مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۳، شماره ۲، تابستان ۹۲، صفحات ۹۳ تا ۹۹

Original Article

بررسی پلی‌مورفیسم پروموتر ناحیه ۳۰۸- درتومور نکروز فاکتور (TNF-α) در بیماران ایرانی مبتلاء به هپاتیت C مزمن

شقایق برادران قوامی[۱]، سید رضا محبی[۲]، عباس اخوان سپهی[۳]، حامد ناقوسی[۴]، سید محمد ابراهیم طاهایی[۵]، پدرام عظیم زاده [۶]، سارا رومانی[۷]، افسانه شریفیان[۸]، محمد رضا زالی[۹]

[۱] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۲] دکتری تخصصی ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۳] دکتری تخصصی میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال
[۴] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۵] کارشناس ارشد ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۶] کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۷] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۸] استادیار، فوق تخصص گوارش و کبد، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۹] استاد، فوق تخصص گوارش و کبد، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *در ناحیه پروموتر سایتوکاین TNF-α پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلوتیدی مختلف شناسایی شده است که احتمال می‌دهند تغییرات ژنتیکی در افراد مختلف باعث سیر مراحل مختلف عفونت هپاتیت C شود. هدف ما از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم تک نوکلوتیدی ناحیه ۳۰۸- ژن TNF-α در بیماران HCV بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه مورد- شاهدی، DNA ژنومیک نمونه‌های خون محیطی ۱۵۲ بیمار مبتلا به هپاتیت C مزمن و ۱۶۵ کنترل سالم به روش فنل- کلروفرم استخراج، به وسیله ARMS-PCR تکثیر شده و سپس ژنوتیپ آنها تعیین گردید.*

یافته‌ها: *فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GA و AA به ترتیب در بیماران ۸۸/۸٪، ۱۱/۲٪ و صفر و درگروه کنترل ۷۵٪، ۲۴٪ و صفر بود و نسب شانس ۲/۲۶۲ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۸۶۰/۴-۱/۴۱۹؛ $p<0/002$) به دست آمد. ارتباط معنی‌داری بین دو گرو بیمار و کنترل وجود داشت ($p<0/05$).*

نتیجه‌گیری: *مطالعه حاضر نشان داد اختلاف معنی‌دار آماری میان دو گروه مورد بررسی از لحاظ ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم ناحیه ۳۰۸- در ژن TNF-α وجود دارد.*

واژگان کلیدی: *ژنوتیپ، عفونت مزمن ویروس هپاتیت C، پلی مورفیسم، تک نوکلئوتیدی، تومور نکروز فاکتور آلفا.*

مقدمه

هپاتیت C نوعی بیماری عفونی است که عامل آن ویروسی به نام هپاتیت C (HCV) می‌باشد. این ویروس عضوی از جنس هپاسی ویروس (Hepacivirus)، از خانواده فلاوی ویریده و دارای ژنوم RNA با پلاریته مثبت است (۱). HCV یکی از عوامل مهم مرگ و میر در دنیا است که عوارضی مانند سیروز، فیبروز و سرطان کبد ایجاد می‌کند (۲). ویروس هپاتیت C به عنوان یکی از مشکلات اساسی بهداشت جهانی شناخته شده است و بالغ بر ۱۷۰ تا ۲۰۰ میلیون نفر به این ویروس آلوده

آدرس نویسنده مسئول: تهران، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دکتر سید رضا محبی (**email**: srmohebbi@gmail.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۶/۲۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۱۲/۲۵

می‌باشند. میزان شیوع این ویروس در نقاط مختلف دنیا متغیر است (۳) و در مطالعات مختلف بین ۰/۰۲ درصد تا ۴۰ درصد در گروه بیماران خاص (مانند افراد دیالیزی و همو‌فیلی) گزارش شده است (۴). بیماری در افراد مختلف روند پیشرفت یکسانی ندارد و در برخی، پس از ایجاد عفونت حاد، در نتیجه پاسخ سیستم ایمنی، ویروس از بدن پاک می‌شود، در حالی که در گروه دیگری از افراد آلوده، HCV عفونت مزمن ایجاد کرده و سال‌ها به صورت پایدار در بدن باقی می‌ماند (۱).

