

## ***Lack of Association between IL12B Gene Single Nucleotide Polymorphism (rs6887695G/C) and Chronic Hepatitis B Virus Infection in an Iranian Population***

Sediqueh Heidarian<sup>1</sup>,

Farzaneh Sabahi<sup>2</sup>,

Seyed Reza Mohebbi<sup>3</sup>,

Maryam Karkhane<sup>4</sup>,

Pedram Azimzadeh<sup>5</sup>,

Mahsa Saeedi Niasar<sup>6</sup>

Shaqaeeyq Derakhshani<sup>6</sup>,

Afsaneh Sharifian<sup>7</sup>,

Mohammadreza Zali<sup>8</sup>

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

<sup>2</sup> Professor, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

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

<sup>4</sup> MSc in Microbiology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>5</sup> PhD Student in Genetics, Foodborne and Waterborne Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>6</sup> MSc Student in Developmental Biology, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>7</sup> Associate Professor, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>8</sup> Professor, Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received January 8, 2017 Accepted July 10, 2017)

### ***Abstract***

**Background and purpose:** Hepatitis B virus (HBV) is considered to be one of the most important etiological factors of liver complication around the world. Interactions of host immune responses with HBV have a crucial role in the outcome of the infection. IL12 is an important pro-inflammatory cytokine that stimulates natural killer cells and T-lymphocytes to produce IFN- $\gamma$ , promotes T-helper 1 responses, and expands CD8+cytotoxic T-cell activity. These unique properties of IL12 indicate that it might play an important role in control and clearance of HBV. In addition, single nucleotide polymorphisms (SNPs) are presumed to be linked to differential production of cytokines levels. This study investigated the association of IL12B rs6887695 G/C polymorphism with chronic HBV infection.

**Materials and methods:** Genotypes distribution of IL12B rs6887695 was determined in 120 chronic HBV infected patients and 120 healthy controls using polymerase chain restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method between 2013 and 2015.

**Results:** The frequencies of rs6887695 GG, GC and CC genotypes in the patients with chronic infection were 56.7%, 36.7% and 6.6%, respectively and in healthy controls were 51.7%, 42.5%, and 5.8%, respectively. No statistically significant difference was detected in IL12B rs6887695 genotypes between the patients and controls (P=0.65).

**Conclusion:** IL12 plays an essential role in immune response against HBV infection; however, present findings suggest that IL12B rs6887695 SNP was not associated with chronic HBV in the Iranian population studied.

**Keywords:** Hepatitis B virus, single nucleotide polymorphism, Interleukin-12, chronic infection

## عدم ارتباط بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی [rs6887695G/C] در ژن IL12B با عفونت هپاتیت B مزمن در جمعیت ایرانی

صدیقه حیدریان<sup>۱</sup>فرزانه صباحی<sup>۲</sup>سید رضا محبی<sup>۳</sup>مریم کارخانه<sup>۴</sup>پدرام عظیم زاده<sup>۵</sup>مهسا سعیدی نیاسر<sup>۶</sup>شقایق درخشانی<sup>۶</sup>افسانه شریفیان<sup>۸</sup>محمد رضا زالی<sup>۹</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** ویروس هپاتیت B یکی از مهم ترین علل ضایعات کبدی در سراسر جهان است پاسخ سیستم ایمنی میزبان و ویروس هپاتیت B، نقش مهمی در نتیجه عفونت دارند. اینترلوکین ۱۲ (IL12) در نقش یک سایتوکاین پیش التهابی باعث تحریک سلول های کشنده طبیعی و لنفوسیت T برای تولید اینترفرون گاما (IFN- $\gamma$ )، تقویت لنفوسیت های Th1 و افزایش فعالیت سلول های T سایتوتوکسیک می شود. این خصوصیات منحصر به فرد IL12، نشان می دهد که این سایتوکاین ممکن است نقش مهمی در پاکسازی و کنترل HBV داشته باشد. از طرف دیگر پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی با تولید متفاوت سایتوکاین ها همراه است. در این مطالعه، ارتباط پلی مورفیسم (rs6887695) ژن IL12B با عفونت مزمن HBV مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

**مواد و روش ها:** توزیع ژنوتیپ های (rs6887695) ژن IL12B در ۱۲۰ بیمار مزمن مبتلا به ویروس هپاتیت B مزمن و ۱۲۰ فرد سالم با استفاده از واکنش زنجیره پلیمرز و متعاقب آن هضم آنزیمی RFLP در روی نمونه های جمع آوری شده بین سال های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۴ انجام شد.

