

## عدم همبستگی پلی مورفیسم زیر واحد p40 اینترلوکین ۱۲ (IL-12B +1188) و خطر ابتلا به عفونت

### مزمّن هپاتیت B در بیماران ایرانی

حامد ناقوسی<sup>۱</sup>، سید رضا محبی<sup>۲</sup>، سید محمدابراهیم طاهائی<sup>۳</sup>، پدرام عظیمزاده<sup>۴</sup>، سارا رومانی<sup>۵</sup>، آذر صنعتی<sup>۶</sup>، افسانه شریفیان<sup>۷</sup>، فرامرز درخشان<sup>۸</sup>، محمدرضا زالی<sup>۹</sup>

۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲. دکتری تخصصی ویروس‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳. کارشناس ارشد ویروس‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴. کارشناس ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۵. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۶. پزشک عمومی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۷. استادیار گوارش و کبد، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۸. دانشیار گوارش و کبد، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۹. استاد گوارش و کبد، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ دریافت مقاله

تاریخ پذیرش مقاله

#### چکیده

**زمینه و هدف:** ویروس هپاتیت B یکی از عوامل اصلی بروز هپاتیت مزمن در جهان می‌باشد. هر چند هنوز علت بروز عفونت مزمن در افراد به خوبی شناخته نشده است ولی سایتوکاین‌ها که از عوامل اصلی تنظیم پاسخ ایمنی هستند، نقش مهمی در تعیین سیر بالینی عفونت این ویروس ایفا می‌کنند و زمینه ژنتیکی میزبان و پلی-مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی بر میزان و نحوه عملکرد سایتوکاین‌ها اثر تعیین‌کننده‌ای دارند، لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه +۱۱۸۸ ناحیه غیر کد کننده ۳ ژن زیر واحد p40 اینترلوکین ۱۲ و استعداد ابتلا به هپاتیت B مزمن تعریف شده است.

**مواد و روش کار:** این مطالعه به روش مورد-شاهدی بر روی جمعیتی شامل ۱۴۰ فرد مبتلا به هپاتیت B مزمن و ۱۵۰ فرد سالم انجام پذیرفت. جهت تعیین ژنوتایپ افراد روش PCR-RFLP مورد استفاده قرار گرفت. هم‌چنین جهت تأیید نتایج ژنوتایپینگ، توالی ۱۰ درصد نمونه‌ها به روش تعیین توالی مستقیم بررسی گردید. **یافته‌ها:** فراوانی ژنوتایپ‌های AA، AC و CC این ژن در جایگاه +۱۱۸۸ به ترتیب ۵۶/۴، ۳۶/۴ و ۷/۱ درصد در گروه بیماران و ۳۳/۳، ۵۹/۳ و ۷/۳ درصد در گروه کنترل محاسبه گردید. هیچ‌گونه تفاوت آماری معنی‌داری بین دو گروه مورد و شاهد مشاهده نمی‌شود ( $p=0/487$ ).

**نتیجه‌گیری:** فراوانی ژنوتایپ‌های مختلف این ژن در جمعیت مورد مطالعه با نتایج به‌دست آمده در اکثر مطالعات انجام شده در کشورهای مختلف مشابه می‌باشد. نتایج حاصله در این مطالعه نشان‌دهنده عدم همبستگی پلی مورفیسم ژن IL-12B در جایگاه +۱۱۸۸ با خطر ابتلا به هپاتیت B مزمن در جمعیت ایرانی می‌باشد. [م ت ع پ ز، ( ) - ]

**کلیدواژه‌ها:** هپاتیت B، اینترلوکین ۱۲، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی

#### مقدمه

در کروموزوم ۵. این سایتوکاین دارای توانایی تنظیم توازن بین پاسخ‌های  $Th_1$  و  $Th_2$  بوده و در القاء ترشح اینترفرون گاما، تنظیم ایمنی وابسته به  $Th_1$ ، تحریک سلول‌های کشته طبیعی و به طور کلی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی نسبت به پاتوژن‌های داخل سلولی از جمله ویروس‌ها نقشی کلیدی ایفا می‌کند.<sup>۳،۴</sup> در عفونت هپاتیت B، القاء فعالیت سلول‌های  $Th_1$  موجب تحریک لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک در جهت لیز سلول‌های آلوده به ویروس می‌شود. ترشح ناحیه‌ای اینترفرون گاما توسط لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک موجب القاء ترشح IL-12 شده که آن نیز به نوبه خود موجب القاء ایمنی  $Th_1$  و ترشح بیشتر اینترفرون گاما می‌شود لذا در بیماران مبتلا به هپاتیت B که قادر به افزایش تولید IL-12 به حد مناسب باشند، اینترفرون گاما نیز به میزان مناسب تولید شده و اثر خود را در ممانعت از رونویسی ویروس در سلول‌های آلوده با کارایی بالا اعمال می‌کند، لذا افزایش تولید IL-12 نقشی اساسی در پاکسازی ویروس در افراد مبتلا ایفا می‌کند.<sup>۵</sup>

