مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۷۱/هفته چهارم اسفند ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۷

بررسی پلی مورفیسم ۵۹۲– اینترلوکین ۱۰ در بیماران آلوده به ویروس هپاتیت B

محمدحسن باقری منصوری[۱]، دکتر زهره شریفی[۲]، دکتر محمدحسین صنعتی[۳]،
دکتر سید ابوالحسن شاهزاده فاضلی[۴]، منصوره فرهنگ‌نیا[۵]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: عفونت با هپاتیت B ممکن است نتایج کلینیکی مختلفی را ایجاد کند. شواهد قوی وجود دارد که شان می‌دهد عوامل ژنتیکی میزبان نقشی اصلی در تعیین پیامد عفونت هپاتیت B بازی می‌کند. پلی‌مورفیسم‌ها در ناحیه‌ی پروموتری اینترلوکین–۱۰ (IL–۱۰)، تولید آن و استعداد به بیماری‌های التهابی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. از این رو، این مطالعه به منظور تعیین ارتباط بین این پلی‌مورفیسم با استعداد ابتلا به عفونت HBV (Hepatitis B virus) در بیماران ایرانی انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه، ۱۰۰ بیمار مبتلا به HBV و ۱۰۰ فرد سالم به طور تصادفی انتخاب شدند. با روش نمک اشباع DNA ژنومی از بافیکوت استخراج شد. ژنوتیپ‌های IL–۱۰ (A/C) توسط روش PCR (Polymerase chain reaction) اختصاصی آلل تعیین شدند. محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد، الکتروفورز شدند و برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون χ^2 استفاده شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت IL–۱۰–۵۹۲ CC در بیماران مبتلا به HBV ۱۶ درصد و در افراد سالم ۱۲ درصد بود و هیچ تفاوت معنی‌داری از نظر ژنوتیپ‌های مختلف بین دو گروه مشاهده نشد (P = ۰/۵). همچنین فراوانی آلل واریانت C در گروه بیماران مبتلا به HBV ۵۵/۵ درصد و در افراد سالم ۵۳ درصد بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (P = ۰/۶).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌ها ارتباطی بین پلی‌مورفیسم IL–۱۰–۵۹۲ A/C در جمعیت مورد مطالعه و استعداد ابتلای افراد به عفونت HBV وجود ندارد.

واژگان کلیدی: اینترلوکین–۱۰، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی، ویروس هپاتیت B، Allele-specific amplification- polymerase chain reaction

ارجاع: باقری منصوری محمدحسن، شریفی زهره، صنعتی محمدحسین، شاهزاده فاضلی سید ابوالحسن، فرهنگ‌نیا منصوره. **بررسی پلی مورفیسم ۵۹۲- اینترلوکین–۱۰ در بیماران آلوده به ویروس هپاتیت B.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۷۱): ۲۴۴۱-۲۴۳۴

مقدمه

ویروس هپاتیت B مهم‌ترین علت بیماری‌های کبدی حاد و مزمن در سراسر دنیا به خصوص در چندین ناحیه از آسیا و آفریقا می‌باشد (۱). حدود ۲ میلیارد نفر در سراسر دنیا به ویروس هپاتیت B (HBV یا Hepatitis B virus) آلوده هستند و ۳۵۰ میلیون از آن‌ها به صورت آلودگی مزمن باقی مانده‌اند (۲). اکثریت مطالعات ژنتیکی انجام شده روی افراد آلوده

۱- کارشناس ارشد،گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی علوم پایه وفناوری‌های نوین زیستی، دانشگاه علم وفرهنگ، تهران، ایران
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه‌ی عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران
۳- دانشیار، گروه پژوهشی ژنتیک پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران
۴- دانشیار، گروه پژوهشی ژنتیک ناباروری، پژوهشکده‌ی تولیدمثل، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
۵- کارشناس ارشد، بانک سلول‌های انسانی وجانوری، مرکز ملی ذخایرژنتیکی وزیستی ایران، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر زهره شریفی
Email: z.sharifi@ibto.ir

