

انتشار طفرات YMDD لدى مجموعة من المرضى السوريين

المصابين بالتهاب الكبد الفيروس B المزمن

محمود المنلا*، رياض نور الدين الأصفري**

*طالب دراسات عليا (دكتوراه) قسم الطب المخبري، كلية الطب، جامعة حلب

**قسم الطب المخبري، كلية الطب، جامعة حلب

الملخص

كان يعتقد أن طفرات YMDD نادرة عند المرضى غير المعالجين بمضاهيات النكليوز(ت)يدات، إلا أنه أصبح واضحاً الآن أن هذه الطفرات تنتشر بشكل متباين جغرافياً عند المرضى غير المعالجين، وتشكل مقاومة بدئية للمعالجة. هدفت الدراسة إلى تحديد انتشار طفرات YMDD عند مجموعة من مرضى التهاب الكبد B المزمن المراجعين لمشفى حلب الجامعي. تم انتقاء 50 مريضاً بشكل عشوائي لديهم الحمل الفيروسي أكبر من 700 نسخة/مل، لإجراء الكشف عن الطفرات. منهم 66% ذكور، و 38% إيجابي و المستضد HBeAg. متوسط أعمارهم 34.94 ± 14.8 عاماً، ومتوسط الحمل الفيروسي في الدم $5.997 \pm 1.578 \text{ Log}_{10} \text{ IU/ml}$ ، ومتوسط الخيمرة ALT $70.2 \pm 39.4 \text{ IU/ml}$. لم يكشف اختبار الطفرات وجود أي نمط طافر في مجموعة الدراسة، لقد تباينت نتائج الدراسة الحالية مع دول مجاورة ينتشر فيها نفس النمط الجيني المسيطر في سورية D. وتطابقت مع دول غير مجاورة ينتشر فيها نفس النمط الجيني ومع دول غير مجاورة ولا ينتشر فيها نفس النمط الجيني، إن النتائج التي حصلنا عليها تكشف النقاب عن الملامح الأولى لطفرات فيروس التهاب الكبد B في سورية. وإن غياب هذه الأنماط الطافرة في مجموعة الدراسة ربما يساهم بتوجيه اهتمام أكبر في خطط المعالجة في سورية للمضادات الفيروسية المتعلقة مثل الإنتاكافير و تيليفودين ولاميفودين.

الكلمات المفتاحية: التهاب الكبد B، طفرات، طفرة، YMDD، rtM204I/V، معدل انتشار، HBV، وحدة البيولوجية الجزيئية، قسم الطب المخبري، مشفى حلب الجامعي

ورد البحث للمجلة بتاريخ 2018/12/4

قبل للنشر بتاريخ 2018/2/26

Prevalence of YMDD Mutation Among a Group of Chronic Hepatitis B Patients of Syrian Population

Mahmoud Almalla*, Riad Nour Al-Deen Asfari**

*Postgraduate Student (PhD), Dept. of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Aleppo University

** Dept. of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Aleppo University

Abstract

It was believed that the YMDD mutation is rare among patients not treated with Nucleos(t)ide analogues. It has become, however, clear now that this mutation is spread among untreated patients with a varying geographic distribution and forms a primary resistance to treatment.

The aim of this study is to detect the Prevalence of YMDD mutation in a group of Hepatitis B patients consulting Aleppo University Hospital.

Fifty patients with viral load >700 copy/ml were randomly selected for mutation test (66% males and 38% had positive HBeAg). Means of age, viral load and ALT were 34.94 ± 14.8 years, 5.997 ± 1.578 Log₁₀ IU/ml., and 70.2 ± 39.4 IU/ml, respectively.

The test did not reveal any mutation in the tested group and our results were different from the results from neighboring countries where the same genotype dominant in Syria (D) spread. On the other hand, our results were identical with results from other countries in other regions where some of the same genotype is dominant or in others where it is not.

Our results uncover the first features of mutations of hepatitis B Virus in Syria, and the absence of YMDD mutation in our study may drive treatment strategies to pay more attention to related antivirals such as Entecavir, Lamivudine and Telbivudine.

Keywords: YMDD Mutation, mutations, rtM204I/V mutation, Hepatitis B Virus, HBV, prevalence, Syrian population, Molecular biology Unit, Laboratory Medicine Department, Aleppo University Hospital.

Received 4/12 /2019

Accepted 26/ 2/2019

1. مقدمة

1.1. الوبائيات

يشكل التهاب الكبد B مشكلةً صحية عالمية كبيرة، حيث تقدر الدراسات أن 2 مليار شخص قد تعرضوا للخمج بفيروس HBV، كما أن نسبة حملة المستضد السطحي في العالم تقدر بحوالي 3.6%، مع مناطق قد تصل نسبة الخمج فيها أكثر من 10% [1]

1.2. الطفرات التي تصيب HBV

يملك فيروس HBV سلسلتين من سلاسل DNA غير أن تضاعفه يتم عبر RNA عند الانتساخ العكسي خلال دورة حياته [2]. لهذا تقدر نسبة الطفرات في فيروس HBV بأقل من 100 إلى 1000 مرة من فيروسات RNA التي لا تملك خاصية التصحيح عند النسخ والانتساخ، وأكبر بأكثر من 100 ضعف من فيروسات DNA، وإن دراسة طفرات فيروس التهاب الكبد B يساهم في فهم طبيعته بدءاً من طريقة هروبه من الجهاز المناعي إلى الآليات التي يعمل عليها لمقاومة المضادات الفيروسية والعوامل التي تلعب دوراً لتطوره نحو تشمع الكبد أو سرطانة الخلية الكبدية [3].