**یافته ها:** فراوانی ژنوتیپ های GG، GC و CC به ترتیب در بیماران ۵۶٪، ۳۶٪ و ۶٪ درصد و در میان افراد شاهد به ترتیب ۵۱٪، ۴۲٪ و ۵٪ درصد است (P value=۰/۶۵)

**استنتاج:** یافته های مطالعه حاضر نشان می دهد که میان پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (rs6887695) ژن IL12B و ابتلا به عفونت ویروس هپاتیت B مزمن در جمعیت ایرانی تحت مطالعه، رابطه معناداری وجود ندارد.

**واژه های کلیدی:** ویروس هپاتیت B مزمن، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی، اینترلوکین ۱۲، عفونت مزمن

### مقدمه

پارانشیم کبد است (۱، ۲). اکثر افراد بالغی که به HBV آلوده هستند، وارد فاز حاد بیماری می شوند و در بیش تر موارد ویروس از بدنشان حذف می گردد، اما

ویروس هپاتیت B برخلاف ویروس های هپاتیت دیگر (HAV، HCV، HEV، HDV) ژنومی از جنس DNA دارد و مهم ترین عامل ایجاد التهاب در سلول های

**مؤلف مسئول:** سید رضا محبی - تهران، ولنجک، خیابان یمن، بیمارستان آیت الله طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد  
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران  
۲. استاد، گروه ویروس شناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران  
۳. استاد بار، مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری های گوارش، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران  
۴. کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران  
۵. دانشجوی دکتری، مرکز تحقیقات بیماری های منتقله از آب و غذا، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران  
۶. دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران  
۷. دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران  
۸. استاد، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران  
۹. تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۱/۲۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۴/۱۹

Email: sr.mohebbi@sbum.ac.ir

NK را تقویت کرده و لنفوسیت‌های T سایتولیتیکی CD8 را افزایش می‌دهد که این اثر IL12، نقش مهمی در ایمنی تومورها دارد (۸). اینترلوکین ۱۲ باعث پیشبرد تمایز لنفوسیت‌های T کمکی به سلول‌های TH1 تولیدکننده IFN $\gamma$  از TH1 و ترشح IFN $\gamma$  از لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک (CTL) می‌شود که با همراهی IFN $\gamma$  تولید IgG را از سلول‌های B افزایش می‌دهند. این ایمونوگلوبولین در ایجاد ایمنی پایدار علیه ویروس نقش دارد و هدف از استفاده واکسن علیه هپاتیت، افزایش سطح IgG می‌باشد که با کمک IL3 باعث تکثیر سلول‌های خونساز می‌شود. هم‌چنین به دلیل نقش محوری در پاسخ‌های ایمنی ذاتی و تطبیقی و هم‌افزایی سایتوکاین‌های دیگر به عنوان ایمنوتراپی در نظر گرفته می‌شود. مزیت مهم درمان با IL12 این است که چون گیرنده‌های آن‌ها محدود می‌باشند، پس عوارض جانبی کم‌تری دارند (۹).

به نظر می‌رسد که میزان تولید و سطح اینترلوکین ۱۲ تحت تاثیر پلی مورفیسم‌های آن قرار می‌گیرد (۱۰). هدف این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم rs6887695 در فاصله ۶۰kb فرادست ناحیه کدینگ ژن IL12B با استعداد ابتلا به هپاتیت B مزمن در جمعیت ایرانی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی، بر روی ۱۲۰ بیمار مبتلا به هپاتیت B مزمن مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات کبد و گوارش بیمارستان طالقانی شهر تهران و ۱۲۰ فرد سالم به عنوان گروه شاهد انجام شد.

معیار انتخاب گروه بیمار، مثبت شدن نتیجه آزمایشات الیزا (HBs-Ag و Anti-HBc-Ab (Diapro (diagnostics, Italy) بیش از شش ماه بود که اکثرشان سابقه بستری شدن در بیمارستان را داشتند. بیماران مبتلا به هپاتیت B که همزمان به عفونت‌های هپاتیت C و یا ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) مبتلا بودند، از مطالعه

در بعضی موارد عفونت پایدار می‌گردد و به سمت بیماری‌های مزمن کبدی و سرطان کبد پیش می‌رود. مطالعات نشان داده که عامل پاتوژنز و فاکتورهای ژنتیکی و ایمنی میزبان در مزمن شدن ویروس هپاتیت B نقش دارند. چندین فاکتور اپیدمیولوژیک دیگر مثل سن، جنس، مصرف الکل، ابتلا به عفونت و آلودگی همزمان با ویروس‌های هپاتیتی دیگر نیز در پایداری این ویروس موثر می‌باشند (۳، ۴).

