بررسی وجود جهشδ32 در ژنCCR5 بیماران مبتلا به عفونت نهفته هپاتیتB

دکتر محمد کاظمی عرب آبادی*، دکتر علی اکبر پور فتح اله**، دکتر عبداله جعفرزاده***
دکتر غلامحسین حسن شاهی****، محمد رضا افروز*****، محمود حدادیان*****

* استادیار گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان
** استاد گروه ایمونولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی
*** دانشیار گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان
**** استادیار گروه هماتولوژی،مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان
***** کارشناس علوم آزمایشگاهی، سازمان انتقال خون رفسنجان

تاریخ دریافت مقاله : ۸۷/۶/۳۱
تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۲/۱۹

Downloaded from zjrms.ir at 9:33 +0430 on Saturday May 25th 2019

چکیده

زمینه و هدف: در عفونت نهفته هپاتیت B (OBI) علی رغم منفی بودن HBsAg ، HBV-DNA در خون محیطی فرد وجود دارد. از آنجایی که تفاوت‌های ژنتیکی و ایمونولوژیک می‌توانند بر توانایی سیستم ایمنی در پاکسازی کامل ویروس نقش عمده ای داشته باشند تصمیم گرفتیم طی این مطالعه به بررسی جهش شناخته شده δ32 در ژن CCR5 (یک گیرنده کموکینی) در این دسته از بیماران بپردازیم.

مواد و روش کار: طی این مطالعه توصیفی تعداد ۳۷۰۰ پلاسمای HBsAg منفی از اسفند ماه ۸۵ تا بهمن ۸۶ از سازمان انتقال خون رفسنجان جمع آوری شد و از نظر anti-HBc مورد آزمایش قرار گرفت. سپس نمونه های HBsAg منفی و anti-HBc مثبت از نظر وجود HBV-DNA با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه های HBV-DNA مثبت به عنوان موارد OBI از نظر وجود جهش δ32 با کمک تکنیک Gap-PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج نشان داد ۳۵۲ نمونه (۹/۵۱٪) از کل نمونه ها از نظر anti-HBc مثبت بودند. با بررسی این نمونه ها از نظر HBV-DNA با تست PCR، مشخص شد که ۵۷ نمونه (۱۶/۱٪ از افراد anti-HBc مثبت) از نظر HBV-DNA مثبت بودند. همچنین بررسی‌ها در این جمعیت نشان داد که هیچ‌کدام از بیماران مورد مطالعه دارای جهش CCR5-δ32 نبودند این در حالی است که ۲ نفر از ۱۰۰ نفر (۲٪) گروه کنترل دارای فرم هتروزیگوت این جهش بودند.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه از آنجایی که هیچ موردی از جهش CCR5-δ32 در بیماران مورد مطالعه پیدا نشد به نظر می رسد که به احتمال بسیار زیاد این جهش در تضعیف سیستم ایمنی جهت پیدایش OBI نقشی ندارد. **(مجله طبیب شرق، دوره ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۸، ص ٤١ تا ٤٨)**

کلیدواژه ها: عفونت نهفته هپاتیت B، CCR5، HBsAg، HBV-DNA، جهش δ32

مقدمه

عفونت نهفته هپاتیت B (OBI)[1] یک فرم بالینی از بیماری هپاتیت B می باشد که در آن علی‌رغم منفی بودن خون محیطی از نظر HBsAg، دارای HBV-DNA می‌باشد.[۱] وجود این فرم از بیماری هپاتیت B مشکلات عدیده ای را برای سازمان انتقال خون به وجود آورده است، به گونه ای که با وجود بررسی تمام نمونه‌های اهداکنندگان از نظر HBsAg، همچنان مواردی از هپاتیت B بعد از تزریق خون گزارش می‌شود.[۲] محققین علت این امر را به موارد متعددی از جمله وجود OBI در بین اهداکنندگان خون نسبت می‌دهند.[۳] طی مطالعه‌های

