ORIGINAL ARTICLE

Survey on the Association of CCR5 Promoter -59353T/C Polymorphism with HCV Infection

Asieh Hosseini[1],
Zohreh Sharifi[2],
Fahimeh Baghbani-arani[3]

[1] Department of Genetics, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran
[2] Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran
[3] Department of Genetics, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

(Received July 8, 2013 ; Accepted September 24, 2013)

Abstract

Background and purpose: Hepatitis C is an acute or chronic liver disease worldwide. Chemokines and chemokine receptors are involved in the effective immune response to hepatitis C virus (HCV) infection through the efficient recruitment and activation of inflammatory cells to infected liver. The CC-chemokine receptor (CCR) 5 is expressed on the several cells of the immune system and has been reported that the CCR5-59353T/C polymorphism may be associated with HCV infection. Hence, this study was aimed to determine the association of this polymorphism with susceptibility to HCV infection in Iranian patients.

Material and methods: In this study, 100 HCV infected patients and 100 healthy individuals were randomly selected. Genomic DNA was extracted from blood buffy coat using the salting out method. The CCR5-59353(T/C) genotypes were determined using Allele Specific PCR method. The PCR products were electrophoresed on 1.5% agarose gel. The data were analyzed using Chi-square test.

Results: The frequency of C variant allele was 42% in HCV infected patients and 37% in healthy individuals which was not statistically significant (P= 0.3). Also, the frequency of CCR5-59353C/C genotype was 16% in patients infected with HCV and 12% in healthy individuals and no significant difference was observed between the two groups (P= 0.4).

Conclusion: Based on our findings, CCR5-593535T/C polymorphism is not effective in the study population as a host genetic factor in determining susceptibility to HCV infection.

Keywords: Chemokine receptor, Polymorphism, CCR5-59353, HCV

J Mazand Univ Med Sci 2014; 24(109): 46-53 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و سوم شماره ۱۰۹ بهمن سال ۱۳۹۲ (۵۳-۴۶)

بررسی ارتباط پلی مورفیسم پروموترژن CCR5 در موقعیت -59353T/C با عفونت HCV

آسیه حسینی[۱]
زهره شریفی[۲]
فهیمه باغبانی آرانی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: هپاتیت C یک بیماری حاد یا مزمن کبدی در سراسر جهان است. کموکاین‌ها و رسپتورهای کموکاینی با به‌کارگیری و فعال‌سازی سلول‌های التهابی به سمت کبد آلوده در ایجاد یک پاسخ ایمنی مؤثر علیه ویروس هپاتیت C (HCV) شرکت دارند. رسپتور کموکاینی CCR5 روی سلول‌های مختلفی از سیستم ایمنی بیان شده و گزارش شده است که پلی‌مورفیسم CCR5-59353T/C ممکن است با عفونت HCV مرتبط باشد. از این رو، این مطالعه به منظور تعیین ارتباط بین این پلی‌مورفیسم با استعداد ابتلا به عفونت HCV در بیماران ایرانی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۱۰۰ بیمار مبتلا به HCV و ۱۰۰ فرد سالم به طور تصادفی انتخاب شدند. با روش نمک اشباع DNA ژنومی از بافیکوت استخراج شد. ژنوتیپ‌های CCR5-59353(T/C) توسط روش PCR اختصاصی آلل تعیین شدند. محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند و برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون Chi-square استفاده شد.

یافته‌ها: فراوانی آلل واریانت C در گروه بیماران مبتلا به HCV ۴۲ درصد و در افراد سالم ۳۷ درصد بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (p=۰/۳). همچنین فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت CCR5-59353CC در بیماران مبتلا به HCV، ۱۶ درصد و افراد سالم ۱۲ درصد بود و هیچ تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد (p=۰/۴).

استنتاج: بر اساس یافته‌های ما پلی مورفیسم CCR5-59353T/C در جمعیت مورد مطالعه به عنوان یک فاکتور ژنتیکی میزبان جهت تعیین استعداد ابتلا به عفونت HCV تأثیرگذار نمی باشد.