يتعلق حدوث هذه الطفرات بمرحلة الإصابة ومدتها، ونجد عديداً من سلاسل الفيروس عند نفس المريض وعديداً من الطفرات عند نفس المريض المزمن لالتهاب الكبد B وعند نفس السلالة بسبب سنوات التضاعف الطويلة، مما يجعل دراسة التأثير السريري لكل طفرة من الطفرات من الصعوبة بمكان. ويشكل أساس تنشأ هذه الطفرات إما نتيجة الرد المناعي للجسم، أو نتيجة الدواء المضاد الفيروسي مما يجعل السلالات الطافرة تتكاثر بشكل اصطفائي متغلبة على المضادات الفيروسية التي لا تستطيع تثبيط التضاعف بشكل كامل [4].

تقسم الطفرات حسب المنطقة التي تحصل فيها :

1.2.1. طفرات precore/core promoter

طفرات منطقة precore : أهم الطفرات التي تحدث في منطقة precore هي الطفرة

في الموقع 1896 حيث يستبدل بالغوانين الأرجنين ويتحول الكودون الموافق (الكودون 28) من رمز للحمض الأميني تربتوفان إلى كودون توقف وعدم إنتاج HBeAg [5,6]، ولا يتأثر إنتاج HBeAg بهذه الطفرات، وقد تترافق بطفرة أخرى في الموقع 1899. ومعظم الطفرات الأخرى في منطقة precore تؤدي إلى نفس النتيجة، وهو إيقاف اصطناع HBeAg، وبشكل عام فإن المرضى الذين يحملون هذه الطفرات يكون الحمل الفيروسي لديهم أقل من الذين يحملون النمط الطبيعي للفيروس [7].

طفرات منطقة Core promoter : أهم هذه الطفرات تقع في موقعين (A1762T, G1764A) والذي يعبر عنه اختصاراً (TA change). وهي أشيع عند المرضى سلبية HBeAg [8].

الحصول السريري لطفرات precore/core promoter :

خلال العشر سنوات الماضية لم تتغير نتائج الدراسات حول علاقة الحصول السريري لالتهاب الكبد B مع طفرات منطقة precore/core promoter، وكانت نتائج الدراسات حولها متباينة، ولهذا لم تستخدم هذه الطفرات حتى الآن سريرياً في الإنذار أو المعالجة، كما أن نتائج هذه الدراسات يجب أن تؤخذ بحذر شديد لأن كثيراً من العوامل يتدخل في نتائجها غير الطفرات المدروسة مثل النمط الجيني، واستجابة الثوي، والطفرات الأخرى المرافقة، والطرق المستخدمة في الكشف عن هذه الطفرات. لهذا الطلب الروتيني للكشف عن طفرات منطقة core promoter/precore قد يعطي معلومات أكثر عن مرضى التهاب الكبد B سلبية HbeAg (ENH) ولكنه لا يستطب عند كل المرضى، لأن نتائج الدراسات لم تتفق بعد، و مازال هناك الكثير حتى تحسم الأمور [7]، إلا أن القاعدة الأثبتت كانت حول ترافق طفرة precore مع سلبية HBeAg، وسريرياً تم اعتماد حالة HBeAg بدلاً من حالة الطفرة.

1.2.2. طفرات منطقة (PRE-S/S) :

إن الخلايا التائية والبائية تتعرف على المحدد المستضدي a الذي ينتج من منطقة PRE-S/S، والأضداد الموجهة ضد هذا المحدد تؤمن حماية من كل الأنماط المصلية لفيروس HBV [9-11]، إن الطفرات في مناطق S وأهمها طفرات المحدد a

(G145R) في الموقع (codon 145) تولّد سلاسل تهرب من الجهاز المناعي للجسم [12]، أما طفرات منطقة PRE-S فقد ينتج عنها انخفاض في إفراز HBsAg [7]. والنتائج السريرية لهذا سنذكرها أدناه :

أشارت أكثر الدراسات إلى أن الطفرة G145R تحد من ارتباط HBsAg مع أضداده [7]، وأثبتت أن هذه الطفرة تولّد بشكل أساس نتيجة التلقيح أو الغلوبولينات المناعية، ولكنها لا تؤثر على نسبة فعالية التلقيح على المستوى الوطني [13] وهذه الطفرة تؤدي لالتهاب الكبد الخفي فتجعل مقاييسات HBsAg التجارية سلبية عند مريض إيجابي HBV DNA [14]. ويكون لقاح التهاب الكبد B يكون غير مجد أو فعال، كما أن طفرات منطقة (PRE-S/S) مسؤولة عن حالات عدم فعالية اللقاح والتي تقدر بحوالي 2-3% [15]؛ كما أن الخمج الخفي بفيروس HBV يشكل مشكلة كبيرة، حيث إن المرضى يحملون خطر العدوى والتحول للتشمع وسرطانة الخلية الكبدية، دون كشفهم بالمقاييسات التجارية المعروفة. ولا بد من الشك بها عندما تكون استقصاءات الفيروس موجبة، مع سلبية HBsAg [16].

1.2.3. طفرات منطقة P

من المعلوم أن مورثة البوليميراز HBV DNA polymerase تغطي 80% من جينوم الفيروس وتتألف من أربع مناطق [17] :

- بادئة مسؤولة عن بدء الانتساخ العكسي.
- Spacer : لم تعرف وظيفته بعد.
- منطقة reverse transcriptase/DNA polymerase : مسؤولة عن تحويل RNA الطبيعي للجينوم إلى سلسلة DNA سلبية ومنها إلى سلسلة DNA إيجابية.
- منطقة إنزيم H RNase الذي يحل قالب RNA الطبيعي بعد اصطناع DNA.

