

The relationship between -611G/A (SNP) at promoter of interferon- γ receptor 1 gene and chronic HBV infection

Khanizadeh S(M.Sc)¹, Ravanshad M(Ph.D)¹, Mohbbi R(Ph.D)^{2*}, Naghoosi H(M.Sc)², Mousavi Nasab D(M.Sc)¹, Tahaie M.E(M.Sc)², Zali MR(Ph.D)²

1- Department of Virology Group, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Research Center for Gastroenterology and Liver Disease, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 6 Jan 2012, Accepted: 2 May 2012

Abstract

Background: Chronic hepatitis B virus (HBV) infection is a multi-factorial disease that is accompanied with serious clinical complications. Host's genetic background, especially immune-genetic factors, is critical in the pathogenesis of infection. Gamma interferon ((INF- γ) and its receptor have an important role in immune response to the virus and clinical course of the disease. The aim of this study is to investigate the association between single nucleotide polymorphism -611G/A located in promoter of gamma interferon receptor1 gene (INFGR1) and chronic HBV infection.

Materials and Methods: In this Case Control study, genomic DNA from peripheral blood samples of 150 chronically HBV infected patients and 150 healthy controls was extracted by phenol-chloroform method. DNA analysis was performed by PCR-RFLP method and P<0.05 was considered significant.

Results: After stages of genotyping and statistical analysis, a significant difference was observed between patient and control group, so that genotype GG was higher in the control group compared to the patient group.

Conclusion: The host's immune-genetic background can play an important role in the pathogenesis of infectious disease. Variations in INFGR1 were related to several diseases. The results showed that the presence of GG allele is accompanied by a decrease in susceptibility to chronic HBV infection.

Keywords: Hepatitis B virus, Interferon gamma receptor1, Single-nucleotide polymorphism

*Corresponding author:

Address: Research Center for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email: srmohebbi@gmail.com

بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم نوکلئوتید تک (SNP) 611G/A- در پروموتور ژن شماره 1 گیرنده اینترفرون گاما و بیماری مزمن ناشی از ویروس هپاتیت بی

صیاد خانی زاده¹، مهرداد روانشاد²، سید رضا محبی^{3*}، حامد ناقوسی⁴، سید داوود موسوی نسب¹، سید محمد ابراهیم طاهانی⁴، محمدرضا زالی⁵

1- کارشناسی ارشد، گروه ویروس شناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

2- استادیار، گروه ویروس شناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

3- استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

4- کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

5- استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 90/10/17 تاریخ پذیرش: 91/2/13

چکیده

زمینه و هدف: عفونت مزمن با ویروس هپاتیت B یک بیماری چند عاملی است که با عوارض کلینیکی و خیمی همراه است. زمینه ژنتیکی میزبان خصوصاً عوامل ایمنی-ژنتیکی در پاتوژنز عفونت سرنوشت ساز می‌باشند. اینترفرون گاما و گیرنده آن نقش مهمی در پاسخ ایمنی به ویروس و دوره کلینیکی عفونت دارد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم نوکلئوتیدی تک (611G/A-) در پروموتور ژن گیرنده شماره یک اینترفرون گاما و عفونت مزمن ویروس هپاتیت B است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، DNA ژنومیک از نمونه‌های خون محیطی مربوط به 150 نفر بیمار مزمن عفونت یافته با ویروس هپاتیت B و 150 نفر از افراد شاهد بر طبق روش فنل کلروفرم استخراج شده و DNA آنها توسط روش پی سی آر- آر اف ال پی آنالیز گردید. مقدار p کمتر از 0/05 معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: بعد از مراحل ژنوتیپی و هم‌چنین آنالیزهای آماری، تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و بیمار مشاهده شد، به طوری که ژنوتیپ GG در گروه کنترل در مقایسه با گروه بیمار بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: زمینه ایمنی-ژنتیک میزبان می‌تواند نقش مهمی در پاسخ ایمنی میزبان بر علیه بیماری‌های عفونی ایفا کند، تغییرات در ژن گیرنده شماره یک اینترفرون گاما با چندین بیماری در ارتباط بوده است، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که حضور آلل GG در این جمعیت با کاهش خطر حساسیت به سمت عفونت مزمن همراه است.