1- Occult HBV Infection

آدرس نویسنده مسئول: رفسنجان، دانشکده پزشکی
Email: kazemi24@yahoo.com

Downloaded from zjrms.ir at 9:33 +0430 on Saturday May 25th 2019

گذشته به شیوع بالای این فرم از بیماری در بین اهداکنندگان خون اصفهان [۲] و رفسنجان پی برده شده است. [۳] علی‌رغم گسترش دانش در مورد ویروس هپاتیت B، هنوز این سوال که چرا حالات مختلفی از بیماری هپاتیت B در افراد یک جامعه بعد از برخورد با ویروس هپاتیت B به وجود می‌آید، بدون پاسخ مانده است. از این رو محققین زیادی در حال بررسی تفاوتهای ژنتیکی و ایمونولوژیک بیماران با فرم‌های مختلف بالینی هپاتیت B نسبت به گروه مقاوم (clearance) می‌باشند. یکی از مواردی که ذهن محققین زیادی را به خود معطوف کرده است، گیرنده CCR5 می باشد. CCR5 یک گیرنده کموکینی است که برای اولین بار در سال ۱۹۹۶ کلون شد و در سال‌های بعدی نشان داده شد که لیگاندهای این گیرنده کموکین‌های CCL3، CCL4 و CCL5 می‌باشند.[۴] این گیرنده جزء گیرنده‌های همراه G پروتئین‌ها (GPCR)[۲] می‌باشد که انتقال سیگنال به داخل سلول را به کمک این مولکول‌ها انجام می‌دهد.[۴] این گیرنده به عنوان کمک گیرنده ویروس HIV نیز مطرح می‌باشد.[۴،۵] این گیرنده بر سطح زیر گروه‌هایی از لنفوسیت‌ها (لنفوسیت‌های T CD8+ و NK Cells)، رده ماکروفاژ/ مونوسیت‌ها و حتی بر سطح سلول‌های غیر ایمنی مثل فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیال و همچنین در مناطق غیر التهابی بیان می‌شود.[۶] به نظر می‌رسد که CCR5 در ایجاد کموتاکسی و بسیج سلول‌های صلاحیت دار ایمنی به کبد جهت پاک‌سازی کامل ویروس نقش عمده‌ای دارد.[۶] مطالعات گذشته نشان می دهد که یک جهش در تنها اگزون ژن CCR5 و متعاقبا حذف ۳۲ نوکلئوتید (δ32) از این ناحیه منجر به کاهش بیان و یا بیان فرم غیر عملکردی این مولکول بر سطح سلول‌های افراد می‌شود.[۷-۹] چندین مطالعه به بررسی این جهش در بیماران مبتلا به فرم‌های مختلف بالینی هپاتیت B پرداخته‌اند.[۱۰،۱۱] اما مطالعه‌ای در زمینه ارتباط این جهش با OBI انجام نشده است، بنابراین در طی این مطالعه به بررسی وجود جهش δ32 به عنوان یک فاکتور خطر در بیماران مبتلا به OBI و گروه کنترل پرداختیم.

روش کار

این مطالعه توصیفی پس از کسب تاییدیه از کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان طی اسفند ۱۳۸۵ تا بهمن سال ۱۳۸۶ در دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به انجام رسید. به این ترتیب که تعداد ۳۷۰۰ پلاسمای تازه منجمد شده (FFP) به میزان ۰/۵ cc از مراجعه کنندگان ۱۸ تا ۵۰ سال سازمان انتقال خون رفسنجان جمع آوری شد. نمونه هایی که از نظر HCV، HIV و یا تست RPR مثبت بودند از مطالعه خارج شدند. سایر نمونه ها در $-۲۰^{o}c$ برای مدت دو ماه نگهداری شد و برای نگهداری بیش از دو ماه از دمای $-۷۰^{o}c$ استفاده شد. پس از اخذ رضایت نامه کتبی و تفهیم کامل مبنی بر تحقیقاتی بودن آزمایشات از تمام افراد anti-HBc و HBV-DNA مثبت به عنوان مبتلایان به OBI و افراد anti-HBc مثبت HBV-DNA منفی (که از نظر سن، جنس و طبقه اجتماعی با گروه مورد مطالعه همسان سازی شده بودند) به عنوان گروه کنترل، نمونه تازه خون محیطی به همراه ضد انعقاد EDTA گرفته شد تا در مراحل بعدی از آنها DNA ژنومی استخراج شود.

