Review Article

Liver micro-RNAs and their role in different HCV genotype infections

Maryam Shafaati[1], Marzieh Jamalidoust[2*], Mazyar Ziyaeyan[3], Ehsan Arefian[4], Mohammad Kargar[5]**

1- Ph.D. Candidate, Young Researchers Club, Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
2- Assistant Professor, Department of Virology, Prof. Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
3- Associate Professor, Department of Virology, Prof. Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
4- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Biology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran
5- Professor, Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

**Corresponding Address: Postal Code: 7193613311, Department of Virology, Prof. Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*
Email: mjamalidoust@gmail.com

***Corresponding Address: Postal Code: 7193613311, Department of Virology, Prof. Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*
Email: ziyaeyanm@sums.ac.ir

Received: 11/May/2017, Accepted: 17/Sep/2017

Abstract

Hepatitis C virus (HCV) is a common cause of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC) worldwide. The combination of ribavirin and peg-interferon, as standard treatment for HCV infection, seems very promising. Many studies have revealed that despite following standard HCV treatment, a high proportion of HCV genotypes 1 and 4 poorly attain (42% to 46%) the SVR condition, whereas it is somehow easier for HCV genotypes 2 and 3 (76%-82%). Overall, genotypes 1 and 4 antiviral therapies must be continued up to one year to achieve SVR, whereas in individuals infected with genotypes 2 and 3 must continue therapy for six months. Since 2011, direct-acting antiviral agents (DAA) have been introduced that target the HCV-encoded proteins which are vital for replication of the virus. The first generation of DAA, telaprevir, in combination with peg-interferon and ribavirin, more efficiently inhibits replication of genotype 1. Although the level of DAA SVR rate is high, the new treatment has some undesirable adverse effects. Micro-RNAs (miRNAs), as the new HCV drug approach, open a new insight into the treatment of non-responder HCV patients. Altered expression of miRNAs is involved in the aspects of HCV infection and HCC. In the current review, we attempt to better understand the HCV life cycle, liver miRNAs, and their role in this viral infection.

Keywords: Hepatitis C virus, liver miRNA, New drugs, HCV genotypes

Pathobiology Research, Vol. 20 (2017-2018), No.4, Pages: 1-19

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

مقاله مروری

میکروRNAهای کبدی و نقش آن‌ها در ژنوتیپ‌های مختلف عفونت ویروس هپاتیت C

مریم شفاعتی[1]، مرضیه جمالی دوست[2*]، مازیار ضیائیان[3]، احسان عارفیان[4]، محمد کارگر[5]**

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، باشگاه پژوهشگران جوان، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران
۲- استادیار، بخش ویروس شناسی، مرکز تحقیقات میکروب شناسی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۳- دانشیار، بخش ویروس شناسی، مرکز تحقیقات میکروب شناسی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
۴- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۵- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، شیراز، کدپستی: ۷۱۹۳۶۱۳۳۱۱، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، مرکز تحقیقات میکروب شناسی استاد البرزی، بخش ویروس شناسی
Email: mjamalidoust@gmail.com

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، شیراز، کدپستی: ۷۱۹۳۶۱۳۳۱۱، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، مرکز تحقیقات میکروب شناسی استاد البرزی، بخش ویروس شناسی
Email: ziyaeyanm@sums.ac.ir

دریافت مقاله: ۹۶/۰۲/۲۱ پذیرش مقاله: ۹۶/۰۶/۲۶

چکیده

ویروس هپاتیت C، یکی از علل اصلی سیروز و سرطان کبد در سراسر جهان است. قابل قبول‌ترین رژیم دارویی در درمان بیماران مبتلا به عفونت ویروس هپاتیت C استفاده از درمان ترکیبی پلی‌اتیلن گلیکول- اینترفرون به‌همراه ریباورین است.
مطالعات متعددی نشان داده‌است که به‌دنبال استفاده از رژیم دارویی فوق به‌عنوان رژیم دارویی استاندارد، درصد نسبتاً کمی از مبتلایان به ژنوتیپ‌های ۱ و ٤ ویروس به حالت پاسخ‌های ویروسی پایدار (SVR) (حذف دائم ویروس) می‌رسند (٤٢-٤٦ درصد) این در حالیست که میزان پاسخ‌های ویروسی پایدار در مورد ژنوتیپ‌های ۲ و ۳ ویروس به مراتب بهتر است (٧٦-٨٢ درصد).
در مجموع، زمان مناسب برای رسیدن به پاسخ‌های ویروسی پایدار در مورد ژنوتیپ‌های ۱ و ٤ یک سال است در حالی که طول این مدت در ژنوتیپ‌های ۲ و ۳ حدود ٦ ماه است.
از سال ۲۰۱۱ استفاده از داروهای ضد ویروسی با عملکرد مستقیم علیه ویروس هپاتیت C برای درمان بالینی آغاز شد که به‌طور مستقیم پروتین‌های کد شده توسط ویروس را مورد هدف قرار می‌دهند.
نسل اول مهارکننده‌های "پروتئاز HCV NS3/4A " مانند تلاپریویر (Telaprevir) سبب افزایش پاسخ ویروسی پایدار در بیماران مبتلا به ویروس هپاتیت C شد.
با وجود پتانسیل بالقوه این داروها، رژیم درمانی مذکور با عوارض جانبی شدید همراه است. برای بیماران مبتلا به ویروس هپاتیت C که به درمان سخت جواب می‌دهند، گزینه‌های درمانی بیشتری مورد نیاز است.
مطالعات بیشتر برای اثر بخشی و کاهش آثارجانبی داروها نگاه‌ها را به سمت دنیای مولکولی و میکروRNAها سوق داد.
میکروRNAها، نقش مهمی در استقرار عفونت ویروس هپاتیت C که در تکثیر ویروس مؤثر است.
در مطالعه مروری حاضر تلاش شده است که از یک طرف عفونت ویروس هپاتیت C، میکروRNAها، بیوژنز آن‌ها و سایر موارد بررسی شود و از طرف دیگر نقش میکروRNAها در چرخه تکثیر HCVونیز ژنوتیپ‌های مختلف ویروس مورد بحث قرار می‌گیرد

کلیدواژگان: ویروس هپاتیت C، میکروRNAهای کبدی، داروهای جدید، ژنوتیپ‌های ویروس هپاتیت C

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

مقدمه

کنترل و ریشه‌کن کردن عفونت ناشی از ویروس هپاتیت C (Hepatitis C Virus: HCV) همواره یکی از برنامه‌های اساسی سازمان بهداشت جهانی (WHO) در تمام کشورها از جمله ایران است [۱]. رویکرد درمانی این عفونت با ظهور داروهای ضد ویروسی با عملکرد مستقیم (Direct-acting antivirals: DAAs) تغییر کرده است [۲].

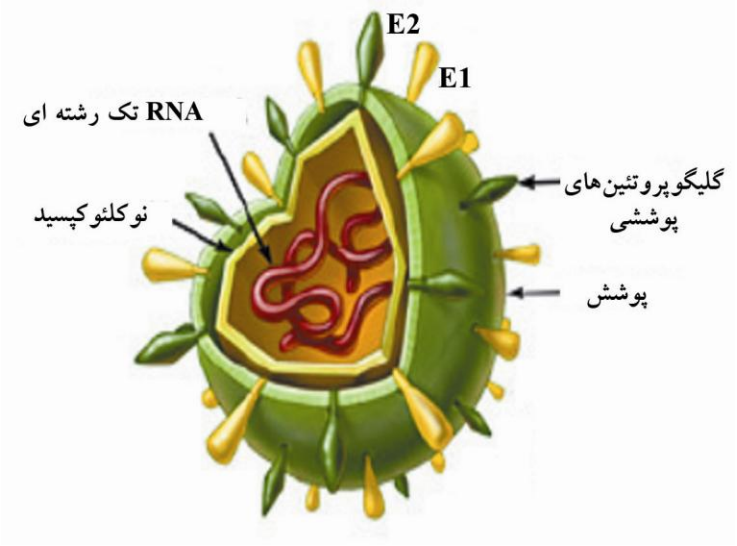
تاریخچه HCV

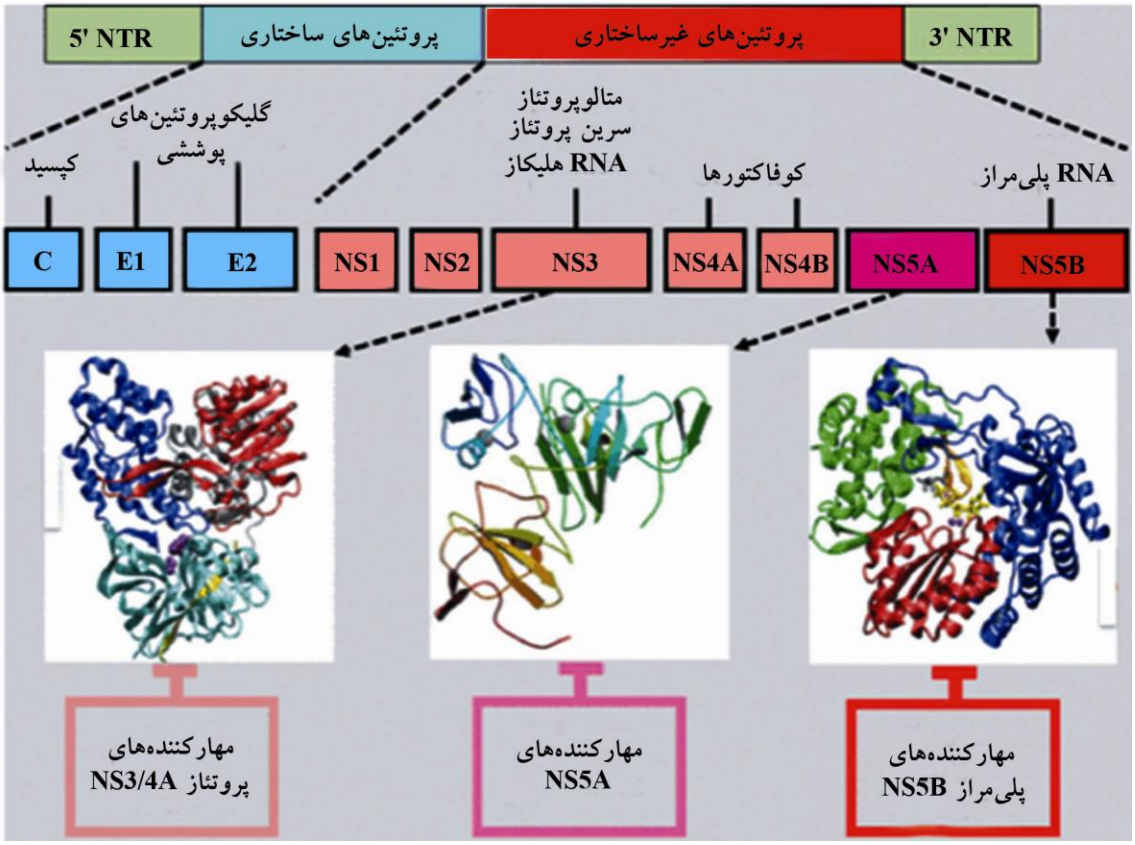
در پایان جنگ جهانی دوم دو نوع متفاوت از هپاتیت بر اساس شیوه انتقال آن‌ها تشخیص داده شد؛ هپاتیت گوارشی در مقابل هپاتیت تزریقی. این عفونت‌های ویروسی بعدها به هپاتیت نوع A و هپاتیت نوع B تغییر نام پیدا کردند. ویروس عامل عفونت هپاتیت B یا HBV به‌عنوان یک پروتوتایپ جدید از خانواده ویروس‌های DNAدار به نام خانواده هپادناویریده (Hepadnaviridae) معرفی شد. به‌دنبال کشف آن، HAV در یک جنس جدید به نام هپاتوویروس (Hepatovirus) از خانواده پیکورناویریده (Picornaviridae) قرار گرفت. با توسعه روش‌های سرولوژیک با حساسیت بالا مشخص شد بسیاری از عوامل، مسئول ایجاد هپاتیت منتقله از راه خون (Post Transfusion) هستند که نمی‌توان آن‌ها را جزء HAV و HBV طبقه‌بندی کرد. واژه هپاتیت غیر A-غیر B (Non-A, Non-B Hepatitis) برای اولین بار در آن سال توصیف شد که بعدها به نام HCV شناخته شد. HCV به طرز فزاینده‌ای سبب سیروز کبدی و سرطان کبد می‌شود [۳].

