Archive of SID

پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۸، صفحات ۲۳۴ تا ۲۴۰

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن مانوز متصل به لکتین با بهبودی بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن B

لیلا علیدوست[۱]، زهرا حاج ابراهیمی[۱]، لیلا نجفی[۱]، دکتر محمد حسین صومی[۲]، مریم فیروزی[۱]، دکتر محمدرضا زالی[۱]

[۱] مرکزتحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۲] مرکز تحقیقات گوارش، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *با توجه به شیوع و روند روبه افزایش هپاتیت مزمنB و اهمیت درمان و بویژه عوامل مساعد کننده در درمان این بیماران و نقش احتمالی پلی‌مورفیسم‌های ژن مانوز متصل به لکتین (MBL) با بهبودی در این بیماران و به منظور تعیین نقش این پلی‌مورفیسم‌ها در درمان مبتلایان هپاتیت B بهبودنیافته و بهبودیافته، این تحقیق در مرکز تحقیقات گوارش و کبد بیمارستان طالقانی انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۰۰ بیمار دارای عفونت مزمن هپاتیت B تحت درمان بهبودنیافته (گروه مورد)، ۱۰۰ بیمار هپاتیت B بهبودیافته (گروه شاهد اول) و ۱۰۰ نمونه کنترل سالم (گروه شاهد دوم) که از لحاظ سن و جنس متناسب با افراد مورد بودند، انتخاب شدند. DNAی ژنومی از خون نمونه‌ها استخراج شد و پلی‌مورفیسم‌های زیر در ژن مانوز متصل به لکتین(MBL) به روش PCR-RFLP تعیین گردید: دو جهش نقطه‌ای در ناحیه پروموتر در موقعیت ۵۵۰- (G به C)، ۲۲۱- (C به G) و یک جهش نقطه‌ای در ناحیه غیرترجمه‌ای ۴+ (T به C) و ۳ جهش نقطه‌ای در کدون‌های ۵۲،۵۴ و۵۷ در اگزون ۱ ژن MBL بترتیب در موقعیت-های نوکلئوتیدی ۲۳۰،۲۲۳ و۲۳۹. میزان عدم مواجهه با پلی‌مورفیسم‌ها مورد قضاوت آماری قرار گرفت.*

یافته‌ها: *فراوانی آلل ۲۲۳T+ در کدون ۵۲+ در بیماران هپاتیت B مزمن و بیماران خودبخود بهبود یافته به ترتیب ۰/۲۲ و ۰/۳۷ بود، که حاکی از ارتباط معنی‌دار بین این پلی‌مورفیسم در ژن مانوز متصل به لکتین دردو گروه بیماران مزمن و افراد خودبه خود بهبود یافته بود. در ارتباط با سایر پلی مورفیسم ها ارتباط معنی داری در گروه های مورد مطالعه مشاهده نگردید.*

نتیجه‌گیری: *از آنجایی که کدون ۵۲+ ژن مانوز متصل به لکتین ارتباط معنی داری میان بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن با هپاتیت B بهبود یافته دارد، می‌توان گفت ژنوتایپ هتروزیگوت کدون ۵۲+ (C/T)احتمالا" نقش بازدارنده در مزمن شدن بیماری هپاتیت B دارد.*

واژگان کلیدی: *مانوز متصل به لکتین، هپاتیت B.*

مقدمه

هپاتیت B یک مشکل جهانی است که بیش از ۳۵۰ میلیون نفر در جهان آلوده به آن هستند. این عفونت با نکروز سلولی و التهاب کبدی مشخص می‌شود و مکانیسم ایمنی نقش بسزایی را در آسیب‌شناسی و اتیولوژی این بیماری بازی می‌کند (۱). دوره بالینی عفونت HBV از حالت بهبودی خودبخودی تا عفونت مزمن مقاوم متغیر می‌باشد که ممکن است به سمت سیروز یا هپاتوسلولار کارسینوما پیشرفت نماید (۲). تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که اختلافات ژنتیکی میزبان نقش عمده‌ای در روند بیماری بعهده دارند. برای مثال

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکزتحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، لیلا علی دوست ماسوله (e-mail: alidoust_le@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۹/۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۶/۲۳

www.SID.ir

Archive of SID

سایتوکین‌ها در پاسخ به التهاب میزبان نقش بسیار مهمی در دفاع بر علیه عفونت‌های ویروسی و کارسینوژن‌ها دارند. امروزه بیشتر این مطالعات بر درک مکانسیم دقیق بهبود یافتن طبیعی از عفونت HBV بر روی فاکتورهای ایمنی میزبان (Host immune factors) بخصوص پلی‌مورفیسم‌ها در نواحی مختلف ژنهای آنها متمرکز شده است (۵-۳).