پيامد بالینی عفونت هپاتیت B به صورت گسترده‌ای از بهبودی خود به خودی تا فرم مزمن، سیروز کبدی و کارسینومای سلول‌های کبدی متغیر می‌باشد. در کنار فاکتورهای دخیل در ویروانس ویروس، پاسخ متفاوت سیستم ایمنی در افراد مختلف مهم‌ترین عامل در تعیین سیر بالینی عفونت است و زمینه ژنتیکی میزبان و پلی مورفیسم نواحی مختلف ژن‌های دخیل در سیستم ایمنی و سایتوکاین‌ها نقش مهمی در تعیین روند ایمنی زایی و سیر بالینی عفونت‌های ویروسی ایفا می‌کنند.<sup>۱،۲</sup> با توجه به نقش حیاتی سایتوکاین‌ها به‌عنوان پروتئین‌های دخیل در تنظیم مراحل تمایز، بلوغ و فعالیت سلول‌های ایمنی، پلی مورفیسم ژن‌های آن‌ها می‌تواند بر برون‌ده فعالیت‌های سیستم ایمنی تأثیرگذار باشد. IL-12 یکی از مهم‌ترین سایتوکاین‌های پیش‌التهابی دخیل در تنظیم پاسخ ایمنی است که از دو زیر واحد ۳۵ و ۴۰ کیلودالتونی (P35 و P40) تشکیل شده است که ژن هر کدام روی کروموزوم متفاوتی قرار دارد (P35 در کروموزوم ۳ و P40

درجه سلسیوس جهت تکثیر نهایی قطعه DNA اعمال گردید. محصول PCR نیز به روش الکتروفورز بر روی ژل آگار (Roche، آلمان) و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید در مقابل نور فرابنفش آشکار سازی شد. پس از آن محصول PCR وارد واکنش هضم آنزیمی به وسیله آنزیم محدود الاثر Taq I (Fermentas، لیتوانی) به شرح زیر گردید: ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR به صورت مستقیم به مخلوطی حاوی بافر Taq I (۱۰ میلی مولار تریس-کلراید (pH=۸)، ۵ میلی مولار کلرید منیزیم، ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و ۰/۱ mg/ml سرم آلبومین گاوی) و ۲ واحد آنزیم Taq I در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر اضافه شده و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس انکوبه گردید. محصول هضم آنزیمی نیز با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد آشکار شد. جهت تأیید نتایج ژنوتایپینگ، ۱۰ درصد نمونه‌ها نیز به روش تعیین توالی مستقیم با استفاده از سیستم ABI genetic analyzer 3130xl توالی‌یابی شدند.

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS-13 انجام شد و متغیرها بر اساس آزمون  $\chi^2$  مورد مقایسه قرار گرفته و مقدار  $p < 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. اختلاف میانگین نیز بر اساس آزمون  $t$  مستقل انجام گرفت.

### یافته‌ها

مشخصات گروه بیماران و کنترل سالم مورد مطالعه از نظر سن، جنس و شاخص جرم بدن در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود دو گروه مورد و شاهد از نظر نسبت دو جنس، میانگین سن و میانگین شاخص جرم بدن (BMI) اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۱) مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در PCR

جهت پرایمر	توالی (5' to 3')	دمای اتصال	درصد G+C
Forward	GGCATGAAATCCCTGAAACC	55.4	50
Reverse	TACATCCTGGCAGACAAACG	53.2	50

جدول ۲) مشخصات جمعیت مورد مطالعه

جنس	مرد	زنان	میانگین سن	میانگین شاخص جرم بدن
	۷۷ (۵۵٪)	۶۳ (۴۵٪)	۴۲/۲۵ ± ۱۵/۱۶	۲۶/۲۹
	۷۸ (۵۲٪)	۷۲ (۴۸٪)	۴۱/۳۱ ± ۱۷/۱۱	۲۴/۲۷
	* شاخص $p$ بین دو گروه بیمار و شاهد تعیین شده است.			