منطقة البوليميراز بالتحديد تتألف من خمس مناطق A B C D E أساسية، والطفرات التي تحدث فيها تعتبر العقبة الأكبر لعلاج التهاب الكبد B المزمن

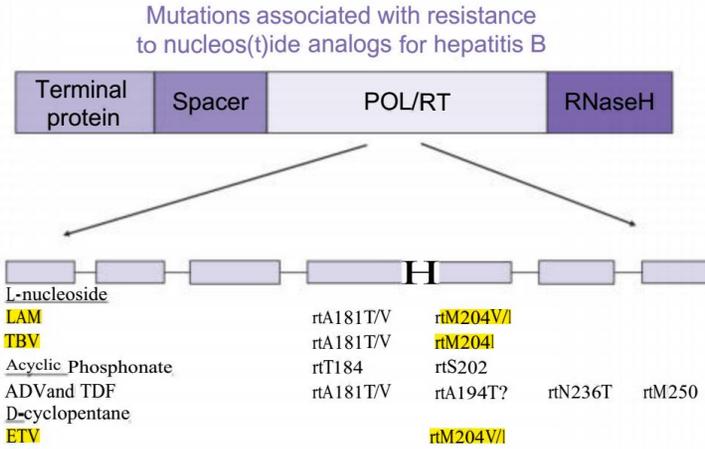
بمضاهيات النكليوز(ت)يدات. وهناك طفرات عديدة تم دراستها في هذه المنطقة غير أن الطفرات التي تشكل طرق المقاومة هي التالية [18]:

1. طفرات YMDD أو rtM204I/V : وهي تعتبر أهم الطفرات والركيزة الأهم في المقاومة للمضادات الفيروسيية التالية : إنتيكافير، لاميفودين، تيلبيفودين، كليفودين.

2. طفرة rtN236T : تعتبر الطريق المسؤول عن المقاومة للمضادات الفيروسيية الأديفوفير والتينوfoفير [19]

3. طفرة rtA181T/V : وتعتبر طريقاً للمقاومة الفيروسيية المتعددة وأهميتها أقل من سابقتها.

والشكل التالي يوضح طفرات منطقة P [19]:



شكل (1) أهم طفرات منطقة P والمقاومة المرتبطة بأهم نظائر النكليوزيدات المستخدمة

1.2.4. طفرات منطقة X :

لهذا الجين دورٌ منشط ومنظم لتضاعف الفيروس، ويعتبره بعضهم عاملاً مسرطناً، وقد أشارت عديد من الدراسات إلى أن الطفرات في الموقع 130 and 131 على الجين X ترد بتواتر أكبر لدى مرضى HCC من مرضى التهاب الكبد B الفيروسي المزمن CHB [20]. ولكن ما تزال الصورة غير واضحة تماماً [21] حتى الآن.

1.3. طرق الكشف عن الطفرات :

بالإضافة لطريقة direct sequencing فقد طورت طرق عدة مثل RFLP والتي مازالت محصورة في مراكز الأبحاث، وطريقة LIPA، وطريقة ligase chain reaction، وطريقة colorimetric point mutation assay. وطريقة RealTime PCR [7].

2. أهمية البحث وأهدافه

2.1. أهمية البحث

كان يعتقد أن طفرات P نادرة عند المرضى غير المعالجين بمضادات النكليوزيدات، وأن هذه الطفرات تنتج عن المعالجة وخاصة طفرات YMDD، إلا أنه أصبح واضحاً الآن أن هذه الطفرات توجد عند المرضى غير المعالجين [22]، وتتزايد الدراسات خلال العقد الماضي والحالي، والتي تدرس انتشار هذه الطفرات وخصائصها عند هؤلاء المرضى [22-42] والتي تشكل مقاومة بدئية عند المعالجة بمضادات النكليوز(ت)يدات المتعلقة، ونظراً لاختلاف الأنماط الجينية وخصائص الفيروس في كل منطقة جغرافية فإن الدراسات الحالية تعمل على تسجيل انتشار هذه الطفرات في البلدان والمناطق المتعلقة بها.

2.2. أهداف البحث

تهدف الدراسة إلى تحديد انتشار طفرات YMDD عند مراجعي وحدة البيولوجيا الجزيئية في مشفى حلب الجامعي. حيث يعتبر مشفى حلب الجامعي قسم الطب المخبري شعبة الأحياء الدقيقة والبيولوجيا الجزيئية أهم المراكز التي تجري اختبارات الحمض النووي لهذا الفيروس في شمال وشمال شرق سورية. ويعتبر المركز الأساس الذي يحول له مرضى التهاب الكبد B. من أقسام مشفى حلب الجامعي، ومن عيادات ومشافي وزارة الصحة والعيادات الهضمية الخاصة.

كما هدفت الدراسة على تحديد علاقة طفرات YMDD، بحمل الفيروس في الدم (viral load)، وبالسن والجنس، وحالة المستضد الفوعي HBeAg، وخميرة الكبد ALT.

3. طريقة البحث

تمت الدراسة على مئتين وثلاثة مرضى من مرضى التهاب الكبد B المزمن، المثبت بإيجابية المستضد السطحي HBsAg لمدة أكثر من ستة أشهر، والمحولين لوحدة البيولوجيا الجزيئية في مشفى حلب الجامعي، خلال الفترة بين من 21 حزيران 2017 حتى 23 تموز 2018، ولم يخضعوا لأي معالجة بمضادات الفيروسات. تم أخذ المعلومات الشخصية والديموغرافية للمرضى، واعتيان 10 مل من الدم الوريدي لكل مريض، وتم إجراء المقاييس التالية خلال ساعتين من الجمع، أو تم الاحتفاظ بالمصل في الدرجة -26 مئوية، حتى وقت المقاييس.