ریخت شناسی HCV

ویروس HCV یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت کبدی در سراسر جهان است [٤]. حذف این ویروس در حدود ۸۰ درصد از موارد در بیماران عفونی با شکست همراه است که منجر به هپاتیت مزمن می‌شود و در ادامه ممکن است سبب سیروز کبدی و سرطان هپاتوسلولار (Hepatocellular cancer: HCC) شود. ویروس HCV یک ویروس هپاتوتروپیک (Hepatotropic)، واجد پوشینه و تک رشته‌ای با سنس مثبت و طولی حدود ۹/٦ کیلوباز است که متعلق به خانواده فلاوی‌ویریده (Flaviviridae) و جنس هپاسی‌ویروس (Hepacivirus) است. ژنوم ویروس در دو انتهای خود دارای نواحی غیر ترجمه شونده 3'-UTR (Three prime untranslated region) و 5' است که نقش مهمی در تکثیر و ترجمه ویروس دارد. توالی IRES (Internal ribosome entry site) که جزئی از ناحیه ژنی 5'-UTR است، محل اتصال ریبوزوم است و یک پلی‌پروتئین ایجاد می‌کند که در حدود ۳۰۱۰ اسید آمینه دارد. این پلی‌پروتئین توسط پروتئازهای سلولی و ویروسی به سه ناحیه ساختاری (Core، E1 و E2) و هفت پروتئین غیر ساختاری ویروسی شامل P7، NS2، NS3، NS4 A/B و NS5 A/B برش می‌خورد [۵]. پروتئین Core، کپسید ویروس را تشکیل می‌دهد. پوشش ویروس متشکل از دو لایه لیپیدی شامل گلیکوپروتئین‌های E1 و E2 است. پروتئین P7 به عنوان یک کانال یونی احتمالاً در سرهم کردن و رهاسازی ویروس نقش دارد [٦]. NS2/3 وNS3 دو پروتئاز ویروس هستند که با برش خود سبب ایجاد ۱۰ زیر واحد عملکردی در ویروس می‌شوند که شامل پروتئین Core، پروتئین‌های پوشینه ویروسی (E1 و E2)، کانال یونی P7 و پروتئین‌های NS (NS2، NS3، NS4A/B، NS5A/B) هستند [۷]. پروتئین‌های NS از NS3 تا NS5B کمپلکس رپلیکاز ویروسی را تشکیل می‌دهند. همچنین NS5B فعالیت RNA پلی‌مرازی دارد. پروتئین‌های ویروسی به تنهایی یا در همراهی با یکدیگر، با عوامل سلولی بر هم کنش دارند و مسیرهای پیام‌رسان مختلفی به منظور تسهیل عفونت پایدار ویروسی تعدیل یافته‌اند. هپاتیت C از علل عمده بیماری‌های مزمن کبدی است که بیشتر به فرم بدون علامت بروز می‌کند. حدود ۸۰ درصد از بیماران آلوده به عفونت مزمن پایدار گرفتار می‌شوند که در درصدی از این افراد ممکن است به‌صورت سیروز کبدی و HCC تغییر شکل دهند [۸، ۹] (شکل ۱).

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]





شکل ۱ ژنوم HCV با طولی در حدود ۹/٦ کیلوباز دارای یک قالب خواندن باز (Open reading frame: ORF) و نواحی '۵ و '۳ غیر ترجمه شونده است. بـه دنبـال ترجمه (اتصال ریبوزوم به توالی IRES) یک پلی پروتئین بزرگ تولید می‌شود که توسط پروتئازهای سلولی و ویروسی برش می‌خورد و ده پروتئین ویروسـی شـامل C، E1، E2 (پروتئین‌های ساختاری ویروس) و P7، NS2، NS3، NS4A/B، NS5A/B (پروتئین‌های غیر ساختاری ویروس) را ایجاد می‌کند. داروهـای DAAs بـرای درمان هپاتیت C در دسترس می‌باشند که شامل مهارکننده‌های پروتئاز NS3/4A، مهارکننده‌های NS5A و مهارکننده‌های پلی‌مراز NS5B هستند.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

طبقه‌بندی HCV

HCV سازماندهی ژنومی وخصوصیات زیستی مشابه با پستی‌ویروس‌ها (Pestivirus) وفلاوی ویروس‌ها دارد؛ از این رو در خانواده فلاوی ویروس قرار داده شده است. از سوی دیگر این ویروس بر اساس ویژگی‌های بیماری‌زایی و ژنومی از سایر اعضای خانواده فلاوی‌ویریده متمایز شده و در جنس هپاسی‌ویروس قرار گرفته است. بررسی‌های فیلوژنتیکی از توالی ویروس صحت این طبقه‌بندی را تأیید می‌کند. هپاتیت C از لحاظ سازماندهی پروتئین‌های ساختمانی، در یک سوم انتهای آمینی پلی‌پروتئین خود با دو جنس اصلی دیگر در خانواده فلاوی‌ویریده یعنی فلاوی‌ویروس و پستی‌ویروس تفاوت دارد. با وجود این که ترجمه در فلاوی‌ویروس‌ها وابسته به کلاهک در سمت '۵ است ولی در جنس هپاسی‌ویروس و پستی‌ویروس کلاهک در سمت '۵ وجود ندارد و از طریق توالی IRES ژنوم به پلی پروتئین ترجمه می‌شود. با این وجود این سه جنس از لحاظ همانندسازی وچرخه زندگی خود وجه مشترک زیادی را دارند [۱۰].

خصوصیات HCV

مطالعات اولیه نشان می‌دهد که HCV از طریق کلروفرم غیر فعال می‌شود. این موضوع بیان‌کننده پوشینه‌دار بودن ویروس است. مشکلات کشت ویروس HCV در شرایط آزمایشگاهی تجسم ویروس را مشکل ساخته است. با این حال ذرات ویروسی با میکروسکوپ الکترونی تشخیص داده می‌شود. این یافته نشان‌دهنده آن است که ویروس HCV ساختار تقریباً کروی شکل دارد و روی سطح خود برآمدگی‌های میخی شکل (Spike like) دارد. قطر آن در حدود ۵۵ تا ۵٦ نانومتر است. مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که پروتئین‌های پوشینه به شدت گلیکوزیله است و کربوهیدرات‌ها حدود نیمی از جرم هر دو پوشینه ویروسی را تشکیل می‌دهد. چگالی ناهمگون ویروس توضیح می‌دهد که چگونه HCV در ارتباط با لیپوپروتئین‌ها و احتمالاً ایمونوگلوبولین‌ها قرار دارد. در شیب سوکروز، RNA ویروس HCV در هر دو چگالی پایین تا متوسط و چگالی بالا قرار می‌گیرد. چندین گزارش نشان داده است که گیرنده LDL (LDLr)، واسطه ورود ویروس به سلول است [۱۱].

