

بررسی ارتباط پلی مورفیسم های ژن اینترلوکین ۲۸B و عفونت مزمن ویروس هپاتیت C

مریم کارخانه^۱، سید رضا محبی^۲، پدرام عظیم زاده^۳، شقایق درخشانی^۴، افسانه شریفیان^۵، علی گل محمدی^۶، محمدرضا زالی^۷

^۱ کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۲ دکترای ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۳ کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری های دستگاه گوارش، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۴ کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری های منتقله از آب و غذا، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۵ دانشیار، فوق تخصص گوارش، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۶ دانشیار، گروه کنترل و پیشگیری بیماریها، معاونت امور بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
^۷ استاد، فوق تخصص گوارش، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: بر اساس مطالعات اخیر مشخص شده است که ارتباط معنی داری میان پلی مورفیسم های ژنتیکی در نواحی تنظیمی ژن اینترلوکین ۲۸ (IL-28B) و پاسخ به درمان در افراد دچار بیماری های ویروسی مانند هپاتیت C وجود دارد. با وجود این، هنوز فاکتورهای ژنتیکی دخیل در پیشرفت عفونت به بیماری مزمن مشخص نشده اند. در این مطالعه، ارتباط پلی مورفیسم های IL28B با استعداد ابتلاء به عفونت مزمن ویروس هپاتیت C مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: در این پژوهش مورد- شاهدی، ۱۱ بیمار مبتلا به هپاتیت C و ۱۱ فرد سالم بررسی شدند. قطعات حاوی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs12979860C/T و rs8099917T/G با به کارگیری روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) تکثیر شدند و تعیین ژنوتیپ با روش RFLP و با استفاده از آنزیم های اندونوکلئاز اختصاصی *NmuCI* و *BstUI* انجام شد.

یافته ها: در بررسی پلی مورفیسم rs12979860 در رایج ترین ژنوتیپ CC بود و CT و TT به دنبال آن قرار داشتند. ژنوتیپ TT در پلی مورفیسم rs8099917 در جمعیت غالب بود که با ژنوتیپ های TG و GG دنبال می شد. در گروه بیمار، فراوانی آلل های rs12979860T و C به ترتیب ۳۰/۵ درصد و ۶۹/۵ درصد و فراوانی G و rs8099917 در گروه بیمار به ترتیب ۲۷/۷ درصد و ۷۲/۳ درصد بود.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهند که در پلی مورفیسم rs8099917 آن فراوانی آلل T بیشتر از G و در جایگاه rs12979860T با لاتر از T است. همچنین ژنوتیپ های TT و rs8099917-CC و rs12979860-CC رایج ترین ژنوتیپ در جمعیت مبتلا به هپاتیت C مزمن هستند.

وازگان کلیدی: اینترلوکین ۲۸B، عفونت مزمن هپاتیت C، پلی مورفیسم های ژنتیکی.

مقدمه

بیماری عفونی هپاتیت C در حال حاضر یکی از بزرگ ترین معضلات سلامت در جهان محسوب می شود و ۱۷۰ میلیون نفر

در سراسر دنیا به آن مبتلا هستند (۱،۲). دو نتیجه عمده برای عفونت هپاتیت C حاد وجود دارد. تقریباً ۳۰٪ افراد آلوده به طور خود به خودی ویروس از بدنشان پاک می شود و بر علیه این عفونت مصون می شوند. از میان ۷۰٪ باقیمانده تنها نیمی از آنها به طور موفقیت آمیز با دارو درمان می شوند و بقیه افراد آلوده به سمت عفونت مزمن سوق پیدا می کنند که این عفونت مزمن دلیل عده سیروز و هپاتوسلولار کارسینوما است (۱).

