مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط پلی مورفیسمC>T159- ژن CD14 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکترپیلوری در جمعیت استان گیلان (شمال ایران)

طناز کمونه[1]، رسول زحمتکش رودسری[2*]

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۰۴/۰۹ تاریخ پذیرش ۱۴۰۳/۰۵/۰۴

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: بیماری زخم پپتیک باعث ایجاد زخم‌های باز در پوشش داخلی معده یا اثنی عشر می‌شود. امروزه عامل اصلی زخم‌های گوارشی را عفونت به هلیکوباکتر پیلوری می‌دانند.CD14 یک گیرنده شناسایی الگو در غشاء سلولی، جهت شناسایی محصولات باکتریایی بوده که در مراحل اولیه پاسخ‌های ایمنی و التهابی نقش کلیدی دارد. هدف از این تحقیق بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم C159T ژن CD14 در بیماران مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری است.

مواد و روش کار: در این مطالعه موردی شاهدی، ۱۳۷ فرد بیمار و ۱۲۳ فرد سالم موردبررسی قرار گرفتند. پس از استخراج DNA ژنومی از بیوپسی بافت معده، فراوانی ژنوتیپ‌ها در بیماران و گروه کنترل با استفاده از روش Tetra primer ARMS-PCR تعیین شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۲۶) صورت گرفت.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های CC,CT,TT در بیماران به ترتیب ۲۴/۸درصد، ۴۱/۶درصد و ۳۳/۵درصد و در افراد سالم به ترتیب ۹ /۸درصد، ۴۳/۱درصد و ۴۷/۳درصد بود. آنالیز آماری نشان داد که ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم C159T ژنCD14 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکترپیلوری وجود دارد (P= ۰/۰۰۰۳).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج آنالیز آماری نشان داد که حضور آلل T در موقعیت C>T159- ژن CD14 را می‌توان یک عامل خطر برای بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکترپیلوری مطرح نمود. اگرچه بررسی سایر پلی مورفیسم های ژن CD14 و مطالعه در جمعیت‌های بزرگ‌تر لازم است.

کلیدواژه‌ها: CD14، هلیکوباکترپیلوری، زخم پپتیک، پلی مورفیسم

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و پنجم، شماره چهارم، ص ۲۷۳-۲۶۵، تیر ۱۴۰۳

آدرس مکاتبه: تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست سلولی و مولکولی. تلفن: ۰۱۱۵۴۲۷۱۱۰۵

Email: zahmatkesh.rasoul@gmail.com

مقدمه

بیماری زخم پپتیک (PUD)، یکی از زخم‌های دردناک قسمت بالایی دستگاه گوارش بوده که در معده و دوازده ایجاد می‌شود. علت بروز زخم پپتیک ترشح بالای اسید معده و عدم سیستم دفاعی مخاط معده در برابر آسیب ناشی از اسید معده است. این بیماری یکی از شایع‌ترین بیماری‌های انسانی است و شیوع آن در طول عمر یک فرد ۵ تا ۱۰ درصد است (۱). میزان شیوع زخم پپتیک در مردان و زنان تقریباً باهم برابر بوده و شیوع آن در جمعیت‌های جهان رو به افزایش است. امروزه زخم پپتیک به‌عنوان یک مشکل جدی پزشکی مطرح است. شیوع بیماری زخم پپتیک در ایران ۶ تا ۱۵ درصد بیشتر از میزان جهانی است (۲). علت بروز زخم پپتیک به‌طور کامل شناخته شده نیست، ولی در بروز آن‌هم عوامل محیطی و هم عوامل ژنتیکی دخیل می‌باشند. عفونت هلیکوباکترپیلوری از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی در انسان بوده و بیش از ۵۰ درصد از جمعیت جهان را آلوده نموده است. یک عامل اصلی در ایجاد بیماری زخم پپتیک عفونت هلیکوباکترپیلوری است. مطالعات نشان داده‌اند که بیش از ۹۰درصد از افراد مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت به هلیکوباکترپیلوری هستند (۳، ۴). هلیکوباکترپیلوری یک باکتری میکروآئروفیل مارپیچی گرم منفی است که می‌تواند سلول‌های اپی تلیالی معده یا موسیون معده را آلوده نماید. در حال حاضر

[1] کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

[2] استادیار زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران (نویسنده مسئول)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.61186/umj.35.4.265]

هلیکوباکترپیلوری به‌عنوان عامل اصلی ایجادکننده گاستریت مزمن، زخم معده و سرطان معده مطرح است. عفونت طولانی‌مدت به هلیکوباکتر با آسیب سلولی و التهاب بافت معده همراه است (۴، ۵). عفونت به این باکتری باعث واکنش‌های التهابی مزمن در پوشش مخاطی معده شده و این واکنش‌های التهابی توسط چند محصول باکتریایی مانند VacA، CagA و OipA به وجود می‌آید. به‌طورکلی لیپوپلی ساکاریدهای (LPS) باکتری‌های گرم منفی عامل کلیدی القاء کننده التهاب هستند. این عوامل مختلف تولیدشده میکروارگانیسم‌ها توسط گیرنده‌های میزبان شناخته‌شده و باعث راه‌اندازی واکنش‌های ایمنی ذاتی می‌گردند (۶).