واژه های کلیدی: رسپتور کموکاینی، پلی مورفیسم، CCR5-59353، HCV

مقدمه

ویروس هپاتیت C (HCV) یک RNA ویروس هپاتوتروپیک بوده که سبب بیماری‌های حاد یا مزمن کبدی در انسان می‌گردد(۱). بیش از ۱۷۰ میلیون نفر در جهان ناقل HCV هستند و در ایران شیوع این عفونت کم‌تر از ۱ درصد جمعیت عمومی می‌باشد(۲،۳). علاوه بر برخی از فاکتورهای ویروسی و اپیدمیولوژیک، فاکتورهای ژنتیکی میزبان در ابتلا به عفونت HCV، پیشرفت بیماری کبدی مرتبط با HCV و پاسخ به

مولف مسئول: زهره شریفی– تهران: بزرگ راه شیخ فضل الله نوری، تقاطع بزرگراه شهید همت، جنب رجمیلاد، سازمان انتقال خون ایران E-mail:z.sharifi@ibto.ir
۱. گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، اهر، ایران
۲. مرکز تحقیقات انتقال خون، موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران
۳. گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، پیشوا، ورامین، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۴/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۲/۶/۲۰ تاریخ تصویب : ۱۳۹۲/۷/۲

درمـان تأثیرگـذار هـستند. کموکـاین‌هـا گروهـی از سیتوکین‌های کموتاکسیک هستند کـه بـا اتـصال بـه G پروتئین همراه رسپتور، فعال شدن و مهاجرت لکوسیت‌هـا را به جایگاه عفونت تحریـک مـی‌کننـد و هـم‌چنـین در پاسخ‌های ایمنـی ذاتـی و اکتـسابی سیـستم ایمنـی نقـش دارند(۴). به طور اختصاصی واکنش بین کموکاین‌های CCL3 (macrophagic inflammatory protein 1α, MIP-1α), CCL4 (macrophagic inflammatory protein 1β, MIP-1β), CCL5 (regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted, RANTES)

و رسپتورشان یعنی CCR5 سبب به کارگیری، فعال‌سازی و تمایز سلولی جهت تنظیم عملکرد سلول‌های Tc1 (T Cytotoxic type 1) و Th1(T helper type 1) ترشح‌کننده سیتوکین تیپ ۱ می‌شود و ایـن سـلول‌هـا بـه سـمت کبـد عفـونی مهـاجرت کـرده و در پـاک‌سـازی سلول‌های کبدی آلوده با ویروس هپاتیـت C نقـش ایفـا می‌کنند(۵).

عامل اصلی التهـاب کبـدی در طـی عفونـت HCV مهاجرت سلول‌های التهابی تک هسته‌ای اسـت. بـه طـور قابل توجهی، لنفوسیت‌های نفـوذ کننـده بـه کبـد آلـوده سطوح بالایی از CCR5 را بیان می‌کنند که نـشان‌دهنـده تحریک پاسخ‌های ایمنـی ضـد ویروسـی توسـط تجمـع سلول‌های CCR5(+)Th1 در کبـد آلـوده اسـت. تـوالی کد کننده رسپتور کموکاینی CCR5 روی بازوی کوتـاه کرومـوزوم شـماره ۳ (3p21.3) قـرار دارد و پـس از ترجمـه روی سـلول‌هـایی نظیـر Th1، مونوسـیت‌هـا، سـلول‌هـای T خـاطره، سـلول‌هـای بنیـادی، سـلول‌هـای دندریتی، میکروگلیاها و لنفوسیت‌هـای TCD8(+) بیـان می‌شود(۶).

