

Genetic Association between Interleukin-12 Receptor B₁ Polymorphism (rs3746190 A/G) and Susceptibility to Chronic Hepatitis B Virus Infection

Mojtaba Salehi^{1,2},
Seyed Reza Mohebbi³,
Mehrdad Ravanshad⁴,
Maryam Karkhaneh⁵,
Pedram Azimzadeh⁶,
Behta Keshavarz Pakseresh⁵,
Yasin Hatami⁷,
Mohammad Reza Zali⁸

¹ MSc in Medical Virology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Department of Virology, Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

⁵ MSc in Microbiology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁶ PhD Student in Molecular Biology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁷ MSc in Basic Genetics, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁸ Professor, Department of Gastroenterology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received August 2, 2015 Accepted October 14, 2015)

Abstract

Background and purpose: Cytokines are a group of endogenous proteins which play an influential role in regulating the inflammatory responses and defeating infectious diseases. Elevated levels of proinflammatory cytokines and their receptors are usually observed in association with immune responses against viral infections such as hepatitis B virus (HBV) infection. IL 12 and its receptor play an important role in the clearance of viral infections, especially HBV. The aim of this study was to investigate the association between interleukin 12 receptor B1 gene single nucleotide polymorphism (rs3746190 A/G) and chronic HBV infection susceptibility.

Materials and methods: In a case control study, genomic DNA of 150 chronic HBV infected patients and 150 healthy controls was extracted by salting out method and single nucleotide polymorphism (rs3746190 A/G) was genotyped using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

Results: A total of 300 individuals were studied. The frequency of rs3746190 A/G gene for CC, CT, TT genotypes was 40.7%, 46%, and 13.3% in chronic patients and 38%, 49.3%, and 12.7% in control group, respectively. After genotyping and statistical analysis, no significant difference was seen between the cases and controls (P=0.845).

Conclusion: This study did not find any significant association between rs3746190 A/G single nucleotide polymorphism of the IL12RB1 gene and susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. Therefore, polymorphism in gene IL12RB1 is not an effective factor for susceptibility to chronic HBV.

Keywords: Hepatitis B virus, single nucleotide polymorphisms, IL-12 receptor B1, chronic hepatitis

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 26(133): 111-118 (Persian).

ارتباط ژنتیکی پلی مورفیسم ژن گیرنده اینترلوکین ۱۲ (rs3746190 A/G) B₁ با استعداد ابتلا به عفونت مزمن ویروس هپاتیت B

مجتبی صالحی^۱
سید رضا محبی^۳
مهرداد روانشاد^۴
مریم کارخانه^۵
پدرام عظیم زاده^۶
بهتا کشاورز پاک سرشت^۵
یاسین حاتمی^۷
محمد رضا زالی^۸

چکیده

سابقه و هدف: سایتوکین ها گروهی از پروتئین های داخلی هستند که نقش موثری در تنظیم واکنش های التهابی و مقابله با بسیاری از بیماری های عفونی بازی می کنند. سطوح بالای سایتوکین های پیش التهابی و گیرنده های آن ها، معمولاً در ارتباط با پاسخ های ایمنی علیه عفونت های ویروسی از جمله عفونت ویروس هپاتیت B (HBV) مشاهده می گردند. اینترلوکین ۱۲ و گیرنده آن نقش مهمی را در پاکسازی عفونت های ویروسی، خصوصاً هپاتیت B بر عهده دارند. هدف این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم (rs3746190 A/G) در ژن گیرنده اینترلوکین ۱۲ B₁ و استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت B مزمن می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، DNA ژنومیک مربوط به ۱۵۰ بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن و ۱۵۰ فرد سالم توسط روش Salting out استخراج شد. ژنوتایپ مربوط به پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (rs3746190A/G)، توسط روش PCR-RFLP توالی یابی شد.

