مقاله پژوهشی

بررسی همبستگی بین پلی مورفیسم G>C 915 ژن TGF-β1 با عفونت مزمن هپاتیتC

پدرام عظیم زاده*، دکتر سیدرضا محبی**، سارا رومانی***، محسن واحدی**** ، دکتر سیدرضا فاطمی*****
دکتر فرامرز درخشان******، دکتر محمدرضا زالی*******

دریافت : ۸۹/۲/۱۸ ، پذیرش : ۸۹/۷/۲۰

چکیده:

مقدمه و هدف: سایتوکاین ها از عوامل سیستم ایمنی هستند که بعنوان ایفا کنندگان نقش اساسی در پاکسازی یا پیشرفت عفونت هپاتیت C شناخته می شوند. اثر خصوصیات ژنتیکی میزبان بر برون ده بالینی عفونت هپاتیت C هنوز کاملا"مشخص نیست. از سوی دیگر تأثیر تغییرات ژنتیکی از قبیل چند شکلی های تک نوکلئوتیدی بر میزان بیان و عملکرد سایتوکاین ها تحت بررسی است. هدف از مطالعه حاضر مقایسه تغییرات ژنی سایتوکاین Transforming Growth Factor-β در رابطه با حساسیت آنها نسبت به عفونت هپاتیت C بود.

روش کار: در این مطالعه مورد ـ شاهدی جمعیت مورد مطالعه متشکل از۱۲۵فرد مبتلا به هپاتیت C و ۱۲۵ فرد سالم بود. تعیین ژنوتایپ با استفاده از واکنش زنجیره پلیمراز و متعاقب آن هضم آنزیمی بروش RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) و توزیع پلی مورفیسم G>C ۹۱۵ ژن TGF-β1 بین دو گروه مقایسه شد. برای تأیید نتایج ژنوتایپینگ ۱۰٪ نمونه ها با روش تعیین توالی مستقیم تعیین ژنوتایپ شدند.

نتایج: فراوانی ژنوتیپ های GG، GC و CC بترتیب در بیماران۹۲٪،۸٪و۰٪ ودر میان افراد شاهد بترتیب ۸۹/۶٪، ۸/۸٪ و ۱/۶٪ بود و فراوانی الل های G و C در افراد شاهد بترتیب ۹٤٪ و ۶٪ و درمیان بیماران بترتیب ۹۶٪ و ٤٪ بود. ازلحاظ آماری میان بیماران و افراد شاهد ارتباط معنی داری یافت نشد.

نتیجه نهایی: توزیع ژنوتیپ ها در بین بیماران هپاتیت C مزمن مشابه برخی از مطالعات قبلی است. اما فراوانی ژنوتیپ ها در افراد شاهد با بررسی های انجام شده در جمعیت های دیگر متفاوت است. در نتیجه در مورد این جمعیت ایرانی نمی توان پلی مورفیسم جایگاه ۹۱۵ ژن TGF-β را عامل افزایش یا کاهش حساسیت افراد نسبت به عفونت HCV دانست.

کلید واژه ها: پلی مورفیسم / ژنوتیپ / هپاتیت C

مقدمه :

هپاتیتC مزمن در نتیجه عفونت با ویروس هپاتیتC (HCV) روی می دهد، این نوع از عفونت های ویروسی می تواند منجر به ایجاد عوارض بالینی مثل هپاتیت مزمن، سیروز کبدی، نارسائی کبدی و کارسینومای هپاتوسلولار (HCC) شود، به نحوی که یکی از عوامل مهم پیوند کبد می باشد. این ویروس در سال ۱۹۸۹ کشف شده است و در یک آمار کلی حدود ۱۷۰ میلیون نفر را در سرتاسر

* کارشناس ارشد علوم سلولی و مولکولی مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
** دکتری ویروس شناسی پزشکی مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی(srmohebbi@rigld.ir)
*** کارشناس ارشد میکروبیولوژی مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
**** دانشجوی دوره دکتری آمار زیستی مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
***** دانشیار گروه گوارش مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
****** استادیار گروه گوارش مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
******* استاد گروه گوارش مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

Archive of SID
www.SID.ir

جهان آلوده کرده است که آلودگی در حدود ۲/۲ تا ۳ درصد را نشان می دهد (۱،۲).

