گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره بیستم، شمارهٔ ۶، خرداد۱۳۹۷، صفحه ۵۲-۴۶

عدم همراهی ژنتیکی پلی مورفیسم rs1946518 اینترلوکین ۱۸ و عفونت مزمن هپاتیت B

مجتبی صالحی (MSc)[۱]، سید رضا محبی (PhD)[۲*]، مریم کارخانه (MSc)[۱]، شبنم کاظمیان (MSc)[۲]، پدرام عظیم زاده (PhD)[۳]، مهسا سعیدی نیاسر (MSc)[۲]، افسانه شریفیان (MD)[۲]، محمدرضا زالی (MD)[۲]

۱-مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری‌های دستگاه گوارش، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲-مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳-مرکز تحقیقات بیماری‌های ناشی از آب و غذا، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

دریافت: ۹۶/۹/۱۱، اصلاح: ۹۶/۱۱/۲۸، پذیرش: ۹۷/۱/۶

خلاصه

سابقه و هدف: اینترلوکین ۱۸ عضوی از سایتوکین ها است که با القای فعالیت اینترفرون گاما با همکاری اینترلوکین ۱۲، نقش مهمی را در پاسخ ایمنی با واسطه سلول های Th1 بازی می کند. اینترلوکین ۱۲ و اینترلوکین ۱۸ می توانند نقش مهمی در پاکسازی ویروس ها داشته باشند. با توجه به اهمیت اینترلوکین ۱۸، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم (rs1946518 :C/A 607-) در ژن اینترلوکین ۱۸ و استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت B مزمن انجام گردید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، DNA ژنومیک مربوط به ۱۱۵ بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن (با نتایج مثبت تست های سرولوژیک HBsAg و Anti-HBcAb) و ۱۱۵ فرد کنترل غیرمبتلا به هپاتیت B (با نتایج منفی تست های سرولوژیک HBsAg و Anti-HBc Ab و عدم سابقه بیماری کبدی) با روش Salting out استخراج و ژنوتایپ مربوط به پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (rs1946518 :C/A 607-)، توسط روش PCR-RFLP توالی یابی شد.

یافته ها: فراوانی ژنوتایپی GG, GT, TT در افراد بیمار به ترتیب ۴۰٪، ۴۹/۶ ٪ و ۱۰/۴ ٪ و در گروه سالم به ترتیب ۴۱/۷ ٪، ۴۲/۶ ٪، ۱۵/۷ ٪ بدست آمد. اختلاف آماری معنی داری بین گروه بیمار و سالم مورد مطالعه مشاهده نشد.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه، ارتباط مشخصی بین پلی مورفیسم اینترلوکین ۱۸ و استعداد ابتلا به عفونت هپاتیت B مزمن وجود نداشت. بنابراین این پلی مورفیسم نمی تواند یک عامل موثر در استعداد ابتلا به هپاتیت B مزمن باشد.

واژه‌های کلیدی: اینترلوکین ۱۸، عفونت مزمن هپاتیت، ویروس هپاتیت B، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی.