در عفونت مزمن، علاوه بر پیشرفت بیماری و آسیب‌های بالینی در بیمار، احتمال انتقال ویروس به افراد دیگر هم وجود دارد. به علاوه ممکن است در گروه دیگری از بیماران، هپاتیت مزمن به هپاتوسلولار کارسینوما تبدیل گردد. به طور کلی عوامل مختلفی از جمله سیستم ایمنی، فاکتورهای محیطی، فاکتورهای ژنتیکی میزبان، ژنوتیپ ویروس و برخی عوامل دیگر در روند بیماری موثر می‌باشند. اما تاکنون مشخص نشده است کدام یک از این عوامل به طور دقیق در نحوه پیشرفت بیماری در افراد مختلف تاثیر می گذارند (۵). بر اساس مطالعات پیشین، به نظر می‌رسد علت اصلی عدم ابتلا برخی از افراد آلوده به عفونت مزمن و در سوی دیگر حساسیت گروهی از بیماران و پیشرفت بیماری در آنها، به تنوع ساختار ژنتیکی سیستم ایمنی میزبان و به ویژه تنوع در ژن‌های سایتوکاین‌ها مرتبط است. سایتوکاین‌ها جزء اصلی سدهای دفاعی بدن هستند و با ترشح شدن انواعی از آنها، سیستم ایمنی بدن فعال شده و آماده مبارزه با ویروس می‌گردد. شدت پاسخ و میزان ترشح سایتوکاین‌ها را به پلی‌مورفیسم ژن‌های این سایتوکاین‌ها مربوط می‌دانند (۶، ۷). پس از مرحله حاد عفونت، در حدود ۱۵٪ از میزبان‌های آلوده قادر به پاک سازی ویروس از بدن می‌باشند و بنابراین در این گروه از افراد عفونت مزمن روی نمی‌دهد (۸، ۹). پاک سازی کامل ویروسی وابسته به یک سیتم ایمنی سلولی (CTL) قوی و پلی‌کلونال می‌باشد که این عملکرد سیستم ایمنی سلولی وابسته به فاکتورهای ژنتیکی میزبان می‌باشد. این فرضیه از طریق مطالعات مختلف ایمونوژنتیک بر روی انواع مختلف ژن‌های سیتوکاینی فعال کننده پاسخ سلولی و آنتی‌ژن‌های لکوسیتی انسانی (HLA) مطرح گردیده است (۱۰، ۱۱). فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF-α)، از سایتوکاین‌های مهم سیستم ایمنی می‌باشد که در تحریک پاسخ‌های ایمنی نقش دارد و این سایتوکاین از سلول‌های مختلف ایمنی از جمله ماکروفاژها و منوسیت‌های فعال ترشح می‌شود (۲) و نقش مهمی در از بین بردن سلول‌های آلوده به ویروس به وسیله سیستم ایمنی وابسته به سلول ایفا می‌کند.

