مقایسه فراوانی ژنوتیپ مطلوب ژن اینترلوکین 28B در افراد سالم و بیماران آلوده به HCV

جواد مویدی[۱]، طیبه هاشم پور[۱*]، زهرا موسوی[۱]، مهرداد حلاجی[۱]، فرزانه قصابی[۱]، ارغوان حاج شیخ الاسلامی۲، شاهین مرآت[۲]

۱) مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۲) مرکز تحقیقات بیماری های کبد، لوزالمعده و مجاری صفراوی، پژوهشکده تحقیقاتی بیماری های گوارشی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۷ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۱۷**

چکیده

مقدمه: درمان عفونت مزمن ویروس هپاتیت C (Hepatitis C virus; HCV) با استفاده از ترکیب دارویی اینترفرون آلفا(Interferon-α; IFN-α) و ریباویرین(Ribavirin; RBV) صورت می گیرد. عوامل مختلفی در میزان پاسخ به درمان بیماران آلوده به HCV نقش دارند که ژنوتیپ و میزان بار ویروس، سن، نژاد، چاقی، مقاومت به انسولین، میزان فیبروز و پلی مورفیسم های ژن اینترلوکین 28B (Interleukin 28B; IL-28B) مهم ترین آن ها هستند. در سال های اخیر مشخص شده است که چندین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی(Single nucleotide polymorphism; SNP) در نزدیکی ژن IL-28B با میزان پاسخ به درمان ترکیبی در ارتباط می باشد که از میان فاکتورهای پیشگویی کننده درمان، پلی مورفیسم های IL-28B در رسیدن به پاسخ پایدار ویروسی نقش مهم تری را نسبت به بقیه ایفا می کنند. در این مطالعه فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم نقطه rs8099917 ژن اینترلوکین 28B در دو گروه افراد ایرانی سالم و آلوده به هپاتیت C از تهران بررسی شده است.

مواد و روش ها: فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم نقطه rs8099917 در ۱۰۵ فرد سالم و ۱۰۵ فرد آلوده به HCV که در فاز مزمن بیماری قرار داشتند با استفاده از تکنیک PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) بررسی شد و نتایج به دست آمده توسط نرم افزار SPSS vol.15 و آزمون $\chi 2$ مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته های پژوهش: فراوانی ژنوتیپی این پلی مورفیسم در افراد سالم GG=۱، GT=۲۵/۷ و TT=۷۳/۳ درصد و در افراد آلوده به هپاتیت C نیز GT=۵۸/۱ و TT=۴۱/۹ درصد است. ژنوتیپ GG در افراد آلوده به HCV تشخیص داده نشد.

بحث و نتیجه گیری: در این مطالعه فراوانی ژنوتیپ های نقطه پلی مورفیسم rs8099917 بین دو جمعیت سالم و آلوده به HCV ایرانی از اختلاف معنی داری برخوردار است و فراوانی ژنوتیپ مطلوب TT در گروه افراد سالم بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: ویروس هپاتیت C، اینترلوکین ۲۸، PCR-RFLP، پلی مورفیسم rs8099917

* نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

Email: thashem@sums.ac.ir

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

ویروس هپاتیت C (HCV) جزء ویروس های RNA دار تک رشته ای مثبت می باشد که در خانواده فلاوی ویریده و جنس هپاسی ویروس قرار دارد. حداقل ۱۷۰ میلیون نفر در دنیا(حدود ۳ درصد) به این ویروس آلوده بوده و یا ناقل آن هستند(۱،۲). سالانه حدود ۳ میلیون نفر از طریق انتقال خون، تزریق دارو و تماس های جنسی به این ویروس آلوده می شوند. بهبود خود به خودی در ۲۰ تا ۲۵ درصد افراد آلوده به عفونت حاد هپاتیت C اتفاق می افتد. در حالی که ۷۰ تا ۷۵ درصد افراد آلوده به این ویروس به سمت عفونت مزمن پیشروی می کنند، ۲۰ تا ۳۰ درصد این افراد به سمت سیروز کبد و در ۱ تا ۴ درصد از بیماران مبتلا به سیروز، عفونت به سمت هپاتوسلولار کارسینوما پیشرفت می کند(۳،۴). درمان عفونت مزمن هپاتیت C با استفاده از ترکیب دارویی اینترفرون آلفا(IFN-α) و ریباویرین (Ribavirin) صورت می‌گیرد که این رژیم دارویی تنها در ۴۰ تا ۶۰ درصد از بیماران مبتلا به ژنوتیپ ۱ هپاتیت C موثر است(۵). عوامل مختلفی در میزان پاسخ به درمان های با پایه اینترفرون نقش دارند که ژنوتیپ و میزان بار ویروس، سن، نژاد، چاقی، مقاومت به انسولین، میزان فیبروز و پلی مورفیسم های ژن اینترلوکین 28B مهم ترین آن ها هستند(۶). مکانیسم دقیق تاثیر پلی مورفیسم ها روی عفونت هپاتیت C و درمان آن ها به طور کامل مشخص نشده است اما تصور می شود که تنظیم ناحیه پروموتر ژن IL-28B در زمان فعالیت ضد ویروسی بر بیان دو ژن دیگر از خانواده اینترفرون لامبدا که در این ناحیه کروموزومی کد می شوند تاثیر می گذارد(۱۱-۷). پلی مورفیسم های rs8099917 و rs12979860 بیشتر از دیگر پلی مورفیسم های ژن اینترلوکین 28B مطالعه شده‌اند. پلی مورفیسم rs8099917 که ۸ کیلو باز بالا دست ژن اینترلوکین 28B قرار دارد به عنوان یکی از قوی ترین عوامل مرتبط با مقاومت در پاسخ به درمان ضد ویروسی افراد آلوده به ژنوتیپ ۱ ویروس هپاتیت C معرفی شده است(۱۲،۱۳). در حالی که افراد دارای ژنوتیپ GG یا افراد هتروزیگوت GT نسبت به درمان از خود مقاومت نشان می دهند افراد دارای ژنوتیپ TT همراه با احتمال بیشتری به سمت پاک سازی خود به خودی ویروس و پاسخ مطلوب به درمان اینترفرون/ریباویرین حرکت می کنند(۱۴). اهمیت این ژنوتیپ ها به حدی زیاد است که در سال ۲۰۱۱، انجمن مطالعه بیماری های کبدی آمریکا(AASLD) و انجمن مطالعه بیماری های کبدی اروپا(EASL) تست IL-28B را در دستورالعمل خود وارد کرده اند(۱۵). داده ها نشان می دهند که بیماران آسیایی و اروپایی دارای ژنوتیپ TT به طور موثرتری به درمان به وسیله اینترفرون آلفا پاسخ می دهند(۱۶) و الل های مطلوب IL-28B که منجر به تولید بیشتر و موثرتر اینترفرون می شوند در جمعیت شرق آسیا از فراوانی قابل توجهی برخوردار می باشند(۱۲). به طور مثال فراوانی ژنوتیپ مطلوب TT پلی مورفیسم rs8099917 در بیماران آلوده به HCV ژاپنی ۷۰ درصد گزارش شده است(۱۷). مطالعات قبلی فراوانی ژنوتیپ مطلوب TT در جمعیت آلوده به HCV ایرانی را ۵۹/۶ درصد گزارش کرده اند(۱۵). محققان بر این باورند که درمان مطلوب باید بر اساس ویژگی های اولیه و یک مسیر درمان هدایت شده باشد که در آن هم فاکتورهای ژنتیکی میزبان و هم فاکتورهای ویروسی در نظر گرفته شوند، بنا بر این ژنوتیپ های اینترلوکین 28B را یک پیشگویی کننده اولیه مهم در نظر می گیرند(۱۷). از این رو هدف این مطالعه بررسی میزان فراوانی ژنوتیپ مطلوب TT در پلی مورفیسم rs8099917 ژن اینترلوکین 28B بین دو جمعیت ایرانی سالم و آلوده به هپاتیت C می باشد.

مواد و روش ها

در این مطالعه که در سال ۱۳۹۴ به صورت مقطعی انجام شده است ۱۰۵ بیمار آلوده به هپاتیت C که برای درمان به مرکز تحقیقات گوارش و کبد بیمارستان شریعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران مراجعه کرده بودند بعد از دریافت رضایت نامه وارد طرح شدند. معیارهای ورود بیماران به مطالعه شامل عدم آلودگی آن ها به ویروس های HBV و HIV و هم چنین عدم وجود مشکلات پیشرفته کبدی مانند سیروز و

هپاتوسلولار کارسینوما بود. علاوه بر آن ۱۰۵ فرد که از نظر ویروس های HBV، HCV و HIV منفی بودند، نیز به عنوان گروه کنترل وارد طرح شدند. از هر فرد بیمار و سالم، ۵ میلی لیتر خون محیطی در لوله های وکیوم حاوی ماده ضد انعقاد EDTA K3 (PASS, EDTA K3) گرفته شد. لوله ها در دور ۳۰۰۰ RPM به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و با بافی کوت جداسازی گردید. نمونه ها در مجاورت یخ خشک از تهران به مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شیراز منتقل گردید.