استراتژی اصلی سیستم ایمنی در برابر عفونت‌های ویروسی، دفاع غیر اختصاصی است و در صورتی که این نوع دفاع ناتوان باشد، پاسخ ایمنی اختصاصی فعال می‌گردد. سیستم ایمنی با تولید سایتوکاین‌ها که واسطه‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی هستند و به‌عنوان تعدیل‌کننده‌های سیستم ایمنی به‌شمار می‌روند، در پاکسازی عفونت‌های ویروسی عمل می‌کنند. اینترلوکین ۱۲ یک سایتوکاین هتروداایمر و متشکل از دو زیرواحد متصل با پیوندهای دی سولفید می‌باشد. ژن IL12A، پروتئین ۳۵ کیلودالتونی و ژن IL12B، پروتئین ۴۰ کیلودالتونی را کد می‌کند که توسط ماکروفاژها، منوسیت‌ها، سلول‌های دندریتیک و لنفوسیت T کمکی (TH1) در پاسخ به پاتوژن‌ها، فاکتورهای التهابی یا پیام‌های سلول‌های T نظیر اتصال لیگاند CD40 به CD40 تولید می‌شوند و واسطه اصلی پاسخ‌های ایمنی ذاتی به میکروب‌های داخل سلولی و القاکننده پاسخ‌های ایمنی تطبیقی در برابر این میکروبها می‌باشد. هم‌چنین در ابتدا تحت عنوان فاکتور محرک سلول‌های NK (NK-SF) و فاکتور بلوغ لنفوسیت‌های سایتوتوکسیک خوانده می‌شدند (۵، ۶).

در بسیاری از عفونت‌های ویروسی، پاسخ اولیه سلول‌های کشنده طبیعی (NK) در پاکسازی ویروس موثر می‌باشد. اینترلوکین ۱۲ با فعال کردن سلول‌های کشنده طبیعی (NK) باعث ترشح اینترفرون گاما (IFN $\gamma$ ) از این سلول‌ها می‌شود و نیز IFN $\gamma$ ، تیر ویروس را کاهش می‌دهد (۷) به علاوه عمل سایتولیتیکی سلول‌های

واحد آنزیم Taq پلیمرز و ۱۰ پیکومول از هر پرایمر به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر اضافه گردید. سپس PCR طبق برنامه زیر انجام شد: واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۵ سیکل از دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه، دمای ۷۲ درجه سانتی گراد جهت تکثیر نهایی انجام شد. محصول PCR که یک قطعه به طول ۶۰۹bp می باشد، با استفاده از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برده شد و در نهایت به روش Prestaining با DNA Green Viewer<sup>TM</sup> رنگ آمیزی گردید. سپس محصولات PCR با استفاده از آنزیم محدودالانتر hph1 مورد هضم قرار گرفت و قطعات حاصل از عملکرد آنزیم روی ژل آگارز ۳ درصد مشخص گردید.

خارج شدند. گروه کنترل شامل افراد سالمی بودند که نتیجه آزمایشات HBs-Ag و Anti-HBcAb منفی بود. استخراج DNA و تعیین ژنوتایپ: از نمونه های خون حاوی EDTA برای استخراج DNA ژنومی به روش اشباع نمکی ((Salting out استفاده شد. در ابتدا پرایمرها به کمک نرم افزار Gene Runner طراحی و بخش Primer Blast (سایت NCBI مرکز ملی اطلاعات فناوری) بررسی شدند که مشخصات پرایمرها در جدول ۱ آمده است. با استفاده از این پرایمرهای اختصاصی، قطعه ژنومی که حاوی rs6887695 ژن IL12B بود، طی PCR در دستگاه تروموسایکلر (پندورف آلمان) تحت شرایط زیر تکثیر شد: مقدار ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی به مخلوط واکنش حاوی ۲/۵ میکرولیتر بافر (MgCl<sub>2</sub>-plus)، ۰/۵ میکرولیتر از مخلوط حاوی ۰/۲ میلی مولار از هر dNTPs، ۱/۵

