Archive of SID

کومش- جلد ۱۷، شماره ۳ (پیاپی ۵۹)، بهار ۱۳۹۵

[illegible] رسی [illegible] ط بین [illegible] تاسیون V617F [illegible] ن JAK2 [illegible] بیماری [illegible] تهابی [illegible] ه در بیماران [illegible] مراجعه‌کننده [illegible] [illegible] ارستان طالقانی تهران

خدیجه کوشکی [۳و۲و۱](M.Sc)، محمد رستمی‌نژاد [۱](Ph.D)، پدرام عظیم‌زاده [۳](Ph.D)، حمید اسدزاده عقدایی [۳](M.D)، عباس حاج فتحعلی [۴](M.D)، محمدامین پورحسینقلی [۱](Ph.D)، هدیه بالایی [۳](B.Sc)، داور امانی [۳*](Ph.D)، محمدرضا زالی [۳](M.D)، حسین نوبخت [۵](M.D)

۱- مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات علوم پایه و مولکولار اپیدمیولوژی دستگاه گوارش، پژوهشکده تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- بیمارستان آیت الله طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵ - گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

چکیده

[illegible] و هدف: بیماری [illegible] تهابی [illegible] ه (Inflammatory Bowel Disease)، [illegible] شامل کولیت [illegible] سراتیو (Ulcerative Colitis) و بیماری [illegible] ون (Crohn's Disease)، یک اختلال التهابی [illegible] [illegible] که مطالعات گسترده ژنومی (Genome-wide association study) نشان می‌دهد که برخی از ژن‌های مسیر اینترلوکین-۲۳/T کمکی ۱۷ (IL-23/Th17)، [illegible] جانوس کیناز-۲ (JAK2)، [illegible] [illegible] کننده ابتلا به بیماری [illegible] تهابی [illegible] [illegible] هستند. هاپلوتایپ ۱/۴۶ یک فاکتور [illegible] ترک مستعدکننده برای هر دو بیماری [illegible] تهابی [illegible] ه و بیماری [illegible] [illegible] سم‌های میلوپرولیفراتیو [illegible] ن (Myeloproliferative Neoplasms) [illegible] که در این مطالعه نیز بنای وجود این فاکتور [illegible] [illegible] کننده، همراهی [illegible] [illegible] ژن JAK2V617F در بیماران [illegible] لا به بیماری [illegible] تهابی [illegible] ه در جمعیت ایرانی [illegible] برای اولین [illegible] بررسی شد.

[illegible] و روش‌ها: در این [illegible] [illegible] ه مورد-شاهدی ۱۰۰ بیمار بیماری [illegible] تهابی [illegible] شامل ۸۲ بیمار [illegible] لا به کولیت [illegible] سراتیو و ۱۸ فرد [illegible] لا به بیماری [illegible] [illegible] در مقایسه با ۱۰۰ [illegible] [illegible] سالم طی سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۹۳ جمع‌آوری شدند. برای ارزیابی [illegible] [illegible] ش JAK2V617F [illegible] نمونه‌ها از روش PCR-RFLP استفاده شد و توزیع این [illegible] [illegible] تاسیون [illegible] گروه بیمار [illegible] شاهد مقایسه گردید. برای تایید [illegible] از چند بیمار [illegible] [illegible] سم‌های میلوپرولیفراتیو دارای [illegible] [illegible] ش JAK2V617F [illegible] به بیماری [illegible] تهابی [illegible] [illegible] [illegible] ان کنترل استفاده شد..

[illegible] افته‌ها: هیچ‌کدام از بیماران [illegible] لا به بیماری [illegible] تهابی [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] سالم جهش JAK2V617F [illegible] [illegible] [illegible] [illegible]. اما جهش در کلیه بیماران [illegible] [illegible] سم میلوپرولیفراتیو که به عنوان کنترل مثبت استفاده شدند، نشان داده شد و هتروزیگوسیتی آن‌ها تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان می‌دهد که احتمالاً دیگر مکانیسم‌های ژنتیکی نقش مهمی در بیماری‌زایی بیماری التهابی روده بازی می‌کنند. مطالعه با تعداد بیش‌تری از بیماران با اصالت مختلف همانند عوارض ترومبوآمبولیک برای بررسی این جهش پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بیماری‌های التهابی [illegible] جهش، Janus Kinase 2.

مقدمه

بیماری التهابی روده (Inflammatory bowel disease)

* نویسنده مسئول، تلفن: ۲۲۴۳۹۹۷۰ - ۰۲۱

Email: amanid@sbmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱

www.SID.ir

Archive of SID

شامل بیماری کرون (Crohn's Disease) و کولیت اولسراتیو (Ulcerative Colitis) یک اختلال مزمن دستگاه گوارش متاثر از سیستم ایمنی است [۱]. اتیولوژی بیماری التهابی روده به‌طور کامل شناخته شده نیست اما بسیاری از بررسی‌ها نشان داده‌اند که در کنار هم قرار گرفتن عوامل محیطی، ایمنولوژیکی و ژنتیکی در ایجاد بیماری نقش دارند. از بین این عوامل موثر در بیماری‌زایی بیش‌ترین تحقیقات روی مطالعات ژنتیکی صورت گرفته است [۲]. به‌نظر می‌رسد شروع و تشدید فرایند التهابی به‌علت پاسخ افزایش‌های یافته ایمنی مخاطی است، که ممکن است با یک نقص در مکانیسم تولرانس به فلور باکتریایی روده ارتباط داشته باشد [۱]. در شرایط فیزیولوژیکی سیستم ایمنی روده پاسخ التهابی را به رژیم غذایی و باکتری‌های هم‌زیست کاهش می‌دهد. این وضعیت ظاهراً در بیماری التهابی روده مختل می‌شود که منجر به فعالیت زیاد سلول‌های اجرایی هم‌چون سلول T کمکی ۱۷ (TH17)و T کمکی۱ (TH1) با ترشح بیش از حد سایتوکاین‌های مرتبط همانند IL-17، IFN-μ و TNF-α می‌شود [۴،۳]. بنابراین بیماری التهابی روده از یک نقص سیستم ایمنی در افرادی که به‌طور ژنتیکی مستعد بیماری هستند ایجاد می‌شود.