واژگان کلیدی: ویروس هپاتیت B، پلی مورفیسم نوکلئوتیدی تک، گیرنده شماره یک اینترفرون گاما

* نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

Email: srmohebbi@gmail.com

مقدمه

ویروس هپاتیت (Hepatitis B virus- HBV) یکی از شایع ترین عفونت های ویروسی می باشد، طوری که به یک نگرانی عمده بهداشت جهانی برای بیش از 350 میلیون نفر ناقل مزمن این بیماری در سرتاسر جهان تبدیل شده است. اما با این وجود دانسته های اندکی در مورد عوامل میزبانی و تاثیر آنها بر دوره کلینیکی و تغییرات آن وجود دارد. پیامد بالینی عفونت با ویروس هپاتیت B متغیر است، طوری که بعد از عفونت با ویروس چندین شکل بالینی مانند عفونت خود محدود شونده، ناقص غیر فعال (HBsAg)، هپاتیت مزمن، سیروز کبدی و سرطان هپاتوسلولار می تواند شکل بگیرد (1).

سیتوکاین ها نقش بسیار مهمی را در دفاع بر علیه عفونت های ویروسی ایفا می کنند. در طی عفونت حاد پاسخ ایمنی سلولی قدرتمند شکل می گیرد که بسیار سرنوشت ساز است (2). لنفوسیت های T سیتوتوکسیک (Cytotoxic T Lymphocytes-CTL) ممکن است باعث آسیب به سلول های کبدی از طریق آزاد سازی واسطه های آماسی ایمنی همورال مانند اینترفرون گاما (Gamma Interferon-IFN γ)، فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (Tumor necrosis factor-alpha-TNF α) و اینترلوکین 2 (Interleukin-2-IL2) شوند (3) گزارشات به دست آمده از مطالعات آزمایشگاهی بر روی هپاتوسیت ها نشان داده که سیتوکاین های مترشحه مقرر شد از لنفوسیت های T یاریگر نوع I (T helper-1-Th1) می تواند باعث تنظیم همانند سازی HBV شود (4). گزارشات اخیر نشان داده است که چندین پلی مورفیسم های سایتوکاینی با تاریخچه طبیعی عفونت HBV در ارتباط بوده است (5). مشخص شده است که IFN- γ به طور مستقیم می تواند باعث کاهش بار ویروس شود، گذشته از این، IFN- γ از طریق تحریک تولید اینترفرون های نوع یک نیز به طور غیر مستقیم می تواند در این امر تاثیر گذار باشد (5). وجود تغییرات در IFN- γ و ارتباط آن با بیماری مزمن HBV گزارش شده است (6). زمینه ژنتیکی میزبان به ویژه پلی مورفیسم نوکلئوتیدی تک

(SNP) به عنوان یک شاخص تعیین کننده ناهمگونی کلینیکی HBV در نظر گرفته می شود (7، 8). در شامپانزه هایی که به طور تجربی با HBV عفونت یافته اند بهبودی از بیماری با افزایش بیان IFN- γ و TNF- α همراه بوده و هم چنین افزایش تعداد لنفوسیت های T مشاهده شده است (9). از این گذشته آنالیز میکروآرایه کبد شامپانزه هایی که به صورت تجربی با ویروس HBV آلوده شده بودند بیانگر این مطلب بود که IFN- γ و ژن هایی که در اثر آن بیان می شوند، مهم ترین نقش را در پاک سازی بدن از عفونت حاد HBV دارند (10).

گیرنده اینترفرون گاما (gamma interferon receptor- INFR1) از دو زنجیره تشکیل شده است، زنجیره شماره یک که توسط ژن شماره یک (INFR1) کد می شود که دارای چند عملکرد بسیار مهم می باشد مانند اتصال به لیگاند، ترافیکینگ گیرنده و سیگنال ترانسداکشن می باشند (11) با اتصال IFN- γ به گیرنده یک سری فعالیت های ضد ویروسی مانند بیان کمپلکس های سازگار نسجی کلاس II بر سطح سلول، بلوغ لنفوسیت های B و رهاسازی واسطه های التهاب شکل می گیرد (12). تحقیقات دیگری نیز نقش IFN- γ را در پاتوژنز لنفوسیت های T مرتبط با هپاتیت را به اثبات رسانده است (13). جهش های نوکلئوتیدی تک (SNPs) در هر دو گیرنده IFN- γ پیامد مهمی در پاسخ ایمنی با واسطه IFN- γ به همراه دارد (14). بیان INFR1 بر سطح سلول یک مکانیسمی است که بر حساسیت سلول نسبت به IFN- γ تاثیر گذار است (15). تحقیقات نشان داده که تغییرات در ژن IFN- γ با عفونت مزمن HBV در ارتباط است و این نشان دهنده آن بوده که سیگنالینگ با واسطه IFN- γ /INFR1 یک اهمیت حیاتی در پاتوژنز عفونت مزمن HBV دارد (16). زوو و همکاران در سال 2009 در چین ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم در پروموتور ژن گیرنده IFN- γ و عفونت مزمن HBV نشان دادند (17).