به HBV بر روی ارتباطات آنتی ژنی لوکوسیت انسانی تمرکز دارد (۴-۳). مطالعات نشان داده‌اند که سیتوکین‌های Th۱ (T helper۱) مثل IL۲ (Interleukin۲) و TNFα (Tumor necrosis factor α) به طور عمده در ایمنی سلولی درگیر هستند و نقش مهمی در حفاظت از پاتوژن‌های داخل سلولی ایفا می‌کنند (۶-۵). بر عکس، سیتوکین‌های Th۲ مثل اینترلوکین‌های (IL) IL۴ و IL۵ و IL۱۰ بیشتر ایمنی هومورال را تنظیم می‌کنند؛ بنابراین اثرات آن‌ها در برابر پاتوژن‌های خارج سلولی می‌تواند سودمند باشد. اما می‌تواند با بیماری پیش رونده توسط پاتوژن‌های داخل سلولی نیز مرتبط باشد (۷).

اینترلوکین ۱۰ یکی از سیتوکین‌های Th۲ است که اغلب توسط ماکروفاژ تولید می‌شود. این مولکول یک سیتوکین سرکوب کننده‌ی ایمنی قوی است که با کاهش بیان (Down regulate) سیتوکین‌های Th۱ و مولکول‌های کمک تحریک کننده (Co stimulating) عمل خود را انجام می‌دهد (۸). به طور دقیق‌تر، این سیتوکین سبب ممانعت از عرضه‌ی آنتی ژن وابسته به ماکروفاژ، تکثیر Tcell و ترشح سیتوکین‌های التهابی Th۱ می‌شود (۹). IL۱۰ در حساسیت به بیماری‌های التهابی و همچنین در استعداد به کاهش پاسخ‌دهی به واکسیناسیون HBsAg (Hepatitis B surface antigen) با اهمیت می‌باشد (۱۱-۱۰). ژن IL۱۰ روی بازوی کوتاه کروموزم ۱ قرار دارد و تا حدود ۱۰کیلو باز می‌باشد و به عنوان یک ژن منتخب مهم در ارتباط با HBV است (۱۲). پلی‌مورفیسم‌های مختلفی در ژنوم انسان موجود است و می‌توان به پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP یا Single-nucleotide polymorphism)، حذف یا افزایش چند باز (Deletion-insertion polymorphism یا DIP)، توالی‌های کوتاه تکرار شونده (STR یا Short tandem repeat) اشاره کرد. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی رایج‌ترین تغییرات توالی در مکان‌های مشخص از ژنوم انسان محسوب می‌شوند (۱۳).

تا کنون چندین جایگاه پلی‌مورفیسمی در ناحیه‌ی پروموتوری ژن اینترلوکین از جمله دو جایگاه پلی‌مورفیسمی تک نوکلئوتیدی در موقعیت‌های ۸۱۹- و ۵۹۲- از جایگاه شروع نسخه‌برداری توضیح داده شده است (۷). تنوع آللی این پلی‌مورفیسم‌ها ممکن است باپیشرفت بیماری هپاتیت B مزمن مرتبط باشد (۱۳). از این رو، هدف از پژوهش حاضر تعیین فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم یاد شده در بیماران HBV و مقایسه‌ی این فراوانی‌ها در افراد بیمار نسبت به افراد سالم بود تا مشخص شود که آیا این SNP می‌تواند به عنوان یکی از عوامل ژنتیکی میزبان بر استعداد ابتلا و ادامه‌ی عفونت HBV در جمعیت ایران تأثیرگذار باشد؟