از آنجایی که تغییرات فردی ایمنی ذاتی غالباً با تغییرات مولکول‌های دخیل در آن و پلی‌مورفیسم‌های آنها بخصوص در سایتوکین‌ها همراه می‌باشد، ناهمگونی این ژن‌ها مانند ژن مانوز متصل به لکتین کاندید در بیماران آلوده به HBV بعنوان یک بیومارکر احتمالی در تغییر فنوتیپ محسوب می‌شود (۷-۶). مانوز متصل به لکتین (MBL) یک مولکول اپسونین وابسته به کلسیم است که نقش مهمی را در ایمنی ذاتی با فعال کردن مسیر کمپلمان کلاسیک (مسیر لکتین) دارد و با سرین پروتئاز وفاگوسیتوزیس در ارتباط است (۱۰-۸). چندین پلی‌مورفیسم در ژن MBL گزارش شده‌اند که منجر به کاهش غلظت سرمی آن وکاهش پاسخ فرد به بیماری‌های عفونی از جمله عفونت HIV می‌گردد (۱۲-۱۰). پروتئین سطح میانی پوششی ویروس هپاتیت B شامل الیگوساکاریدهای مانوز برای اتصال به MBL می‌باشد، بنابراین اپسونیزاسیون ذرات ویروسی بواسطه MBL امکان‌پذیر است. با این وجود ارتباط آن با پاک‌سازی HBV سرم ناشناخته است. نقص MBL در استعداد ابتلا به عفونت‌های ویروسی و باکتریایی و قارچی خاطر نشان شده است (۱۳،۱۴) و ممکن است در عفونت HBV نیز نقش داشته باشد (۱۵،۱۶). چندین تحقیق ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های این ژن را با عفونت ویروس هپاتیت C و اهمیت آن را در پاتوژنز HCV گزارش کرده‌اند. Alves Pedroso و همکارانش در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که پلی‌مورفیسم‌های ژن MBL نه تنها با پیشرفت بیماری هپاتیت C ارتباط دارد، بلکه در پاسخ به درمان این بیماران به داروها و از لحاظ فارماکوژنتیک نیز بسیار حایز اهمیت است (۱۷-۲۴).

مطالعه پلی‌مورفیسم‌های ژن مانوز متصل به لکتین، در جمعیت‌های مختلف با توجه به نقش این مولکول در ایمنی ذاتی می‌تواند ابزاری ارزشمندی باشد. بنظر می‌رسد پلی‌مورفیسم‌های نواحی مختلف این ژن می‌توانند سطح بیان پروتئین مربوطه را تغییر دهند. تاکنون هیچ داده‌ای مبنی بر شیوع پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) و موتاسیون‌های ژن MBL و نقش آنها در تظاهرات بالینی عفونت HBV در بیماران مبتلا به هپاتیتB در ایران گزارش نشده است. این طور تصور می‌شود که SNPهای MBL که در سطح عملکردی پروتئین مؤثر است، ممکن است در بهبودی بیماران هپاتیت B مزمن دخیل باشد. لذا برای آزمودن این فرضیه اولین بررسی در مورد توزیع شش ژنوتایپ مختلف MBL در جمعیت ایرانی شامل بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن و افراد هپاتیت B خودبخود بهبود یافته مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران و دریک جمعیت سالم انجام گردید.