در این مطالعه به بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) جایگاه (G/A) 611- پروموتور

2 واحد آنزیم Taq DNA polymerase (Super Taq)، انگلستان) که دارای خاصیت تصحیح خطا (proof reading) می باشد، 1/5 میلی مولار کلرید منیزیم، 0/5 میکرولیتر از هر dNTP و هم چنین 0/5 میکرولیتر از هر پرایمر در حجم نهایی 25 میکرولیتر اضافه گردید و واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر اتوماتیک (اپندورف، آلمان) بدین ترتیب انجام پذیرفت: ابتدا واسرشت شدن اولیه در دمای 95 درجه سانتی گراد به مدت 5 دقیقه و به دنبال آن 30 چرخه از دماهای 95 درجه به مدت 30 ثانیه، 54 درجه (دمای اتصال پرایمر) به مدت 30 ثانیه و 72 درجه به مدت 30 ثانیه انجام پذیرفت و سپس به مدت 10 دقیقه دمای 72 درجه سانتی گراد جهت تکثیر نهایی قطعه DNA اعمال گردید. محصول PCR نیز به روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز (Roche، آلمان) و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید در مقابل نور فرابنفش آشکارسازی شد. پس از آن محصول PCR در واکنش هضم آنزیمی به وسیله آنزیم با اثر محدود Hpy188I (فرمنتاز) که جایگاه SNP مورد نظر را برش می دهد به شرح زیر وارد گردید: 10 میکرولیتر از محصول PCR به صورت مستقیم به مخلوطی حاوی بافر و آنزیم محدود الاثر Hpy188I اضافه و سپس 6 واحد آنزیم Hpy188I در حجم نهایی 20 میکرولیتر اضافه شده و به مدت 16 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس انکوبه گردید. محصول هضم آنزیمی نیز با الکتروفورز بر روی ژل پلی آکریل آمید 18 درصد آشکار شد.

ژن گیرنده شماره یک اینترفرون گاما (INFGR1) و استعداد به عفونت مزمن هپاتیت B در جمعیت ایرانی پرداخته ایم.

مواد و روش ها

این مطالعه با روش مورد-شاهدی و با نمونه گیری از 150 بیمار مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی شهر تهران که مبتلا به هپاتیت B مزمن بوده و با آزمایش الیزا برای آنتی ژن HBS و آنتی بادی ضد HBC ابتلای ایشان تایید گردیده بود و نیز 150 نفر از افراد سالم داوطلب انجام پذیرفت. کلیه افراد وارد شده به طرح در جریان اهداف طرح تحقیقاتی قرار گرفتند.

DNA ژنومیک افراد با روش استاندارد فنل - کلرفرم از 4 میلی لیتر خون محیطی استخراج شده و روش PCR-RFLP جهت تعیین ژنوتیپ افراد مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا با استفاده از یک جفت پرایمر با توالی های درج شده در جدول 1 که با کمک نرم افزار Gene Runner (Hastings software Inc.) و روش BLAST سایت مرکز ملی اطلاعات زیست فناوری (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) طراحی و بهینه شده بود، قطعه ای از ژن INFGR1 واجد جایگاه پلی مورفیسم طی واکنش زنجیره ای پلیمرز تحت شرایط زیر تکثیر گردید:

100 نانوگرم DNA ژنومیک به مخلوط واکنشی حاوی بافر Taq (10 میلی مولار تریس-کلراید (PH: 9)، 50 میلی مولار کلرید پتاسیم، 0/1 درصد تریتون X-100)،

جدول 1. مشخصات پرایمرها و آنزیم با اثر محدود

پلی مورفیسم	توالی پرایمر	آنزیم محدود کننده	فنوتیپ آلی
-611A/G(SNP)	F: 5'-CTCTTCATGAGAGGCTGTCT-3'	Hpy188I	A:260bp
	R: 5'--TAACTCTTGGACTTCACCTGG-3'		G:240+40bp

تعیین توالی مستقیم با استفاده از سیستم ABI genetic analyzer 3130xl توالی یابی شدند.