سازماندهی ژنوم و مسیر همانندسازی

ژنوم HCV شامل یک RNA تک رشته‌ای با سنس مثبت است که اندازه آن در حدود ۹/٦ کیلوباز است. یک پلی‌پروتئین بزرگ حدود ۳۰۰۰ اسید آمینه را کدگذاری می‌کند. در انتهای '۳ و '۵، نواحی غیر ترجمه شونده (Non translated region: NTR) قرار دارد. پلی‌پروتئین ویروسی از نظر عملکردی شامل سه قسمت مجزا است: ۱) ناحیه انتهای آمینی که شامل پروتئین‌های ساختاری Core و E1، E2 است. ۲) ناحیه مرکزی که شامل دو پروتئین P7 و NS2 است که برای همانندسازی و تکثیر ذرات ویروس ضروری نیست، اما در ریخت‌زایی (Morphogenesis) ویروس و رهاسازی ذرات ویروسی لازم هستند. ۳) ناحیه انتهای کربوکسیل که شامل پروتئین‌های غیر ساختاری NS3 و NS4A/B و NS5A/B است که برای همانندسازی و تکثیر RNA ویروس ضروری هستند [۱۲]. پروتئین غیر ساختاری NS2 همراه با ناحیه انتهای آمینی پروتئین NS3 نقش سیستئین پروتئازی دارد و باعث اتصال بین NS2 و NS3 می‌شود. همچنین ناحیه انتهای آمینی NS3 نقش سرین پروتئازی که پروتئین NS4A برای این پروتئین نقش کوفاکتوری دارد. ناحیه انتهای کربوکسیل پروتئین نقش هلیکازی و نوکلئوتید تری فسفاتازی را دارد. پروتئین NS4B باعث تشکیل غشاهایی برای تکثیر ویروس می‌شود. پروتئین NS5A یک فسفو پروتئین است و نقش تنظیم همانندسازی ویروس را دارد. پروتئین NS5B پلی‌مراز ویروس است که فاقد فعالیت تصحیح در همانندسازی است. به‌علاوه تغییر قالب ریبوزومی در توالی پروتئین هسته‌ایی ویروس (Core) منجر به تولید یک پروتئین کوچک به نام F می‌شود که در تعدیل عفونت ویروسی نقش دارد [۱۳]. همانند دیگر

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

ویروس‌های RNAدار ژنوم ویروس HCV به‌عنوان RNA پیامبر پس از آزادسازی در سیتوپلاسم مستقیماً ترجمه می‌شود. ترجمه مستقل از 5'-cap است و تحت کنترل IRES واقع در '۵ ناحیه غیر ترجمه شونده، انجام می‌شود. طول پلی‌پروتئین‌ها پس از ترجمه توسط پروتئازهای ویروسی و سلولی تعیین می‌شود. پروتئین‌های غیر ساختاری از NS3 تا NS5B کمپلکس رپلیکاز را در غشای سیتوپلاسمی تشکیل می‌دهد. این کمپلکس ساخت رشته منفی حد واسط را از ژنوم با سنس مثبت بر عهده دارد. سرهمبندی ویروس احتمالاً نزدیک به غشا رخ می‌دهد. این فرآیند در افراد بیمار شناسایی شده است [۱٤].

بیماری‌زایی HCV

HCV تنها انسان و شامپانزه را آلوده می‌کند. اگرچه که هپاتوسیت‌ها اهداف اصلی لانه‌گزینی ویروس به حساب می‌آیند، آلودگی لنفوسیت‌های B، سلول‌های دندرتیک (Dendritic cells) و سایر انواع سلولی به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های فرار از ایمنی توسط ویروس در تحقیقات متفاوت گزارش شده است. با این حال نتایج متناقضی در یافته‌های محققان وجود دارد [۱۵، ۱٦]. CD81 یک پروتئین غشایی، گیرنده LDL (Low-density lipoprotein receptor: LDLR)، گیرنده رفتگر نوع B (Scavenger receptor class B: SRB)، و اخیراً اکلادین-۱ (Claudin-1 co-receptor: CLDN-1)، به‌عنوان گیرنده احتمالی HCV پیشنهاد شده است. پروتئین E2 ویروس HCV به DC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin) و L-SIGN [Liver/lymph node-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing integrin (L-SIGN)-(CD 209L)] نیز متصل می‌شود. L-SIGN یک لکتین متصل به کلسیم است که روی سلول‌های اندوتلیال سینوزوئیدی کبدی بیان شده و ممکن است روند عفونت را، با به دام انداختن ویروس برای میان کنش بعدی با هپاتوسیت‌ها تسهیل نماید [۱۰]. تشکیل یک کمپلکس همانندسازی همراه با غشا متشکل از پروتئین‌های ویروسی و RNA همانندسازی‌کننده و غشای سلولی تغییر یافته، شاخص همه RNA ویروس‌های تک رشته‌ای با حس مثبت است که تاکنون شناخته شده است. بسته به نوع ویروس ممکن است همانندسازی روی غشاهای تغییر یافته مشتق شده از شبکه آندوپلاسمی (Endoplasmic reticulum)، دستگاه گلژی، میتوکندری یاحتی لیزوزوم‌ها رخ دهد. نقش غشاها در ساخت RNA ویروسی به خوبی مشخص نشده است. این نقش ممکن است شامل حمایت فیزیکی و سازماندهی کمپلکس همانندسازی RNA، تقسیم‌بندی و غلظت موضعی فرآورده‌های ویروسی، هدف‌گیری RNA ویروسی در خلال باز شدن RNA، تهیه اجزای لیپیدی مهم برای همانندسازی، حفاظت RNA ویروسی در برابر دفاع میزبانی با واسطه RNA مداخله‌گر است. با مطالعات سلولی و یافتن یک تغییر غشایی ویژه با نام شبکه غشایی به‌عنوان محل همانندسازی RNA در سلول‌های Huh-7، واجد رپلیکون (Replicon) ژنومیک HCV، نشان داده شده است که تشکیل این شبکه غشایی تنها توسط NS4B القا می‌شود و همچنین مشخص شده است که تشکیل این ساختار بسیار مشابه با انکولوزیون‌های اسفنجی شکلی است که قبلاً توسط میکروسکوپ الکترونی در کبد شامپانزه آلوده به HCV مشاهده شده بود. هدف مطالعات اخیر مشخص نمودن عوامل میزبانی و سلولی دخیل در تشکیل کمپلکس همانندسازی HCV است [۱۷]. بررسی‌های اخیر نشان داده‌است که یک میان کنش پیچیده بین همانندسازی ژنوم ویروس و متابولیسم لیپید سلولی وجود دارد که احتمالاً از طریق ارتباط پروتئین‌های ویروسی و میزبانی با غشاهای داخل سلولی صورت می‌پذیرد. مطالعات اخیر عوامل میزبانی مختلفی را شناسایی کرده‌است که در همانندسازی ژنوم ویروس HCV نقش دارند. این مطالعات از زمانی آغاز شد که ثابت شد سیکلوسپورین A (Cyclosporine A) از همانندسازی ژنوم HCV در آزمایش ممانعت به‌عمل می‌آورد. بر اساس یافته‌ها، داروهای مشابه سیکلوسپورین A اخیراً به‌عنوان ضد ویروس

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

علیه هپاتیت C توسعه یافته‌است. همچنین نشان داده شد که سیکلوفیلین B (Cyclophilin B) با NS5B میان کنش می‌دهد و به موجب آن فعالیت اتصال به RNA را تحریک می‌کند [۱۰، ۱۷]. درباره مراحل انتهایی چرخه زندگی ویروس اطلاعات کمی وجود دارد. احتمالاً ویریون‌ها به‌وسیله جوانه زدن به درون غشایی شبکه آندوپلاسمی یا یک بخش مشتق شده از ER تشکیل شده و از طریق مسیر ترشحی از سلول خارج می‌شوند. یک ارتباط احتمالی بین متابولیسم چربی، گردهمایی و آزادسازی ویروسی پیشنهاد شده است [۱۸].

تنوع ژنتیکی و پراکندگی جغرافیایی در انواع ژنوتیپ‌های HCV

انواع سویه‌های HCV، تنوع ژنومی زیادی را از خودشان نشان می‌دهند. همانند RNA ویروس‌های سنس مثبت آنزیم RNA پلی‌مراز HCV دچار خطاهایی هنگام تکثیر می‌شود. به هر حال ژنوم این ویروس تنوع ژنتیکی بسیار بالایی دارد هر چند که این تفاوت‌ها در طول ژنوم به‌طور یکنواختی دیده نمی‌شود. نواحی نسبتاً حفاظت شده HCV مانند Core، E1، NS5 بسیار مطالعه شده‌اند. بر اساس جدیدترین طبقه‌بندی جدایه‌های (Isolates) این ویروس در ۷ ژنوتیپ مشخص(۱ تا ۷) و بیش از ٦٧ زیر گروه (1a، 1b، 1c، و غیره) دسته‌بندی می‌شوند [۱۹، ۲۰]. ژنوتیپ 1b در ارتباط نزدیکتری با توسعه بیماری کبدی و هپاتوسلولار کبدی است؛ هر چند این ارتباط هنوز ثابت نشده است. در مجموع به‌نظر می‌رسد ژنوتیپ ۱ در مقایسه با ژنوتیپ‌های ۲ و ۳ با پیشرفت و توسعه بیماری و در نهایت عمل پیوند کبد به میزان بیشتری همراه است. در پاسخ به اینترفرون آلفا (Interferon alpha) و ریباویرین (Ribavirin) تفاوت زیادی بین ژنوتیپ‌های مختلف وجود دارد. ژنوتیپ‌های ۲ و ۳ به مراتب بهتر به درمان پاسخ می‌دهند، این در حالی است که میزان پاسخ به درمان در مورد ژنوتیپ ۱ حداکثر ٦٠ درصد است. این مطالعات نشان دادند که ژنوتیپ ۱، به سختی به درمان پاسخ می‌دهد و میزان عود در آن زیادتر و درمان در آن‌ها از اهمیت بیشتری برخوردار است. در مناطق جغرافیایی دنیا ژنوتیپ‌های مختلف مشاهده شده است. در آمریکا دو سوم افراد مبتلا به ژنوتیپ ۱، ده درصد مبتلا به ژنوتیپ ۲ و شش درصد به ژنوتیپ ۳ مبتلا هستند. در اروپا ژنوتیپ ۱ شایع است و ژنوتیپ ۲ و ۳ حدود ۱۵-۳۰ درصد از افراد را شامل می‌شود. ژنوتیپ ۳ در آسیا، ژنوتیپ ٤ در خاورمیانه، ژنوتیپ ۵ در آفریقای جنوبی و ژنوتیپ ٦ در هنگ کنگ شایع است [۲۱]. شبه سویه‌ها (Quasispecies) به تغییرات ژنتیکی جزئی اطلاق می‌شود که کمتر از ۵ درصد از نوکلئوتید ژنوم را دستخوش تغییرات می‌سازد. در جریان عفونت، شبه سویه های زیادی به‌وجود می‌آیند. ولی اکثر آن‌ها عفونت زا نیستند و با شدت عارضه کبدی و میزان پاسخ‌دهی آن‌ها نسبت به اینترفرون متفاوت است. اهمیت بالینی آن‌ها هنوز به‌طور کامل مشخص نیست. بدین ترتیب HCV در بدن یک فرد، دایما در حال تغییر است که در اثر این جهش‌های سریع در بدن ویروس می‌تواند از حملات دفاعی بدن و آثار دارویی تا حدی در امان باشد [۲۲]. مطالعات متعدد نشان داده‌است که ژنوتیپ ویروسی نقش بسیار مهمی در میزان پاسخ‌دهی به درمان دارد و در نتیجه تعیین آن در انتخاب دارو و مدت مصرف دارو تأثیرگذار است.