استخراج DNA ژنومیک: از بافی کوت بیماران برای استخراج DNA ژنومیک با استفاده از کیت استخراج EZHigh^{TM} (Texas BioGene, America) و طبق پروتکل شرکت سازنده استفاده گردید. غلظت DNA ژنومیک استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر NanoDrop اندازه گیری شد و تمامی نمونه ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

واکنش PCR و تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم rs8099917 در ژن IL-28B: تعیین پلی مورفیسم نقطه rs8099917 با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و توسط دو پرایمر rs80-F و rs80-R با اعمال تغییراتی در شرایط واکنش انجام شد که قطعه ای به طول bp ۵۵۲ را تکثیر می کرد(۱۵). مخلوط واکنش PCR در حجم نهایی µl ۲۵ با غلظت Pmol ۱ از هر کدام از پرایمرهای Forward و Reverse و غلظت mM ۲ از $MgCl_2$(سیناژن)، غلظت mM ۰/۲ از dNTPs(سیناژن)، µl ۲/۵ بافر PCR ۱۰X(سیناژن) و µl ۰/۴ آنزیم DNA پلی مراز Taq(سیناژن) تهیه شد. به هر میکروتیوب، µl ۵ نمونه DNA ژنومیک با غلظت ۳۰۰-۱۰۰ نانوگرم اضافه شد و برنامه PCR با شرایط دمایی زیر توسط دستگاه Eppendorf انجام گرفت: واسرشت اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد و به دنبال آن ۴۰ سیکل شامل واسرشت به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، اتصال به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۶۷ درجه سانتی گراد، گسترش به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد و گسترش نهایی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام گرفت و پس از آن دما به ۴ درجه سانتی گراد کاهش یافت. پس از پایان واکنش PCR، نمونه ها بر روی ژل آگاروز ۱ درصد(Ultra-Pure Agarose, Invitrogen) به مدت ۳۰ دقیقه با ولتاژ ۸۰V الکتروفورز گردید و نمونه های مثبت برای مرحله تعیین ژنوتیپ مورد استفاده قرار گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده برای تکثیر ناحیه ژنی پلی مورفیسم rs8099917 در ژن IL-28B

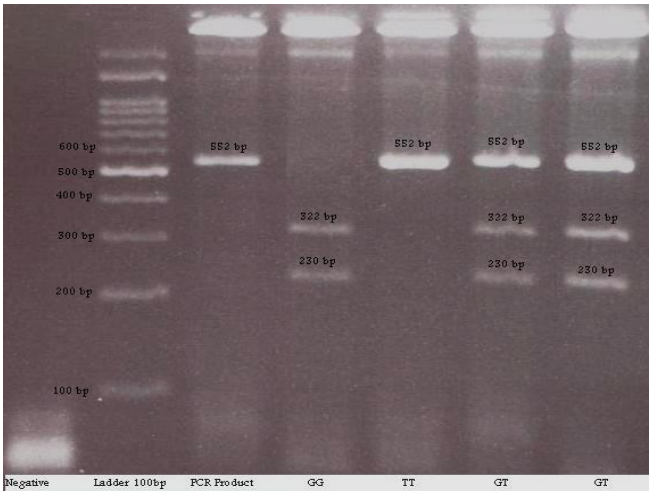
Forward Primer	CCC ACT TCT GGA ACA AAT CGT CCC
Reverse Primer	TCT CCT CCC CAA GTC AGG CAA CC

برای تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم rs8099917 نمونه‌های حاصل از واکنش PCR توسط آنزیم BseMI (Ferments) مورد عمل هضم قرار گرفت. مخلوط واکنش به حجم کلی µl ۲۰ شامل µl ۲ از بافر ۱۰x Red (Ferments)، µg ۱/۵ از محصول PCR و ۲ واحد از آنزیم BseMI ساخته شد و نمونه ها به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت و پس از آن واکنش هضم با قرار گرفتن در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه متوقف گردید و نمونه ها بر روی ژل آگاروز ۳ درصد(Ultra-Pure Agarose, Invitrogen) به مدت ۳۰ دقیقه با ولتاژ ۸۰V الکتروفورز گردید. در نهایت به منظور تایید نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ، چند نمونه از هرکدام از ژنوتیپ های تشخیص داده شده نیز توسط شرکت ماکروژن(Macrogen) کشور کره تعیین توالی گردید و نتایج حاصل توسط نرم افزار LITE Chromas بررسی شد.

