция была отложена в связи с улучшением функции органа.⁶⁵

Показатель резистентности к адефовиру у пациентов с резистентностью к ламивудину составлял уже 18% спустя 1 год по сравнению с 0% у пациентов, ранее не получавших ламивудин.⁶⁶ В рамках проведенного в Корее исследования на 67 пациентах с лекарственной резистентностью к ламивудину, переведенных на адефовир, суммарный показатель резистентности к адефовиру составил 6% и 25% через 1 и 2 года соответственно.⁶⁷ Согласно результатам проведенного в Гонконге исследования на 56 пациентах с резистентностью к ламивудину (80% с HBeAg), суммарный показатель резистентности к адефовиру через 2 года составил 18% у пациентов, переключившихся на адефовир, и у 7% пациентов, которым адефовир добавлялся к режиму терапии.⁶⁸ В исследовании на 42 HBeAg-отрицательных пациентах с резистентностью к ламивудину показатели резистентности к адефовиру через 15–18 месяцев лечения составили 21% ($\frac{3}{14}$) для пациентов, переключившихся на адефовир, и 0% для пациентов, которым в режим терапии был добавлен адефовир.⁶⁹ Согласно результатам недавно проведенного исследования добавления адефовира пациентам с резистентностью к ламивудину, суммарные показатели резистентности к адефовиру составили 1%, 2%, 4% и 4% в первые 4 года терапии.⁶³ Таким образом, предполагается возможность значимого снижения частоты развития резистентности к адефовиру у пациентов с резистентностью к ламивудину при добавлении адефовира, а не при переключении на него.

Момент добавления адефовира для пациентов с резистентностью к ламивудину является другим критическим фактором подавления вируса. В исследовании на 74 HBeAg-отрицательных пациентах с резистентностью к ламивудину добавление адефовира в тот момент, когда концентрация HBV-ДНК составляла 3–6 log копий/мл при нормальной концентрации аланинаминотрансферазы, приводило к достижению неопределяемых уровней HBV-ДНК через 3 мес. у 100% пациентов и лишь только у 46% пациентов с концентрацией HBV-ДНК выше 6 log копий/мл и высокой концентрацией аланинаминотрансферазы на момент добавления адефовира.⁷⁰ Таким образом, как можно более раннее добавление адефовира (на момент развития генотипической резистентности по возможности) является наи-

лучшей стратегией для лечения пациентов с резистентностью к ламивудину.

Также в рамках исследования проведена оценка эффективности энтекавира в качестве варианта лечения пациентов с резистентностью к ламивудину. В исследовании дозового диапазона II фазы на 181 пациенте с отсутствием ответа на терапию ламивудином (у 87% пациентов отмечалась подтвержденная резистентность к ламивудину) у пациентов, определенных в группу лечения энтекавиrom по 1 мг 1 раз в день, концентрация HBV-ДНК снижалась на 5 log копий/мл через 48 нед. по сравнению со снижением на 4,5 log копий/мл у пациентов из группы лечения энтекавиrom в дозе 0,5 мг 1 раз в день.⁷¹ Этот результат, возможно, обусловлен частичной резистентностью ламивудин-резистентного HBV к энтекавиру, что обуславливает необходимость использования более высокой дозы для адекватной супрессии вируса. Данное наблюдение способствовало проведению исследования III фазы, в котором было проведено сравнение 141 пациента с резистентностью к ламивудину, получавших энтекавир по 1 мг 1 раз в день, и 145 пациентов, продолживших терапию ламивудином. У всех пациентов терапия ламивудином была неэффективна, что проявилось персистенцией вируса или доказанной резистентностью к ламивудину (85% пациентов) на фоне терапии ламивудином.⁷² Через 48 нед. снижение концентрации HBV-ДНК составляло 5,1 log копий/мл у пациентов из группы лечения энтекавиrom по 1 мг и 0,48 log копий/мл у пациентов, продолживших терапию ламивудином. Нормализация уровня аланинаминотрансферазы наблюдалась у 61% и 15% пациентов соответственно, а гистологическое улучшение — у 55% и 28% пациентов соответственно. Одно из ограничений терапии энтекавиrom при ламивудин-резистентном заболевании заключалось в развитии резистентности к энтекавиру. Несмотря на то что показатель генотипической резистентности к энтекавиру составляет всего 1,2% через 5 лет у ранее не проходивших лечение пациентов, кумулятивная частота генотипической резистентности к энтекавиру у пациентов с резистентностью к ламивудину составляет 6%, 15%, 36%, 46% и 51% на 1, 2, 3, 4 и 5 год терапии соответственно.⁷³ Вероятно, энтекавир менее эффективен в терапии ламивудин-резистентного HBV по сравнению с ранним добавлением адефовира. Суммарные показатели резистентности к адефовиру и энтекавиру у пациентов с резистентностью к ламивудину обобщены на **рисунке 4**.