پروتئین CD14 یک گیرنده اختصاصی ایمنی ذاتی برای لیپوپلی ساکاریدها و سایر لیگاندهای باکتری‌های گرم منفی بوده که باعث هدایت پاسخ‌های ایمنی و فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی ایمنی ذاتی میزبان با آزادسازی سیتوکین‌های التهابی و ایجاد پاسخ‌های التهابی در سلول‌های اپی تلیالی معده می‌گردد (۷). ژن CD14 بر روی کروموزوم شماره ۵ و در جایگاه ژنی 5q23-31 قرار داشته و دارای ۲ اگزون است. محصول ژن CD14 یک پروتئین متصل به غشاء با وزن مولکولی ۵۵ کیلودالتون (ScCD14) و ۳۷۵ اسیدآمینه است. CD14 یک گلیکوپروتئین واقع‌شده در سطح سلولی است که به‌طور عمده توسط منوسیت‌ها، ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها تولیدشده و یک مولکول کلیدی در سیستم ایمنی ذاتی است (۸، ۹). مشخص‌شده که CD14 در پاسخ‌های اولیه ایمنی و التهابی نقش مهمی را دارا است. تغییرات ژنتیکی در ژن CD14 ممکن است بیان و ساختار پروتئین CD14 را تغییر داده و به دنبال آن عملکردCD14 را تحت تأثیر قرار دهد. اتصالCD14 به LPS باکتریایی منجر به فعال شدن سیتوکین‌های پیش التهابی مانند TNF-α گشته و به دنبال آن واکنش واسطه‌های التهابی تنظیم می‌گردد (۱۰). تا به امروز پنج پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در پروموتر ژن CD14 شناسایی شده که در بین آن‌ها، جایگاه C159T از اهمیت بیشتری برخوردار است. پلی مورفیسم جایگاه C159T ژن CD14 در ناحیه اتصال به فاکتور رونویسی Sp_1 قرار دارد. این جایگاه بر روی بیان ژنCD14 بسیار تأثیرگذار بوده و حضور الل T در این جایگاه باعث افزایش بیان CD14 بر روی منوسیت‌ها و افزایش پاسخ‌های التهابی در سلول‌های اپی تلیالی می‌گردد (۱۱). مولکول متصل به غشاءCD14 از طریق شناسایی LPS باعث انقال سیگنال درون‌سلولی و فعال‌سازی منوسیت‌ها و ماکروفاژها و راه‌اندازی مسیر ایمنی ذاتی در سلول‌های ایمنی می‌شود (۱۳). در بیماری زخم پپتیک LPS هلیکوباکترپیلوری می‌تواند به گیرنده CD14 متصل شده و باعث فعالیت CD14 و منوسیت‌ها گشته و به دنبال آن مقدار CD14 و منوسیت‌ها به میزان قابل‌توجهی افزایش می‌یابد. درنهایت با فعال شدن ژن‌های التهابی، سیتوکین‌های ضدالتهابی و رادیکال‌های آزاد تولید گشته و باعث آسیب بافت معده می‌گردند (۱۴). نشان داده شده که تغییرات در ایمنی ذاتی ممکن است بر پاسخ‌های ایمنی تأثیر گذاشته و درنتیجه به تنوع بیماری‌های عفونی کمک کند (۱۴، ۱۵). با در نظر گرفتن اهمیت بیماری زخم پپتیک به‌عنوان یک بیماری شایع گوارشی در ایران و همچنین نقش بسیار مهم فاکتور CD14 به‌عنوان یک عامل مهم در شناسایی هلیکوباکترپیلوری و تنظیم پاسخ‌های اولیه ایمنی ذاتی میزبان، پژوهش فوق به‌منظور بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم جایگاه C159T واقع در ناحیه پروموتری ژن CD14 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکترپیلوری در جمعیت استان گیلان از شمال ایران صورت گرفته است.

مواد و روش کار

در این مطالعه موردی- شاهدی، ۱۳۷ بیمار مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری و ۱۲۳ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل موردبررسی قرار گرفتند. تعداد نمونه‌ها بر اساس جدول استاندارد مورگان به دست آمد. تمامی نمونه‌های بیوپسی افراد بیمار و کنترل پس از تشخیص اولیه توسط پزشک فوق تخصص گوارش در حین آندوسکوپی جمع‌آوری شدند. پس از معاینه کامل افراد و انجام تست اوره آز، از هر فرد در حین آندوسکوپی، یک بیوپسی از بافت معده تهیه شد. از همه بیماران رضایت‌نامه آگاهانه شرکت در پژوهش با توجه به اعلامیه هلسینکی و کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی دریافت شد. معیار انتخاب بیماران، افراد مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری بود. افراد مبتلا به سایر بیماری‌های معده از مطالعه خارج شدند. گروه کنترل نیز افراد سالم بدون ابتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری و زخم پپتیک در خود و بستگان درجه یک بودند. تمامی افراد اعم از بیمار و کنترل بومی و ساکن گیلان بوده و افراد غیربومی و مسافر نیز از مطالعه حذف شدند. نمونه‌ها جهت استخراج DNA ژنومی به آزمایشگاه ژنتیک فرستاده شد و تا زمان استخراج نهایی در فریزر -۷۰^{0} C نگهداری شدند.