یافته ها: از مجموع ۳۰۰ فرد مورد مطالعه، فراوانی ژنوتایپی CC, CT, TT در افراد بیمار به ترتیب ۴۰/۷ درصد، ۴۶ درصد، ۱۳/۳ درصد و در گروه سالم به ترتیب ۳۸ درصد، ۴۹/۳ درصد و ۱۲/۷ درصد به دست آمد. بعد از مراحل ژنوتیپی و آنالیزهای آماری، اختلاف معناداری بین گروه بیمار و سالم مورد مطالعه مشاهده نگردید (p=۰/۸۴۵).

استنتاج: نتایج حاصل از مطالعه هیچ ارتباطی بین پلی مورفیسم (rs3746190 A/G) در ژن گیرنده اینترلوکین ۱۲ B₁ و استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت B مزمن را نشان نداد. بنابراین به نظر می رسد این پلی مورفیسم را نمی توان به عنوان فاکتور موثری در استعداد ابتلا به هپاتیت B مزمن به شمار آورد.

واژه های کلیدی: ویروس هپاتیت B، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی، گیرنده B₁ اینترلوکین ۱۲، هپاتیت مزمن

مقدمه

سایتوکین ها گروهی از پروتئین های داخلی هستند که یک نقش حیاتی را در تنظیم واکنش های التهابی بازی می کنند که این عمل را از طریق مجموعه ای از وقایع منطبق بر هم انجام می دهند (۱). آن ها به عنوان

E-mail: sr.mohebbi@sbmu.ac.ir

مؤلف مسئول: سیدرضا محبی: تهران: ولنجک، خیابان یمن، خیابان پروانه، بیمارستان طالقانی

۱. کارشناسی ارشد ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳. استادیار، گروه ویروس شناسی، مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری های دستگاه گوارش، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴. دانشیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۵. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۶. دانشجوی دکتری بیولوژی مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۷. کارشناسی ارشد ژنتیک پایه، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۸. استاد، گروه گوارش، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۱۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۷/۱۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۷/۲۲

طور عمده از ماکروفاژهای فعال شده و یا سلول‌های دندریتیک در بدن ترشح می‌شود و به گیرنده اینترلوکین ۱۲ (IL12 Receptor) متصل می‌شود و به عنوان یک القا کننده قوی برای Th_1 (T Helper) عمل می‌کند (۸). گیرنده اینترلوکین ۱۲ شامل دو زیرواحد β_1 و β_2 می‌باشد که از لحاظ ساختاری در ارتباط با خانواده گیرنده سایتوکین تیپ یک می‌باشد (۱۰). بخش P40 IL12 به زیرواحد گیرنده β_1 و بخش IL12 P35 با زیرواحد β_2 متصل می‌شود (۱۱). فعالیت بیولوژیکی IL12 و IL23 وابسته به زیرواحد β_1 می‌باشد (۱۲). زیر واحد β_1 گیرنده اینترلوکین ۱۲، سطح بالایی از تغییرات نوکلئوتیدی را نشان می‌دهد که در ارتباط با استعداد ابتلا به شمار زیادی از بیماری‌ها است (۱۳). تنوع ژنتیکی در جمعیت میزبان از جمله پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژن‌های دخیل در پاسخ ایمنی خصوصاً ژن‌های سایتوکین‌ها می‌تواند تاثیر مهمی در ابتلا به بیماری‌های مختلف داشته باشند و در کنترل عفونت‌های مزمن (۱۴، ۱۵) و نیز سرطان (۱۶، ۱۷) مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی اثر پلی مورفیسم (rs3746190 A/G) در ژن گیرنده اینترلوکین ۱۲ B_1 بر روی بیماران مراجعه کننده به بیمارستان آیت‌الله طالقانی تهران، در استعداد ابتلا به عفونت مزمن هپاتیت B می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه موردی-شاهدی، نمونه‌گیری از ۱۵۰ بیمار و ۱۵۰ فرد سالم مراجعه کننده به بیمارستان آیت‌الله طالقانی تهران طی سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ انجام گرفت و با توجه به این که این مطالعه به صورت مطالعه اولیه (pilot study) مطرح بود، مقدار نمونه‌ها برابر با ۱۵۰ نفر بیمار و ۱۵۰ نفر سالم در نظر گرفته شد. افراد سالم کسانی بودند که از نظر آزمایش HBs Ag و Anti HbC منفی بوده و فاقد هرگونه سابقه و علائم مربوط به بیماری‌های کبدی بودند و افراد بیمار مورد مطالعه کسانی بودند که مبتلا به هپاتیت B مزمن بوده و