آدرس نویسنده مسئول: تهران، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، سید رضا محبی (email: sr.mohebbi@sbmu.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۷/۲۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۱۰/۲

پلی مورفیسم‌های زن-28-IL در رسیدن به پاسخ پایدار ویروسی بسیار قوی‌تر است (۱۳، ۱۴). مطالعه وسیع ژنوم انسانی (GWAS) نشان داده که پلی‌مورفیسم زن-28-IL به عنوان یک فاکتور پیش‌آگاهی کننده پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به بیماری‌های هپاتیت C مطرح است (۱۵). در مطالعات مختلف، اثر این پلی‌مورفیسم‌ها در نژادهای مختلف متفاوت بوده است، به طوری که در افراد آفریقایی تبار در مقایسه با افراد اروپایی تبار پاسخ درمانی کمتری مشاهده شد (۱۶). همچنین چندین مطالعه به ارتباط ژنتیک زن-28B با سرعت تکثیر ویروس در روزهای ابتدایی آلودگی با ویروس اشاره کردند (۱۰). به همین دلیل مطالعه برخی از پلی‌مورفیسم‌های موجود در زن-IL-28B ارزشمند است. مهم‌ترین SNP‌های موجود در ناحیه rs12979860 و rs8099917 در زن-IL-28B شامل است (۱۷). با توجه به اهمیت بررسی و مطالعه زن-IL-28B ارتباط پلی‌مورفیسم‌های زن-28B با عفونت مزمن ویروس هپاتیت C در بیماران مراجعه کننده مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

بیماران مورد مطالعه

این مطالعه موردی-شاهدی در فاصله زمانی آبان ماه ۱۳۹۰ تا دی ماه ۱۳۹۲ در پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد واقع در بیمارستان طالقانی انجام شد. نمونه خون کامل از بیماران و گروه شاهد گرفته شد و از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی استخراج DNA انجام گردید. بیماران پس از ثبت بودن آزمایش Anti-HCV Antibody که با استفاده از کیت الایزای نسل سوم (DRG International Inc., USA) مشخص شد و نیز مثبت بودن HCV RNA سرم وارد مطالعه شدند. همچنین عفونت مزمن هپاتیت C با بررسی حضور HCV RNA در سرم با روش RT-nested PCR تایید شد (۱۸). بیماران مبتلا به هپاتیت C که به عفونت‌های هپاتیت B و یا ویروس نقص ایمنی مبتلا بودند از مطالعه حذف شدند. این عفونتها به ترتیب با استفاده از سنجش آنتی‌زن سطحی ویروس هپاتیت B و سوابق بیماری دو گروه شاهد و بیمار اطلاعات دموگرافیک و سوابق بیماری در فرم‌های جداگانه ای ثبت شدند.

استخراج DNA

از افراد گروه شاهد و بیمار جهت استخراج DNA به منظور تکثیر قطعه‌ای از زن-28-IL که حاوی rs8099917 و rs12979860 هستند، خون کامل گرفته شد. از نمونه‌های

کمتر از یک درصد از جمعیت ایرانی مبتلا به هپاتیت C هستند، ولی به نظر می‌رسد این میزان رو به افزایش است (۳-۵). علاوه بر اینکه هم اینمی ذاتی و هم اینمی اکتسابی میزان نقش مهمی را در عفونت به هپاتیت C بازی می‌کنند، عوامل دیگری مانند ژنتیک ویروس، روش انتقال و محتوای ژنتیکی افراد نیز در استعداد ابتلاء افراد به بیماری هپاتیت C نقش دارند. تاکنون مطالعات بسیاری در رابطه با فاکتورهای مستعد کننده ژنتیکی موثر در استعداد ابتلاء، پاسخ به درمان و سیر طبیعی ویروس هپاتیت C انجام شده‌اند (۱، ۶). از جمله ژن‌هایی که در این رابطه مهم‌ترین نقش را دارد، ژن اینترلوکین IL28B است که سایتوکین (IFNλ3) IL28B را کد می‌کند. این اینترفرون جزو اینترفرون‌های تیپ III محسوب می‌شود. ژن IL28B به همراه کالاستر ژن‌های اینترفرون λ در روی کروموزوم ۱۹ قرار دارد IL28B. به طور عمده توسط ماکروفازها و دندریتیک سل‌ها تولید شده و نقش برجسته‌ای در اینمی ذاتی و پاکسازی عفونت‌های ویروسی از جمله هپاتیت C ایفا می‌کند (۱). IL28B یک حالت آنتی‌ویروسی ایجاد کرده و باعث افزایش مقاومت سایر سلول‌ها به آلودگی ویروسی می‌شود. علاوه بر آن، IL28B می‌تواند سبب افزایش بیان اینترفرون گاما، ژن MX ، ۲'۵'‌الیگو آدنیلات سنتاز و خاصیت سایتوکسی سیتی سلول‌های TCD8+ شود. مسیر سیگنال‌دهی IL28B مانند سایر اینترفرون‌های تیپ III از طریق زیرواحدهای IL10R و IL28R و مسیر JAK-STAT است. گیرندهای اینترفرون λ بر روی بسیاری از سلول‌ها از جمله کبد و سلول‌های اپی‌تیال وجود دارد و نقش مهمی در عملکرد کبد دارد (۶).

پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) ریشه در بسیاری از بیماری‌های انسان دارند و از آنها به عنوان مارکرهایی در مطالعات پیوستگی، میکروماهواره‌ها و نیز استعداد ابتلاء به بیماری‌ها و پاسخ درمانی استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در نواحی تنظیمی ژن IL28B در استعداد ابتلاء به بیماری هپاتیت C و نیز در پاکسازی ویروس به دنبال درمان ایفای نقش می‌کنند (۷-۹). درصد افرادی که به طور خود به خودی از ویروس هپاتیت C پاک می‌شوند بسیار کم است و از طرفی بیشتر مبتلایان، به حاملین مزمن تبدیل می‌شوند که در نهایت می‌توانند به سمت سیروز و هپاتوسلولار کارسینوما پیشرفت کنند. به همین دلیل لازم است که برای بیماران، درمان با داروهای ضد ویروسی Peg-INF و Ribavirin انجام شود (۱۰-۱۲). بر اساس مطالعات در نژادهای مختلف مشخص شده است که در مقایسه بین پلی‌مورفیسم IL-28 با سایر فاکتورهای پیش‌آگاهی، نقش

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در تکثیر پلی مورفیسم های زن IL28B

دما (سانتی گراد)	طول قطعه تکثیر شده	پرایمر های مورد استفاده	نام پرایمر	پلی مورفیسم زن IL28B
۶۰	bp۲۳۷	F:5'-GCT TAT CGC ATA CGG CTA GG R:5'-AGG CTC AGG GTC AAT CAC AG	rs12979860	17F 17R
	bp۲۴۲	F:5'-AGT AAG TCT TGT ATT TCA CCT CC R:5'-TAT CCT AAA TTG ACG GGC CAT C	rs8099917	60F 60R

RFLP، ۵ درصد از نمونه‌ها به شکل تصادفی انتخاب و توالی‌بایی شدند.