Тенофовир, помимо эффективности в контроле репликации ВИЧ, обладает мощным противовирусным эффектом на HBV. В рамках исследования на 53 пациентах с резистентностью к ламивудину и концентрацией HBV-ДНК более 6 log копий/мл у пациентов, получавших тенофовир, концентрация HBV-ДНК снижалась более чем на 5 log копий/мл через 48 нед. по сравнению со снижением данного показателя на 3 log копий/мл у пациентов, получавших адефовир.⁷⁴ Концентрация HBV-ДНК менее 400 копий/мл через 48 нед. была достигнута у всех пациентов из группы лечения тенофовиrom по сравнению лишь с 44% пациентов из группы лече-

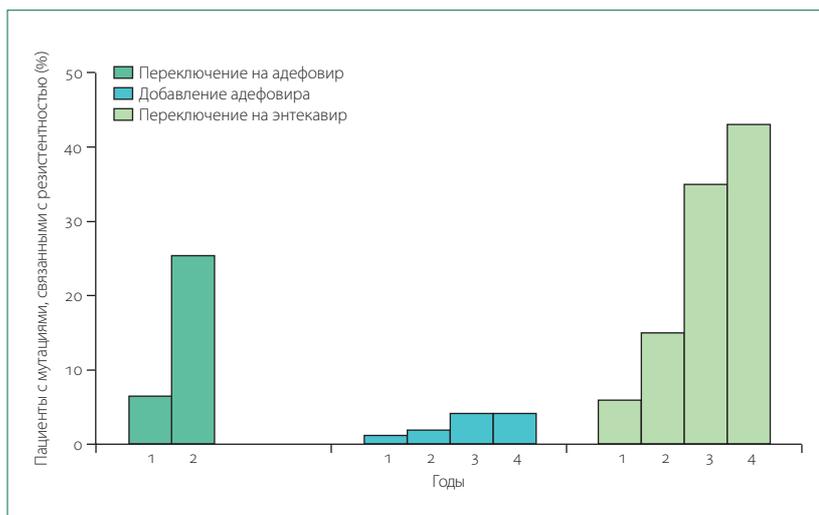


Рис. 4. Суммарные показатели резистентности к адефовиру и энтекавиру у пациентов с резистентностью к ламивудину^{63,67,73}

ния адефовиrom. Среди 20 пациентов с резистентностью к ламивудину и концентрацией HBV-ДНК более 10^4 копий/мл, получавших адефовир, у 19 пациентов концентрация HBV-ДНК ниже 400 копий/мл сохранялась на протяжении 3,5 мес. (медиана) после переключения на тенофовир.⁷⁵ В рамках недавно проведенного исследования на 127 пациентах (6, ранее не проходившие лечение, 121, ранее проходивший лечение нуклеозидными аналогами) среднее снижение концентрации HBV-ДНК составило 4,1 log копий/мл, а неопределяемая концентрация HBV-ДНК достигнута у 85% пациентов через 12 месяцев лечения тенофовиrom.⁷⁶ Высокая эффективность тенофовира в лечении ламивудин-резистентного HBV также продемонстрирована на пациентах с трансплантацией печени и пациентов, коинфицированных ВИЧ.^{52,77-79}

Резистентность к адефовиру

Ламивудин характеризуется доказанной эффективностью в супрессии вирусной репликации адефовир-резистентного HBV с мутацией rtN236T.^{80,81} *In vitro* адефовир-резистентный HBV с мутацией rtN236T не характеризовался повышенной резистентностью к энтекавиру по сравнению со штаммом дикого типа.⁵¹ Однако мутант приводит к повышению резистентности к тенофовиру в 4,5 раза по сравнению со штаммом дикого типа. Адефовир-резистентный HBV с мутацией rtA181T/V также проявляет резистентность к ламивудину.⁸² В клинических условиях энтекавир и тенофовир вызывают супрессию вирусной репликации данного адефовир-резистентного штамма HBV.^{83,84}

Резистентность к энтекавиру и тенофовиру

В нескольких клинических исследованиях изучено лечение энтекавир-резистентного HBV. В исследованиях *in vitro* продемонстрирована эффективность адефовира и тенофовира в лечении энтекавир-резистентного HBV, что было подтверждено в одном клиническом слу-

чае «спасительной» терапии адефовиrom.⁷ Данные по лечебной тактике в случае резистентности к тенофовиру отсутствуют.