مقدمه

اینترلوکین ۱۸ عضوی از سایتوکین ها است که با القای فعالیت اینترفرون گاما با همکاری اینترلوکین ۱۲، نقش مهمی را در پاسخ ایمنی با واسطه سلول‌های Th_1 بازی می کند. اینترلوکین ۱۲ و اینترلوکین ۱۸ باعث فعال شدن ایمنی ذاتی و اکتسابی می شوند و تولید بیش از حد آنها با فعال شدن ماکروفاژها باعث اختلالات سیستم ایمنی بدن می شود(۱). ژن mRNA اینترلوکین ۱۸ در طیف وسیعی از سلول ها از جمله سلول های کوپفر کبدی، ماکروفاژها، سلول های T، سلول های B، استئوبلاست ها، کراتینوسیت ها، دندرتیک سلها، سلول های آستروسیت و میکروگلیال بیان شده است. این سایتوکین خصوصیات مشترکی با اینترلوکین ۱۲ مانند تحریک اینترفرون گاما، افزایش تولید و اثر سلول های کشنده طبیعی، تحریک و تمایز سلول های Th1 را بر عهده دارند. علی رغم شباهت عملکردی با اینترلوکین ۱۲، این سایتوکین از لحاظ ساختاری شبیه به اینترلوکین۱ می باشد و سیستم گیرنده و مسیر انتقال سیگنالینگ آن مشابه با گیرنده اینترلوکین یک است (۲). اینترلوکین ۱۸ به فرم پیش سازهای غیر فعال تولید می شود و توسط کاسپاز یک (آنزیم تبدیل کننده در اینترلوکین ۱) ICE=IL 1B Converting Enzyme، به فرم فعال تبدیل می شوند(۳). اینترلوکین ۱۸ و اینترلوکین ۱ از گیرنده های متفاوتی استفاده می کنند ولی سیستم سیگنالینگ درون سلولی مشترکی دارند (۴). اینترلوکین ۱۸ برای انجام عملکرد خود به گیرنده خود متصل می شود، گیرنده اینترلوکین ۱۸ شامل دو زنجیره α و β می باشد که وجود هر دو برای شروع و انتقال سیگنالینگ مورد نیاز است. زنجیره α برای اتصال لیگاند و زنجیره β برای ارسال پیام سیگنالینگ مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). تولید سایتوکین های پیش التهابی مثل اینترلوکین ۱، اینترلوکین ۱۲، اینترلوکین ۱۸ نشان دهنده وقایع اولیه مکانیسم دفاعی بدن در برابر عوامل بیماریزا می باشد ولی تولید بیش از حد آنها نیز خود مسئول بسیاری از آسیب های بافتی می باشند(۶). بخاطر اینکه اینترلوکین ۱۸عضو شبکه سایتوکین های التهابی

▣ این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۷۹۸ پژوهشکده بیماریهای گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می باشد.
* مسئول مقاله: دکتر سیدرضا محبی
آدرس: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد. تلفن:۰۲۱-۲۲۴۳۲۵۲۵
E-mail:sr.mohebbi@sbmu.ac.ir