تحلیل آماری

تحلیل فراوانی و بررسی و ثبت داده‌ها در نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ انجام شد. از آماره‌های توصیفی، و آزمون‌های کای دو و t برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ژنوتیپ ۱۱۰ بیمار مبتلا به هپاتیت C به عنوان گروه بیمار و ۱۱۰ نفر از افراد سالم به عنوان گروه شاهد بررسی شد. فراوانی زنان و مردان در گروه شاهد تقریباً برابر و شامل ۵۶/۴٪ زن و ۴۳/۶٪ مرد بود. گروه بیماران فراوانی مردان بیشتر بود، به طوری که ۸۳/۶٪ جمعیت بیمار را مردان و ۱۶/۴٪ را زنان تشکیل می‌دادند ($p=0/01$). میانگین سنی در گروه شاهد $45/73 \pm 1/0$ و در گروه بیمار $44/46 \pm 0/90$ سال بود ($p=0/37$). نتایج حاصل از فراوانی ژنوتیپ‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ‌های مربوط به پلی‌مورفیسم تک نوکلتوتیدی rs8099917 در دو گروه شاهد و بیمار مشاهده شد، به طوری که میزان ژنوتیپ- rs8099917-GG در جمعیت بیمار افزایش معنی‌داری داشت ($p=0/01$). برای بررسی دقیق‌تر، تحلیل توزیع ژنوتیپ و آل‌ها در هر دو جنس زن و مرد به طور جداگانه انجام شد (جدول ۳). با وجود اینکه در ابتدا اختلاف معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ‌های مربوط به پلی‌مورفیسم تک نوکلتوتیدی rs12979860 در دو گروه شاهد و بیمار مشاهده نشد، اما با بررسی نتایج در گروه زنان و مردان به طور جداگانه مشاهده شد که توزیع پلی‌مورفیسم rs12979860 در گروه بیمار و شاهد در زنان به صورت ناهمگن است و میزان ژنوتیپ‌های non-CC در گروه بیماران افزایش معنی‌داری پیدا کرده است. علاوه بر آن میزان آلل T در زنان بیمار نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. در شکل ۱ تصاویر حاصل از برش این دو پلی‌مورفیسم که بروی ژل آگارز ران شده است، مشاهده می‌شود.

خون حاوی EDTA و از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی، DNA ژنومی با استفاده از روش استاندارد فل-کلروفورم و بر طبق پروتکل استاندار داستخراج شد و بعد در Tris-EDTA Buffer در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. تعیین پلی‌مورفیسم‌های زن اینترلوکین 28B با استفاده از روش PCR-RFLP

پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر قطعات مورد نظر در ژن IL-28B در جدول ۱ ذکر شده‌اند. بعد از تکثیر پلی‌مورفیسم های rs12979860 و rs8099917 با استفاده از PCR و در دستگاه ترموسایکلیر (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) از روش RFLP و از آنزیم‌های NmuCI و BstUI (Fermentas, Vilnius, Lithuania) به ترتیب برای تعیین پلی‌مورفیسم‌های rs12979860 و rs8099917 استفاده شد. محصولات حاصل از برش آنزیمی، در صورت وجود ژنوتیپ rs8099917-TT، دو قطعه ۱۸۸bp و ۴۹bp است که قطعه اول به عنوان قطعه کلیدی در شناسایی ژنوتیپ نسبت به کنترل است. در صورت وجود ژنوتیپ rs8099917-GG سه قطعه ۴۹bp و ۳۹bp که قطعه اول برای تعیین ژنوتیپ مورد استفاده قرار می‌گیرد. به همین خاطر در افراد دارای ژنوتیپ rs8099917-GT، انتظار وجود دو قطعه ۱۴۹bp و ۱۸۸bp را خواهیم داشت.

طول قطعه حاوی rs12979860، ۲۴۲bp است. به منظور شناسایی ژنوتیپ بیماران، محصول حاصل از تکثیر قطعه rs12979860 تحت برش آنزیم BstUI به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفت. در صورت وجود ژنوتیپ rs12979860-CC سه قطعه ۱۳۵pb، ۸۲pb و ۸۵pb باشد، در اثر هضم آنزیمی دو قطعه ۱۶۰bp و ۱۲۵pb حاصل می‌شود. قطعات ۱۶۰bp و ۱۲۵pb باشد، در اثر هضم آنزیمی شوند. لازم به ذکر است rs12979860-CT استفاده می‌شوند. rs12979860-CT در PCR RFLP بر روی ژل آگارز (Hoffmann la Roche AG, Basel, Switzerland) بردۀ شدن. در پایان، برای تأیید نتایج تعیین ژنوتیپ به روش

جدول ۲. توزیع ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها در هر دو جمعیت کنترل و بیمار

