

بررسی ارتباط پلی مورفیسم های ژن اینترلوکین 28B 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 28B (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 ابتلا به عفونت مزمن ویروس هپاتیت C مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: در این پژوهش مورد-شاهدی، 110 بیمار مبتلا به هپاتیت C و 110 فرد سالم بررسی شدند. قطعات حاوی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs8099917T/G و rs12979860C/T با به کارگیری روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) تکثیر شدند و تعیین ژنوتیپ با روش RFLP و با استفاده از آنزیم های اندونوکلاز اختصاصی NmuCI و BstUI انجام شد.

یافته ها: در بررسی پلی مورفیسم rs12979860 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 rs8099917G و T در گروه بیمار به ترتیب ۲۷/۷ درصد و ۷۲/۳ درصد بود.

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

واژگان کلیدی: اینترلوکین 28B، عفونت مزمن هپاتیت C، پلی مورفیسم های ژنتیکی.

مقدمه

در سراسر دنیا به آن مبتلا هستند (۲،۱). 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 عمده سیروز و هپاتوسلولار کارسینوما است (۱).

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

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 مورفیس‌های ژن IL-28 در رسیدن به پاسخ پایدار ویروسی بسیار قوی‌تر است (۱۳، ۱۴). مطالعه وسیع ژنوم انسانی (GWAS) نشان داده که پلی مورفیس‌های 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 پلی مورفیس‌ها 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 پلی مورفیس‌های موجود در ژن IL-28B ارزشمند است. مهم‌ترین SNP های 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 پلی مورفیس‌های ژن IL-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 AntiHIV Antibody 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

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 C بازی 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 (۱، ۶). از جمله ژن‌هایی که در این رابطه مهم‌ترین نقش را دارد، ژن اینترلوکین (IL28B) است که سایتوکین (IFN λ 3) 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 λ 2، 5' الیگو 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).

پلی مورفیس‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) ریشه در بسیاری از بیماری‌های انسان دارند و از آنها به عنوان مارکرهایی در مطالعات پیوستگی، میکروماهواره‌ها و نیز استعداد ابتلا به بیماری‌ها و پاسخ درمانی استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که پلی مورفیس‌های 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 پلی مورفیس‌های IL-28 با سایر فاکتورهای پیش آگاهی، نقش

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

| دما (سانتی‌گراد) | طول قطعه تکثیر شده | پرایمرهای مورد استفاده | نام پرایمر | پلی مورفیسم ژن IL28B |
|------------------|--------------------|---|------------|----------------------|
| ۶۰ | bp۳۳۷ | F:5'-GCT TAT CGC ATA CGG CTA GG R:5'-AGG CTC AGG GTC AAT CAC AG | 17F 17R | rs12979860 |
| ۶۳ | bp۳۴۲ | F:5'-AGT AAG TCT TGT ATT TCA CCT CC R:5'-TAT CCT AAA TTG ACG GGC CAT C | 60F 60R | rs8099917 |

RFLP، ۵ درصد از نمونه‌ها به شکل تصادفی انتخاب و توالی‌یابی 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 هیپاتیت 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 $45/73 \pm 1/09$ 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 پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs8099917 در دو گروه شاهد و بیمار مشاهده شد، به طوری که میزان ژنوتیپ rs8099917-GG در جمعیت بیمار افزایش معنی‌داری داشت ($p = 0/01$). 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 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 پلی مورفیسم 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 فنل-کلروفورم و بر طبق پروتکل استاندارد استخراج شد و بعد در Tris-EDTA Buffer در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تعیین پلی مورفیسم‌های 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 پلی مورفیسم‌های rs12979860 و rs8099917 با استفاده از PCR و در دستگاه ترموسایکلیر (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) از روش RFLP و از آنزیم‌های BstUI و NmuCI (Fermentas, Vilnius, Lithuania) به ترتیب برای تعیین پلی مورفیسم‌های 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 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 ۲۵bp مشاهده 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

