مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره شانزدهم/ بهار ۱۳۹۰/ ۱۹-۱۰

تأثیر پلی مورفیسم ناحیه غیر کد کننده ژن زیر واحد P40 پروتئین اینترلوکین ۱۲ در عفونت مزمن هپاتیت C

پدرام عظیم زاده[۱]، سیدرضا محبی[۲]، سارا رومانی[۳]، حامد ناقوسی[۳]، محسن واحدی[۴]، شبنم کاظمیان[۵]، فرامرز درخشان[۶]، محمدرضا زالی[۷]

۱- کارشناس ارشد علوم سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- دکتری تخصصی ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران (مؤلف مسؤول)

تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۲۵۱۴ srmohebbi@rigld.ir

۳- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ، تهران، ایران

۴- دانشجوی دکتری آمار زیستی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- کارشناس علوم سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۶- دانشیار مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۷- استاد مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: اینگونه به نظر می‌رسد که تولید مقادیر غیر معمول انواع سایتوکاین طی عفونت هپاتیت C با پیشرفت بیماری، حضور ویروس در بدن میزبان و ایجاد بیماری مزمن همبستگی دارد. اینترلوکین ۱۲ بعنوان یک هتروداِیمر که نقش تنظیم پاسخ سیستم ایمنی را دارد، در پیشرفت پاسخ ایمنی به سوی T یاور ۱ از اهمیت ویژه برخوردار است. در این مطالعه، به بررسی نقش پلی مورفیسم جایگاه غیر ترجمه‌ای ′۳ ژن زیرواحد p40 اینترلوکین ۱۲ در حساسیت افراد به عفونت مزمن هپاتیت C پرداخته شد.

روش بررسی: در مجموع ۱۲۶ بیمار مبتلا به عفونت مزمن هپاتیت C و ۱۳۶ داوطلب دهنده خون سالم برای پلی مورفیسم جایگاه ۱۱۸۸ ژن زیرواحد p40 اینترلوکین ۱۲ تعیین ژنوتیپ شدند. تعیین ژنوتیپ با تکثیر DNA ژنومی افراد مورد مطالعه بروش PCR و متعاقب آن هضم آنزیمی با روش RFLP انجام گردید. برای تأیید نتایج، ۱۰ درصد نمونه‌ها بروش تعیین توالی مستقیم تعیین ژنوتیپ شدند.

یافته‌ها: از نظر توزیع فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم مورد بررسی در ژن اینترلوکین ۱۲، ارتباط معناداری میان دو گروه بیماران هپاتیت C مزمن و افراد شاهد سالم یافت نشد.

نتیجه‌گیری: هیچگونه همبستگی میان پلی مورفیسم ژن زیر واحد P40 پروتئین اینترلوکین ۱۲ و هپاتیت C مزمن مشاهده نشد. نتیجه‌گیری ما در این مطالعه می‌تواند از لحاظ بررسی عوامل مؤثر بر تولید اینترلوکین ۱۲ و اثر متعاقب آن بر حساسیت افراد جمعیت ایرانی نسبت به عفونت مزمن هپاتیت C حائز اهمیت باشد.

کلید واژه‌ها: هپاتیت C مزمن، پلی مورفیسم، اینترلوکین ۱۲

وصول مقاله: ۸۹/۵/۲۵ اصلاحیه نهایی: ۸۹/۱۰/۶ پذیرش مقاله: ۸۹/۱۱/۷

مقدمه

در بررسی عفونتهای ویروسی مزمن مانند هپاتیت نوع C، زمینه ژنتیکی فرد میزبان اثر قابل تأملی بر نوع پاسخ در برابر عفونت اولیه و عوارض بالینی ناشی از مزمن شدن بیماری در فرد می‌گذارد. تولید یا ترشح سایتوکاین‌ها نیز بعنوان عوامل اجرائی سیستم ایمنی، در نوع و شدت مقابله بدن با پاتوژنهای ویروسی مؤثر است (۱). با توجه به نقش ثابت شده سایتوکاین‌ها در تکثیر،

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]

تمایز و فعال شدن عملکرد سلول‌های ایمنی، تفاوتهای فرد به فرد موجود در جمعیت از نظر میزان تولید یا ترشح سایتوکاین‌ها از سلول مولد آن، می‌تواند باعث ایجاد پاسخ متفاوت افراد آن جمعیت در برابر یک عامل عفونی شود (۲). از جمله عوامل تفاوت میان افراد در هر جمعیت تغییرات ایجاد شده در سطح ژن می‌باشد که بر افزایش حساسیت نسبت بروز یا پیشرفت بیماریهای عفونی تأثیرگذار است (۳). شکل فعال اینترلوکین ۱۲ از دو زیر واحد تشکیل شده است که ژن کد کننده هرکدام در کروموزومی جداگانه قرار دارد (زیرواحد p35 در کروموزوم ۳ و زیرواحد p40 در کروموزوم ۵) و نقش اصلی ترشح شکل فعال از سلول ها را زیرواحد p40 بر عهده دارد در نتیجه می‌توانیم اثر ضد ویروسی سایتوکاین را بیشتر با میزان تولید بخش p40 مرتبط بدانیم (۶-۴).