مواد و روشها

تحقیق با طراحی مورد- شاهدی انجام شد. ۱۰۰ بیمار ایرانی مبتلا به هپاتیت B (گروه مورد) و ۱۰۰ بیمار خودبه خودبهبودیافته (گروه شاهد اول) که به درمانگاه بیماران سرپایی مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش وکبد بیمارستان طالقانی در تهران مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. این بیماران هیچ سابقه مصرف الکل نداشتند. تست الایزا جهت تأیید سرولوژیک عدم وجود عفونت ویروس‌های هپاتیتC و ویروسHIV و نیز تأیید وجود HBsAg سرمی و پلاسمایی دو بار به فاصله ۶ ماه انجام شد (Diapro, Italy). بیماران خودبه خود بهبودیافته هپاتیت B در این مطالعه از نظر مثبت بودن anti-HBc و anti-HBs و منفی بودن آنها برای HBsAg به فاصله حداقل ۶ ماه دو بار بررسی شدند. جمعیت‌کنترل (شاهد) نیز از ۱۰۰ فرد به ظاهر سالم بالغ و غیروابسته (گروه شاهد دوم) که از آن‌ها به طور داوطلبانه خون‌گیری شده بود، به دست آمد. تمامی افراد کنترل از نظر HbsAg و Anti-HCVAb همگی منفی بودند و نیز تست‌های عملکرد کبدی آن‌ها در محدودهٔ طبیعی قرار داشت. از تمامی افراد شرکت کننده در این مطالعه قبل از ورود به طرح رضایت‌نامه اخذ شد که فرم آن تحت پروتکل کمیته مطالعات روی نمونه‌های انسانی دانشگاه پزشکی شهید بهشتی تنظیم شده بود. با توجه به عدم مطالعات قبلی در مورد فراوانی پلی-مورفیسم این ژن در بیماران مبتلا به هپاتیت B در ایران، ابتدا فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در افراد سالم (کنترل) بعنوان مبدا مقایسه‌ای (Base Line) محاسبه شد. سپس فراوانی این پلی-مورفیسم در دو گروه دیگر بررسی گردید. جهت نمونه‌گیری و استخراج DNA، پس از اخذ رضایت، نمونه‌های خون در تیوپ‌های حاوی EDTA از بیماران و افراد کنترل جمع‌آوری شد. بلافاصله پس از آن DNA ژنومیک از لکوسیت‌های خون محیطی به روش Salting out (رسوب‌دهی توسط نمک) استخراج شد (۲۵). سپس این DNA در بافر Tris-EDTA (با

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- جفت پرایمرهای لازم برایPCR هر یک از پلی مورفیسم ها ی ژن MBL ومحصول PCR آنها

پرایمرهای PCR	پلی مورفیسم ها		پرایمرهای راست (3` 5)	پرایمرهای چپ(3` 5)	دمای محصول اتصال PCR
سری یک	Promoter	í550 (H/L) í221 (X/Y)	5`-CAG AGA AAA TGC TTA CCC AGG CCA CCC TGT – 3` 5`-GGG GTT GCT GCT GGA AGA CTA TAA ACC TGC TTT C – 3`		۶۰°C ۳۹۴ باز
سری دو	اگزون ۱	Gly57Glu	5` -GCA CCC AGA TTG TAG GAC AGA GGG CAT GCT – 3` 5`-GCC CAA CAC GTA CCT GGT TCC CCC TTT TCT – 3`		۶۴°C ۲۹۶ باز
	5 •UTR	+4 (P/Q)			
سری سه	اگزون ۱	Cys52Arg Gly54Asp	5` -ATC AAC GGC TTC CCA GGG CCA GAT GG – 3` 5`-AGT CTC CTC ATA TCC CCA GGC AGT TTC CTC – 3`		۶۲°C ۱۳۴ باز

جدول ۲- هضم پلی مورفیسم های مختلف ژن مانوزمتصل به لکتین با آنزیم های محدودالاثر مربوطه و قطعات حاصل از آن

پلی مورفیسم ها	هموزیگوت طبیعی (bp)	هموزیگوت موتانت(bp)	هترزیگوت (bp)	آنزیم های محدودالاثر	دمای مناسب هضم
í550 (H/L) (G to C)	28 and 366 bp	394 bp	28,366and 394 bp	Dra-III	37º C
í221 (X/Y) (C to T)	29 and 365	394bp	29,365 and 394	Bsl-I	55º C
+4 (P/Q) (T to C)	16, 23, 52, 62 and 143 bp	23, 62, 68 and 143 bp	16, 23,52 68 and 143 bp	Dde-I	37º C
Codon 52 (C 223 T)	24 and 110 bp	134 bp	24, 110 and 134 bp	Bgl-I	37º C
Codon 54 (G 230 A)	34 and 100 bp	134 bp	34, 100 and 134 bp	Ban-I	55º C
Codon 57 (G239A)	30 and 266 bp	296 bp	30, 266 and 296	Hinf-I	37º C

۸/۲ : PH) و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت استفاده بعدی نگهداری شد.

برای آنالیز ژنوتایپ‌ها (MBL Genotyping)، بررسی پلی‌مورفیسم‌های ژن مانوز متصل به لکتین (MBL) از طریق پروسه‌ای واحد تحت نام PCR-RFLP انجام شد. به طور خلاصه، DNA جدا شده (۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم) در واکنشی با حجم ۲۵ میکرولیتر و شامل ۱ واحد DNA پلی‌مراز Taq (Super taq، انگلستان)، ۵/ ۲ میلی‌مولار Mgcl2 و ۲ میکرولیتر با فر ۱X شامل ۲۰میلی مول Tris-Hcl، ۵۰ میلی-مول Kcl ۸/۴: PH) و ۱۰ پیکومول از هر یک از پرایمرهای ژن مورد نظر که با دمای اولیهٔ واسرشتگی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای یک دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه در طی ۳۰ سیکل با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Personal (Eppendorf آلمان) انجام شد. کامل شدن پروسهٔ طویل شدن فاز تکثیر نهایی نیز برای ۷ دقیقه صورت پذیرفت.