روش‌ها

در این مطالعه‌ی مقطعی، ۱۰۰ فرد اهدا کننده‌ی خون بدون هیچ سابقه‌ی ابتلا به عفونت HBV (۶۱ مرد و ۳۹ زن) و ۱۰۰ بیمار مبتلا به هپاتیت مزمن (۵۹ مرد و ۴۱ زن) که HBsAg آن‌ها بیش از شش ماه مثبت بود و در محدوده‌ی سنی ۵۹-۱۸ سال از افراد مراجعه کننده به آزمایشگاه تشخیص بالینی سازمان انتقال خون ایران به صورت تصادفی انتخاب شدند. شرکت کنندگان با پر کردن فرم پرسش‌نامه، رضایت کتبی خود را مبنی بر شرکت در این پژوهش اعلام نمودند. بر اساس نتایج مندرج در پرسش‌نامه، همه‌ی بیمارانی

که از نظر آزمایش HBsAg به روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) و آزمایش HBV-DNA سرم به روش RT-PC (Reverse transcription- polymerase chain reaction) مثبت بودند، به عنوان گروه مورد انتخاب شدند و آن‌هایی که از نظر این دو آزمایش منفی بودند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند.

نمونه‌های خون محیطی در لوله‌های حاوی پتاسیم EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) (به عنوان ماده‌ی ضد انعقاد) از افراد تهیه و پس از سانتریفوژ در دور ۲۷۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه، لایه‌ی بافی‌کوت جداسازی و در دمای ۸۰- °C فریز شدند.

استخراج DNA ژنومی از لایه‌ی بافی‌کوت با روش نمک اشباع انجام شد (۱۴). با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر UV (Ultraviolet) (Camspec) نسبت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر (طول موجی که DNA حداکثر جذب را دارد) به ۲۸۰ نانومتر (طول موجی که در آن پروتئین حداکثر جذب را دارد) اندازه گرفته شد و نمونه‌هایی که بهترین خلوص را داشتند، (۲/۰ > OD۲۶/۲۸۰ > ۱/۸) در ۸۰- °C جهت استفاده در فرایند PCR (Polymerase chain reaction) فریز شدند.

برای تعیین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم ۵۹۲- پروموتر ژن IL-۱۰ روش PCR اختصاصی آلل (Allele specific polymerase chain reaction method) استفاده شد. بنابراین نیاز به ۲ جفت پرایمر بود که پرایمرهای Reverse مشترک و پرایمرهای Forward تنها در یک نوکلئوتید موجود در انتهای ۳´شان با هم تفاوت داشتند (جدول ۱).

بنابراین آزمایش PCR برای هریک از نمونه‌ها یک بار با پرایمر Forward A و یک بار با پرایمر Forward C در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به شرح زیر انجام شد:

۱۲/۵ µL MasterMix ۲X (Takara)، ۰/۵ µl با غلظت ۱۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای Forward و Reverse (شرکت سیناژن)، ۵ µL DNA ژنومی استخراج شده و آب مقطر به مقدار لازم تا به حجم ۲۵ µL برسد.

PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (Corbett) در دمای واسرشت سازی (Denaturation temperature) اولیه‌ی ۹۵ °C به مدت ۳ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل به ترتیب با دمای واسرشت‌سازی ۹۵ °C به مدت ۴۵ ثانیه و دمای بهینه‌ی اتصال (Annealing temperature) پرایمر ۴۷ °C به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر (Extension temperature) ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ °C به مدت ۸ دقیقه انجام گردید. سپس محصول PCR تکثیر شده به کمک تکنیک الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مشاهده شد.

جدول ۱. سکانس پرایمرهای استفاده شده در PCR

Primer Name	Forward primer (5́ to 3́)	Reverse primer (5́ to 3́)	amplicon size
IL-۱۰-۵۹۲A	GACTGGCTTCCTACAGTGCTCACTATAAAAATAGAGACGG		۲۲۴
IL-۱۰-۵۹۲C	GACTGGCTTCCTACAGTGCTCACTATAAAAATAGAGACGG		۲۲۲

PCR: Polymerase chain reaction

در روند الکتروفورز اگر هر دو محصول PCR مربوط به یک نمونه، باند می‌داد، نشان دهنده‌ی این بود که هر دو set پرایمری به توالی مکمل خود روی رشته‌ی DNA الگو جهت تکثیر قطعه‌ی مورد نظر متصل شده است؛ در نتیجه، نمونه‌ی موجود برای این پلی‌مورفیسم هتروزیگوت (AC) بود، اما اگر فقط محصول حاوی پرایمر Forward A باند می‌داد، نشان دهنده‌ی هموزیگوت AA بود. همچنین اگر فقط محصول PCR حاوی پرایمر Forward C باند می‌داد، نشان دهنده‌ی هموزیگوت CC بود.