جدول شماره ۱: مشخصات پرایمرها و آنزیم با اثر محدود

پلی مورفیسم	توالی پرایمر	آنزیم محدود کننده	فتوتیپ الی
IL12B-rs6887695G/C	F5- GACTTGCTTCATACTTCTTCTG-3	Hph1	A609bp
	RS- CTCATTATCATTGTCAGTCTTGG -3	5- GGTTGA (N)8-3 3- CCACT(N) 7-5	G:501+108bp

مورد مطالعه از نظر جنسیت در جدول شماره ۲ خلاصه شده است.

جدول شماره ۲: مشخصات جمعیت مورد مطالعه به تفکیک

p-value	گروه ها بیمار شاهد	
	بیمار (درصد)	شاهد (درصد)
.۰/۱۱۴	۴۲ (۳۵)	۵۴ (۴۵)
	۷۸ (۶۵)	۶۶ (۵۵)
۰/۱۸	۴۱/۴±۱۷۶	۳۶/۸±۱۳۲

تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. به منظور مقایسه نتایج فراوانی ها، آزمون مربع کای انجام گرفت. ۰/۰۵ میزانی برای سطح معنی داری در نظر گرفته شد، از T-Test برای مقایسه میانگین سنی در دو گروه کنترل و بیمار و از Regression Analysis برای بررسی توزیع ژنوتیپ ها با حذف اثر مداخله گر سن در دو گروه کنترل و بیمار استفاده شد.

نتایج حاصل از PCR، یک قطعه به طول ۶۹۵ جفت باز می باشد که بعد از اثر هضم آنزیمی در افراد با ژنوتیپ CC یک قطعه ۶۰۹ جفت بازی، در افراد با ژنوتیپ GC سه قطعه ۶۰۹، ۵۰۱ و ۱۰۸ جفت بازی و در

## یافته ها

در دو گروه شاهد و کنترل از نظر جنس تفاوت معناداری مشاهده نگردید. فراوانی بیماران و افراد شاهد

تک نوکلئوتیدی ساتوکاین‌ها تاثیر مهمی در بهبود یا ابتلا به بیماری‌های عفونی و غیرعفونی دارند (۱۳). اینترلوکین‌ها انواعی از ملکول‌های پیام‌رسان سایتوکاین‌ها در سیستم ایمنی هستند و نقش مهمی در فعالیت لنفوسیت‌ها دارند (۱۴). ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژنی و بیماری‌های مختلف در مطالعات متعددی مشاهده شده است. گاهی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) می‌توانند در سطح رونویسی و هم‌چنین تغییر رمز یک اسیدامینه تاثیرگذار باشند و در نهایت منجر به پیشرفت و یا حفاظت از بیماری شود. از جمله مطالعه Pravica و همکاران نشان داد که وجود یک SNP واقع در انتهای ۵' ناحیه تکراری CA در اولین اینترون (874 T/A) IFN- $\gamma$  باعث جایگزینی الی T با C می‌شود و موجب تغییر در سطح رونویسی ژن می‌شود که می‌تواند در پاتوژنز بیماری تاثیرگذار باشد (۱۵). در مطالعه‌ای که روی جمعیت ایرانی انجام گرفت، مشخص گردید که ژنوتیپ TT در ژن آگزونوکلئاز یک lue/lue (Exn1) همبستگی معکوس با سرطان روده بزرگ دارد، در حالی که ژنوتیپ pro/lue (CT) در این وضعیت با سرطان ارتباط معناداری ندارد (۱۶).

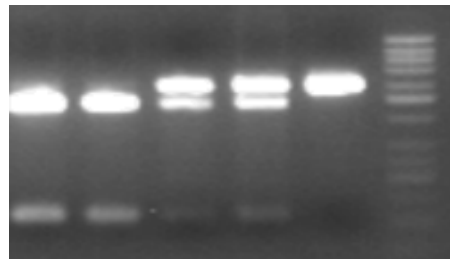
IL12 یک هتروداایمر می‌باشد و روی کروموزم ۵-33-31 قرار گرفته که زیر واحد P40 آن IL12B را کد می‌کند (۱۷) و با هدایت لنفوسیت‌های TH به سمت TH1 باعث افزایش تولید سایتوکاین‌های التهابی آن می‌شود و از طرف دیگر تولید سایتوکاین‌های هومورال TH2 را متوقف می‌کند. این عملکرد IL12 در بیماری‌های اتوایمیون، التهابی و عفونت‌های ویروسی مشاهده شده است (۱۸). مطالعات متعددی در خصوص ارتباط سایتوکاین‌های التهابی با مزمن شدن هپاتیت B انجام گرفته است. در بررسی که روی مزمن شدن هپاتیت B در بیماران ایرانی انجام گرفت، ارتباط معناداری با پلی‌مورفیسم rs568408 از ژن IL12A مشاهده نشد، اما در همین جمعیت، rs763780 از ژن IL17 با خطر ابتلا به این بیماری در ارتباط است (۱۹، ۲۰).