مطالعات ارتباط گسترده ژنومی (Genome-wide association study) حدود ۱۰۰ جایگاه مستعدکننده برای ابتلاء به بیماری التهابی روده را شناسایی کرده است که ۷۰ جایگاه مربوط به بیماری کرون و ۴۷ جایگاه مستعد ابتلا به کولیت اولسراتیو تایید شده است. این جایگاه‌ها به‌ویژه در ژن‌های کدکننده شناسایی میکروب، فعال‌سازی لنفوسیت و سیگنال سایتوکاین‌ها دیده شده است [۵–۹]. در این ژن‌های مرتبط با بیماری التهابی روده، اجزای مسیر انتقال پیام IL-23/IL-23R از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند و تا اکنون هم‌راهی در مناطق مربوط به آبشار سیگنالی IL23/TH17 از جمله IL23R، IL12p40، STAT3، CCR6، TNFSF5، JAK2 در هر دو فرم بیماری کرون و کولیت اولسراتیو شناسایی شده است که این اهمیت این مسیر را در بیماری‌های التهابی روده نشان می‌دهد. در این میان پلی‌مورفیسم JAK2 از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این ملکول چندین نقش بالقوه در بیماری‌زایی IBD را بازی می‌کند [۵،۶،۹–۱۲].

JAK2 که در منطقه کروموزومی ۹ P24.1 قرار گرفته است، یک عضو مهم از خانواده کینازهای تیروزین است. JAK2 و STAT3 در یک شبکه ژنی در مسیر انتقال پیام IL-23/IL-23R درگیر هستند، که یک نقش مرکزی در پاسخ‌های التهابی ذاتی و اکتسابی در سیستم گوارش را بازی می‌کنند [۱۳]. مسیر JAK2/STAT3 از طریق مسیرهای التهابی متعدد، باعث ایجاد یک الگوی نامتعادل از سلول‌های T اجرایی شامل TH1, TH2, TH17 مشخص شده، و در بیماری‌زایی بیماری التهابی روده شرکت می‌کند [۱۴–۱۶].

در مطالعه آندرسون و همکارانش نشان داده شد که لکوس کدکننده JAK2 با افزایش خطر هر دو بیماری بیماری کرون و کولیت اولسراتیو ارتباط دارد [۱۷]. از طرفی در مطالعات مختلف نشان داده شده که پلی‌مورفیسم JAK2 rs10758669 به‌طور قابل توجهی با استعداد ابتلا با بیماری کرون و کولیت اولسراتیو ارتباط دارد [۱۸]. اگرچه مکانیسم JAK2rs10758669 در استعداد ابتلا به بیماری کرون و کولیت اولسراتیو کاملاً روشن نیست، اما نشان داده شده که بیماری کرون پروسه مشتق از سلول‌های TH1/TH17 و کولیت اولسراتیو پروسه مشتق از سلول‌های T مثل TH2 است، که در ایجاد تعادل میان این سلول‌ها مسیر JAK2/STAT3 درگیر هستند [۱۹].

در سال ۲۰۰۵، برای اولین بار جهش JAK2 V617F در ارتباط با نئوپلاسم میلوپرولیفراتیو (Myeloproliferative Neoplasms) توسط پنج گروه تحقیق گزارش شده است. این جهش یکی از شایع‌ترین جهش‌های در بیماری‌های نئوپلاسم مزمن است [۲۰–۲۴]. نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن به مجموعه‌ای از بیماری‌های پلی‌سیتمی ورا، ترومبوسیتوپنی اولیه، میلوفیبروز اولیه و لوسمی میلوئیدی مزمن گفته می‌شود که در آن‌ها تکثیر یک سلول پیش‌ساز چندظرفیتی و تولید

www.SID.ir

Archive of SID

بیش از حد یک یا چند رده سلولی خونی وجود دارد و موجب بیماری‌زایی در این بیماری‌ها می‌شود [۲۵].

جهش JAK2V617F شایع‌ترین جهش غیر نرمال در نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن می‌باشد. که بیش از ۹۵٪ در بیماران با پلی‌سیتمی ورا (Polycythemia vera) و ۵۰٪ در بیماران با ترومبوسیتوپنی اولیه (Essential thrombocythaemia) و میلوفیبروز اولیه (Primary myelofibrosis) وجود دارد [۲۷،۲۶]. مطالعه Oku و همکاران نشان داد موتاسیون JAK2V617F در گروهی از بیماران مبتلا به نئوپلاسم میلوپرولیفراتیو نسبت به گروه سالم سبب تحریک تکثیر سلول‌های میلوئیدی و فعالیت آلکالن فسفاتاز می‌شود [۲۸]. در ادامه با استفاده از مهارکننده‌های مسیر STAT3 و STAT5 دریافتند که STAT3 بیان آلکالن فسفاتاز را افزایش می‌دهد در حالی‌که STAT5 می‌تواند تکثیر سلولی را تحریک کند. بنابراین این مطالعه نشان داد که این جهش باعث افزایش فعال‌سازی STAT3 که نقش مهمی در بیماری التهابی روده دارد، می‌شود.