میانجی و تنظیم کننده بسیاری از محیط‌های موضعی عمل می‌کنند و واکنش‌های ایمنولوژیکی، خون‌سازی، تحریک پاسخ میزبان به عوامل عفونی و التهابی را تنظیم می‌کنند (۲) و نقش مهمی را در دفاع علیه عفونت‌های ویروسی بر عهده دارند. به‌طور غیرمستقیم از طریق تعیین الگوی پاسخ میزبانی و به‌طور مستقیم از طریق مهار تکثیر ویروسی عملکرد خود را انجام می‌دهند (۳). تولید سایتوکین‌ها تحت کنترل سیستم ژنتیک می‌باشد و غلظت افزایش یافته آن‌ها مرتبط با التهاب یا پیشرفت بیماری می‌باشد (۴). از جمله بیماری‌های ویروسی مهم در جهان عفونت هپاتیت B می‌باشد که به عنوان مسئله اصلی در بهداشت جهانی مطرح است. علی‌رغم وجود واکسیناسیون علیه آن، این عفونت هنوز هم در سراسر جهان شایع است و مسئول بسیاری از مرگ و میرها می‌باشد (۵). سازمان بهداشت جهانی بر اساس شواهد سرولوژیکی، افراد آلوده به عفونت هپاتیت B را دو میلیارد نفر تخمین زده است که ۳۶۰ میلیون نفر از آن‌ها وارد فاز مزمن بیماری شده‌اند و در خطر بیماری‌های کبدی مرتبط با HBV هستند. تقریباً یک سوم از تمام افراد مبتلا به سیروز کبدی و نیمی از تمام موارد سرطان هپاتوسلولار را می‌توان به عفونت هپاتیت B مزمن نسبت داد (۶).

پاک نمودن ویروس از بدن و رفع موفق آن به سن و وضعیت ایمنی بستگی دارد. در رفع عفونت، هر دو پاسخ ایمنی ذاتی و اختصاصی اهمیت دارد. شاخص مشترک در هر دو پاسخ ایمنی که منجر به کاهش و حتی حذف HBV در مرحله حاد می‌شود و نیز در پاسخ التهابی ضد ویروس نقش دارد، سایتوکاین‌ها می‌باشند (۷). اینترلوکین ۱۲ نقش اساسی و مهمی را در هر دو ایمنی ذاتی و اکتسابی بر عهده دارد و در دفاع علیه پاتوژن‌های داخل سلولی مطرح است (۸). این سایتوکین، یک سایتوکین هترودایمی است که از دو زیر واحد P35 و P40 که به صورت پیوند دی سولفیدی به هم متصل شده‌اند، تشکیل شده است و ژن‌های کد کننده آن‌ها به ترتیب روی کروموزوم‌های ۳ و ۵ قرار دارند (۹) که به

بیماری ایشان از نظر Anti HbC Ab و HBs Ag توسط روش الایزا (Diapro Diagnostics, Italy) مورد تایید قرار گرفته بود. از تمام افراد وارد شده به طرح، رضایت نامه اخلاقی مورد تایید مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه شهید بهشتی گرفته شد. از هر فرد مورد مطالعه، ۴ میلی لیتر خون کامل محیطی گرفته شد و برای جلوگیری از لخته شدن به لوله‌های حاوی خون، ضدانعقاد EDTA اضافه شد و برای تخلیص DNA ژنومیک روش Salting Out مورد استفاده قرار گرفت (۱۸). روش تخلیص بدین صورت بود که در ابتدا گلبول‌های قرمز موجود در خون کامل توسط محلول‌های لیزکننده حذف شد، سپس استخراج گلبول‌های سفید از آن صورت گرفت که به آن اصطلاحاً شستشوی خون نیز گفته می‌شود و در نهایت استخراج DNA از گلبول سفید توسط پروتکل خاص استخراج، انجام پذیرفت. DNA ژنومیک در بافر Tris-EDTA و ۲۰- سانتی گراد تا زمان انجام فرآیند ژنوتایپینگ ذخیره شد. جهت تعیین ژنوتیپ افراد، روش قطعات پلی مرازی محدود شده طولی (PCR-RFLP) مورد استفاده قرار گرفت. از نرم‌افزارهای Gene Runner و Primer 3 جهت طراحی پرایمر استفاده شد و از روش BLAST سایت مرکز ملی اطلاعات زیست فناوری (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) برای تایید پرایمر طراحی شده استفاده شد. توالی‌های پرایمرها در جدول شماره ۱ درج شده است.