استخراج DNA ژنومی:

استخراج DNA ژنومی از بافت با استفاده از کیت Gpp solution (شرکت ژن پژوهان، ایران) بر اساس دستور کار آن انجام گردید. DNA ژنومی استخراج شده جهت بررسی مورد آنالیز کمی (اسپکتروفوتومتری) و کیفی (الکتروفورز آگارز) قرار گرفت.

انجام واکنش Tetra Primer ARMS-PCR:

جهت شناسایی پلی مورفیسم جایگاه C>T ۱۵۹- در بخش پروموتری ژنCD14 از روش Tetra Primer ARMS-PCR

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.61186/umj.35.4.265]

استفاده شد. برای ردیابی هلیکو باکترپیلوری از یک جفت پرایمر H_1,H_2 و پلی مورفیسم C159T مربوط به پروموتر ژن CD14 از چهار پرایمر اختصاصی (شرکت TAG Copenhagen دانمارک) استفاده شد (جدول ۱). اختصاصیت و صحت پرایمرها در سایت مرجع NCBI بلاست، کنترل گردید. هر ویال واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۳ میکرولیتر DNA ژنومی، ۱ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرها، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس 2X Red mastermix (آمپلیکون- ساخت کشور دانمارک) و ۵/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام شد. شرایط بهینه دمایی جهت انجام واکنش PCR در سه مرحله تنظیم گردید، شامل: واسرشت سازی اولیه در دمای 95^0c به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل با برنامه 94^0c (۳۰ ثانیه)، $58/5^0c$ (۴۵ ثانیه)، 72^0c (۶۰ ثانیه) و درنهایت مرحله گسترش نهایی در 72^0c به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر (مدل Bio rad آمریکا) انجام شد. محصولات تکثیر یافته برای تأیید درستی انجام واکنش بر روی ژل آگارز ۲درصد الکتروفورز گردید. آشکارسازی باندها بر روی دستگاه Gel documentation (شرکت Bio Rad آمریکا) انجام شد. جهت صحت ژنوتایپینگ، ۱۰درصد از نمونه‌های هموزیگوت مغلوب و هتروزیگوت به‌طور تصادفی انتخاب و دوباره تعیین ژنوتیپ شدند.

جدول (۱): توالی پرایمرهای مورداستفاده جهت PCR

نام آغازگر	توالی نوکلئوتیدی	دمای اتصال
H_1	5'- AGGATGCGTCAGTCGCAAGAT -3'	TM=61.3
H_2	5'- CCTGTGGATAACACAGGCCAGT -3'	TM=61.5
Inner for C allele	5'- CTCCAGAATCCTTCCTGTTACGAC-3'	TM=59.4
Inner for T allele	5'-TGTAGGATGTTTCAGGGAGGGGTA-3'	TM=61.7
Outer Forward	5'- TTGGTGCCAACAGATGAGGTTCAC-3'	TM=62.5
Outer Reverse	5'- TTCTTTCCTACACAGCGGCACCC-3′	TM=63.1

تحلیل آماری:

آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۲۶) انجام شد. فراوانی ژنوتیپی و آللی در دو گروه بیمار و کنترل مورد ارزیابی قرار گرفت. برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت ژنوتیپی و آللی در دو گروه بیمار و کنترل، آزمون Chi-square استفاده شد. در این آزمون، P<۰/۰۵ نشان‌دهنده سطح معنی‌دار بودن اختلاف نتایج ژنوتیپ‌ها در دو گروه مورد مطالعه می‌باشد. همچنین از Odds Ratio و 95% CI، جهت بررسی میزان تأثیر احتمالی پلی مورفیسم فوق در بروز بیماری مورد نظر استفاده شد.

یافته‌ها

در مطالعه فوق مجموعاً ۲۶۰ نفر مورد بررسی قرار گرفتند. در گروه بیمار ۶۳ نفر مرد و ۷۴ نفر زن و در گروه شاهد ۵۷ نفر مرد و ۶۶ نفر زن بودند. محدوده سنی گروه بیمار ۳۲ تا ۶۹ سال با میانگین سنی ۹/۴ ± ۵۳/۷ و محدوده سنی گروه کنترل ۲۳ تا ۷۲ سال با میانگین سنی ۱۱/۶ ± ۶۴/۵ بود. تفاوت معنی‌داری ازنظر سن و جنس در دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). پس از استخراج DNA ژنومی، برای تأیید حضور هلیکوباکترپیلوری از یک جفت پرایمر جهت تکثیر قطعه‌ای به طول ۳۰۵ جفت باز از ژن 23S rRNA در کنترل مثبت (جهت صحت آزمایش) استفاده شد.

همچنین برای ردیابی پلی مورفیسم ۱۵۹C>T- ژن CD14، قطعاتی به طول‌های ۵۶۱، ۳۸۴ و ۲۲۷ جفت باز از این ژن تکثیر شدند (تصویر ۱). پرایمرهای استفاده شده برای بررسی پلی مورفیسم جایگاه فوق به‌گونه‌ای بودند که قطعه ۵۶۱ جفت بازی مربوط به کنترل، قطعه ۳۸۴ جفت بازی مربوط به آلل C و قطعه ۲۲۷ جفت بازی مربوط به آلل T می‌باشد (تصویر ۱).