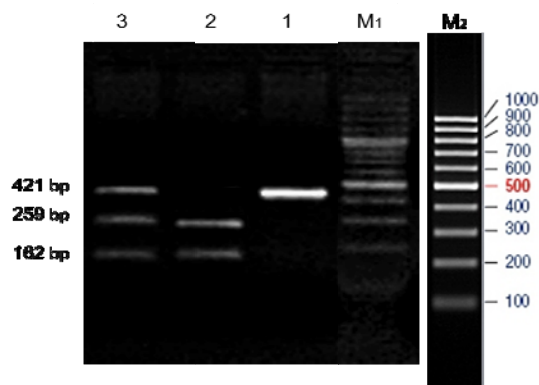
با انجام PCR، محصولی به طول ۴۲۱ جفت باز به دست آمد که بر اثر هضم آنزیمی محصول PCR در افراد هموزیگوت A یک قطعه ۴۲۱ جفت بازی (محصول PCR برش نخورده)، در افراد هموزیگوت C دو قطعه ۲۵۹ و ۱۶۲ جفت بازی و در افراد هتروزیگوت سه قطعه ۴۲۱، ۲۵۹ و ۱۶۲ جفت بازی مشاهده گردید (تصویر ۱). پس از انجام مراحل آزمایشگاهی، نتایج توزیع ژنوتیپی بین دو گروه مورد و شاهد مقایسه شده و ارتباط میان آن‌ها مورد سنجش قرار گرفت. نتایج تعیین توالی نیز تأیید کننده نتایج حاصل از RFLP می‌باشند (تصویر ۲).

با توجه به کارکردهای متنوع و گسترده IL-12 در سیستم ایمنی، مطالعات گسترده‌ای جهت شناخت ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) ژن‌های کد کننده زیرواحدهای آن و خطر ابتلا به انواع بیماری‌های مرتبط با سیستم ایمنی انجام شده است. پلی‌مورفیسم‌های متعددی در نواحی پروموتور، اینترون‌ها و ناحیه غیر ترجمه شونده (3' UTR) ژن IL-12B (کد کننده زیرواحد p40) دیده می‌شوند، از جمله پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه +۱۱۸۸ ناحیه غیر کد کننده ۳' این ژن که تا کنون محققان متعددی از ارتباط آن و روند بالینی بیماری‌های مختلف مرتبط با سیستم ایمنی پرده برداشته‌اند.<sup>۶،۷</sup> با این فرض که این پلی‌مورفیسم ممکن است بر میزان تولید IL-12 و تنظیم پاسخ ایمنی در مقابل عفونت‌های ویروسی، تأثیر گذار باشد، هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی A/C در جایگاه +۱۱۸۸ (واقع در ناحیه غیر کد کننده ۳' ژن IL-12B با استعداد ابتلا به فرم مزمن هیپاتیت B در جمعیت ایرانی می‌باشد.