TNF-α به صورت عمده توسط ماکرفاژهای فعال شده تولید می‌شود و بر تکامل و تبدیل لنفوسیت‌های T به زیر گروه Th1 تاثیر ویژه‌ای دارد. این زیرگروه از لنفوسیت‌های T هم در تنظیم تکثیر سلول‌های ایمنی و پاسخ ضد ویروسی نقش دارند (۲، ۸). این سیتوکاین همچنین می‌تواند سبب القاء مرگ برنامه ریزی شده (آپوپتوز) سلول‌های هدف گردد (۱۲، ۱۳) و از سوی دیگر دسته دیگر در ترشح برخی از پروتئین‌ها و سایتوکاین‌های التهابی از جمله IL-1، IL-6 و سیتوکاین‌های دیگر نقش دارد. ژن TNF-α روی کروموزم ۶ در قسمت کلاس III MHC و بین HLA-B و HLA-DR قرار گرفته است و در ناحیه پروموتر آن پلی‌مورفیسم‌های زیادی مشاهده شده است و به نظر می‌رسد برخی از این پلی‌مورفیسم‌های ژنی به ویژه پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) در جایگاه ۳۰۸-، نقش عمده‌ای در میزان بیان آن دارد. مطالعات متنوع دیگر بر روی تاثیر پلی مورفیسم های ژن TNF-α در بیماریهای خود ایمنی از جمله پسوریازیس، آرتریت روماتید، مالتیپل اسکروزیس (MS)، اسپوندیلیت انکولوزان، آسم، بعضی سرطان‌های گوارشی شامل سرطان کولون و معده و برخی از بیماری‌های عفونی مانند سل انجام گرفته‌اند و اغلب بر نقش SNP -308 تاکید نموده‌اند (۱۴). ترشح TNF-α در واکنش به آلودگی ویروسی سلول‌های کبدی، پاسخ سیستم ایمنی سلولی میزبان را تحریک کرده تا از تکثیر ویروس ممانعت شود و همچنین با ایجاد آپوپتوز در سلول‌های آلوده به ویروس، از آلوده شدن سایر سلول‌های سالم کبدی هم جلوگیری می‌کند (۱۵، ۱۶). با توجه به اثبات نقش مهم TNF-α به عنوان یک سایتوکاین مهم سیستم ایمنی در پاک سازی ویروس در افراد مختلف، بر آن شدیم تا به بررسی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی مهم این ژن در ناحیه ۳۰۸- پرموتور بپردازیم.

مواد و روشها

این مطالعه مورد- شاهدی بر روی بیماران مبتلا به بیماری هپاتیتC مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران و افراد کنترل سالم انجام گرفت. برای تایید عفونت HCV در گروه مورد و عدم آلودگی در گروه شاهد، حضور آنتی بادی ضد ویروس هپاتیت C (anti-HCV Antibody) به روش الایزا (کیت الایزا تجاری نسل سوم شرکت DRG، ایتالیا) در همه افراد مورد مطالعه بررسی گردید. برای اطمینان بیشتر از

آلودگی گروه مورد به HCV و ردیابی ژنوم این ویروس، RT-PCR نیز بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. افرادی که آنتی بادی ضد ویروس HCV در آنها مشاهده نشد جزو گروه کنترل قرار گرفتند. از کلیه افراد وارد شده به مطالعه رضایت نامه دریافت گردید و مطالعه با اجازه کمیته اخلاقی مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش وکبد دانشگاه شهید بهشتی انجام گشت.

DNA ژنومیک افراد با روش فنل–کلروفرم از ۴ میلی‌لیتر خون محیطی که در لوله‌های حاوی EDTA جمع آوری شده بود استخراج شد (۱۷). از تکنیک ARMS-PCR جهت تعیین ژنوتیپ افراد استفاده شد. به طور خلاصه در این روش برای تعیین ژنوتیپ هر نمونه، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱)، دو PCR مالتیپلکس انجام گردید.

جدول ۱- مشخصات پرایمرها

نام پرایمر	۳□ ⟶ ۵□	جهت پرایمر
Fc	ATA GGT TTT GAG GGG CAT GC	F
Fg	ATA GGT TTT GAG GGG CAT G	F
Runi	TCT CGG TTT CTT CTC CAT CG	R
F Bg	ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC	F
R Bg	CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC	R