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

| Adjusted ^a OR (95% CI), P value | Unadjusted P-value | بیمار (%) | شاهد (%) | SNPs |
|--|--------------------|-----------|----------|---------------|
| Reference | ۰/۰۱ | ۵۰ | ۶۳/۶ | TT ژنوتیپ |
| ۱/۹(۰/۷۵-۴/۸), ۰/۱۷ | | ۴۴/۵ | ۳۲/۷ | TG |
| ۱/۷(۱/۱۶ - ۲/۵۶), ۰/۰۰۶ | | ۵/۵ | ۳/۶ | GG |
| Reference | ۰/۰۷ | ۷۲/۳ | ۸۰ | T فراوانی آلل |
| ۱/۵۳ (۰/۹۸ - ۲/۳۹), ۰/۵۸ | | 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 |
| ۱/۶۴(۰/۷۵-۳/۵۷), ۰/۰۲۱ | | ۸/۲ | ۵/۵ | TT |
| Reference | ۰/۰۴۶ | ۶۹/۵ | ۷۳/۲ | C فراوانی آلل |
| ۱/۱۹(۰/۷۹-۱/۸), ۰/۰۳۹ | | ۳۰/۵ | ۲۶/۸ | T |

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

| زن | | 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 |
| ۳/۷(۱/۶-۸/۵۳), ۰/۰۰۲ | ۶۱/۱ | ۳۵/۵ | ۰/۶۴(۰/۳۸-۱/۰۸), ۰/۰۰۹ | ۴۱/۳ | ۵۲/۱ |
| ۴/۹(۱/۱۸-۲۰/۵۵), ۰/۰۰۲ | ۱۱/۱ | ۴/۸ | ۰/۹۹(۰/۳۵-۲/۷۶), ۰/۰۹۸ | ۷/۶ | ۶/۳ |
| Reference | ۵۸/۳ | ۷۷/۴ | Reference | ۷۱/۷ | ۶۷/۷ |
| ۲/۴(۱/۱۱-۵/۳۶), ۰/۰۲۵ | ۴۱/۷ | ۲۲/۶ | ۰/۸۲(۰/۴۸-۱/۴۱), ۰/۰۴۸ | ۲۸/۳ | ۳۲/۳ |
| Reference | ۵۰ | ۶۷/۷ | Reference | ۵۰ | ۵۸/۳ |
| ۰/۴۲(۰/۰۵-۳/۲۵), ۰/۰۴۰ | ۴۴/۴ | ۳۰/۶ | ۱/۴۴(۰/۴۸-۴/۲۹), ۰/۰۱۵ | ۴۴/۶ | ۳۵/۴ |
| ۰/۲۱(۰/۰۲۸-۱/۶۲), ۱/۶۲ | ۵/۶ | ۱/۶ | ۰/۹۸(۰/۳۴-۲/۸۶), ۰/۰۹۷ | ۵/۴ | ۶/۳ |
| Reference | ۷۲/۲ | ۸۳/۱ | Reference | ۷۲/۳ | ۷۶ |
| ۱/۸(۰/۷۹-۰/۴۹), ۰/۰۱۵ | ۲۷/۸ | ۱۶/۹ | ۱/۲۱(۰/۶۸-۲/۱۵), ۰/۰۴۹ | ۲۷/۷ | ۲۴ |

بحث

rs8099917 و ژنوتیپ CC در موقعیت rs12979860 پاسخ خوبی به درمان استاندارد با داروی Peg/Ribavirin نمی دهند. به دلیل اهمیت پلی مورفیسیم های 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 می دهند که فراوانی مردان در گروه بیمار نسبت به زنان افزایش قابل ملاحظه ای 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، می تواند متفاوت باشد. با وجود این که نمونه گیری به صورت کاملاً تصادفی انجام شد، اما

عوامل مختلفی در استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C نقش دارند که زمینه ژنتیکی نقش کلیدی در استعداد ابتلا به این عفونت ایفا می کند. پلی مورفیسیم های تک نوکلئوتیدی به عنوان شایع ترین و موثرترین فاکتور ژنتیکی در بهبود یا ابتلا به بیماری های عفونی شناخته شده اند. سایتوکاین IL-28B که از ژن IL-28B تولید می شود، نقش کلیدی در ایمنی ذاتی در پاسخ های ضد ویروسی علیه HCV ایفا می کند. این سایتوکاین از سلول های عرضه کننده آنتی ژن و در پاسخ به پروتئین های ویروسی و یا آگونیست های TLR تولید می شود. مطالعات نشان داده اند که افراد مبتلا به عفونت هپاتیت C دارای ژنوتیپ GG در پلی مورفیسیم تک نوکلئوتیدی