Мультилекарственная резистентность

Несмотря на то что для большинства штаммов HBV с резистентностью к отдельным нуклеозидным аналогам характерна эффективная супрессия нуклеозидными аналогами из других структурных групп, мультилекарственная резистентность может представлять проблему в будущем, особенно при пролонгированном и последовательном противовирусном лечении. Риск развития мультилекарственной резистентности напрямую связан с неадекватным лечением как результат неполной вирусной супрессии. Мультилекарственная резистентность также может развиваться у пациентов, получавших лекарственные препараты с похожими профилями резистентности в различные сроки лечения.^{6,7,13,85}

С целью предотвращения развития HBV с мультилекарственной резистентностью следует отдавать предпочтение препаратам с высокой мощностью противовирусного действия без перекрестной резистентности.

Заключение

Для предотвращения и минимизации риска развития лекарственной резистентности следует повышать приверженность пациентов режиму терапии (**блок 1**). Препаратами выбора должны являться нуклеозидные аналоги, вызывающие быструю вирусную супрессию и обладающие высоким генетическим барьером к развитию резистентности. Должна обязательно проводиться ранняя оценка снижения уровня вирусной нагрузки через 24 нед. лечения, особенно у пациентов, получающих нуклеозидные аналоги с низким генетическим барьером. Прогнозирование ответа и развития резистентности возможно уже через 4 нед. лечения, хотя для подтверждения данного наблюдения недостаточно данных. Максимальный уровень вирусной супрессии и тактика раннего добавления еще одного препарата, как было показано, существенно улучшают результаты терапии.

Стратегия поиска и критерии отбора

Данные для настоящего обзора идентифицированы в процессе поиска по базам данных Medline, Current Contents и ссылкам на соответствующие статьи; несколько статей идентифицировано при просмотривании обширных файлов авторов. Поискковые термины включали следующие слова: HBV, hepatitis B virus (вирус гепатита В), treatment (лечение), antiviral (противовирусный), drug resistance (лекарственная резистентность), monotherapy (монотерапия) и combination therapy (комбинированная терапия). Также в поиск были включены абстракты из последних международных семинаров. Поиск был ограничен написанными на английском языке статьями, опубликованными в период с января 1996 года по декабрь 2008 года.

Комбинация нуклеозидных аналогов с низкими генетическими барьерами и с подобранной перекрестной резистентностью на сегодняшний день коррелирует с более низким показателем лекарственной резистентности по сравнению с монотерапией. Тем не менее показатель резистентности до сих пор далек от удовлетворительно-го. Комбинация более мощных лекарственных препаратов с высоким генетическим барьером резистентности должна оцениваться в группах высокого риска, таких как пациенты с повышенным риском резистентности (высокая вирусная нагрузка или рецидив после трансплантации печени, либо оба фактора) и пациенты, у которых функция печени может не выдержать рецидива вирусного гепатита или утяжеления заболевания (пациенты с циррозом печени).

Для достижения лучшего клинического ответа у пациентов с лекарственной резистентностью добавление в схему лечения дополнительного нуклеозидного аналога из другой группы без перекрестной резистентности следует проводить как можно раньше, предпочтительно на момент развития генотипической резистентности. В связи с этим использование генотипического анализа должно облегчать выбор лекарственного препарата для оптимизации лечения. Однако у пациентов с частичным или субоптимальным вирусологическим ответом доступные на сегодняшний день коммерческие генотипические тесты, обладая недостаточной чувствительностью, не могут выявить наличия несущественных мутантных форм. Следовательно, у таких пациентов концентрация HBV-ДНК, возможно, будет более достоверным критерием для определения необходимости добавления или переключения на другой нуклеозидный аналог.