اســت می توانـد نقش مهمی در پـاکســازی عوامل عفونی از بدن یا پیشــرفت بیماری های التهابی به سـوی مزمن شـدن داشته باشد. یافته های اخیر نشان می دهد که ناحیه پروموتوری ژن اینترلوکین ۱۸، بیان این ژن را تنظیم می‌کند(۷). دو پلی مورفیسم در موقعیت A/C ۶۰۷ و G/C ۱۳۷ برای تغییر فعالیت پروموتوری اینترلوکین ۱۸ مطرح بوده است(۸). تولید سایتوکین ها تحت کنترل سیستم ژنتیک می باشـد و غلظت افزایش یافته آنها فعالیت مسیرهای سایتوکین مرتبط با التهاب یا پیشـرفت بیماری را نشـان می دهد(۹). از جمله بیماری های ویروسـی مهم در جهان عفونت هپاتیت B می‌باشـد که به عنوان مسـئله اصـلی در بهداشت جهانی مطرح اسـت. علی رغم وجود واکسـیناسیون علیه آن، عفونت هپاتیت B هنوز هم در سراسر جهان شایع است و مسئول بسیاری از مرگ و میرها می‌باشد(۱۰). حدود یک سـوم از جمعیت جهان به عفونت هپاتیت B آلوده هستند و شش درصد ناقل مزمن هسـتند و بیش از ششصد هزار نفر در هر سال به خاطر عوارض ناشی از آن جان خود را از دسـت می دهند(۱۱). تنوع ژنتیکی در جمعیت میزبان از جمله پلی مورفیسـم تک نوکلئوتیدی در ژنهای دخیل در پاسـخ ایمنی خصـوصـا ژن‌های سایتوکین ها می توانند تاثیر مهمی در ابتلا به بیماری های مختلف داشته باشند و مطـالعاتی نیز در زمینه بیماریهای مزمن (۱۲, ۱۳) و سـرطان ها (۱۴, ۱۵) انجام گرفته اسـت. هدف از این مطالعه بررسـی اثر پلی مورفیسـم (C/A:rs۱۹۴۶۵۱۸ -۶۰۷) در ژن اینترلوکین ۱۸ بر روی بیماران مراجعه کننده به بیمارسـتان آیت الله طالقانی تهران، در استعداد ابتلا به عفونت مزمن هپاتیت B می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه موردی – شـاهدی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشـکی شهید بهشتی با کد اخلاق IR.SBMU.RIGLD.REC. ۹۴.۱۴۵ و کسـب رضـایت آگاهانه، بر روی ۱۱۵ بیمار و ۱۱۵ فرد سـالم مراجعه کننده به بیمارسـتان آیت الله طالقانی تهران انجام گرفت و با توجه به مقالات مشـابه (۱۶, ۱۷) و اینکه این مطالعه بصـورت مطالعه اولیه (pilot study) مطرح بود، این تعداد از نمونه انتخاب شـد. افراد گروه کنترل با نتیجه منفی آزمایشـات سـرولوژی HBs Ag و Anti HBc Ab و فاقد هرگونه سابقه و علائم مربوط به بیماری های التهابی کبدی و در گروه مورد، افراد بیمار کسـانی بودند که مبتلا به هپاتیت B مزمن بوده و بیماری ایشان از نظر HBs Ag و Anti HBc Ab حداقل ۶ ماه مثبت بوده، بدن قادر به پاکسـازی آنها نبوده و توسط روش الایزا (Diapro Diagnostics, Italy) مورد تائید قرار گرفته بود(۱۸) وارد مطالعه شـدند. در صورت عدم رضایت افراد برای شرکت در تحقیق، سابقه عفونت همزمان با HIV، HCV و یـا HDV از مطـالعه خارج شـدند. از هر فرد ۴ میلی لیتر خون کامل محیطی گرفتـه شـد و جهـت ممانعت از لخته شـدن به لوله های حاوی خون، ضدانعقاد EDTA اضافه شد و برای تلخیص DNA ژنومیک روش Salting Out مورد استفاده قرار گرفت(۱۹). DNA ژنومیک در بافر Tris–EDTA و ۲۰- سـانتی گراد تا زمان انجام فرآیند ژنوتایپینگ ذخیره شـد. برای تعیین ژنوتیپ در افراد، روش قطعات پلی مرازی محدود شـده طولی (PCR - RFLP) مورد اسـتفـاده قرار گرفـت. از نرم افزارهای Gene Runner و Primer3 جهت طراحی پرایمر استفاده شد و از روش BLAST سایت مرکز ملی اطلاعات زیست فنـاوری (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) برای تـاییـد پرایمر طراحی شـده اسـتفاده شـد. توالی های پرایمرها در جدول ۱ درج شـده اسـت. به مخلوط واکنش کـه حـاوی ۲/۵ میکرولیتر بـافر Taq DNA polymerase، ۰/۷۵ مـیـکـرولـیتر کلریـد منیزیم (Mgcl2)، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase، ۰/۵ میکرولیتر dNTP و ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر می باشد، ۲ میکرولیتر از DNA ژنومیـک را اضـافـه و تـا رسـیـدن به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر مخلوط درون میکروتیوپ آب مقطر اضـافه شـد و جهت انجام چرخه های واکنش PCR درون دسـتگاه ترموسـایکلر اتوماتیک (اپندورف آلمان) قرار گرفت.

برنامه مورد اسـتفاده برای PCR بشرح زیر بود: ابتدا واسرشت اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سـانتی گراد برای جدا شـدن دو رشـته DNA از هم انجـام گرفت و به دنبال آن ۳۹ چرخه تکثیری که هر چرخه شـامل سـه مرحله دمایی ۹۴ درجه سـانتی گراد برای مدت ۴۵ ثانیه، ۶۳ درجه سـانتی گراد به مدت ۳۵ ثانیه(دمای اتصـال پرایمر)، ۷۲ درجه سـانتی گراد برای مدت ۴۵ ثانیه(جهت سـاخته شدن رشته مکمل و طویل شدن رشته DNA بود، انجام و در انتها دمای ۷۲ درجه سـانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه جهت تکثیر نهایی قطعه DNA اعمال گردید. جهت آشـکارسـازی محصـول PCR به روش الکتروفورز از ژل آگارز (PeQ Lab، آلمان) ۱ ٪ که با بافر TBE 1X تهیه شـده بود و رنگ آمیزی گرین ویوور (Green Viewer) در مقابل نور فرابنفش استفاده شد.