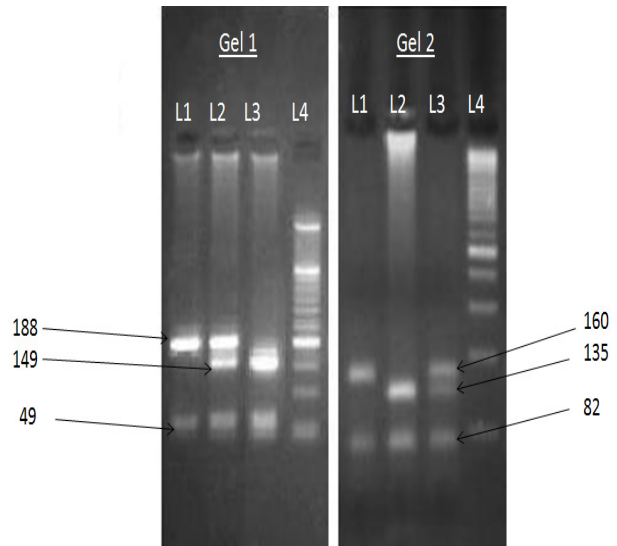
که در این مطالعه بیشترین میزان فراوانی مربوط به rs12979860CC است (۱۹). اما با مطالعه شرفی و همکارانش که در آن ژنوتیپ CT بیشترین توزیع را دارد متفاوت است و تنها توزیع ژنوتیپ در گروه زنان مشابه نتایج شرفی و همکارانش است، به طوریکه در این مطالعه، در گروه زنان ژنوتیپ CT به طور معنی داری ژنوتیپ غالب بود (۲۱).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

از این مطالعه نتیجه گیری می شود ژنوتیپ GG مرتبط با پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs8099917 ژن اینترلوکین 28B با استعداد ابتلا به عفونت هیپاتیت C مزمن در ارتباط است. همچنین ژنوتیپ های CT و TT در موقعیت rs12979860 نیز استعداد ابتلا به عفونت هیپاتیت C را در گروه زنان افزایش می دهند. لذا به نظر می رسد که با توجه به اهمیت پلی مورفیسم های 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 پلی مورفیسم های IL28B می تواند رهگشا و کمک کننده برای سایر مطالعات در زمینه بیماری هیپاتیت C و عفونت های ویروسی دیگر باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گرفت. از کلیه کارکنان پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد که در راستای انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، بی نهایت قدر دانیم.

نوع نمونه گیری می تواند تاثیرگذار باشد. احتمالاً الگوهای متفاوت زندگی اجتماعی مردان و زنان در جمعیت ایرانی نیز می تواند در میزان ابتلای بیشتر مردان به عفونت هیپاتیت C مزمن نقش داشته باشد.



شکل ۱. ژل ۱ قطعات برش خورده rs8099917 را نشان می دهد که در چاهک L1 ژنوتیپ هموزیگوت TT، در چاهک L2 هتروزیگوت TG و در چاهک L3 هموزیگوت GG مشاهده می شود. در چاهک L4 مارکر ۵۰ استفاده شده است. ژل ۲ قطعات برش خورده rs12979860 را نشان می دهد 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. ژنوتیپ های TG و GG از نظر فراوانی به دنبال ژنوتیپ TT قرار داشتند. ژنوتیپ GG در جمعیت بیمار به طور کلی افزایش معنی داری یافت و احتمالاً این ژنوتیپ در ابتلا به عفونت هیپاتیت 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

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-Gómez 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, Cheraghpour 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, 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- λ 3 (IL-28B) Allele Polymorphism in Iranian Population. *Arak University of Medical Sciences Journal* 2013; 16:1-9.
21. Sharafi H, Pouryasyn 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.