توالی پرایمرهای طراحی شده (شرکت سیناژن) هر یک از این ژن‌ها و دمای مناسب اتصال آنها در جدول ۱ آمده است.

در نهایت تکثیر پلی‌مورفیسم‌های مختلف ژنMBL از طریق وجود باندهای مربوطه به ترتیب تشخیص داده می‌شد. تعیین پلی‌مورفیسم‌های این ژن های تکثیر یافته از طریق PCR، با هضم آنزیمی (RFLP) انجام شد. جهت تعیین هر یک از پلی‌مورفیسم‌ها، ۲ میکرولیتر از DNA تکثیر شده از طریق ۰/۵ میکرولیتر آنزیم اندونوکلئاز مربوطه (10 U/µlit، Fermentas) تحت هضم آنزیمی قرار گرفت و در دمای مناسب به مدت ۱۶ ساعت انکوبه شد. نوع آنزیم محدودالاثر مربوطه و قطعات حاصل از هضم آنها برای هر یک از پلی-مورفیسم‌های بررسی شده در جدول ۲ آورده شده است. قابل ذکر است که جهت جداسازی قطعات هضم شده از الکتروفورز روی ژل، پلی‌اکریل‌آمید (PAGE) ۱۲ درصد با رنگ‌آمیزی نیترات نقره (silver stained) استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- گروههای مورد مطالعه بر حسب میزان مواجهه با شاخص پلی مورفیسم ها

پلی مورفیسم	کنترل (شاهد اول)	افراد خود به خود بهبود یافته (شاهد دوم)	بیماران هپاتیت مزمن B (مورد)	p-value
-۵۵۰ G/G	۲۳	۱۵	۱۸	
-۵۵۰ G/C	۳۷	۵۴	۵۰	NS
-۵۵۰ C/C	۴۰	۳۱	۳۲	
-۲۲۱ C/C	۱۲	۵	۴	
-۲۲۱ C/G	۲۷	۲۹	۴۰	NS
-۲۲۱ G/G	۶۱	۶۶	۵۶	
+۴ C/C	۷۵	۶۸	۷۴	
+۴ C/T	۲۴	۲۹	۲۵	NS
+۴ T/T	۱	۳	۱	
+۵۲ C/C	۳۹	۲۷	۶۷	
+۵۲ C/T	۵۷	۷۱	۲۲	< ù ù ù ú
+۵۲ T/T	۴	۲	۱۱	
+۵۴ G/G	۴۸	۵۲	۶۳	
+۵۴ G/A	۴۰	۳۶	۲۹	NS
+۵۴ A/A	۱۲	۱۲	۸	
+۵۷ G/G	۹۰	۹۹	۹۹	
+۵۷ G/A	۹	۱	۱	NS
+۵۷ A/A	۱	۰	۰	

تحلیل آماری داده‌ها از طریق برنامه نرم‌افزاری SPSS ver.11 انجام شد و نتایج براساس آزمون کای دو، آزمون دقیق فیشر و آزمون t با هم مقایسه شدند. میزان معنی‌دار بودن تفاوت‌ها نیز براساس p<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی روی ۳۰۰ نمونه در سه گروه انجام گرفت. خصوصیات جنس و سن به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه گردیده است و نشان می‌دهد که افراد سه گروه به لحاظ سن و جنس مشابه بوده و اختلاف آنها به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (NS).

جدول ۳- توزیع فراوانی افراد مورد بررسی بر حسب خصوصیات و به تفکیک گروههای مورد مطالعه

	سن	مرد	زن
سالم	۴۴/۹ ±۱۳/۷*	۷۰†	۳۰†
هپاتیت B بهبود یافته	۵۰/۱ ±۱۶/۸	۷۵	۲۵
هپاتیت B بهبود نیافته	۴۸ /۲ ±۱۴/۹	۷۳	۲۷