آنالیز آماری: نتایج به دست آمده از تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم rs8099917 توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. جهت ارزیابی تفاوت های دو گروه از آزمون $\chi 2$ استفاده شد و $P<0.005$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

در مطالعه حاضر با تکثیر قطعه‌ای به طول ۵۵۲ bp در واکنش PCR و سپس با استفاده از هضم آنزیمی ژنوتیپ های TT (۵۵۲ bp)، GT(۵۵۲ bp، ۳۲۲ ،۲۳۰) و GG(۳۲۲،۲۳۰ bp) حاصل شدند. ژنوتیپ نقطه پلی مورفیسم rs8099917 در شکل شماره ۱ و نتایج تعیین توالی این ژنوتیپ ها در شکل شماره ۲ نشان داده شده است.

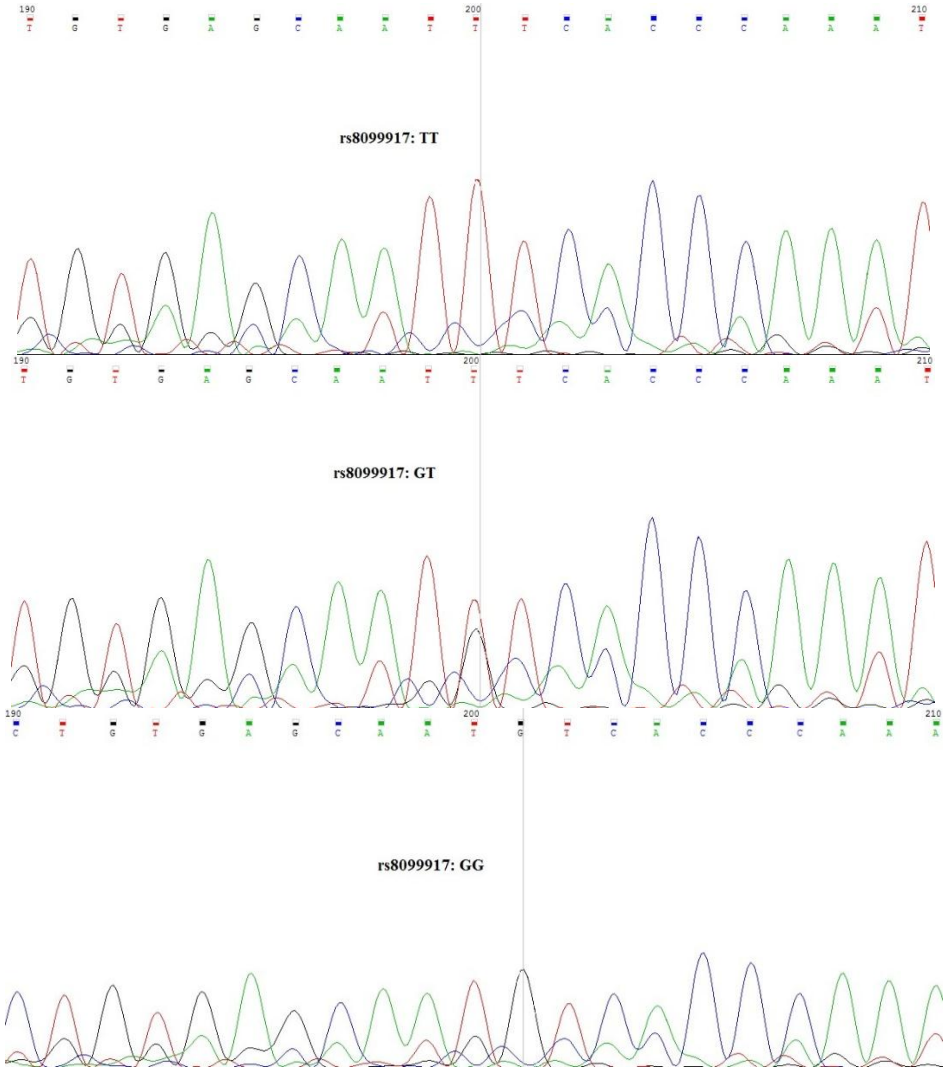


شکل شماره ۱. ژنوتیپ های مختلف نقطه پلی مورفیسم rs8099917 که با استفاده از آنزیم محدود کننده BseMI شناسایی شد