ژنوتیپ GG دو قطعه ۵۰۱ و ۱۰۸ جفت بازی مشاهده شد (شکل شماره ۱). نتایج حاصل از آنالیزهای آماری و هم‌چنین فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم جایگاه rs6887695 ژن اینترلوکین ۱۲ در جدول شماره ۳ آمده است. با استفاده از آزمون رگرسیون و حذف عامل مداخله‌گر سن، توزیع پلی‌مورفیسم‌ها در دو گروه مورد و شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

جدول شماره ۳: بررسی توزیع فراوانی (درصد) ژنوتیپ‌های

به دست آمده در دو گروه تحت مطالعه

ژنوتیپ	هیپاتیت B	شاهد	OR(CI=%95)	PV
GG	۶۸(۵۶۷)	۶۲(۵۱۷)	گروه مرجع	
GC	۲۴(۳۶۶)	۵۱(۴۲۵)	۱/۲ (۰/۸۴ - ۲/۱)	۰/۳۷
CC	۸(۹۶)	۷(۵۸)	۰/۸۶ (۰/۳۲ - ۲/۸۱)	۰/۹۴
ال			گروه مرجع	
G	۱۷۸(۷۶۶)	۱۷۶(۷۳۴)		
C	۶۲(۲۵۸)	۶۴(۲۶۶)	۰/۹۵ (۰/۶۳ - ۱/۴۳)	۰/۸۳



شکل شماره ۱: نتیجه الکتروفورز حاصل از برش آنزیم HphI

روی ژن IL12A که rs6887695 را به ۳ ژنوتیپ GG، ژنوتیپ GC و ژنوتیپ CC محدود می‌کند. چاهک شماره ۶ نمونه کنترلی برش یافته (GG) است که از قبل سکانس‌یابی شده و جهت صحت عملکرد آنزیم محدودالایثر در هر ست کاری ران می‌شود. چاهک شماره ۲ ژنوتیپ CC، چاهک‌های ۳ و ۴ ژنوتیپ GC و چاهک ۵ ژنوتیپ GG و چاهک ۶ لدر نشان‌گر وزن ملکولی می‌باشد.

## بحث

زمینه ژنتیک سیستم ایمنی میزبان، مهم‌ترین عامل مزمن شدن عفونت ویروس هپاتیت B می‌باشد (۱۱، ۱۲). پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP ها)، مهم‌ترین فاکتور ژنتیکی و شایع‌ترین نوع پلی‌مورفیسم هستند که تنوع ژنوم انسان را تشکیل می‌دهند. پلی‌مورفیسم‌های

لی لیو نشان داد که بین پلی مورفیسم (rs568408) ژن IL12A با هپاتو کارسینوما در بیماران چینی مبتلا به هپاتیت B، ارتباط معنادار وجود دارد (۲۱). در حالی که نیتز و همکارانش بین ژنوتیپ (rs3212227) AC/CC ژن IL12B با هپاتو کارسینوما ارتباط معناداری مشاهده نکردند (۲۲) محبی و همکارانش اولین مطالعه را روی ارتباط تنوع ژنی IL12B با هپاتیت در ایران انجام دادند که رابطه معناداری بین پلی مورفیسم C/A1188 اینترلوکین ۱۲ زیر واحد P24 با استعداد ابتلا به هپاتیت B و C مشاهده نکردند (۲۴، ۲۳). اما مطالعه دیگری که توسط زرگر و همکارانش در ارتباط با نقش این پلی مورفیسم با بیماری خودایمنی مولتیپل اسکلروزیز انجام شد، نشان داد که ژنوتیپ AA در بیماران افزایش و ژنوتیپ CA کاهش یافته است و این محققان بر نقش ژنوتیپ AA در افزایش حساسیت به مولتیپل اسکلروزیز در جمعیت ایرانی تاکید کردند (۲۵).