جدول شماره ۱: مشخصات پرایمرها و آنزیم با اثر محدود

پلی مورفیسم	توالی پرایمر	آنزیم محدودکننده	فوتیپ آلی
3746190 A/G	F: 5'-GCTAGACATCCATCGCTCCTG-3	Eco 881(Ava I)	T: 294 bp
3	R: 5'-CAAATGTGACTCTGTGTGTGC-3		C: 259 bp+35bp

۱ میکرولیتر از DNA ژنومیک را به مخلوط واکنش که حاوی ۲/۵ میکرولیتر بافر Taq DNA polymerase، ۱ میکرولیتر کلرید منیزیم (MgCl₂)، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (یکتاتجهیز آزما، ایران) و ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر

(بیونیر، کره جنوبی) می‌باشد، اضافه و حجم نهایی مواد مخلوط شده درون میکروتیوپ را با آب مقطر به ۲۵ میکرولیتر رساندیم و جهت انجام چرخه‌های واکنش PCR درون دستگاه ترموسایکلر اتوماتیک (اپندورف آلمان) قرار دادیم. برنامه مورد استفاده برای PCR به شرح زیر بود: ابتدا واسرشت اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد برای جدا شدن دو رشته DNA از هم انجام گرفت و به دنبال آن ۳۷ چرخه تکثیری (هر چرخه شامل سه مرحله دمایی ۹۴ درجه سانتی گراد برای مدت ۴۵ ثانیه، ۶۶ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ ثانیه (دمای اتصال پرایمر)، ۷۲ درجه سانتی گراد برای مدت ۴۵ ثانیه (جهت ساخته شدن رشته مکمل و طولیل شدن رشته DNA)) انجام و در انتها در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه جهت تکثیر نهایی قطعه DNA اعمال گردید. جهت آشکارسازی محصول PCR به روش الکتروفورز از ژل آگارز (PeQ Lab، آلمان) ۱ درصد که با بافر TBE 1X تهیه شده بود و رنگ آمیزی گرین ویور (Green Viewer) در مقابل نور فرابنفش استفاده شد. سپس محصول PCR با آنزیم محدودالانتر 881 Eco (Ava I) مربوط به شرکت فرمنتاز که جایگاه SNP مورد نظر را برش می‌دهد، به شرح زیر وارد واکنش شد: ۱۰ میکرولیتر محصول PCR را به مخلوطی که حاوی ۲ میکرولیتر بافر (Buffer Tango) و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم محدودالانتر 881 Eco (Ava I) می‌باشد، اضافه و با آب مقطر به حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر رساندیم و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد و آنزیم مورد نظر توسط برنامه NEBcutter (New England Biolabs) به دست آمد. محصول هضم آنزیمی نیز با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۳ درصد تهیه شده با بافر TBE 1X آشکارسازی شد. آگارز یک پلی ساکارید است که از واحدهای تکرار شونده آرابینوز دی ساکارید تشکیل شده است. غلظت بالاتر آگارز منافذ ریزتر به وجود می‌آورد که

طور که در شکل دیده می شود، چاهک های شماره ۱، ۳، ۶، ۷ هموزیگوت (TT) و چاهک های شماره ۴ و ۵ هتروزیگوت (CT) و چاهک شماره ۲ هموزیگوت (CC) می باشد. چاهک ۸ حاوی محصول PCR و چاهک ۹ حاوی Ladder 50bp می باشد.