با توجه به نتایج به دست آمده، در افراد بیمار فراوانی ژنوتیپ‌های CC,CT,TT به ترتیب ۲۴/۸درصد، ۴۱/۶درصد و ۳۳/۵درصد و در افراد سالم به ترتیب ۲۹/۳درصد، ۵۳/۳درصد و ۱۷/۳درصد بود. با توجه به آزمون Chi-Square اختلاف آماری معنی‌داری در ژنوتیپ‌های CT,TT بین دو گروه مورد مطالعه مشاهده شد. افراد دارای ژنوتیپ TT، ۲/۷ برابر بیشتر در معرض ابتلا به زخم پپتیک می‌باشند ($\chi2$=۱۲/۷۵، P=۰/۰۰۰۳، ۹۲ /۴- CI =۱/۴۸، OR=۲/۷۰). ازنظر فراوانی آللی نیز فراوانی آلل موتانت T در بیماران ۴۵/۶درصد و در گروه کنترل ۳۰/۴درصد بود. با توجه به مقدار $\chi2$ اختلاف آماری معنی‌داری در فراوانی آللی در دو گروه مشاهده شد ($\chi2$=۱۲/۵۴ ، P=۰/۰۰۱، ۸۸ /۱-۱/۱۹= CI، OR=۱/۴۹). با توجه به نسبت شانس بدست آمده آلل T احتمال ابتلا به زخم پپتیک را ۱/۴۹ برابر افزایش می‌دهد. با در نظر گرفتن تفاوت معنی‌دار در فراوانی ژنوتیپ‌های CT,TT و فراوانی آللی T،

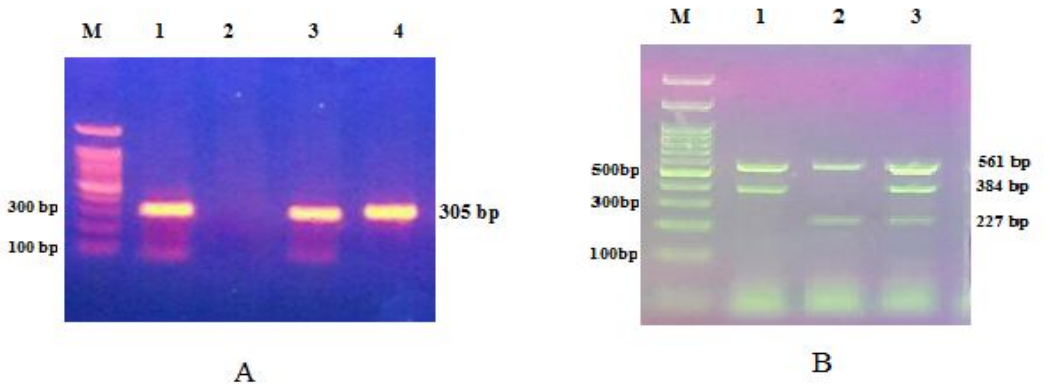
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.61186/umj.35.4.265]

می‌توان حضور آلل T را در جایگاه فوق به‌عنوان یک فاکتور خطر برای پیشرفت بیماری و عفونت به هلیکوباکترپیلوری مطرح نمود. همچنین ژنوتیپ CC و آلل C نقش مهمی به‌عنوان یک عامل محافظت کننده بر علیه بیماری و کاهش ریسک ابتلا به بیماری و عفونت به هلیکوباکترپیلوری دارد.

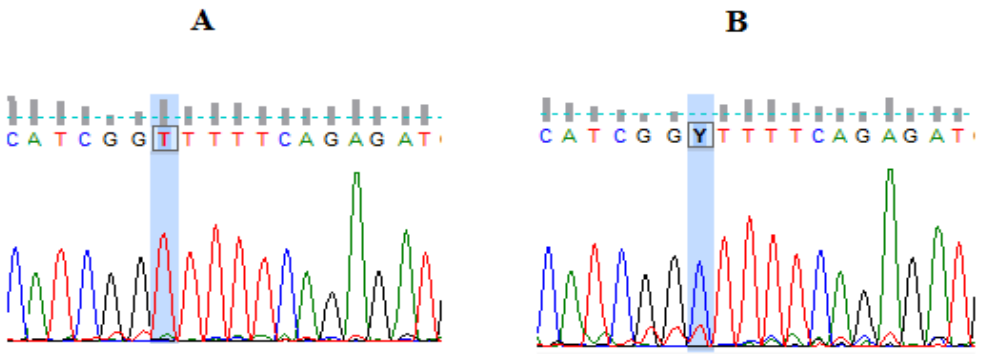
جدول (۲): فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم جایگاه 159C>T- ژن CD14

ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها	تعداد بیماران (درصد) =۱۳۷N	تعداد کنترل (درصد) =۱۲۳N	OR(95%CI)	P value
CC	۴۶(٪۳۳/۵)	۵۹(٪۴۷/۹)	Ref	-
CT	۵۷(٪۴۱/۶)	۵۳(٪۴۳/۱)	۱/۴۴(۱/۰۷-۱/۹۳)	۰/۰۱۳
TT	۳۴(٪۲۴/۸)	۱۱(٪۸/۹)	۲/۷۰(۱/۴۸-۴/۹۲)	۰/۰۰۰۳
CT+TT	۹۱(٪۶۶/۴)	۶۴(۵۲)	۱/۲۷(۱/۰۳-۱/۵۷)	۰/۰۱۸
C	۱۴۹(٪۵۴/۳)	۱۷۱(٪۶۹/۵)	Ref	-
T	۱۲۵(٪۴۵/۶)	۷۵(٪۳۰/۴)	۱/۴۹(۱/۱۹-۱/۸۸)	۰/۰۰۱