از جمله مطالعاتی که روی پلی مورفیسم rs6887695 ژن IL12B انجام شده، می توان به بیماری وابسته به ایمنی سلولی هاشیمتو اشاره کرد. طی بررسی که در جمعیت استرالیا انجام شد، مشاهده کردند این بیماری با پلی مورفیسم (rs6887695) در ژن IL12B در ارتباط است. هم چنین مطالعات مشابهی در چین و اروپا هم انجام شده که این نتایج را تایید می کند (۲۶). در مطالعه ای که روی جمعیت دانمارکی انجام شد، مشخص گردید که رابطه معناداری بین rs6887695 و بیماری کرون وجود دارد. ارتباط این پلی مورفیسم با بیماری پسوریازیس که یک بیماری پوستی التهابی اتوایمنی می باشد، در جامعه تایلند، قفقاز، ژاپن و چین اثبات شده است. هم چنین پلی مورفیسم های رایج در پروموتور (rs41292470) IL12B و ناحیه ۳ UTR (rs3212227) IL12 را تحت تاثیر قرار می دهد (۲۷). به علاوه این پلی مورفیسم ها با بیماری های مربوط به اختلال سیستم ایمنی مثل دیابت تیپ ۱، آسم و بیماری مایکوباکتریوم مرتبط می باشند (۲۸، ۲۹). در

خصوص بیماری پسوریازیس، داده های SNP با دقت متوسط ۶۸ درصد می تواند وضعیت بیماری را پیش بینی کند که این نتایج اهمیت پلی مورفیسم ها را در تشخیص بیماری می رساند (۳۰).

ارتباط پلی مورفیسم ها با بیماری های مختلف حتی ارتباط یک SNP مشابه با یک نوع بیماری، نتایج متفاوتی را به بار می آورد که این نشان می دهد عوامل دیگری غیر از وجود جایگزینی الی می تواند در معنی دار شدن پلی مورفیسم ها با بیماری ها نقش داشته باشد، از جمله نژاد و جمعیت مورد مطالعه پریا و همکاران در بررسی افراد سالم و بیماران هپاتیتی جمعیت برزیل، میان پلی مورفیسم کدون ۲۵ با هپاتیت C رابطه معناداری یافتند و هم چنین نشان دادند افرادی که دارای ژنوتیپ GG هستند، با تولید بیش تر TGF-β1، به هپاتیت B مزمن حساس تر می باشند 29. اما مطالعه ای که روی ژنوتیپ کدون ۲۵ ژن TGF-β1 بیماران مبتلا به هپاتیت C در جمعیت ایرانی انجام شد، رابطه معنی داری مشاهده نشد. می توانیم این اختلاف نتایج را در تفاوت نژادی جستجو کنیم (۳۱).

در خصوص تاثیر جمعیت، دو بررسی روی پلی مورفیسم ۹۱۵ ژن TGF-β1 در جمعیت ایرانی انجام شده است؛ امانی و همکارانش برای ۲۲۱ نفر از زنانی که سقط خود به خود داشتند، تعیین ژنوتیپ انجام دادند، در افراد شاهد، ۸۵ درصد GG و ۱۵ درصد CC به دست آمد (۳۲). این بررسی در جمعیت ایرانی دیگری روی افراد دیابتی انجام شد که درصد ژنوتیپ GG در افراد شاهد ۹۱ درصد و ۶/۶ GC درصد گزارش شد. پس این تفاوت ژنوتیپ در یک نژاد اما بین جمعیت های مختلف هم اتفاق می افتد، در نتیجه تفاوت های نژادی و جمعیتی مورد مطالعه باید به عنوان عوامل ناهمگونی نتایج تعیین ژنوتیپ مد نظر قرار داد (۳۳).

در این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم (rs6887695G/C) ژن IL12B با بیماری

نتیجه بهتر است که بررسی روی پلی مورفیسم‌های دیگر IL12 انجام شود.

### سپاسگزاری

نویسندگان مقاله حاضر از تمامی پرسنل پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که در انجام این طرح همکاری نمودند، به ویژه خانم‌ها فرخناز جباریان، مریم متانی بورخیلی و آقایان یاسین حاتمی و مهدی طلوعی مقدم کمال تشکر را دارند.