در سـال ۱۹۹۶، CCR5 بـه عنـوان یـک کورسـپتور جهـت ورود ویـروس HIV-1 (Human immunodeficiency virus-1) بـه سـلول میزبـان معرفـی شـد و مـشخص شـد کـه چنـدین پلـی مورفیـسم تـک نوکلئوتیـدی (SNP:singlenucleotide polymorphism) در ناحیـه پرومـوتر ایـن ژن بـا پیـشرفت بیمـاری ایـدز مـرتبط اسـت(۷،۸). ایـن SNP هـا عبارتنـد از موقعیـت 59029- برای پلی‌مورفیسم نوکلئوتیدی G به A، موقعیت 59353- بـرای پلـی‌مورفیـسم نوکلئوتیـدی T بـه C و موقعیـت -59402 برای پلی‌مورفیسم نوکلئوتیدی G به A به طوری که ژنوتیپ هموزیگوت این SNP ها با سرعت پیـشرفت ایدز در بیماران مبتلا بـه عفونـت HIV مـرتبط اسـت(۹). هم‌چنین گزارش شده است کـه پلـی‌مورفیـسم CCR5-59029G/G بـا پاسـخ پایـدار بـه درمـان اینترفرونـی در بیماران مبتلا به هپاتیـت C مـزمن مـرتبط اسـت امـا هـیچ شواهدی مبنی بر این‌که این پلی‌مورفیسم بیان CCR5 یـا عملکرد کموتاکسیک آن‌را در طول درمـان اینترفرونـی تغییر می‌دهد منتشر نشده اسـت(۱۰). در مطالعـه دیگـری نیز آلل CCR5-59029A به عنوان آلل مستعد برای ایجاد عفونت HCV وآلـل CCR5-59029G در جلـوگیری از ابتلا به عفونت HCV مـؤثر شـناخته شـده اسـت(۱۱). بـر اساس این یافته‌ها، از آن‌جا که تاکنون هیچ مطالعه‌ای در زمینه نقش پلـی مورفیـسم (T/C)59353- از پرومـوترژن CCR5 در استعداد ابتلا به عفونت HCV در ایران انجـام نـشده اسـت، لـذا هـدف از ایـن بررسـی تعیـین فراوانـی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم یاد شده در بیماران HCV و مقایسه این فراوانی ها در افراد بیمار نسبت به افراد سـالم است تا مشخص شود که آیا این SNP می‌تواند یکـی از عوامل ژنتیکـی تاثیرگـذار بـر اسـتعداد ابـتلا بـه عفونـت HCV در جمعیت ایران باشد یا نه.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد- شاهدی حجـم نمونـه انتخـابی بر اساس مطالعات مشابه انجـام شـده در دنیـا شـامل ۱۰۰ فرد سـالم بـدون هـیچ سـابقه ابـتلا بـه عفونـت HCV در محدوده سنی بین ۱۰ تـا ۸۲ سـال و ۱۰۰ بیمـار مبـتلا بـه HCV در محدوده سنی بین ۱۵ تا ۸۰ سـال بودنـد کـه از میان افراد مراجعه کننده بـه آزمایـشگاه تـشخیص بـالینی

سازمان انتقال خون ایران به صورت تصادفی انتخاب شدند. این پژوهش مورد تأیید کمیته اخلاق پزشکی قرار گرفت و شرکت کنندگان با پر کردن فرم پرسشنامه رضایت کتبی خود را مبنی بر شرکت در این پژوهش اعلام نمودند.

بر اساس نتایج مندرج در پرسشنامه، تمام افراد مورد مطالعه تحت هیچ گونه درمان ضد ویروسی قرار نداشته و از نظر HIV و ویروس هپاتیت B منفی بودند. افراد گروه شاهد فاقد آنتی‌بادی ضد HCV و یا HCV-RNA در سرم بودند. در صورتی که همه افراد گروه مورد شامل بیمارانی بودند که از نظر تستAnti-HCV به روش ELISA وتست HCV-RNA سرم به روشRT-PCR (reverse tanscription-polymerase chain reaction) مثبت بودند و در مرحله حاد عفونت قرار داشتند. نمونه‌های خون محیطی در لوله‌های حاوی پتاسیم EDTA (به عنوان ماده ضد انعقاد) از هر یک از افراد مورد مطالعه تهیه و پس از سانتریفیوژ در دور rpm ۲۷۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه لایه بافیکوت جداسازی و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز شدند.

استخراج DNA ژنومی از لایه بافیکوت با روش نمک اشباع انجام شد(۱۲). با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV (Camspec) نسبت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر (طول موجی که DNA حداکثر جذب را دارد) به ۲۸۰ نانومتر (طول موجی که در آن پروتئین حداکثر جذب را دارد) اندازه گرفته شد و نمونه‌هایی که بهترین خلوص را داشتند ($۱/۸<OD^{260}/_{280}<۲$) در ۸۰- درجه سانتی‌گراد جهت استفاده در فرآیند PCR فریز شدند.