جهت تأیید نتایج حاصل از روش PCR-RFLP، 10 درصد نمونه ها به طور تصادفی انتخاب و توسط روش

260، 240 و 20 جفت بازی مشاهده گردید (شکل 1). پس از انجام مراحل آزمایشگاهی، نتایج توزیع ژنوتیپی بین دو گروه مورد و شاهد مقایسه شده و ارتباط میان آنها سنجیده شد. نتایج تعیین توالی نیز تأیید کننده نتایج حاصل از RFLP می باشند (شکل 1).

نتایج حاصل از آنالیزهای آماری و هم چنین فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم جایگاه 611- پروموتور IFNGR1 در جدول 3 آورده شده است.

جدول 2. مشخصات جمعیت مورد مطالعه به تفکیک گروه ها

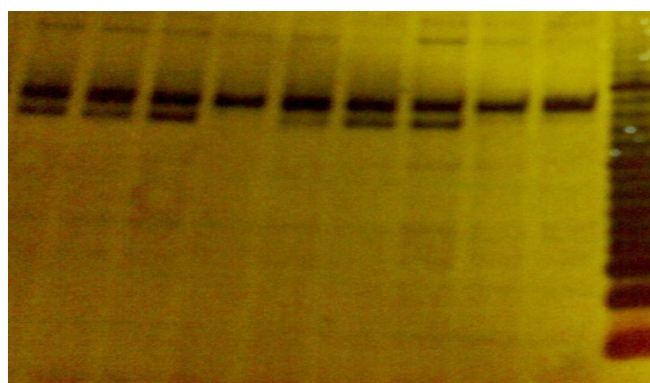
بیمار	شاهد	p
جنس مرد	65/3%	0/34
جنس زن	34/7%	
سن	42/25±15/16	0/62
شاخص توده بدنی	26/29	0/41

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 16 انجام شد. مقدار p پایین تر از 0/05 معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

مشخصات گروه بیماران و کنترل سالم مورد مطالعه از نظر سن، جنس و شاخص توده بدنی (Body mass index-BMI) در جدول 2 ارائه شده است. همان طور که مشاهده می شود دو گروه مورد و شاهد از نظر نسبت جنس، سن و شاخص توده بدنی اختلاف معنی داری ندارند. با انجام PCR، یک قطعه محصول به طول 260 جفت باز که حاوی جایگاه پلی مورفیسم مورد نظر بود به دست آمد، سپس بر اثر هضم آنزیمی آن در افراد هموزیگوت AA یک قطعه 260 جفت بازی (محصول PCR برش نخورده)، در افراد هموزیگوت GG دو قطعه 240 و 20 جفت بازی و در افراد هتروزیگوت AG سه قطعه

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9



شکل 1. قطعات حاصل از برش با آنزیم محدود کننده Hpy 188I محصولات PCR در برگیرنده (SNP) 611- بر روی ژل پلی آکریل آمید 18 درصد. 1، 2، 6، 9 - ژنوتیپ هموزیگوت AA، 3، 4، 5، 7، 8 - ژنوتیپ هتروزیگوت AG (M=marker20bp)

جدول 3. بررسی توزیع فراوانی (درصد) ژنوتیپ های به دست آمده در دو گروه تحت مطالعه

ژنوتیپ	بیمار تعداد (درصد)	شاهد تعداد (درصد)	OR (CI)	p
AA	63 (42)	51 (34)	گروه مرجع	
AG	85 (56/7)	87 (58)	1/712(0/897-3/267)	0/015
GG	12 (1/3)	12 (8)	0/135(0/029-0/630)	

نتایج آزمون رگرسیون لجستیک که در جدول 3 ارائه شده بیان گر کاهش نسبت احتمال ابتلا به هیپاتیت B مزمن بین ژنوتیپ GG در مقایسه با دیگر ژنوتیپها می باشد. هم چنین محاسبات آماری نشان می دهند که مقدار p برابر با 0/015 است. این نتایج نشان می دهند که اختلاف معنی داری بین دو گروه بیمار و شاهد از لحاظ توزیع ژنوتیپی وجود دارد.