ژنوتیپ‌های HCV و زیرگروه‌های آن در نقاط مختلف جهان توزیع متفاوتی دارند. در هر منطقه یک ژنوتیپ غالب وجود دارد. هر چند مطالعات اپیدمیولوژی آن محدود است. ژنوتیپ‌های ۱ و ۲ و ۳ به‌طور گسترده‌ای در سراسر جهان توزیع شده‌اند. ژنوتیپ ٤ و ۵ به‌ترتیب در شرق آفریقا و آفریقای جنوبی و کشورهای عربی و ژنوتیپ ٦ در جنوب شرقی آسیا پراکنش پیدا کرده است [۲۳، ۲٤]. ژنوتیپ‌های ۱ و ۳ به‌ترتیب عمده‌ترین ژنوتیپ‌های در حال گردش در ایران هستند [۲۵] و [۲٦]. اولین بار در ایران شیوع ژنوتیپ‌های مختلف در ۱۵ نمونه توسط زالی و همکارانش بررسی شد که نتایج آن عبارت بودند از تیپ 1a در ۷ مورد، 1b در ۳مورد، 3a در ٤ مورد و یک بیمار هم دارای تیپ ٤ بود.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

تاکنون مطالعات بسیار زیادی در ایران، شیوع ژنوتیپ‌های HCV را در مقاطع مختلف زمانی گزارش کرده‌است [۲۷-۲۹]. در برخی از مناطق کشور روند تغییرات ژنوتیپ‌ها نیز بررسی شده است [۳۰-۳۳].

الگوی شیوع ژنوتیپ هپاتیت C در کشور ما، ایران، شبیه انگلیس و نیز کشورهای همسایه مانند پاکستان است و با سایر کشورهای منطقه (عراق، یمن، کویت، عربستان سعودی) که ژنوتیپ شایع ٤ است، متفاوت است [۳٤]. طبق این تحقیق میزان موارد anti-HCV مثبت در سراسر دنیا، در بین بالغین حدود ۲ درصد (۱/۷-۲/۳) و در در تمامی سنین حدود ۱/٦ درصد (۲/۱-۱/۳) تخمین زده شده است که به‌تربیت مربوط به ۱۰٤ میلیون (۱۲٤-۸۷) و ۱۱۵ میلیون (۱٤۹-۹۲) بیمار آلوده است. در مقابل میزان شیوع Viremic (بار ویروس در خون) در بالغین حدود ۱/٤ درصد (۲/۷-۱/۱) و در تمامی سنین حدود ۱/۱ درصد (٤/۹-۱/۰) تخمین زده شده است که به‌ترتیب مربوط به ۷۵ میلیون (۷۹-٦۲) و ۸۰ میلیون (۱۰۳-٦٤) بیمار آلوده است [۳۵].

تفاوت‌های ژنوتیپ‌های مختلف از نظر توالی نوکلئوتیدی

اولین بار ژنوم کامل HCV توسط چوو (Choo) و همکارانش تعیین توالی شد سپس یک سیستم نام‌گذاری جامع در مورد ژنوتیپ و زیر سویه‌های ویروس (Virus subtypes) پیشنهاد شد. HCV بر اساس شباهت توالی‌های نوکلئوتیدی به گروه‌های مختلف ژنتیکی تحت عنوان ژنوتیپ تقسیم می‌شوند که در مجموع ٦۰ درصد از نظر ژنتیکی شباهت دارند. ژنوتیپ‌های HCV به‌ترتیب پس از کشف خود نام‌گذاری می‌شوند. سویه‌های بسیار نزدیک و مرتبط از هر یک ژنوتیپ‌ها به‌عنوان زیر سویه (شباهت نوکلئوتیدی ۷٦ تا ۸۰ درصدی) معرفی و با حروف کوچک نام‌گذاری می‌شود. به مجموعه واریانت‌های ژنتیکی که در هر بیمار متفاوت است و دارای شباهت نوکلئوتیدی ۹۰ تا ۹۹ درصدی است، شبه سویه می‌گویند که در قسمت‌های قبلی مقاله به آن اشاره شد.

در طول تکثیر HCV، ویروس ممکن است کپی‌های بد یا اشتباه را وارد توالی خود کند و روند جهش پایدار به ویروس کمک می‌کند که از پاسخ سیستم ایمنی فرار کند پس هنگامی که یک شبه سویه ریشه کن شود شبه سویه دیگر پدیدار می‌شود. بنابراین باید سیستم ایمنی به‌طور دایم فعال باشد این یکی از دلایلی است که بسیاری از مردم دچار بیماری هپاتیت C مزمن می‌شوند. شبه سویه‌ها نقش مهمی در پیشرفت بیماری و پاسخ به درمان ایفا می‌کند [۳٦].

تفاوت‌های ژنوتیپ‌های مختلف از نظر پاسخ به درمان

در حال حاضر متداول‌ترین دارو در درمان بیماران مبتلا به عفونت HCV استفاده از درمان ترکیبی PEG-IFN (Pegylated interferon) به‌همراه ریباورین (به‌صورت خوراکی) بوده است. این دارو در حال حاضر به‌عنوان استاندارد در درمان و مراقبت تلقی می‌شود. ترکیب پلی‌اتیلن گلیکول (Polyethylene glycol) و اینترفرون نوترکیب به دارو اجازه می‌دهد که یک فاصله درمانی مناسب بین تزریق اینترفرون و تسهیل درمان ایجاد کند. همان‌طور که در قبل اشاره شد، استفاده از PEG-IFN به‌همراه ریباورین برای رسیدن به پاسخ‌های ویروسی پایدار (Sustained virologic response: SVR) (حذف دایم این ویروس یا کاهش صد برابری ویروس) در بیماران مبتلا به ژنوتیپ ۱ و ٤ ویروس در حدود ٤۲ الی ٤٦ درصد بود و در افراد مبتلا به ژنوتیپ ۲ و ۳ ویروس به حدود ۷٦ الی ۸۲ درصد رسید. استفاده از PEG-IFN به تنهایی در بهترین حالت یک درمان متوسط را فراهم می‌کند در حالی که استفاده همزمان با ریباورین نتایج بهتری را ایجاد می‌کند. ریباورین آنالوگ گوآنوزین و مهارکننده قوی مونوفسفات اینوزین دهیدروژناز سلولی است که با تأثیر روی منبع نوکلئوزیدی از تکثیر RNA ویروسی (کاهش فعالیت پلی‌مرازی NS_5B) جلوگیری می‌کند و در نهایت سبب حفظ

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

تعادل بین Th_1 و Th_2 می‌شود. مشخص شده آلودگی HCV با ژنوتیپ ۱ معمولاً عواقب وخیم‌تری دارد چرا که به درمان با اینترفرون پاسخ کمتری می‌دهد یا اینکه سریع‌تر وارد فاز مزمن یا فاز پیشرفته‌تر می‌شود [۹]. با توجه به ژنوتیپ‌های ویروس HCV درمان ضد ویروسی ۲٤ هفته تا ٤۸ هفته ادامه دارد. اگر فردی طی ۲٤ (ژنوتیپ‌های ۲و ۳) الی ٤۸(ژنوتیپ‌های ۱و ٤) هفته، PCR-HCV آن منفی شود یا حداقل ۱۰۰ برابر کاهش یابد به درمان پاسخ داده است و "پاسخ‌گو به درمان" (Responder) محسوب می‌شود و در غیر این صورت مقاومت دارویی رخ داده است که به آن گروه "غیر پاسخ‌گو به درمان" (non- Responder) می‌گویند [۹].

انواع پاسخ‌های درمان به عفونت ناشی از HCV

چندین پاسخ ویروس شناسی در ارتباط با پاسخ به درمان صورت می‌گیرد که مهمترین آن پاسخ ویروسی پایدار (Sustained virological response: SVR) است. در آن بیمار بعد از ۲٤ هفته بعد از قطع درمان RNA ویروس در سرم‌اش قابل ردیابی نیست که به‌عنوان بهبودی از بیماری تلقی می‌شود. هرچند که احتمال سرطانی شدن کبد مخصوصاً اگر هنگام SVR فرد دچار سیروز شده باشد بعد از سال‌ها وجود دارد. شناسایی نشدن ویروس بعد از ۲٤ تا ٤۸ هفته از درمان نشان از رسیدن بیمار به مرحله ETR (End of treatment Response) است. این مرحله به درستی احتمال رسیدن به مرحله SVR راپیش‌بینی نمی‌کند ولی برای رسیدن به SVR ضروری است. دوره RVR (Rapid virological Response) به زمانی اطلاق می‌شود که بعد از ٤ هفته از درمان ویروس با آزمون‌های حساس تشخیصی قابل ردیابی نباشد. در EVR (Early virological response) کاهش بار ویروسی به میزان صد برابر بعد از ۱۲ هفته از درمان است. ناتوانی در رسیدن به EVR بهترین پیش‌بینی در راستای عدم رسیدن به SVR است. مرحله‌ای که حین درمان ویروسی بعد از مرحله ETR دوباره بار ویروس در سرم افزایش یابد را ظهور مجدد ویروس (Breakthrough) می‌گویند. اگر بعد از ۲٤-٤۸ هفته از درمان کاهش بار ویروس را حداقل به میزان صد برابر نداشته باشیم را "پاسخ‌گوی بی اثر" (null-responder) می‌نامیم [۳۷].

فرار HCV از پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی

پاسخ اینترفرون

عفونت HCV توسط مسیرهای مختلف ایمنی ذاتی حس می‌شود، اما اغلب توسط پاسخ ایمنی پاک نمی‌شود و سبب رفتن به سمت عفونت مزمن می‌شود. HCV مسیرهای پاسخ اینترفرون را به‌وسیله مکانیسم‌های متعدد مسدود می‌کند. ویروس با بهره‌گیری از نواحی پروتئازی $NS_3/_4A$ می‌تواند از مسیرهای ایمنی ذاتی فرار کند. پروتئین‌های $NS_3/_4A$ سبب برش TRIF (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β) و MAVS (Mitochondrial antiviral-signaling protein) شده و می‌تواند مسیر پیام‌رسانی اینترفرون یا ISG (Interferon-stimulated gene) را در سطح Jak-Stat (Janus kinase/signal transducers and activators of transcription) مسدود کند و از طریق پروتئین NS5A سبب اختلال در عملکرد عامل هسته‌ای IRF-7 (Interferon regulatory factor) می‌شود. IFI-6 (Interferon-inducible protein) یکی از انواع ISG-1 است که نقش مهمی در تنظیم مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده (Apoptosis) دارد. IFI-6 ارتباط نزدیکی با سیستم ایمنی دارد اما آثار ضد ویروسی آن به خوبی شناخته نشده است [۳۸].