سایتوکاین ها در مقابله بدن با عفونت های ویروسی نقش حیاتی ایفا میکنند. این مواد هم الگوی اصلی پاسخ ایمنی را تعیین می کنند و هم مستقیما" تکثیر ویروسها را مهار می کنند (۳). پروتئین Transforming Growth Factor-β یکی از سایتوکاین های مهم است که در تنظیم رشد سلول و تمایز، رگ زائی، تشکیل ماتریکس خارج سلولی، تنظیم پاسخهای ایمنی و پیشرفت و گسترش سرطان نقش ایفا می کند(۶-۴). یکی از سه ایزوفرم این پروتئین TGF-β1 است و با متوقف کردن فاز G1، تکثیر را مهار و سلول را به سمت آپوپتوز سوق می دهد (۷). این پروتئین از انواع سلولهای بدن شامل، سلولهای تک هسته ای خون محیطی و لنفوسیت های T تنظیمی ترشح می شوند (۸،۹). در ابتدا بصورت غیرفعال با ۳۹۰ آمینو اسید تولید شده و شکل فعال از دو زنجیره پلی پپتیدی که با باند های دی سولفیدی اتصال دارند، تشکیل شده است. ژن TGF-β بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۹ قرار دارد و شامل ۷ اگزون می باشد(۱۰،۱۱). تغییرات ژنتیکی مثل پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی در ژن سایتوکاین ها می تواند بر مقدار کلی تولید این پروتئین ها اثر گذار باشد(۱۲)، به این معنا که تغییرات ژنتیکی منتهی به تغییر میزان بیان پروتئین بر روی فرایند های سلولی متعددی اثرگذار است(۱۳،۱۴). تغییرات ایجاد شده در TGF-β1 اعم از جهش های سوماتیک یا تغییر میزان بیان اغلب منجر به ایجاد بیماری می شود زیرا در مسیر سیگنالینگ پائین دست گیرنده TGF-β1پروتئین های زیادی وجود دارند (۱۵) که هرکدام در ایجاد یا محافظت سلول در برابر یک ناهنجاری نقش ایفا میکنند و در نتیجه هر تغییری در لیگاند اصلی به راه اندازنده این مسیر(TGF-β1) میتواند با طیف گسترده ای از عواقب برای سلول همراه باشد(۱۸-۱۶).

تأثیر مشخصات ژنتیکی میزبان مثل مقدار سایتوکاین تولید شده، در حساسیت افراد نسبت به عفونت های ویروسی نظیر هپاتیت C و روند پیشرفت و تغییر فاز بیماری بین مزمن و حاد تحت بررسی محققین قرار دارد (۱۱). چندین پلی مورفیسم در توالی ژنی TGF-β1 انسان مشاهده شده است. پلی مورفیسم جایگاه ۹۱۵ این ژن که در اثر آن اسیدآمینه پرولین کدون ۲۵ جایگزین آرژینین می شود(Arg CGG > CCG Pro)، بالغ بر ۱۰ سال است که شناسائی شده است. تغییر الل های مذکور، در برخی مطالعات مرتبط با تغییر میزان بیان پروتئین و غلظت سرمی TGF-β تشخیص داده شده است . بنابراین، ممکن است عامل مستعد کننده برای حفاظت فرد در برابر پیشرفت به سمت سیروز کبدی و سرطان کبد باشند (۲۲-۱۹).

مطالعات متعددی این فرضیه ها را آزمایش کرده و به نتایج متضادی دست یافته اند ، بنابراین هدف مطالعه حاضر، تعیین ارتباط میان پلی مورفیسم جایگاه ۹۱۵ ژن TGF-β1با ابتلا به عفونت مزمن ویروس هپاتیت C، در بیماران دچار عفونت مزمن مراجعه کننده به بخش گوارش بیمارستان آیت الله طالقانی تهران، در مقایسه با گروه کنترل سالم می باشد.

روش کار:

این مطالعه از نوع مورد- شاهدی بود که با استفاده از نمونه های در دسترس به انجام رسید، نمونه ها از بین بیماران مبتلا به هپاتیتC مزمن مراجعه کننده به بخش گوارش و کبد بیمارستان طالقانی تهران انتخاب شدند. برای همه آنان آزمایش الایزا مربوط به تشخیص HCV-Antibody انجام شد. ۱۲۵ فرد دارای آزمایش الایزا مثبت بعنوان بیمار و ۱۲۵ فرد سالم دارای HCV-Ab منفی بعنوان نمونه های شاهد انتخاب شدند. عفونت ویروسی هپاتیت C در افراد دارای پاسخ مثبت در آزمایش الایزا با استخراج HCV-RNA و انجام واکنش RT-PCR برای ژن NS5B ویروس، تأیید گردید.

هردو گروه افراد در جریان طرح تحقیقاتی قرار گرفته و فرم رضایتنامه کمیته اخلاق مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه شهید بهشتی از آنها اخذ شد. کلیه بیماران توسط پزشک آموزش‌دیده، مورد مشاوره قرار گرفته و اطلاعات بالینی و شرح حال ایشان وارد فرم‌های اطلاعاتی مربوطه شد.