بحث

تنوع ژنتیکی در جمعیت میزبان از جمله پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژنهای دخیل در پاسخ ایمنی به ویژه ژنهای سیتوکاین ها می توانند تاثیر مهمی بر ابتلا به بیماری های مختلف داشته باشند و ارتباط آنها با بیماری هایی از جمله سرطان ها (18-20)، بیماری های التهابی و خود ایمنی (21، 22) و هم چنین در کنترل عفونت های مزمن (23-25) مورد بررسی قرار گرفته اند.

بیش از دو دهه است که سیتوکاین های بی شماری همراه با گیرنده های آنها شناسایی شده است. میانکنش بین کمپلکس گیرنده سیتوکاین با یکدیگر باعث تنظیم پاسخ ایمنی و دیگر فرایندهای بیولوژیکی می شود. تعداد زیادی از مدارک و شواهد نشان می دهد که پلی مورفیسم های نوکلئوتیدی تک (SNPs) در جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی می تواند بر عملکرد پروموتور کمپلکس های گیرنده - سیتوکاین و ظهور علائم بیماری تاثیر گذار باشد (26). بر اساس این گونه اطلاعات و گزارشات و هم چنین نقش بسیار مهم IFN- γ در پاسخ ایمنی بر علیه عفونت HBV ما چنین فرض کردیم که وجود پلی مورفیسم های نوکلئوتیدی تک در پروموتور ژن گیرنده شماره یک اینترفرون گاما (INFGR1) که در مسیر سیگنالینگ IFN- γ اهمیت دارد، می تواند در پیامد کلینیکی بیماری مزمن ناشی از HBV و ظهور علائم آن تاثیر گذار باشد. بنابراین در این مطالعه به بررسی SNP G/A 611- واقع در پروموتور ژن گیرنده شماره یک اینترفرون گاما (INFGR1) پرداختیم.

IFN- γ سیتوکاینی است که نقش بسیار مهم را در تنظیم پاسخ ایمنی دارد و به عنوان یک گلیکوپروتئین با اثر ایمنولوژیک پلی تروفیک شناخته می شود (12). اخیرا تاکید زیادی بر اهمیت IFN- γ در پاک سازی عفونت HBV صورت گرفته است، چراکه مطالعات به خوبی مشخص ساخته که طی عفونت های خود محدود شونده نوع حاد سلول های T اختصاصی آنتی ژن به طور انتخابی اقدام به ترشح سیتوکاین Th1 با غالبیت IFN- γ می کنند و در واقع این سلول ها به سمت سلول های Th1 به طور انتخابی گسترش کلون می دهند (27). بر خلاف آن، کلون های سلولی به دست آمده مربوط به افرادی که به صورت مزمن با HBV عفونت یافته اند، نشان داده است که الگوی سیتوکاین های تولیدی آنها از نوع Th2 می باشد (28). مشخص شده است که IFN- γ به طور مستقیم می تواند باعث کاهش بار ویروس شود، گذشته از این IFN- γ از طریق تحریک تولید اینترفرون های نوع یک نیز به طور غیر مستقیم می تواند در این امر تاثیر گذار باشد (4). وجود تغییرات در IFN- γ و ارتباط آن با بیماری مزمن HBV گزارش شده است، از جمله مطالعه پراویکا و همکاران که در آن نشان دادند وجود یک پلی مورفیسم نوکلئوتیدی تک (SNP) واقع در انتهای 5' ناحیه تکراری CA در اولین اینترون ژن IFN- γ انسان (+874 T/A) باعث می شود که آلل T جایگزین آلل A شود. این قضیه موجب تغییرات سطح رونویسی ژن می شود که می تواند در پاتوژنز بیماری تاثیر گذار باشد (6).