در نهایت، ارتباط متغیرهای مورد نظر با استفاده از آزمون χ^2 به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد بررسی قرار گرفت. $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

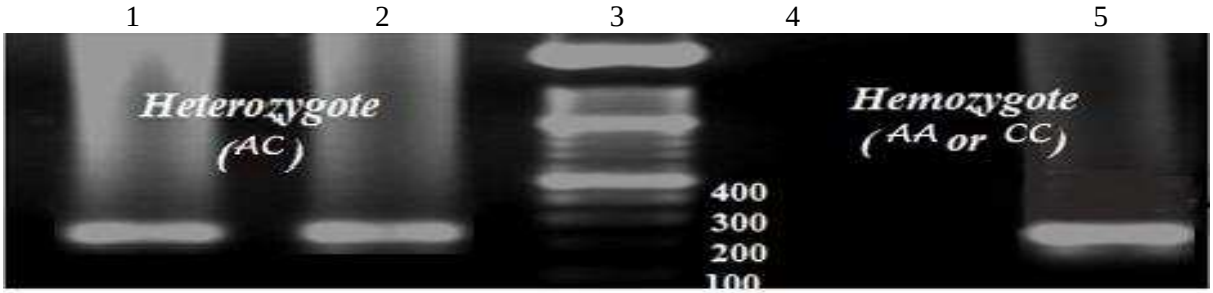
خصوصیات دموگرافیکی دو گروه مورد و شاهد در جدول ۲ با هم مقایسه شده است که از نظر میانگین سنی بین گروه بیمار مبتلا به HBV و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (۱۸/۲۰ ± ۴۰/۱۲ در مقابل ۱۴/۰۰ ± ۴۰/۹۹، P = ۰/۴).

جدول ۲. خصوصیات دموگرافیک افراد گروه‌های شاهد و مورد

متغیر	گروه شاهد	گروه مورد
تعداد	۱۰۰	۱۰۰
جنس (مرد/زن)	۶۱/۳۹	۵۹/۴۱
میانگین سن	۱۸/۲ ± ۴۰/۱۲	۱۴/۰۰ ± ۴۰/۹۹

نتایج حاصل از تکثیر قطعه‌ی مورد نظر برای پلی‌مورفیسم موقعیت ۵۹۲- از پروموتر ژن IL-۱۰، پس از الکتروفورز محصولات PCR اختصاصی آلل بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در شکل ۱ نشان داده شده است.

فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت CC در بیماران HBV ۱۶ درصد و در افراد سالم ۱۲ درصد بود و هیچ تفاوت معنی‌داری بین دو گروه از نظر ژنوتیپی مشاهده نشد (P = ۰/۵). فراوانی آلل واریانت C در گروه بیماران مبتلا به HBV ۵۵/۵ درصد و در افراد سالم ۵۳/۰ درصد بود. نتایج حاصل از بررسی فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم یاد شده برای دو گروه مورد و شاهد در جدول ۳ آمده است. لازم به ذکر است که توزیع آللی حاصل مطابق با تعادل هاردی و اینبرگ (Hardy–Weinberg equilibrium) بود.