تصویر (۱): ژل آگارز ۲درصد مربوط به محصولات PCR برای ردیابی هلیکوباکترپیلوری (A) و پلی مورفیسم C159T ژن CD14 (B). تصویر A: قطعه‌ای به طول ۳۰۵ جفت باز، چاهک M مربوط به مارکر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های ۱، ۳ و ۴ نشان دنده حضور هلیکوباکترپیلوری و چاهک ۲ کنترل منفی (عدم حضور هلیکوباکترپیلوری) می‌باشد. تصویر B: چاهک M، مربوط به مارکر مولکولی ۱۰۰ جفت باز، چاهک ۱ مربوط به ژنوتیپ CC قطعاتی به طول‌های ۵۶۱ و ۳۸۴ جفت باز، چاهک ۲ مربوط به ژنوتیپ TT قطعاتی به طول‌های ۵۶۱ و ۲۲۷ جفت باز و چاهک ۳ مربوط به ژنوتیپ CT قطعاتی به طول‌های ۲۲۷، ۳۸۴ و ۵۶۱ جفت باز.

جهت تأیید نهایی، تعدادی از نمونه‌های هموزیگوت مغلوب و هتروزیگوت به‌طور تصادفی توالی یابی شدند (پس از انجام واکنش پلی مرازی). توالی افراد با ژنوتیپ‌های CT و TT در تصویر ۲ مشاهده می‌گردد (تصویر ۲).



تصویر (۲): تعیین توالی پلی مورفیسم جایگاه C159T ژن CD14. بخش A فردی به ژنویپ TT و بخش B فردی با ژنوتیپ CT

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.61186/umj.35.4.265]

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از انجام این تحقیق بررسی ارتباط پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه C159T واقع در بخش پروموتری ژنCD14 در بیماران مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری بود. در این مطالعه ۱۳۷ بیمار مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت هلیکوباکترپیلوری و ۱۲۳ فرد سالم ازنظر فراوانی ژنوتیپی و آللی در جایگاه C159T ژن CD14 مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج آماری، ارتباط معنی‌داری هم ازنظر فراوانی ژنوتیپی (ژنوتیپ TT) و هم ازنظر فراوانی آللی (آلل T) با زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکترپیلوری مشاهده شد. با توجه به نتایج بدست آمده، می‌توان حضور آلل T در جایگاه C159T ژن CD14 را به‌عنوان یک عامل خطر برای ابتلا به بیماری زخم پپتیک و به عفونت هلیکوباکترپیلوری و ژنوتیپ CC را به‌عنوان یک فاکتور محافظتی و کاهنده ریسک ابتلا مطرح نمود. زخم پپتیک به معنی نوعی آسیب مخاطی و زیرمخاط دستگاه گوارش بوده که به علت عدم تعادل بین عوامل مهاجم و تدافعی بدن بصورت زخم معده یا زخم دوازدهه در دستگاه گوارش ایجاد می‌گردد. یک عامل اصلی بروز زخم پپتیک، وجود و تکثیر هلیکوباکتر پیلوری یا عفونت مزمن هلیکوباکترپیلوری می‌باشد (۱۵). عوامل ایمونوژنتیکی نقش بسیار مهمی در شدت و پیشرفت التهاب به‌واسطه عفونت هلیکوباکترپیلوری ایفا می‌نمایند. مطالعات نشان داده که تغییرات ایمنی ذاتی ممکن است بر روی تنوع پاسخ‌های ایمنی نسبت به عوامل عفونت زا تأثیر گذار باشد (۱۶).CD14 به‌عنوان یک مولکول شناسایی الگو در پاسخ ایمنی ذاتی، گیرنده اصلی شناسایی LPS تولید شده توسط باکتری‌های گرم منفی مانندH.pylori است. مولکول CD14 متصل به غشاء با شناسایی LPS عوامل عفونی، باعث انتقال سیگنال به لیپوپروتئین‌های پلاسمای سلول و پاسخ‌های التهابی سایتوکین های سلولی و در نهایت تنظیم پاسخ‌های ایمنی هومورال و تنظیم مسیر آپوپتوز در سلول‌های اپی تلیال و اندو تلیال می‌گردد (۱۷). پلی مورفیسم جایگاه C159T واقع در ناحیه پروموتری ژن CD14 بر روی بیان ژن CD14 به‌خصوص سطح تولید پروتئین CD14 بسیار مؤثر می‌باشد (۱۸).