وجود پلی مورفیسم در ژن TNF- α و ارتباط آن با عفونت مزمن HBV به اثبات رسیده است، چندین مطالعه به صورت موردی - شاهد در نژادها و قومیت های مختلف این مطلب را به خوبی نشان داده است (29). در جمعیت ایران مطالعه در مورد پلی مورفیسم سیتوکاین ها مانند IFN- γ و هم چنین سایر سیتوکاین ها و گیرنده های آنها و ارتباط آن با هیپاتیت های ویروسی صورت نگرفته است. در مطالعه لو و همکاران به بررسی پلی مورفیسم TGF- β 1 و ارتباط آن با بیماری لوسمی مزمن پرداختند، که در آنجا توانستند به یک

ارتباط معنی داری دست پیدا کنند (30). در مطالعه دیگری به بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم این ژن و بیماری مزمن ناشی از عفونت با HCV پرداختند ولی در آنجا بر خلاف مطالعات قبلی به ارتباط معنی داری از لحاظ آماری دست پیدا نکردند (31).

به منظور آگاهی از این مهم که آیا تغییرات در سطح بیان INFGR1 در افراد به خاطر پلی مورفیسم‌های ژنتیکی در این گیرنده و ارتباط آن با مراحل کلینیکی بیماری ناشی از عفونت با HBV مانند پاک سازی ویروسی ویروس از بدن در مقابل عفونت پایدار ویروس جی زو و همکاران در سال 2009 در چین چندین SNP را به خوبی در ژن INFGR1 به خوبی بررسی کرده و توزیع ژنتیکی آنها را در سه گروه بیمار مزمن، افرادی که به طور خود به خودی از بیماری بهبود یافته بودند و گروه کنترل سالم با هم مقایسه کردند (17). در بین چندین SNP آنها یک ارتباطی را بین 56 SNP C/T و مستعد بودن به عفونت مزمن HBV شناسایی کردند. تحلیل بیان ژن در سیستم‌های گزارشگر ژن در رده سلولی HepG2 نشان دهنده این مطلب بود که 56-SNP C/T یک پلی مورفیسم عملکردی است، به طوری که وجود آلل T به خاطر 56 SNP C/T به عنوان یک عامل خطر برای ابتلا به عفونت مزمن در آن جمعیت‌ها محسوب می‌شود، چرا که پس از مقایسه افراد دید شد که افرادی که دارای ژنوتیپ CC و در واقع آلل C بودند با بهبودی از بیماری در ارتباط بوده و بر عکس افرادی که دارای ژنوتیپ TT و آلل T بودند با عفونت مزمن در ارتباط هستند و علاوه بر این‌ها افرادی که دارای ژنوتیپ CC در سیستم‌های گزارشگر بیان ژن از سطح بیانی بالایی بر خوردار بودند و باز بر خلاف آن افرادی که دارای ژنوتیپ TT بودند سطح بیان کمی داشتند.

پلی مورفیسم‌های موجود در پروموتور ژن گیرنده شماره یک اینترفرون گاما (INFGR1) با تعدادی از بیماری‌ها در ارتباط بوده است. یکی از مطالعاتی که در زمینه پلی مورفیسم این گیرنده صورت گرفته مطالعه کار دوم و همکاران در سال 2006 بوده است که در آنجا آنها

توانستند دو پلی مورفیسم SNP-611 G/A و SNP-56 T/C را در پروموتور ژن شناسایی و ارتباط آنها را با بیماری مزمن توپرکلوز بررسی نمودند، در آن مطالعه آنها توانستند ارتباط بین SNP-56T/A و عفونت مزمن را نشان دهند (32). مسئله‌ای که بایستی بدان اشاره شود است که وجود نقص در INFGR1 را می‌توان به خوبی در عفونت‌های مایکوباکتریومی به خصوص در بچه‌ها دید، جایی که ملانی و همکاران پژوهشی را در این زمینه در سال 1999 واقع در جزیره مالت صورت دادند، در آنجا آنان وجود نقص در این گیرنده و ارتباط آن با بیماری‌های مایوباکتریومی را در آن منطقه نشان دادند (33). در کشور ایران تا کنون مطالعه‌ای بر روی این گیرنده و ارتباط آن با عفونت مزمن HBV و سایر بیماری‌ها صورت نگرفته است، اما جهت دست یافتن به یک دید کلی می‌توان به بررسی‌های مشابه اشاره‌ای داشت از جمله مطالعه حاجی لو و همکاران که آنها به بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم سلکتین E و ارتباط با بیماری مزمن HBV پرداختند، نتیجه مطالعه آنها این بود که این پلی مورفیسم نمی‌تواند یک عامل خطر برای ابتلا به عفونت مزمن HBV باشد (34).