* میانگین ± انحراف معیار
† تعداد

فراوانی ژنوتایپ‌های پلی‌مورفیسم‌ها و موتاسیون‌های مختلف ژن مانوز متصل به لکتین در سه گروه مورد مطالعه در جدول ۴ نشان داده شده است. با توجه به نتایج بدست آمده در مورد موتاسیون‌های نواحی پروموتری ژن و غیرترجمه‌ای MBL در ناحیه ۵۵۰-، ۲۲۱- و ۴+ هیچ‌گونه تفاوت واختلاف معنی‌داری در بین گروه‌ها وجود نداشت. اما مطالعه ما در مورد پلی-مورفیسم‌های ژن در نواحی ترجمه‌ای در کدون‌های ۵۲+ ، ۵۴+ و ۵۷+ در اگزون یک، ارتباط معنی‌داری را در مورد کدون ۵۲+ ژن مانوز متصل به لکتین در میان گروه‌های مورد بررسی، بخصوص در دو گروه بیماران مبتلا به هپاتیت B و بیماران هپاتیتی خود به خود بهبود یافته نشان داد (p<۰/۰۰۱). برای اطمینان بیشتر در مورد این کدون نتایج دو بار تست شد، بطوری که فراوانی ژنوتایپ‌های C/C و ژنوتایپ-های ناقل آلل T (C/T,T/T) کدون ۵۲+ این ژن در بیماران هپاتیتی مزمن به ترتیب ۶۷ درصد و ۳۳ درصد، در گروه خودبخود بهبود یافته به ترتیب ۲۶ درصد و ۷۴ درصد و در گروه کنترل ۳۹ درصد و ۶۱ درصد به دست آمد. در مورد پلی‌مورفیسم در ناحیه کدون ۵۷+ ژنوتایپ موتانت A/A در ۳۰۰ نمونه جمعیت ما فقط یک مورد در جمعیت کنترل

www.SID.ir

Archive of SID

مشاهده شد و در جمعیت بیمار و جمعیت خودبخود بهبود یافته‌ای وجود نداشت. در ناحیه پروموتری ۲۲۱-، ۹۳ درصد از کل جمعیت مطالعاتی ما دارای آلل موتانت G بصورت ژنوتایپ‌های (G/C,G/G) بودند که بصورت آلل غالب در جمعیت ما نشان داده می‌شود. فراوانی آللی پلی‌مورفیسم‌های ژن MBL در جدول ۵ آمده است.

جدول ۵- فراوانی آللی پلی مورفیسم های ژن مانوز متصل به لکتین (MBL)

پلی مورفیسمها	بیماران هپاتیت مزمن B (٪)	افراد خود به خود بهبود یافته (٪)	کنترل (٪)
-۵۵۰ G	۴۳	۴۲	۴۱/۵
-۵۵۰ C	۵۷	۵۸	۵۸/۵
-۲۲۱ C	۲۴	۱۹/۵	۲۵/۵
-۲۲۱ G	۷۶	۸۰/۵	۷۴/۵
+۴ C	۸۶/۵	۸۲/۵	۸۷
+۴ T	۱۳/۵	۱۷/۵	۱۳
+۲۲۳ C (codon۵۲)	۷۸	۶۲/۵	۶۷/۵
+۲۲۳ T (codon۵۲)	۲۲	۳۷/۵	۳۲/۵
+۲۳۰ C (codon۵۴)	۷۷/۵	۷۰	۶۸
+۲۳۰ C (codon۵۴)	۲۲/۵	۳۰	۳۲
+۲۳۹ G (codon۵۷)	۹۹/۵	۹۹/۵	۹۴/۵
+۲۳۹ A (codon۵۷)	۰/۵	۰/۵	۵/۵