شکل ۱. نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات PCR اختصاصی آلل بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. برای هر نمونه دو واکنش PCR با پرایمرهای اختصاصی گذاشته شد. اگر در هر دو میکروتیوپ واکنش PCR انجام می‌شد، نشان دهنده‌ی هتروزیگوت CT بود (ستون‌های ۱ و ۲). اما اگر فقط در یک میکروتیوپ واکنش PCR انجام می‌شد، هموزیگوت CC یا TT بود (ستون‌های ۴ و ۵). ستون شماره ۳ نشانگر با وزن مولکولی bpDNA ۱۰۰ (XIV Roche).

جدول ۳. فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم IL-۱۰-۵۹۲

متغیر	گروه	مورد n = ۱۰۰ فراوانی (درصد)	شاهد n = ۱۰۰ فراوانی (درصد)
آلل	A	۸۹ (۴۴/۵)	۹۴ (۴۷/۰)
	C	۱۱۱ (۵۵/۵)	۱۰۶ (۵۳/۰)
مقدار P		۰/۶	
ژنوتیپ	AA	۵ (۵)	۶ (۶)
	AC	۷۹ (۷۹)	۸۲ (۸۲)
	CC	۱۶ (۱۶)	۱۲ (۱۲)
مقدار P		۰/۵	

بحث

تعداد زیادی از مطالعات نشان داده‌اند که پلی‌مورفیسم‌ها بر توانایی مقاومت به عفونت HBV اثر گذارند (۱۵، ۱۱). هتروژنیستی در ناحیه‌ی پروموتری ژن اینترلوکین ۱۰ نقش تعیین کننده‌ای در شروع و تقویت پاسخ به درمان هپاتیت مزمن B و C دارد (۱۷-۱۶). Shin و همکاران گزارش کرده‌اند که اینترلوکین ۱۰ پیشرفت عفونت مزمن HBV را سرعت می‌بخشد (۱۲).

در مطالعه‌ی دیگری Yan و همکاران نشان دادند که آلل‌های C-۵۹۲ و C-۸۱۹ در پروموتور ژن اینترلوکین ۱۰ با افزایش آسیب حاد کبد در ارتباط هستند و آلل C-۵۹۲ فعالیت رونویسی بالاتری در مقایسه با آلل A-۵۹۲ دارد (۱۸).

طبق مطالعه‌ی Cheong و همکاران در کره‌ی جنوبی مشاهده شد که ژنوتیپ C/C-۵۹۲ که ژنوتیپ تولید کننده‌ی IL-۱۰ می‌باشد، با حذف و بهبود خودبه‌خودی آلودگی HBV مرتبط است. این نتیجه، خلاف گزارش‌های قبلی است که دلیل این تناقض روشن نیست. اما ممکن است به خاطر وجود ژنوتیپ متفاوتی از ویروس HBV در مطالعه‌ی آن‌ها باشد. همچنین آن‌ها ارتباطی بین پلی‌مورفیسم پروموتر اینترلوکین ۱۰ و پیشرفت عفونت مزمن HBV پیدا نکردند (۷). Turner و همکاران گزارش کردند که افراد با ژنوتیپ A/A، سطوح کمتر اینترلوکین ۱۰ و نتیجه‌ی بهتری از بیماری با ویروس هپاتیت B داشتند (۱۹).

در مطالعه‌ی Wang و همکاران در چین، مشخص شد فراوانی ژنوتیپ (-۵۹۲A/A)-IL-۱۰ و (۸۱۹T/T)-IL-۱۰ در گروه مبتلا به هپاتیت مزمن پایین‌تر بود (۲۰).

Gao و همکاران نشان دادند که پلی‌مورفیسم ۱۰۸۲IL-۱۰-AA/AG بین افراد مورد و شاهدتفاوت معنی‌داری ندارد. آن‌ها همچنین گزارش کردند که در پلی‌مورفیسم‌های IL-۱۰-۱۰۸۲(A/G) و IL-۱۰-۵۹۲(A/C) تفاوت معنی‌داری بین افراد مورد و شاهد وجود ندارد (۲۱). در تحقیق دیگری نیز نشان داده شده است که تفاوت معنی‌داری در موقعیت‌های G/A -۱۰۸۲، T/C -۸۱۹ و A/C -۵۹۲ پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ بین افراد طبیعی و افراد بهبود یافته از HBV و گروه بیماران مزمن وجود