جهت تعیین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم موقعیت (T/C)59353- از پروموتر ژن CCR5 روش PCR اختصاصی آلل (allele specific polymerase chain reaction method) استفاده شد. لذا نیاز به ۲ جفت پرایمر بود که پرایمرهای Forward مشترک و پرایمرهای Reverse تنها در یک نوکلئوتید موجود در انتهای ´3 شان با هم تفاوت داشتند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: توالی ۲ جفت پرایمر استفاده شده برای ژنوتایپینگ پلی مورفیسم CCR5-59353 (T/C)

نام پرایمر	توالی پرایمر [موقعیت اتصال بر روی رشته DNA الگو]	طول قطعه تکثیر شده (جفت باز)
59029G-59353T	Forward:۵´- GAGTGGAGAAAAAGGGGG -۳´ [59012-59029] Reverse:۵´- AGAATAGATCTCTGGTCTGAA<A>-۳´ [59374-59353]	۳۶۳
59029G-59353C	Forward:۵´-GAGTGGAGAAAAAGGGGG -۳´ [59012-59029] Reverse: ۵´- AGAATAGATCTCTGGTCTGAA<G>-۳´ [59374-59353]	۳۶۳

بنابراین برای هر یک از نمونه‌ها یک بار PCR با جفت پرایمر (59029G-59353T) CCR5 و یک بار با جفت پرایمر (59029G-59353C) CCR5 در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به شرح زیر انجام شد: ۱۲/۵ µl MasterMix 2X (Takara)، ۰/۵µl با غلظت ۱۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای Forward و Reverse (شرکت سیناژن)، ۵µl (۲۵ نانوگرم) DNA ژنومی استخراج شده و آب مقطر (به مقدار لازم تابه حجم ۲۵ µl برسد). PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (Corbett) در دمای واسرشت سازی اولیه ۹۸°C به مدت ۳ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل به ترتیب با دمای واسرشت سازی ۹۸°C به مدت ۱۰ ثانیه و دمای اتصال پرایمر ۵۵ °C به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه انجام شد و تکثیر نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام گردید. سپس محصول PCR تکثیر شده به کمک تکنیک الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مشاهده شد. در روند الکتروفورز اگر هر دو محصول PCR مربوط به یک نمونه، باند می‌داد نشان دهنده این بود که هر دو جفت پرایمری به توالی مکمل خود روی رشته DNA الگو جهت تکثیر قطعه مورد نظر متصل شده‌اند، در نتیجه نمونه موجود برای این پلی‌مورفیسم هتروزیگوت (CT) بود، اما اگر فقط محصول حاوی جفت پرایمر اختصاصی آلل T(59029G-59353T) باند می‌داد نشان دهنده هموزیگوت TT بود. هم‌چنین اگر

فقط محصول PCR حاوی جفت پرایمر اختصاصی آلل C(59029G-59353C) باند می‌داد نشان‌دهنده هموزیگوت موتانت CC بود. در هر بار که تست PCR انجام می‌شد دو نمونه کنترل که یکی ژنوتیپ هموزیگوت موتانت و دیگری ژنوتیپ هتروزیگوت را داشتند در کنار سایر نمونه‌ها PCR شان انجام می‌شد و پس از الکتروفورز بر اساس صحت باندهای ایجاد شده در نمونه‌های کنترل صحت انجام موفق واکنش PCR مربوطه تأیید می‌شد.