برای استخراج DNA به روش استاندارد فنل-کلروفرم از هر فرد ۵ میلی لیتر خون محیطی در شیشه های حاوی EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) برای جلوگیری از لخته شدن خون، گرفته شد. DNA استخراج شده قبل از شروع مراحل بعدی پژوهش در دمای منفی ۷۰ درجه و در لوله های ۰/۵ میلی لیتری نگهداری شد. طراحی پرایمر با نرم افزار های ویژه Primer3 و Gene Runner و قسمت BLAST سایت NCBI انجام شد.توالی و مشخصات فیزیکی پرایمر ها در جدول ۱ آمده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱: مشخصات پرایمر های PCR

	توالی پرایمر ٥' به ٣'	دمای اتصال	درصد محتوای GC
مستقیم (Forward)	5-GTTATTTCCGTGGGATACTGAGAC -3	۶۶/۴	۴۵/۸
معکوس (Reverse)	5-GACCTCCTTGGCGTAGTAGTCG -3	۶۷/۷	۵۹/۱

واکـنش زنجیـره ای پلیمـراز بـا اسـتفاده از ۱۰۰ نـانوگرم DNA استخراج شده و پرایمر های اختصاصی انجـام شـد. مواد مورد استفاده در مخلوط PCR به صورتی که در ادامه آمده است اضافه شدند. ۲/۵ میکرولیتر بافر حاوی MgCl2 و ۰/۵ میکرولیتر از مخلوط حاوی ۰/۲ میلـی مـولار از هـر dNTP(ژن فـــن آوران)، ۵ پیکومـــول از هـــر پرایمـــر (Bioneer)، ۵٪ حجم واکنش (۱/۲۵ میکرولیتر) دی متیل سولفوکـسید (Sigma) و ۲/۵ واحـد آنـزیم Taq پلیمـراز (Super Taq شرکت ژن فن آوران) استفاده شد.

مراحـل PCR در دسـتگاه ترموسـایکلر (Eppendorf) انجام شد. دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجـه و بمـدت ۱۰ دقیقه، دناتوراسیون در ابتدای هر سیکل هم در همـان دما و زمان ۳۰ ثانیه انجام شد. با توجـه بـه دمـای اتـصال پرایمر که هم از طریق تئوری (با نرم افزار Gene Runner) و هم با آزمایش تجربی، محاسبه شد، مرحله بعدی چرخـه PCR ۳۰ ثانیه در دمای ۵۸/۴ درجه در نظر گرفته شد. در انتها نیـز بـرای سـاختن محـصول توسـط آنـزیم پلیمـراز دستگاه روی ۴۵ ثانیه و دمای ۷۲ درجه تنظیم شـد. ایـن چرخـه ۳ مرحلـه ای ۳۰ بـار تکـرار شـد. در مرحلـه بعـد محصول PCR تحت هضم بـا آنـزیم محـدود کننـده BglII (Fermentas) با روش چندشـکلی طـولی قطعـات محـدود شونده (Restriction Fragment Length Polymorphism) قـرار گرفـت. تـوالی محـصول PCR و نـواحی شناسـایی آنزیمهای محدود کننده در نمودار ۱ ذکر شده است.

نمودار ۱ : توالی محصول PCR

نواحی شناسایی آنزیم های محدود کننده در توالی مشخص شده است

واکنش هضم آنزیمی با ۵ واحد آنـزیم و انکوباسـیون ۱۴ تا ۱۶ ساعته انجـام شـد و محـصولات RFLPروی ژل آگارز ۲ درصد برده شدند و رنگ آمیزی با اتیدیوم برمایـد صـورت گرفـت. بـرای تأییـد نتـایجRFLP از میـان کـل نمونه هـا ۱۰ درصـد بـا روش تعیـین تـوالی مـستقیم بـا دسـتگاه ABI genetic analyzer 3130xl تعیـین ژنوتیـپ شدند.

روش آمـــاری: توزیـــع آللـــی بـــا اســـتفاده از تعـــادل هاردی واینبرگ در بیمـاران و در کنتـرل هـا بطـور مجـزا مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه توزیع فراوانی ژنـوتیپی و آللی با استفاده از آزمون مجـذور کـای انجـام شـد. آنـالیز اطلاعـات بـا اسـتفاده از نـرم افـزارSPSS (ویـرایش ۱۳) انجام شد. احتمال P کمتراز ۰/۰۵ معنا دار در نظر گرفتـه شد.

نتایج:

مشخصات بیمـاران و افـراد شـاهد مـورد مطالعـه در جدول ۲ خلاصه شده است.

جدول ۲: مشخصات جمعیت مورد مطالعه

	بیمار	شاهد	ارزشP
میانگین سن (سال)	۴۸/۱±۱۳/۴	۴۸/۲±۱۳/۲	۰/۸۱۵
میانگین شاخص جرم بدن(kg/cm^2)	۲۱/۴	۱۹/۱	۰/۴۸۱
نوع آسیب کبدی			
مزمن تعداد (درصد)	۹۴ (۷۵/۲)	_____	
پیشرفته بسمت سیروز تعداد (درصد)	۳۱ (۲۴/۸)	_____	

میانگین سن افراد دو گروه تقریبا" بـه هـم نزدیـک اسـت (P=0.815) و از نظـر شـاخص جـرم بـدن نیـز تفـاوت معناداری بین دو گروه مشاهده نمـی شـود(P=0.481). در بـین بیمـاران تحـت بررسـی ۷۵/۲ درصـد دارای عفونـت مزمـــن و ۲۴/۸ درصد مبتلا به سیروز کبدی تـشخیص داده شدند.پس از تجزیه و تحلیل آماری با روش های ذکر شده میان ژنوتیپهای مختلف پلی مورفیسم مورد بررسی و نوع عارضه (مزمن یا سـیروز کبـدی) ارتبـاط معنـی داری پیدا نشد. نتایج این مطالعه نشان می دهد که میـان افـراد شاهد و بیماران مبـتلا بـه هپاتیـت C از نظـر ژنوتیـپ در جایگاه ۹۱۵ ژن TGF-β1 ارتباط معنا داری وجـود نـدارد. درصد فراوانی الل های G و C نیز بـین دو گـروه مقایـسه شدند که با توجه به اطلاعات جـدول ۳ تـا حـدود زیـادی مشابه هستند.