سپس محصول PCR با آنزیم محدودالاثر Tru1I (MseI) مربوط به شرکت فرمنتاز که جایگاه SNP مورد نظر را برش می دهد، به شرح زیر وارد واکنش شد: ۱۰ میکرولیتر محصول PCR را به مخلوطی که حاوی ۲ میکرولیتر بافر (Buffer Red) و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم محدودالاثر Tru1I (MseI) می باشد، اضافه و با آب مقطر به حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر رساندیم و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و آنزیم مورد نظر توسط برنامه NEBcutter بدست آمد. محصول هضم آنزیمی نیز با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۳ ٪ تهیه شده با بافر TBE 1X آشکارسازی 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.

داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ تجزیه و تحلیل شدند و p<۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. تست های آماری T-Test و Chi-square جهت بررسی نمونه ها مورد استفاده قرار گرفت.

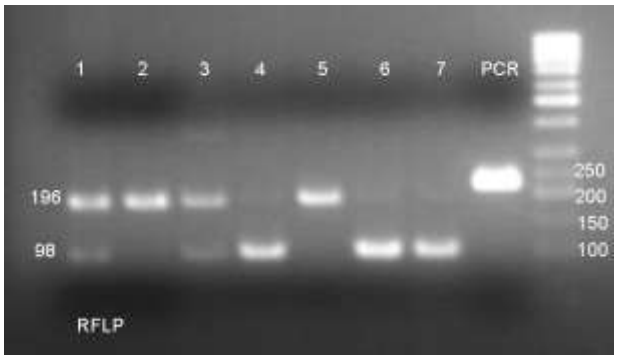
جدول ۱. مشخصات پرایمرها و آنزیم با اثر محدود

پلی مورفیسم	توالی پرایمر	آنزیم محدود کننده	فنوتیپ آللی
-1946518 C/A	F: 5- GATTTACTTTTCAGTGGAAGAGG -3 R: 5- AGT CTT TGC TAT CAT TCG AGG -3	Tru1I (MseI)	G: 196 bp+35 bp T: 98 bp+98 bp+35 bp

یافته ها

طول قطعه حاصل از PCR برابر با ۲۳۱ جفت باز(Base Pair) می باشد و بعد از مجاورت با آنزیم محدود کننده، برش محصول PCR به سه صورت دیده می شود که اگر از محل(۱۹۶ و ۳۵) برش زده باشد بصورت هموزیگوت بالا (GG) و اگر برش از محل های (۱۹۶، ۹۸، ۳۵) باشد بصورت هتروزیگوت (GT) و اگر برش از محل های (۹۸، ۹۸، ۳۵) باشد بصورت هموزیگوت پایین (TT) مطرح است که در شکل های ۱ و ۲ نشان داده شده اند.

شکل ۱. نتیجه الکتروفورز محصول PCR با اندازه ۲۳۱ bp (چاهک ۱ تا ۴). چاهک ۵ نمونه کنترل منفی و چاهک ۶ مربوط به Ladder 50bp (Fermentas) می باشد.



شکل ۲. نتیجه الکتروفورز محصول هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۳٪. قطعات حاصل از برش آنزیمی RFLP. همان طور که در شکل دیده می شود چاهک‌های شماره ۲ و ۵ هموزیگوت بالا (GG) و چاهک‌های شماره ۱ و ۳ هتروزیگوت (GT) و چاهک های شماره ۴، ۶ و ۷ هموزیگوت پایین (TT) می باشند. چاهک ۸ حاوی محصول PCR و چاهک ۹ حاوی Ladder 50bp می باشد.