Несмотря на то что противовирусная лекарственная резистентность остается важной клинической проблемой, чувствительные количественные тесты контроля противовирусной терапии и противовирусные препараты нового поколения с более высокими показателями активности и более низкими показателями резистентности стали значительным достижением в лечении пациентов с хроническим гепатитом В. Тем не менее целесообразно проведение долгосрочного молекулярного надзора для прогнозирования развития новых мутантов и адаптации новых стратегий противовирусной терапии на фоне непрерывно меняющейся вирусологической ситуации.

Конфликт интересов

M-FY и C-LL являлись консультантами и получали исследовательские гранты от компаний GlaxoSmithKline, Bristol Myers Squibb и Novartis.

Благодарности

Мы выражаем благодарность Fabien Zoulin за его предложения и обзор настоящей рукописи.

Литература

- Okamoto H, Imai M, Kametani M, Nakamura T, Mayumi M. Genomic heterogeneity of hepatitis B virus in a 54-year-old woman who contracted the infection through materno-fetal transmission. *Jpn J Exp Med* 1987; **57**: 231-36.
- Girones R, Miller RH. Mutation rate of the hepadnavirus genome. *Virology* 1989; **170**: 595-97.
- Nowak MA, Bonhoeffer S, Hill AM, Boehme R, Thomas HC, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 4398-402.
- Kirishima T, Okanoue T, Daimon Y, et al. Detection of YMDD mutant using a novel sensitive method in chronic liver disease type B patients before and during lamivudine treatment. *J Hepatol* 2002; **37**: 259-65.
- Jardi R, Rodriguez-Frias F, Schaper M, et al. Hepatitis B virus polymerase variants associated with entecavir drug resistance in treatment-naïve patients. *J Viral Hepat* 2007; **14**: 835-40.
- Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al. Two-year assessment of entecavir resistance in lamivudine-refractory hepatitis B virus patients reveals different clinical outcomes depending on the resistance substitutions present. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; **51**: 902-11.
- Villet S, Ollivet A, Pichoud C, et al. Stepwise process for the development of entecavir resistance in a chronic hepatitis B virus infected patient. *J Hepatol* 2007; **46**: 531-38.
- Villet S, Pichoud C, Villeneuve JP, Trepo C, Zoulim F. Selection of a multiple drug-resistant hepatitis B virus strain in a liver-transplanted patient. *Gastroenterology* 2006; **131**: 1253-61.
- Litwin S, Toll E, Jilbert AR, Mason WS. The competing roles of virus replication and hepatocyte death rates in the emergence of drug-resistant mutants: theoretical considerations. *J Clin Virol* 2005; **34** (suppl 1): S96-107.
- Summers J, Mason WS. Residual integrated viral DNA after hepadnavirus clearance by nucleoside analog therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 638-40.
- Das K, Xiong X, Yang H, et al. Molecular modeling and biochemical characterization reveal the mechanism of hepatitis B virus polymerase resistance to lamivudine (3TC) and emtricitabine (FTC). *J Virol* 2001; **75**: 4771-79.
- Yang H, Westland CE, Delaney WE, et al. Resistance surveillance in chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil for up to 60 weeks. *Hepatology* 2002; **36**: 464-73.
- Tenney DJ, Levine SM, Rose RE, et al. Clinical emergence of entecavir-resistant hepatitis B virus requires additional substitutions in virus already resistant to lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**: 3498-507.
- Langley DR, Walsh AW, Baldick CJ, et al. Inhibition of hepatitis B virus polymerase by entecavir. *J Virol* 2007; **81**: 3992-4001.
- Fournier C, Zoulim F. Antiviral therapy of chronic hepatitis B: prevention of drug resistance. *Clin Liver Dis* 2007; **11**: 869-92.
- Nafa S, Ahmed S, Tavan D, et al. Early detection of viral resistance by determination of hepatitis B virus polymerase mutations in patients treated by lamivudine for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000; **32**: 1078-88.
- Fung SK, Andreone P, Han SH, et al. Adefovir-resistant hepatitis B can be associated with viral rebound and hepatic decompensation. *J Hepatol* 2005; **43**: 937-43.
- Lai CL, Dienstag J, Schiff E, et al. Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin Infect Dis* 2003; **36**: 687-96.
- Yuen MF, Chow DH, Tsui K, et al. Liver histology of Asian patients with chronic hepatitis B on prolonged lamivudine therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; **21**: 841-49.
- Chae HB, Hann HW. Baseline HBV DNA level is the most important factor associated with virologic breakthrough in chronic hepatitis B treated with lamivudine. *World J Gastroenterol* 2007; **13**: 4085-90.
- Chang ML, Chien RN, Yeh CT, Liaw YF. Virus and transaminase levels determine the emergence of drug resistance during long-term lamivudine therapy in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2005; **43**: 72-77.
- Zoulim F, Buti M, Lok AS. Antiviral-resistance hepatitis B virus: can we prevent this monster from growing? *J Viral Hepat* 2007; **14** (suppl 1): 29-36.
- Zoulim F, Poynard T, Degos F, et al. A prospective study of the evolution of lamivudine resistance mutations in patients with chronic hepatitis B treated with lamivudine. *J Viral Hepat* 2006; **13**: 278-88.
- Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, et al. Response to long-term lamivudine treatment in patients infected with hepatitis B virus genotypes A, B, and C. *J Med Virol* 2006; **78**: 1276-83.
- Schildgen O, Sirma H, Funk A, et al. Variant of hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. *N Engl J Med* 2006; **354**: 1807-12.
- Osiowy C, Villeneuve JP, Heathcote EJ, Giles E, Borlang J. Detection of rtN236T and rtA181V/T mutations associated with resistance to adefovir dipivoxil in samples from patients with chronic hepatitis B virus infection by the INNO-LiPA HBV DR line probe assay (version 2). *J Clin Microbiol* 2006; **44**: 1994-97.
- Fung SK, Chae HB, Fontana RJ, et al. Virologic response and resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2006; **44**: 283-90.
- Westland CE, Delaney WE, Yang H, et al. Hepatitis B virus genotypes