اینترلوکین ۱۲ در پاسخ به عفونتهای ویروسی اهمیت ویژه‌ای دارد، زیرا بیان آن در هنگام بروز عفونت باعث تنظیم پاسخ ایمنی ذاتی و تعیین نوع پاسخ اعم از T یاور ۱ یا ۲ و همچنین طول مدت پاسخ ایمنی اکتسابی می‌گردد (۷ و۶). بر خلاف زیرواحد p35 که از طیف وسیعی از سلول‌های بدن ترشح می‌شود، تولید زیر واحد p40 این سایتوکاین که توسط ژن IL-12B کد می‌گردد، محدود به چند نوع سلول خاص از قبیل مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتی سیستم ایمنی است و برای مقابله با آلودگی ویروسی، در کنار پیشبرد ایمنی به سمت T یاور ۱، بیان اینترفرون گاما توسط سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی را تحریک و فعال شدن سلول‌های T سیتوتوکسیک و سلول‌های کشنده طبیعی را تحریک می‌نماید (۹و۸). در مجموع این سایتوکاین نقش اساسی در مقابله با پاتوژن‌های درون سلولی اعم از باکتری، انگل و بویژه انواع ویروسها دارد. دلیل این ویژگی نیز تأثیر مستقیم از بین رفتن تعادل پاسخ‌های T یاور ۱ و ۲ بر پاتوژنیسیته عفونتهای ویروسی مزمن است (۱۱و۱۰). حتی در عفونت HIV نیز اینترلوکین ۱۲ می‌تواند با عملکرد خود تا حدودی نقص پاسخ ایمنی سلول‌های T را تصحیح کند (۱۲).

با توجه به اهمیت اینترلوکین ۱۲ در مقابله سیستم ایمنی با آلودگی ویروسی و گواهی برخی مطالعات بر این مدعا که اینترلوکین ۱۲ مهمترین سایتوکاین سیستم ایمنی در عفونتهای ویروسی مزمن است، و در نظر گرفتن این زمینه علمی که زیرواحد p40 در پاکسازی بدن از ویروس‌های مهاجم بواسطه عملکرد این سایتوکاین نقش اصلی را ایفا می‌کند، این احتمال وجود دارد که تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌ها که ناشی از تغییرات ژنی از قبیل پلی مورفیسم‌ها می‌باشد، بر تولید و عملکردهای ایمنی سایتوکاین تولید شده اثرگذار باشد و در نهایت باعث تفاوت میان افراد در مقابله با عفونتها گردد (۱۳). همچنین با اتکاء به مطالعه فالتی و همکاران بر روی مقایسه ژنوتیپ یک سایتوکاین بین افراد واجد عفونت مزمن و افراد دارای عفونت مزمن پیشرفته به سمت سیروز کبدی که در آن رابطه معنی‌داری میان تغییرات ژنی سایتوکاین TGF-β و پیشرفت عفونت مزمن به سمت سیروز یافتند (۱۴)، و با توجه به اینکه در بین افراد مبتلا به هپاتیت C مزمن وارد شده به این مطالعه گروهی وجود دارند که بیماری مزمن آنها به سمت سیروز کبدی پیشرفت کرده است، ممکن است مقایسه تنوع ژنوتیپی ژن زیرواحد P40 سایتوکاین اینترلوکین ۱۲ میان این دو گروه از موردها هم مورد توجه قرار گرفته است. هدف این مطالعه، بررسی تأثیر پلی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]

مورفیسم جایگاه غیر ترجمه شونده ′۳ ژن کدکننده این زیرواحد بر عفونت مزمن هپاتیت C می‌باشد.

روش بررسی

جمعیت مورد مطالعه

این مطالعه با طراحی کوهورت - تاریخی و با روش نمونه‌گیری از نمونه‌های در دسترس افراد مراجعه‌کننده به بخش گوارش و کبد بیمارستان طالقانی تهران، بر روی ۱۲۶ بیمار مبتلا به عفونت مزمن هپاتیت C و ۱۳۶ فرد شاهد سالم انجام شد. برای تشخیص عفونت مزمن هپاتیت C از آزمایش الایزای آنتی بادی ضد HCV استفاده شد و افراد دارای پاسخ مثبت وارد گروه بیماران شدند. افراد گروه شاهد نیز از داوطلبان اهداء خون واجد پاسخ منفی برای آزمایش مذکور انتخاب گردیدند و همسان سازی سن و جنس در نمونه‌ها صورت نگرفت.

استخراج DNA ژنومی و تعیین ژنوتیپ

برای استخراج DNA ژنومی مورد نیاز برای مراحل بعدی، از هر فرد در لوله جداگانه حاوی EDTA به حجم ۴ میلی لیتر خون محیطی گرفته شد و برای خالص سازی از پروتکل استاندارد فنل- کلروفرم استفاده گردید. روشPCR-RFLP بر اساس مطالعه هافمن و همکاران (۱۵) برای تعیین ژنوتیپ افراد دو گروه بیمار و شاهدهای سالم انتخاب شد. در ابتدا تکثیر انتهای ′۳ ژن 12b با واکنش زنجیره پلیمراز و پرایمرهای اختصاصی و دستگاه ترموسایکلر اتوماتیک (Eppendorf آلمان) انجام شد. مقدار ۱۰۰ نانوگرم DNA الگو به مخلوط واکنش حاوی ۲/۵ میکرولیتر بافر دارای $MgCl_2$ و ۰/۵ میکرولیتر از مخلوط حاوی ۰/۲ میلی مولار از هر dNTP و ۲/۵ واحد آنزیم Taq پلیمراز (Fermentas بلاروس) و ۱۰ پیکومول از هر پرایمر (Sigma آلمان) اضافه گردید. در برنامه واکنش واسرشت شدن اولیه در دمای ۹۶ درجه بمدت ۵ دقیقه، واسرشت شدن اول هر چرخه هم مشابه بار اول به مدت ۳۰ ثانیه صورت گرفت. چرخه واکنش با ۳۰ ثانیه در دمای ۵۸/۴ درجه سانتی‌گراد ادامه یافت و در انتها نیز برای ساختن محصول توسط Taqپلیمراز بر روی ۴۵ ثانیه و دمای ۷۲ درجه تنظیم شد. این چرخه ۳ مرحله‌ای ۳۹ بار تکرار گشت. محصول واکنش، تحت هضم با آنزیم محدودکننده TaqI(Fermentas بلاروس) قرار گرفت و قطعات RFLP بر روی ژل۲ درصد آگارز (Roche آلمان) آشکار شد.