### روش کار

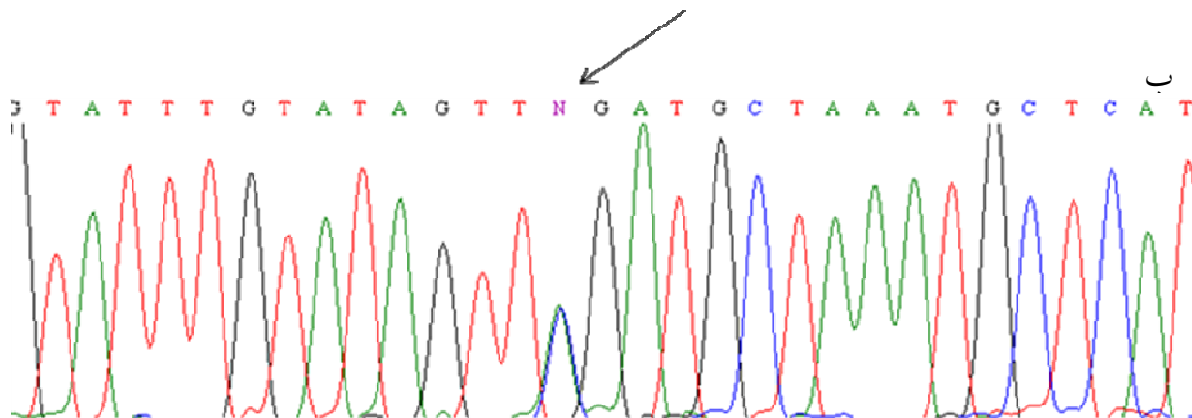
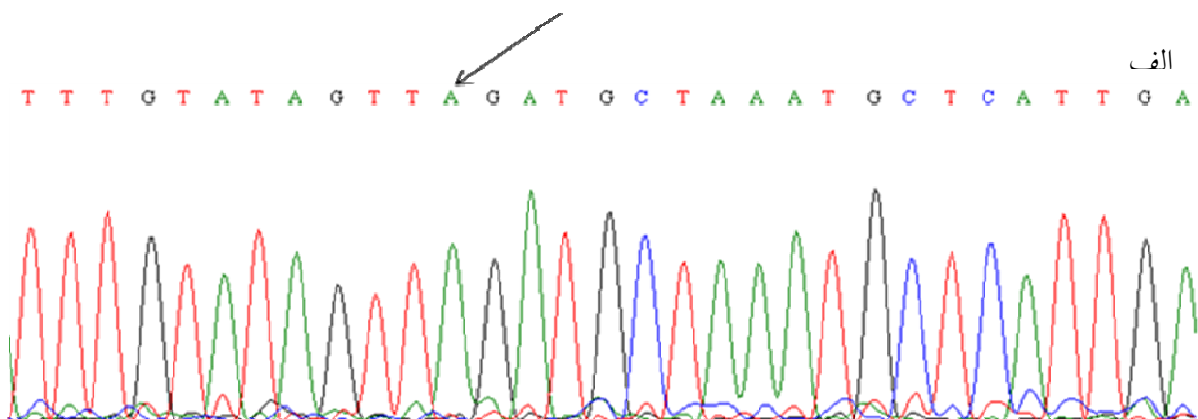
این مطالعه مورد-شاهدی با نمونه‌گیری از ۱۴۰ بیمار مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران طی سال‌های ۸۹-۱۳۸۷ که مبتلا به هیپاتیت B مزمن بوده و با آزمایش الیزا برای آنتی ژن HBS و آنتی‌بادی ضد HBc مبتلا نشان تأیید گردیده بود و نیز ۱۵۰ فرد سالم داوطلب انجام پذیرفت. کلیه افراد وارد شده به مطالعه در جریان اهداف طرح تحقیقاتی قرار گرفته و فرم رضایت‌نامه کمیته اخلاق مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه شهید بهشتی از آن‌ها اخذ گردید. DNA کامل ژنومی افراد از ۴ میلی‌لیتر خون محیطی با استفاده از روش فنول استخراج گردید<sup>۸</sup> و تکنیک PCR-RFLP جهت تعیین ژنوتیپ افراد مورد استفاده قرار گرفت. مرحله تکثیر PCR با استفاده از یک جفت پرایمر با توالی‌های درج شده در جدول ۱ که با کمک نرم افزار Gene Runner-3.05 (Hasting software Inc.) و بخش Primer BLAST سایت مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی ایالات متحده (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) طراحی شده بود، صورت گرفت. قطعه‌ای از ژن IL-12B شامل جایگاه پلی‌مورفیسم +۱۱۸۸، طی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز تحت شرایط زیر تکثیر گردید:

مقدار ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومیک به مخلوط واکنشی حاوی بافر Taq (۱۰ میلی مولار تریس-کلراید (pH=۹)، ۵۰ میلی مولار کلرید پتاسیم، ۰/۱ درصد تریسون X-100)، ۲ واحد آنزیم Taq DNA polymerase (Super Taq، انگلستان)، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، ۰/۲ میلی مولار از هر dNTP و ۱۰ پیکومول از هر پرایمر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر اضافه گردید و واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر اتوماتیک (Eppendorf، آلمان) بدین ترتیب انجام پذیرفت: ابتدا و اسرشت شدن اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۵ چرخه از دماهای ۹۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۸/۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۴۵ ثانیه انجام پذیرفت و سپس به مدت ۱۰ دقیقه دمای ۷۲