بحث

تحقیق نشان داد که در میان پلی‌مورفیسم‌های مورد بررسی ژن مانوز متصل به لکتین بین بیماران هپاتیتی و افراد خودبخود بهبود یافته تنها ارتباط معنی‌داری برای کدون ۵۲+ اگزون ۱ ژن مانوز متصل به لکتین وجود دارد. پروتئین مانوز متصل به لکتین بعنوان پروتئین فاز حاد (Acute Phase protein)در فعال‌سازی سیستم کمپلمان، در مرحله اول دفاع ایمنی ذاتی بسیار مهم است (۱۹). اگرچه اتصال مستقیم MBL به ویروس HBV ثابت نشده است، ولی چون پوشش بیرونی(Envelope) ویروسHBV دارای N-استیل گلوکزآمین و موتیف‌های شناسایی مانوز می‌باشد، این احتمال اتصال وجود دارد. گزارش شده است موتاسیون کدون ۵۲+ که در ناحیه کلاژن پروتئین MBL قرار دارد (۲۶)، با وجودی‌که ساختارهای تکراری کلاژنی Xaa-Yaa را از بین نمی‌برد، اما بیشتر محققان معتقدند که این موتاسیون ساختار پلی پپتیدها را ناپایدار کرده و از سوار شدن (Assemble) صحیح زنجیرهای پلی‌پپتیدی برای تشکیل پروتئین عملکردی جلوگیری می‌کند. بخوبی مشخص شده است که موتاسیون‌های ژن MBL با کاهش تراز سرمی آن و در نتیجه مستعد بودن به عفونت‌ها همراه است (۲۷). Thio و همکارانش در مطالعه دیگری نشان دادند که ژنوتایپ‌های MBL با ترازهای سرمی بالا با بهبودی بیماران HBV و ژنوتایپ‌های MBL با تراز سرمی پایین با مقاومت عفونت HBV در بیماران ارتباط دارد. بطورمثال نشان داده شده است که موتاسیون در کدون ۵۴+ و ۵۷+ با کاهش تراز سرمی MBL ارتباط دارد (۲۸). مطالعه‌ای دیگرنشان داد که فراوانی پلی‌مورفیسم‌های ژن MBL و ترازهای سرمی آن در میان افراد هپاتیت B خود بخود بهبود یافته و ناقلان غیرپیشرفته و کنترل کاملا" متفاوت است و ترازهای کاهش یافته MBL با ایجاد سیروز و هپاتوسلولار کارسینوما در ناقلان پیشرفته ارتباط دارد (۲۹). در مورد موتاسیون کدون ۵۲+ ژن مانوز متصل به لکتین مطالعات زیادی در بیماران هپاتیتی صورت گرفته است، ولی نتایج حاصله بسیار متناقض است. Thomas و همکارانش نشان دادند که موتاسیون کدون ۵۲+ با مقاومت به عفونت HBV ارتباط دارد (۳۰). مطالعه دیگری در جمعیت آلمان هیچگونه ارتباط معنی‌داری را برای موتاسیون کدون۵۲+ و ۵۴+ در بیماران مبتلا به عفونت مزمن HBV نشان نداد (۳۱)، اما در این مطالعه در پلی‌مورفیسم‌ها و موتاسیون‌های بررسی شده در ژن مانوز متصل به لکتین، تنها ارتباط معنی‌داری برای کدون ۵۲+ ژن پیدا شد. بطوری که ۷۱ درصد افراد خودبخود بهبود یافته دارای ژنوتایپ هتروزیگوت C/T بودند، در حالی که تنها ۲۲ درصد بیماران هپاتیت مزمن دارای ژنوتایپ هتروزیگوت C/T بودند. به عبارتی می‌توان گفت که بیماران مبتلا به عفونت مزمن هپاتیت B در جمعیت ایرانی با ژنوتایپ هتروزیگوسیتC/T کدون ۵۲+ احتمال بهبودی بیشتری دارند. هم‌چنین ۶۱ درصد افراد دارای ژنوتایپ موتانت T/T در گروه بیماران هپاتیتی مزمن قرار داشتند. براساس داده‌ها ی بدست آمده می‌توان گفت در جمعیت ایرانی هتروزیگوسیتی C/T درکدون ۵۲+ نقش بازدارنده‌ای در مزمن شدن بیماری هپاتیت B دارد که از این نظر دانستن نوع ژنوتایپ در بیماران اهمیت بسزایی دارد. فراوانی آلل موتانت T کدون ۵۲+ در جمعیت کنترل کاملا" سالم مطالعه ما ۳۲ درصد، در جمعیت خودبخود بهبود یافته ۳۸ درصد و در جمعیت بیماران مزمن HBV ۲۲ درصد بود. فراوانی این سه موتاسیون ساختاری کدون ۵۲+ و ۵۷+ و۵۴+ ژن MBL در گروه‌های مختلف جمعیتی مطالعه شده است. موتاسیون کدون ۵۲+ و ۵۴+ بیشتر در جمعیت‌های

www.SID.ir

Archive of SID

قفقازی (Caucasian) شایع است، در حالی که موتاسیون کدون ۵۷+ با انحصار بیشتری در جمعیت‌های آفریقایی مشاهده شده است (۳۲) و موتاسیون کدون ۵۲+ در آنجا بسیار نادر است که ممکن است ناشی از بقاء آلل سالم در نواحی آندمیک HBV است (۳۳).