نتیجه گیری

نتایج مطالعه نشان داد که وجود ژنوتیپ GG در جمعیت ما با کاهش خطر ابتلا به بیماری مزمن در ارتباط بوده و در واقع در قیاس با دیگر ژنوتیپ‌ها بین دو گروه از نظر پراکنش ژنوتیپی در این جایگاه اختلاف معنی دار وجود دارد. جهت بالا بردن کیفیت مطالعه پیشنهاد می‌شود از تعداد بیشتری نمونه استفاده شود، و هم چنین چنانچه بتوان از وجود یک سیستم بیانی برای بررسی آنالیزهای بیانی در این جایگاه‌های پلی مورفیسم بهره جست نتایج کامل تری حاصل خواهد شد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت علمی و مادی دانشگاه تربیت مدرس و مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه

8. Zhou J, Lu L, Yuen MF, Lam TW, Chung CP, Lam CL, et al. Polymorphisms of type I interferon receptor 1 promoter and their effects on chronic hepatitis B virus infection. *Journal of hepatology*. 2007;46(2):198-205.
9. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, Shapiro M, Purcell R, Chisari FV. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science*. 1999; 284(5415): 825-9.
10. Wieland S, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(17):6669-74.
11. Bach EA, Aguet M, Schreiber RD. The IFN γ receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annual review of immunology*. 1997; 15(1): 563-91.
12. Billiau A. Interferon- γ : biology and role in pathogenesis. *Advances in immunology*. 1996; 62: 61-130.
13. Mizuhara H, Uno M, Seki N, Yamashita M, Yamaoka M, Ogawa T, et al. Critical involvement of interferon γ in the pathogenesis of T-cell activation-associated hepatitis and regulatory mechanisms of interleukin-6 for the manifestations of hepatitis. *Hepatology*. 1996;23(6):1608-15.
14. Dessein AJ, Hillaire D, Elwali NE, Marquet S, Mohamed-Ali Q, Mirghani A, et al. Severe Hepatic Fibrosis in *Schistosoma mansoni* Infection Is Controlled by a Major Locus That Is Closely Linked to the Interferon- γ Receptor Gene. *The American Journal of Human Genetics*. 1999;65(3):709-21.
15. Novelli F, Bernabei P, Ozmen L, Rigamonti L, Allione A, Pestka S, et al. Switching on of the proliferation or apoptosis of activated human T lymphocytes by IFN- γ is correlated with the differential expression of the alpha-and beta-chains of its receptor. *The Journal of Immunology*. 1996;157(5):1935-43.
16. Abbott W, Gane E, Winship I, Munn S, Tukuitonga C. Polymorphism in intron 1 of the interferon-gamma gene influences both serum immunoglobulin E levels and the risk for chronic hepatitis B virus infection in

علوم پزشکی شهید بهشتی انجام پذیرفت. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و هم‌چنین همکاران در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گوارش و کبد بیمارستان طالقانی به ویژه خانم‌ها پروانه محمدی، مهسا خوان یغما و هانیه میرطالبی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1. Pan CQ, Zhang JX. Natural history and clinical consequences of hepatitis B virus infection. *International journal of medical sciences*. 2005;2(1):36-40.
2. Nayarsina R, Fowler P, Guilhot S, Missale G, Cerny A, Schlicht HJ, et al. HLA A2 restricted cytotoxic T lymphocyte responses to multiple hepatitis B surface antigen epitopes during hepatitis B virus infection. *The Journal of Immunology*. 1993;150(10):4659-71.
3. Ando K, Moriyama T, Guidotti L, Wirth S, Schreiber R, Schlicht H, et al. Mechanisms of class I restricted immunopathology. A transgenic mouse model of fulminant hepatitis. *The Journal of experimental medicine*. 1993;178(5):1541-54.
4. Romero R, Lavine JE. Cytokine inhibition of the hepatitis B virus core promoter. *Hepatology*. 1996;23(1):17-23.
5. Kim YJ, Lee HS, Yoon JH, Kim CY, Park MH, Kim LH, et al. Association of TNF- α promoter polymorphisms with the clearance of hepatitis B virus infection. *Human molecular genetics*. 2003;12(19):2541-6.
6. Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN- γ gene:: Absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN- γ production. *Human immunology*. 2000;61(9):863-6.
7. Frodsham AJ, Zhang L, Dumpis U, Taib NAM, Best S, Durham A, et al. Class II cytokine receptor gene cluster is a major locus for hepatitis B persistence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(24):9148-53.