مطالعات مختلف نشان داد که، در مقایسه با افراد نرمال، بیماران مبتلا به بیماری‌های اتوایمنی مانند بیماری التهابی روده بیش‌تر مستعد توسعه بیماری‌های نئوپلاسم مزمن در طول زندگی هستند [۲۷] به‌طوری‌که بیماران با سابقه ابتلاء به بیماری کرون و دیگر اختلالات اتوایمنی به احتمال زیاد ۲ تا ۳ برابر بیش‌تر در مقایسه با افراد نرمال در طول زندگی در خطر و ریسک توسعه بیماری‌های نئوپلاسم میلوپرولیفراتیو هستند [۳۰،۲۹]. مطالعات ارتباط گسترده ژنومی در بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده و هم‌چنین بیماران نئوپلاسم میلوپرولیفراتیو، چندین فاکتور ژنتیکی مشترک را که مستعدکننده ابتلا به هر دو بیماری به‌ظاهر مستقل است را پیدا کردند [۳۰،۹-۳۳] و نشان دادند که هاپلوتایپ ۴۶/۱ یکی از فاکتورهای مستعدکننده شناخته شده مشترک بین این دو بیماری است [۳۳]. این هاپلوتایپ یکی از چندین هاپلوتایپ بین ژن‌های متنوع درگیر در مسیر سیگنالینگ IL-23 و JAK2 است، که سیگنالینگ JAK2 را در بیماری التهابی روده افزایش می‌دهد [۱۳]. هم‌چنین این هاپلوتایپ ۴۶/۱ با شیوع بالای ٪۵۶ در بیماران مبتلا به نئوپلاسم میلوپرولیفراتیوهای دارای JAK2 جهش یافته در مقایسه با ٪۲۴ در جمعیت عمومی اتفاق می‌افتد. جالب توجه است، مطالعات ژنومی یک ارتباط بین هاپلوتیپ JAK2 ۴۶/۱ و بیماری‌های التهابی روده پیدا کردند. هاپلوتایپ ۴۶/۱ یکی از چندین هاپلوتایپ بین ژن‌های متنوع درگیر در مسیر سیگنالینگ IL-23 و JAK2 است، که نشان داده شده سیگنالینگ JAK2 را در بیماری التهابی روده را افزایش داده است. از آن‌جایی‌که جهش JAK2V617F باعث افزایش فعالیت ملکول JAK2 شده و با توجه به اهمیت قابل توجه این ملکول در بیماری‌های التهابی از جمله بیماری التهابی روده، انتظار می‌رود که در بیماری‌زایی و سیر بیماری در افراد مبتلا به بیماری التهابی روده نقش داشته باشد. لذا هدف از انجام این مطالعه، بررسی شیوع موتاسیون V617F در ژن JAK2 در جمعیت ایرانی مبتلا به بیماری‌های التهابی روده بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۰۰ بیمار مبتلا به بیماری التهابی روده شامل ۸۲ بیمار مبتلا به کولیت اولسراتیو و ۱۸ بیمار کرون که ۱۵ نفر از بیماران دارای عوارض ترومبوسیتوز بودند به عنوان گروه مورد و ۱۰۰ فرد سالم به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. گروه مورد از بین بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده که جهت درمان یا تشخیص بین سال‌های ۱۳۹۰ الی ۱۳۹۳ به بیمارستان طالقانی مراجعه کرده بودند انتخاب شدند. این بیماران پس از معاینه توسط پزشک فوق تخصص گوارش، انجام کولونوسکوپی و تایید نتایج حاصله توسط پاتولوژیست به منظور بررسی‌های ژنتیکی در این طرح تحقیقاتی وارد شدند.

هم‌چنین نمونه‌ی سالم از بین افراد مراجعه‌کننده به دیگر درمانگاه‌های بیمارستان طالقانی که سابقه شخصی یا خانوادگی بستری به علت مشکلات گوارشی را نداشتند و از

www.SID.ir

Archive of SID

نظر سن و جنس با گروه بیمار مطابقت داشتند به عنوان شاهد انتخاب و از نظر وجود جهش مورد بررسی قرار گرفتند.

از کلیه بیماران پس از اخذ رضایت‌نامه کتبی، فرم پرسش‌نامه تکمیل و از هر یک از افراد بیمار و شاهد ۱۰ میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های حاوی EDTA (۳ mg/ml) برای استخراج DNA اخذ شد و سپس DNA با استفاده از روش استاندارد خروج نمکی (Salting Out) از گلبول‌های سفید خون محیطی استخراج شد. به منظور ارزیابی کمیت و کیفیت DNA و آگاهی از غلظت و میزان خالص بودن آن جذب نوری DNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (Nanodorp) در طول موج‌های ۲۶۰ nm و ۲۸۰ nm بررسی و غلظت آن محاسبه گردید. از فرمول زیر جهت محاسبه‌ی غلظت DNA استفاده شد:

Unknown DNA (mg/ml) = ۵۰ mg/ml x Measured OD A260 x dilution factor (DNA)

طبق فرمول هرگاه جذب نوری طول موج ۲۶۰ nm معادل ۱ باشد، DNA دو رشته‌ای غلظتی معادل ۵۰µg/ml خواهد داشت.

با توجه به غلظت DNAها رقت‌های سریالی با غلظت ۰/۱ mg/µl– ۰/۳ تهیه کرده و تا زمان انجام بررسی در دمای ۲۰- نگه‌داری شدند. هم‌زمان اطلاعات دموگرافیک بیماران از طریق پرسش‌نامه و پرونده بیماران جمع‌آوری شد.

برای ارزیابی جهش JAK2V617F در نمونه‌ها از روش PCR-RFLP و پرایمرهای اختصاصی آلل (جدول۱) استفاده شد. جفت پرایمرهای اختصاصی با استفاده از نرم‌افزارهای ویژه (Gene Runner) و Primer3 طراحی شدند. توالی جهش مربوطه در کدون ۱۲ قرار داشت و برای تایید جایگاه تکثیر ژنوم توسط پرایمرهای طراحی شده از بخش BLAST سایت اینترنتی موسسه NCBI و همچنین سایت Ensembl استفاده شد.

جدول ۱. پرایمرهای استفاده شده برای تکثیر ژن JAK2

Primer Forward	5´-TCTCCATATTCCAGGCTTACAC- 3´
Primer Reverse	5´-CACAAGATATAACTGAATAGTCC-3´

تکثیر ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در هر تیوپ PCR انجام گرفت که ترکیبات مخلوط واکنش حاصل کاملاً ترکیب شده و برای یکنواخت شدن و در دسترس بودن مواد برای آنزیم Taq، به‌صورت کوتاه‌مدت سانتریفوژ شده. ترکیبات مخلوط واکنش مطابق غلظت‌های ذکر شده در جدول ۲ فراهم گردید.

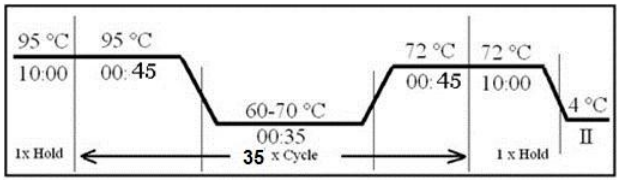
جدول ۱. مواد استفاده شده در واکنش PCR.