نکته قابل توجه دیگر در این مطالعه این است که در مورد پلی‌مورفیسم ناحیه پروموتری ۲۲۱- (C به G)، ۹۳ درصد جمعیت مطالعاتی ما دارای حداقل یک آلل موتانت G بودند، به عبارتی در میان هر یک از گروه‌های بیماران هپاتیت B و افراد بهبود یافته و کنترل به ترتیب ۹۶ درصد، ۸۵ درصد و ۸۷ درصد بصورت ژنوتایپ‌های (G/C,G/G) بودند که فراوانی این آلل موتانت را بصورت آلل غالب در جمعیت نشان می‌دهد. هم‌چنین در مورد موتاسیون کدون ۵۷+ نیز ژنوتایپ هموزیگوت A/A در جمعیت بهبود یافته و بیمار اصلا" مشاهده نشد و در جمعیت کنترل فقط یک مورد گزارش شد که نشان از نادر بودن این موتاسیون در جمعیت مورد مطالعه و احتمالا" درجمعیت ایرانی دارد که برای اطمینان باید مطالعه دیگری با بیماران انتخاب شده از سراسر ایران صورت گیرد.

یافته‌های ما متفاوت از نتایج سایر مطالعات بر روی افراد سیاه-پوست، اسپانیایی و آسیایی مانند چینی و کره‌ای است که خود نشان می‌دهد توزیع این پلی‌مورفیسم‌ها شدیدا وابسته به قومیت می‌باشد و این اختلاف نژادی مشکلی است که در نهایت می‌تواند اثر چشم‌گیری بر نتیجه مطالعه داشته باشد. نیاز به انجام مطالعات وسیع‌تری برای پیدا کردن مارکرها و پلی‌مورفیسم‌هایی‌که در پاکسازی و یا استعداد ابتلا به هپاتیت نقش ایفا می‌کنند مورد نیاز است. از سوی دیگر این فرض نیز مطرح می‌شود که ژن‌های متفاوتی در جمعیت‌های مختلف در استعداد ابتلا به بیماری دخیل هستند و ممکن است انواع خاص موتاسیون‌های بیماری‌زا در تمامی گروه‌های نژادی و جغرافیایی وجود نداشته باشد، همان چیزی که تنوع ژنتیکی خوانده می‌شود.

REFERENCES

1. Custer B, Sullivan SD, Hazlet TK, Iloeje U, Veenstra DL, Kowdley KV. Global epidemiology of hepatitis B virus J Clin Gastroenterol 2004;38: S158-68
2. Holness G, Carriero DC, Dieterich DT. Hepatitis B therapies and antiviral resistance detection and management. Expert Rev Gastroenterol Hepatol 2009; 3: 693-99.
3. Nieters A, Yuan JM, Sun CL, Zhang ZQ, Stoehlmacher J, Govindarajan S, et al. Effect of cytokine genotypes on the hepatitis B virus-hepatocellular carcinoma association. Cancer 2005; 103: 740-48
4. Gao QJ, Liu DW, Zhang SY, Jia M, Wang LM, Wu LH, et al. Polymorphisms of some cytokines and chronic hepatitis B and C virus infection. World J Gastroenterol 2009; 15: 5610-19.
5. Xie HY, Wang WL, Yao MY, Yu SF, Feng XN, Jin J, et al. Polymorphisms in cytokine genes and their association with acute rejection and recurrence of hepatitis B in Chinese liver transplant recipients. Arch Med Res 2008; 39: 420-28.
6. Bidwell JL, Wood NA, Morse HR, Olomolaiye OO, Laundy GL. Human cytokine gene nucleotide sequence alignments. Eur J Immunogenet 1998; 25: 83–265
7. Morse HR, Olomolaiye OO, Wood NA, Keen LJ, Bidwell JL. Induced heteroduplex genotyping of TNF-alpha, IL-1beta, IL-6 and IL-10 polymorphisms associated with transcriptional regulation. Cytokine 1999; 11: 789–95.
8. Kuhlman M, Joiner K, Ezekowiz RA. The human MBL function as an opsonin J Exp Med 1989; 169: 1733-45.
9. Matsushita M, Fujita T. Activation of the classical complement pathway by MBL in association with a novel C1-like serine protease. J Exp Med 1992; 176: 1497-502.
10. Lu JH, Thiel S, Wiedmann H. Binding of the pentamer/hexamer forms of MBL to zymosan activates the proenzyme C1r2C1s2 complex of the classical pathway of complement without involvment of C1q. J Immunol 1990; 144: 2287- 94.
11. Eisen DP, Minchinton RM. Impact of mannose-binding lectinon susceptibility to infectious diseases. Clin Infect Dis 2003; 37: 1496–505.
12. Summerfield JA, Ryder S, Sumiya M, Thursz M, Gorchein A, Monteil MA, et al. Mannose binding protein gene mutations associated with unusual and severe infections in adults. Lancet 1995; 345: 886–89.
13. Luty AJF, Kun PG, Kremsner PG. MBL plasma levels and gene polymorphisms in plasmodium falciparum malaria. J Infect Dis 1998; 178: 1221-24.
14. Song Le H, Binh VQ, Duy DN, Juliger S, Bock TC, Luty AJ, et al. MBL gene polymorphisms and HBV infection in Vietname patients. Mut Res 2003; 522: 119-25.

www.SID.ir

Archive of SID

15. Hakozaki Y, Yoshiba M, Sekiyama K, Seike E, Iwamoto J, Mitani K, et al. MBL and prognosis of fulminant hepatic failure caused by HBV infection. Liver 2002; 22: 29-34.