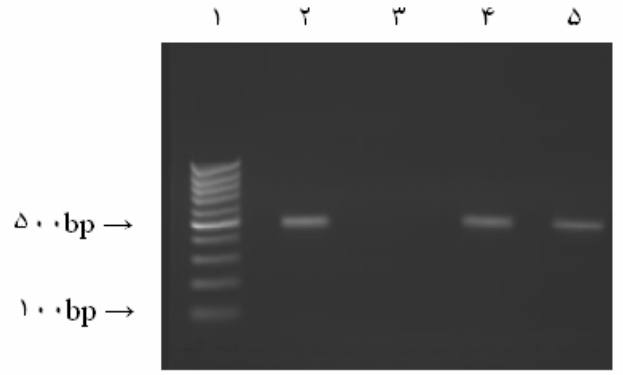
برای غربال کردن نمونه ها از نظر HBsAg از کیتهای الیزای تجارتی (Behring, Germany) طبق رهنمودهای شرکت سازنده استفاده شد. نمونه های منفی دوباره از نظر HBsAg تست شدند. در این مرحله از روش ساندویچ استفاده شد. سپس نمونه های HBsAg منفی با روش الیزا و با استفاده از کیت‌های تجاری (RADIM, Italy) از نظر anti-HBc تست شدند. در ضمن تمام نمونه ها از نظر وجود HCV و HIV نیز با کیت‌های تجاری الیزا (Behring, Germany) مورد بررسی قرار گرفتند. برای استخراج DNA ویروسی ابتدا ۲۰۰µl پلاسما با ۲۰۰µl پروتئیناز k (۲۰۰µg/ml) مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در $۷۲^{o}c$ و سپس ۵ دقیقه در $۴^{o}c$ نگهداری شد. سپس استخراج

2 - G protein coupled receptor

Downloaded from zjrms.ir at 9:33 +0430 on Saturday May 25th 2019

توسط روش استاندارد فنل/کلروفرم انجام شد. بعد از ته نشین کردن DNA توسط اتانول مقدار۳۰µl آب DNase free به آن اضافه شد و در ۲۰°c- نگهداری گردید.[۵]

HBV-DNA PCR در حجم ۲۵µl انجام شد[۱] و طی این مرحله یک قطعه ۵۰۰bp از ژن S ویروس HBV تکثیر شد (شکل شماره ۱).



شکل۱: نتیجه نسبت تکثیر DNA توسط PCR در دو اهداء کننده خون با HBsAg منفی و anti-HBc مثبت. وجود باند ۵۰۰bp نشان دهنده آلودگی به HBV DNA می باشد. ۱: ladder ۲: کنترل مثبت ۳: کنترل منفی ۴و۵: دو نمونه مثبت.

DNA ژنومی افراد مورد بررسی از نمونه های خون محیطی و توسط کیت‌های استخراج DNA از شرکت Bioneer ساخت کشور انگلستان، مطابق با دستور العمل کیت، استخراج و در ویالهای جداگانه تقسیم بندی شد و در دمای ۲۰°c- تا زمان انجام آزمایشات PCR نگهداری شد.

بـه منظـور بررسـی وجـود CCR5-δ32 پرایمرهـا بـه گونـه ای طراحی شدند که ناحیه حذف شده مورد نظر را به طور کامل در بر داشته باشند. بنابراین بر اساس اندازه قطعه مورد نظر مـی تـوان به وجود جهش در این ناحیه پی برد به گونـه ای کـه پرایمرهـای طراحی شده در این مطالعه یک قطعه ۱۸۸bp را در نـوع وحـشی (بدون جهش) تکثیر می دادند و وجود محصول PCR بـا انـدازه ۱۵۶bp نشان دهنده وجود δ32 در ژن مورد نظر بود.

PCR در حجم ۲۵µl انجام شد که شامل این موارد بودند: 10 mM tris-HCL KCl، 1.5 mM MgCl2، ژلاتین ۱درصد، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP، ۰/۶ µM از هر پرایمر، ۵۰۰ نانوگرم از DNA استخراج شده به همراه 5 units آنزیم recombinant *Taq* DNA polymerase برای الکتروفورز. ابتدا یک ژل آگارز ۲درصد به همراه اتیدیوم بروماید درست شد سپس محصول PCR به همراه 50bp ladder مورد الکتروفورز قرار گرفت. مواد مصرفی از شرکت سیناژن تهیه شده بودند.