در یک واکنش پرایمر Fg به همراه پرایمر R و جفت پرایمر BgF و BgC وارد شده ودر واکنش دوم نیز به جای پرایمر Fg از پرایمر Fa استفاده گردید. نوکلئوتیدها انتهای `۳ دو پرایمر Fg وFa با محل پلی مورفیسم منطبق بوده وتفاوت دو پرایمر نیز در این نوکلئوتید است، به نحوی که Fg به صورت اختصاصی موجب تکثیر DNA حاوی نوکلئوتید G در جایگاه پلی مورفیسم و Fa موجب تکثیر DNA واجد نوکلئوتید A می‌گردد. جفت پرایمر Bg نیز به صورت اختصاصی قطعه‌ای از توالی ژن بتاگلوبین را تکثیر نموده و به عنوان کنترل داخلی PCR عمل می‌کند (۱۸، ۱۹). جهت انجام PCR ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومیک به مخلوط واکنشی حاوی ۲/۵ میکرولیتر بافر حاوی ۱۰ میلی‌مولار تریس-کلراید pH:۹، ۵۰ میلی‌مولار کلرید پتاسیم ، ۰/۱٪ تریتون X-100، ۰/۷۵ میلی‌مولار منیزیم، ۰/۵ میکرولیتر از مخلوط حاوی ۰/۲ میلی‌مولار از هر dNTP ، ۵ پیکومول از دو پرایمر Bglobin-R وBglobin-F، ۶ پیکومول از هر پرایمرهای TNF308FC و TNF308FG و TNF308unir و ۰/۷۵٪ آنزیم Taq پلیمراز (super Taq شرکت ژن فن آوران، ایران) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر اضافه گردید و PCR با دستگاه ترموسایکلر اتوماتیک (Eppendorf ،آلمان) به ترتیب زیر انجام گرفت: ابتدا واسرشت شدن اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۷ چرخه تکثیر (هر چرخه شامل سه مرحله دمایی ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴ ثانیه، ۱۶۴/۱ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ ثانیه و۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ ثانیه) و سپس به مدت ۱۰ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتیگراد جهت تکثیر نهایی قطعه DNA اعمال گردید. محصول PCR به روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲/۵٪ (Roche،آلمان) و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید در مقابل نور فرابنفش آشکارسازی شد. جهت تائید نتایج ژنوتایپینگ، ۱۰٪ نمونه‌ها با استفاده از جفت پرایمر Fseq که حدود ۱۰۰ جفت باز بالادست جایگاه پلی‌مورفیسم به رشته الگو متصل می‌شود و R تکثیر شده و به روش تعیین توالی مستقیم با استفاده از سیستم ABI genetic analyzer 3130x1 توالی‌یابی شدند.

تحلیل داده‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۳و به کمک آزمون‌های آماری کای‌دو، آزمون دقیق فیشر و t test مستقل انجام شد. مقدار P (P-value) کمتر از ۰/۰۵معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

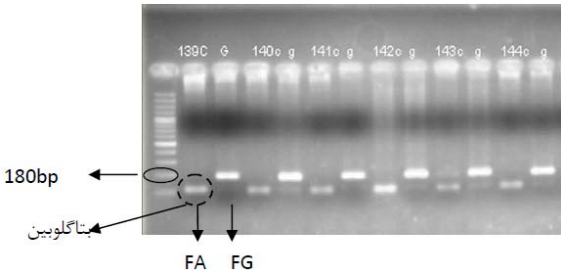
دو گروه مورد مطالعه بیمار و شاهد از نظر سن و جنس مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج آن در جدول ۲ خلاصه شده است.

جدول ۲- مشخصات جمعیت مورد مطالعه

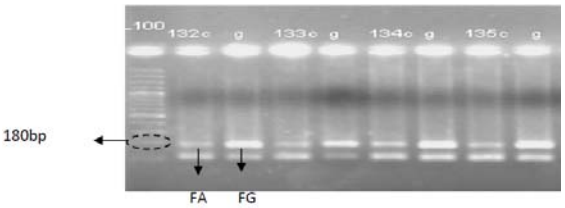
سن و جنس	بیماران	سالم
زن	۴۱ (٪۲۱/۵)	۸۳ (٪۴۹/۷)
مرد	۱۵۰ (٪۷۸/۵)	۸۴ (٪۵۰/۳)
میانگین سنی	۴۷/۷	۳۹

پس از خاتمه PCR محصولات به دست آمده بر روی ژل آگارز ۲/۵٪ برده شدند. در هر نمونه یک باند ۱۰۰ جفت بازی مربوط به ژن بتا گلوبین و یک باند ۱۸۴ جفتی مربوط به TNF-α در یک یا هر دو PCR مربوط به آن نمونه مشاهده گردید. در افراد هموزیگوت GG فقط محصول PCR واجد پرایمر Fg به همراه کنترل داخلی (محصول PCR ژن بتاگلوبین) دیده می‌شود و نباید هیچ باندی جز باند کنترل در محصول PCR واجد پرایمر Fa دیده شود (شکل ۱).