پاسخ سیتوکین

بین فعال‌سازی ژن‌های درگیر در مسیر پیام‌رسانی اینترکولین-٦ (IL-6: interleukin 6) و HCC ارتباط پیوسته‌ای وجود دارد. زیرا افزایش سطح بتا-۲ میکروگلوبولین (beta 2 Microglobulin) در سرم و سطح IL-6 در میان

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

بیماران آلوده به HCV (HCC) مشاهده شده است. پروتئین Core هپاتیت C القای پاسخ فاز حاد مرتبط با IL-6 را ضعیف می‌کند و منجر به اختلال در سیستم ایمنی ذاتی و تداوم ویروس می‌شود. عامل نکروزدهنده تومور- آلفا (Tumor necrosis factor: TNF-α)، نقش پر رنگی را در فرآیند التهاب در عفونت هپاتیت C بازی می‌کند. HCV ممکن است از طریق ترشح IL-8 توسط سلول‌های کبدی آلوده در روند تصلب بافت‌های فیبری به‌صورت پاراکرین (Paracrine) اثرگذار باشد [۳۹].

اتوفاژی

اتوفاژی (Autophagy) نوعی فرآیند تخریب مواد سیتوپلاسمی از جمله آسیب دیدن اندامک‌ها و پروتئین‌ها در سلول برای حفظ هموستاز سلولی (Cellular homeostasis) است. طی اتوفاژی غشای دولایه وزیکولی که اتوفاگوزوم (Autophagosome) نامیده می‌شود، مواد سیتوپلاسمی را در بر می‌گیرد و با لیزوزوم (Lysosome) سبب تخریب می‌شود. اتوفاژی به‌عنوان یک جز سیستم ایمنی ذاتی در برابر عفونت‌های ویروسی عمل می‌کند. برای اولین بار در گزارش شریواستاوا (Shrivastava) و همکارانش HCV سبب القای اتوفاژی در سلول‌های کبدی نامیرا (سلول‌های کبدی سرطانی) می‌شود [۴۰]. نابودی پروتئین‌های اتوفاژی در سلول‌های کبدی آلوده به HCV مسیر پیام‌رسانی اینترفرون و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده را القا می‌کند. اتوفاژی مرتبط با HCV ممکن است سبب پیشرفت عفونت ویروسی و فرار از پاسخ ایمنی ذاتی و استقرار عفونت شود [۴۰].

سیستم کمپلمان

کمپلمان (Complement system) یکی از عوامل حیاتی مؤثر در سیستم ایمنی ذاتی برای هدف قرار دادن و از بین بردن سلول‌های آلوده به میکروارگانیسم‌ها از جمله ویروس‌ها است. ویروس HCV از پاسخ کمپلمان به‌وسیله تنظیم کردن بیان اجزای آن فرار می‌کند. پروتئین‌های HCV با مهار بیان C_3/C_4 از اجزای کمپلمان و تضعیف کمپلکس غشایی حمله (Membrane attack complex: MAC) از پاسخ کمپلمان فرار می‌کنند. پروتئین core ویروس HCV با افزایش رونویسی و افزایش سطح بیان DAF/CD_{55} در سلول‌های کبدی آلوده سبب پیوستگی اجزای ویروس بالغ HCV می‌شود. از سوی دیگر HCV در همراهی با CD_{59} در برابر آثار ناشی از لیز کمپلمان محافظت می‌شود. بیان DAF/CD_{55} در ارتباط با لیز کمپلمان (Complement-dependent cytotoxicity: CDC) و لیز سلولی وابسته به آنتی‌بادی (Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC) و عملکرد سلول‌های کشنده طبیعی (Natural killer cells: NK) است [۴۱].

درمان هپاتیت C

مطالعات اخیر نشان داده است که ژنوتیپ‌ها نقش بسیار مهمی در میزان پاسخ‌دهی به درمان دارد و در نتیجه تعیین آن در انتخاب دارو و مدت مصرف دارو تأثیرگذار است. مهارکننده‌های HCV به نام DAA_S توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (Food and Drug Administration: FDA) برای درمان هپاتیت C دارای مجوز مصرف شده است. از داروهای ضد ویروسی با فعالیت مستقیم (Direct acting antiviral drug: DDA) بدون ریباورین برای درمان ژنوتیپ ۱ تا ٦ HCV استفاده می‌شود. نرخ درمان با این داروها بالای ۹۰ تا ۱۰۰ درصد است. داروهای فعلی برای درمان HCV مزمن شامل: ژنوتیپ۱: داکلینزا (Daklinza): یک قرص در روز به‌همراه سوفوسبوویر (Sofosbuvir) (بدون ریباورین): درمان طی ۱۲ هفته، هاروونی (Harvoni): یک قرص در روز (بدون ریباورین): درمان طی ۸ یا ۱۲ تا ۲٤ هفته، ویکیراپک (Viekirapak): چند قرص بدون ریباورین دو بار در روز: درمان طی ۱۲ یا ۲٤ هفته، زپاتیر (Zepatier): یک قرص در روز بدون ریباورین: درمان طی ۱۲ یا ۱٦ هفته، ایپکلوسا (Epclusa): یک قرص در روز بدون ریباورین: درمان طی ۱۲ هفته.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

ژنوتیپ۲: سووالدی (Sovaldi): یک قرص در روز بدون ریباورین: درمان طی ۲٤ هفته، ایپکلوسا: یک قرص در روز بدون ریباورین: درمان طی ۱۲ هفته.

ژنوتیپ ۳: سووالدی: یک قرص در روز بدون ریباورین: درمان طی ۲٤ هفته، داکلینزا: دو قرص در روز به‌همراه سوفوسبوویر: درمان طی ۱۲ هفته، ایپکلوسا: یک قرص در روز بدون ریباورین : درمان طی ۱۲ هفته.

ژنوتیپ ٤: هاروونی: یک قرص در روز: درمان طی ۱۲هفته، تکنیو (Technivie): یک قرص در روز ریباورین دو بار در روز: درمان طی ۱۲ هفته، زپاتیر: یک قرص در روز بدون ریباورین: درمان طی ۱۲ یا ۱٦ هفته، ایپکلوسا: یک قرص در روز بدون ریباورین: درمان طی ۱۲ هفته.

ژنوتیپ ٥: هاروونی: یک قرص در روز: درمان طی ۱۲هفته، ایپکلوسا: یک قرص در روز بدون ریباورین : درمان طی ۱۲ هفته.

ژنوتیپ ٦: هاروونی: یک قرص در روز: درمان طی ۱۲هفته، ایپکلوسا: یک قرص در روز بدون ریباورین: درمان طی ۱۲ هفته [٤۲].

امروزه در ایران نسل داروهای جدیدی که روانه بازار شده است که مهمترین آن‌ها فویکورا (Foicura) و سوبوپاسویر (Sobopasvir) هستند که در واقع ترکیبی از داروهای سوبوسبوویر (sobosbuvir) (٤۰۰ میلی گرم) و لدیپاسویر (Ledipasvir) (۹۰ میلی گرم) هستند که توسط شرکت‌های بزرگ داروسازی در کشور ارایه می‌شود.

میکروRNA، رویکردی نوین در درمان

طی سال‌های اخیر تعداد زیادی از RNAهای غیر کدکننده پروتئین (non-coding RNA: ncRNA) مشخص شده است که یکی از انواع آن‌ها میکرو RNAها (MicroRNA یا miRNA) است. در حال حاضر میکرو RNAها یک ابزار مهم در تشخیص و درمان هستند [٤۳، ٤٤].

miRNA نقش مهمی در استقرار عفونت HCV و تکثیر ویروس دارد. تغییر بیان miRNA درگیر در روند عفونت‌زایی HCV به‌وسیله مسیرهای پیام‌رسانی مانند پاسخ ایمنی و تکثیر و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده کنترل می‌شود. این دسته از miRNAها پل ارتباطی بین انواع سلول‌های مختلف در داخل کبد است [۸].

در حقیقت miRNAها، RNAهای کوچک غیرکدکننده ۲۲ نوکلئوتیدی به‌صورت اندوژنوس (Endogenous) (درون‌زا) است که تنظیم‌گر رونویسی ژن‌ها در تمام حیوانات توسط mRNA در مرحله پس از رونویسی است (به‌طور مستقیم بیان ژن‌ها را پس از رونویسی، به‌وسیله اتصال به محل مکمل از '۳ غیرترجمه شونده mRNA هدف تنظیم می‌کند). آن‌ها سبب مهار ترجمه یا تخریب یا دآنیلاسیون mRNA می‌شود. miRNAها تنظیم‌گر طیف گسترده‌ای از فرآیندهای مهم مانند فرآیندهای زیستی، رشد و تمایز و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و غیره است [٤٤، ٤٥]. در زمان نوشتن این مقاله بیش از ۲۵۰۰ miRNA بالغ از انسان جدا شده بود که همگی در یک پایگاه داده‌های عمومی به نام miRBase گردآوری شده‌است. شناسایی و تعیین کمی miRNAها هر روز در حال تغییر و تحول است. تغییرات در رونویسی ژن‌ها که به‌وسیله miRNA تنظیم می‌شود، تمایل به بیماری‌زایی و عفونت‌زایی در بافت‌های مختلف را توضیح می‌دهد [٤۳، ٤٤].

miRNAها دارای بیان اختصاصی در سلول‌ها و بافت‌ها است. miRNAها در توسعه فرآیند فیزیولوژیکی شناخته شده‌است و اختلال در نظم آن‌ها منجر به بیماری می‌شود. miRNAها را می‌توان در خون و مایعات بدن و حتی در بافت شناسایی کرد. miRNAها طی یک بررسی با جهش در کروموزوم ۱۳ در سرطان خون لنفوسیتی مزمن کشف شد [۸]. در هسته، ژن miRNA به‌وسیله RNA پلی‌مراز II یا III رونویسی می‌شود. miRNAها اغلب به‌صورت پلی‌سیترونی به‌صورت یک pri-miRNA [miRNA اولیه (Primary miRNA)] حاوی ساختار سنجاق سری با حدود ۷۰ تا ۱۰۰ نوکلئوتید رونویسی می‌شود. pri-miRNA اغلب شامل توالی