تصویر ۱: نتایج الکتروفورز موصول هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز؛

۱) ژنوتیپ هموزیگوت AA      ۲) ژنوتیپ هموزیگوت CC      ۳) ژنوتیپ هتروزیگوت AC  
 (M1) مارکر وزن مولکولی (GeneRuler 100 bp DNA Ladder)  
 (M2) نقشه GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Fermentas, Lithuania)



تصویر ۲: نتایج تعیین توالی

الف) توالی مربوط به فرد هموزیگوت AA، در جایگاه پلی مورفیسم (مشخص شده با پیکان) فقط پیک مربوط به نوکلئوتید A مشاهده می‌شود.  
 ب) توالی مربوط به یک فرد هتروزیگوت، در جایگاه پلی مورفیسم هر دو پیک مربوط به نوکلئوتیدهای A و C مشاهده می‌شود.  
 (M2) نقشه GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Fermentas, Lithuania)

برای گروه شاهد تعیین گردید. محاسبات آماری نشان داد که مقدار  $p$  برابر با ۰/۴۸۷ بوده و لذا اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و شاهد از لحاظ پراکنش ژنوتیپی وجود ندارد (جدول ۳).

فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم جایگاه ۱۱۸۸+ انتهای غیر ترجمه شونده ژن IL-12 در دو گروه مورد مطالعه AA (۵۶/۴٪)، CA (۳۶/۴٪) و CC (۷/۱٪) برای بیماران و AA (۵۹/۳٪)، CA (۳۳/۳٪) و CC (۷/۱٪)

AA، AC و CC مقایسه شدند و اختلاف معنی‌دار آماری میان ژنوتیپ‌های مختلف در دو گروه وارد شده به مطالعه یافت نشد.<sup>۴</sup> در مطالعه Liu و همکاران در یک جمعیت چینی، فراوانی چندین پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژن‌های IL-12A و IL-12B بررسی گردید که همبستگی معنی‌داری بین آن‌ها و خطر ابتلا به کارسینوما سلول کبدی ناشی از عفونت هپاتیت B دیده نشد.<sup>۵</sup> در جمعیت ایرانی نیز پیش از این مطالعاتی بر روی این پلی‌مورفیسم و ارتباط آن با چندین بیماری صورت گرفته است. از این جمله، شکرگزار و همکاران در افراد مبتلا به MS همبستگی معنی‌داری بین ژنوتیپ AA و افزایش خطر ابتلاء به بیماری گزارش کردند.<sup>۱۴</sup> در مطالعه جامعی نیز که در سال ۲۰۰۵ بر روی پلی‌مورفیسم‌های چندین سایتوکاین در افراد ایرانی درگیر لوسمی میلوژن انجام گرفت، ارتباط معنی‌داری میان پلی‌مورفیسم ۱۱۸۸+ ژن اینترلوکین ۱۲ با خطر بیماری مشاهده نشد،<sup>۱۵</sup> البته در مورد هپاتیت B مخفی (occult HBV) اخیراً مطالعه‌ای در جنوب ایران صورت گرفته که نتایج آن نشان‌دهنده همبستگی ژنوتیپ CC با کاهش احتمال بروز عفونت مخفی می‌باشد.<sup>۱۶</sup> با مقایسه نتایج به دست آمده در مطالعات مختلف و نتایج حاصل از این مطالعه (جدول ۴) مشاهده می‌شود که درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در جمعیت ایرانی مورد مطالعه مشابه جمعیت‌های اروپایی بوده و با جمعیت‌های شرق آسیا متفاوت می‌باشد هر چند تفاوت زیادی نیز با نتایج مطالعه عرب‌آبادی و همکاران در آن مشاهده می‌شود که این امر احتمالاً به علت تفاوت خصوصیات نژادی و جمعیتی جامعه آماری مورد تحقیق در این مطالعات رخ داده است.