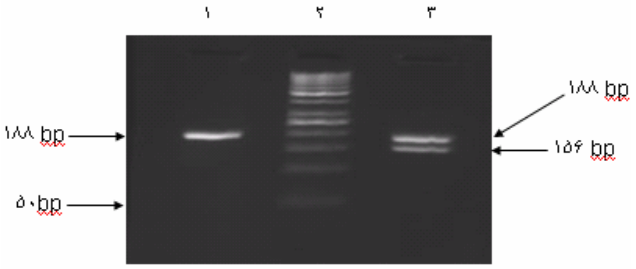
یافته ها

این مطالعه توصیفی از اسفند ماه ۸۵ تا بهمن ماه ۸۶ بر روی ۳۷۰۰ نمونه جمع آوری شده از سازمان انتقال خون رفسنجان انجام شد. نتایج آزمایش الیزا به منظور تشخیص واندازه گیری HBsAg نشان داد که تمامی نمونه ها (۱۰۰٪) از نظر HBsAg منفی بودند. همچنین نشان داده شد که تمامی اهداکنندگان از نظر HCV و HIV منفی بودند. با انجام تست الیزا به منظور تعیین وجود anti-HBc در اهداکنندگان HBsAg منفی، مشخص شد که ۳۵۲ عدد (۹/۵۱٪) از این نمونه‌ها از نظر anti-HBc مثبت بودند. با بررسی این نمونه‌ها (HBsAg منفی و anti-HBc مثبت) از نظر HBV-DNA مشخص شد که ۵۷ نفر (۱۶/۱٪ از افراد anti-HBc مثبت) از آنها HBV – DNA مثبت بودند. در طی این تحقیق تعداد ۵۷ نفر از بیماران مبتلا به OBI و ۱۰۰ نفر از افراد سالم از نظر جهش δ32 مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن افراد در دو گروه مورد و شاهد به ترتیب ۹±۵۰ و ۸±۵۰ سال بود که آزمون آماری t-test هیچگونه اختلاف معنی داری را از نظر سن در بین دو گروه نشان نداد. تعداد ۴۰ نفر (۴۰٪) از گروه شاهد زن و ۶۰ نفر(۶۰٪) مرد بودند. این نسبت‌ها در گروه مورد به ترتیب برابر نفر ۲۲(۲۹٪) و ۳۵ نفر(۶۱٪) بود. آزمون آماری Chi-Square نشان داد که این اختلاف‌ها از نظر آماری معنی دار نبوده است مقایسه

Downloaded from zjrms.ir at 9:33 +0430 on Saturday May 25th 2019

افراد دو گروه از نظر طبقه اجتماعی نیز اختلاف معنی دار آماری نشان نداد. به طوری که ۲۲درصد گروه مورد در طبقه اجتماعی ضعیف، ۴۷درصد متوسط و ۲۹درصد در طبقه بالا قرار داشتند که این نسبت‌ها در گروه شاهد به ترتیب ۲۴، ۴۴ و ۳۲ درصد بود. شکل ۱ نتایج الکتروفورز را نشان می دهد. همانطور که در این شکل مشاهده می شود ستون‌های ۴ و ۵ حاوی باند می باشند که نشان دهنده مثبت بودن این نمونه ها است. این نتایج نشان داد که تقریبا ۱۶/۱ درصد از نمونه های HBsAg منفی و anti-HBc مثبت از نظر HBV مثبت و حدود ۱/۵۴درصد از کل نمونه ها آلوده به HBV بودند که به عنوان OBI مطرح می باشند.

نتایج حاصل از بررسی جهش δ32 در دو جمعیت نشان داد که هیچکدام از موارد HBV DNA مثبت داری جهش δ32 در ژنوم خود نبودند اما ۲ نفر (۲٪) از گروه کنترل دارای هر دو فرم وحشی و δ32 (هتروزیگوت) بودند و مابقی همگی بدون جهش بودند. نمونه ای از این نتایج در شکل شماره ۲ نشان داده شده است.