Zhao و همکاران با مطالعه بر روی ۴۷۰ بیمار مبتلا به سرطان معده دارای عفونت هلیکوباکترپیلوری، گزارش دادند که پلی مورفیسم های عملکردی ناحیه پروموتری ژنCD14 با افزایش خطر برای بیماری سرطان معده و عفونت هلیکوباکترپیلوری مطرح می یاشند (۱۹). Gong و همکاران در یک مطالعه متاآنالیز و موردی شاهدی مستقل ارتباط پلی مورفیسم 159C/T- ژن CD14 با بیماری سرطان معده را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها با مطالعه بر روی بیماران مبتلا به سرطان معده هیچ ارتباط معناداری بین تغییر تک نوکلئوتیدی جایگاه ۱۵۹- و سرطان معده مشاهده نکردند. اما مطالعه متاآنالیز آن‌ها ارتباط معنی‌داری بین مدل مغلوب (ژنوتیپ TT) این پلی مورفیسم با سرطان معده نشان داد. آن‌ها گزارش دادند که ژنوتیپ TT در جایگاه 159C/T- ژن CD14 می‌تواند یک فاکتور خطر ژنتیکی برای سرطان معده باشد (۲۰). در یک مطالعه مروری دیگر Wang و همکاران، نقش پلی مورفیسم 159C/T- ژن CD14 در استعداد ابتلا به انواع سرطان‌های انسانی را مورد بررسی قرار دادند. نتیجه مطالعه متاآنالیز آن‌ها نشان داد که پلی مورفیسم جایگاه C159T ژن CD14 با لوسمی لنفوبلاستیک حاد و سرطان پروستات مرتبط بوده، اما هیچ ارتباط معناداری بین این پلی مورفیسم و سایر سرطان‌ها وجود ندارد (۲۱). Triantafyllou و همکاران، ارتباط پلی مورفیسم جایگاه C159T ژنCD14 و سوء هاضمه را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها با مطالعه بر روی بیماران مبتلا به سوء هاضمه همراه با عفونت هلیکوباکتر پیلوری نشان دادند که پلی مورفیسم جایگاه C159T ژن CD14 ارتباط معناداری سوء هاضمه داشته و آلل T را به‌عنوان یک فاکتور خطر برای بیماری مذکور معرفی نمودند (۲۲). نتیجه مطالعات نشان داده، افرادی که دارای عفونت هلیکوباکترپیلوری هستند و در جایگاه ۱۵۹- ناحیه پروموتری ژن CD14 آلل T دارند، التهاب مخاط معده آن‌ها به‌طور چشمگیری افزایش می بابد (۲۳).

ارتباط پلی مورفیسم 159C/T- ژن CD14 با سایر بیماری‌ها در ایران و دیگر جمعیت‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. زارع و همکاران در جمعیت مشهد، ارتباط پلی مورفیسم C159T ناحیه پروموتری ژن CD14 را با مقدار سطح سرمی پروتئین CD14 در بیماری رینیت آلرژیک را مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با بیماری رینیت آلرژیک ارتباط داشته و آلل T را به‌عنوان یک فاکتور خطر برای بیماری معرفی نمودند. آن‌ها اعلام کردند که مقدار CD14 در سرم ممکن است یک نشانگر بالقوه برای تشخیص رینیت آلرژیک بوده و در سطح ژنتیکی نیز به‌عنوان یک عامل پیش‌بینی کننده برای شناسایی بیماری مطرح باشد (۱۸). ارتباط بین پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با بیماری بروسلوز حاد توسط اسکندری و همکاران مورد مطالعه قرار گرفت. آن‌ها نشان دادند که پلی مورفیسم جایگاه C159T ژن CD14 ارتباط معناداری با بروسلوز حاد در جمعیت ایران داشته و افراد دارای ژنوتیپ TT دارای استعداد بیشتری برای ابتلا به بروسلوز حاد می‌باشند. آن‌ها حضور آلل T را به‌عنوان یک فاکتور خطر برای ابتلا به بیماری معرفی نمودند (۲۴). در مطالعه دیگری شاهرخ آبادی و همکاران، به بررسی ارتباط پلی

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.61186/umj.35.4.265]

مورفیسم C159T ژن CD14 با عفونت کرونا ویروس در جمعیت مشهد پرداختند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که فراوانی ژنوتیپ CT به‌طور معناداری بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بوده و پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با بروز بیماری ارتباط مؤثر داشته و ژنوتیپ TT رابطه معنی‌داری با عفونت کرونا ویروس دارد. همچنین آن‌ها عنوان کردند آلل T یک فاکتور خطر احتمالی برای بیماری می‌باشد (۲۵). در یک مطالعه، Roy و همکاران نشان دادند که ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با بیماری اختلال کبدی (کبد چرب الکلی) وجود دارد. آن‌ها عنوان کردند که بیان بالای CD14 با پاسخ‌های التهابی مرتبط بوده و حساسیت به مصرف الکل در افراد دارای ژنوتیپ TT بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها است.. آن‌ها گزارش دادند که این افراد بیشتر در معرض اختلال کبدی قرار داشته و حضور آلل T در این جایگاه باعث بالا رفتن سطوح سیتوکین‌های پیش التهابی و کاهش سطح سیتوکین‌های ضد التهابی در بیماران کبد چرب الکلی می‌گردد (۲۶). Zhang و همکاران در یک مطالعه متا آنالیز ارتباط پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با خطر سکته مغزی ایسکمیک را مورد بررسی قرار دادند. نتیجه مطالعه آن‌ها نشان داد ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با خطر سکته مغزی ایسکمیک وجود ندارد (۲۷).