موادمصرفی (غلظت)	مقدارمورداستفاده (µl)
PCR buffers	۲
Forward Primer (100 pmol/µl)	۱
Reverse Primer(100 pmol/µl)	۱
Mgcl2	۰/۵
dNTP	۰/۵
Taq Polymerase	۰/۲۵
Deionised Water	۱۸/۷۵
Sample DNA(100 ng/µl)	۱
Total	۲۵

سپس نمونه‌ها برای انجام مراحل PCR و طی چرخه‌های دمایی در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) قرار گرفتند تا تکثیر انجام شود. برنامه دستگاه ترموسایکلر که برای پرایمرها تعریف شده و مورد استفاده قرار گرفت، در جدول ۳ و همچنین شکل ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. برنامه PCR مورد استفاده در این مطالعه

Process	Temperature°C	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	95	10 min	1
Denaturation	95	45 sec	35
Annealing	61.1	35 sec	
Extension	72	45 sec	
Extension Final	72	10 min	
Hold	4		

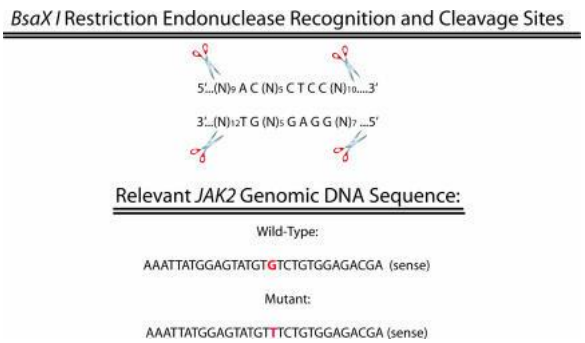


شکل ۱. سیکل تعریف شده برای واکنش PCR

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد سیکل‌های PCR در برنامه ۳۵ سیکل درنظر گرفته شد و در نهایت یک محصول ۴۶۷ bp توسط این پرایمرها تولید شد. برای تأیید آمپلیفیکاسیون قطعه ژنی JAK2 و تعیین مقدار محصول تولیدی به‌صورت کیفی یا نیمه کمی، محصولات PCR برروی ژل آگارز ۲ درصد ران شده و با استفاده از دستگاه الکتروفورز مورد ارزیابی واقع شدند. سپس برای بررسی وجود یا عدم وجود جهش، محصولات PCR از روش RFLP (Restriction fragment length polymorphism) و هضم آنزیمی استفاده شد، که در این مطالعه آنزیم اندونوکلئاز BsaXI انتخاب شد. این آنزیم از گونه‌ی Bacillus stearothemophilus 25B (Z. chen) مشتق می‌شود که جایگاه شناسایی این آنزیم روی رونوشت‌های JAK2 به‌صورت زیر قرار داشت.



شکل ۲. جایگاه شناسایی آنزیم اندونوکلئاز BsaXI

این آنزیم به‌طور اختصاصی نوکلئوتید گوانیدین در جایگاه ۱۸۴۹ را شناسایی کرده و برش می‌دهد. و ایجاد ۳ قطعه می‌کند ۲۶۵، ۱۷۲ و ۳۰ نوکلئوتیدی می‌کند که بر روی ژل دو قطعه ۲۶۵ و ۱۷۲ قابل مشاهده می‌باشند. اما در صورت وجود جهش نوکلئوتید گوانین با تیمیدین جایگزین شده (G —› T) بنابراین محصول PCR پس از مجاورت با اندونوکلئاز برش نمی‌خورد و درصورت هموزیگوت بودن هیچ‌دام از آلل‌ها برش نخورده و به‌صورت یک قطعه قابل مشاهده است در حالی‌که در صورت هتروزیگوت بودن ۳ باند ۴۶۷ برای آلل دارای جهش و دو قطعه ۲۶۵ و ۱۷۲ برای آلل سالم مشاهده می‌کنیم.

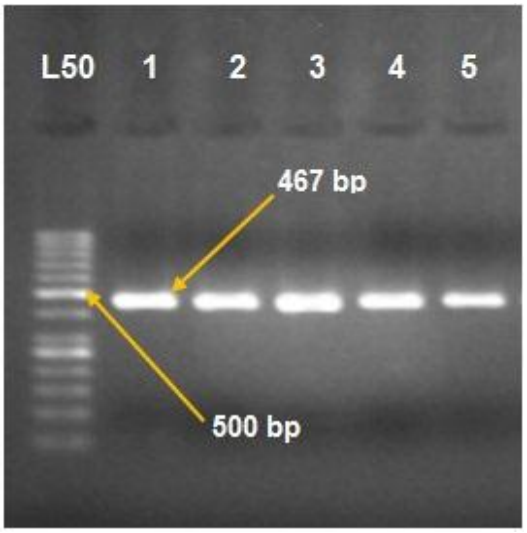
بنابراین رونوشت‌های JAK2 به مدت ۱۶ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد با اندونوکلئاز BsaXI مجاور شدند. آنزیم BsaXI اقدام به هضم قطعات تکثیر یافته DNA در ناحیه ژن JAK2 نموده و با توجه به الگوهای برش متفاوت، ژن‌های JAK2 دارا یا فاقد جهش، مورد بررسی قرار گیرد. سپس قطعات هضم شده DNA برای بررسی وجود یا عدم وجود جهش JAK2V617F بر روی ژل آگاروز ۳٪ الکتروفورز شدند.