تعیین توالی مستقیم با روش خاتمه زنجیره (Chain Termination)

برای تأیید نتایج حاصل از روش RFLP، نمونه DNA مربوط به ۱۵ نمونه از هر گروه از افراد وارد شده به مطالعه، علاوه بر هضم آنزیمی (RFLP)، توسط دستگاه Capillary Electrophoresis (ABI امریکا) در بخش تعیین توالی مرکز تحقیقات گوارش و کبد، با استفاده از پرایمر مستقیم تعیین ژنوتیپ گردید.

روش‌های آماری

نتایج مربوط به دو گروه مواجه و شاهد و همچنین دو گروه مزمن و مزمن پیشرفته به سمت سیروز در بین گروه مواجه، جداگانه آنالیز شدند. اطلاعات بدست آمده از تعیین ژنوتیپ افراد دو گروه مورد مطالعه، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در آنالیز نتایج و آنالیز توصیفی از فراوانی، درصد فراوانی و شاخص مرکزی میانگین و در آنالیز تحلیلی از تست آماری مربع کای (Chi-square) استفاده شد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]

یافته‌ها

پس از انجام مراحل PCR محصول به طول ۴۲۱ جفت باز بدست آمد. تعیین ژنوتیپ ژن زیرواحد P40 اینترلوکین ۱۲ در افراد بیمار و شاهد وارد شده به مطالعه با روش چند شکلی طولی قطعات محدود شونده یا RFLP انجام گردید. در تصویر ۱ ژل آگارز حاوی محصولات هضم آنزیمی مشاهده می‌شود. بر اثر هضم آنزیمی محصول PCR در افراد هموزیگوت A یک قطعه ۴۲۱ جفت بازی (محصول PCR برش نخورده)، در افراد هموزیگوت C دو قطعه ۲۵۹ و ۱۵۲ جفت بازی و در افراد هتروزیگوت سه قطعه ۴۲۱، ۲۵۹ و ۱۵۲ جفت بازی مشاهده گردید (تصویر ۲). پس از اتمام مراحل آزمایشگاهی طراحی شده، نتایج در دو سطح توزیع ژنوتیپی و توزیع آللی بین دو گروه مورد مطالعه مقایسه و ارتباط میان آنها سنجیده شد.

فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم جایگاه ۱۱۸۸ واقع در انتهای غیر ترجمه شونده ژن زیرواحد P40 اینترلوکین ۱۲ در دو گروه مطالعه حاضر، بترتیب AA(٤٨/٤٪)، CA(٤٣/٧٪) و CC(٧/٩٪) برای بیماران و AA(٥٩/٦٪)، CA(٣٣/١٪) و CC(٧/٤٪) برای شاهدها تعیین گردید. در فاز دوم مقایسه اطلاعات نیز توزیع آلل‌های A و C در بیماران و شاهدها بررسی و مقادیر آنها به ترتیب (۷۰/۲۴٪ و ۲۹/۷۶٪) و (۷۶/۱٪ و ۲۳/۹٪) برای دو گروه ثبت گردید. محاسبات آماری نشان داد که رابطه معنی‌داری بین دوگروه بیمار و شاهد سالم از لحاظ پراکنش ژنوتیپی و آللی وجود ندارد.