Adjusted ^a OR (95% CI), P value	Unadjusted P-value	بیمار (%)	شاهد (%)	ژنوتیپ	SNPs
Reference	.۰/۰۱	۵۰	۶۳/۶	TT	rs8099917
۱/۹ (۰/۷۵-۴/۸) ، ۰/۰۱۷		۴۴/۵	۳۲/۷	TG	
۱/۷ (۱/۱۶ - ۲/۵۶) ، ۰/۰۰۶		۵/۵	۲/۶	GG	
Reference	.۰/۰۷	۷۲/۳	۸۰	T	فرابنی آلل
۱/۵۳ (۰/۹۸ - ۲/۳۹) ، ۰/۰۸۸		۲۷/۷	۲۰	G	
Reference	.۰/۰۴	۴۷/۳	۵۱/۸	CC	ژنوتیپ
۱/۱۴ (۰/۷۷ - ۱/۶۸) ، ۰/۰۰۵		۴۴/۵	۴۲/۷	CT	rs12979860
۱/۶۴ (۰/۷۵-۳/۵۷) ، ۰/۰۲۱		۸/۲	۵/۵	TT	
Reference	.۰/۰۴۶	۶۹/۵	۷۳/۲	C	فرابنی آلل
۱/۱۹ (۰/۷۹-۱/۸) ، ۰/۰۳۹		۳۰/۵	۲۶/۸	T	

جدول ۳. توزیع ژنوتیپ‌ها و فرابنی آلل‌ها در دو گروه بیمار و کنترل به تفکیک جنسیت

زدن	مرد	SNPs				
Adjusted ^a OR (95% CI), P value	بیمار (%)	شاهد (%)	Adjusted ^a OR (95% CI), P value	بیمار (%)	شاهد (%)	
Reference	۲۷/۸	۵۹/۷	Reference	۵۱/۱	۴۱/۷	CC
۳/۷ (۱/۶-۸/۵۳) ، ۰/۰۰۲	۶۱/۱	۳۵/۵	۰/۶۴ (۰/۳۸-۱/۰۸) ، ۰/۰۹	۴۱/۳	۵۲/۱	CT
۴/۹ (۱/۱۸-۲۰/۵۵) ، ۰/۰۲	۱۱/۱	۴/۸	۰/۹۹ (۰/۳۵-۲/۷۶) ، ۰/۹۸	۷/۶	۶/۳	TT
						فرابنی آلل
Reference	۵۸/۳	۷۷/۴	Reference	۷۱/۷	۶۷/۷	C
۲/۴ (۱/۱۱-۵/۳۶) ، ۰/۰۲۵	۴۱/۷	۲۲/۶	۰/۸۲ (۰/۴۸-۱/۴۱) ، ۰/۴۸	۲۸/۳	۳۲/۳	T
						rs8099917
Reference	۵۰	۶۷/۷	Reference	۵۰	۵۸/۳	TT
۰/۴۲ (۰/۰۵-۳/۲۵) ، ۰/۰۴۰	۴۴/۴	۳۰/۶	۱/۴۴ (۰/۴۸-۴/۲۹) ، ۰/۰۵	۴۴/۶	۳۵/۴	TG
۰/۲۱ (۰/۰۲۸-۱/۶۲) ، ۱/۶۲	۵/۶	۱/۶	۰/۹۸ (۰/۳۴-۲/۸۶) ، ۰/۰۷	۵/۴	۶/۳	GG
						فرابنی آلل
Reference	۷۲/۲	۸۳/۱	Reference	۷۲/۳	۷۶	T
۱/۸ (۰/۷۹-۰/۴۹) ، ۰/۱۵	۲۷/۸	۱۶/۹	۱/۲۱ (۰/۰۸-۲/۱۵) ، ۰/۰۴۹	۲۷/۷	۲۴	G

rs8099917 و ژنوتیپ CC در موقعیت rs12979860 پاسخ خوبی به درمان استاندارد با داروی Peg/Ribavirin نمی‌دهند. به دلیل اهمیت پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ژن IL28B به عنوان یک فاکتور میزبانی قوی و تعیین کننده در استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C و نیز در میزان پاسخگویی به درمان با داروی Peg-IFN، مطالعه موردي-شاهدی بر روی نقش این ژن در استعداد ابتلا به عفونت مزمن هپاتیت C در جمعیت ایرانی در شهر تهران انجام گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهند که فرابنی مردان در گروه بیمار نسبت به زنان افزایش قابل ملاحظه‌ای دارد که مشابه نتایج دیگر مطالعه در همین جمعیت است که مردان در گروه بیمار جنسیت غالب هستند (۱۹). دلایل اینکه مردان در جمعیت بیمار غالب هستند، می‌تواند متفاوت باشد. با وجود این که نمونه‌گیری به صورت کاملاً تصادفی انجام شد، اما