در افراد هموزیگوت CC فقط محصول PCR واجد پرایمرFa به همراه کنترل داخلی نیز باید مشاهده شود و نباید باندی جزء کنترل در ناحیه Fg دیده شود. اما در افراد هتروزیگوت محصول هر دو PCR واجد پرایمر های Fgو Fa به همراه کنترل داخلی (محصول PCR ژن بتاگلوبین) دیده می‌شود (شکل۲).

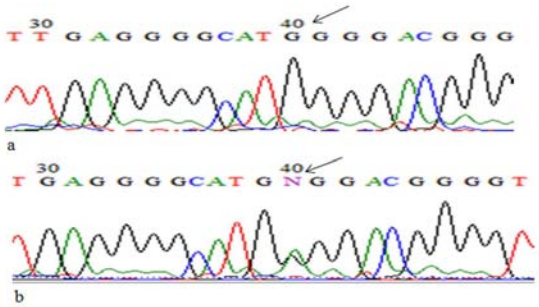


شکل ۱- نتایج الکترفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز. ازشماره ۱۳۹ تا ۱۴۴ ژنوتیپ GG می باشد چون فقط در ستون Fg باند مشاهده شده است.



شکل ۲- نتایج الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز. از شماره ۱۳۲ تا ۱۳۵ ژنوتیپ آن GA است، چون در هر دو ستون Fa وFg باند مشاهده شده است.

به دلیل آنکه درARMS-PCR مستقیماً ژنوتیپ مورد نظر به دست می‌آید، برای اطمینان بیشتر بر خی از نمونه از طریق سکانس مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده را تائید کرد (شکل ۳). به این ترتیب، فراوانی ژنوتیپ‌ها در پلی‌مورفیسم ناحیه ۳۰۸- در پرموتور TNF-α در بین دو گروه بیمار و شاهد به ترتیب بدین شرح بدست آمد. فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GA و AA به ترتیب در بیماران ۸۸/۸٪، ۱۱/۲٪ و صفر و درگروه کنترل ۷۵٪، ۲۴٪ و صفر بود و نسب شانس ۲/۲۶۲ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۸۶۰/۴-۱/۴۱۹؛ p<۰/۰۵) به دست آمد. (جدول ۳).
اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و شاهد در پلی‌مورفیسم ناحیه ۳۰۸- TNF-αوجود داشت (p<۰/۰۵). میزان فراوانی هر الل نیز محاسبه شد که در جدول ۴ نشان داده شده است.



شکل ۳. نتایج تعیین توالی. a) نمو نه هموزیگوت GG؛ b) نمونه هتروزیگوت GC

بحث

هدف از این مطالعه بررسی پلی مورفیسم ناحیه ۳۰۸- پرموتور ژن TNF-α در بیماران ایرانی مبتلا به هپاتیت C مزمن بود. علت انتخاب پلی مورفیسم ناحیه ۳۰۸- پرموتور ژن TNF-α به دلیل مطالعات فراوانی است که بر روی این پلی مورفیسم و ارتباطش با بیماری‌های مختلف انجام گرفته است. نتیجه مطالعه حاضر نشان داد اختلاف معنی‌دار آماری میان دو گروه بیمار و شاهد در این پلی مورفیسم وجود دارد (P=۰/۰۰۲). فراوانی میزان الل G در بین بیماران بیش از الل A بود. در مطالعات انجام شده توسط دیگر محققان، افرادی که دارای ژنوتیپ AA بودند میزان تولید TNFα در آنها بیشتر از افراد با ژنوتیپ GG بود (۲۰). مطالعات دیگر ارتباط این پلی مورفیسم را با مرحله فیبروز هپاتیتC بررسی کردند و ارتباط معنادار آماری بین پلی مورفیسم ناحیه ۳۰۸- ژن TNF-α با بیماران مبتلا به هپاتیتC که در مرحله فیبروز بودند، وجود داشت (۲۱، ۲۲). آنها نیز روند ابتلا به هپاتوکارسینومای کبدی را در بین این بیماران بررسی کردند و دریافتند که فیبروز کبدی می‌تواند مقدمه‌ای برای افزایش خطر ابتلا به کارسینومای کبدی باشد. TNF-α از سلول‌های فعال کوپفر مشتق می‌شود که ایجاد رادیکال‌های آزاد را در سلول‌های بدن به عهده دارند.