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

چند mRNA حاوی کلاهک Cap و دم Poly A است. بنابراین بسیار به mRNA هدف شبیه است. در هسته pri-mRNAs (Primary transcripts) توسط آنزیم Drosha (کلاس ۲ از RNase III) برش می‌خورد و به‌صورت ساختار ثانویه pre-miRNA [miRNA پیش‌ساز (Precursor miRNA)] با ٦٠ تا ٩٠ جفت باز تبدیل می‌شود، آنگاه توسط اکسپورتین ۵ (Exportin5) از هسته خارج می‌شود. در سیتوپلاسم pre-miRNA به‌وسیله Dicer (اندوریبونوکلئاز از نوع RNase III) به یک کمپلکس پروتئین متصل به RNA پاسخ‌دهنده RNA-(TAR) Transactivating response [binding protein: TRBP] تبدیل می‌شود که در نهایت سبب پردازش یک RNA دو رشته‌ای بالغ (miRNA) در حدود ۲۰ تا ۲۲ جفت باز می‌شود [٤٦]. این RNA دو رشته‌ای، miRNA/miRNA* نامیده می‌شود و شامل یک miRNA بالغ راهنما و یک رشته مکمل پیامبر miRNA (miRNA ستاره‌دار) است. در ابتدا تصور می‌شد رشته مکمل تخریب شده است، اشواهد جدید، نشان داده‌اند که miRNAs، دارای نقش زیستی و کاربردی متعددی از پیدایش حیات تا کنون می‌باشند. شبکه راهنما یا فعال توسط کمپلکس خاموش‌کننده القا miRNA (miRNA-induced silencing complexes: miRISCs) جدا می‌شود. miRNAهای کروموزومی پروکسیمال (Proximal) به‌صورت یک واحد رونویسی، همزمان پردازش می‌شود. miRNAها در کمپلکس ریبونوکلئوپروتئین با اتصال به mRNA هدف اثر خود را اعمال می‌کند. جزو کلیدی کمپلکس میکروریبونوکلئوپروتئین (Ribonucleoproteins containing numerous microRNAs: miRNPs) پروتئین‌هایی به نام آرگونات (Argonaute) است. واضح است که اثر اصلی miRNA در سنتز پروتئین می‌تواند بی‌ثباتی ژن mRNA یا سرکوب ترجمه یا دآنیلاسیون mRNA هدف باشد، چون محصول حاصل از برش یک miRNA دو رشته‌ای است. اخیراً مسیر میترون (miRtron) در میان پستانداران متنوع کشف شده است. همچنین این مسیر در نماتودها (Nematodes) و دروزوفیلا ملانوگاستر (*Drosophila melanogaster*) (مگس سرکه) نیز وجود دارد. miRtronها یک گروه از miRNAهای تنظیم‌گر mRNAی هدف در یوکاریوت‌ها است. مسیر miRtron تنظیم‌کننده RNAهایی است که بدون کلیواژ توسط Drosha، پیرایش (Splicing) می‌شود [٤٧].

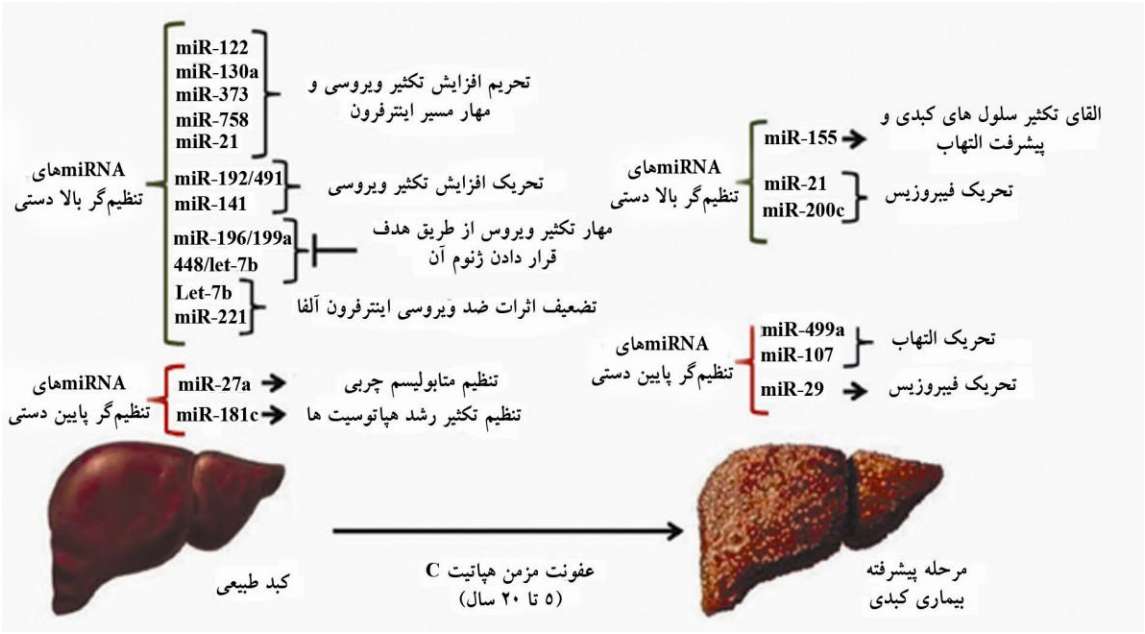
میراویرسن (Miravirsen) اولین سری از داروهایی است که به‌طور مستقیم ژنوم ویروس HCV را هدف قرار می‌دهد و یک نوع miRNA است. داروی میراویرسن آنتاگونیست miR-122 (mature miRNA) است که سبب مهار ترجمه ژنوم ویروس HCV می‌شود. این دارو در فاز ۲ (IIa) آزمایش‌های بالینی (Clinical trials) به سر می‌برد. miR-122 به‌صورت اختصاصی به ناحیه UTR ۵ از ژنوم ویروس متصل شده و به تکثیر ویروسی و افزایش ساخت پروتئین‌های ویروسی کمک می‌کند. داروی میراویرسن الیگونوکلئوتید آنتی‌سنس برای miR-122 است که با مسدود کردن این مسیر سبب کاهش سطح RNA ویروسی در عفونت‌های مزمن HCV با ژنوتیپ ۱ می‌شود [٤٥].

اثر miRNAها در بیماری‌های کبدی

miRNAها یک کلاس درحال ظهور از RNAهای کوچک غیر کدکننده بسیار کوچک است که بیان ژن را در سطح پس از رونویسی تنظیم می‌کند. در حال حاضر miRNAها فعالیت‌های سلولی شامل تمایز، متابولیسم، تکثیر، مرگ سلولی، عفونت ویروسی و تومور را تنظیم می‌کند. بررسی‌های جدید نشان می‌دهد، miRNAهای زیادی در کبد و توابع کبدی وجود دارد. لیست کامل و جزئیات در مورد miRNA و نام‌گذاری آن‌ها را در سایت http://microrna.sanger.ae.uk/sequenees موجود است [٤٨]. کبد شامل انواع سلول‌ها همانند سلول‌های پارانشیمی (مانند سلول‌های کبدی) و سلول‌های غیرپارانشیمی شامل سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های ستاره‌ای و سلول‌های

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

لنفوییدی و سلول‌های اپی‌تلیال صفراوی است. هر نوع سلولی ممکن است miRNA مجزا خود را بیان کند. با این حال بیان مشخصات miRNA در انواع سلول انسانی هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است. انواع miRNAهایی که در کبد یافت شده‌است در شکل۲ آورده شده است. در این میان خانواده miRNAی let7 و miR-122 به وفور در کبد بزرگسالان یافت می‌شود و miR-92a وmiR-483 به‌طور اختصاصی در کبد جنین یافت می‌شود [۴۹].



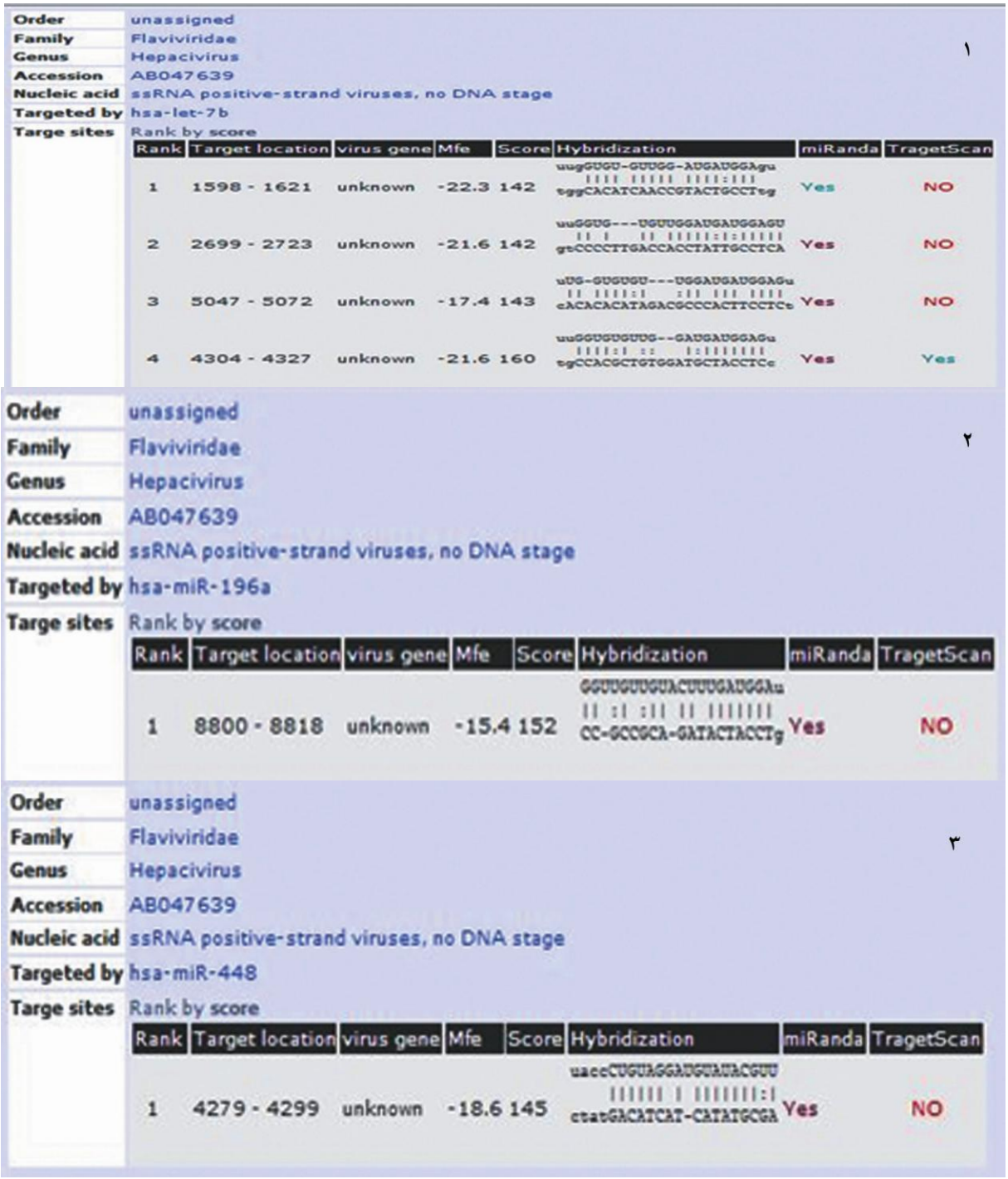
شکل ۲ نمایش شماتیک miRNAهای درگیر در بیماری‌های کبدی. بر اساس تفاوت معنی‌دار بین مقدار P بزرگتر از ۵ در افراد سالم و بیمار و تغییرات نقطه برش، miRNAهای تنظیم‌گر پایین دستی و بالا دستی مشخص می‌شود.