جدول ۴: درصد فراوانی ژنوتیپ‌های ژن IL-12B در کشورهای مختلف

جمعیت	مورد	در صد فراوانی ژنوتیپ‌ها		
		CC	AC	AA
آلمان	شاهد	۶۳	۳۱	۶
	هپاتیت C مزمن	۵۹	۳۴	۷
	شاهد	۶۷/۷	۳۱/۴	۰/۹
انگلیس	افراد در معرض خطر هپاتیت C که مبتلا نشدند	۵۵/۳	۳۴/۲	۱۰/۵
	شاهد	۳۲/۲	۴۹/۱	۱۸/۷
چین	هپاتیت B مزمن	۳۰/۰	۵۰/۸	۱۹/۲
	هپاتیت C مزمن	۴۰/۷	۳۴/۱	۲۵/۳
	هپاتیت C خودمحدود شونده	۱۹/۰	۶۴/۳	۱۶/۷
ایران	هپاتیت B مخفی	۳۵/۱	۶۴/۹	۰
	شاهد	۳۶	۵۴	۱۰
	هپاتیت B مزمن	۵۶/۴	۳۶/۴	۷/۱
	شاهد	۵۹/۳	۳۳/۳	۷/۳

در مطالعات انجام شده تاکنون بین ریسک ابتلا به انواع سرطان‌ها و بیماری‌های ناشی از اختلالات سیستم ایمنی و درصد فراوانی ژنوتیپی ژن IL-12B همبستگی معنی‌داری دیده شده ولی در موارد خطر ابتلا به هپاتیت‌های مزمن و ویروسی تاکنون تفاوت معنی‌داری بین افراد مبتلا و افراد سالم دیده نشده است، البته به استثناء مطالعه عرب‌آبادی و همکاران که نشان‌دهنده

جدول ۳: فراوانی ژنوتیپ‌ها در جمعیت مورد مطالعه

ژنوتیپ جایگاه +1188	بیمار تعداد (درصد)	شاهد تعداد (درصد)	ارزش P
AA	۷۹ (۵۶/۴)	۸۹ (۵۹/۳)	
CA	۵۱ (۳۶/۴)	۵۰ (۳۳/۳)	۰/۴۸۷
CC	۱۰ (۷/۱)	۱۱ (۷/۳)	

## بحث

در این مطالعه ژنوتیپ جمعیتی بالغ بر ۲۹۰ نفر شامل افراد مبتلا به هپاتیت B مزمن و افراد سالم از نظر پلی‌مورفیسم جایگاه ۱۱۸۸+ ناحیه غیر ترجمه شونده ۳ ژن IL-12B تعیین گردید. بررسی آماری نتایج حاصله و مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در دو گروه مورد و شاهد نشان می‌دهد که اختلاف آماری معنی‌داری بین این دو گروه وجود نداشته و این امر مؤید عدم همبستگی این پلی‌مورفیسم با خطر ابتلا به عفونت مزمن هپاتیت B در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد.

IL-12، سایتوکاینی با عملکرد حیاتی بر علیه پاتوژن‌های درون سلولی، دارای عملکرد القاء تمایز سلول‌های Th<sub>1</sub>، سیتو توکسیسته وابسته به سلول و تولید اینترفرون گاما بوده و اثرات ضد توموری آن نیز در مطالعات زیادی تایید شده است؛ از جمله Komita و همکاران نشان دادند که IL-12 باعث مهار رشد کارسینوما سلول کبد (HCC) شده و نقش مهمی در جلوگیری از عود مجدد HCC ایفا می‌کند.<sup>۹</sup> تاکنون مطالعات زیادی در مورد ارتباط بین پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی A/C جایگاه ۱۱۸۸+ ناحیه غیر ترجمه شونده ۳ ژن IL-12B (rs3212227) و بیماری‌ها و سرطان‌های مختلف منتشر شده است، از جمله طی یک مطالعه در جمعیت چین دیده شد که ژنوتیپ‌های AC و CC موجب افزایش احتمال ابتلا به کارسینوما سلول کبدی می‌شوند که البته این امر از نظر آماری معنی‌دار نبود.<sup>۱۰</sup> در مطالعه Han و همکاران در زنان کره‌ای مبتلا به سرطان رحم بین افزایش آلل A و احتمال ابتلا به سرطان رحم همبستگی دیده می‌شود.<sup>۷</sup> در مطالعه Windsor و همکاران در جمعیت استرالیا نیز همبستگی معنی‌داری بین افزایش فراوانی آلل C و احتمال ابتلا به دیابت در افراد مشاهده می‌شود.<sup>۱۱</sup> با این حال در مطالعه Hall و همکاران ارتباط معنی‌داری بین این پلی‌مورفیسم و افزایش احتمال ابتلا به بیماری‌های ایمنونوزیک آرتریت روماتوئید، MS و سندرم LGL (large granular lymphocyte) در جمعیت یونانی و انگلیسی دیده نشد.<sup>۳</sup> مطالعات مختلفی نیز جهت بررسی ارتباط این پلی‌مورفیسم و انواع هپاتیت صورت گرفته است. از جمله در مطالعه Hegazy و همکاران در جمعیت انگلیسی همبستگی معنی‌داری بین افزایش آلل C و کاهش احتمال ابتلا به عفونت هپاتیت C در افراد در معرض خطر بالای آلودگی که به هپاتیت C مبتلا نشدند، مشاهده شد.<sup>۱۲</sup> هر چند در مطالعه Mueller و همکاران در جمعیت آلمانی مبتلا به هپاتیت C مزمن، همبستگی معنی‌داری بین فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف و افزایش ریسک ابتلا به بیماری دیده نمی‌شود.<sup>۱۳</sup> در مطالعه Suneetha و همکاران در جمعیت هند نیز بیماران هپاتیت C و افراد شاهد بر اساس ژنوتیپ‌های