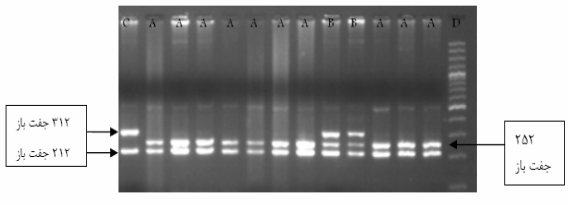
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳: فراوانی ژنوتیپ ها و الل ها در جمعیت مورد مطالعه

		بیمار	شاهد	ارزش P
		تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	
ژنوتیپ جایگاه BglI				
	GG	۱۱۵ (۹۲)	۱۱۲ (۸۹/۶)	
	GC	۱۰ (۸)	۱۱ (۸/۸)	۰/۳۲۴
	CC	۰ (۰)	۲ (۱/۶)	
الل ها				
	G	۲۴۰ (۹۶)	۲۳۵ (۹۴)	۰/۲۰۸
	C	۱۰ (۴)	۱۵(۶)	

یافته های حاصل از این مطالعه نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ های GG، GC و CC بترتیب در بیماران ۹۲٪ ، ۸٪ و ۰٪ و در میان افراد شاهد بترتیب۸۹/۶٪، ۸/۸٪ و ۱/۶٪ می باشد. همچنین فراوانی اللهای G و C در افراد شاهد بترتیب ۹۴٪ و ۶٪ و درمیان بیماران بترتیب ۹۶٪ و ۴٪ تعیین شد. نتایج تحلیل ها نشان داد که در هر دو گروه بیمار و شاهد، فراوانی آلل ها در تعادل هاردی ـ واینبرگ بود. نتایج حاصل از هضم آنزیمی در تصویر۱ آمده است.



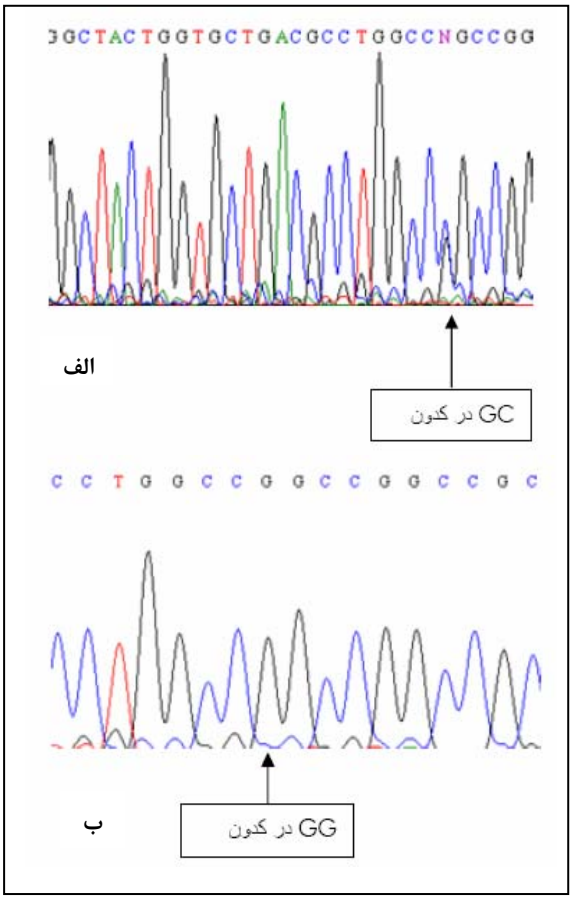
تصویر ۱: قطعات حاصل از هضم آنزیمی با BglI. (A) ژنوتایپ GG. (B) ژنوتایپ GC. (C) ژنوتایپ CC. (D) مارکر ۱۰۰ جفت باز

برای آنالیز دقیق نتایج حاصل از هضم آنزیمی، اطلاعات کامل مربوط به جایگاه شناسائی و برش آنزیم محدودکننده BglI و چند شکلی طولی قطعات حاصل در جدول ۴ خلاصه شده است.

جدول۴: ژنوتیپ و طول قطعات حاصل از هضم آنزیمی

جایگاه شناسائی و برش		ژنوتایپ		طول قطعات حاصل از هضم بر اساس جفت باز
BglI	gccnnnn/nggc	هموزیگوت	GG	۲۱۲ و ۲۵۲ و ۶۰
		هموزیگوت	CC	۲۱۲ و ۳۱۲
		هتروزیگوت	GC	۲۱۲ و ۲۵۲ و ۳۱۲

نتیجه انجام تعیین توالی مستقیم بر روی نمونه ها صحت عملیات RFLP را تأیید کرد. نمونه ای از توالی بدست آمده از ۲۵ نمونه در تصویر ۲ قابل مشاهده است.