بحث

عوامل مختلفی در استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C نقش دارند که زمینه ژنتیکی نقش کلیدی در استعداد ابتلا به این عفونت ایفا می‌کند. پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی به عنوان شایع‌ترین و موثرترین فاکتور ژنتیکی در بهبود یا ابتلا به بیماری‌های عفونی شناخته شده‌اند. سایتوکاین IL-28B که از ژن IL-28B تولید می‌شود، نقش کلیدی در اینمنی ذاتی در پاسخ‌های ضد ویروسی علیه HCV ایفا می‌کند. این سایتوکاین از سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن و در پاسخ به پروتئین‌های ویروسی و یا آگونیست‌های TLR تولید می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که افراد مبتلا به عفونت هپاتیت C دارای ژنوتیپ GG در پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی

ارتباط پلی مورفیسم هایزن اینترلوکین 28B و هپاتیت C

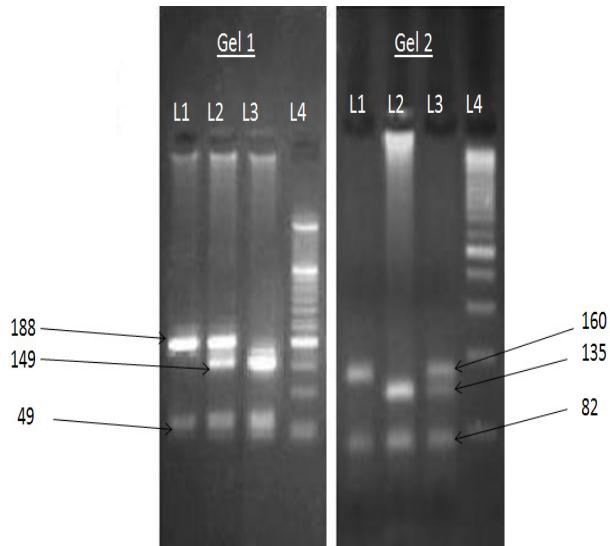
که در این مطالعه بیشترین میزان فراوانی مربوط به rs12979860CC است (۱۹). اما با مطالعه شرفی و همکارانش که در آن ژنتوتیپ CT بیشترین توزیع را دارد متفاوت است و تنها توزیع ژنتوتیپ در گروه زنان مشابه نتایج شرفی و همکارانش است، به طوریکه در این مطالعه، در گروه زنان ژنتوتیپ CT به طور معنی داری ژنتوتیپ غالب بود (۲۱). مطالعه دقیق‌تر در هر دو گروه زنان و مردان به صورت جداگانه نشان می‌دهد که ژنتوتیپ‌های TT و CT در گروه زنان مبتلا به هپاتیت C نسبت به گروه شاهد در جمعیت زنان افزایش معنی داری پیدا کرده است. احتمالاً این دو ژنتوتیپ در موقعیت rs12979860 استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C را در زنان افزایش می‌دهند. آللهای اجدادی rs8099917T و rs12979860C در هر دو جمعیت شاهد و بیمار آللهای غالب بودند، با وجود اینکه رابطه معنی داری بین توزیع این آللهای غالب در گروه شاهد و بیمار وجود نداشت. این در حالی است که مطالعات دقیق‌تر در گروه زنان نشان می‌دهد که در گروه زنان آلل T در جایگاه rs12979860 در گروه بیمار افزایش قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه شاهد داشت.