شکل۲: نمونه ای از نتایج تکثیر ژن CCR5. ستون ۱: تکثیر ژن CCR5 بدون δ32 را نشان می‌دهد (قطعه ۱۸۸ bp)، ستون ۲: 50bp ladder و ستون ۳: محصول PCR که حاوی هر دو قطعه (هتروزیگوت) ۱۸۸bp و ۱۵۶bp(حاوی جهش δ32) است.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که ۵۷ نفر از ۳۷۰۰ اهدا کننده خون مورد بررسی آلوده به HBV بودند و هیچ‌کدام از این افراد جهش δ32 را در ژن CCR5 نداشتند. CCR5 گیرنده کموکین‌های CCL3، CCL4 و CCL5 می باشد که در مهاجرت سلول‌های ایمنی به محل عفونت شرکت کرده و با ایجاد سیگنال‌های داخل سلولی از طریق مسیرهای MAP kinase و Jun-N-terminal Kinase (JNK) اقدام به فعال‌سازی سلول‌های ایمنی از جمله لنفوسیت‌های سیتوتوکسیک می‌کند.[۱۲] بیماری OBI یکی از اشکال بالینی عفونت هپاتیتB می باشد که در آن علی رغم اینکه بیمار از نظر HBsAg منفی است دارای HBV-DNA در خون محیطی می‌باشد.[۱] هنوز به طور کامل مشخص نشده که چرا سیستم ایمنی این افراد قادر نیست همانند گروه پاک شونده (clearance) ویروس را به طور کامل از بدن پاک کند. اما محققین در حال بررسی اجزا مختلف سیستم ایمنی این افراد جهت مقایسه آن با سیستم ایمنی افراد با خصوصیات clearance هستند. با توجه به نقش مهم CCR5 در بیماری‌های ویروسی، به نظر می رسد که این گیرنده با عملکرد خود نقش مهمی را در ریشه کنی ویروس HBV در بدن ایفا می‌کند. [۶] همان‌گونه که ذکر شد در طی تحقیقات گذشته شیوع بالای عفونت نهفته هپاتیت B در بین اهدا کنندگان خون ایرانی مشاهده شد.[۲،۳] در طی مطالعه حاضر نیز بر این مطلب صحه گذاشته شد. چرا که همان‌طور که در نتایج ذکر شد ۵۷ نفر از ۳۷۰۰ (۱/۵۴٪) اهدا کننده خون مراجعه کننده به سازمان انتقال خون رفسنجان آلوده به HBV-DNA بودند. در این مطالعه ما در هیچ‌کدام از بیماران جهش δ32 را مشاهده نکردیم اما ۲ نفر از افراد گروه کنترل دارای فرم هتروزیگوت این جهش بودند. با توجه به این نتایج می توان این‌گونه برداشت کرد که این جهش در ایجاد OBI نمی‌تواند نقش عمده‌ای داشته باشد. Chloe و همکاران طی یک مطالعه Cohort در کشور آمریکا که جمعا بر روی ۵۲۶ بیمار مبتلا به فرم حاد (acute) بیماری و گروه کنترل پاک شونده انجام دادند متوجه شدند که وجود جهش CCR5-δ32 در فرم هتروزیگوت با بهبودی و ریشه کنی بیماری هپاتیت B در ارتباط است.[۱۱] این محققین میزان شیوع این جهش را به شکل هتروزیگوت در جامعه آمریکا ۱۱درصد

