مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۶، شماره ۱، بهار ۹۵، صفحات ۳۰ تا ۳۵

Original Article

بررسی ارتباط پلی مورفیسم های ژن اینترلوکین 28B و عفونت مزمن ویروس هپاتیتC

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 بیماریهای 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 معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی در نواحی تنظیمی ژن اینترلوکین ۲۸ B (IL-28B) و پاسخ به درمان در افراد دچار بیماری‌های ویروسی مانند هپاتیت C وجود دارد. با وجود این، هنوز فاکتورهای ژنتیکی دخیل در پیشرفت عفونت به بیماری مزمن مشخص نشده‌اند. در این مطالعه، ارتباط پلی‌مورفیسم‌های IL28B با استعداد ابتلا به عفونت مزمن ویروس هپاتیت C مورد ارزیابی قرار گرفت.*

روش بررسی: *در این پژوهش مورد- شاهدی، ۱۱۰ بیمار مبتلا به هپاتیت C و ۱۱۰ فرد سالم بررسی شدند. قطعات حاوی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs8099917T/G و rs12979860C/T با به کارگیری روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر شدند و تعیین ژنوتیپ با روش RFLP و با استفاده از آنزیم‌های اندونوکلئاز اختصاصی NmuCI و BstUI انجام شد.*

یافته‌ها: *در بررسی پلی‌مورفیسم rs12979860، رایج‌ترین ژنوتیپ CC بود و CT و TT به دنبال آن قرار داشتند. ژنوتیپ TT در پلی مورفیسم rs8099917 در جمعیت غالب بود که با ژنوتیپ‌های TG و GG دنبال می‌شد. در گروه بیمار، فراوانی آلل‌های rs12979860T و C به ترتیب ۳۰/۵ درصد و ۶۹/۵ درصد و فراوانی rs8099917G و T در گروه بیماربه ترتیب ۲۷/۷ درصد و ۷۲/۳ درصد بود.*

نتیجه‌گیری: *نتایج نشان می دهند که در پلی مورفیسم rs8099917 فراوانی الل T بیشتر از G و در جایگاه rs12979860 فراوانی الل C بالاتر از T است. همچنین ژنوتیپ‌های rs8099917-TT و rs12979860-CC رایج ترین ژنوتیپ در جمعیت مبتلا به هپاتیت C مزمن هستند.*

واژگان کلیدی: *اینترلوکین ۲۸ B، عفونت مزمن هپاتیت C، پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی.*

مقدمه

بیماری عفونی هپاتیت C درحال حاضر یکی از بزرگ‌ترین معضلات سلامت در جهان محسوب می‌شود و ۱۷۰ میلیون نفر در سراسر دنیا به آن مبتلا هستند (۲،۱). دو نتیجه عمده برای عفونت هپاتیت C حاد وجود دارد. تقریبا ۳۰٪ افراد آلوده به طور خود به خودی ویروس از بدنشان پاک می‌شود و بر علیه این عفونت مصون می شوند. از میان ۷۰٪ باقیمانده تنها نیمی از آنها به طور موفقیت آمیز با دارو درمان می‌شوند و بقیه افراد آلوده به سمت عفونت مزمن سوق پیدا می‌کنند که این عفونت مزمن دلیل عمده 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