تصویر ۲ : دو نمونه از نتایج تعیین توالی مستقیم

قسمت الف : توالی ژن TGF-β1 در فرد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت GC برای جایگاه کدون ۲۵. در جایگاه مشخص شده با پیکان در این فرد دو پیک مشاهده می شود که مربوط به الل های G و C می باشند.

قسمت ب: توالی ژن TGF-β1 در فرد دارای ژنوتیپ هموزیگوت GG برای جایگاه کدون ۲۵. در جایگاه مشخص شده با پیکان در این فرد فقط یک پیک مشاهده می شود که مربوط به الل G می باشند.

بحث:

هنگامی که به عوامل دخیل در مزمن شدن عفونتهای ویروسی مانند هپاتیت نوع C در بدن میزبان می پردازیم، مطالعه زمینه ژنتیکی فرد می تواند بر نوع پاسخ به آلودگی اولیه و عوارض بالینی ناشی از مزمن شدن بیماری در فرد اثر گذار باشد و ترشح سایتوکاین ها بعنوان اجزای عملکردی سیستم ایمنی بدن، بر نوع پاسخ ایمنی و شدت مقابله بدن با ویروس های بیماری زا مؤثر است (۴). گروهی از این سایتوکاین های عموما" پروتئینی، در تکثیر، تمایز و فعال شدن عملکرد سلول های ایمنی نقش تنظیمی دارند از جمله TGF-β که تفاوت های فرد به فرد موجود در جمعیت از نظر میزان تولید یا ترشح آن، احتمالا" پاسخ متفاوت افراد آن جمعیت در برابر یک عامل عفونی را در پی خواهد داشت (۹). از جمله عوامل

Archive of SID
www.SID.ir

تفاوت میان افراد در هر جمعیت تغییرات ایجاد شده در سطح ژن می باشد که بر افزایش حساسیت نسبت بروز یا پیشرفت بیماری های عفونی تأثیرگذار است (۵). فاکتور رشد TGF-β از سایتوکاین های مهم ضد التهابی می باشد که می تواند موجب تعدیل پاسخ های ایمنی بدن گردد، در نتیجه تغییر میزان تولید آن زمینه را برای پیشرفت عفونت و ایجاد بیماری های مزمن فراهم می آورد (۲۳). افزایش موضعی تولید این سایتوکاین روند ترمیم زخم را بهبود بخشیده و فیبروزه شدن بافت ها را تنظیم میکند که مورد اخیر در بیماران مبتلا به عفونت هپاتیت C مزمن از اهمیت برخوردار است (۲۴).

در مطالعه ای که توسط آواد و همکارانش انجام گردیده و اکثر مطالعات منتشر شده به آن استناد کرده اند، در افراد دارای ژنوتیپGG (آرژینین/آرژینین) نسبت به افراد واجد ژنوتیپ GC (آرژینین/پرولین) افزایش قابل توجهی در تولید سایتوکاین TGF-β مشاهده می شود(۲۵) و این تغییر مشهود، حکایت از تأثیر مستقیم پلی مورفیسم های ژن TGF-β1 بر میزان تولید این سایتوکاین و در نتیجه افزایش اثرات ناشی از آن مثل سرکوب تکثیر سلولهایT در پاسخهای التهابی، دارند.

پریرا و همکاران در بررسی ۱۲۸ بیمار و ۹۴ شاهد سالم متعلق به جمعیت برزیل میان پلی مورفیسم کدون ۲۵ با هپاتیت C رابطه معنی داری یافتند و همچنین ژنوتیپ GG را بعنوان عامل تولید بیشتر سایتوکاین معرفی کرده و نشان دادند که افراد واجد فنوتیپ تولید بالای TGF-β نسبت به عفونت هپاتیت C مزمن حساستر می باشند(۲۶). با وجود اینکه درصد ژنوتیپ های بدست آمده از مطالعه حاضر در بین بیماران تقریبا" مشابه نتایج مطالعه پریرا و همکاران در جمعیت برزیل است، لیکن ژنوتیپ افراد شاهد ایرانی با جمعیت مورد مطالعه در برزیل متفاوت است ، در مطالعه حاضر بین افراد شاهد و افراد مبتلا به هپاتیت C از نظر ژنوتیپ کدون ۲۵ ژن TGF-β1 ارتباط معناداری یافت نشده است که با نتایج مطالعه ذکر شده متفاوت می باشد.