ژنوتیپ‌های مختلف HCV و تقابل آن‌ها با miRNAهای سلولی

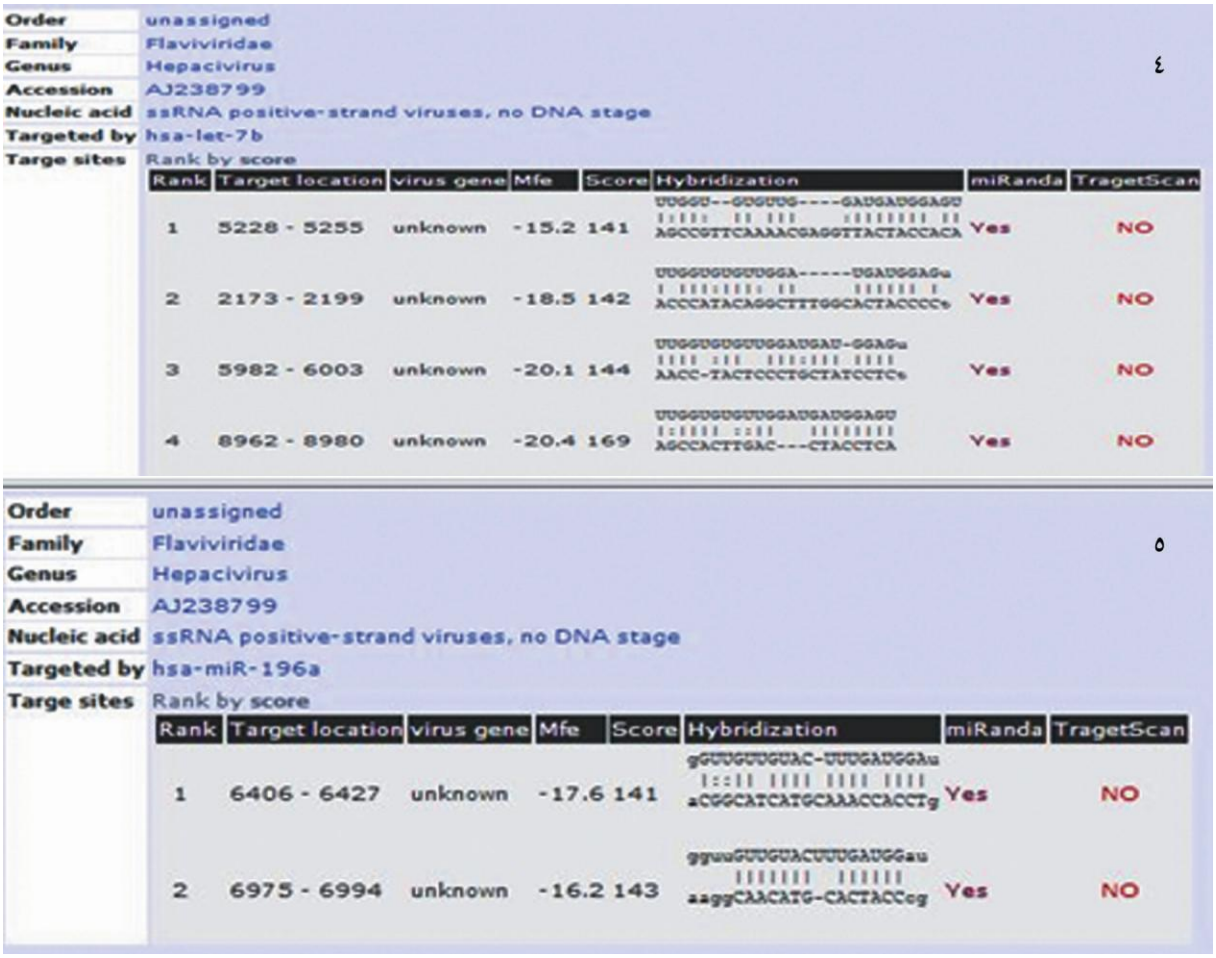
یک سؤال مهم در اینجا پیش می‌آید که آیا miRNAها در تقابل با یک ژنوتیپ خاص عمومی یا اختصاصی عمل می‌کند یا نه؟ در مطالعه مقدماتی که شریواستاوا (Shrivastava) و همکارانش در سال ۲۰۱۵ انجام دادند گفته شد که miRNAهای سلولی که در سرکوب تکثیر ویروس HCV نقش دارد (برای مثال let7-b و miR-196a و miR-448) به یک ناحیه حافظت شده و یکسان در تمام ژنوتیپ‌های HCV متصل می‌شود [۸]. miRNA ی Let-7b با تعامل بین دو ناحیه از ژنوم ویروسی شامل نواحی کدکننده UTR ۵ و NS5B تجمع ذرات ویروسی را کاهش می‌دهد [۵۰]. miR-448 با هدف قرار دادن Core ویروسی و miR-196 با هدف قرار دادن ناحیه NS5B ویروسی و miR-181c با هدف قرار دادن E1 و NS5B از ژنوم ویروس، تکثیر ویروسی را مهار می‌کند [۸]. اما در مطالعه بیوانفورماتیکی محققان حاضر در مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی دکتر البرزی در شیراز نشان داده شد که miRNAهای سرکوب‌گر تکثیر ژنوم HCV در مورد هر ژنوتیپ (که در اینجا ژنوتیپ 1b و ژنوتیپ 2a ویروس HCV بررسی شد) به ناحیه هدف متفاوتی از ژنوم HCV متصل می‌شود. عملکرد miRNAهای کبدی در ژنوتیپ‌های مختلف ویروس HCV متفاوت است. اما در مورد جدایه‌های مختلف ویروس تناقضی دیده نشد. در بررسی حاضر

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

از نرم‌افزار پیش‌بینی نواحی هدف ViTa_miRNA_targeted Virus (http://vita.mbc.nctu.edu.tw) استفاده شد. این نرم‌افزار در کنار سایر نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی پیش‌بینی ژن‌های هدف miRNA نواحی اتصال در ژنوم ویروسی را برآورد می‌کند. همچنین miRNAهای اختصاصی در هر بافت آلوده به ویروس را پیدا می‌کند. این کار مقایسه بین زیرگروه‌های ویروسی و نواحی حفظ شده ویروس را آسان می‌سازد [۵۱]. به مجموعه شکل ۳ نگاه کنید.



[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]



شکل ۳ توالی‌های هدف miRNA در ژنوتیپ‌های مختلف HCV؛ ژنوتیپ 1b ویروس هپاتیت C (شکل ٤ و ٥) و ژنوتیپ 2a ویروس هپاتیت C (شکل ۱، ۲ و ۳). فلش عمودی نشان دهنده جفت بازهای مکمل بین رپلیکون HCV و miRNA می‌باشد. جفت بازهای G:U جایگاه لغزش وابل (Wobble) را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر استراتژی‌های متعددی برای درمان HCV توسعه یافته است. گزینه‌های درمانی به‌دلیل توسعه مقاومت دارویی و عوارض جانبی محدود شده‌است. هدف قرار دادن تکثیر HCV یک رویکرد امیدبخش در درمان ضد ویروسی است. هنوز جای امیدواری است که در جستجوی آن دسته از miRNAهایی باشیم که ژنوم HCV را هدف قرار می‌دهد و سبب سرکوب یا کاهش تکثیر ویروس هپاتیت سی می‌شود (مانند Let-7b، miR-448، miR-196 و غیره). چرا که مطالعات پیشین نشان داد miRNAها یک هدف درمان ضد ویروسی امن و در عین حال جدید مبتنی بر سرکوب یا خاموش کردن RNA (RNA مداخله‌گر یا RNAi) طی تکثیر HCV است و تکثیر HCV به‌واسطه miRNAها می‌تواند مهار شود.

منابع

[1] Alavian SM, Hajarizadeh B, Bagheri Lankarani K, Sharafi H, Ebrahimi Daryani N, Merat S,

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

Mohraz M, Mardani M, Fattahi MR, Poustchi H, Nikbin M, Nabavi M, Adibi P, Ziaee M, Behnava B, Rezaee-Zavareh MS, Colombo M, Massoumi H, Bizri AR, Eghtesad B, Amiri M, Namvar A, Hesamizadeh K, Malekzadeh R. Recommendations for the Clinical Management of Hepatitis C in Iran: A Consensus-Based National Guideline. Hepat Mon 2016; 16(8): e40959.

[2] Elberry MH, Darwish NHE, Mousa SA. Hepatitis C virus management: potential impact of nanotechnology. Virology Journal 2017; 14: 88.