از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود ژنتوتیپ GG مرتبط با پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs8099917 ژن اینترلوکین IL28B با استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C مزمن در ارتباط است. همچنین ژنتوتیپ‌های CT و TT در موقعیت rs12979860 نیز استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C را در گروه زنان افزایش می‌دهند. لذا به نظر می‌رسد که با توجه به اهمیت پلی‌مورفیسم‌های ژن IL28B در سیر بیماری و پاسخ به درمان این بیماران به دارون اینترفررون مطالعات بیشتری با میزان نمونه گیری بیشتری در کل کشور در این زمینه باید انجام شود. نتایج حاصل از این مطالعه در بررسی توزیع پلی‌مورفیسم‌های IL28B می‌تواند رهگشا و کمک کننده برای سایر مطالعات در زمینه بیماری هپاتیت C و عفونت‌های ویروسی دیگر باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گرفت. از کلیه کارکنان پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد که در راستای انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، بی‌نهایت قدردانیم.

نوع نمونه‌گیری می‌تواند تاثیرگزار باشد. احتمالاً الگوهای متفاوت زندگی اجتماعی مردان و زنان در جمعیت ایرانی نیز می‌تواند در میزان ابتلا بیشتر مردان به عفونت هپاتیت C مزمن نقش داشته باشد.



شکل ۱. ژل ۱ قطعات برش خورده rs8099917 را نشان می‌دهد که در چاهک L1 ژنتوتیپ هموزیگوت TT، در چاهک L2 هتروزیگوت TG و در چاهک L3 هموزیگوت GG مشاهده می‌شود. در چاهک L4 ۵۰ مارکر استفاده شده است. ژل ۲ قطعات برش خورده rs12979860 را نشان می‌دهد که در چاهک L1 ژنتوتیپ L3 هموزیگوت CC، در چاهک L2 هتروزیگوت CT و در چاهک L3 هموزیگوت TT مشاهده می‌شود. در چاهک L4 نیز از مارکر ۱۰۰ استفاده شده است.

در این مطالعه، rs8099917TT بیشترین فراوانی را داشت که با توجه به اینکه آلل T، آلل اجدادی است این نتیجه قابل انتظار است. ژنتوتیپ‌های TG و GG از نظر فراوانی به دنبال ژنتوتیپ TT قرار داشتند. ژنتوتیپ GG در جمعیت بیمار به طور کلی افزایش معنی داری یافت و احتمالاً این ژنتوتیپ در ابتلا به عفونت هپاتیت C مزمن نقش دارد. نتایج حاصل از این مطالعه در رابطه با پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs8099917 مشابه نتایج به دست آمده از مطالعات مشابه در جمعیت ایرانی است (۱۹-۲۱). توزیع rs12979860 نیز در جمعیت شاهد و بیمار ناهمگون بود، به طوری که در هر دو جمعیت ژنتوتیپ CC توزیع بیشتری نسبت به CT داشت؛ این در حالی است که ژنتوتیپ TT کمترین فراوانی را در جمعیت شاهد و بیمار داشت. این نتیجه تایید کننده این نکته است که آلل C، آلل اجدادی است. نتایج حاصل از این مطالعه مشابه با نتایج مطالعه محبوبی و همکارانش است، به طوری