با جستجوهای بعمل آمده در پایگاههای اطلاعاتی از سوی نویسندگان تاکنون در جمعیت ایرانی نتایج مطالعه ای مبنی بر بررسی پلی مورفیسم کدون ۲۵ ژنTGF-β1 با هپاتیتC منتشر نشده و به نظر میرسد این مطالعه در نوع خود برای اولین بار انجام شده است. در دو مطالعه ای که بر روی پلی مورفیسم C۹۱۵G ژن TGF-β1 در جمعیت ایرانی بر روی بیماری های غیر از هپاتیت C انجام شده است، امانی و همکارانش برای ۲۲۱ فرد جهت بررسی سندرم سقط جنین خودبخودی، تعیین ژنوتیپ انجام دادند ، طبق نتایج در بین افراد شاهد ۸۵ درصد GG و ۱۵ درصد GC بدست آمد (۲۷) که نزدیک به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می باشد. این بررسی در جمعیت ایرانی دیگری توسط مسعود و همکارانش روی افراد دیابتی و شاهد های سالم انجام شده است و نتایج حاصل مبین این است که درصد ژنوتیپ های GG، GC و CC در گروه اول بترتیب ۸۹/۴٪ ، ۸٪ و ۲/۶٪ و در گروه دوم ۹۱٪، ۶/۶٪ و ۲/۴٪ است(۲۸) که بسیار نزدیک به نتایج مطالعه حاضر می باشد. در مجموع از فراوانی ژنوتیپی گزارش شده در این دو مطالعه بهمراه مطالعه حاضر، می توان به توزیع این ژنوتیپ ها در جمعیت ایرانی پی برد و مشخص نمود که اکثر افراد ایرانی مورد بررسی، واجد فنوتیپ تولید زیاد TGF-β هستند. در مطالعه یانگ ژی و همکاران که در جمعیت چین انجام شده است، ۱۸۶ بیمار مبتلا به هپاتیت بهمراه ۱۵۱ شاهد سالم بررسی شدند ۱۰۰ درصد نمونه ها دارای ژنوتیپ GG بودند و هیچ نمونه ای از دیگر اشکال مشاهده نشده است (۲۹). همچنین در مطالعه می جیتا و همکارانش که در جمعیت ژاپن و روی بیماران مبتلا به هپاتیت B انجام شده است نتیجه مشابهی بدست آمده و ۱۰۰ درصد افراد وارد شده به تحقیق واجد ژنوتیپ GG بوده اند (۳۰). با توجه به موارد مذکور به نظر می رسد که این جایگاه که در ایران و برزیل پلی مورف است، در جمعیت های آسیای شرقی مثل چین و ژاپن، دارای پلی مورفیسم نمی باشند.

جنبه دیگری که در بررسی بیماران مبتلا به عفونت مزمن هپاتیت C جلب توجه می کند، فراوانی افراد مبتلائی است که دچار سیروز کبدی می شوند. دانگ و همکارانش که به بررسی ارتباط میان تغییرات میزان بیان پروتئین TGF-β ، سیروز کبدی و بدنبال آن سرطان کبد پرداخته اند ، نتیجه گرفته اند که همبستگی مثبتی بین افزایش بیان TGF-β و سرطان کبد ناشی از عفونت HBV وجود دارد (۷) و با توجه به این نتایج و تأثیر اثبات شده TGF-β در فیبروزه شدن بافت کبد (۲۴) می توان استنباط کرد که احتمالا" پلی مورفیسم های ژن TGF-β1 می تواند بر پیشرفت

Archive of SID

www.SID.ir

عفونت هپاتیت C موثر باشد (۲۶). فاکتور رشد TGF- β بعنوان یک لیگاند در اتصال به گیرنده اش، در سلول های سالم و سلول های کبدی دچار عفونت مزمن نقش های متفاوتی ایفا میکند، بر خلاف نقش سرکوبگر تومووری که بطور معمول ایفا می کند در سلول های بیمار کبدی به پیشرفت فیبروز و تبدیل سلول های ستاره ای به میوفیبروبلاست ها کمک می کند و پلی مورفیسم جایگاه ۹۱۵ نیز در چند مطالعه بعنوان عامل موثر بر این روند در بیماران واجد عفونت مزمن هپاتیت C معرفی شده است (۳۴-۳۱). در نتیجه مطالعه حاضر، بین افراد مبتلا به عفونت مزمن و افراد درگیر سیروز کبدی از لحاظ ژنوتیپ جایگاه مورد مطالعه تفاوت معنی داری یافت نشده است لیکن با توجه به اینکه اکثریت ۹۰ درصدی افراد بررسی شده دارای فنوتیپ تولید بالای TGF-β بودند و با استناد به نقش تغییر میزان تولید سایتوکاین TGF-β در ایجاد حالت های مختلف عفونت هپاتیت C که در مطالعه فالتی و همکارانش نیز به آن اشاره شده است (۳۵) پیشنهاد می شود مطالعه بر روی تعداد بیشتری از افراد درگیر سیروز کبدی انجام شود و با بیماران هپاتیت مزمن غیر سیروزی مقایسه صورت بگیرد. در جمع بندی داده های ارائه شده باید به یک نکته مهم توجه داشت، در مقایسه نتایج مطالعاتی از این دست که به بررسی همبستگی تغییرات ژنی با استعداد ابتلا به یک بیماری می پردازند، دو عامل تفاوت نژادی و تفاوت جمعیتی باید مد نظر قرار گیرند. با توجه به تفاوت نژاد بین مطالعه حاضر با مطالعه پریرا و همکارانش در برزیل و مطالعات انجام شده در آسیای شرقی می توانیم علت اختلاف نتایج را در تفاوت نژادی جستجو کنیم و تفاوت اندک نتایج مطالعه حاضر با دست آورد های امانی و مسعود را نیز به تفاوت جمعیت های مورد مطالعه مربوط بدانیم.