از تمام ۲۳۰ فردی که وارد مطالعه شده بودند، ۷۰ نفر(۳۰/۴٪) از آنها مرد (۳۵ بیمار – ۳۵ سالم) و ۱۶۰ نفر(۶۹/۶٪) زن (۸۰ بیمار–۸۰ سالم) بودند که ارتباط سنی یکسان نیز در هر دو گروه رعایت شده بود و رنج سنی افراد بین ۱۸ تا ۷۰ سال بود و میانگین سنی ۱۳/۲۵±۳۶/۶۳ سال بود. ژنوتایپ GT بیشترین فراوانی (۴۹/۶٪) را در گروه بیمار و سالم داشت(جدول ۲). براساس نتایج حاصل از مطالعه بین افراد مبتلا به هپاتیت B مزمن و افراد سالم از نظر ژنوتایپ IL18 اختلاف معنی داری وجود نداشت. با این وجود براساس نتایج بدست آمده، ژنوتیپ هتروزیگوت GT در بیماران هپاتیت B مزمن (۴۹/۶٪ در مقابل ۴۲/۶٪، p=۰/۴۹) و ژنوتیپ هموزیگوت TT در گروه شاهد (۱۵/۷٪ در مقابل ۱۰/۴٪، p=۰/۳۹) بعنوان ژنوتیپ های غالب مشاهده شدند.

جدول ۲. توزیع فراوانی ژنوتایپ های به دست آمده

ژنوتیپ	بیمار تعداد(درصد)	شاهد تعداد(درصد)	OR(CI-95%)	P-value
GG	(۴۰)۴۶	(۴۱/۷)۴۸	گروه مرجع	
GT	(۴۹/۶)۵۷	(۴۲/۶)۴۹	۰/۸۲(۰/۴۷–۱/۴)	۰/۴۹
TT	(۱۰/۴)۱۲	(۱۵/۷)۱۸	۱/۴(۰/۶۲–۳/۳)	۰/۳۹

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که با وجود اهمیت پلی مورفیسم های ژن اینترلوکین ۱۸، همراهی ژنتیکی معنی داری بین پلی مورفیسم rs۱۹۴۶۵۱۸ و عفونت مزمن هپاتیت B وجود ندارد. تعادل بین Th1 و Th2 نتیجه واکنش های ایمنی درگیر در بیماری های خود ایمنی و آلرژیک را تعیین می‌کند. در بیماری های انسانی تولید سلول‌های CD4+ T نقش اصلی را بر عهده دارند و سایتوکین های در ارتباط با Th1 و Th2 در ثبات اختلالات خودایمنی درگیر هستند(۲۰).

پاسخ سیستم ایمنی میزبان به عفونت ها، باعث واکنش سریع سایتوکین ها می شود که آن هم مکانیسم های حذف ارگانیسم مهاجم را تسریع می کند، هنگامی که خطر حذف شد، تولید سایتوکین ها متوقف شده و آسیب بافتی برطرف می گردد. در مقابل عدم تعادل در تولید سایتوکین ها باعث آسیب بافتی پیشرونده می شود (۲۱). افزایش سطح اینترلوکین ۱۸ در ارتباط با بیماری های خود ایمن بوده و دیده شده است که مسدود کردن اینترلوکین ۱۸ اثر مفیدی در بهبود بیماری های خودایمنی و التهابی داشته است. از جمله این بیماری ها می توان به مالتیپل اسکلروزیس، میاستنی گراویس، آرتریت روماتوئید، لوپوس اریتماتوس، بیماری کرون، دیابت نوع ۱ اشاره کرد(۲۲). تولید سایتوکین ها تحت کنترل سیستم ژنتیک می باشد و غلظت افزایش یافته آنها فعالیت مسیرهای سایتوکین مرتبط با التهاب یا پیشرفت بیماری را نشان می دهد(۹).

ژن کد کننده سایتوکین ها یکی از کاندیداها در میان عوامل ژنتیکی میزبان به حساب می آید که پلی مورفیسم در پروموتور ژن می تواند منجر به تولید سطوح مختلف سایتوکین ها و پاسخ ایمنی منحصر به فرد شود(۲۳). پلی مورفیسم های موجود در ژن اینترلوکین ۱۸ با تعدادی از بیماری ها در ارتباط بوده است. در مطالعه Migita و همکاران بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم پروموتور اینترلوکین ۱۸ در موقعیت ۶۰۷ و ۱۳۷ و پیشرفت بیماری های کبدی در بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن، دیده شد که ژنوتایپ AA در موقعیت ۶۰۷ و آلل C در موقعیت ۱۳۷ در افراد سالم به طور چشمگیری بیشتر از افراد مبتلا به هپاتیت B مزمن با پیشروی بیماری های کبدی بود(۲۴). در مطالعه Ramazi و همکاران بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم A/C -۶۰۷ ژن اینترلوکین ۱۸ با میزان ایمونوگلوبین E سرم به عنوان یک عامل خطر برای بیماری رتینیت آلرژیک، دیده شد که ژنوتایپ AC با افزایش سطح ایمونوگلوبین E موجود در سرم مرتبط می باشد که این می تواند موید تاثیر این پلی مورفیسم در بروز این بیماری باشد(۲۵). در مطالعه Nikiteas و همکاران در کشور یونان در بررسی ارتباط بین هتروزیگوسیتی پلی مورفیسم