کمتر از یک درصد از جمعیت ایرانی مبتلا به هپاتیت C هستند، ولی به نظر می‌رسد این میزان رو به افزایش است (۵-۳). علاوه بر اینکه هم ایمنی ذاتی و هم ایمنی اکتسابی میزبان نقش مهمی را در عفونت به هپاتیت Cبازی می‌کنند، عوامل دیگری مانند ژنوتیپ ویروس، روش انتقال و محتوای ژنتیکی افراد نیز در استعداد ابتلای افراد به بیماری هپاتیت C نقش دارند. تاکنون مطالعات بسیاری در رابطه با فاکتورهای مستعد کننده ژنتیکی موثر در استعداد ابتلا، پاسخ به درمان و سیر طبیعی ویروس هپاتیت C انجام شده‌اند (۶،۱). از جمله ژن‌هایی که دراین رابطه مهم‌ترین نقش را دارد، ژن اینترلوکین B28(IL28B)است که سایتوکین IL28B (IFNλ3) را کد می‌کند. این اینترفرون جزو اینترفرون‌های تیپ III محسوب می‌شود. ژن IL28B به همراه کلاستر ژن‌های اینترفرون λ در روی کروموزوم ۱۹ قرار دارد IL28B . به طور عمده توسط ماکروفاژها و دندریتیک سل‌ها تولید شده و نقش برجسته‌ای در ایمنی ذاتی و پاک‌سازی عفونت‌های ویروسی از جمله هپاتیت C ایفا می‌کند (۱). IL28B یک حالت آنتی ویروسی ایجاد کرده و باعث افزایش مقاومت سایر سلول‌ها به آلودگی ویروسی می‌شود. علاوه بر آن، IL28B می‌تواند سبب افزایش بیان اینترفرون گاما، ژن MX ، '5'2الیگو آدنیلات سنتاز و خاصیت سایتوتوکسی سیتی سلول‌های +TCD8 شود .مسیر سیگنال‌دهی IL28B مانند سایر اینترفرون‌های تیپ III از طریق زیرواحدهای IL10R و IL28R و مسیر JAK-STAT است. گیرنده‌های اینترفرون λ بر روی بسیاری از سلول‌ها از جمله کبد و سلول‌های اپی‌تلیال 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، میکروماهواره ها و نیز استعداد ابتلا به بیماری‌ها و پاسخ درمانی استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در نواحی تنظیمی ژن IL28B در استعداد ابتلا به بیماری هپاتیت C و نیز در پاک‌سازی ویروس به دنبال درمان ایفای نقش می‌کنند (۹-۷). 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 (۱۲-۱۰). بر اساس مطالعات در نژادهای مختلف مشخص شده است که در مقایسه بین پلی‌مورفیسم IL-28 با سایر فاکتورهای پیش آگاهی، نقش پلی مورفیسم‌های ژنIL-28 در رسیدن به پاسخ پایدار ویروسی بسیار قوی‌تر است (۱۳، ۱۴). مطالعه وسیع ژنوم انسانی (GWAS) نشان داده که پلی‌مورفیسم ژن IL-28 به عنوان یک فاکتور پیش آگاهی کننده پاسخ به درمان در بیماران مبتلا به بیماری های 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 ژنوتیپ ژن IL-28B بر سرعت تکثیر ویروس در روزهای ابتدایی آلودگی با ویروس اشاره کرده‌اند (۱۰). به همین دلیل مطالعه برخی از پلی‌مورفیسم‌های موجود در ژن IL-28B ارزشمند است. مهم‌ترین SNPهای موجود در ناحیه تنظیمی در ژن IL-28B شامل rs8099917 و rs12979860 است (۱۷). با توجه به اهمیت بررسی و مطالعه ژن IL-28B، ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژنIL-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 مثبت 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 عفونت های هپاتیت B و یا ویروس نقص ایمنی مبتلا بودند از مطالعه حذف شدند. این عفونت‌ها به ترتیب با استفاده از سنجش آنتی ژن سطحی ویروس هپاتیت B و AntiHIVAntibody بررسی شدند. اطلاعات دموگرافیک و سوابق بیماری دو گروه شاهد و بیمار در فرم‌های جداگانه ای ثبت شدند.

استخراج DNA

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

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

دما (سانتی‌گراد)	طول قطعه تکثیر شده	پرایمر های مورد استفاده	نام پرایمر	پلی مورفیسم ژنIL28B
۶۰	bp۲۳۷	F:5′–GCT TAT CGC ATA CGG CTA GG	17F	rs12979860
		R:5′–AGG CTC AGG GTC AAT CAC AG	17R	
۶۳	bp۲۴۲	F:5′–AGT AAG TCT TGT ATT TCA CCT CC	60F	rs8099917
		R:5′–TAT CCT AAA TTG ACG GGC CAT C	60R	

خون حاوی EDTA و از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی، DNA ژنومی با استفاده از روش استاندارد فنل–کلروفورم و بر طبق پروتکل استانداردداستخراج شد و بعد در Tris-EDTA Buffer در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تعیین پلی‌مورفیسم‌های ژن 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 rs8099917 و rs12979860 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 rs8099917 و rs12979860 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 ۱۴۹bp، ۴۹bp و ۳۹bp حاصل می‌شود 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، ۸۲bp و ۲۵bpمشاهده می‌گردد. اگر ژنوتیپ بیمار rs12979860-TT باشد، در اثر هضم آنزیمی دو قطعه ۱۶۰bp و ۸۲bp حاصل می‌شود. قطعات ۱۳۵ و ۱۶۰ برای شناسایی ژنوتیپ rs12979860-CT استفاده می‌شوند. لازم به ذکر است که محصولات حاصل از PCR در RFLP بروی ژل آگارز ۳٪ (Hoffmann la Roche AG, Basel, Switzerland) برده شدند. در پایان، برای تأیید نتایج تعیین ژنوتیپ به روش RFLP، ۵ درصد از نمونه‌ها به شکل تصادفی انتخاب و توالی‌یابی شدند.