16. Yuen MF, Lau CS, Wong WM , Cheng CC, Lai CL. MBL gene mutations are associated with progression of liver disease in Chronic HBV infection. Hepatology 1999; 29: 1248-51.

17. Yuen MF, Lau CS, Lau YL, Wong WM, Cheng CC, Lai CL. Mannose binding lectin gene mutations are associated with progression of liver disease in chronic hepatitis B infection. Hepatology 1999; 29: 1248-51.

18. Songle H, Binh VQ, Duy DN, Juliger S, Bock TC, Luty AJ, et al. Mannose-binding lectin gene polymorphisms and hepatitis B virus infection in Vietnamese patients. Mutat Res 2003; 522: 119-25.

19. Matsushita M, Hijikata M, Ohta Y, Iwata K, Matsumoto M, Nakao K, et al. Hepatitis C virus infection and mutations of mannose-binding lectin gene MBL. Arch Virol 1998; 143: 645-51.

20. Thomas HC, Foster GR, Sumiya M, McIntosh D, Jack DL, Turner MW, Summerfield JA. Mutation of gene of mannose-binding protein associated with chronic hepatitis B viral infection. Lancet 1996; 348: 1417-9.

21. Brown KS, Ryder SD, Irving WL, Sim RB, Hickling TP. Mannan binding lectin and viral hepatitis. Immunol Lett 2007; 108:34–44

22. Alves Pedroso ML, Boldt AB, Pereira-Ferrari L, Steffensen R, Strauss E, Jensenius JC, et al. Mannan-binding lectin MBL2 gene polymorphism in chronic hepatitis C: association with the severity of liver fibrosis and response to interferon therapy. Clin Exp Immunol 2008; 152:258-64

23. Segat L, Silva Vasconcelos LR, Montenegro de Melo F. Association of polymorphisms in the first exon of mannose binding lectin gene (MBL2) in Brazilian patients with HCV infection. Clin Immunol 2007; 124: 13–17.

24. Somi MH, Farhang S, Asgharzadeh M, Estakhry R, Pouri AA. Mannose binding lectin gene haplotype in Iranian patients with hepatitis C infection. Hep Mon. 2007; 7: 21–26.

25. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic acids Res 1988; 16: 1215-18.

26. Hohler T, Kruger A, Gerken G, Schenfelde K-H, Rittner C. A tumour necrosis factor-alpha (TNF .) promoter polymorphism is associated with chronic hepatitis B infection. Clin Exp Immunol 1998 ;111:579-582

27. Cheong JY, Cho SW, Lim SK, Shin do H, Yoon SK, Lee JE, et al. Lack of association between hepatitis B virus infection and polymorphism of Mannose-binding lectin gene in Korean population. J Korean Med Sci 2005; 20: 65-69.

28. Thio CL, Mosbruger T, Astemborski J, Greer S, Kirk GD, O'Brien SJ, et al. Mannose binding lectin genotypes influence recovery from hepatitis B virus infection. J Virol 2005; 79: 9192-96.

29. Chong WP, To YF, Ip WK, Yuen MF, Poon TP, Wong WH, Lai CL, et al. Mannose-binding lectin in chronic hepatitis B virus infection. Hepatology 2005; 42: 1037-45.

30. Thomas HC, Foster GR, Sumiya M, McIntosh D, Jack DL, Turner MW, et al. Mutation of gene of mannose-binding protein associated with chronic hepatitis B viral infection. Lancet 1996; 348: 1417-19.

31. Hohler T, Wunschel M, Gerkrn G,Schneider PM, Rittner C, Meyer Z, et al. No association between mannose-binding lectin alleles and susceptibility to chronic hepatitis B virus infection in German patients. Exp Clin Immunogenet 1998; 15: 130-33.

32. Turner MW. Mannose binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. Immunol Today 1996; 17: 532-40.

33. Madsen HO, Garred P Kurtzhals JA L, Kurtzhals JA, Lamm LU, Ryder LP, et al. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannose-binding protein. Immunogenetics 1994; 40: 37-44.

www.SID.ir