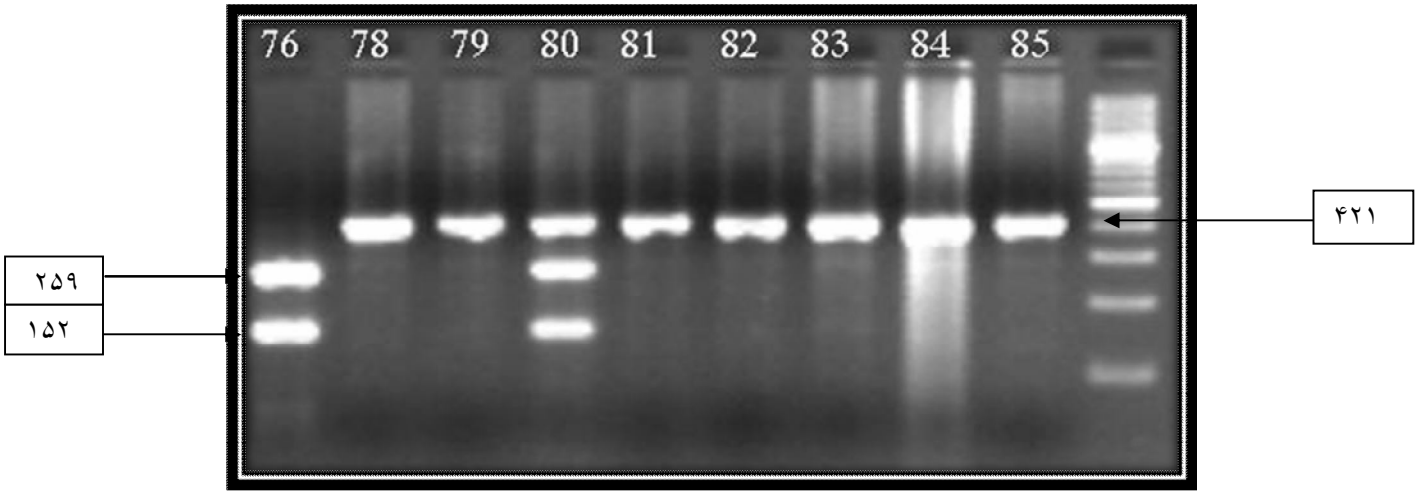
در بین ۱۲۶ بیمار هپاتیت C مزمن وارد شده به مطالعه حاضر، ۲۹ نفر معادل ۲۳ درصد، واجد عفونت پیشرفته سیروز بودند و در ۹۷ نفر مابقی بیماران عفونت مزمن ادامه داشت، که از نظر توزیع ژنوتیپی تفاوت معنی‌دار آماری نداشتند. برای کسب درک دقیق‌تری از تنوع این جایگاه پلی مورفیسم، داده‌های ژنتیکی مربوط به افراد تحت مطالعه بر اساس جنسیت تفکیک و آنالیز گردید و تفاوت معنی داری بین آلل‌ها و ژنوتیپ‌های دو دسته از نظر آماری، مشاهده نگردید. توزیع انواع ژنوتیپ‌ها به تفکیک جنس و همچنین نوع عوارض کبدی در بیماران در جدول ۱خلاصه شده است.

نتایج تعیین توالی مستقیم ژن زیرواحد P40 اینترلوکین ۱۲ به روش Chain Termination، تعیین ژنوتیپ‌ها بروش RFLP را تأیید کرد. در تصویر ۳ نمونه‌ای از توالی محصول دستگاه ژنتیک آنالیزر مشاهده می‌شود. نتایج تحلیل آماری با نرم افزار Michael H. Court بر روی ژنوتیپ‌های تعیین شده در هر دو جایگاه پلی مورفیسم نشانگر این موضوع بود که در هر دو گروه بیمار و شاهد، فراوانی آلل‌ها در تعادل هاردی- واینبرگ قرار دارد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]

جدول ۱: توزیع ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم جایگاه ۱۱۸۸ ژن IL-12b به تفکیک جنس و نوع عارضه بالینی

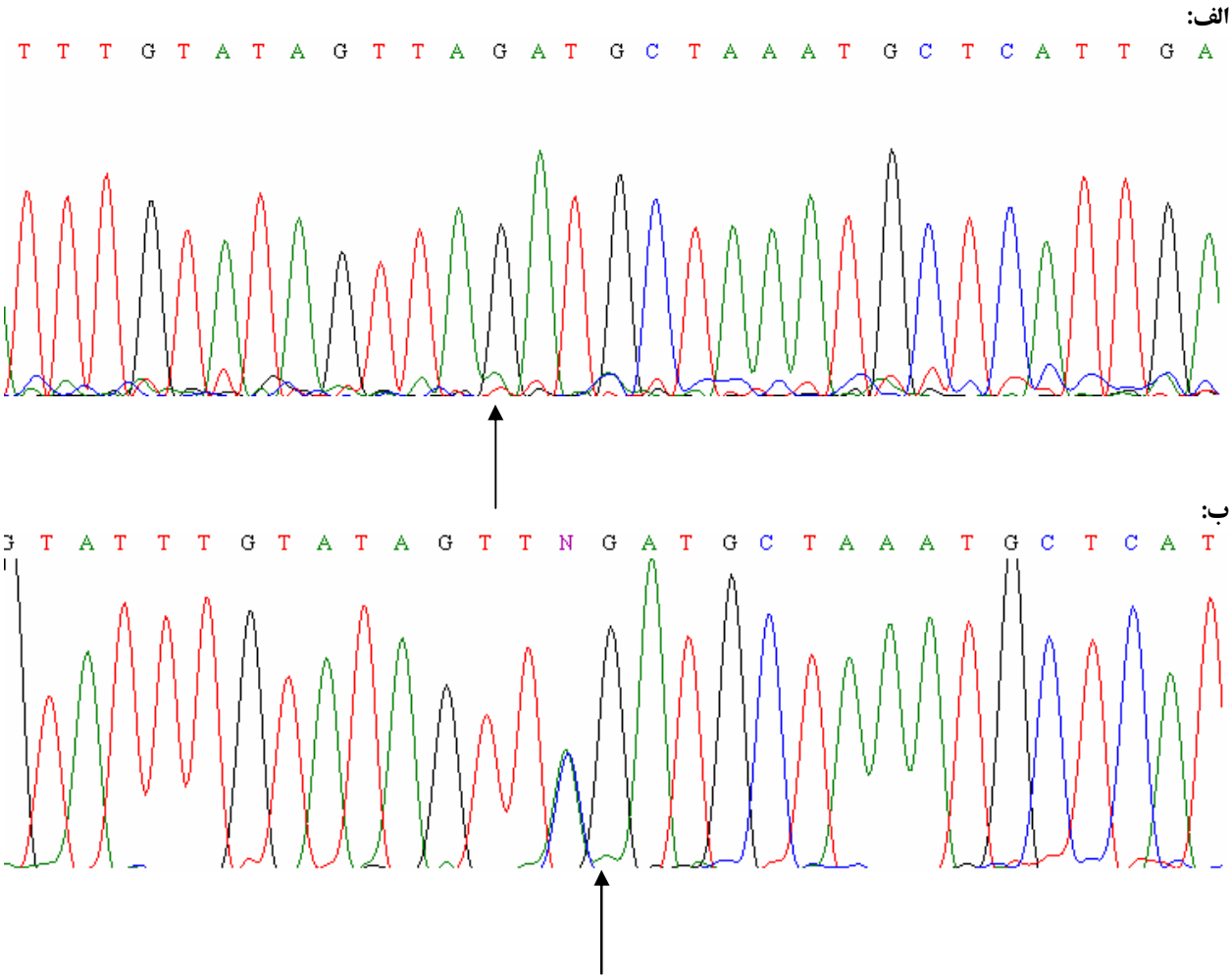
گروه	زیر گروه	ژنوتیپ			P Value
		هموزیگوت C	CAهتروزیگوت	Aهموزیگوت	
مرد	شاهد	٦(٪٨/٧)	٢٥(٪٣٦/٢)	٣٨(٪٥٥/١)	٠/٢١٧
	بیمار	٦(٪٥/٩)	٤٤(٪٤٣/١)	٥٢(٪٥١)	
زن	شاهد	٤(٪٦)	٢٠(٪٢٩/٩)	٤٣(٪٦٤/٢)	
	بیمار	٤(٪١٦/٧)	١١(٪٤٥/٨)	٩(٪٣٧/٥)	
مزمن	بیمار	١٠(٪١٠/٣)	٤٠(٪٤١/٢)	٤٧(٪٤٨/٥)	٠/١٦٩
سیروز	بیمار	٠(٪٠/٠)	١٥(٪٥١/٧)	١٤(٪٤٨/٣)	
کل	شاهد	١٠(٪٧/٤)	٤٥(٪٣٣/١)	٨١(٪٥٩/٦)	٠/١٧٩
	بیمار	١٠(٪٧/٩)	٥٥(٪٤٣/٧)	٦١(٪٤٨/٤)	