در این مطالعه نشان داده شد که بین افراد گروه کنترل و افراد آلوده به HCV از نظر فراوانی ژنوتیپ های نقطه پلی مورفیسم rs8099917 اختلاف معنی داری وجود دارد($P<0.0001$) به این ترتیب که در عین بالاتر بودن فراوانی ژنوتیپ مطلوب TT در گروه کنترل، فراوانی ژنوتیپ GT در بیماران مبتلا به HCV بیش از دو برابر گروه کنترل است. نسبت الل G به الل T بین گروه کنترل و گروه بیماران آلوده به HCV از اختلاف معنی داری برخوردار است($P<0.0001$). فراوانی ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم rs8099917 در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

جدول شماره ۲. فراوانی ژنوتیپ های نقطه پلی مورفیسم rs8099917 در ژن IL-28B

rs8099917 genotypes		بیماران مبتلا به HCV n=105	افراد دهنده خون سالم n=105	کل افراد بررسی شده n=210	P
Codominant	GG n (%)	0 (0%)	1 (1%)	1 (0.5%)	0.31
	GT n (%)	61 (58.1%)	27 (25.7%)	88 (41.9%)	0.001
	TT n (%)	44 (41.9%)	77 (73.3%)	121 (57.6%)	0.001
Dominant	GG	0 (0%)	1 (1%)	1 (0.5%)	0.31
	GT+TT	105 (100%)	104 (99%)	209 (99.5%)	
Recessive	TT	44 (41.9%)	77 (73.3%)	121 (57.6%)	0.0001
	GT+GG	61 (58.1%)	28 (26.7%)	89 (43.4%)	
Allele	T allele	149 (70.9%)	181 (86.2%)	330 (78.6%)	0.001
	G allele	61 (29.1%)	29 (13.8%)	90 (21.4%)	



شکل شماره ۲. توالی یابی ژنوتیپ های مختلف نقطه پلی مورفیسم rs8099917
A: ژنوتیپ TT. B: ژنوتیپ GT. C: ژنوتیپ GG

در هر دو گروه کنترل و بیماران آلوده به هپاتیت C، ژنوتیپ نقطه پلی مورفیسم rs8099917 با جنسیت افراد ارتباط معنی داری ندارد(P=0.141). در بیماران آلوده به HCV، میانگین آسپارتات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase; AST) و آلانین آمینوترانسفراز(Alanine aminotransferase; ALT) مردان بیشتر از زنان است و این میانگین در افراد دارای ژنوتیپ TT بیشتر از افراد دارای ژنوتیپ GT می باشد ولی این اختلاف ها از نظر آماری معنی دار نیست. هم چنین میانگین ALT و AST بیماران با آلودگی به ژنوتیپ های مختلف ویروس، جنسیت افراد و ژنوتیپ های rs8099917 ارتباط معنی داری ندارد.

از میان ۱۰۵ فرد سالم گروه کنترل، ۵۲ نفر(۴۹/۵ درصد) مرد و ۵۳ نفر(۵۰/۵ درصد) زن بودند در حالی که در گروه افراد آلوده به هپاتیت C، ۸۷ نفر(۸۲/۹ درصد) مرد و ۱۸ نفر(۱۷/۱ درصد) زن بودند. میانگین سنی افراد در گروه کنترل ۳۷/۵ سال(۶۰-۲۲ سال) و میانگین سنی افراد آلوده به HCV برابر با ۳۹/۳ سال (۷۰-۱۷ سال) می باشد. بین این دو گروه از نظر جنسیت افراد اختلاف معنی داری وجود دارد(P<0.0001). ۶۴ نفر(۶۱ درصد) از افراد آلوده به HCV به ژنوتیپ ۱ ویروس و ۴۱ نفر(۳۹ درصد) نیز به ژنوتیپ ۳ ویروس آلوده شده بودند و آلودگی با ژنوتیپ های مختلف HCV با

جنسیت بیماران ارتباط معنی داری نداشت(P=0.531).

بحث و نتیجه گیری

درمان ترکیبی اینترفرون و ریباویرین می تواند تا حدی باعث از بین رفتن عفونت هپاتیت C و به دنبال آن کاهش عوارض حاصل از آن مانند سیروز و هپاتوسلولار کارسینوما گردد. با این وجود میزان پاسخ به این درمان در این افراد بسیار متغیر است. از میان فاکتورهای دخیل در روند بیماری زایی و درمان این عفونت، IL-28B از اهمیت به سزایی برخوردار است. اینترلوکین 28B عمدتاً به وسیله ماکروفاژها و سلول های دندرتیک(Dendritic Cells) تولید می‌شود و در پاکسازی عفونت‌های ویروسی نقش دارد(۱۸). این اینترفرون یک حالت آنتی ویروسی ایجاد کرده و باعث افزایش مقاومت سلول های دیگر نسبت به آلودگی ویروسی می شود(۱۹).