نتایج

از ۱۰۰ بیمار مبتلا به بیماری التهابی روده با میانگین سنی ۳۹ سال و با حداقل سن ۱۸ و حداکثر ۵ سال (۵۲ نفر مرد و ۴۸ نفر زن)، ۱۵ نفر دارای عوارض خونی ترومبوسیتوز بودند (۱۵٪). قطعات هضم شده DNA برای بررسی وجود یا عدم وجود جهش JAK2V617F بر روی ژل آگارز ۳٪ الکتروفورز شدند. محصولات نرمال JAK2 حاوی سکانس شناسایی‌کننده آنزیم اندونوکلئاز BsaXI هستند که در صورت برش سه قطعه ۳۰، ۱۷۲ و ۲۶۵ نوکلئوتیدی حاصل می‌شود. در حالی‌که به‌دنبال جهش و جایگزینی (G→T) در در ژن JAK2 جایگاه شناسایی آنزیم از بین می‌رود، بنابراین محصول PCR برش نخورده و به شکل کامل و یک باند ۴۶۷ نوکلئوتیدی دیده می‌شود.

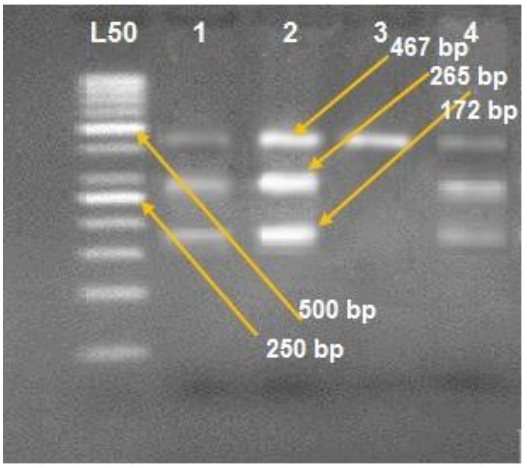
www.SID.ir

Archive of SID

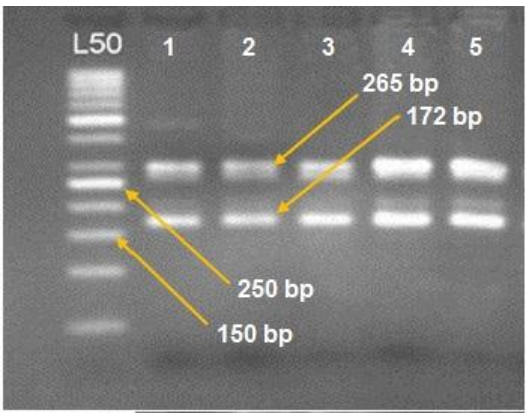


شکل ۳. نتایج الکتروفورز حاصل از محصول PCR برروی ژل آگاروز ۲ درصد، که قطعه تکثیر یافته ۴۶۷ bp ژن JAK2 را نشان می دهد (حرف L مخفف کلمه‌ی Ladder می باشدکه در تمام موارد الکتروفورز از Ladder 50 استفاده شده است).

بعد از انجام تست PCR-RFLP نشان داده شد که آنزیم مد نظر برش ایجاد نکرده و در نتیجه جهش JAK2V617F در هیچ‌کدام از بیماران و همچنین افراد سالم نیز دیده نشد. در (شکل ۳) و (شکل ۴) به ترتیب نتایج PCR و هضم آنزیمی RFLP نشان داده شده است.



شکل ۴. نتایج الکتروفورز محصولات حاصل از هضم آنزیمی محصول. JAK2: نتایج الکتروفورز محصولات حاصل از هضم آنزیمی محصول JAK2 روی ژل آگاروز ۳ درصد: نمونه های که ژن JAK2 فاقد جهش V617F بوده و بنابراین دارای جایگاه برش و شکسته شدن توسط آندونوکلئاز بوده. و قطعات 172 bp , 265 bp را نشان می دهند (حرف L مخفف کلمه ی Ladder می باشدکه در تمام موارد الکتروفورز از Ladder 50 استفاده شده است).



شکل ۵. نتایج حاصل از PCR-RFLP نمونه های کنترل مثبت: نتایج حاصل از PCR-RFLP نمونه های کنترل مثبت روی ژل آگاروز ۳ درصد، که نمونه شماره ۳ هموزیگوت برای جهش JAK2V617F بوده، درحالیکه نمونه های ۱، ۲ و ۴ هتروزیگوت بوده اند (حرف L مخفف کلمه‌ی Ladder می‌باشدکه در تمام موارد الکتروفورز از Ladder 50 استفاده شده است.

در این بررسی برای کنترل و تایید روش PCR-RFLP مورد استفاده، از ۴ نمونه بیمار مبتلا به نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن که با آزمایشات قبلی و تعیین توالی وجود جهش JAK2V617F در آن‌ها تایید شده بود به عنوان نمونه‌های کنترل مثبت دارای جهش مربوطه استفاده شد. بعد از انجام مراحل PCR و هضم آنزیمی RFLP این نمونه‌ها، جهش مورد نظر در آن‌ها دیده شد، و هتروزیگوسیتی بیماران نیز به‌درستی و مطابق با نتایج سکانس آن‌ها نشان داده شد. به این صورت که یک مورد از بیماران هموزیگوت بوده و ۳ نفر دیگر هتروزیگوت بودند، لذا روش مورد استفاده مورد تایید قرار گرفت. نتایج حتصل از RFLP این بیماران در (شکل ۵) نشان داده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

جهش JAK2V617F شایع‌ترین جهش غیرنرمال در بیماران مبتلا به نئوپلاسم میلوپرولیفراتیو می‌باشد که بیش از ۹۵٪ در بیماران با پلی‌سیتمی ورا و ۵۰٪ در بیماران با ترومبوسیتوپنی اولیه و میلوفیبروز اولیه وجود دارد [۲۷،۲۶] این جهش نقطه‌ای در JAK2 به‌وسیله یک تغییر والین به فنیل آلانین در موقعیت ۶۱۷ رخ می‌دهد و فعالیت دائمی تیروزین

www.SID.ir

Archive of SID

کیناز را باعث می‌شود. که احتمالاً این ترومبوسیتوز در بیماران مبتلا به نئوپلاسم میلوپرولیفراتیو به علت جهش در ژن JAK2 باشد [۳۴] در چندین مطالعه ارتباط بین فاکتورهای مشترک مستعدکننده بیماری التهابی روده و نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن گزارش شده است [۳۰،۹-۳۳]. اگر چه مکانیسم‌های اصلی این زمینه‌های مشترک به‌طور کامل شناخته نشده است، اما در مجموع یک ارتباط پاتوفیزیولوژیک قابل قبول و تا حد زیادی ناشناخته بین بیماری التهابی روده و نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن مطرح می‌کنند که ممکن است پیامدهای تشخیصی و درمانی مهم برای هر دو بیماری‌ها نشان دهند.