این فاکتورهای حد واسط نقشی مهم در ایجاد آسیب‌های کبدی دارند (۲۳). در مطالعه دیگر، Cheng و همکارانش دریافتند که افراد با الل A بیشتر به سیروز کبدی مبتلا می‌شوند (۲۴). این نتیجه تا حدودی مطالعه ما را تایید می‌کند که بیشتر افراد مورد مطالعه ما که در مرحله مزمن بیماری بودند الل G را داشتند. در ایران ارتباط این پلی‌مورفیسم با عفونت مزمن ویروس هپاتیت B (HBV) در سال ۲۰۰۶ در بیمارستان طالقانی تهران مورد بررسی قرار گرفت که اختلاف معنی‌دار آماری میان گروه بیماران دچار عفونت مزمن HBV و گروه کنترل مشاهده نگردید (۲۱). در کشورهای مختلف نتایج حاصل از مطالعات پلی مورفیسم متفاوت است. در کشور ژاپن، Miyozo و همکارانش در سال ۲۰۰۲ و در کشور کره kimyjo در سال ۲۰۰۳ ارتباط این پلی مورفیسم با بیماران مبتلا به HBV را بررسی کردند که اختلاف معنی‌دار آماری در مطالعه آنها وجود داشت (۱۴، ۲۵). نقش این پلی‌مورفیسم در رابطه با ایجاد زمینه ژنتیکی استعداد ابتلا به بیماری‌های دیگر نیز بررسی شده است. پژوهشی در سال ۲۰۰۳ بر روی جمعیت اسپانیایی بیماران مبتلا به التهاب فعال کرون انجام گردید و اختلاف

جدول ۳- فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه‌های جنسی

		ژنوتیپ (تعداد – درصد)			P value
		GG	GA	AA	
مرد	شاهد	۵۹ (٪۷۲/۸)	۲۲ (٪۲۷/۲)	۰	۰/۰۰۳
	بیمار	۳۴ (٪۹۷/۱)	۱ (٪۲/۹)	۰	
زن	شاهد	۶۵ (٪۷۷/۴)	۱۹ (٪۲۲/۶)	۰	۰/۰۹۹
	بیمار	۱۰۱ (٪۸۶/۳)	۱۶ (٪۱۳/۷)	۰	
جمع	شاهد	۱۲۴ (٪۱۵۰/۲)	۴۱ (٪۴۹/۸)	۰	۰/۱۰
	بیمار	۱۳۵ (٪۱۸۳/۴)	۱۷ (٪۱۶/۶)	۰	

جدول ۴- فراوانی هر کدام ار الل‌ها

الل ها	بیمار	شاهد	Pvalue	fisher exact test	df=1	df=2
G	۲۸۷(٪۹۴/۴)	۲۸۹(٪۸۷/۶)	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۷۱
A	۱۷(٪۵/۶)	۴۱(٪۱۲/۴)				
جمع	۳۰۴(٪۱۰۰)	۳۳۰(٪۱۰۰)				

معنی‌دار آماری در پلی‌مورفیسم TNF-α308A در بیماران مبتلا و گروه کنترل وجود داشت (۱۶). در کشور انگلستان ارتباط پلی‌مورفیسم TNF -۳۰۸ با بیماران مبتلا به سرطان معده بررسی شد که اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت، به طوری که در افرادی با ژنوتیپ TNF-α-308 AA احتمال خطر ابتلاء به سرطان معده در آنها نسبت به ژنوتیپ GG بیشتر گزارش شد (۲۶). در ایران ارتباط این پلی مورفیسم با عفونت توبرکلوزیس بررسی شد و اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت. در مطالعه‌ای دیگر در شیراز ارتباط SNP TNF-α-308 با رد پیوند بررسی شد که اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید (۲۷، ۲۸).