- and virologic response in 694 patients in phase III studies of adefovir dipivoxil. *Gastroenterology* 2003; **125**: 107-16.
29. Zollner B, Peterson J, Puchhammer-Stockl E, et al. Viral features of lamivudine resistant hepatitis B genotypes A and D. *Hepatology* 2004; **39**: 42-50.
 30. Yuen MF, Wong DK, Sablon E et al. Hepatitis B virus genotypes B and C do not affect the antiviral response to lamivudine. *Antiviral Therapy* 2003; **8**: 531-34.
 31. Yuen MF, Sablon E, Hui CK, Yuan HJ, Decraemer H, Lai CL. Factors associated with hepatitis B virus DNA breakthrough in patients receiving prolonged lamivudine therapy. *Hepatology* 2001; **34**: 785-91.
 32. Fukai K, Zhang KY, Imazeki F, Kurihara T, Mikata R, Yokosuka O. Association between lamivudine sensitivity and the number of substitutions in the reverse transcriptase region of the hepatitis B virus polymerase. *J Viral Hepat* 2007; **14**: 661-66.
 33. Lai CL, Gane E, Liaw YF, et al. Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2007; **357**: 2576-88.
 34. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. *Gastroenterology* 2006; **131**: 1743-51.
 35. Fung J, Lai CL, Yuen MF. New paradigms for the treatment of chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; **23**: 1182-92.
 36. Carrouée-Durantel S, Durantel D, Werle-Lapostolle B, et al. Suboptimal response to adefovir dipivoxil therapy for chronic hepatitis B in nucleoside-naïve patients is not due to pre-existing drug-resistant mutants. *Antivir Ther* 2008; **13**: 381-88.
 37. Lai CL, Yuen MF. Chronic hepatitis B—new goals, new treatment. *N Engl J Med* 2008; **359**: 2488-91.
 38. Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M, et al. Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2008; **359**: 2442-55.
 39. Snow-Lampart A, Chappell B, Curtis M, et al. Week 96 resistance surveillance for HBeAg positive and negative subjects with chronic HBV infection randomized to receive tenofovir DF 300 mg QD. *Hepatology* 2008; **48** (suppl 4): 745A.
 40. Delaney WE, Ray AS, Yang H, et al. Intracellular metabolism and in vitro activity of tenofovir against hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**: 2471-77.
 41. Sheldon J, Camino N, Rodés B, et al. Selection of hepatitis B virus polymerase mutations in HIV-coinfected patients treated with tenofovir. *Antivir Ther* 2005; **10**: 727-34.
 42. Keefe EB, Zeuzem S, Koff RS, et al. Report of an international workshop: roadmap for management of patients receiving oral therapy for chronic hepatitis B. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; **5**: 890-97.
 43. Yuen MF, Sablon E, Libbrecht E, et al. Significance of viral load, core promoter/precore mutations and specific sequences of polymerase gene in HBV-infected patients on 3-year lamivudine treatment. *Antivir Ther* 2006; **11**: 779-86.
 44. Paik YH, Han KH, Hong SP, et al. The clinical impact of early detection of the YMDD mutant on the outcomes of long-term lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. *Antivir Ther* 2006; **11**: 447-55.
 45. Yuen MF, Fong DY, Wong DK, Yuen JC, Fung J, Lai CL. Hepatitis B virus DNA levels at week 4 of lamivudine treatment predict the 5-year ideal response. *Hepatology* 2007; **46**: 1695-703.
 46. Sung JJ, Lai JY, Zeuzem S, et al. Lamivudine compared with lamivudine and adefovir dipivoxil for the treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2008; **48**: 728-35.
 47. Hui CK, Zhang HY, Bowden S, et al. 96 weeks combination of adefovir dipivoxil plus emtricitabine vs adefovir dipivoxil monotherapy in the treatment of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2008; **48**: 714-20.
 48. Lai CL, Leung N, Teo EK, et al. A 1-year trial of telbivudine, lamivudine, and the combination in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2005; **129**: 528-36.
 49. Yang H, Qi X, Sabogal A, Miller M, Xiong S, Delaney WE. Cross-resistance testing of next-generation nucleoside and nucleotide analogues against lamivudine-resistant HBV. *Antivir Ther* 2005; **10**: 625-33.
 50. Bani-Sadr F, Palmer P, Scieux C, Molina JM. Ninety-six-week efficacy of combination therapy with lamivudine and tenofovir in patients coinfecting with HIV-1 and wild-type hepatitis B virus. *Clin Infect Dis* 2004; **39**: 1062-64.
 51. Schmutz G, Nelson M, Lutz T, et al. Combination of tenofovir and lamivudine versus tenofovir after lamivudine failure for therapy of hepatitis B in HIV-coinfection. *AIDS* 2006; **20**: 1951-54.
 52. Lacombe K, Gozlan J, Boelle PY, et al. Long-term hepatitis B virus dynamics in HIV-hepatitis B virus-co-infected patients treated with tenofovir disoproxil fumarate. *AIDS* 2005; **19**: 907-15.