REFERENCES

1. Shi X, Pan Y, Wang M, Wang D, Li W, Jiang T, et al. IL28B genetic variation is associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus, treatment response, serum IL-28B levels in Chinese population. *PLoS One* 2012;7:e3705.
2. Ruiz-Extremera A, Muñoz-Gámez JA, Salmerón-Ruiz MA, de Rueda PM, Quiles-Pérez R, Gila-Medina A, et al. Genetic variation in interleukin 28B with respect to vertical transmission of hepatitis C virus and spontaneous clearance in HCV-infected children. *Hepatology* 2011;53:1830-38.
3. Merat S, Rezvan H, Nouraei M, Jafari E, Abolghasemi H, Radmard AR, et al. Seroprevalence of hepatitis C virus: the first population-based study from Iran. *Int J Infect Dis* 2010;14:e113-16.
4. Mohebbi SR, Sanati A, Cheraghipour K, Rostami Nejad M, Mohaghegh Shalmani H, Zali MR. Hepatitis C and Hepatitis B Virus Infection: Epidemiology and Risk Factors in a Large Cohort of Pregnant Women in Lorestan, West of Iran. *Hepat Mon* 2011; 11:736-39.
5. Alavian SM, Adibi P, Zali MR, Hepatitis C virus in Iran: Epidemiology of an emerging infection. *Arch Iran Med* 2005; 8: 84-90.
6. Grunhage F, Nattermann J. Viral hepatitis: human genes that limit infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24 :709-23.
7. McHutchison JG, Lawitz EJ, Schiffman ML, Muir AJ, Galler GW, McCone J, et al. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2009;361:580-93.
8. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huiginn C, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009; 491:798-801.
9. Muir AJ, Bornstein JD, Killenberg PG. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in blacks and non-Hispanic whites. *N Eng J Med* 2004; 350: 2265-71.
10. Rivero-Juárez A, Camacho Espejo A, Perez-Camacho I, Neukam K, Caruz A, Mira JA, et al. Association between the IL28B genotype and hepatitis C viral kinetics in the early days of treatment with pegylated interferon plus ribavirin in HIV/HCV co-infected patients with genotype 1 or 4. *J Antimicrob Chemother* 2012 ;67:202-5.
11. Vahedi M, Pourhoseingholi A, Ashtari S, Pourhoseingholi MA, Karkhane M, Moghimi-Dehkordi B, et al. Using statistical models to assess medical cost of hepatitis C virus. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2012;5:S31-S36.
12. Ashtari S, Vahedi M, Pourhoseingholi MA, Karkhane M, Kimia Z, Pourhoseingholi A, et al. Direct medical care costs associated with patients diagnosed with chronic HCV. *Hepat Mon* 2013;13:e8415.
13. Ochi H, Maekawa T, Abe H, Hayashida Y, Nakano R, Immura M, et al. Chayama, IL-28B predicts response to chronic hepatitis C therapy--fine-mapping and replication study in Asian populations. *J General Virol* 2011; 92: 1071-81.
14. Chevaliez S, Hezode C, Soulier A, Costes B, Bouvier-Alias M, Rouanet S, et al. High-dose pegylated interferon-alpha and ribavirin in nonresponder hepatitis C patients and relationship with IL-28B genotype (SYREN trial). *Gastroenterology* 2011; 141: 119-27.
15. Gonzalez SA, Keeffe EB. IL-28B As a Predictor of Sustained Virologic Response in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Gastroenterol Hepatol* 2011; 7: 366-73.
16. Fabris C, Falletti E, Cussigh A, Bitetto D, Fontanini E, Bignulin S, et al. IL-28B rs12979860 C/T allele distribution in patients with liver cirrhosis: role in the course of chronic viral hepatitis and the development of HCC. *J Hepatol* 2011;54:716-22.
17. Doyle JS, Hellard ME, Thompson AJ. The role of viral and host genetics in natural history and treatment of chronic HCV infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 413-27.
18. Moghadam FS, Mohebbi SR, Hosseini SM, Damavand B, Zali MR. A new subtype of hepatitis C virus genotype 3: Analysis of available evidence. *Hepat Mon* 2013;13:e13380.
19. Mahboobi N, Behnava B, Alavian SM. IL28B SNP genotyping among Iranian HCV-infected patients: A preliminary report. *Hepat Mon* 2011; 11: 386-88.
20. Kalvanagh P, Daneshmandi S, Pourfathollah AA, Pourpak Z. Distribution of Rs8099917 IFN-λ3 (IL-28B) Allele Polymorphism in Iranian Population. *Arak University of Medical Sciences Journal* 2013; 16:1-9.
21. Sharafi H, Pouryasin A, Alavian SM, Behnava B, Keshvari M, Salimi S, et al. Distribution of IL28B Genotypes in Iranian Patients with Chronic Hepatitis C and Healthy Individuals. *Hepat Mon* 2012;12:e8387.