تمام افراد سالم و بیمار شرکت کننده در طرح از نظر سن و جنس با هم مطابقت داشتند و از تمام ۳۰۰ فرد مورد مطالعه، ۱۰۶ مرد (۵۳ بیمار- ۵۳ سالم) و ۱۹۴ زن (۹۷ بیمار- ۹۷ سالم) بودند که ارتباط سنی یکسان نیز در هر دو گروه رعایت شده بود و میانگین سنی و انحراف معیار در هر دو گروه یکسان و $38/38 \pm 12/75$ محاسبه شد. درصد فراوانی زن و مرد نیز در هر دو گروه به ترتیب ۶۴/۷ درصد و ۳۵/۳ درصد بود. توزیع فراوانی ژنوتایپ های به دست آمده در جدول شماره ۲ آمده است. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه بین افراد مبتلا به هیپاتیت B مزمن و افراد سالم از نظر ژنوتایپ IL12RB₁ اختلاف معنی داری وجود ندارد و فراوانی ژنوتایپ های (CC,CT,TT) به ترتیب در بیماران ۱۳/۳ درصد، ۴۶ درصد، ۴۰/۷ درصد و در افراد سالم ۱۲/۷ درصد، ۴۹/۳ درصد و ۳۸ درصد محاسبه شد ($p=0/845$).

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی ژنوتایپ های به دست آمده

ژنوتیپ	تعداد بیمار (درصد)	تعداد شاهد (درصد)	OR(CI=0.95)	سطح معنی داری
CC	(۴۰/۷)۶۱	(۳۸)۵۷	گروه مرجع	
CT	(۴۶)۶۹	(۴۹)۳۴	۱/۱۴(۰/۷۰ - ۱/۸۶)	۰/۵۸
TT	(۱۳)۲۰	(۱۲)۱۹	۱/۰۱۷(۰/۴۳ - ۲/۰۹)	۰/۹۶

بحث

لنفوسیت های T تنظیم کننده، نقش مهمی را در پاسخ میزبان علیه عفونت هیپاتیت B و هیپاتیت C بازی می کنند و تحقیقات نشان داده است که پاسخ ایمنی به واسطه سایتوکین های Th₁ در ارتباط با بهبودی عفونت می باشد (۱۹). در حالی که سایتوکین های Th₂ در توسعه عفونت پایدار نقش دارند (۲۰). عدم تعادل بین سایتوکین های پیش التهابی (Th₁) و سایتوکین های ضد التهابی (Th₂)، ممکن است نقش مهمی را در ایمنوپاتولوژی عفونت هیپاتیت B داشته باشد که از آن

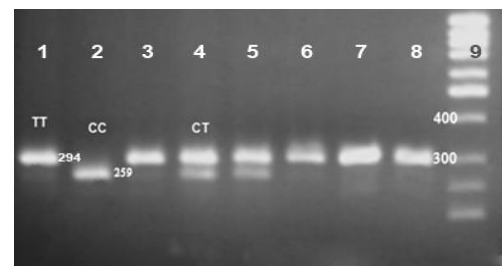
قدرت تفکیک اندازه DNA را افزایش می دهد و چون محصولات هضم آنزیمی ما نزدیک به هم بود، از ژل آگارز ۳ درصد استفاده شد. جهت اثبات صحت نتایج حاصل از روش PCR-RFLP، ۱۰ درصد نمونه ها به طور تصادفی انتخاب و توسط روش تعیین توالی مستقیم توالی یابی شدند. تحلیل آماری داده ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام و مقدار کم تر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. تست های آماری T-Test و Chi-square جهت بررسی نمونه ها مورد استفاده قرار گرفت.

یافته ها

طول قطعه حاصل از PCR برابر با ۲۹۴ جفت باز (Base Pair) می باشد و بعد از مجاورت با آنزیم مورد نظر، برش محصول PCR به سه صورت دیده شد که اگر برش از محل (۲۹۴) باشد، به صورت هموزیگوت (TT) و اگر برش از محل های (۳۵، ۲۵۹، ۲۹۴) باشد، به صورت هتروزیگوت (CT) و اگر برش در محل های (۳۵، ۲۵۹) باشد، به صورت هموزیگوت (CC) مطرح است که در تصاویر شماره ۱ و ۲ نشان داده شده اند.