در یک مطالعه متاآنالیز دیگر، ارتباط بین پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با بیماری سپسیس در یک جمعیت آسیایی توسط Ren همکاران مورد بررسی قرار گرفت. آن‌ها گزارش دادند که بین پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با بیماری سپسیس ارتباط معناداری وجود دارد. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که ژنوتیپ TT باعث افزایش سپسیس در جمعیت آسیایی می‌شود (۲۸). در پژوهش دیگری andap و همکاران ارتباط بین پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با بیماری لوپوس را مطالعه نمودند. آن‌ها نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین بیماری لوپوس و پلی مورفیسم C159T ژن CD14 وجود دارد. همچنین عنوان کردند که آلل T با استعداد ابتلا به لوپوس ارتباط داشته و افراد دارای ژنوتیپ TT نسبت به سایر افراد مستعدتر می‌باشند (۲۹).

نتایج متفاوت در مطالعات مختلف احتمالاً نشان‌دهنده تأثیر متفاوت فاکتورهای ژنتیکی و محیط با بیماری می‌باشد. در این مطالعه یک جهش عملکردی در ناحیه پروموتری ژن CD14 مورد بررسی قرار گرفت و سایر پلی مورفیسم های عملکردی ژن CD14 و همچنین تأثیر فاکتورهای محیطی بر روی بیماری مورد مطالعه قرار نگرفته است. با در نظر گرفتن محدودیت‌های مطالعه ما ازجمله کوچک بودن جمعیت و همچنین با توجه به چند عاملی بودن بیماری زخم پپتیک و پاتوژنز پیچیده آن، نیاز به مطالعه بر روی سایر پلی مورفیسم ها در ژنهای مختلف در جمعیت‌های بزرگ‌تر در مناطق متفاوت ایران می‌باشد.

نتایج مطالعه ما نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ TT در پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با بیماری زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری در استان گیلان از جمعیت شمال ایران وجود دارد. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان آلل T را به‌عنوان یک فاکتور خطر احتمالی برای افزایش ریسک ابتلا به بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکترپیلوری در جمعیت مطالعه شده مطرح نمود. شناسایی سایر پلی مورفیسم های عملکردی در ژن CD14 و سایر ژنهای دخیل در مسیر ایمنی و تأثیر متقابل آن‌ها بر یکدیگر می‌تواند درک ما را نسبت به مسیرهای ژنتیکی و مولکولی بیماری بیشتر نماید.

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد خانم طناز کمونه است. از بخش تحصیلات تکمیلی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن و پرسنل آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک مولکولی کمال تشکر را داریم. از تمام پزشکان و پرسنل مراکز آندوسکوپی و در نهایت از کلیه افراد بیمار و سالم شرکت کننده در این پژوهش سپاس گزاری می نمائیم.

حمایت مالی تحقیق:

این مطالعه حامی مالی نداشت.

تضاد منافع:

نویسندگان اعلام می‌دارند که در این مطالعه تضاد منافع وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی:

این مطالعه پس از تأیید کمیته اخلاق در پزشکی پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن با شناسه IR.IAU.TON.REC.1398.008 انجام شد.

References:

1. Jiajia R, Xuting J, Jiamei L, Ruohan L, Ya G, Jingjing Z, et al. The global burden of peptic ulcer disease in 204 countries and territories from 1990 to 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. Int J Epidemiol 2022; 51(5): 1666-76. https: //doi.org/10.1093/ije/dyac033
2. Sayehmiri K, Abangah GH, Kalvandi GH, Tavan H, Aazami S. Prevalence of peptic ulcer in Iran: Systematic review and meta-analysis method. J R

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.61186/umj.35.4.265]