تاکنون در ایران مطالعه‌ای در رابطه با HCV و پلی مورفیسم ۳۰۸- در ناحیه پروموتر TNF-α صورت نگرفته بود و مطالعه حاضر اولین پژوهش در این خصوص در کشور می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد افرادی که در مرحله مزمن بیماری می‌باشند الل G را بیشتر از الل A دارا می‌باشند، در حالی که این الگو در گروه کنترل به این شکل نمی‌باشد و اختلاف معنی‌داری میان گروه بیمار و کنترل مشاهده می‌شود. به نظر می‌رسد الل A نقش حفاظت کننده‌ای در مقابل ابتلا به عفونت مزمن هپاتیت C دارد و در مقابل افراد دارای الل G استعداد ابتلا به عفونت مزمن را دارند. همچنین الل A در بیماران دچار سیروز کبدی بیشتر مشاهده گردید که این نتیجه هم با مطالعات پیشین مشابهت دارد (۲۳). بنابراین در مراحل پیشرفته بیماری کبدی، افراد دارای ژنوتیپ AA، میزان بیشتری TNF-α تولید می‌کنند و با توجه اثرات مخرب آن بر روی کبد می‌توان نتیجه گرفت هر چه میزان تولید TNF-α بیشتر باشد شدت آسیب و تخریب کبدی بالاتر می‌رود و بیماری سریع‌تر از فاز مزمن به سمت فیبروز و سیروز کبدی پیش می‌رود.

از نتایج مطالعه حاضر می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری نمود که ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم‌های متنوعی در جمعیت‌ها و موقعیت‌های جغرافیایی متفاوت وجود دارند و الل یا ژنوتیپ خاصی از این پلی مورفیسم‌ها می‌تواند نقش مهمی در استعداد ابتلا افراد به بعضی بیماری‌ها داشته باشند و لازم است که در هر جمعیتی در نقاط مختلف دنیا این پلی‌مورفیسم‌ها به طور جداگانه بررسی شوند تا بتوان پیش بینی دقیق‌تری در خصوص پیشرفت بیماری‌ها نمود و ارتباط گنجینه ژنتیکی هر منطقه با بیماری‌های اختصاصی آن را به دست آورد.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از کلیه همکاران محترم مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش وکبد، به ویژه خانم‌ها شهره الماسی، هانیه میر طالبی و مهسا خوان یغما، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Plagemann P. Hepatitis C virus. J of Viro Res 1991; 120: 165-80.

2. Ray RB, Meyer K, Steele R, Shrivastava A, Aggarwal BB, Ray R. Inhibition of tumor necrosis factor (TNF-)-mediated apoptosis by hepatitis C virus core protein. JBC 1998; 273: 2256.

3. Houghton M. The long and winding road leading to the identification of the hepatitis C virus. J Hep V 2009; 51: 939-48.

4. Alavian SM. Hepatitis C infection in Iran; A review article. Iran J Clin Infect Dis 2009; 4: 47-59.

5. Pár A, Kisfali P, Melegh B, Tornai I, Gervain J, Szalay F, et al. Cytokine (IL-10, IL-28B and LT-A) gene polymorphisms in chronic hepatitis C virus infection. J Clin Exp Med 2011; 5: 9-19.

6. Dustin LB , Rice CM. Flying under the radar: the immunobiology of hepatitis C. Annu Rev Immunol 2007; 25: 71-99.

7. Thimme R, Bukh J, Spangenberg HC, Wieland S, Pemberton J, Steiger C, et al. Viral and immunological determinants of hepatitis C virus clearance, persistence, and disease. PNAS 2002; 99: 15661.

8. Thio C, Goedert J, Mosbruger T, Vlahov D, Strathdee S, O'Brien S, et al. An analysis of tumor necrosis factor a gene polymorphisms and haplotypes with natural clearance of hepatitis C virus infection. Genes Immuno Journal 2004;5: 294-300.

9. Romero-Gomez M, Eslam M, Ruiz A, Maraver M. Genes and Hepatitis C Susceptibility, Fibrosis Progression and Response to Treatment. Liver INT 2011; 31: 443-60.

10. Thursz M, Yallop R, Goldin R, Trepo C, Thomas HC. Influence of MHC class II genotype on outcome of infection with hepatitis C virus. The Lancet 1999; 354: 2119-24.