تصویر شماره ۱: نتیجه الکتروفورز محصول PCR با اندازه ۲۹۴bp (چاهک ۱ تا ۵). چاهک ۶ نمونه کنترل مثبت، چاهک ۷ کنترل منفی و چاهک ۸ مربوط به Ladder 50bp (Fermentas) می باشد.



تصویر شماره ۲: نتیجه الکتروفورز محصول هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۳ درصد. قطعات حاصل از برش آنزیمی RFLP همان

می‌توان برای پیش‌بینی وضعیت بیماری، میزان پیشرفت و پیامد بیماری‌های کبدی مزمن استفاده کرد (۲۱). تنوع در آزادسازی سایتوکین‌ها به‌طور عمده مرتبط با پلی‌مورفیسم در داخل یا نزدیک ژن می‌باشد (۲۲، ۱۴). پلی‌مورفیسم در ژن گیرنده اینترلوکین ۱۲ B1۱۲ توانایی اینترلوکین ۱۲ را در افزایش تکثیر لنفوسیت و هم‌چنین فعالیت لیزکنندگی سلول‌های NK و نیز فعالیت مسیرهای وابسته به STAT4 تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۳). پلی‌مورفیسم‌های موجود در ژن گیرنده اینترلوکین B1۱۲ با تعدادی از بیماری‌ها در ارتباط بوده است. در مطالعاتی که توسط Fang Tang و همکاران در کشور چین انجام گرفت، پلی‌مورفیسم ژن گیرنده اینترلوکین B1۱۲ با استعداد ابتلا به بیماری SARS ارتباط داشته است (۲۴). در مطالعه دیگری که بر روی جمعیت کره در ارتباط پلی‌مورفیسم ژن گیرنده اینترلوکین B1۱۲ با آلرژی‌های پوستی انجام گرفت، دیده شد که این پلی‌مورفیسم ارتباط مشخصی با خطر ابتلا به آلرژی‌های پوستی داشته است (۲۵). در مطالعاتی که اثر پلی‌مورفیسم ژن گیرنده اینترلوکین B1۱۲ بر روی بیماران سل (مایکوباکتریوم توبرکلوزیس) انجام گرفت، دیده شده است که پلی‌مورفیسم در این ژن در استعداد ابتلای افراد به این بیماری موثر بوده است (۲۶). در مطالعات Giatrakos و همکاران در کشور یونان، پلی‌مورفیسم ژن گیرنده اینترلوکین B1۱۲ یک عامل اصلی در استعداد ابتلا به بیماری پوستی (Hidradenitis suppurativa) شناخته شد (۲۷). در مطالعه Kim و همکاران در کشور کانادا، در مورد ارزیابی ارتباط ابتلا به GVHD (Graft-versus-host disease) با پلی‌مورفیسم‌های خاص، دیده شد که پلی‌مورفیسم در ژن TGFB2(rs3746190) در فرد گیرنده با خطر ابتلا به بیماری مزمن ریوی پیوند علیه میزبان و نیز پلی‌مورفیسم در ژن B1۱۲ گیرنده اینترلوکین ۱۲ (rs3746190) با استعداد ابتلا به بیماری مزمن دهانی پیوند علیه میزبان در ارتباط است (۲۸). تنوع و تفاوت در سکانس DNA انسان‌ها می‌تواند نحوه