 53. Brunelle MN, Jacquard AC, Pichoud C, et al. Susceptibility to antivirals of a human HBV strain with mutations conferring resistance to both lamivudine and adefovir. *Hepatology* 2005; **41**: 1391-98.
 54. Santantonio T, Niro GA, Sinisi E, et al. Lamivudine/interferon combination therapy in anti-HBe positive chronic hepatitis B patients: a controlled pilot study. *J Hepatol* 2002; **36**: 799-804.
 55. Jang MK, Chung YH, Choi MH, et al. Combination of alpha-interferon with lamivudine reduces viral breakthrough during long-term therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; **19**: 1363-68.
 56. 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.
 57. Wursthorn K, Lutgehetmann M, Dandri M, et al. Peginterferon alpha-2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006; **44**: 675-84.
 58. Lutgehetmann M, Volzt T, Quaas A, et al. Sequential combination therapy leads to biochemical and histological improvement despite low ongoing intrahepatic hepatitis B virus replication. *Antivir Ther* 2008; **13**: 57-66.
 59. Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology* 2004; **126**: 1750-58.
 60. Peters MG, Hann HW, Martin P, et al. Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2004; **126**: 91-101.
 61. Liaw YF, Lee CM, Chien RN, Yeh CT. Switching to adefovir monotherapy after emergence of lamivudine-resistant mutations in patients with liver cirrhosis. *J Viral Hepat* 2006; **13**: 250-55.
 62. Perrillo R, Hann HW, Mutimer D, et al. Adefovir dipivoxil added to ongoing lamivudine in chronic hepatitis B with YMDD mutant hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2004; **126**: 81-90.
 63. Lampertico P, Viganò M, Manenti E, Iavarone M, Sablon E, Colombo M. Low resistance to adefovir combined with lamivudine: a 3-year study of 145 lamivudine-resistant hepatitis B patients. *Gastroenterology* 2007; **133**: 1445-51.
 64. Schiff ER, Lai CL, Hadziyannis S, et al. Adefovir dipivoxil therapy for lamivudine-resistant hepatitis B in pre- and post-liver transplantation patients. *Hepatology* 2003; **38**: 1419-27.
 65. Schiff E, Lai CL, Hadziyannis S, et al. Adefovir dipivoxil for wait-listed and post-liver transplantation patients with lamivudine-resistant hepatitis B: final long-term results. *Liver Transpl* 2007; **13**: 349-60.
 66. Lee YS, Suh DJ, Lim YS, et al. Increased risk of adefovir resistance in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B after 48 weeks of adefovir dipivoxil monotherapy. *Hepatology* 2006; **43**: 1385-91.
 67. Yeon JE, Yoo W, Hong SP, et al. Resistance to adefovir dipivoxil in lamivudine resistant chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil. *Gut* 2006; **55**: 1488-95.
 68. Fung J, Lai CL, Yuen JC, et al. Adefovir dipivoxil monotherapy and combination therapy with lamivudine for the treatment of chronic hepatitis B in an Asian population. *Antivir Ther* 2007; **12**: 41-46.
 69. Rapti I, Dimou E, Mitsoula P, Hadziyannis SJ. Adding-on versus switching-to adefovir therapy in lamivudine-resistant HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; **45**: 307-13.
 70. Lampertico P, Viganò M, Manenti E, Iavarone M, Lunghi G, Colombo M. Adefovir rapidly suppresses hepatitis B in HBeAg-negative patients developing genotypic resistance to lamivudine. *Hepatology* 2005; **42**: 1414-19.
 71. Chang TT, Gish RG, Hadziyannis SJ, et al. A dose-ranging study of the efficacy and tolerability of entecavir in lamivudine-refractory chronic hepatitis B patients. *Gastroenterology* 2005; **129**: 1198-209.
 72. Sherman M, Yurdaydin C, Sollano J, et al. Entecavir for treatment of lamivudine-refractory, HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2006; **130**: 2039-49.
 73. Tenney DJ, Pokornowski KA, Rose RE, et al. Entecavir at five years shows long-term maintenance of high genetic barrier to hepatitis B virus resistance. *Hepatology International* 2008; **2**: A88-89.
 74. van Bömmel F, Wünsche T, Mauss S, et al. Comparison of adefovir and tenofovir in the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2004; **40**: 1421-25.
 75. van Bömmel F, Zollner B, Sarrazin C, et al. Tenofovir for patients with lamivudine-resistant hepatitis B virus (HBV) infection and high HBV DNA level during adefovir therapy. *Hepatology* 2006; **44**: 318-25.
 76. van Bömmel F, de Man RA, Stein K, et al. A multicenter analysis of antiviral response after one year of tenofovir mono-therapy in HBV-monoinfected patients with prior nucleos(t)ide analog experience. *J Hepatol* 2008; **48** (suppl 2): S32.
 77. Neff GW, Nery J, Lau DT, et al. Tenofovir therapy for lamivudine resistance following liver transplantation. *Ann Pharmacother* 2004; **38**: 1999-2004.
 78. Benhamou Y, Fleury H, Trimoulet P, et al. Anti-hepatitis B virus efficacy of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected patients. *Hepatology* 2006; **43**: 548-55.