هپاتیت B مزمن بررسی شد که ارتباط معناداری بین گروه شاهد و بیمار مشاهده نشد.

در پایان می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً این پلی مورفیسم در جمعیت ایرانی با مزمن شدن هپاتیت B در ارتباط نمی‌باشد. ما پیشنهاد می‌کنیم جهت بالا بردن کیفیت مطالعه از تعداد نمونه بیش تری استفاده شود و به دلیل نقش اساسی IL12 در فعال کردن تولید سایتوکاین‌های که ویروس را در ابتدای ورودشان غیرفعال می‌کنند و پاسخ‌های ایمنی اکتسابی را راه‌اندازی می‌کنند (۳۴) و با توجه به این که تاثیر پلی مورفیسم‌های دیگر این سایتوکاین در ارتباط با بیماری‌های التهابی و اتوایمونی ثابت شده است (۳۵)، در

### References

- Zuckerman A. More than third of world's population has been infected with hepatitis B virus. *BMJ: British Medical Journal*. 1999;318(7192):1213.
- Sells MA, Chen ML, Acs G. Production of hepatitis B virus particles in Hep G2 cells transfected with cloned hepatitis B virus DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1987;84(4):1005-9.
- Yan Z-H, Fan Y, Wang X-H, Mao Q, Deng G-H, Wang Y-M. Relationship between HLA-DR gene polymorphisms and outcomes of hepatitis B viral infections: a meta-analysis. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2012;18(24):3119.
- Frodsham AJ. Host genetics and the outcome of hepatitis B viral infection. *Transplant immunology*. 2005;14(3):183-6.
- Abbas A, Lichtman A. *Cellular and molecular immunology*. Philadelphia: Saunders; 2009. Acceso Marzo. 2010;9.
- Heufler C, Koch F, Stanzl U, Topar G, Wysocka M, Trinchieri G, et al. Interleukin-12 is produced by dendritic cells and mediates T helper 1 development as well as interferon- $\gamma$  production by T helper 1 cells. *European journal of immunology*. 1996;26(3):659-68.
- Komastu T, Ireland DD, Reiss CS. IL-12 and viral infections. *Cytokine & growth factor reviews*. 1998;9(3):277-85.
- Kovacs E. The serum levels of IL-12 and IL-16 in cancer patients. Relation to the tumour stage and previous therapy. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2001;55(2):111-6.
- Bancroft AJ, Else KJ, Sypek JP, Grecis RK. Interleukin-12 promotes a chronic intestinal nematode infection. *European journal of immunology*. 1997;27(4):866-70.
- Orange JS, Wolf SF, Biron CA. Effects of IL-12 on the response and susceptibility to experimental viral

- infections. *The Journal of Immunology*. 1994;152(3):1253-64.
11. Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nature Reviews Immunology*. 2005;5(3):215-29.
  12. McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*. 2009;49(S5).
  13. Chu CJ, Lok AS. Clinical significance of hepatitis B virus genotypes. *Hepatology*. 2002;35(5):1274-6.
  14. Li X, Bai L, Fang J, Hou S, Zhou Q, Yu H, et al. Genetic Variations of IL-12B, IL-12R $\beta$ 1, IL-12R $\beta$ 2 in Behcet's Disease and VKH Syndrome. *PloS one*. 2014;9(5):e98373.
  15. Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee J-H, Hutchinson IV. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN- $\gamma$  gene: Absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN- $\gamma$  production. *Human immunology*. 2000;61(9):863-6.
  16. Montazer Haghighi M, Taleghani Y, Yaghoob M, Irani Shemirani A, Akbari Z, Vahedi M, et al. Association of C>T p7571 polymorphism in EXO1 gene and risk of sporadic colorectal cancer in an Iranian population. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences*. 2011;18(2):45-9.
  17. Huang D, Cancilla M, Morahan G. Complete primary structure, chromosomal localisation, and definition of polymorphisms of the gene encoding the human interleukin-12 p40 subunit. *Genes and immunity*. 2000;1(8):515.
  18. Adorini L. Interleukin-12, a key cytokine in Th1-mediated autoimmune diseases. *Cellular and molecular life sciences*. 1999;55(12):1610-25.
  19. Heidarian S, Sabahi F, Mohebbi SR, Zali MR. Lack of association between Interleukin-12 gene polymorphism (rs568408 G/A) and susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences (J Kermanshah Univ Med Sci)*. 2016;20(1):21-5.
  20. Tayefinasrabadi H, Hosseini SM, Mohebbi SR, Azimzadeh P, Zali MR. Association between rs763780 polymorphism in IL-17 gene and chronic hepatitis B infection in the patients referring to Taleghani Hospital, in Tehran, Iran. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. 2015;20(6).
  21. Liu L, Xu Y, Liu Z, Chen J, Zhang Y, Zhu J, et al. IL12 polymorphisms, HBV infection and risk of hepatocellular carcinoma in a high-risk Chinese population. *International journal of cancer*. 2011;128(7):1692-6.
  22. Nieters A, Yuan JM, Sun CL, Zhang ZQ, Stoecklacher J, Govindarajan S, et al. Effect of cytokine genotypes on the hepatitis B virus-hepatocellular carcinoma association. *Cancer*. 2005;103(4):740-8.
  23. Naghoosi H, Mohebbi SR, Tahaei S, Azimzadeh P, Romani S, Sanati A, et al. Lack of association of interleukin