دامنه وسیع تر، مطالعات گسترده تری با تعداد نمونه‌های بیشتر به خصوص از افرادی که از هپاتیت B بهبود یافته‌اند، انجام پذیرد.

### سیاسگزاری

این مطالعه با حمایت مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام پذیرفته و اعتبارات مالی آن از محل طرح کد ۴۸۱ تأمین گردید. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاران محترم آزمایشگاه مرکز تحقیقات، به‌ویژه آقای بهزاد دماوند، سرکار خانم شهره الماسی و سرکار خانم پروانه محمدی، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

### References

1. Truelove AL, Oleksyk TK, Shrestha S, et al. Evaluation of IL-10, IL-19, and IL-20 gene polymorphisms and chronic hepatitis B infection outcome. *Int J Immunogenet* 2008; 35(3): 255-64.
2. Gao QJ, Liu DW, Zhang SY, et al. Polymorphisms of some cytokines and chronic hepatitis B and C virus infection. *World J Gastroenterol* 2009; 28: 15(44): 5610-19.
3. Hall MA, McGlenn E, Coakley G, et al. Genetic polymorphism of IL-12 p40 gene in immune mediated Disease. *Genes Immun* 2000; 1(3): 219-24.
4. Suneetha PV, Goyal A, Hissar SS and Sarin SK. Studies on TAQ I polymorphism in the 3' untranslated region of IL-12 p40 gene in HCV patients infected predominantly with genotype 3. *J Med Virol* 2006; 78(8): 1055-60.
5. Naoumov N, Rossol S. Studies of interleukin-12 in chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hep* 1997; 4 (Suppl. 2): 87-91.
6. Liu L, Xu Y, Liu Z, et al. IL-12 polymorphisms, HBV infection and risk of hepatocellular carcinoma in a high-risk Chinese population. *Int J Cancer* 2011; 128(7): 1692-96.
7. Han SS, Cho EY, Lee TS, et al. Interleukin-12 p40 gene (IL-12B) polymorphisms and the risk of cervical cancer in Korean women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; 140(1): 71-75.
8. Albarino CG, Romanowski V. Phenol extraction revisited: A rapid method for the isolation and preservation of human genomic DNA from whole blood. *Mol Cell Probes* 1994; 8(5):423-7.
9. Komita H, Homma S, Saotome H, et al. Interferon-gamma produced by interleukin-12 activated tumor infiltrating CD<sub>8</sub> T-cells directly induces apoptosis of mouse hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2006; 45(5): 662-72.
10. Nieters A, Yuan J M, Sun CL, et al. Effect of cytokine genotypes on the hepatitis B virus-hepatocellular carcinoma association. *Cancer* 2005; 103 (4): 740-48.
11. Windsor L, Morahan G, Huang D, et al. Alleles of the IL-12B 3'UTR associate with late onset of type 1 diabetes. *Hum Immunol* 2004; 65(12): 1432-36.
12. Hegazy D, Thurairajah P, Metzner M, et al. Interleukin 12B gene polymorphism and apparent resistance to hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 2008; 152(3): 538-541.
13. Mueller T, Mas-Marques A, Sarrazin C, et al. Influence of interleukin-12B (IL-12B) polymorphisms on spontaneous and treatment-induced recovery from hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2004; 41(4): 652-58.
14. Shokrgozar MA, Sarial S, Amirzargar AA, et al. IL-2, IFN- $\gamma$ , and IL-12 gene polymorphisms and susceptibility to multiple sclerosis. *J Clin Immunol* 2009; 29(6): 747-51.
15. Amirzargar AA, Bagheri M, Ghavamzadeh A, et al. Cytokine gene polymorphism in Iranian patients with chronic myelogenous leukaemia. *Int J Immunogenet* 2005; 32(3): 167-71.
16. Arababadi MK, Pourfathollah AA, Jafarzadeh A, et al. Non-association of IL-12 +1188 and IFN- $\gamma$  +874 polymorphisms with cytokines serum level in occult HBV infected patients. *Saudi J Gastroenterol* 2011; 17 (1): 30-35.
17. Yin LM, Zhu WF, Wei L, et al. Association of interleukin-12 p40 gene 3' untranslated region polymorphism and outcome of HCV infection. *World J Gastroenterol* 2004; 10(16): 2330-33.