یکی از این فاکتورهای مستعدکننده ژنتیکی مشترک، هاپلوتایپ ۴۶/۱ است. هاپلوتایپ ۴۶/۱ که در داخل ژن JAK2 گزارش شده است، مستعدکننده برای ابتلاء به بیماری التهابی روده است و به‌طور قابل توجهی ریسک جهش اکتسابی V617FJAK2 را افزایش می‌دهد [۳۱-۳۳]. هاپلوتایپ ۴۶/۱ یکی از چندین هاپلوتایپ بین ژن‌های متنوع درگیر در مسیر سیگنالینگ IL-23 و JAK2 است، که نشان داده شده سیگنالینگ JAK2 را در بیماری التهابی روده را افزایش می‌دهد [۳۶،۳۵،۱۳،۸]. هم‌چنین این هاپلوتایپ با شیوع بالای ٪۵۶ در بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن دارای JAK2 جهش یافته در مقایسه با ٪۲۴ در جمعیت عمومی اتفاق می‌افتد [۳۱].

با توجه به داده‌های قابل توجه مطالعات ارتباط گسترده ژنومی در خصوص اهمیت مولکول JAK2 در بیماری‌زایی بیماری التهابی روده، نشان داده شد که امکان وجود جهش JAK2V617F، که یک جهش شایع در بیماران میلوپرولیفراتیو مزمن است، در بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده به‌ویژه در بیماران با اختلالات خونی مطرح شده در نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن مانند ترومبوسیتوز و اریتروسیتوز نیز وجود دارد [۳۷]. در این مطالعه، همراهی جهش JAK2V617F در ۱۰۰ بیمار التهابی روده و هم‌چنین ۱۰۰ نمونه سالم به عنوان شاهد، مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افراد مورد بررسی در این مطالعه از نظر وجود جهش منفی بودند و هیچ‌گونه ارتباطی بین جهش JAK2V617F و بیماری التهابی روده هم‌راه و بدون ترومبوسیتوز وجود ندارد.

از آن‌جایی‌که خطر ابتلا به ترومبوسیتوزهای شریانی و وریدی در بیماری التهابی روده در مقایسه با جمعیت عمومی افزایش می‌یابد [۳۹،۳۸]، لذا شانس ابتلا به عوارض ترومبوآمبولیک در بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده در مقایسه با جمعیت عمومی سه برابر می‌باشد [۴۰-۴۲]. بر همین اساس تنها در دو مطالعه بر روی جمعیت‌های از بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده همراه با عوارض ترومبوسیتوز این ارتباط بررسی شده است. در اولین مطالعه Ouafae Karimi و همکارانش در سال ۲۰۰۸ فراوانی موتاسیون JAK2 V617F را روی ۴۸ بیمار مبتلا به بیماری التهابی روده (۲۲ بیمار با بیماری کرون، و ۲۶ بیمار کولیت اولسراتیو) دارای عوارض ترومبوتیک، مورد بررسی قرار دادند. هیچ‌کدام از بیماران مورد بررسی، مبتلا به نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن نبودند. نتایج این گروه مطابق با مطالعه ما، در بررسی خود هیچ جهشی را پیدا نکردند و نشان دادند که ارتباطی بین جهش JAK2 V617F و بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده هم‌راه با عوارض ترومبوسیتوز وجود ندارد [۴۳]. این گروه پیشنهاد کردند که احتمالاً دیگر مکانیسم‌ها نقش مهمی در بیماری‌زایی ترومبوسیتوز در بیماری التهابی روده ایفا می‌کنند.

اما در دیگر مطالعه پایلوت که توسط Emil Kuriakosel و همکارانش در سال ۲۰۱۳ انجام گرفت نشان داده شد که در ٪۲۳ از بیماران بیماری التهابی روده هم‌راه با ترومبوزیس و ٪۱۰ بیماران مبتلا به بیماری‌های التهابی روده هم‌راه با اریتروزیس جهش JAK2V617F دیده شده است [۳۷]. این گروه بیان کردند که علاوه بر این‌که توانستند یک تاییدیه کلینیکی برای یک ارتباط ژنتیکی شناخته شده بین دو بیماری به ظاهر متمایز، اعلام کنند، پیشنهاد کردند که برای تایید نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

آن‌ها باید مطالعات بیش‌تری در این زمینه صورت گیرد. زیرا در صورت تایید این یافته‌ها ممکن است اعتبار بیش‌تری را برای این نظریه به‌وجود آورد که استفاده از مهارکننده‌های JAK2 نه تنها برای درمان نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن بلکه برای بیماران بیماری التهابی روده نیز می‌تواند کاربرد داشته باشد. در دو مطالعه بالا جهش JAK2V617F در گروه‌های IBD دارای عوارض خونی بررسی شده بود، که در مطالعه Emil Kuriakosel ارتباطی بین جهش و بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده هم‌راه با عوارض خونی دیده شد. اما از آن‌جایی‌که این مطالعه نیز در بیماران هم‌راه عوارض خونی صورت گرفت که دارای شمارش غیرنرمال بسیار بالا برای سلول‌های خونی بودند این امکان وجود دارد که بیماران در مراحل اولیه بیماری‌های میلوپرولیفراتیو مزمن باشند. در این صورت جهش JAK2V617F می‌تواند بیش‌تر مرتبط با بیماری‌های نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن باشد. لذا در این مطالعه بیمارانی که جهش JAK2 را نشان داده‌اند باید برای بیماری‌های میلوپرولیفراتیو مزمن نیز مورد بررسی قرار می‌گرفتند. از طرف دیگر با این‌که ترومبوسیتوزیس یک یافته مهم در بیماری التهابی روده و سایر بیماری‌های اتوایمیون است [۴۵،۴۴]، اما در بیش‌تر موارد جهش JAK2 V617F که ممکن است به‌طور مستقیم هم‌راه با خطر ترومبوتیک در بیماران مبتلا به نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو مزمن باشد در هم‌راهی با سطوح افزایش یافته هموگلوبین و لکوسیتوز دیده شده است. در حالی‌که در بیماری التهابی روده عوارض ترومبوآمبولیسم فاقد هم‌راهی با سطوح افزایش‌یافته هموگلوبین و لکوسیتوز است [۴۳]. بنابراین ممکن است عوامل دیگری به غیر از جهش JAK2V617F در ایجاد ترومبوسیتوز بیماری التهابی روده درگیر باشند.