ندارد (۲۱). نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که تفاوت معنی‌داری در فراوانی‌های ژنوتیپی در ناحیه‌ی پروموتری ژن اینترلوکین ۱۰ بین افراد مبتلا به عفونت HBV و گروه شاهد وجود ندارد که این یافته در توافق با یافته‌های Gao و همکاران (۲۱) و در تضاد با نتایج مطالعات Cheong و همکاران (۷)، Shin و همکاران (۱۲)، Miyazoe و همکاران (۱۳) و نیز Turner و همکاران (۱۹) بوده است. این تفاوت‌ها ممکن است به عوامل اپیدمیولوژیکی و جغرافیایی و شرایط مطالعه از قبیل خصوصیات و تعداد بیماران مرتبط باشد.

تشکر و قدردانی

از مؤسسه‌ی عالی آموزش و پژوهش طب انتقال خون و کلیه‌ی کارکنان آزمایشگاه ویروس‌شناسی سازمان انتقال خون ایران که صمیمانه ما را در این مهم یاری کردند، قدردانی و تشکر می‌گردد.

References

1. Lee WM. Hepatitis B virus infection. N Engl J Med 1997; 337(24): 1733-45.
2. Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. J Viral Hepat 2004; 11(2): 97-107.
3. Hohler T, Gerken G, Notghi A, Lubjuhn R, Taheri H, Protzer U, et al. HLA-DRB1*1301 and *1302 protect against chronic hepatitis B. J Hepatol 1997; 26(3): 503-7.
4. Thursz MR, Kwiatkowski D, Allsopp CE, Greenwood BM, Thomas HC, Hill AV. Association between an MHC class II allele and clearance of hepatitis B virus in the Gambia. N Engl J Med 1995; 332(16): 1065-9.
5. Guidotti LG, Ando K, Hobbs MV, Ishikawa T, Runkel L, Schreiber RD, et al. Cytotoxic T lymphocytes inhibit hepatitis B virus gene expression by a noncytolytic mechanism in transgenic mice. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91(9): 3764-8.
6. Rico MA, Quiroga JA, Subira D, Castanon S, Esteban JM, Pardo M, et al. Hepatitis B virus-specific T-cell proliferation and cytokine secretion in chronic hepatitis B e antibody-positive patients treated with ribavirin and interferon alpha. Hepatology 2001; 33(1): 295-300.
7. Cheong JY, Cho SW, Hwang IL, Yoon SK, Lee JH, Park CS, et al. Association between chronic hepatitis B virus infection and interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphisms. J Gastroenterol Hepatol 2006; 21(7): 1163-9.
8. Redpath S, Ghazal P, Gascoigne NR. Hijacking and exploitation of IL-10 by intracellular pathogens. Trends Microbiol 2001; 9(2): 86-92.
9. Moore KW, de Waal MR, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. Annu Rev Immunol 2001; 19: 683-765.
10. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, et al. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. Genes Immun 1999; 1(1): 3-19.
11. Hohler T, Reuss E, Freitag CM, Schneider PM. A functional polymorphism in the IL-10 promoter influences the response after vaccination with HBsAg and hepatitis A. Hepatology 2005; 42(1): 72-6.
12. Shin HD, Park BL, Kim LH, Jung JH, Kim JY, Yoon JH, et al. Interleukin 10 haplotype associated with increased risk of hepatocellular carcinoma. Hum Mol Genet 2003; 12(8): 901-6.
13. Miyazoe S, Hamasaki K, Nakata K, Kajiya Y, Kitajima K, Nakao K, et al. Influence of interleukin-10 gene promoter polymorphisms on disease progression in patients chronically infected with hepatitis B virus. Am J Gastroenterol 2002; 97(8): 2086-92.
14. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16(3): 1215.
15. Ahn SH, Han KH, Park JY, Lee CK, Kang SW, Chon CY, et al. Association between hepatitis B virus infection and HLA-DR type in Korea. Hepatology 2000; 31(6): 1371-3.
16. Yang G, Liu J, Han S, Xie H, Du R, Yan Y, et al. Association between hepatitis B virus infection and HLA-DRB1 genotyping in Shaanxi Han patients in northwestern China. Tissue Antigens 2007; 69(2): 170-5.
17. Yee LJ, Tang J, Gibson AW, Kimberly R, Van