- خميرة الكبد ALT
- المستضد HBeAg
- الحمل الفيروسي HBV Viral Load
- الكشف عن وجود طفرات YMDD: بسبب الكلفة العالية لهذا الاختبار، تم انتقاء خمسين مريضاً بشكل عشوائي لإجراء الكشف عن وجود الطفرات YMDD

3.1 الطرائق المخبرية المتبعة في المعايرة

أجريت اختبارات تفاعل سلسلة البوليميراز والكشف عن طفرات الفيروس في وحدة البيولوجيا الجزيئية، قسم الطب المخبري في مشفى حلب الجامعي. على جهاز PCR (Light Cycler) من شركة ROCHE.

3.1.1 مقاييس الحمل الفيروسي Viral Load

تم استخلاص الحمض النووي الفيروسي DNA من المصل بالاعتماد على مجموعة الاستخلاص المخبرية Ribo Virus من شركة Saccace Biotechnologies الإيطالية. وتم التضخيم بطريقة Real time PCR بانزيم Taq-polymerase التي تعتمد على وجود بادئات نوعية للقطعة S، والتي تعتبر القطعة الأكثر ثباتاً من الجينوم الفيروسي ويتم القياس عبر قياس الإشعاع الناتج عن تحرير quencher من reporter من المسبار Probe في كل دورة قياس ضمن مجال الخطية.

تم تسجيل نتائج العينات بالواحدة IU/ml ضمن حد أصغري للكشف 7 IU/ml، وحد أعظمي 100.000.000 IU/ml.

3.1.2. الكشف عن طفرات YMDD أو طفرات M204I/V.

تم الكشف عن طفرات YMDD أو كما تسمى أحياناً طفرات M204I/V بطريقة RT-PCR بالاعتماد على المجموعة المخبرية :
Diagnostic Kit for Hepatitis B YMDD Gene Mutation PCR
Fluorescence من شركة Shanghai Clon Tech Co. Ltd الصينية.
عند إجراء اختبار الكشف عن الطفرات تم استبعاد العينات التي قيمة DNA فيها أقل من 700 copy/ml والذي هو حد الكشف الأصغري لمجموعة العمل المخبرية

مبدأ المقايسة: تم اعتماد طريقة RT-PCR، والتي تعتمد مبدأ أنزيم fluorogenic wild Type assay. حيث يرتبط المسبار الخاص بالنمط الطبيعي wild Type خلال مرحلة الالتصاق بسلسلة DNA المستهدفة، وخلال عملية التضخيم يتم إزالة المسبار وتفكيكه، من خلال أنزيم البوليميراز مما يفصل Quencher عن Reporter ويؤدي لتألق يتناسب طردياً مع كمية DNA الهدف. هذا التألق يتم داخل جهاز PCR، من خلال القناة VIC/HEX/JOE،

تفسير نتائج الطفرات: إن المسبار يرتبط بالنمط الطبيعي Wild Type وينتج بعد ارتباطه وتفكيكه تألق يقيسه جهاز PCR وعلى هذا نكون أمام الحالتين التاليتين

- في حال كان التضخيم إيجابياً في بروتوكول الكشف عن الطفرات، فهذا يعني أن التسلسل في المورثة YMDD من النمط الطبيعي Wild Type
- في حال كان التضخيم سلبياً في بروتوكول الكشف عن الطفرات، فهذا يعني أن التسلسل في المورثة YMDD من النمط الطافر YVDD أو YIDD.

تمت الدراسة الإحصائية على برنامج SPSS Version 23 من شركة IBM. واستخدم التعداد المطلق Frequency والنسب المئوية Percent للتعبير عن المتحولات الفئوية، بينما استخدم المتوسط الحسابي Mean والانحراف المعياري Std.

Deviation للتعبير عن المتحولات المستمرة

4. نتائج البحث

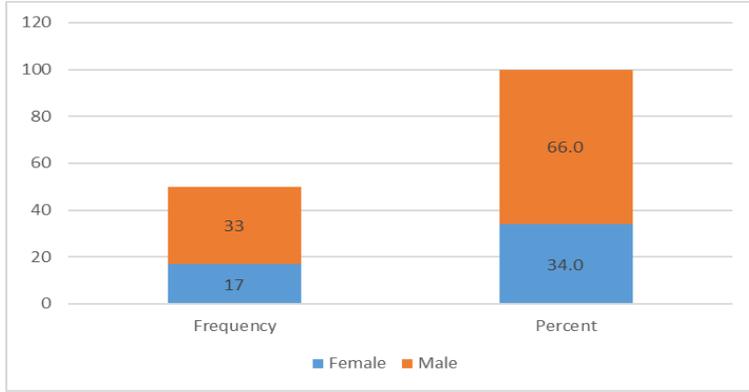
4.1. توزيع المرضى حسب الجنس:

بلغ عدد الإناث المصابات في الدراسة 17 بنسبة 34%، وعدد الذكور المصابين 33 بنسبة 66%. والجدول التالي يبين ذلك:

جدول (1) توزيع مرضى الدراسة حسب الجنس

	التعداد	النسبة المئوية
إناث	17	34.0
ذكور	33	66.0
إجمالي	50	100.0

والمخطط التالي يبين ذلك :



شكل (2) مخطط توزيع مرضى الدراسة حسب الجنس

4.2. توزيع الأشخاص حسب العمر:

كان متوسط عمر مرضى الدراسة 34.94 عاماً، بانحراف معياري قدره 14.8 كما يبين الجدول التالي:

جدول (2) أعمار مرضى الدراسة

	العدد	الأصغري	الأعظمي	المتوسط	الانحراف المعياري
العمر (سنوات)	50	4	74	34.94	14.797

4.3. توزيع مرضى الدراسة حسب حالة المستضد HBeAg

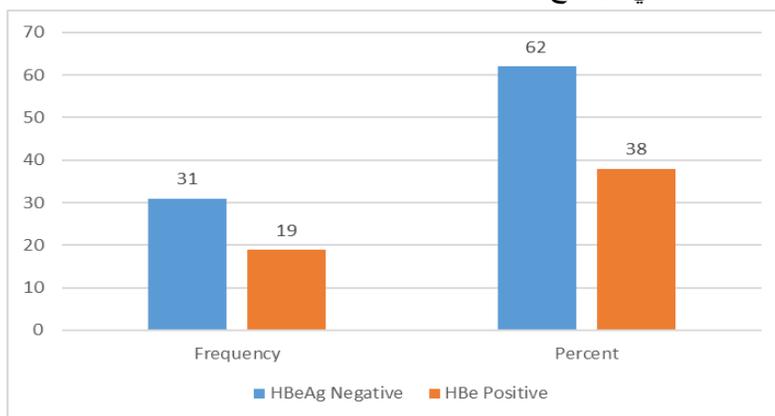
كان عدد المرضى إيجابيين للمستضد HBeAg 19 مريضاً بنسبة 38، أما

المرضى الباقون 31 مريضاً فكانوا سلبية المستضد HBeAg بنسبة 62%. والجدول التالي يوضح ذلك:

جدول (3) توزع مرضى الدراسة حسب حالة المستضد HBeAg.

	Frequency	Percent
HBeAg Negative	31	62
HBe Positive	19	38
Total	50	100

كما أن المخطط التالي يوضح ذلك:



شكل (3) مخطط توزع مرضى الدراسة حسب حالة المستضد HBeAg.

نتائج الحمل الفيروسي في الدم

اعتمدنا في الدراسة الحالية تسجيل نتائج الحمل الفيروسي حسب قيم اللوغارثيم العشري للواحدة IU/ml، لأنها تعطي صورة أدق عن مستوى التضاعف الفيروسي في الدم.

كان متوسط الحمل الفيروسي في الدم $5.997 \text{ Log}_{10} \text{ IU/ml}$ بانحراف معياري قدره 1.578 كما يبين الجدول التالي:

جدول (4) قيم الحمل الفيروسي عند مرضى الدراسة

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
HBV DNA Log ₁₀ IU/ml	50	2.919	9.440	5.99698	1.577942

4.4. نتائج خميرة ALT في الدم

كان متوسط قيم خميرة ALT IU/ml 70.2 عند مرضى الدراسة بانحراف معياري قدره 39.4 كما يبين الجدول التالي:

جدول (5) قيم خميرة الكبد ALT عند مرضى الدراسة

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
ALT(IU/ml)	50	9	196	70.2	39.384

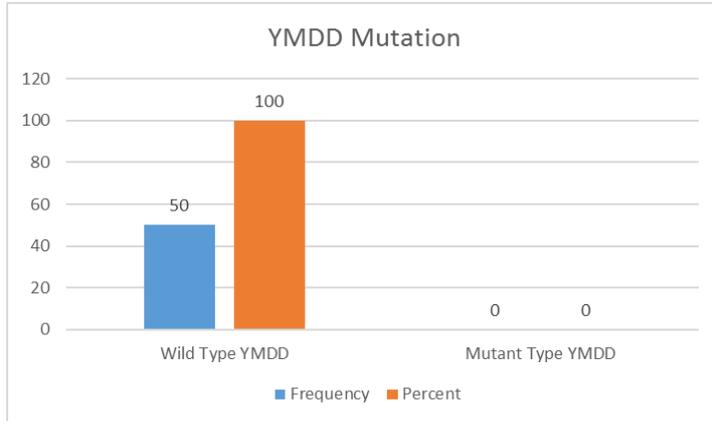
4.5. نتائج التحري عن طفرات YMDD.

تم إجراء الكشف عن الطفرات لدى 50 مريضاً، وكان كل المرضى من النمط الطبيعي Wild Type، بنسبة 100% كما يبين الجدول التالي:

جدول (6) توزع مرضى الدراسة حسب وجود طفرات YMDD

YMDD		
	Frequency	Percent
Wild Type YMDD	50	100
Mutant Type YMDD	0	0

والمخطط التالي يبين ذلك :



شكل (4) مخطط توزع مرضى الدراسة حسب وجود طفرات YMDD

5. المناقشة:

5.1 مناقشة نتائج الدراسة الحالية الحالية

إن طفرات YMDD تعتبر أشهر الطفرات والركيزة الأهم في المقاومة للمضادات الفيروسية التالية :

- إنتيكافير
- لاميفودين
- تيلبيفودين

وتتزايد الدراسات التي تهدف لتحديد نسب انتشارها عند المرضى غير

المعالجين Naïve patients، نظراً لأنها تشكل أهم أسباب المقاومة البدئية عند المعالجة بمضادات النكليوزيدات المتعلقة.

لم يبد اختبار الكشف عن وجود طفرات في الموقع 204 أي نمط طافر من الشكل M204I أو M204V، وكانت العينات الخمسون كلها من النمط الطبيعي Wild Type.