A/C۶۰۷- ژن اینترلوکین ۱۸ و استعداد ابتلا به سرطان کلورکتال، دیده شد که آلل A در افراد بیمار به طور معنی داری بیشتر از افراد سالم بود(۲۶). در مطالعه Teixeira و همکاران در کشور آمریکا در بررسی نقش پلی مورفیسم C/A:rs۱۹۴۶۵۱۸ ۶۰۷- و C/G: rs۱۸۷۲۳۸ ۱۳۷- ژن اینترلوکین ۱۸ در استعداد ابتلا به سرطان هپاتوسلولار، تفاوت معنی داری در فراوانی آلل و ژنوتایپ در موقعیت ۶۰۷ بین بیماران مبتلا به سرطان هپاتوسلولار و افراد سالم بدست نیامد ولی بررسی موقعیت ۱۳۷ نشان داد که آلل C در افراد مبتلا به سرطان هپاتوسلولار بیشتر از افراد سالم بود(۲۷).

در مطالعه Vairaktaris و همکاران در کشور آلمان در بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم A/C ۶۰۷- ژن اینترلوکین ۱۸ و استعداد ابتلا به سرطان دهان و دندان هیچ ارتباط معنی داری بین دو گروه بیمار و سالم بدست نیامد (۲۸). با توجه به اهمیت پلی مورفیسم ها در استعداد ابتلا به بیماری ها و اثرات آنها در سیر بیماری ها و نیز تفاوت نتایج در جمعیت ها و نژادهای مختلف، مطالعات در مورد آنها لازم و ضروری به نظر می رسد. در ایران تاکنون مطالعه ای بر روی این پلی مورفیسم و ارتباط آن با بیماری هپاتیت B مزمن انجام نگرفته است. پیشنهاد می شود جهت حصول نتایج جامع و قابل استناد مطالعه با جمعیت آماری بیشتر و در سایر پلی مورفیسم های مرتبط با این سایتوکین و در افرادی که در فاز حاد بیماری سیستم ایمنی بدن توانسته ویروس را به کلی از بدن حذف نماید، انجام گیرد. با بررسی نتایج حاصل از مطالعه و آنالیزهای آماری، علی رغم افزایش نسبی ژنوتایپ GT در افراد بیمار نسبت به افراد سالم، تفاوت معنی داری بین گروه بیمار و سالم از نظر توزیع ژنوتایپی بدست نیامد و توزیع ژنوتایپی بین هر دو گروه تقریبا یکسان بود. بین پلی مورفیسم مورد مطالعه و استعداد افراد در ابتلا به بیماری هپاتیت B مزمن ارتباط مشخص و قابل استنادی بدست نیامد و ارتباط دیگر پلی مورفیسم های دخیل در این سایتوکین با استعداد ابتلا به این بیماری محتمل است.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از پرسنل آزمایشگاه مرکز تحقیقات گوارش و بیماری های کبد بیمارستان آیت الله طالقانی به ویژه خانمها فرحناز جباریان و المیرا خلیلی و آقای مهدی طلوعی مقدم تقدیر و تشکر می‌گردد.