تحلیل آماری

تحلیل فراوانی و بررسی و ثبت داده ها در نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ انجام شد. از آماره های توصیفی، و آزمون‌های کای‌دو 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 تقریبا 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<۰/۰۱). میانگین سنی در گروه شاهد ۴۵/۷۳±۱/۰۹ و در گروه بیمار ۴۴/۴۶±۰/۹۰ سال بود (p=۰/۳۷). نتایج حاصل از فراوانی ژنوتیپ‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ‌های مربوط به پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs8099917 در دو گروه شاهد و بیمار مشاهده شد، به طوری که میزان ژنوتیپ rs8099917-GG در جمعیت بیمار افزایش معنی‌داری داشت (p=۰/۰۱). برای بررسی دقیق‌تر، تحلیل توزیع ژنوتیپ و آلل‌ها 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 پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی 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 پلی مورفیسم rs12979860 در گروه بیمار و شاهد در زنان به صورت ناهمگن است و میزان ژنوتیپ های 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 پلی مورفیسم که بروی ژل آگارز ران شده است، مشاهده می‌شود.

جدول ۲. توزیع ژنوتیپ ها و آلل ها در هر دو جمعیت کنترل و بیمار

SNPs			شاهد (٪)	بیمار (٪)	Unadjusted P-value	Adjusted[a]OR (95% CI), P value
rs8099917	ژنوتیپ	TT	۶۳/۶	۵۰	۰/۰۱	Reference
		TG	۳۲/۷	۴۴/۵		۱/۹(۰/۷۵-۴/۸) ،۰/۱۷
		GG	۳/۶	۵/۵		۱/۷(۱/۱۶ - ۲/۵۶)، ۰/۰۰۶
	فراوانی آلل	T	۸۰	۷۲/۳	۰/۰۷	Reference
		G	۲۰	۲۷/۷		۱/۵۳ (۰/۹۸ - ۲/۳۹)، ۰/۵۸
rs12979860	ژنوتیپ	CC	۵۱/۸	۴۷/۳	۰/۴	Reference
		CT	۴۲/۷	۴۴/۵		۱/۱۴ (۰/۷۷ - ۱/۶۸)، ۰/۰۵
		TT	۵/۵	۸/۲		۱/۶۴(۰/۷۵-۳/۵۷) ، ۰/۲۱
	فراوانی آلل	C	۷۳/۲	۶۹/۵	۰/۴۶	Reference
		T	۲۶/۸	۳۰/۵		۱/۱۹(۰/۷۹-۱/۸) ، ۰/۳۹

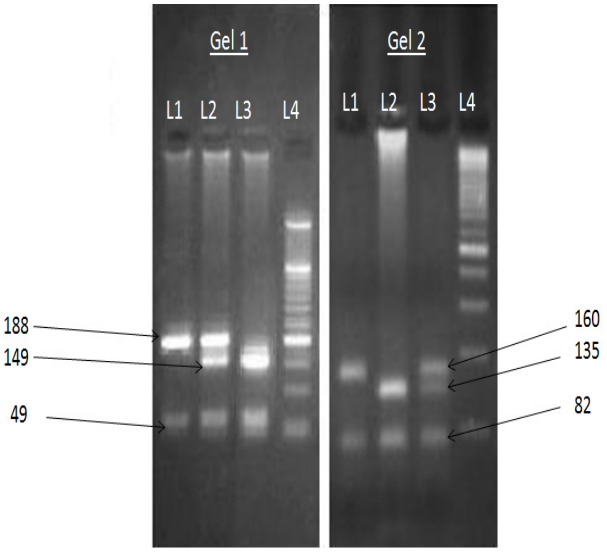
جدول ۳. توزیع ژنوتیپ ها و فراوانی آلل ها در دو گروه بیمار و کنترل به تفکیک جنسیت