تصویر ۱: ژل آگارز ۲٪ حاوی محصولات هضم آنزیمی

الف) شماره ۷۶ مربوط به ژنوتیپ هموزیگوت CC که دو باند با طول‌های ۲۵۹ و ۱۵۲ جفت باز مشاهده می‌شود، ب) شماره ۸۰ مربوط به ژنوتیپ هتروزیگوت CA که سه باند به طول‌های ۴۲۱، ۲۵۹ و ۱۵۲ جفت باز مشاهده می‌شود، ج) شماره ۷۸،۷۹،۸۱،۸۲،۸۳،۸۴ و ۸۵ مربوط به ژنوتیپ هموزیگوت AA که فقط یک باند PCR برش نخورده به طول ۴۲۱ جفت باز مشاهده می‌شود، د) ردیف سمت راست ژل مربوط به سایز ماکر ۱۰۰ جفت باز می‌باشد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]



تصویر ۲: نتایج تعیین توالی مستقیم ژن اینترلوکین ۱۲.

قسمت (الف) توالی ژن اینترلوکین ۱۲ در فرد دارای ژنوتیپ هموزیگوت AA برای جایگاه ۱۱۸۸. در جایگاه مشخص شده با پیکان در این فرد فقط یک پیک مشاهده می‌شود که مربوط به آلل A می‌باشد.

قسمت (ب) توالی ژن اینترلوکین ۱۲ در فرد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت CA برای جایگاه ۱۱۸۸. در جایگاه مشخص شده با پیکان دو پیک مشاهده می‌شود که یکی مربوط به آلل C و دیگری مربوط به آلل A می‌باشد. حرف N نشان دهنده وجود همزمان دو آلل (حالت هتروزیگوت) در نمونه است.

بحث و نتیجه‌گیری

در افراد مبتلا به عفونت هپاتیت C، پاکسازی عفونت از دو مسیر خود به خودی و یا در پاسخ به درمان داروئی حاصل می‌شود و در نیمی از موارد تحت درمان با اینترفرون، ویروس از خون میزبان پاک می‌گردد (۱۷و۱۶). اما پاکسازی خودبخودی از عفونت بسیار نادر اتفاق می‌افتد (۱۸). در چندین مطالعه بر روی بیماران درگیر عفونت هپاتیت C مشخص شده است که برای ایجاد هر دو نوع مکانیسم ذکر شده برای پاک شدن ویروس از فرد آلوده، باید پاسخ ایمنی میزبان به سمت T یاور ۱ پیشرفت کند (۲۲-۱۹). با توجه به اینکه عامل تنظیم‌کننده اصلی تعادل میان پاسخ‌های ایمنی T یاور ۱ و T یاور ۲ سایتوکاین التهابی، اینترلوکین ۱۲ است، تغییرات میزان بیان این پروتئین می‌تواند بر نوع و شدت پاسخ ایمنی در برابر هپاتیت ویروسی نوع C اثر گذار باشد (۲۳). جایگاه ۱۱۸۸ ژن اینترلوکین ۱۲ در توالی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]