در این مطالعه سعی شد هم‌راهی این جهش با بیماری التهابی روده هم‌راه یا بدون عوارض ترومبوآمبولیک و اهمیت آن در بیماری‌زایی بررسی شود. نتایج مطالعه ما هیچ‌گونه هم‌راهی بین جهش JAK2V617F با بیماری التهابی روده هم‌راه و فاقد عوارض خونی را نشان نداد و نشان داد که ممکن است مکانیسم‌های ژنتیکی دیگری در فعال کردن JAK2 و بیماری‌زایی آن در بیماری‌های التهابی روده نقش داشته باشند. هم‌چنین ترومبوسیتوز در بیماری التهابی روده ممکن است در اثر فاکتورهای ژنتیکی دیگری ایجاد شده باشد. از آن‌جایی‌که تعداد بیماران دارای عوارض ترومبوسیتوز مورد بررسی کم بودند لذا برای تایید نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌شود که بررسی این جهش در تعداد بیش‌تری بیمار مبتلا به بیماری التهابی روده و هم‌چنین جمعیت بیش‌تری از بیماران التهابی روده با عوارض خونی و ترومبوسیتوز انجام شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از کارکنان مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علووم پزشکی شهید بهشتی و همچنین بیمارانی که در این پژوهش ما را یاری کردند، نهایت سپاس‌گزاری و قدردانی را دارند. این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد ایمونولوژی خانم خدیجه کوشکی می باشد.

منابع

[1] Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. N Engl J Med 2002; 347: 417-429.

[2] Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. World J Gastroenterol 2014; 20: 91-99.

[3] Neurath MF, Finotto S, Glimcher LH. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. Nat Med 2002; 8: 567-573.

[4] Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. Gastroenterology 2004; 126: 1504-1517.

[5] Franke A, McGovern DP, Barrett JC, Wang K, Radford-Smith GL, Ahmad T, et al. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. Nat Genet 2010; 42: 1118-1125.

[6] McGovern DP, Gardet A, Torkvist L, Goyette P, Essers J, Taylor KD, et al. Genome-wide association identifies multiple ulcerative colitis susceptibility loci. Nat Genet 2010; 42: 332-337.

[7] Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K, et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. Nat Genet 2007; 39: 207-211.

[8] Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, et al. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number

www.SID.ir

Archive of SID

[26] Wang YL, Vandris K, Jones A, Cross NCP, Christos P, Adriano F, et al. JAK2 Mutations are present in all cases of polycythemia vera. Leukemia 2007; 22: 1289.

[27] Kiladjian JJ. The spectrum of JAK2-positive myeloproliferative neoplasms. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2012; 2012: 561-566.

[28] Oku S, Takenaka K, Kuriyama T, Shide K, Kumano T, Kikushige Y, et al. JAK2 V617F uses distinct signalling pathways to induce cell proliferation and neutrophil activation. Br J Haematol 2010; 150: 334-344.

[29] Kristinsson SY, Landgren O, Samuelsson J, Björkholm M, Goldin LR. Autoimmunity and the risk of myeloproliferative neoplasms. Haematologica 2010; 95: 1216-1220.

[30] Wang K, Zhang H, Kugathasan S, Annese V, Bradfield JP, Russell RK, et al. Diverse genome-wide association studies associate the IL12/IL23 pathway with Crohn Disease. Am J Hum Genet 2009; 84: 399-405.

[31] Jones AV, Chase A, Silver RT, Oscier D, Zoi K, Wang YL, et al. JAK2 haplotype is a major risk factor for the development of myeloproliferative neoplasms. Nat Genet 2009; 41: 446-449.

[32] Kilpivaara O, Mukherjee S, Schram AM, Wadleigh M, Mullally A, Ebert BL, et al. A germline JAK2 SNP is associated with predisposition to the development of JAK2V617F-positive myeloproliferative neoplasms. Nat Genet 2009; 41: 455-459.

[33] Olcaydu D, Harutyunyan A, Jäger R, Berg T, Gisslinger B, Pabinger I, et al. A common JAK2 haplotype confers susceptibility to myeloproliferative neoplasms. Nat Genet 2009; 41: 450-454.

[34] Cools J, DeAngelo DJ, Gotlib J, Stover EH, Legare RD, Cortes J, et al. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. N Engl J Med 2003; 348: 1201-1214.

[35] Ferguson LR, Han DY, Fraser AG, Huebner C, Lam WJ, Morgan AR, et al. Genetic factors in chronic inflammation: single nucleotide polymorphisms in the STAT-JAK pathway, susceptibility to DNA damage and Crohn's disease in a New Zealand population. Mutat Res 2010; 690: 108-115.

[36] Lees C, Barrett J, Parkes M, Satsangi J. New IBD genetics: common pathways with other diseases. Gut 2011; 60: 1739-1753.

[37] Kuriakose E, Lascu E, Wang YL, Gjoni S, Cross NC, Baumann R, et al. The JAK2 V617F mutation seen in myeloproliferative neoplasms (MPNs) occurs in patients with inflammatory bowel disease: implications of a pilot study. Int J Clin Med 2013; 4: 10.

[38] Grip O, Svensson PJ, Lindgren S. Inflammatory bowel disease promotes venous thrombosis earlier in life. Scand J Gastroenterol 2000; 35: 619-623.

[39] Papa A, Scaldaferri F, Danese S, Guglielmo S, Roberto I, Bonizzi M, et al. Vascular involvement in inflammatory bowel disease: pathogenesis and clinical aspects. Dig Dis 2008; 26: 149-155.