- 12 p40 subunit polymorphism (IL-12B+ 1188) and risk of chronic hepatitis B infection in Iranian patients. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2012;14(3):34-8.
24. Azimzadeh P, Mohebbi SR, Romani S, Naghoosi H, Vahedi M, Kazemian S, et al. Effect of interleukin-12 p40 subunit gene 3'-untranslated region polymorphism in chronic HCV infection. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. 2011;16(1):10-9.
25. Shokrgozar MA, Sarial S, Amirzargar A, Shokri F, Rezaei N, Arjang Z, et al. IL-2, IFN- $\gamma$ , and IL-12 gene polymorphisms and susceptibility to multiple sclerosis. *Journal of clinical immunology*. 2009;29(6):747.
26. Walsh JP, Berry J, Liu S, Panicker V, Dayan CM, Brix TH, et al. The clinical presentation of autoimmune thyroid disease in men is associated with IL12B genotype. *Clinical endocrinology*. 2011;74(4):508-12.
27. Wu Y, Lu Z, Chen Y, Xue F, Chen X, Pan M, et al. Association of IL-12B gene rs6887695 polymorphism with hereditary susceptibility and clinical characterization of psoriasis vulgaris in the Chinese Han population. *Archives of dermatological research*. 2013;305(6):477-82.
28. Morahan G, Huang D, Ymer SI, Cancilla MR, Stephen K, Dabadghao P, et al. Linkage disequilibrium of a type 1 diabetes susceptibility locus with a regulatory IL12B allele. *Nature genetics*. 2001;27(2):218-21.
29. Morahan G, Huang D, Wu M, Holt BJ, White GP, Kendall GE, et al. Association of IL12B promoter polymorphism with severity of atopic and non-atopic asthma in children. *The Lancet*. 2002;360(9331):455-9.
30. Fang S, Fang X, Xiong M. Psoriasis prediction from genome-wide SNP profiles. *BMC dermatology*. 2011;11(1):1.
31. Razavi AH, Azimzadeh P, Mohebbi SR, Hosseini SM, Romani S, Khanyaghma M, et al. Lack of association between transforming growth factor Beta 1-509C/T and+915G/C polymorphisms and chronic hepatitis B in Iranian patients. *Hepatitis monthly*. 2014;14(4).
32. Amani D, Dehaghani AS, Zolghadri J, Ravangard F, Niikawa N, Yoshiura K-i, et al. Lack of association between the TGF- $\beta$ 1 gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. *Journal of reproductive immunology*. 2005;68(1):91-103.
33. Masood M, Salehi E, Sheykh Bahayi N, Rajab A, Vojgani M, Massoud A. Survey the Single Nucleotide Polymorphism of TGF $\beta$  at Codon 25 in Type 1 Diabetic Patients. *Journal of Guilan University of Medical Sciences*. 2007;16(62):1-6.
34. Navikas V, Link H. Cytokines and the pathogenesis of multiple sclerosis.

- Journal of neuroscience research. 1996;45(4):322-33.
35. Yin L-M, Zhu W-F, Wei L, Xu X-Y, Sun D-G, Wang Y-B, et al. Association of interleukin-12 p40 gene 3'-untranslated region polymorphism and outcome of HCV infection. World Journal of Gastroenterology: WJG. 2004;10(16):2330.

Archive of SID