- Polynesians. *Immunogenetics*. 2007;59(3):187-95.
17. Zhou J, Chen DQ, Poon VKM, Zeng Y, Ng F, Lu L, et al. A regulatory polymorphism in interferon- γ receptor 1 promoter is associated with the susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Immunogenetics*. 2009; 61(6): 423-30.
18. Haghghi MM, Mohebbi SR, Sadeghi RN, Vahedi M, Ghiasi S, Zali MR. Association between the 1793G> A MTHFR polymorphism and sporadic colorectal cancer in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2008;9:659-62.
19. Mahmoudi T, Mohebbi SR, Pourhoseingholi MA, Fatemi SR, Zali MR. Vitamin D receptor gene ApaI polymorphism is associated with susceptibility to colorectal cancer. *Digestive diseases and sciences*. 2010;55(7):2008-13.
20. Haghghi MM, Taleghani MY, Mohebbi SR, Vahedi M, Fatemi SR, Zali N, et al. Impact of EXO1 polymorphism in susceptibility to colorectal cancer. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2010; 14(5):649-52.
21. Naderi N, Farnood A, Habibi M, Zojaji H, Balaii H, Firouzi F, et al. NOD2 exonic variations in Iranian Crohn's disease patients. *International journal of colorectal disease*. 2011;26(6):775-81.
22. Alidoust L, Zafarghandi M, Agah M, Sendi H, Alavian SM, Zali MR. Glutathione-S-transferase M1, T1 and P1 gene polymorphisms in type I autoimmune hepatitis: a case-control study. *Indian J Gastroenterol* 2007;26(2):97-9.
23. Azimzadeh P, Mohebbi SR, Romani S, Vahedi M, Fatemi SR, Derakhshan F, et al. The Study of Association between TGF-B1 Gene 915 G>C Polymorphisms and Chronic Hepatitis C Infection. *Sci J Hamadan Univ Med Sci* 2011; 17(4):17-24.[persian]
24. Azimzadeh P, Mohebbi SR, Romani S, Naghoosi H, Vahedi M, Kazemian SH, et al. Effect of interleukin-12 p40 subunit gene 3'-untranslated region polymorphism in chronic HCV infection. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 2011; 16(1):10-19.[persian]
25. Azimzadeh P, Mohebbi SR, Romani S, Kazemian SH, Mirtalebi H, Vahedi M, et al. Role of TGF- β 1 Codon 10 Polymorphism in Chronic Hepatitis C Patients. *Scientific Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2011; 13(4).[persian]
26. Knight JC, Udalova I, Hill AVS, Greenwood BM, Peshu N, Marsh K, et al. A polymorphism that affects OCT-1 binding to the TNF promoter region is associated with severe malaria. *Nature genetics*. 1999;22(2):145-50.
27. Penna A, Del Prete G, Cavalli A, Bertolotti A, D'Elis MM, Sorrentino R, et al. Predominant T-helper 1 cytokine profile of hepatitis B virus nucleocapsid-specific T cells in acute self-limited hepatitis B. *Hepatology*. 1997; 25(4):1022-7.
28. Bertolotti A, D'Elis MM, Boni C, De Carli M, Zignego A, Durazzo M, et al. Different cytokine profiles of intraphepatic T cells in chronic hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Gastroenterology*. 1997;112(1):193-9.
29. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in enzymology*. 1987; 155(1): 335-50.
30. Lo YMD, Chiu RWK, Chan KCA. *Clinical applications of PCR*. 2nd ed. Totowa; Humana Press, 2006.
31. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. 1986. *Biotechnology (Reading, Mass)*. 1992;24:17-27.
32. *PCR methods and applications*: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1991.
33. Basturk B, Karasu Z, Kılıc M, Ulukaya S, Boyacioglu S, Oral B. Association of TNF-[alpha]-308 polymorphism with the outcome of hepatitis B virus infection in Turkey. *Infection, Genetics and Evolution*. 2008;8(1):20-5.
34. Hajilooi M, Alizadeh AHM, Ranjbar M, Fallahian F, Alavian SM. E-Selectin Gene Polymorphisms in Iranian Chronic Hepatitis B Patients. *Hepatitis Monthly*. 2007; 7(4):211-6.