همبستگی کاهش احتمال بروز عفونت مخفی HBV و ژنوتیپ CC بوده<sup>۱۶</sup> و نیز مطالعه Yin و همکاران در کشور چین که در افراد بهبود یافته از عفونت هپاتیت C نسبت به افراد درگیر هپاتیت مزمن، ژنوتیپ AC به صورت معنی‌داری فراوان‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها بوده است.<sup>۱۷</sup> یافته‌های این مطالعه نشان دهنده عدم ارتباط پلی مورفیسم ژن IL-12B در جایگاه +1188 با افزایش احتمال ابتلا به هپاتیت B مزمن می‌باشد. با توجه به این که فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف این ژن در جمعیت‌های مختلف، متفاوت است و نیز کوچک بودن نسیی جامعه آماری مورد مطالعه در این تحقیق، پیشنهاد می‌شود جهت دستیابی به نتایج قابل اطمینان‌تر و با

## ***Lack of association between interleukin-12 p40 (IL-12B +1188) polymorphism and risk of chronic hepatitis B infection in Iranian patients***

Hamed Naghoosi,<sup>1</sup> **S. Reza Mohebbi**,<sup>2</sup> S. Mohammad E. Tahaei,<sup>3</sup> Pedram Azimzadeh,<sup>4</sup> Sara Romani,<sup>5</sup> Azar Sanati,<sup>6</sup> Afsaneh Sharifian,<sup>7</sup> Faramarz Derakhshan,<sup>8</sup> Mohammad R. Zali<sup>9</sup>

**Background:** Hepatitis B virus (HBV) is one of the most important causative agents of chronic liver diseases worldwide. However, the etiology of chronic hepatitis is not well recognized, but cytokines which are crucial regulatory agents of immune system play an important role in determination of natural course of viral infection. Host genetic background and single nucleotide polymorphisms have an effective role on cytokines productivity and function. So this study is aimed to investigate the relation between single nucleotide polymorphism in the 3'-untranslated region (3' UTR) of interleukin 12 p40 gene on position +1188 and susceptibility to chronic hepatitis B infection.

**Materials and Method:** A case-control study was performed on 140 chronic HBV patients and 150 healthy controls. Genotyping was done by PCR-RFLP method. Sequences of 10% of samples were analyzed by direct sequencing to confirm the genotyping results.

**Results:** Frequencies of AA, AC and CC genotypes of *IL-12B* on +1188 position were 56.4%, 36.4% and 7.1% in patient group and 59.3%, 33.3% and 7.3% in control group, respectively. No statistically significant difference was found between two groups ( $p=0.487$ ).

**Conclusion:** Genotype frequencies of this gene in the studied population are in line with results of most researches from different countries. Results of this study suggest that there is no association between *IL-12B* polymorphism on +1188 positions and susceptibility to chronic hepatitis B in Iranian population.

**Keywords:** Hepatitis B, interleukin-12, single nucleotide polymorphism

1. MSc of Microbiology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. PhD of Medical Virology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. MSc of Medical Virology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4. MSc of Cellular and Molecular Biology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
5. MSc of Microbiology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
6. General Physician, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
7. Assistant Professor of Internal Medicine, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
8. Associate Professor of Internal Medicine, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
9. Professor of Internal Medicine, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.