نتیجه نهایی:

با توجه به اینکه توزیع ژنوتیپی و اللی سایت پلی مورفیسم مورد بررسی در میان بیماران و افراد شاهد سالم تقریبا" یکسان بوده و نتایج این مطالعه حاکی از عدم وجود تفاوت معنی دار آماری بین دو گروه بررسی شده می باشد. در نتیجه بر خلاف آنچه در جمعیت برزیل اعلام شده بود، بیماران ایرانی اختلاف معنی داری با افراد شاهد سالم ندارند. اما قرارگیری اکثریت (حدود ۹۰ درصد) ایرانی های بررسی شده در مطالعات پیشین و همچنین مطالعه حاضر در گروه ژنوتیپی GG را میتوان اینگونه تفسیر کرد که در جمعیت ایران مانند کشور های شرق آسیا و با تفاوت نسبت به جمعیت برزیل در امریکای جنوبی، فنوتیپ تولید بالای TGF-β شایع تر است و در نتیجه بیشتر افراد، واجد فنوتیپ حساس به عفونت هپاتیت C مزمن هستند.

سپاسگزاری :

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از همکاران محترم مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ، خانم ها شهره الماسی ، میترا قدیمی و پروانه محمدی بخاطر همکاری مؤثر در اجرای این پروژه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع :

1. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. Lancet Infect Dis 2005; 5: 558-67.
2. Szabo E, Lotz G, Paska C. Viral hepatitis: new data on hepatitis C infection. Pathol Oncol Res 2003; 9: 215-21.
3. Koziel MJ. Cytokines in viral hepatitis. Semin Liver Dis 1999; 19(2):157-69.
4. Li MO, Sanjabi S, Flavell RA. Transforming growth factor-β controls development, homeostasis, and tolerance of T cells by regulatory T cell-dependent and-independent mechanisms. Immunity 2006; 25: 455–71.
5. Luwor RA, Kaye AH, Zhu HJ. Review: Transforming growth factor-beta (TGF-β) and brain tumours. J Clin Neuroscience 2008; 15: 845–55.
6. Clarke DC, Liu X. Review: Decoding the quantitative nature of TGF-β/Smad signaling. Trends Cell Biol 2008; 18(9) 430-42.
7. Dong ZZ, Yao DF, Yao M, Qiu LW, Zong L, Wu W. Clinical impact of plasma TGF-β1 and circulating TGF-β1 mRNA in diagnosis of heaptocellular carcinoma. Hepatobiliary Pancreat Dis Int 2008; 7(3): 288-95.
8. Shah R, Rahaman B, Hurley CK, Posch PE. Allelic diversity in the TGF-β1 regulatory region: characterization of novel functional single nucleotide polymorphisms. Hum Genet 2006;119: 61–74.
9. Beranek M, Kankova K, Benes P, Izakovicova-Holla L , Znojil V, Hajek D. Polymorphism R25P in the Gene Encoding Transforming Growth Factor-Beta (TGF-β1) Is a Newly Identified Risk Factor for Proliferative Diabetic Retinopathy. Am J Med Gen 2002; 109: 278–83.
10. Chang S.J, Chen C.J, Tsai F.C, Lai H.M,Tsai P.C, Tsai M.H. Associations between gout tophus and polymorphisms 869 T/C and -509 C/T in transforming growth factor-β1 gene. Rheumatol 2008;47: 617–21.