نتایج این مطالعه نشان داد که فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسم rs8099917 بین دو گروه کنترل و افراد آلوده به HCV از اختلاف معنی داری برخوردار است و فراوانی ژنوتیپ GT در افراد آلوده به HCV بیش از دو برابر گروه کنترل است. در افراد آلوده به HCV ایرانی، ژنوتیپ های GT و TT به ترتیب شایع ترین ژنوتیپ های پلی مورفیسم rs8099917 بودند که با نتایج شرفی و همکاران(۲۰) در سال ۲۰۱۲ که فراوانی ژنوتیپ TT در بیماران آلوده به HCV ایرانی را بالاتر از GT گزارش کرده بودند مطابقت ندارد، اما با فراوانی ژنوتیپی در مطالعات انجام شده در برزیل مطابقت دارد(۲۱). این تفاوت ها می تواند به علت جمعیت های مختلف بررسی شده در مطالعات باشد. از طرف دیگر، در افراد سالم، ژنوتیپ های TT، GT و GG به ترتیب شایع ترین ژنوتیپ های این پلی مورفیسم بودند که مشابه مطالعات قبلی انجام شده در برزیل(۲۱) و در ایران(۲۰،۲۲) می باشد که نشان دهنده این موضوع است که ژنوتیپ TT، ژنوتیپ غالب پلی مورفیسم rs8099917 در جمعیت سالم ایرانی می‌باشد. در مطالعه دیگری که توسط لاریجانی و همکاران در سال ۲۰۱۵ روی افراد آلوده به هپاتیت C تیپ یک انجام شده است، فراوانی ژنوتیپ TT: 52%، ژنوتیپ TG: 38% و ۹ درصد از بیماران نیز دارای ژنوتیپ GG بودند. آن ها توانستند ارتباط معناداری بین وجود آلل G و شانس ابتلا به عفونت HCV در مقایسه به آلل T پیدا کنند(۲۳).

به طور کلی فراوانی ژنوتیپ GG پلی مورفیسم rs8099917 در جمعیت ایرانی بررسی شده بسیار کم (حدود ۰/۵ درصد) و متفاوت از مطالعات قبلی می باشد که فراوانی GG در جمعیت ایرانی را ۲/۵ و ۴/۸ درصد گزارش کرده اند(۱۵،۲۲). این در حالی است که ۳۳ درصد از افراد آلوده به HCV در برزیل(۲۴) دارای ژنوتیپ GG هستند. مطالعات بیان می کنند که فراوانی الل G در جمعیت های مختلف بین ۲ تا ۳۱ درصد است(۲۵). ژنوتیپ GG به طور قوی باNVR (Null Virological Response) و ژنوتیپ TT با SVR در ارتباط است(۲۶). نتایج Domagalski و همکاران(۲۷) در سال ۲۰۱۳ در کشور لهستان نشان داد که ژنوتیپ TT پلی مورفیسم rs8099917 در مقایسه با ژنوتیپ های GT و GG به طور معنی داری با موفقیت درمان در ارتباط است. به طور کلی الل های مطلوب IL-28B که منجر به تولید بیشتر و موثرتر اینترفرون می شود و در جمعیت شرق آسیا از فراوانی قابل توجهی برخوردار است که این موضوع می تواند دلیلی بر پاسخ بهتر بیماران آسیایی به درمان به وسیله اینترفرون آلفا باشد(۱۵). مطالعات نشان داده اند که فراوانی الل T در بیماران آلوده به HCV به طور معناداری کمتر از افراد کنترل است(۲۱) که در مطالعه حاضر بین این دو گروه از نظر فراوانی الل T اختلاف معنی داری مشاهده نشد. هم چنین در این مطالعه نشان داده شد که میانگین ALT و AST اولیه در افراد دارای ژنوتیپ TT بیشتر است که با مطالعه Domagalski و همکاران که تفاوت معنی داری در سطح ALT بین ژنوتیپ های مطلوب(TT) و غیرمطلوب IL-28B به دست آورده اند، هم خوانی دارد(۲۷). با توجه به بالا بودن فراوانی ژنوتیپ مطلوب TT در جمعیت ایرانی و اختلاف معنی دار این ژنوتیپ در جمعیت سالم و آلوده به HCV ایرانی از طرف دیگر پایین بودن فراوانی ژنوتیپ GG، تعیین ژنوتیپ نقطه پلی مورفیسم rs8099917 می تواند در پیشگویی

نتیجه درمان بیماران آلوده به HCV موثر باشد. هم چنین دقت بالا و هزینه کمتر PCR-RFLP در مقایسه با روش تعیین توالی می تواند به عنوان یک ابزار تشخیصی مهم در روند درمان افراد آلوده به HCV کمک کننده باشد.