SNPs	مرد			زن		
	شاهد (٪)	بیمار (٪)	Adjusted[a]OR (95% CI), P value	شاهد (٪)	بیمار (٪)	Adjusted[a]OR (95% CI), P value
rs12979860						
CC	۴۱/۷	۵۱/۱	Reference	۵۹/۷	۲۷/۸	Reference
CT	۵۲/۱	۴۱/۳	۰/۶۴(۰/۳۸-۱/۰۸)،۰/۰۹	۳۵/۵	۶۱/۱	۳/۷(۱/۶-۸/۵۳)،۰/۰۰۲
TT	۶/۳	۷/۶	۰/۹۹(۰/۳۵-۲/۷۶)،۰/۹۸	۴/۸	۱۱/۱	۴/۹(۱/۱۸-۲۰/۵۵) ،۰/۰۲
فراوانی آلل						
C	۶۷/۷	۷۱/۷	Reference	۷۷/۴	۵۸/۳	Reference
T	۳۲/۳	۲۸/۳	۰/۸۲(۰/۴۸-۱/۴۱)،۰/۴۸	۲۲/۶	۴۱/۷	۲/۴(۱/۱۱-۵/۳۶)،۰/۰۲۵
rs8099917						
TT	۵۸/۳	۵۰	Reference	۶۷/۷	۵۰	Reference
TG	۳۵/۴	۴۴/۶	۱/۴۴(۰/۴۸-۴/۲۹)،۰/۵	۳۰/۶	۴۴/۴	۰/۴۲(۰/۰۵-۳/۲۵)، ۰/۴۰
GG	۶/۳	۵/۴	۰/۹۸(۰/۳۴-۲/۸۶)،۰/۹۷	۱/۶	۵/۶	۰/۲۱(۰/۰۲۸-۱/۶۲)، ۱/۶۲
فراوانی آلل						
T	۷۶	۷۲/۳	Reference	۸۳/۱	۷۲/۲	Reference
G	۲۴	۲۷/۷	۱/۲۱(۰/۶۸- ۲/۱۵) ،۰/۴۹	۱۶/۹	۲۷/۸	۱/۸(۰/۷۹-۰/۴۹)، ۰/۱۵

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 بیماری های عفونی شناخته شده‌اند. سایتوکاین IL-28B که از ژن IL-28B تولید می‌شود، نقش کلیدی در ایمنی ذاتی در پاسخ های 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 پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی 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 موردی-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 فراوانی 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 کاملا تصادفی انجام شد، اما

نوع نمونه‌گیری می‌تواند تاثیرگزار باشد. احتمالا الگوهای متفاوت زندگی اجتماعی مردان و زنان در جمعیت ایرانی نیز می‌تواند در میزان ابتلای 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 ژنوتیپ هموزیگوت TT، در چاهک L2 هتروزیگوت TG و در چاهک L3 هموزیگوت GG مشاهده می‌شود. در چاهک L4 مارکر ۵۰ استفاده شده است. ژل ۲ قطعات برش خورده rs12979860 را نشان می‌دهد که در چاهک L1 ژنوتیپ هموزیگوت CC، در چاهک L2 هتروزیگوت CT و در چاهک L3 هموزیگوت TT مشاهده می شود. 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. ژنوتیپ‌های TG و GG از نظر فراوانی به دنبال ژنوتیپ TT قرار داشتند. ژنوتیپ GG در جمعیت بیمار به طور کلی افزایش معنی‌داری یافت و احتمالا این ژنوتیپ در ابتلا به عفونت هپاتیت C مزمن نقش دارد. نتایج حاصل از این مطالعه در رابطه با پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs8099917 مشابه نتایج به دست آمده از مطالعات مشابه در جمعیت ایرانی است (۲۱-۱۹). توزیع rs12979860 نیز در جمعیت شاهد و بیمار ناهمگون بود، به طوری که در هر دو جمعیت ژنوتیپ CC توزیع بیشتری نسبت به CT داشت؛ این در حالی است که ژنوتیپ 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 که در این مطالعه بیشترین میزان فراوانی مربوط به rs12979860CC است (۱۹). اما با مطالعه شرفی و همکارانش که در آن ژنوتیپ CT بیشترین توزیع را دارد متفاوت است و تنها توزیع ژنوتیپ در گروه زنان مشابه نتایج شرفی و همکارانش است، به طوریکه در این مطالعه، در گروه زنان ژنوتیپ CT به طور معنی داری ژنوتیپ غالب بود (۲۱). مطالعه دقیق‌تر در هر دو گروه زنان و مردان به صورت جداگانه نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های TT و CT در گروه زنان مبتلا به هپاتیت C نسبت به گروه شاهد در جمعیت زنان افزایش معنی‌داری پیدا کرده است. احتمالا این دو ژنوتیپ در موقعیت rs12979860 استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C را در زنان افزایش می دهند. آلل‌های اجدادی rs12979860C و rs8099917T در هر دو جمعیت شاهد و بیمار آلل‌های غالب بودند، با وجود اینکه رابطه معنی‌داری بین توزیع این آلل‌ها 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 ژنوتیپ GG مرتبط با پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs8099917 ژن اینترلوکین IL28B با استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C مزمن در ارتباط است. همچنین ژنوتیپ‌های CT و TT در موقعیت rs12979860 نیز استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C را در گروه زنان افزایش می‌دهند. لذا به نظر می رسد که با توجه به اهمیت پلی‌مورفیسم‌های ژن IL28B (IFNλ3) در سیر بیماری و پاسخ به درمان این بیماران به دارون اینترفرون 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.

تشکروقدردانی

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، بی نهایت قدردانیم.

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, Nouraie 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, Shiffman 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'Huigin 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, Kimiia 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, Imamura 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, Falleti 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.