غیر ترجمه شونده انتهای ′۳ زیرواحد B (P40) واقع شده است و پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی C>A در این ناحیه باعث تغییر اسید آمینه یا تغییر ساختاری پروتئین نمی‌گردد، لیکن در چندین مطالعه نقش ناحیه ′۳ در انتهای RNA پیامبر پیش ساز پروتئین‌ها، بر تنظیم میزان بیان ژن ثابت شده است (۲۵ و۲۴). با توجه به این فرض که تولید بالای اینترلوکین ۱۲ باعث ایجاد یک پاسخ اولیه ایمنی سلولی مؤثر بر علیه آلودگی ویروسی می گردد و می‌توانیم این سایتوکاین را در برابر عفونت هپاتیت C مزمن محافظت کننده بدانیم و این فرض که حضور آلل C در جایگاه تنظیمی ۱۱۸۸ باعث افزایش تولید سایتوکاین می‌شود، انتظار می‌رود ژنوتیپ CC و CA در افراد مبتلا به عفونت مزمن که نتوانسته‌اند با پاسخ اولیه قوی ویروس را پاک کنند، کمتر مشاهده گردد (۲۶). کرمپ و همکاران در سال ۲۰۰۸ بررسی در جمعیت انگلستان با هدف یافتن زمینه‌های ژنتیکی برای محافظت از افراد در برابر عفونت هپاتیت ویروسی نوع C انجام دادند. ۷۶ نفر موردهای این مطالعه، افراد در معرض آلودگی با ویروس بودند. در مقایسه این افراد با شاهدهای سالم، این نتیجه حاصل شد که افراد حامل آلل C و ژنوتیپ CC در بین افراد پاک کننده عفونت، بیشتر هستند و این محققان آلل C را بعنوان فاکتور ژنتیکی مقاومت در برابر عفونت هپاتیت C ویروسی معرفی کردند (۲۶). در مطالعه سونیتا و همکاران در جمعیت هند در سال ۲۰۰۶ نیز بیماران هپاتیت C و افراد شاهد بر اساس ژنوتیپ های AA، AC و CC مقایسه شدند و اختلاف معنی‌دار آماری میان ژنوتیپ‌های مختلف در دو گروه وارد شده به مطالعه یافت نشد (۲۷). ین و همکاران در جمعیت چین بر روی احتمال اثر پلی مورفیسم جایگاه ۱۱۸۸ ژن اینترلوکین ۱۲ زیر واحد p40 بر مزمن شدن بیماری و عدم خود محدود شوندگی عفونت ویروسی هپاتیت C بررسی انجام دادند و در نهایت با وجود اینکه از نظر توزیع آللی میان دو گروه خود محدود شده و بیماران مزمن اختلاف معنی‌داری یافت نشد، توانستند ژنوتیپ CA را بعنوان عامل افزایش و ژنوتیپ AA را بعنوان عامل کاهش محدود شدن خودبخودی آلودگی ویروسی معرفی کنند و در مجموع این پلی مورفیسم را با هپاتیت C کاملا″ مرتبط نشان دادند (۲۵). موراهان و همکاران در سال ۲۰۰۱ از تأثیر مستقیم آلل A این پلی مورفیسم بر افزایش میزان تولید سایتوکاین سخن به میان آورده‌اند (۲۸)، که با بعضی مطالعات دیگر که توسط ین (۲۵) و کرمپ (۱۹) انجام شده مغایرت دارد. مولر و همکاران در سال ۲۰۰۴ در جمعیت آلمان، به بررسی همبستگی دو پلی مورفیسم ژن IL12B با استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت C مزمن و در کنار آن، میزان پاسخ بیماران به درمان پرداختند. از نظر پلی مورفیسم C/A ۱۱۸۸ تفاوت معنی‌داری بین گروهی که عفونت در آنها مزمن شده بود و افراد شاهد سالم گزارش نکردند (۲۹).

جستجوی ما مشخص کرد که تا به حال مطالعه‌ای در زمینه ارتباط تنوع ژنی اینترلوکین ۱۲B که کد کننده زیرواحد p40 اینترلوکین ۱۲ است، با عفونت هپاتیت C در جمعیت ایرانی انجام نشده و این مطالعه اولین بررسی بر روی همبستگی احتمالی ژنوتیپ‌های مختلف این ژن با حساسیت افراد نسبت به ایجاد عفونت مزمن هپاتیت C در این جمعیت می‌باشد. برای تعمیم یافته‌های پیشین در باره تأثیر زمینه ژنتیکی میزبان بر هپاتیت ویروسی C به جمعیت ایرانی درگیر عفونت، و دریافتن این موضوع که آیا وجود آللی خاص در این جایگاه ژنی، بر مقاومت افراد در برابر تثبیت عفونت ومزمن شدن آن در میزبان

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]

تأثیر دارد، در مطالعه حاضر، مورد ها از میان مبتلایان ایرانی عفونت مزمن هپاتیت C انتخاب شدند و توزیع ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم جایگاه ۱۱۸۸ ژن زیرواحد P40 اینترلوکین ۱۲ آنها با افراد شاهد سالم هم نژاد مقایسه گردید. نتایج مطالعه حاضر نیز نشانگر فراوانی بیشتر ژنوتیپ AA در مبتلایان به هپاتیت C در مقایسه با افراد شاهد سالم مزمن است و همچنین ژنوتیپ CA در بیماران هپاتیت C نسبت به افراد شاهد سالم فراوانی کمتری نشان می‌دهد، که با چندین مورد از بررسی های پیشین هم راستا بوده (۲۹و۲۶و۲۵) و با برخی نتایج نیز اختلاف زیادی نشان می‌دهد (۲۸) و در هر حال تفاوت میان دو گروه بیمار و شاهد در مطالعه حاضر با معیار آماری CI برابر ۹۵٪ معنی‌دار نبود (جدول ۱).