ولذلك ربما تعتبر هذه النتائج بمثابة نقطة علام يمكن أن تستند عليها التعليمات الناظمة الوطنية لعلاج فيروس التهاب الكبد B، حيث إن غياب هذه الطفرات في مجموعة الدراسة والممثلة لجزء من المجتمع السوري، ربما يساهم بزيادة أهمية المضادات الفيروسية المتعلقة مثل الإنتاكافير وتيليفودين ولاميفودين، لاستخدامها في سورية بفعالية

لم نستطع دراسة علاقة وجود أو غياب الطفرات بمعلومات المرضى السريرية والديموغرافية ونتائج المرضى الفيروسية والكيميائية والبيولوجية الجزيئية، نظراً لوجود نمط واحد فقط وهو النمط الطبيعي Wild Type عند مرضى الدراسة.

5.2. مناقشة نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات المقارنة

تم تقسيم الأبحاث الاثني عشر المقارنة إلى مجموعتين:

أبحاث الدول غير المجاورة والتي لا يسيطر فيها النمط الجيني D السائد في سورية

• دراسة Fuchu Qian ورفاقه في شرق الصين [23]

• دراسة Jia-Hong Yang ورفاقه في وسط الصين. [25]

• دراسة دراسة (You-Wen Tan ورفاقه) في الصين [22]

• دراسة (Jeong Heo ورفاقه) في كوريا الجنوبية [43]

• دراسة Marie Matsuda ورفاقها في اليابان [40]

• دراسة Gloria Selabe ورفاقها في جنوب إفريقيا [44]

أبحاث الدول المجاورة أو الدول التي يسيطر فيها النمط الجيني D السائد في سورية

• دراسة Villa في إيطاليا [45]

- دراسة Samad Amini-Bavil-Olyae في إيران [36]
 - دراسة (Amitis Ramezani) في إيران [34].
 - دراسة هاني مسعدة في الأردن [46]
 - دراسة Orhan Yildız في تركيا [47]
 - دراسة Mesut Akarsu في تركيا [38]
- لم يكن هناك أي وجود للنمط الطافر في مورثة YMDD في الدراسة الحالية (0%). أما الدراسات المقارنة فقد تراوحت نسب الانتشار فيها بين 0-25%، والجدول التالي يبين الدولة التي أجريت فيها الدراسة والنمط الجيني المسيطر فيها ونسبة انتشار طفرات YMDD:

جدول (6) نسب انتشار طفرات YMDD بين الدراسة الحالية والدراسات العالمية المجراة

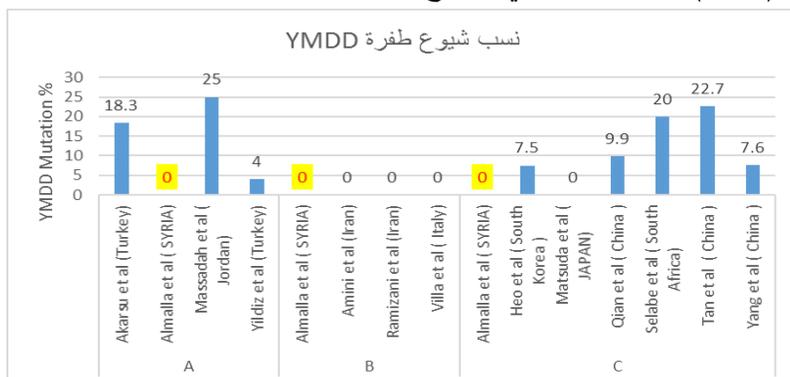
الدولة	النمط الجيني	الدراسة	نسبة شيوع الطفرات %
سورية	D	Almalla et al	0
إيران	D	Ramizani et al	0
إيران	D	Amini et al	0
اليابان	C	Matsuda et al	0
إيطاليا	D	Villa et al	0
تركيا	D	Yildiz et al	4
كوريا الجنوبية	C	Heo et al	7.5
الصين	B and C	Yang et al	7.6
الصين	B and C	Qian et al	9.9
تركيا	D	Akarsu et al	18.3
جنوب إفريقيا	A	Selabe et al	20
الصين	B and C	Tan et al	22.7
الأردن	D	Massadah et al	25

كانت نتائج الدراسة الحالية متطابقة مع نتائج الدراستين المقارنتين في إيران والدراسة في إيطاليا حيث يسيطر النمط الجيني D، كما تطابقت مع نتائج الدراسة في اليابان التي يسيطر فيها النمط الجيني C. و برغم التقارب الجغرافي وانتشار النمط الجيني المشترك بين سورية وتركيا

D، إلا أن الدراسة الحالية كشفت وجود تباين في انتشار الطفرات بين سورية وتركيا، حيث كانت نسبة الانتشار في دراسة Yildiz ورفاقه المتعددة المراكز 4%، وكان هناك تباين كبير مع دراسة Akarsu ورفاقه في غرب تركيا 18.3%.

تباينت نتائج دراستنا أيضاً بشكل كبير مع الدراسة التي أجريت في الأردن المجاورة والتي يعتبر النمط الصيني D فيها هو النمط الوحيد، إلا أن هذه الدراسة ربما لا تعطي صورة دقيقة عن حقيقة المجتمع الأردني حيث كان عدد مرضى الدراسة غير المعالجين 4 مرضى فقط.