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-20 انجام گردید. نتایج داده‌های کمی با استفاده از آزمون student t test مستقل و داده‌های کیفی با استفاده از تست آماری Chi Square و ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن با بیماری با استفاده از مدل رگرسیون لوجستیک مورد ارزیابی قرار گرفتند. سطح معنی‌داری برای تمامی آزمون‌ها $p< ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

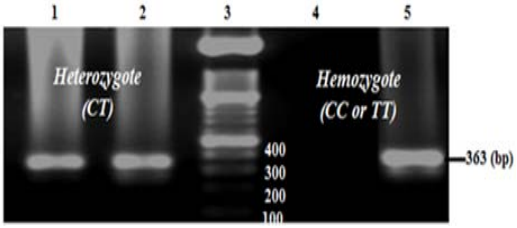
مشخصات دو گروه بیمار و سالم در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. میانگین سنی ۲۰۰ فرد مورد مطالعه در این پژوهش (شامل ۱۳۲ مرد و ۶۸ زن) ۱۶±۳۹/۵ سال بود. از نظر میانگین سنی بین گروه بیمار مبتلا به HCV و گروه شاهد سالم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (۳۸/۳ در مقابل ۴۰/۱، p=۰/۵).

نتایج حاصل از تایید تکثیر قطعه مورد نظر برای پلی‌مورفیسم CCR5-59353(T/C) که ۳۶۳ bp طول داشت، پس از الکتروفورز محصولات PCR اختصاصی آلل بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است.

برای هر نمونه DNA دو بار واکنش PCR انجام شد، یک بار با جفت پرایمر اختصاصی آلل T (59029G-59353T) و یک بار با جفت پرایمر اختصاصی آلل C(59029G-59353C). بنابراین برای هر نمونه ۲ میکروتیوپ موجود بود که در هر کدام از این میکروتیوپ ها یک جفت پرایمر اختصاصی آلل به همراه سایر اجزای واکنش PCR استفاده می‌شد. پس از انجام این نوع PCR در روند الکتروفورز اگر هر دو میکروتیوپ حاوی محصول PCR باند می دادند نشان دهنده این بود که هر دو جفت پرایمری قابلیت باند شدن با توالی مکمل خود روی رشته DNA الگو را داشته‌اند و نمونه موجود برای این پلی‌مورفیسم ژنوتیپ هتروزیگوت (CT) را دارد نظیر چاهک شماره ۱ و ۲. اما اگر فقط میکروتیوپ حاوی جفت پرایمر آلل T باند می‌داد نشان دهنده ژنوتیپ هموزیگوت TT بود و اگر فقط میکروتیوپ حاوی جفت پرایمر آلل C باند می داد نشان دهنده ژنوتیپ هموزیگوت موتانت CC بود نظیر چاهک شماره ۴ و ۵. طول هر یک از قطعات ایجاد شده ۳۶۳ جفت باز بود و چاهک شماره ۳ نشانگر DNA۱۰۰bp (XIV Roche) را نشان می‌دهد.

جدول شماره ۲: مشخصات گروه بیماران مبتلا به عفونت HCV و گروه سالم

متغیرها		گروه بیماران مبتلا به HCV	گروه افراد سالم	سطح معنی داری
تعداد		۱۰۰	۱۰۰	
جنسیت	زن	۲۹	۳۹	۰/۰۸
	مرد	۷۱	۶۱	۰/۱۷
سن (انحراف معیار±میانگین)		۳۸/۸ +۱۳/۴	۴۰/۱ +۱۸/۲	۰/۵۸
متوسط سطح آنزیم آلل آمینوترانسفراز (ALT)، IU/L		۱۳۵/۲	۲۵	۰/۰۰۰۱
متوسط سطح آنزیم آسپرتات آمینوترانسفراز (ALT)، IU/L		۱۲۵/۲	۲۲	۰/۰۰۰۱



تصویر شماره ۱: نتایج حاصل ازالکتروفورز محصولات PCR اختصاصی آلل بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد

فراوانی آلل واریانت C در گروه بیماران مبتلا به HCV ۴۲ درصد و در افراد سالم ۳۷ درصد بود که از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشت (P=۰/۳). فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت CCR5-59353CC نیز در بیماران HCV ۱۶ درصد و افراد سالم ۱۲ درصد بود و تفاوت

معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد (p=۰/۴). نتایج حاصل از بررسی فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم یاد شده برای دو گروه بیمار و کنترل در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