ایجاد بیماری‌ها، پاسخ به پاتوژن‌ها، مواد شیمیایی، داروها و واکسن‌ها و سایر عوامل را تحت تاثیر قرار دهد و با توجه به اهمیت پلی‌مورفیسم‌ها و تفاوت نتایج مشاهده شده در جمعیت‌ها و نژادهای مختلف، مطالعه بر روی پلی‌مورفیسم ژن‌ها در نقاط مختلف دنیا به خاطر ذخایر ژنتیکی مختص به هر جامعه نتایج متفاوتی داشته و لازم است بررسی‌های ژنتیکی در هر جامعه‌ای مطالعه و سپس نتایج به‌طور جامع بررسی شود و از نتایج آن در پیشبرد اهداف بالینی و بررسی عوامل مولکولی سبب‌ساز بیماری‌ها بهره جست. در ایران تاکنون مطالعه‌ای بر روی این گیرنده و ارتباط آن با بیماری HBV صورت نگرفته است. پیشنهاد می‌شود برای حصول نتایج وسیع‌تر و فراگیر، مطالعه با تعداد بیش‌تری نمونه و در دیگر پلی‌مورفیسم‌های مرتبط با اینترلوکین ۱۲ و گیرنده آن انجام گیرد.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با بررسی نتایج به دست آمده از مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین گروه بیمار و سالم به دست نیامد و توزیع ژنوتایپی در بین افراد بیمار و سالم تقریباً یکسان و محل پلی‌مورفیسم مورد مطالعه از نظر آماری معنی‌دار نبود و این پلی‌مورفیسم نمی‌تواند فاکتور و پیش‌آگهی موثری در استعداد ابتلا به هپاتیت B مزمن باشد و بین پلی‌مورفیسم مورد مطالعه و حساسیت افراد در ابتلا به هپاتیت B مزمن ارتباطی وجود ندارد و شاید پلی‌مورفیسم‌های دیگری در استعداد ابتلا موثر باشند.

سپاسگزاری

مقاله حاضر با حمایت پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام پذیرفت. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از پرسنل محترم آزمایشگاه مرکز تحقیقات گوارش و بیماری‌های کبد بیمارستان آیت الله طالقانی به ویژه خانم‌ها محبوبه علیزاده و مریم متانی به خاطر همکاری بردبارانه‌شان، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. Biancofiore G, Bindi L, Miccoli M, Metelli MR, Panicucci E, Baggiani A, et al. Balance of pro-and anti-inflammatory cytokines in cirrhotic patients undergoing liver transplantation. *Transpl immunol* 2013; 28(4): 193-197.
2. Stenzen JA, Poschenrieder AJ. Bioanalytical chemistry of cytokines-A review. *Anal Chim Acta* 2015; 853: 95-115.
3. Rehmann B, Pasquinelli C, Mosier SM, Chisari FV. Hepatitis B virus (HBV) sequence variation of cytotoxic T lymphocyte epitopes is not common in patients with chronic HBV infection. *J Clin Inves* 1995; 96(3): 1527-1534.
4. Schenk T, Irth H, Marko-Varga G, Edholm LE, Tjaden UR, van der Greef J. Potential of on-line micro-LC immunochemical detection in the bioanalysis of cytokines. *J Pharm Biomed Anal* 2001; 26(5-6): 975-985.
5. Pan CQ, Zhang JX. Natural history and clinical consequences of hepatitis B virus infection. *Int J Med Sci* 2005; 2(1): 36-40.
6. Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev* 2006; 28: 112-125.
7. Guidotti LG, Isogawa M, Chisari FV. Host-virus interactions in hepatitis B virus infection. *Curr Opin Immunol* 2015; 36: 61-66.
8. Gately MK, Renzetti LM, Magram J, Stern AS, Adorini L, Gubler U, et al. The interleukin-12/interleukin-12-receptor system: role in normal and pathologic immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 495-521.
9. Croxford AL, Kulig P, Becher B. IL-12-and IL-23 in health and disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2014; 25(4): 415-421.
10. Chua AO, Chizzonite R, Desai BB, Truitt TP, Nunes P, Minetti LJ, et al. Expression cloning of a human IL-12 receptor component. A new member of the cytokine receptor superfamily with strong homology to gp130. *J Immunol* 1994; 153(1): 128-136.
11. Presky DH, Yang H, Minetti LJ, Chua AO, Nabavi N, Wu C-Y, et al. A functional interleukin 12 receptor complex is composed of two β -type cytokine receptor subunits. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(24): 14002-14007.
12. Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B, et al. Novel p19 Protein Engages IL-12p40 to Form a Cytokine, IL-23, with Biological Activities Similar as Well as Distinct from IL-12. *Immunity* 2000; 13(5): 715-725.
13. Robinson RT. IL12Rbeta1: the cytokine receptor that we used to know. *Cytokine* 2015; 71(2): 348-359.
14. Khanizadeh S, Ravanshad M, Mohebbi SR, Naghoosi H, Abraham Tahaei M, Mousavi Nasab SD, et al. Polymorphisms within the promoter region of the gamma interferon (IFN- γ) receptor1 gene are associated with the susceptibility to chronic HBV infection in an Iranian population. *Hepat Mon* 2012; 12(11): e7283.
15. Zhang A, Wan Z, You S, Liu H, Zhu B, Chen J, et al. Association of Hepatitis B Virus Mutations of A1846T and C1913A/G With Acute-on-Chronic Liver Failure Development From Different Underlying Chronic Liver Diseases. *Hepat Mon* 2013; 13(9): e12445.
16. Milanizadeh S, Mohammad Alizadeh AH, Azimzadeh P, Romani S, Roshani M, Khan Yaghma M, et al. Association of D19H