در جمعیت ایران مطالعات دیگری نیز در زمینه ارتباط این پلی مورفیسم با چند بیماری صورت گرفته است. از این جمله مطالعه امیرزرگر و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی بیماری نقص سیستم ایمنی ام اس (۳۰) که در نتیجه آن ژنوتیپ AA در بیماران افزایش و ژنوتیپ CA در این گروه کاهش نشان داد و این محققان با استناد به مطالعه مشابه قبلی (۳۱)، بر نقش ژنوتیپ AA در افزایش حساسیت افراد نسبت به ام اس در جمعیت ایران تأکید کردند. این محققان در مطالعه جامعی که در سال ۲۰۰۵ بر روی پلی مورفیسم‌های چندین سایتوکاین در افراد ایرانی درگیر لوسمی میلوژن انجام دادند، ارتباط معنی‌داری میان پلی مورفیسم ۱۱۸۸ ژن زیرواحد P40 اینترلوکین ۱۲ با خطر بیماری گزارش نکردند (۳۲). در مطالعاتی از این قبیل که بر روی همبستگی آللی و ژنوتیپی با یک بیماری و یا حتی با نوع خاصی از عوارض جانبی یک بیماری انجام می‌گردد، دو فاکتور تفاوت نژادی و تفاوت جمعیتهای مورد مطالعه که بر شرایط زندگی آن جمعیت هم اثرگذار هستند، باید به عنوان عوامل ناهمگونی نتایج تعیین ژنوتیپ مد نظر قرار داشته باشند و این اختلاف مشاهده شده در نژاد های مختلف و یا حتی چند جمعیت مورد مطالعه از یک نژاد بدین طریق توجیه می‌گردد (۳۶ و ۳۵-۳۳).

نتیجه‌گیری

زیر واحد p40 اینترلوکین ۱۲ در ایجاد پاسخ ایمنی سلولی از نوع T یاور ۱ و با القاء تولید اینترفرون گاما، بر علیه عفونتهای ویروسی اهمیت دارد و بعضی بررسی‌ها نشان از تولید بیشتر آن در حضور آلل C در جایگاه ۱۱۸۸ ژن دارند (۹ و۸). در مقایسه بیماران مطالعه حاضر با افراد سالم، ژنوتیپ AA افزایش و ژنوتیپ CA کاهش داشت که این امر می‌تواند احتمالاً به دلیل تولید کمتر سایتوکاین در این افراد پیش از آلودگی با ویروس بدلیل زمینه ژنتیکی، و در نتیجه عدم ایجاد پاسخ اولیه قوی در مواجهه با عفونت ویروسی هپاتیت C و در نهایت باقیماندن ویروس در بدن برای ایجاد عفونت مزمن، باشد.

تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به انجام رسید. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از همکاران محترم گروه کبد مرکز تحقیقات، بویژه آقای حامد خرسند برای ثبت نرم افزاری اطلاعات بیماران، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]

References

1. Pereira FA, Pinheiro da Silva NN, Ferreira Rodart I, Mauadie Azevedo Carmo T, Carneiro Lemaire D, Galva o Reis M. Association of TGF-b1 Codon 25 (G915C) polymorphism with hepatitis C virus infection. J Med Virol 2008; 80:58–64.
2. Hill AVS. Genetics and genomics of infectious disease susceptibility. Br Med Bull 1999; 55:401–13.
3. Goyal A, Kazim SN, Sakhuja P, Malhotra V, Arora N, Sarin SK. Association of TNF-b polymorphism with disease severity among patients infected with hepatitis C virus. J Med Virol 2004; 72:60–65.
4. Suneetha PV, Goyal A, Hissar SS, Sarin SK. Studies on TAQ1 polymorphism in the 3'untranslated region of IL-12P40 gene in HCV patients infected predominantly with genotype 3. J Med Virol 2006; 78:1055–60.
5. Hoelscher C. The power of combinatorial immunology: IL-12 and IL-12-related dimeric cytokines in infectious diseases. Med Microbiol Immunol 2004; 193: 1-17.
6. Watford WT, Moriguchi M, Morinobu A, O'Shea JJ. The biology of IL-12: Coordinating innate and adaptive immune responses. Cytokine Growth Factor Rev 2003; 14:361-8.
7. Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. Nature Rev Immunol 2003; 3: 133-6.
8. Gazzinelli R, Wysocka S, Denkers H, Hieny S, Caspar P, Trinchieri G, and et ak. Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-gamma synthesis and resistance during acute infection with toxoplasma gondii. J Immunol 1994; 153: 2533-43.
9. D'Andrea A, Rengaraju M, Valiante NM, Chehimij J, Kubin M, Aste M. Production of natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12) by peripheral blood mononuclear cells. J Expl Med 1992; 176: 1387-9.
10. Trinchieri G, Scott P. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions. Res Immunol 1995; 146:423–31.
11. Zhang M, Gately, Wang J, Wolf G, Lu S, Modlin R, and et al. Interleukin 12 at the site of disease in tuberculosis. J Clin Invest 1994; 93:1733–9.
12. Clerici M, Lucey DR, Berzofsky JA, Pinto LA, Wynn TA, Blatt SP, and et al. Restoration of HIV-specific cell-mediated immune responses by interleukin-12 in vitro. Science 1993; 262: 1721-4.
13. Takei M, Umeyama A, Shoji N, Hashimoto T. Diterpenes drive Th1 polarization depending on IL-12. Int Immunopharmacol 2008; 8: 1602-8.
14. Falleti E, Fabris C, Toniutto P, FontaniniE, Cussigh A, Bitetto D and et al. TGF-b1 genotypes in cirrhosis: Relationship with the occurrence of liver cancer. Cytokine 2008; 44 :256-61.
15. Hoffmann T W, Halimi J M, Büchler M, Velge-Roussel F, Al-Najjar A, Marliere JF. Impact of a polymorphism in the IL-12p40 gene on the outcome of kidney transplantation. Transplantation Proceedings 2009; 41: 654-6.
16. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. Lancet 2001; 358: 958-65.
17. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçales Jr FL, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med 2002; 347:975-82.
18. Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gibble J, Melpolder J, Shakil AO, Viladomiu L, et al. Routes of infection, viremia and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. N Engl J Med 1996; 334:1691-6.
19. Diepolder H, Zachoval R, Hoffmann R, Wierenga E, Santantonio T, Jung MC, et al. Possible mechanism involving T-lymphocyte response to non-structural protein 3 in viral clearance in acute hepatitis C virus infection. Lancet 1995; 346:1006-7.
20. Cramp M, Carucci P, Rossol S, Chokshi S, Maertens G, Williams R, et al. Hepatitis C virus (HCV) specific immune responses in anti-HCV positive patients without hepatitis C viraemia. Gut 1999; 44:424-9.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]