-
79. Peters MG, Andersen J, Lynch P, et al. Randomized controlled study of tenofovir and adefovir in chronic hepatitis B virus and HIV infection: ACTG A5127. *Hepatology* 2006; **44**: 1110-16.
 80. Angus P, Vaughan R, Xiong S, et al. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology* 2003; **125**: 292-97.
 81. Villeneuve JP, Durantel D, Durantel S, et al. Selection of a hepatitis B virus strain resistant to adefovir in a liver transplantation patient. *J Hepatol* 2003; **39**: 1085-89.
 82. Villet S, Pichoud C, Billioud G, et al. Impact of hepatitis B virus rtA181V/T mutants on hepatitis B treatment failure. *J Hepatol* 2008; **48**: 747-55.
 83. Fung SK, Fontana RJ. Management of drug-resistant chronic hepatitis B. *Clin Liver Dis* 2006; **10**: 275-302.
 84. Trojan J, Stuermer M, Teuber G, Berger A, Faust D. Treatment of patients with lamivudine-resistant and adefovir dipivoxil-resistant chronic hepatitis B virus infection: is tenofovir the answer? *Gut* 2007; **56**: 436-37.
 85. Yim HJ, Hussain M, Liu Y, Wong SN, Fung SK, Lok AS. Evolution of multi-drug resistant hepatitis B virus during sequential therapy. *Hepatology* 2006; **44**: 703-12.