Downloaded from zjrms.ir at 9:33 +0430 on Saturday May 25th 2019

گزارش کردند و عقیده داشتند که CCR5 گیرنده ای است که به ویروس در جهت پایداری و ایجاد بیماری مزمن کمک می‌کند. اما مکانیسم دقیق آن روشن نشد.[۱۱] این نتایج بر خلاف پیش فرض مطالعه ما بود. اما نتایج Suneetha و همکاران بر روی ۲۱۴ بیمار مبتلا به فرم مزمن هپاتیت B و ۴۰۸ فرد سالم نشان داد که وجود جهش δ32 در فرم هتروزیگوت با مزمن شدن بیماری در ارتباط است.[۱۳] نتایج این محققین نشان داد که میزان جهش در فرم هتروزیگوت در گروه بیماران به طور معنی‌داری بالاتر می‌باشد. البته با توجه به این مطلب که گروه کنترل در مطالعه Suneetha و همکاران افرادی بودند که هیچ نشانه‌ای از بیماری هپاتیت B نداشتند نمی توان با اطمینان در مورد نتایج این مطالعه اظهار نظر کرد زیرا گروه کنترل می‌بایست افرادی باشند که با وجود اینکه از هیچ فرم بیماری رنج نمی‌برند (HBsAg و HBV-DNA منفی) دارای anti-HBc در خون محیطی دال بر برخورد با ویروس و بهبودی کامل بیماری باشند.[۱] مطالعه Sang و همکاران از کشور کره جنوبی بر روی بیماران مبتلا به شکل حامل مزمن بیماری نشان داد که بیماران مورد بررسی هیچ‌گونه فرمی از جهش CCR5-δ32 را ندارند[۱۰] بنابراین به نظر می‌رسد که این جهش با این نوع بیماری ارتباطی نداشته باشد. به طور کلی به نظر می رسد که مطالعات مختلف بر روی نژادهای مختلف نتایج گوناگونی را در بر داشته است. یک علت این امر را می توان در میزان شیوع این جهش در جوامع مختلف جستجو کرد. به گونه ای که میزان این جهش در کشورهای اروپایی و آمریکا ۱۱درصد گزارش شده است که به نظر می‌رسد بالاترین میزان در میان کشورهای جهان می باشد.[۱۱] در رابطه با میزان این جهش در کشور ما گزارشی در دست نیست اما مطالعه ما بر روی جمعا ۳۵۷ نفر (۵۷ بیمار OBI، ۱۰۰ نفر گروه کنترل و ۲۰۰ بیمار دیابتی) نشان داد که تقریبا ما با شیوعی برابر ۱/۱۷ درصدی مواجه هستیم.[۱۴] علت دوم تفاوت نتایج ما با دیگر محققین را می‌توان در شکل بیماری مورد بررسی دانست به دلیل اینکه مطالعات قبلی جمعیت مبتلا به OBI انجام نشده است. لذا مطالعات بیشتر بر روی فرم‌های مشابه بالینی کمک شایانی در این زمینه خواهد کرد. به طور کلی بر اساس نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که بیماری OBI با جهش δ32 در ژن CCR5 ارتباطی ندارد اما با توجه به عدم بررسی جمعیت بزرگتر به دلیل مشکلات مالی پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری جهت بررسی جنبه های مختلف ایمونولوژیک این بیماری در مراکز استان‌های کشور انجام شود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از تمامی کارمندان سازمان انتقال خون رفسنجان و همچنین از ریاست و کارمندان محترم مرکز بنیاد بیماری‌های خاص به خاطر کمک‌های بی‌دریغ‌شان جهت انجام این پروژه و همچنین تمامی بیمارانی که بدون هیچ چشم‌داشتی اقدام به اهدا خون نمودند تقدیر و تشکر می نمایند.

References

1. Arababadi MK, Hassanshahi G, Yousefi H, et al. No detected hepatitis B virus-DNA in thalassemic patients infected by hepatitis C virus in Kerman province of Iran. Pak J Biol Sci. 2008;11(13):1738-41.

2. Pourazar A, Salehi M, Jafarzadeh A, et al. Detection of HBV DNA in HBsAg Negative Normal Blood Donors. IJI. 2005; 2 (3): 172-176.

Downloaded from zjrms.ir at 9:33 +0430 on Saturday May 25th 2019

3. Jafarzadeh A, Arababadi MK, Mirzaee M, et al. Occult hepatitis B virus infection among blood donors with antibodies to hepatitis B core antigen. Acta Med Iran. 2008; 46 (1): 27-32.

4. Guerini FR, Delbue S, Zanzottera M, et al. Analysis of CCR5, CCR2, SDF1 and RANTES gene polymorphisms in subjects with HIV-related PML and not determined leukoencephalopathy. Biomed Pharmacother. 2008;62(1):26-30

5. Maeda K, Das D, Yin PD, et al. Involvement of the second extracellular loop and transmembrane residues of CCR5 in inhibitor binding and HIV-1 fusion: insights into the mechanism of allosteric inhibition. J Mol Biol. 2008;381(4):956-74.

6. Ajuebor MN, Carey JA, Swain MG. CCR5 in T cell-mediated liver diseases: what's going on? J Immunol. 2006;177(4):2039-45.