21. Kaplan DE, Sugimoto K, Newton K, Valiga ME, Ikeda F, Aytaman A, et al. Discordant role of CD4 T-cell response relative to neutralizing antibody and CD8 T-cell responses in acute hepatitis C. Gastroenterol 2007; 132:654-66.
22. Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. Nat Rev Immunol 2005; 5: 215-29.
23. Muller-Berghaus J, Kern K, Paschen A, Nguyen X.D, Kluter H, Morahan G, and et al. Deficient IL-12p70 secretion by dendritic cells based on IL12B promoter genotype. Genes and Immunity 2004; 5:431-6.
24. Han W, Kasai S, Hata H, Takahashi T, Takamatsu Y. Intracisternal A-particle element in the 39 noncoding region of the mu-opioid receptor gene in CXBK mice: a new genetic mechanism underlying differences in opioid sensitivity. Pharmacogenet Genomics 2006; 16: 451-60.
25. Ikeda K, Kobayashi T,Ichikawa T, Kumanishi T, Niki H. The untranslated region of (mu)-opioid receptor mRNA contributes to reduced opioid sensitivity in CXBK mice. J Neurosci 2001; 21: 1334-9.
26. Yin LM, Zhu WF, Wei L, Xu XY, Sun DG, Wang YB. Association of interleukin-12 p40 gene 3'-untranslated region polymorphism and outcome of HCV infection. World J Gastroenterol 2004; 10: 2330-3.
27. Hegazy D, Thurairajah P, Metzner M, Houldsworth A, Shaw S, ME Cramp and et al. Interleukin 12B gene polymorphism and apparent resistance to hepatitis C virus infection. Clin Exp Immunol 2008; 152: 538-41.
28. Morahan G, Huang D, Ymer SI, Cancilla MR, Stephen K, Dabadghao P, and et al. Linkage disequilibrium of a type 1 diabetes susceptibility locus with a regulatory IL12B allele. Nat Genet 2001; 27: 218-21.
29. Mueller T, Mas-Marques A, Sarrazin C, Wiese M, Halangk J, Witt H, and et al. Influence of interleukin 12B (IL12B) polymorphisms on spontaneous and treatment-induced recovery from hepatitis C virus infection. J Hepatol 2004; 41: 652-8.
30. Shokrgozar MA, Sarial S, Amirzargar AA, Shokri F, Rezaei N, Arjang Z and et al. IL-2, IFN-γ, and IL-12 gene polymorphisms and susceptibility to multiple sclerosis. J Clin Immunol 2009; 29: 747-51.
31. van Veen T, Crusius JB, Schrijver HM, Bouma G, Killestein J, van Winsen L, and et al. Interleukin-12p40 genotype plays a role in the susceptibility to multiple sclerosis. Ann Neur 2001; 50:275.
32. Amirzargar AA, Bagheri M, Ghavamzadeh A, Alimoghadam K, Khosravi F, Rezaei N and et al. Cytokine gene polymorphism in Iranian patients with chronic myelogenous leukaemia. Int J Immunogenet 2005; 32: 167-71.
33. Bataller R, North KE, Brenner DA. Genetic polymorphisms and the progression of liver fibrosis: a critical appraisal. Hepatology 2003; 37: 493-503.
34. Grimes DA, Schultz KF. Bias and causal associations in observational research. Lancet 2002; 359: 248-52.
35. Cardon LR, Palmer LJ. Population stratification and spurious allele association. Lancet 2003; 361:598-604.
36. de Faria ICJ, de Faria EJ, Adyleia ADC, Toro AADC, Ribeiro JD, Bertuzzo CS. Association of TGF-β1, CD14, IL-4, IL-4R and ADAM33 gene polymorphisms with asthma severity in children and adolescents. J Pediatr (Rio J) 2008; 84: 203-10.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-10]