-
- polymorphism of ABCG8 gene with gallstone susceptibility. *Medical Science Journal of Islamic Azad University-Tehran Medical Branch* 2013; 23(3): 185-189.
17. Milanizadeh S, Mohamadizadeh AH, Azimzadeh P, Romani S, Khanyaghma M, Mohebbi SR, et al. Association of CCKAR Gene Polymorphism with Gallstone Disease. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services* 2013; 35(1): 86-91.
18. 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.
19. Hultgren C, Milich DR, Weiland O, Sallberg M. The antiviral compound ribavirin modulates the T helper (Th) 1/Th2 subset balance in hepatitis B and C virus-specific immune responses. *The Journal of General Virology* 1998; 79(Pt 10): 2381-2391.
20. Fan XG, Liu WE, Li CZ, Wang ZC, Luo LX, Tan DM, et al. Circulating Th1 and Th2 cytokines in patients with hepatitis C virus infection. *Mediators Inflamm* 1998; 7(4): 295-297.
21. Sofian M, Aghakhani A, Farazi AA, Banifazl M, Eslamifar A, Rashidi N, et al. Serum Profile of T Helper 1 and T Helper 2 Cytokines in Hepatitis C Virus Infected Patients. *Hepat Mon* 2012; 12(12): e6156.
22. Chakravarty R. Host genetic factors in hepatitis B virus infection. *Int J Hum Genet* 2005; 5(1): 33-36.
23. Lajtha A, Banik N. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Neural Protein Metabolism and Function*: Springer; 2007.
24. Tang F, Liu W, Zhang F, Xin Z-T, Wei M-T, Zhang P-H, et al. IL-12 RB1 genetic variants contribute to human susceptibility to severe acute respiratory syndrome infection among Chinese. *PloS One* 2008; 3(5): e2183.
25. Namkung JH, Lee JE, Kim E, Kim S, Kim S, Shin ES, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in the IL-12 (IL-12A and B) and IL-12 receptor (IL-12R β 1 and β 2) genes and gene-gene interactions with atopic dermatitis in Koreans. *J Dermatol Sci* 2010; 57(3): 199-206.
26. Akahoshi M, Nakashima H, Miyake K, Inoue Y, Shimizu S, Tanaka Y, et al. Influence of interleukin-12 receptor β 1 polymorphisms on tuberculosis. *Hum genet* 2003; 112(3): 237-243.
27. Giatrakos S, Huse K, Kanni T, Tzanetakou V, Kramer M, Grech I, et al. Haplotypes of IL-12R β 1 impact on the clinical phenotype of hidradenitis suppurativa. *Cytokine* 2013; 62(2): 297-301.
28. Kim D, Won HH, Su S, Cheng L, Xu W, Hamad N, et al. Risk stratification of organ-specific GVHD can be improved by single-nucleotide polymorphism-based risk models. *Bone Marrow Transplant* 2014; 49(5): 649-656.