سپاسگزاری

این مقاله بر گرفته شده از طرح مصوب مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شیراز با شماره ۱۸-۹۲ می باشد. نویسندگان لازم می دانند از زحمات دکتر سعید قنبری، دانشجوی دکتری دپارتمان آمار زیستی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، جهت آنالیز آماری این پروژه تشکر و قدردانی نمایند.

References

1.Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. Lancet Infect Dis. 2005;5:558-67. DOI:10.1016/S1473-3099(05)70216-4

2.Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. N Engl J Med2001;345:41-52. DOI:10.1056/NEJM200107053450107

3.Liaw YF. Natural history of chronic hepatitis B virus infection and long term outcome under treatment. Liver Int 2009;29:1. DOI:100-7. 10.1111/j.1478-3231.2008.01941.x

4.McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. Hepatology2009;49:5. DOI:0.1002/hep.22898

5.Tsubota A, Fujise K, Namiki Y, Tada N. Peginterferon and ribavirin treatment for hepatitis C virus infection. World J Gastroenterol2011;17:419-32. DOI:10.3748/wjg.v17.i4.419

6.Everson GT, Hoefs JC, Seeff LB, Bonkovsky HL, Naishadham D, Shiffman ML, et al. Impact of disease severity on outcome of antiviral therapy for chronic hepatitis C lessons from the HALT-C trial. Hepatology2006;44:1675-84. DOI:10.1002/hep.21440

7.Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, Ge D, Fellay J, Shianna KV, et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. Gastroenterology2010;139:120-9. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.04.013

8.Imazeki F, Yokosuka O, Omata M. Impact of IL-28B SNPs on control of hepatitis C virus infection a genome-wide association study. Exp Rev Anti Infect Ther2010;8:497-9. DOI:10.1586/eri.10.30

9.Pagliaccetti NE, Eduardo R, Kleinstein SH, Mu XJ, Bandi P, Robek MD. Interleukin-29 functions cooperatively with interferon to induce antiviral gene expression and inhibit hepatitis C virus replication. J Biol Chem 2008;283:30079-89. DOI:10.1074/jbc.M804296200

10.Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Tokunaga K, Mizokami M. λ-Interferons and the single nucleotide polymorphisms: A milestone to tailor-made therapy for chronic hepatitis C. Hepatol Res2010;40:449-60. DOI:10.1111/j.1872-034X.2010.00671.x

11.Miller DM, Klucher KM, Freeman JA, Hausman DF, Fontana D, Williams DE. Interferon lambda as a potential new therapeutic for hepatitis C. Ann N Y Acad Sci2009;1182:80-7. DOI:10.1111/j.1749-6632.2009.05241.x

12.Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. Nature2009;461:399-401. DOI:10.1038/nature08309

13.McCarthy JJ, Li JH, Thompson A, Suchindran S, Lao XQ, Patel K, et al. Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained response to pegylated interferon and ribavirin. Gastroenterology 2010;138:2307-14. DOI:10.1053/j.gastro.2010.02.009

14.Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, et al. Amino acid substitution in hepatitis C virus core region and genetic variation near the interleukin 28B gene predict viral response to telaprevir with peginterferon and ribavirin. Hepatology 2010;52:421-9. DOI:10.1002/hep.23690