مما سبق نلاحظ أن انتشار الطفرات كان مستقلاً عن انتشار النمط الجيني، ومستقلاً عن الموقع الجغرافي، فقد تباينت نتائج الدراسة الحالية مع دول مجاورة ينتشر فيها نفس النمط الجيني المسيطر في سورية D. وتطابقت مع دول غير مجاورة ينتشر فيها نفس النمط الجيني (إيران)، ومع دول غير مجاورة ولا ينتشر فيها نفس النمط الجيني (اليابان)، والمخطط التالي يوضح ذلك:



شكل (5) مخطط نسب انتشار طفرات YMDD بين الدراسة الحالية والدراسات العالمية

6. الاستنتاجات

إن الغياب الكامل لطفرات YMDD في مجموعة الدراسة ربما يساهم في فهم طبيعة السلاسل الفيروسية المنتشرة في منطقتنا، ووضع التعليمات الناظمة لأفضلية المضادات الفيروسية في المعالجة، وإن النتائج التي حصلنا عليها تكشف النقاب عن الملامح الأولى لطفرات فيروس التهاب الكبد B المنتشر في سورية، وربما يكون بداية لدراسات أخرى لفهم طبيعة الجينوم الكامل للفيروس بسورية.

References

1. ORGANIZATION WH. 2017 - **Global Hepatitis Report 2017**. 83.
2. SUMMERS J, et al., 1982 - **Replication of the Genome of a Hepatitis B-Like Virus by Reverse Transcription of an Rna Intermediate**. *Cell*, **29(2)**, 403-415.
3. GIRONES R, et al., 1989 - **Mutation Rate of the Hepadnavirus Genome**. *Virology*, **170(2)**, 595-597.
4. OLDSTONE MB. 1991 - **Molecular Anatomy of Viral Persistence**. *Journal of Virology*, **65(12)**, 6381-6386.
5. CARMAN WF, et al., 1989 - **Mutation Preventing Formation of Hepatitis B E Antigen in Patients with Chronic Hepatitis B Infection**. *Lancet*, **2(8663)**, 588-591.
6. BRUNETTO MR, et al., 1991 - **Wild-Type and E Antigen-Minus Hepatitis B Viruses and Course of Chronic Hepatitis**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **88(10)**, 4186-4190.
7. LOK AS. 2017 - **Clinical Significance and Molecular Characteristics of Common Hepatitis B Virus Variants**. UpToDate Inc.
8. CHU CJ, et al., 2003 - **Hepatitis B Virus Genotypes in the United States: Results of a Nationwide Study**. *Gastroenterology*, **125(2)**, 444-451.
9. BHATNAGAR PK, et al., 1982 - **Immune Response to Synthetic Peptide Analogues of Hepatitis B Surface Antigen Specific for the a Determinant**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **79(14)**, 4400-4404.
10. BROWN SE, et al., 1986 - **Antibody Responses to Recombinant and Plasma Derived Hepatitis B Vaccines**. *British Medical Journal (Clinical Research Ed)*, **292(6514)**, 159-161.
11. SZMUNESS W, et al., 1982 - **Hepatitis B Vaccine in Medical Staff of Hemodialysis Units: Efficacy and Subtype Cross-Protection**. *New England Journal of Medicine*, **307(24)**, 1481-1486.
12. PIRCHER H, et al., 1990 - **Viral Escape by Selection of Cytotoxic T Cell-Resistant Virus Variants in Vivo**. *Nature*, **346(6285)**, 629-633.
13. HSU HY, et al., 2004 - **Survey of Hepatitis B Surface Variant Infection in Children 15 Years after a Nationwide Vaccination Programme in Taiwan**. *Gut*, **53(10)**, 1499-1503.
14. CARMAN WF, et al., 1997 - **The Prevalence of Surface Antigen**

- Variants of Hepatitis B Virus in Papua New Guinea, South Africa, and Sardinia.** *Hepatology*, **26(6)**, 1658-1666.
15. CARMAN WF, et al., 1990 - **Vaccine-Induced Escape Mutant of Hepatitis B Virus.** *Lancet*, **336(8711)**, 325-329.
16. LOK A. 2017 - **Diagnosis of Hepatitis B Virus Infection.** UpToDate Inc.
17. POCH O, et al., 1989 - **Identification of Four Conserved Motifs among the Rna-Dependent Polymerase Encoding Elements.** *The EMBO journal*, **8(12)**, 3867.
18. LOCARNINI S. 2008 - **Primary Resistance, Multidrug Resistance, and Cross-Resistance Pathways in Hbv as a Consequence of Treatment Failure.** *Hepatology International*, **2(2)**, 147-151.
19. THOMAS HC, et al., 2014 - **Viral Hepatitis.** John Wiley & Sons, 4th, Chichester, West Sussex, xii, 608 p.
20. HSIA CC, et al., 1996 - **Hot-Spot Mutations in Hepatitis B Virus X Gene in Hepatocellular Carcinoma.** *Lancet*, **348(9027)**, 625-626.
21. WANG M, et al., 2015 - **[Associations between Hepatitis B Virus X Gene Mutations and Hepatocellular Carcinoma].** *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi Zhonghua Ganzangbing Zazhi Chinese Journal of Hepatology*, **23(8)**, 599-603.
22. TAN YW, et al., 2015 - **Natural Ymdd-Motif Mutants Affect Clinical Course of Lamivudine in Chronic Hepatitis B.** *World Journal of Gastroenterology*, **21(7)**, 2089-2095.
23. QIAN F, et al., 2016 - **Natural Ymdd Motif Mutations in Treatment Naive Patients with Chronic Hepatitis B in Huzhou of Eastern China.** *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, **20(6)**, 645-646.
24. ALAVIAN SM, et al., 2014 - **Prevalence of Common Ymdd Motif Mutations in Long Term Treated Chronic Hbv Infections in a Turkish Population.** *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **15(2)**, 1065.
25. YANG JH, et al., 2013 - **Relationship between Hepatocellular Carcinoma and Hepatitis B Virus Genotype with Spontaneous Ymdd Mutations.** *World Journal of Gastroenterology*, **19(24)**, 3861-3865.
26. ALAGOZLU H, et al., 2013 - **Prevalence of Common Ymdd Motif Mutations in Long Term Treated Chronic Hbv Infections in a Turkish Population.** *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **14(9)**, 5489-5494.