برای آن‌که بتوان تأثیر حضور آلل موتانت C را ارزیابی نمود، افراد هتروزیگوت که حاوی یک نسخه از آلل C می‌باشند با افراد هموزیگوت موتانت که حاوی دو نسخه از آلل C هستند با هم ترکیب و به صورت مدل غالب آلل C (شامل ژنوتیپ‌های CC+CT) ارائه شد. سپس جمعیت مورد مطالعه بر اساس حضور آلل C مورد مقایسه قرار گرفتند. همان‌طور که در جدول شماره ۳ دیده می‌شود آنالیز رگرسیون لوجستیک با ثابت نگه داشتن متغیرهای مداخله گر نظیر سن و جنس اختلاف معنی‌داری در فراوانی ناقلین آلل C بین بیماران مبتلا به هپاتیت C و افراد سالم نشان نداد (p=۰/۳)، به طوری‌که نسبت شانس ۰/۷۵ به دست آمد که با ۹۵ درصد سطح اطمینان این نسبت در جامعه ۱/۳۵-۰/۴۱ به دست آمد.

بحث

فاکتورهای ژنتیکی و ایمنی میزبان در استعداد ابتلا به یک ویروس یا چگونگی بیماری زایی آن می توانند نقش داشته باشند(۱۳). بیان رسپتور کموکاینی CCR5 روی لنفوسیت‌های T، همراه با بیان کموکاین اختصاصی بافت به عنوان فاکتورهای مهم کنترل مهاجرت لنفوسیت‌ها به جایگاه عفونت عمل می‌کنند(۱۴). اگرچه در این مطالعه مکانیسم دقیق اعمال اثر بیولوژیکی ناشی از وقوع پلی مورفیسم 59353T/C در ناحیه پروموتر ژن CCR5 مشخص نشده است، اما در یک‌سری مطالعات نشان داده شده است که وقوع برخی پلی‌مورفیسم‌ها در ناحیه پروموتری باعث تغییراتی در سطح رونویسی ژن CCR5 و تولید mRNA مرتبط با آن می‌گردند که این امر می‌تواند زمینه را برای استعداد ابتلا به عفونت ویروسی فراهم کند(۱۵،۱۶). مطالعات نشان داده‌اند که پلی‌مورفیسم هموزیگوت موتانت CCR5-59353C به همراه پلی‌مورفیسم CCR5-59029A منجر به ۴۵ درصد افزایش فعالیت پروموتری نسبت به پلی‌مورفیسم هموزیگوت CCR5-59029G/CCR5-59353T می‌شود. افزایش فعالیت پروموتری می‌تواند منجر به افزایش رونویسی از ژن CCR5 و در نتیجه تولید mRNA بیش‌تر و در نهایت بیان بیش‌تر CCR5 روی سطح لنفوسیت‌های T شود. در نتیجه فعال‌سازی و به‌کارگیری سلول‌های Th1/Tc1 به جایگاه عفونت یعنی کبد آلوده جهت ایجاد پاسخ ایمنی اختصاصی تیپ یک بیش‌تر می‌گردد(۱۷).

به عنوان مثال در مطالعه‌ای از ایالت مریلند در شمال شرقی آمریکا گزارش شد که افراد مبتلا به عفونت HCV حامل آلل واریانت CCR5-59029A پاسخ به درمان ضد ویروسی پایدارتری در طی درمان با داروی اینترفرون دارند(۱۸). اما در مطالعه دیگری از جمعیت تونس همین آلل واریانت با استعداد ابتلا به عفونت HCV و پیشرفت بیماری به سمت مزمن شدن مرتبط بیان شد(۱۹). یا مطالعه انجام شده بر روی نمونه‌های بیماران

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم CCR5-59353 (T/C) در گروه بیماران مبتلا به HCV و کنترل سالم

آلل	بیمار مبتلا به HCV (n =۱۰۰)	کنترل سالم (n =۱۰۰)	OR	سطح اطمینان ۹۵ درصد	سطح معنی داری
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)			
T	(۵۸) ۱۱۶	(۶۳) ۱۲۶			
C	(۴۲) ۸۴	(۳۷) ۷۴	۰/۸۲	۱/۲۳-۰/۵۴	۰/۳
ژنوتیپ					
TT	(۳۲) ۳۲	(۳۸) ۳۸			
CT	(۵۲) ۵۲	(۵۰) ۵۰	۰/۸۹	۱/۵۷-۰/۵۱	۰/۷
CC	(۱۶) ۱۶	(۱۲) ۱۲	۰/۷۳	۱/۶۴-۰/۳۲	۰/۴
مدل غالب آلل C (CC+CT)	(۶۸) ۶۸	(۶۲) ۶۲	۰/۷۵	۱/۳۵-۰/۴۱	۰/۳

مبتلا به HCV که از چند کلینیک کبدی بزرگ در سراسر اروپا گردآوری شده بود، وقوع پلی مورفیسم دیگری در موقعیت 2132- از پروموتر ژن CCR5 را با آلل واریانت C در استعداد ابتلا به عفونت پایدار HCV مرتبط گزارش کرد(۴).