15.Heidar S, Ali P, Bita B, Maryam K, Leila M, Shima S, et al. Development and validation of a simple, rapid and inexpensive PCR RFLP method for genotyping of common IL28B polymorphisms a useful pharmacogenetic tool for prediction of hepatitis C treatment response. Hepat Mon2012;4:190-5. DOI:10.5812/hepatmon.849
16.Wu LS, Wang H, Geng XP. Two IL28B polymorphisms are associated with the treatment response of different genotypes of hepatitis C in different racial populations a meta analysis. Exp Ther Med2012;3:200-6. DOI:10.3892/etm.2011.385
17.Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M, et al. Pre treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. J Hepatol 2011;54:439-48. DOI:10.1016/j.jhep.2010.07.037
18.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 One2012;7:37054. DOI:10.1371/journal.pone.0037054
19.Grunhage F, Nattermann J. Viral hepatitis human genes that limit infection. Best Pract Res Clin Gastroenterol2010;24:709-23. DOI:10.1016/j.bpg.2010.07.009
20.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 Mon2012;12:71-7. DOI:10.5812/hepatmon.8387
21. Conde SRS, Soaresmonteiro JCM, Santos BT, Filgueiras NK, Almeidalins PAd,Bonfim Freitas F, et al. SNP rs8099917 in gene IL28B might be associated with risk of chronic infection by HCV but not with response to treatment. Biomed Res Int2014;2:124-9. DOI:10.1155/2014/748606
22.Amirkalvanagh P, Daneshmandi S, Pourfathollah AA, Pourpak Z. [Distribution of rs8099917 IFN-λ3 (IL-28B) allele polymorphism in Iranian population]. AMUJ2013;16:1-9. (Persian)
23.Sadatlarijani M, Nikbin M, Bakhshikhaniki GR, Talebi S, Aghasadeghi MR, Sadat SM. [Relationship between the IL28B gene related single nucleotide polymorphism of rs8099917 and susceptibility to hepatitis C infection in Iranian population]. Feyz KAUMS2015;19:67-75. (Persian)
24.Ramos JA, Ramos ALdA, Hoffmann L, Perez RdM, Coelho HSM, Urmenyi TP, et al. A single nucleotide polymorphism rs129679860, in the IL28B locus is associated with the viral kinetics and a sustained virological response in a chronic, monoinfected hepatitis C virus genotype-1 Brazilian population treated with pegylated interferon-ribavirin. Mem Inst Oswaldo Cruz2012;107:888-92. DOI:10.1590/S0074-02762012000700008
25.Lindh M, Lagging M, Norkrans G, Hellstrand K. A model explaining the correlations between IL28B-related genotypes hepatitis C virus genotypes, and viral RNA levels. Gastroenterology2010;139:1794-6. DOI:10.1053/j.gastro.2010.08.057
26.Qattan IT, Omer WH, AlOmer IA, Bereagesh SA, Kabbani KM, Alkhatib AJ, et al. Cross sectional study of IL28B polymorphisms amongst Saudi Arabian and British HCV patients. ESJ 2012;8:21-6..
27.Domagalski K, Pawlowska M, Tretyn A, Halota W, Tyczyno M, Kozielewicz D, et al. Association of IL28B polymorphisms with the response to peginterferon plus ribavirin combined therapy in Polish patients infected with HCV genotype 1 and 4. Hepat Mon2013;13. DOI:10.5812/hepatmon.13678

Comparison of IL-28B favorable genotype frequency between healthy and patients infected with HCV

Moayedi J[1], Hashempour T[1], Musavi Z[1], Hallaji M[1], Ghassabi F[1], Hajsheykholeslami A[2], Merat S[2]*

(Received: December 27, 2016 Accepted: May 7, 2017)

Abstract

Introduction: Combination of interferon-alpha (IFN-α) and Ribavirin (RBV) drugs is used for treatment of hepatitis C virus (HCV) chronic infection. Various factors play role in the response rate of HCV infected patients to treatment. HCV genotype along with viral load, age, race, obesity, insulin resistance, fibrosis and interleukin 28B gene (IL-28B) polymorphisms are considered the most important ones. In recent years, it has been claimed that some polymorphisms close to IL-28B gene play a significant role in response to combined therapy among which IL-28B polymorphisms have a more important role in sustained virological response (SVR). In this study, frequency of genotypes of rs8099917 polymorphism of interleukin 28B gene in 2 groups of Iranian healthy individuals and HCV infected patients living in Tehran was compared.

Materials & Methods: Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method was used to compare the frequency of genotypes of rs8099917 polymorphism between 105 healthy individuals and 105 chronic HCV infected patients. The results were analyzed with SPSS version 15 using $\chi 2$ test.

Findings: The genotype frequency of this polymorphism in the healthy individuals was demonstrated as GG: 1%, GT: 25.7% and TT: 73.3%, while in HCV infected patients, it was shown as GT: 58.1% and TT: 41.9%.. No GG genotype was detected in the patients infected with HCV.

Discussion & Conclusion: Our investigation came to the conclusion that a significant difference existed between the 2 groups of Iranian healthy and HCV infected individuals regarding the frequency of rs8099917 genotypes and frequency of favorable TT genotype, because it was higher among the healthy individuals than that of the patients infected with HCV.

Keywords: hepatitis C virus, interlukin-28, PCR-RFLP, rs8099917 polymorphism, Tehran

1.Clinical Microbiology Research Center, Nemazee Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
2.Liver and Pancreatobiliary Diseases Research Center, Digestive Diseases Research Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
**Corresponding Author Email: thashem@sums.ac.ir*