[40] Bernstein CN, Blanchard JF, Houston DS, Wajda A. The incidence of deep venous thrombosis and pulmonary embolism among patients with inflammatory bowel disease: a population-based cohort study. Thromb Haemost 2001; 85: 430-434.

[41] Miehsler W, Reinisch W, Valic E, Osterode W, Tillinger W, Feichtenschlager T, et al. Is inflammatory bowel disease an independent and disease specific risk factor for thromboembolism? Gut 2004; 53: 542-548.

[42] Maher MM, Soloma SH. Assessment of thrombophilic abnormalities during the active state of inflammatory bowel disease. Saud J Gastroenterol 2008; 14: 192.

of confirmed associations to 47. Nat Genet 2011; 43: 246-252.

[9] Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, Cho JH, Duerr RH, Rioux JD, et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. Nat Genet 2008; 40: 955-962.

[10] Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, et al. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. Science 2006; 314: 1461-1463.

[11] Fisher SA, Tremelling M, Anderson CA, Gwilliam R, Bumpstead S, Prescott NJ, et al. Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease. Nat Genet 2008; 40: 710-712.

[12] Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Sventoraityte J, Nikolaus S, Mayr G, et al. Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility. N Nat Genet 2008; 40: 1319-1323.

[13] Brand S. Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: new immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. Gut 2009; 58: 1152-1167.

[14] Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. Cell 2000; 100: 655-669.

[15] Stritesky GL, Muthukrishnan R, Sehra S, Goswami R, Pham D, Travers J, et al. The transcription factor STAT3 is required for T helper 2 cell development. Immunity 2011; 34: 39-49.

[16] Durant L, Watford WT, Ramos HL, Laurence A, Vahedi G, Wei L, et al. Diverse targets of the transcription factor STAT3 contribute to T cell pathogenicity and homeostasis. Immunity 2010; 32: 605-615.

[17] Anderson CA, Massey DC, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Fisher SA, et al. Investigation of Crohn's disease risk loci in ulcerative colitis further defines their molecular relationship. Gastroenterology 2009; 136: 523-529.

[18] Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. Nature 2012; 491: 119-124.

[19] Strober W. Why study animal models of IBD? Inflamm Bowel Dis 2008; 14: S129-S131.

[20] Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet 2005; 365: 1054-1061.

[21] James C, Ugo V, Le Couédic J-P, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. Nature 2005; 434: 1144-1148.

[22] Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. N Engl J Med 2005; 352: 1779-1790.

[23] Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell 2005; 7: 387-397.

[24] Zhao R, Xing S, Li Z, Fu X, Li Q, Krantz SB, et al. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. J Biol Chem 2005; 280: 22788-22792.

[25] Pingali SR, Mathiason MA, Lovrich SD, Go RS. Emergence of chronic myelogenous leukemia from a background of myeloproliferative disorder: JAK2V617F as a potential risk factor for BCR-ABL translocation. Clin Lymphoma Myeloma 2009; 9: E25-E29.

www.SID.ir

Archive of SID

[43] Karimi O, Crusius JBA, Coucoutsi C, Heijmans R, Sambuelli AM, Peña AS, Koutroubakis IE. JAK2 V617F mutation is not involved in thromboembolism in IBD. Inflamm Bowel Dis 2008; 14: 1606-1607.

[44] Irving PM, Pasi KJ, Rampton DS. Thrombosis and inflammatory bowel disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2005; 3: 617-62.

[45] Danese S, de la Motte C, Fiocchi C. Platelets in inflammatory bowel disease: clinical, pathogenic, and therapeutic implications. Am J gastroenterol 2004; 99: 938-945.

www.SID.ir

Archive of SID

Correlation between *JAK2V617F* mutation and inflammatory bowel disease in patients referring to Taleghani hospital, Tehran

Khadijeh koushki (M.Sc)[1,2,3], Mohammad Rostami Nejad (Ph.D)[3], Pedram Azimzadeh (Ph.D)[1], Hamid Asadzadeh Aghdaei (Ph.D)[1], Abas Hajfathali (M.D)[4], Mohammad Amin Pourhosseingholi (Ph.D)[1], Hedyeh Balaei (B.Sc)[1], Davar Amani (Ph.D)[*2], Mohammad Reza Zali (M.D)[3], Hossein Nobakht (M.D)[5]

1 – Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research institute for Gastroenterology and Liver Diseases,ShahidBeheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 – Dept. of Immunology, School of Medicine, ShahidBeheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 - Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research institute for Gastroenterology and Liver Diseases,ShahidBeheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4 - Taleghani Hospital, ShahidBeheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5 – Dept. Internal Medicine, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 19 Sep 2015; Accepted: 22 Dec 2015)

Introduction*:* Inflammatory bowel disease (IBD), including ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), is a chronic inflammatory disorder of the gastrointestinal tract. Genome-wide association study (GWAS) has shown that some of the genes of interleukin-23/T-helper 17 (IL-23/Th17) pathway such as Janus kinase -2 (JAK2) predispose the risk of IBD. 46/1 haplotype is common risk factors for both IBD and myeloproliferative neoplasms disease. In view of this shared genetic predisposition, we aimed to determine the frequency of the JAK2V617F mutation in Iranians with IBD for the first time.

Materials and methods*:* In this case-control study, 100 IBD patients including 18 with CD and 82 UC were compared with 100 healthy controls during 2011-2014. The genotypes were identified by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) protocols and distribution of the JAK2 V617F mutations were compared in cases and control. To verify the method, patients with myeloproliferative neoplasms with JAK2V617F mutations were served as controls.

Results*:* This study showed that JAK2V617F mutation was detected in neither patients nor controls. However, mutation was proved in all patients with myeloproliferative neoplasms that were used as positive control and their heterogeneities were determined.

Conclusion*:* This study showed that other genetic mechanisms may play an important role in the pathogenesis of IBD. For further evaluation of this mutation, other studies with a larger number of patients and complications such as thromboembolic diseases, is recommended.

Keywords*:* Inflammatory Bowel Disease, Mutation, Janus Kinase 2

* Corresponding author. Tel: +98 21 22439970

amanid@sbms.ac.ir

www.SID.ir