در جمعیت کره نیز مطالعه‌ای در زمینه ارتباط پلی‌مورفیسم CCR5-59353(T/C) با عفونت هپاتیت B انجام شد و گزارش گردید که آلل واریانت این پلی‌مورفیسم (CCR5-59353C) با سیر بیماری به سمت مزمن شدن مرتبط است(۲۰).

در این مطالعه نیز که با هدف بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم CCR5-59353(T/C) با استعداد ابتلا به عفونت HCV انجام شد، در افراد مبتلا به هپاتیت C فراوانی ژنوتیپ T/T ۳۲ درصد، T/C ۵۲ درصد و ژنوتیپ هموزیگوت موتانت C/C ۱۶ درصد و در افراد سالم فراوانی ژنوتیپ T/T ۳۸ درصد، T/C ۵۰ درصد و C/C ۱۲ درصد بود، که هیچ تفاوت آماری معنی‌داری از نظر فراوانی ژنوتیپ‌ها بین دو گروه بیمار مبتلا به HCV و گروه سالم مشاهده نشد. هم‌چنین از نظر فراوانی آلل واریانت C که در گروه بیمار ۴۲ درصد و در گروه سالم ۳۷ درصد بود هم اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مورد مطالعه یافت نشد. بنابراین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که این پلی مورفیسم نمی‌تواند به عنوان یک فاکتور ژنتیکی میزبان مؤثر جهت تعیین استعداد ابتلا به عفونت HCV در جمعیت مورد مطالعه تأثیرگذار باشد.

به طور کلی از آن‌جا که در جمعیت‌های مختلف وقوع پلی‌مورفیسم در ناحیه پروموتری ژن CCR5 اثرات مختلفی را در ارتباط با عفونت HCV نشان می‌دهد و در جمعیت مورد مطالعه ما تفاوت معنی‌داری بین توزیع ژنوتیپ هموزیگوت موتانت CC و آلل واریانت C از پلی‌مورفیسم CCR5-59353 در گروه بیماران مبتلا به HCV و افراد کنترل سالم مشاهده نشد، لذا جهت بررسی بیشتر نقش این پلی مورفیسم در ابتلا به عفونت HCV پیشنهاد می‌گردد مطالعات جمعیتی بیش‌تری در این زمینه صورت گیرد، چرا که ایران یک کشور چند قومیتی است و ممکن است فراوانی این پلی‌مورفیسم در اقوام مختلف متفاوت باشد، بنابراین لازم است اقوام و نژادهای گوناگون از مناطق مختلف ایران، از نظر شیوع این پلی مورفیسم مورد بررسی قرار گیرند. این امر نه تنها به روشن شدن نقش این فاکتور ژنتیکی در استعداد ابتلا به عفونت HCV کمک می‌کند بلکه هم چنین به شناسایی افراد در معرض خطر کمک شایانی خواهد کرد.

سپاسگزاری

از موسسه عالی آموزش و پژوهش طب انتقال خون و کلیه کارکنان آزمایشگاه ویروس‌شناسی سازمان انتقال خون ایران که صمیمانه ما را در این مهم یاری کرده‌اند قدردانی و تشکر می‌گردد.