Archive of SID
www.SID.ir

11. Ramireddy Bommireddy, Thomas Doetschman. Review: TGF-β1 and Treg cells: alliance for tolerance. J Mol Med 2007; 13(11):492-501.
12. Shah R, Hurley C.K, Posch P.E. A molecular mechanism for the differential regulation of TGF- β1 expression due to the common SNP, 509C-T (c.,1347C>T). Hum Genet 2006;120: 461–69.
13. Tamizifar B, Lankarani KB, Naeimi S, Rismankar Zadeh M, Taghavi A, Ghaderi A. Promoter polymorphism of transforming growth factor-β1 gene and ulcerative colitis. World J Gastroenterol 2008; 14(2): 243-47.
14. Wu L, Chau J, Young R.P, Pokorny V, Mills G.D, Hopkins R. Transforming growth factor-β1 genotype and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. Thorax 2004; 59: 126-29.
15. Gordon K.J, Blobe G.C. Review: Role of transforming growth factor-β superfamily signaling pathways in human disease. Biochim Biophys Acta 2008; 1782:197–228.
16. Qi P, Chen YM, Wang H, Fang M, Ji Q, Zhao YP. 509C>T polymorphism in the TGF-β1 gene promoter, impact on the hepatocellular carcinoma risk in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection. Cancer Immunol Immunother. 2009; 58(9):1433-40.
17. Kikuchi K, Tanaka A, Matsushita M, Kitazawa E, Hosoya N, Kawashima Y. Genetic Polymorphisms of Transforming Growth Factor β-1 Promoter and Primary Biliary Cirrhosis in Japanese Patients. Ann N Y Acad Sci 2007; 1110: 15–22.
18. Paakkonen V, Vuoristo J, Salo T, Tjaderhane L. Effects of TGF- β1 on interleukin profile of human dental pulp and odontoblasts. Cytokine 2007; 40: 44–51.
19. Barrett S, Collins M, Kenny C, Ryan E, Keane CO, Crowe J. Polymorphisms in tumour necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, interleukin-6, interferon the gamma, and outcome of hepatitis C virus infection. J Med Virol 2003; 71:212–18.
20. Abbas Z, Moatter T, Hussainy A, Jafri W. Effect of cytokine gene polymorphism on histological activity index, viral load and response to treatment in patients with chronic hepatitis C genotype 3. World J Gastroenterol 2005; 11: 6656–61.
21. Kwon OS, Song SH, Ju KT, Chung MG, Park DK, Kim SS, et al. Polymorphism in codons 10 and 25 of the transforming growth factor-beta1 gene in Korean population and in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Korean J Gastroenterol 2003; 42:212–19.
22. Kim YJ, Lee HS, Im JP, Min BH, Kim HD, Jeong JB, et al. Association of transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms with a hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B virus infection. Exp Mol Med 2003; 35:196–202.
23. Amirzargar A. A, Bagheri M, Ghavamzadeh A, Alimoghadam K, Khosravi F, Rezaei N, Cytokine gene polymorphism in Iranian patients with chronic myelogenous leukaemia. Int J Immunogenet 2005; 32: 167–71.
24. Border W.A, Noble N.A. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. New Engl J Med 1994; 331: 1286–90.
25. Awad MR, El-Gamel A, Hasleton P, Turner DM, Sinnott PJ, Hutchinson IV. Genotypic variation in the transforming growth factor-beta1 gene: association with transforming growth factor-beta1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. Transplantation 1998; 66:1014–20.
26. Albuquerque Pereira F, Pinheiro da Silva NN, Ferreira RI, Azevedo CTM, Carneiro LD, Galvao Reis M. Association of TGF-β1 Codon 25 (G915C) Polymorphism With Hepatitis C Virus Infection. J Med Virol 2008; 80:58–64.
27. Amani D, Zolghadri J, Ravangard F, Nikawa N, Yoshiura K, Ghaderi A, et al. Lack of association between the TGF-beta1 gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. J Rep Immunol 2005; 68: 91–103
28. Masoud M, Salehi I, Sheykhbahaei N, Vojgani M, Rajab AA. [Survey the single nucleotide polymorphism of TGF-β at codon 25 in Type 1 diabetic patients]. J Guilan Univ Med Sci 2008; 16: 1–6.(Persian)
29. Xie HY, Wang WL, Yao MY, Yu SF, Feng XN, Jin J. Polymorphisms in cytokine genes and their association with acute rejection and recurrence of hepatitis B in Chinese liver transplant Recipients. J Arc Med 2008; 39: 420-28.
30. Migita K, Miyazoe S, Maeda Y, Daikoku M, Abiru S, Ueki T, Yano K. Cytokine gene polymorphisms in Japanese patients with hepatitis B virus infection—association between TGF- β1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma. J Hepatol. 2005; 42: 505–10.
31. Mak JCW, Leung HCM, Sham ASK, Mok TYW, Poon YN, Ling SO. Genetic polymorphisms and plasma levels of transforming growth factor-b1 in Chinese patients with tuberculosis in Hong Kong. Cytokine 2007;40:177-82.
32. Gewaltig J, Mangasser-Stephan K, Gartung C, Biesterfeld S, Gressner AM. Association of polymorphisms of the transforming growth factor-beta1 gene with the rate of progression of HCV-induced liver fibrosis. Clin Chem Acta 2002; 316:83–194.
33. Tag CG, Mengsteab S, Hellerbrand C, Lammert F, Gressner AM, Weiskirchen R. Analysis of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) codon 25 gene polymorphism by Light Cycler-

Archive of SID

www.SID.ir

analysis in patients with chronic hepatitis C infection. Cytokine 2003; 24:173–81.
34. Osterreicher CH, Datz C, Stickel F, Hellerbrand C, Penz M, Hofer H, et al. TGF beta1 codon 25 gene polymorphism is associated with cirrhosis in patients with hereditary hemochromatosis. Cytokine 2005; 31:142–48.
35. Falleti E, Fabris C, Toniutto P, FontaniniE, Cussigh A, Bitetto D et al. TGF-β1 genotypes in cirrhosis: Relationship with the occurrence of liver cancer. Cytokine.2008; 44 (2):256-61.

Archive of SID

www.SID.ir