7. Jin Q, Marsh J, Cornetta K, et al. Resistance to human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) generated by lentivirus vector-mediated delivery of the CCR5{Delta}32 gene despite detectable expression of the HIV-1 co-receptors. J Gen Virol. 2008;89(Pt 10):2611-21.

8. Faure E, Royer-Carenzi M. Is the European spatial distribution of the HIV-1-resistant CCR5-Delta32 allele formed by a breakdown of the pathocenosis due to the historical Roman expansion? Infect Genet Evol. 2008;8(6):864-74.

9. Xiao J, Hu F, Xu H, et al. Provincial distribution of three HIV-1 resistant polymorphisms (CCR5–Delta32, CCR2-64I, and SDF1-3' A) in China. Sci China C Life Sci. 2000;43(1):16-20.

10. Ahn SH, Kim do Y, Chang HY, et al. Association of genetic variations in CCR5 and its ligand, RANTES with clearance of hepatitis B virus in Korea. J Med Virol. 2006;78(12):1564-71.

11. Thio CL, Astemborski J, Bashirova A, et al. Genetic protection against hepatitis B virus conferred by CCR5Delta32: Evidence that CCR5 contributes to viral persistence. J Virol. 2007; 81 (2): 441-5.

12. Wong MM, Fish EN. Chemokines: attractive mediators of the immune response. Semin Immunol. 2003;15(1):5-14.

13. Suneetha PV, Sarin SK, Goyal A, et al. Association between vitamin D receptor, CCR5, TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms and HBV infection and severity of liver disease. J Hepatol. 2006;44(5):856-63.

14. Arababadi MK, Naghavi N, Hassanshahi G, et al. CCR5 Δ 32 mutation is associated with nephropathies of type 2 diabetes? Ann Saud med. 2009; article in press.

Downloaded from zjrms.ir at 9:33 +0430 on Saturday May 25th 2019

Detection of the CCR5-δ32 Mutation in Patients Infected with Occult Hepatitis B

Kazemi Arababadi Mohammad, PhD*; Pourfathollah Ali Akbar, PhD; Jafarzadeh Abdollah, PhD***; Hassanshahi Gholamhossein, PhD****; Afrooz Mohammad Reza, PhD*****; Hadadian Mahmood, PhD*****

Downloaded from zjrms.ir at 9:33 +0430 on Saturday May 25th 2019

Received: 21/Sep /2008
Accepted: 9/May /2009

Background: *Occult hepatitis B infection (OBI) is a form of viral hepatitis in which the HBV-DNA is present in blood while the HBsAg is undetectable. As differences in genetics and immunological responses have important role on OBI we were persuaded to analyze the known CCR5-D32 mutation (a chemokine receptor) in patients with OBI.*

Materials and Methods: *In this descriptive study, 3700 blood samples that were HBsAg negative were collected during March 2006 to February 2007, from Rafsanjan blood transfusion services. All samples were tested for anti-HBc antibody. The HBsAg negative and anti-HBc positive samples were analyzed for HBV-DNA by PCR technique. The HBV-DNA positive samples were regarded as OBI cases. Finally, the Gap-PCR was performed to examine the δ32 mutation in OBI patients.*

Results: *The analysis of results showed that 352 (9.51%) cases of HBsAg negative samples were positive for anti-HBc. Following examination of HBsAg negative and anti-HBc positive samples for HBV-DNA by PCR based methods; we found that 57(16.1%) cases had HBV-DNA. None of the OBI patients had δ32 mutation in CCR5 chemokine receptor whereas 2(2%) of controls had heterozigotic form of this mutation.*

Conclusion: *Based on the results of this study it seems that CCR5-D32 mutation does not affect the immune response against HBV to make OBI.*

KEY WORDS: *Occult Hepatitis B Infection, CCR5, HBsAg, HBV-DNA, δ32 Mutation*

***Assistant Prof of Immunology, Cellular and Molecular Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, Rafsanjan, Iran**
**** Prof, Dept of Immunology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran**
*****Associate Prof of Immunology, Cellular and Molecular Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, Rafsanjan, Iran**
******Assistant Prof of Hematology, Cellular and Molecular Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, Rafsanjan, Iran**
*******BSC in Laboratory Sciences, Rafsanjan Blood Transfusion Organization, Rafsanjan, Iran**