11. Thio CL, Thomas DL, Goedert JJ, Vlahov D, Nelson KE, Hilgartner MW, et al. Racial differences in HLA class II associations with hepatitis C virus outcomes. JID 2001; 184: 16.

12. Abbas AK, Cell mol imm. 7 th Ed .Saunders; 2007.

13. Rath PC , Aggarwal BB. TNF-induced signaling in apoptosis. Jci 1999; 19: 350-64.

14. Bayley J, Ottenhoff T, Verweij C. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? Genes Immune J 2004; 5: 315-29.

15. Constantini PK, Wawrzynowicz Syczewska M, Michael C, Boron Kaczmarska A, McFarlane IG, Cramp ME, et al. Interleukin 1, interleukin 10 and tumour necrosis factor alpha gene polymorphisms in hepatitis C virus infection: an investigation of the relationships with spontaneous viral clearance and response to alpha interferon therapy. Liver 2002; 22: 404-12.

16. Gonza´lez S, Rodrigo L, Martı´nez-Borra J, Lo´pez-Va´zquez A, Fuentes D, Pilar Nin˜o P, et al. TNF- a 308A Promoter Polymorphism is Associated With Enhanced TNF-a Production and Inflammatory Activity in Crohn's Patients With Fistulizing Disease. AJG J 2003; 98.

17. Jen-Eing J, Jung-Fa T, Lee-Yea C, Mei-Shang H, Zu-Yau L, Min-Yuh H, et al. Tumor necrosis factor-α 308.2 polymorphism is associated with advanced hepatic fibrosis and higher risk for hepatocellular carcinoma. Neoplasia (New York, NY) 2007; 9: 987.

18. Bittar M, Carey A, Barnard J, Pravica V, Deiraniya A, Yonan N, et al. Tumor Necrosis Factor Alpha Influences theInflammatory Response After Coronary Surgery. The Society of Thoracic SurgeonsPublished by Elsevier Inc 2006; 132-38.

19. Kamali-Sarvestani E, Nikseresht A, Aflaki E, Sarvari J, Gharesi-Fard B. TNF-a, TNF-b and IL-4 genepolymorphisms in Iranian patients withmultiple sclerosis. Acta Neurol. Scand 2007; 115: 161-66.

20. Baran W, Szepietowski JC, Mazur G, Baran E. A - 308 promoter polymorphism of tumor necrosis factor alpha gene does not associate with the susceptibility to psoriasis vulgaris. No difference either between psoriasis type I and type II patients. Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat 2006; 15: 113-8.

21. Somi M, Najafi L, Noori B, Alizadeh A, Aghah M, Shavakhi A, et al. Tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism in Iranian patients with chronic hepatitis B. IJG 2006; 25: 14.

22. Wang YY, Lo GH, Lai KH, Cheng JS, Lin CK, Hsu PI. Increased serum concentrations of tumor necrosis factor-alpha are associated with disease progression and malnutrition in hepatocellular carcinoma. J Chinese Med Association 2003; 66: 593-98.

23. Bataller R , Brenner DA. Liver fibrosis. J Clin Invest 2005; 115: 209-18.

24. Cheng JT, Hsien C, Sun HJ, Tong MJ. The emerging importance of chronic hepatitis C infection in Asian Americans. Am J Gastroenterol 2006; 101: 2737-43.

25. Kim YJ, Lee HS, Yoon JH, Kim CY, Park MH, Kim LH, et al. Association of TNF- promoter polymorphisms with the clearance of hepatitis B virus infection. HMBG j 2003; 12: 2541.

26. Gorouhi F, Islami F, Bahrami H, Kamangar F. Tumour-necrosis factor-A polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis. Br J Cancer 2008; 1443-51.

27. Varahram M, Farnia P, Anoosheh S, Kazampour M, Merza M, Saeif S, et al. The VDR and TNF-α gene polymorphisms in Iranian tuberculosis patients: The study on host susceptibility. IJCID 2009; 4: 207-13.

28. Jahadi-Hossieni SH, Kamali E, Samani M, Katbab A, Khoshniat H, Movahhedan H, et al. Correlation of Corneal Allograft Rejection withTumor Necrosis Factors-Alpha GenePolymorphism. IJMS 2004; 29: 180-84.