[3] Lindenbach BD, Thiel HJ, Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication. In: Fields virology. Edited by Knipe DM, Howley PM. 5th edition, Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 2007; p: 991-1041.

[4] Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. Clin Microbiol Rev 2000; 13(2): 223-35.

[5] Ishida H, Tatsumi T, Hosui A, Nawa T, Kodama T, Shimizu S, Hikita H, Hiramatsu N, Kanto T, Hayashi N, Takehara T. Alterations in microRNA expression profile in HCV-infected hepatoma cells: involvement of miR-491 in regulation of HCV replication via the PI3 kinase/Akt pathway. Biochem Biophys Res Commun 2011; 412(1): 92-7.

[6] Han SH, Kim SJ, Kim EJ, Kim TE, Moon JS, Kim GW, Lee SH, Cho K, Yoo JS, Son WS, Rhee JK, Han SH, Oh JW. Phosphorylation of hepatitis C virus RNA polymerases ser29 and ser42 by protein kinase C-related kinase 2 regulates viral RNA replication. J Virol 2014; 88(19): 11240-52.

[7] Pallaoro M, Lahm A, Biasiol G, Brunetti M, Nardella C, Orsatti L, Bonelli F, Orrù S, Narjes F, Steinkühler C. Characterization of the hepatitis C virus NS2/3 processing reaction by using a purified precursor protein. J Virol 2001; 75(20): 9939-46.

[8] Shrivastava S, Steele R, Ray R, Ray RB. MicroRNAs: Role in Hepatitis C Virus pathogenesis. Genes Dis 2015; 2(1): 35-45.

[9] Fields BN, Knipe DM, Howley PM. Fields Virology. 5th Edition, Wiley publisher, 2007, Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, ©2007. Available from: www.worldcat.org/title/fields-virology/oclc/71812790

[10] Moradpour D, Penin F, Rice CM. Replication of hepatitis C virus. Nat Rev Microbiol 2007; 5(6): 453-63.

[11] Fields BN, Knipe DM. Fundamental Virology. 1st ed, Wiley publisher, 1991; Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, ©2001.

[12] Lindenbach BD, Thiel HJ, Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication. In: Fields virology. Edited by Knipe DM, Howley PM. 5th Edition, Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 2007; p: 931-59.

[13] Glenn JS. Molecular virology of the hepatitis C virus: implication for novel therapies. Infect Dis Clin North Am 2006; 20(1): 81-98.

[14] Zhang Y, Corver J, Chipman PR, Zhang W, Pletnev SV, Sedlak D, Baker TS, Strauss JH, Kuhn RJ, Rossmann MG. Structures of immature flavivirus particles. EMBO J 2003;

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

22(11): 2604-13.

[15] Masciopinto F, Freer G, Burgio VL, Levy S, Galli-Stampino L, Bendinelli M, Houghton M, Abrignani S, Uematsu Y. Expression of human CD81 in transgenic mice does not confer susceptibility to hepatitis C virus infection. Virology 2002; 304(2): 187-96.

[16] Whitehill BC. Genetic Variants In Interferon-Induced Genes and HCV Recurrence after Liver Transplantation. M.Sc. Thesis, Richmond, Virginia: Virginia Commonwealth University, 2007. Available from: https://scholarscompass.vcu.edu/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://www.google.com/&httpsredir=1&article=2209&context=etd

[17] Brass V, Moradpour D, Blum HE. Molecular virology of hepatitis C virus (HCV): 2006 update. Int J Med Sci 2006; 3(2): 29-34.

[18] Alavian SM, Adibi P, Zali MR. Hepatitis C virus in Iran: Epidemiology of an emerging infection. Arch Iranian Med 2005; 8(2): 84-90.

[19] Sy T, Jamal MM. Epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection. Int J Med Sci 2006; 3(2): 41-6.

[20] Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, Simmonds P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. Hepatology 2014; 59(1): 318-27.

[21] Yasui K, Okanoue T, Murakami Y, Itoh Y, Minami M, Sakamoto S, Sakamoto M, Nishioji K. Dynamics of hepatitis C viremia following interferon-alpha administration. J Infect Dis 1998; 177(6): 1475-9.

[22] Toyoda H, Kumada T, Nakano S, Takeda I, Sugiyama K, Osada T, Kiriyama S, Sone Y, Kinoshita M, Hadama T. Quasispecies nature of hepatitis C virus and response to alpha interferon: significance as a predictor of direct response to interferon. J Hepatol 1997; 26(1): 6-13.

[23] Franciscus A. A Guide to: Understanding Hepatitis C. HCSP Guides, 2017; p: 1-18. Available from: http://hcvadvocate.org/hepatitis/factsheets_pdf/HCV_Guide.pdf

[24] Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B, Beall E, Yap PL, Kolberg J, Urdea MS. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. J Gen Virol 1993; 74(Pt 11): 2391-9.

[25] Jamalidoust M, Namayandeh M, Asaei S, Aliabadi N, Ziyaeyan M. Determining hepatitis C virus genotype distribution among high-risk groups in Iran using real-time PCR. World J Gastroenterol 2014; 20(19): 5897-902.

[26] Jamalidoust M, Namayandeh M, Zare M, Ziyaeyan M. Assessment of HCV Infection in Suspected Orphans Newborns by Real-Time PCR and HCV-Core Ag-Elisa. Journal of Fasa University of Medical Sciences 2015; 5(2): 196-201.

[27] Khodabandehloo M, Roshani D. Prevalence of Hepatitis C Virus Genotypes in Iranian Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. Hepat Mon 2014; 14(12): e22915.

[28] Samimi-Rad K, Nategh R, Malekzadeh R, Norder H, Magnius L. Molecular epidemiology of hepatitis C virus in Iran as reflected by phylogenetic analysis of the NS5B region. J Med Virol 2004; 74(2): 246-52.

[29] Jahanbakhsh Sefidi F, Keyvani H, Monavari

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

SH, Alavian SM, Fakhim S, Bokharaei-Salim F. Distribution of hepatitis C virus genotypes in Iranian chronic infected patients. Hepat Mon 2013; 13(1): e7991.

[30] Ziyaeyan M, Alborzi A, Jamalidoust M, Badiee P, Moeini M, Kadivar A. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in chronic infected patients, southern Iran. Jundishapur J Microbiol 2011; 4(3): 141-6.

[31] Ziyaeyan M, Jamalidoust M, Moeini M. Evaluation of Hepatitis C Virus Infection in Antibody Positive Orphan Newborns. Jundishapur J Microbiol 2013; 6(1): 72-5.

[32] Jamalidoust M, Namayandeh M, Moghadami M, Ziyaeyan M. Comparison of HCV viral load and its genotype distributions in HCV mono- and HIV/HCV co-infected illicit drug users. Virol J 2017; 14(1): 127.

[33] Moini M, Ziyaeyan M, Aghaei S, Sagheb MM, Taghavi SA, Moeini M, Jamalidoust M, Hamidpour L. Hepatitis C virus (HCV) infection rate among seronegative hemodialysis patients screened by two methods; HCV core antigen and polymerase chain reaction. Hepat Mon 2013; 13(6): e9147.

[34] Harris KA, Gilham C, Mortimer PP, Teo CG. The most prevalent hepatitis C virus genotypes in England and Wales are 3a and 1a. J Med Virol 1999; 58(2): 127-31.

[35] Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. J Hepatol 2014; 61(1 Suppl): S45-57.

[36] Franciscus A. HCV Genotype, Quasispecies & Subtype. HCSP Fact Sheet, 2016; p: 1-3. Available from: http://hcvadvocate.org/hepatitis/factsheets_pdf/genotype.pdf

[37] Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. Hepatology 2009; 49(4): 1335-74.

[38] Kwon YC, Ray RB, Ray R. Hepatitis C virus infection: establishment of chronicity and liver disease progression. EXCLI J 2014; 13: 977-96.

[39] Horner SM. Activation and evasion of antiviral innate immunity by hepatitis C virus. J Mol Biol 2014; 426(6): 1198-209.

[40] Shrivastava S, Raychoudhuri A, Steele R, Ray R, Ray RB. Knockdown of autophagy enhances the innate immune response in hepatitis C virus-infected hepatocytes. Hepatology 2011; 53(2): 406-14.

[41] Kim H, Bose SK, Meyer K, Ray R. Hepatitis C virus impairs natural killer cell-mediated augmentation of complement synthesis. J Virol 2014; 88(5): 2564-71.

[42] Dhawan VK. Hepatitis C virus [Drugs & Diseases]. Medscape 2016. Available from: emedicine.medscape.com/article/177792-overview. Hepatitis C - Medscape eMedicine

[43] Yang N, Ekanem NR, Sakyi CA, Ray SD. Hepatocellular carcinoma and microRNA: new perspectives on therapeutics and diagnostics. Adv Drug Deliv Rev 2015; 81: 62-74.

[44] Li L, Xu J, Yang D, Tan X, Wang H. Computational approaches for microRNA studies: a review. Mamm Genome 2010; 21(1-2): 1-12.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]

[45] Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, Zeuzem S, Rodriguez-Torres M, Patel K, van der Meer AJ, Patick AK, Chen A, Zhou Y, Persson R, King BD, Kauppinen S, Levin AA, Hodges MR. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. N Engl J Med 2013; 368(18): 1685-94.

[46] Hennessy E, O'Driscoll L. Molecular medicine of microRNAs: structure, function and implications for diabetes. Expert Rev Mol Med 2008; 10: e24.

[47] Mishra PJ. MicroRNAs as promising biomarkers in cancer diagnostics. Biomarker Research 2014; 2: 19.

[48] Thibault PA, Huys A, Dhillon P, Wilson JA. MicroRNA-122-dependent and -independent replication of Hepatitis C Virus in Hep3B human hepatoma cells. Virology 2013; 436(1): 179-90.

[49] Szabo G, Bala S. MicroRNAs in liver disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2013; 10(9): 542-52.

[50] Cheng JC, Yeh YJ, Tseng CP, Hsu SD, Chang YL, Sakamoto N, Huang HD. Let-7b is a novel regulator of hepatitis C virus replication. Cell Mol Life Sci 2012; 69(15): 2621-33.

[51] Murakami Y, Aly HH, Tajima A, Inoue I, Shimotohno K. Regulation of the hepatitis C virus genome replication by miR-199a. J Hepatol 2009; 50(3): 453-60.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-12-02]