Lack of Genetic Association between Interleukin-18 Gene Polymorphism (rs1946518) and Chronic Hepatitis B Infection

M. Salehi(MSc)[1], S.R. Mohebbi (PhD)[2*], M. Karkhane (MSc)[1], Sh. Kazemian(MSc)[2], P. Azimzadeh (PhD)[3], M. Saeedi Niasar (MSc)[2], A. Sharifian (MD)[2], M.R. Zali (MD)[2]

1.Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
2.Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
3.Foodborne and Waterborne Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(6); June 2018; PP: 46-52
Received: Dec 2nd 2017, Revised: Feb 17th 2018, Accepted: Mar 26th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Interleukin 18 is a member of the cytokines that play an important role in the Th1-mediated immune response by inducing interferon-gamma activity in collaboration with Interleukin-12 (IL-18). Interleukin 12 and Interleukin 18 can play an important role in purifying viruses. Considering the importance of IL-18, this study was conducted to investigate the relationship between Interleukin-18 Gene polymorphism (-607 C/A: rs1946518) and the susceptibility to chronic hepatitis B infection.

METHODS: In this case-control study, the genomic DNA of 115 patients with chronic hepatitis B (with positive results of HBsAg and Anti-HBcAb serology testing) and 115 non-HBV-infected controls (negative results of HBsAg and Anti-HbcAb serology testing and no history of liver disease) was extracted by salting-out method and the genotype of single-nucleotide polymorphism (-607 C / A: rs1946518) was sequenced using PCR-RFLP method.

FINDING: The genotype frequency of TT, GT, and GG in patients was 40%, 49.6%, and 10.4% in patients, and 41.7%, 42.6%, and 15.7% in the control group, respectively. No significant difference was found between the patients group and the control group.

CONCLUSION: Based on the results of this study, there was no clear relationship between IL-18 polymorphism and the potential for chronic hepatitis B infection. Therefore, this polymorphism cannot be a potential factor for chronic hepatitis B.

KEY WORDS: *Interleukin 18, Chronic Hepatitis, Hepatitis B Virus, Single-Nucleotide Polymorphism.*

Please cite this article as follows:

Salehi M, Mohebbi SR, Karkhane M, Kazemian Sh, Azimzadeh P, Saeedi Niasar M, Sharifian A, Zali MR. Lack of Genetic Association between Interleukin-18 Gene Polymorphism (rs1946518) and Chronic Hepatitis B Infection. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(6):46-52.

*Corresponding Author: S.R. Mohebbi (PhD)
Address: Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
Tel: +98 21 22432525
Email: sr.mohebbi@sbmu.ac.ir

References

1.Akira S. The role of IL-18 in innate immunity. Curr Opin Immunol. 2000 Feb;12(1):59-63.

2.Bazan JF, Timans JC, Kastelein RA. A newly defined interleukin-1? Nature. 1996;379(6566):591.

3.Tone M, Thompson S, Tone Y, Fairchild PJ, Waldmann H. Regulation of IL-18 (IFN-gamma-inducing factor) gene expression. J Immunol. 1997;159(12):6156-63.

4.Parnet P, Garka KE, Bonnert TP, Dower SK, Sims JE. IL-1Rrp is a novel receptor-like molecule similar to the type I interleukin-1 receptor and its homologues T1/ST2 and IL-1R AcP. J Biolog Chem. 1996;271(8):3967-70.

5.Sims JE. IL-1 and IL-18 receptors, and their extended family. Curr Opin Immunol. 2002;14(1):117-22.

6.Lay JD, Tsao CJ, Chen JY, Kadin ME, Su IJ. Upregulation of tumor necrosis factor-alpha gene by Epstein-Barr virus and activation of macrophages in Epstein-Barr virus-infected T cells in the pathogenesis of hemophagocytic syndrome. J Clin Invest. 1997;100(8):1969-79.

7.McInnes IB, Gracie JA, Leung BP, Wei XQ, Liew FY. Interleukin 18: a pleiotropic participant in chronic inflammation. Immunol today. 2000;21(7):312-5.

8.Giedraitis V, He B, Huang WX, Hillert J. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. J Neuroimmunol. 2001;112(1-2):146-52.

9.Schenk T, Irth H, Marko-Varga G, Edholm L, Tjaden U, van der Greef J. Potential of on-line micro-LC immunochemical detection in the bioanalysis of cytokines. J Pharm Biomed Anal. 2001;26(5):975-85.

10.Pan CQ, Zhang JX. Natural history and clinical consequences of hepatitis B virus infection. Int J Med Sci. 2005;2(1):36-40.