Leeuwen DJ, Kaslow RA. Interleukin 10 polymorphisms as predictors of sustained response in antiviral therapy for chronic hepatitis C infection. Hepatology 2001; 33(3): 708-12.

18. Yan Z, Tan W, Zhao W, Dan Y, Wang X, Mao Q, et al. Regulatory polymorphisms in the IL-10 gene promoter and HBV-related acute liver failure in the Chinese population. J Viral Hepat 2009; 16(11): 775-83.

19. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. Eur J Immunogenet 1997; 24(1): 1-8.

20. Wang C, Zhang X, Zhu B, Hu D, Wu J, Yu R, et al. Relationships between tumour necrosis factor-alpha, interleukin-12B and interleukin-10 gene polymorphisms and hepatitis B in Chinese Han haemodialysis patients. Nephrology (Carlton) 2012; 17(2): 167-74.

21. 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(44): 5610-9.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 23.12.2013
Vol. 31, No. 271, 4th Week, March 2014
Accepted: 26.02.2014

The Survey on -592 Polymorphism of Interlukin-10 in Hepatitis B Virus Infected Patients

Mohammad Hassan Bagheri-Mansoori MSc[1], Zohreh Sharifi PhD[2], Mohammad Hossein Sanati PhD[3], Abolhassan Shahzadeh-Fazeli PhD[4], Mansoureh Farhangnia MSc[5]

Original Article

Abstract

Background: Infection with hepatitis B virus (HBV) may result in a number of different clinical outcomes. There are strong evidences in HBV infection that host genetic factors play a major role in determining the outcome of infection. Polymorphisms in the promoter region of interleukin 10 (IL-10) affect its production and confer susceptibility to inflammatory diseases. The aim of present study was to investigate the association between HBV infection and -592 polymorphism in the promoter region of the IL-10 gene in Iranian population.

Methods: 100 HBV infected patients and 100 healthy individuals were randomly selected. Genomic DNA was extracted from blood buffy coat using the salting-out method. The IL-10-592(A/C) genotypes were determined using allele-specific polymerase chain reaction (PCR) method. The PCR products were electrophoresed on 1.5% agarose gel. The data were analyzed using chi-square test.

Findings: The frequency of IL-10-592 C/C genotype was 16% in patients infected with HBV and 12% in healthy individuals and was not significantly different (P = 0.5). Also, the frequency of C variant allele was 55.5% in HBV infected patients and 53% in healthy individuals that was not statistically different (P = 0.6).

Conclusion: Based on our findings, there was not any relationship between IL-10-592 (A/C) polymorphism and susceptibility to HBV infection in our study population.

Keywords: Single nucleotide polymorphisms (SNPs), Interleukin-10 (IL-10), Hepatitis B virus (HBV), Allele-specific polymerase chain reaction

Citation: Bagheri-Mansoori MH, Sharifi Z, Sanati MH, Shahzadeh-Fazeli A, Farhangnia M. **The Survey on -592 Polymorphism of Interlukin-10 in Hepatitis B Virus Infected Patients.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(271): 2434-41

1- Department of Cell and Molecular Biology, School of Basic Sciences and Technologies, University of Science and Culture, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Department of Medical Genetics, National Institute for Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Department of Genetics, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran
5- Human and Animal Cell Bank, Iranian Biological Resource Center (IBRC), Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran
Corresponding Author: Zohreh Sharifi PhD, Email: z.sharifi@ibto.ir