References

1. Sharma SD. Hepatitis C virus: molecular biology & current therapeutic options. Indian J Med Res 2010; 131: 17-34.
2. MohdHanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. Hepatology 2013; 57(4): 1333-1342.
3. Alavian SM, Adibi P, Zali MR. Hepatitis C virus in Iran: epidemiology of an emerging infection. Arch Iranian Med 2005; 8(2): 84-90.
4. Hellier S, Frodsham AJ, Hennig BJ, Klenerman P, Knapp S, Ramaley P, et al. Association of genetic variants of the chemokine receptor CCR5 and its ligands, RANTES and MCP-2, with outcome of HCV

infection. Hepatology 2003; 38(6): 1468-1476.
5. Ahlenstiel G, Woitas RP, Rockstroh J, Spengler U. CC-chemokine receptor 5 (CCR5) in hepatitis C—at the crossroads of the antiviral immune response? J Antimicrob Chemother 2004; 53(6): 895-898.
6. Coenen M, Nattermann J. The role of CCR5 in HCV infection. Eur J Med Res 2010; 15(3): 97-101.
7. Dragic T, Litwin V, Allaway GP, Martin SR, Huang Y, Nagashima KA, et al. HIV-1 entry into CD4cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. Nature 1996; 381(6584): 667-673.
8. McDermott DH, Zimmerman PA, Guignard F, Kleeberger CA, Leitman SF, Murphy PM. CCR5 promoter polymorphism and HIV-1 disease progression. Multicenter AIDS Cohort Study (MACS). Lancet 1998; 352(9131): 866-870.
9. Mummidi S, Ahuja SS, Gonzalez E, Anderson SA, Santiago EN, Stephan KT, et al. Genealogy of the CCR5 locus and chemokine system gene variants associated with altered rates of HIV-1 disease progression. Nat Med 1998; 4(7): 786-793.
10. Konishi I, Horiike N, Hiasa Y, Michitaka K, Onji M. CCR5 promoter polymorphism influences the interferon response of patients with chronic hepatitis C in Japan. Intervirology 2004; 47(2): 114-120.
11. Al-Sharif FM, JiffriOAl, Azhar EI. CCR5Δ32 andCCR5-59029 allele frequency among hepatitis C virus infected and in non-HCV infected Saudi Population. World Appl Sci J (cytokine) 2011; 56(1): 611-614.
12. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16(3): 1215.
13. Khajavi R, Rafiei A, Haghshenas MR, Hosseini-khah Z, Farazmandfar T, Sharbafi R. Association between Interleukin-28B genetic variants and hepatitis C. J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(95): 19-27 (Persian).
14. Ferna´ndez-Mestre MT, Montagnani S, Layrisse Z. Is the CCR5-59029-G/G genotype a protective factor for cardiomyopathy in Chagas disease? Hum Immunol 2004; 65(7): 725-728.
15. Wu L, Paxton WA, Kassam N, Ruffing N, Rottman JB, Sullivan N, et al. CCR5 levels and expression pattern correlate with infectability by macrophage-tropic HIV-1, in vitro. J Exp Med 1997; 185(9): 1681-1691.
16. Paxton WA, Liu R, Kang S, Wu L, Gingeras TR, Landau NR, et al. Reduced HIV-1 infectability of CD4+ lymphocytes from exposed-uninfected individuals: association with low expression of CCR5 and high production of beta-chemokines. Virology 1998; 244(1): 66-73.
17. Larrubia JR, Benito-Martínez S, Calvino M, Sanz-de-Villalobos E, Parra-Cid T. Role of chemokines and their receptors in viral persistence and liver damage during chronic hepatitis C virus infection. World J Gastroenterol 2008; 14(47): 7149-7159.
18. Promrat K, McDermott DH, Gonzlez CM, Kleiner DE, Koziol DE, Lessie M, et al. Associations of chemokine system polymorphisms with clinical outcomes and treatment responses of chronic hepatitis C. Gastroenterology 2003; 124(2): 352-360.
19. KsiaaCheikhRouhou L, Gorgi YL, Skhiri HA, Aouadi H, Ayed SJ, Sfar I, et al. Chemokine and chemokine receptor gene polymorphism in Tunisian hemodialysis patients with HCV infection. Arab J Nephrol Transplant 2011; 4(3): 117-124.

20. Ahn SH, Kim DY, Chang HY, Hong SP, Shin JS, Kim YS, et al. Association of genetic variations in CCR5 and its ligand, RANTES with clearance of hepatitis B virus in Korea. J Med Virol 2006; 78(12): 1564-1571.