11.World Health Organization. Hepatitis B. 2002. Geneva, Switzerland: World Health Organization. http://www.who.int/iris/handle/10665/67746.

12.Khanizadeh S, Ravanshad M, Mohebbi SR, Naghoosi H, Tahaei MA, Nasab SDM, 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.

13.Behelgardi A, Hosseini SM, Mohebbi SR, Azimzadeh P, Derakhshani S, Karimi K, et al. A Study on Genetic Association of Interleukin-16 Single Nucleotide Polymorphism (rs1131445) With Chronic Hepatitis B Virus Infection in Iranian Patients. Jundishapur J Microbiol. 2015;8(11):e23411.

14.Sadeghi RN, Sahba N, Vahedi M, Mohebbi SR Zali MR. Association of intron and exon polymorphisms of p53 gene in Iranian patients with gastritis. Gastroenterology and hepatology from bed to bench. 2013;6(Suppl 1):S45-51.

15.Azimzadeh P, Romani S, Mirtalebi H, Fatemi SR, Kazemian S, Khanyaghma M, et al. Association of co-stimulatory human B-lymphocyte antigen B7-2 (CD86) gene polymorphism with colorectal cancer risk. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2013;6(2):86-91.

16.Salehi M, Mohebbi SR, Ravanshad M, Karkhane M, Azimzadeh P, Keshavarz Pakseresht B. Lack of Association between Interleukin-12 Receptor B1 Gene Polymorphism (rs11575934 A/G) and Susceptibility to Chronic Hepatitis B Virus Infection. J Arak Univ Med Sci. 2016;18(12):51-8.

17.Salehi M, Ravanshad M, Mohebbi S, Zali M. Association between Interleukin-12 Receptor B1 Gene Polymorphism (rs401502 C/G) and Chronic Hepatitis B Virus Infection. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2016;24(3):269-76.[In Persian]

18.Song JE, Kim DY. Diagnosis of hepatitis B. Ann Transl Med 2016;4(18):338

19.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.

20.Bar-Or RL, Segel LA. On the role of a possible dialogue between cytokine and TCR-presentation mechanisms in the regulation of autoimmune disease .J Theor Biol. 1998;190(2):161-78.

21.Dinarello CA. Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. Curr Opin Pharmacol. 2004 Aug;4(4):378-85.

22.Boraschi D, Dinarello CA. IL-18 in autoimmunity: review. European cytokine network. 2006;17(4):224-52.

23.Motavaf M, Safari S, Alavian SM. Interleukin 18 Gene Promoter Polymorphisms and Susceptibility to Chronic Hepatitis B Infection: A Review Study. Hepat Mon. 2014 Jul; 14(7): e19879

24.Migita K, Sawakami-Kobayashi K, Maeda Y, Nakao K, Kondoh S, Sugiura M, et al. Interleukin-18 promoter polymorphisms and the disease progression of Hepatitis B virus-related liver disease. Translat Res. 2009;153(2):91-6.

25.Ramazi S, Motovalibashi M, Hashemzade chaleshtori M, Khazraei H. Association of Interleukin-18)-607A/C) Gene Polymorphism with Allergic Rhinitis in Chaharmahal-va-Bakhtiari Province. J Arak Uni Med Sci. 2014;17(2):9-16.

26.Nikiteas N, Yannopoulos A, Chatzitheofylaktou A, Tsigris C. Heterozygosity for interleukin-18-607 A/C polymorphism is associated with risk for colorectal cancer. Anticancer Res. 2007;27(6B):3849-53.

27.Teixeira AC, Martinelli AdLC, Donadi EA. Role of Alleles and Genotypes of Polymorphisms of IL-18 (-607 C/A; and -137 C/G), IFN-γ (+874 A/T) and TNF-α (-238 A/G and -308 A/G) and HLA-G Genes in the Susceptibility of Hepatocellular Carcinoma. Chapter 1. 2013. Available from: http://dx.doi.org/10.5772/56350.

28.Vairaktaris E, Serefoglou ZC, Yapijakis C, Agapi C, Vassiliou S, Nkenke E, et al. The interleukin-18-607A/C polymorphism is not associated with risk for oral cancer. Anticancer research. 2007;27(6B):4011-4.