27. ZHAO J, et al., 2012 - **The Natural Ymdd Mutations of Hepatitis B Virus in Western China.** *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, **44(1)**, 44-47.
28. TAN YW, et al., 2012 - **Ymdd Motif Mutations in Chronic Hepatitis B Antiviral Treatment Naive Patients: A Multi-Center Study.** *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, **16(3)**, 250-255.
29. TAN Y, et al., 2012 - **The Naturally Occurring Ymdd Mutation among Patients Chronically Infected Hbv and Untreated with Lamivudine: A Systematic Review and Meta-Analysis.** *PloS One*, **7(3)**, e32789.
30. LEE SH, et al., 2012 - **Pre-Existing Ymdd Mutants in Treatment-Naive Patients with Chronic Hepatitis B Are Not Selected During Lamivudine Therapy.** *Journal of Medical Virology*, **84(2)**, 217-222.
31. GHANDEHARI F, et al., 2011 - **Probing Rate of Ymdd Motif Mutant in Lamivudine Treatment of Iranian Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection.** *Asian J Transfus Sci*, **5(1)**, 32-34.
32. KOBAYASHI M, et al., 2010 - **Correlation of Ymdd Mutation and Breakthrough Hepatitis with Hepatitis B Virus DNA and Serum Alt During Lamivudine Treatment.** *Hepatology Research*, **40(2)**, 125-134.
33. MIN XC, et al., 2009 - **[the Spontaneous Ymdd Mutation Rate in Chronic Hepatitis B Patients].** *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi Zhonghua Ganzangbing Zazhi Chinese Journal of Hepatology*, **17(12)**, 887-890.
34. RAMEZANI A, et al., 2008 - **Rate of Ymdd Motif Mutants in Lamivudine-Untreated Iranian Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection.** *International Journal of Infectious Diseases*, **12(3)**, 252-255.
35. KURASHIGE N, et al., 2008 - **Initial Viral Response Is the Most Powerful Predictor of the Emergence of Ymdd Mutant Virus in Chronic Hepatitis B Patients Treated with Lamivudine.** *Hepatology Research*, **38(5)**, 450-456.
36. AMINI-BAVIL-OLYAEI S, et al., 2008 - **Hepatitis B Virus (Hbv) Genotype and Ymdd Motif Mutation Profile among Patients Infected with Hbv and Untreated with Lamivudine.** *International Journal of Infectious Diseases*, **12(1)**, 83-87.
37. TSUBOTA A. 2006 - **How Do Naturally Occurring Ymdd-Motif**

- Mutants Influence the Clinical Course of Lamivudine-Naive Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection?** *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **21(12)**, 1769-1771.
38. AKARSU M, et al., 2006 - **Ymdd Motif Variants in Inactive Hepatitis B Carriers Detected by Inno-Lipa Hbv Dr Assay.** *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **21(12)**, 1783-1788.
39. HUANG ZM, et al., 2005 - **Ymdd Mutations in Patients with Chronic Hepatitis B Untreated with Antiviral Medicines.** *World Journal of Gastroenterology*, **11(6)**, 867-870.
40. MATSUDA M, et al., 2004 - **Low Rate of Ymdd Motif Mutations in Polymerase Gene of Hepatitis B Virus in Chronically Infected Patients Not Treated with Lamivudine.** *Journal of Gastroenterology*, **39(1)**, 34-40.
41. SHIN YM, et al., 2003 - **[Natural Ymdd Motif Mutations of Hbv Polymerase in the Chronic Hepatitis B Virus Infected Patients].** *Taehan Kan Hakhoe Chi Korean Journal of Hepatology*, **9(1)**, 1-9.
42. KOBAYASHI S, et al., 2001 - **Detection of Ymdd Motif Mutations in Some Lamivudine-Untreated Asymptomatic Hepatitis B Virus Carriers.** *Journal of Hepatology*, **34(4)**, 584-586.
43. HEO J, et al., 2004 - **Detection of Ymdd Motif Mutants by Oligonucleotide Chips in Lamivudine-Untreated Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection.** *Journal of Korean Medical Science*, **19(4)**, 541-546.
44. SELABE SG, et al., 2007 - **Mutations Associated with Lamivudine-Resistance in Therapy-Naive Hepatitis B Virus (Hbv) Infected Patients with and without Hiv Co-Infection: Implications for Antiretroviral Therapy in Hbv and Hiv Co-Infected South African Patients.** *Journal of Medical Virology*, **79(11)**, 1650-1654.
45. VILLA E, et al., 2009 - **Pretreatment with Pegylated Interferon Prevents Emergence of Lamivudine Mutants in Lamivudine-Naive Patients: A Pilot Study.** *Antiviral Therapy*, **14(8)**, 1081-1087.
46. MASADEH HA, et al., 2008 - **Hepatitis B Virus Genotypes and Lamivudine Resistance Mutations in Jordan.** *World Journal of Gastroenterology*, **14(47)**, 7231-7234.
47. YILDIZ O, et al., 2011 - **Lamivudine Resistance Mutations in Patients Infected with Hepatitis B Virus Genotype D.** *World Journal of Gastroenterology*, **17(45)**, 4987-4992.