Med Sci 2018;23: 8. https: // doi.org/10.4103/jrms.JRMS_1035_16

3. Kavitt RT, Lipowska AM, Yeboa AA, Gralnek. IM. Diagnosis and Treatment of Peptic Ulcer Disease. Am J Med 2019;132(4): 447-56. https: //doi.org/10.1016/j.amjmed.2018.12.009
4. Milani M, Somi MH, Akbarzadeh A. Prevalence of Hlicobacter pylori BABA2, BABB and OIPA genotypes in dyspeptic patients. Studies in Medical Sciences. 2018;29(4): 255-63. URL: http: //umj.umsu.ac.ir/article-1-3993-fa.html
5. Abbasi F, Sefidgar F. Frequency of Gastric Lesions in Endoscopic Samples in Urmia Imam Khomeini Hospital. Stud Med Sci 2018;29(8): 557-63. URL: http: //umj.umsu.ac.ir/article-1-3316-fa.html
6. Abidkanjo F, Soleimani N, Hosseini S M, Zanotti G. Immunological effects of FLGE2 recombinant in Hlicobacter pylori on TNF-A cytokine oroduction in macrophage cells in vitro. Stud Med Sci 2022;33(1): 45-53. https: //doi.org/10.52547/umj.33.1.45
7. Ciesielska A, Matyjek M, Kwiatkowska K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. Cell Mol Life Sci 2021;78(4): 1233-61. https: //doi.org/10.1007/s00018-020-03656-y
8. Singh HB, Borbora D. In silico evaluation of the human CD14 gene revealed high-risk single nucleotide polymorphisms and their impact on the innate immune response against microbial pathogens. Peer J 2019;7: e7325. https: //doi.org/10.1016/j.mgene.2018.05.010
9. Jia X, Wang B, Yao Q, Li Q, Zhang J. Variations in the CD14 gene are associated with autoimmune thyroid diseases in the Chinese population. Front Endocrinol 2019;9(811): 1-11. https: //doi.org/10.3389/fendo.2018.00811.
10. Sharygin D, Koniaris LG, Wells C, Zimmers TA, Hamidi T. Role of CD14 in human disease. Immunology 2023;169(3): 260-70. https: //doi.org/10.1111/imm.13634
11. Wang J, Guo X, Yu S, Song J, Zhang J, Cao Z, et al. Association between CD14 Gene Polymorphisms and Cancer Risk: A Meta-Analysis. Plos One 2014;9(6): e100122. https: //doi.org/10.1371/journal.pone.0100122
13. Michalkiewicz J, Basa AH, Grzywa R, Czerwionka M, Poplawska A, Mierzwa G, et al. Innate Immunity Components and Cytokines in Gastric Mucosa in Children with Helicobacter pylori Infection. Mediators Inflamm 2015;e176726. https: //doi.org/10.1155/2015/176726
14. Frauenlob T, Neuper T, Mehinagic M, Dang H, Boraschi D, Hoeck J. Helicobacter pylori Infection of Primary Human Monocytes Boosts Subsequent Immune Responses to LPS. Fron Immunol 2022;13: e847958 https: //doi.org/10.3389/fimmu.2022.847958
15. Périco LL, Tavares M, Silva E, Ohara R, Rodrigues VP, Bueno G, et al. Systematic Analysis of Monoterpenes: Advances and Challenges in the Treatment of Peptic Ulcer Diseases. Biomolecules 2020;10: 265. https: //doi.org/10.3390/biom10020265
16. Sijmons D, Guy AJ, Walduck AK, Ramsland PA. Helicobacter pylori and the Role of Lipopolysaccharide Variation in Innate Immune Evasion. Front Immunol 2022;13: 868225. https: //doi.org/10.3389/fimmu.2022.868225
17. Na K, Oh BC, Jung Y. Multifaceted role of CD14 in innate immunity and tissue homeostasis. Cytokine Growth Factor Rev 2023;74: 100-7. https: //doi.org/10.1016/j.cytogfr.2023.08.008
18. Zare Marzouni H, Farid-Hosseini R, Jabari-Azad F, Tavakkol-Afshari J, Tehranian F, et al. CD14 as A Serum Immune Biomarker and Genetic Predisposition Factor for Allergic Rhinitis. Iran J Otorhinolaryngol 2019;.31(1): 1-9. https: //doi.org/10.22038/IJORL.2018.28736.1939
19. Zhao D, Sun T, Zhang X, Guo Y, Yu D, Yang M, et al. The role of CD14 promoter polymorphisms in gastric

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.61186/umj.35.4.265]

cancer associated with Helicobacter pylori infection. Clin Cancer Res 2007;13(8): 2362-8. https: //doi.org/10.1158/1078-0432

20. Gong A, Li XY, Xie YQ, Jia ZD, Li YX, Zou YY, et al. Association between CD14 SNP -159 C/T and gastric cancer: an independent case–control study and an updated meta-analysis. Onco Targets Ther 2016;9(11): 4337–42. https: //doi.org/10.2147/OTT.S95807

21. Wang C, Shao J, Zhang R, Sheng X, Dong L, Fang Q, et al. Review Article: The role of CD14 159C/T polymorphism in susceptibility of cancers. Int J Clin Exp Med 2019;12(6): 6551-60. https: //doi.org/5901/IJCEM0077365

22. Triantafyllou K, Kourikou A, Gazouli M, Karamanolis GP, DimitriadisGD. Functional dyspepsia susceptibility is related to CD14,GNB3,MIF, and TRPV1 gene polymorphisms in the Greek population. Neurogastroenterol Motil 2017;29(1): e12913. https: //doi.org/10.1111/nmo.12913

23. Kim EJ, Chung WC, Lee KM, Paik CN, Kim SB, Oh YS, et al. Helicobacter pylori Infection Enhances Gastric Mucosal Inflammation in Individuals Carrying the 260-T Allele of the CD14 Gene. Gut Liver 2013;7(3): 317-22. https: //doi.org/10.5009/gnl.2013.7.3.317

24. Moghadampour M, Eskandari Nesab E, Shabani F. Association between CD14-159C/T gene polymorphism and risk of acute brucellosis. Asian Pac J Trop Med 2016; 9(3): 247-51. https: //doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.01.036

25. Akmali A, Shahrokhabadi K, Dehghani H. Investigating the Relationship between C-159T Polymorphism in CD14 Gene Promoter and Disease Severity in 2019 Corona Virus Patients. J North Khorasan Univ Med Sci 2022;14(4): 23-9. (Persian). https: //doi.org/10.32592/nkums.14.4.23

26. Roy N, Nadda N, Kumar H, Prasad C, Kumar Jha J, Pandey HC, et al. Pattern recognition receptor CD14 gene polymorphisms in alcohol use disorder patients and its Influence on liver disease susceptibility.Front immunol 2022;13: 975027. https: //doi.org/ 10.3389/fimmu.2022.975027

27. Xu M, Wang L, Sun L, Li Z, Zhang H. 159C/T polymorphism of CD14 gene and risk of ischemic stroke: a meta-analysis. Int Med Res 2020; 48(3): 300060519886241. https: //doi.org/ 10.1177/0300060519886241

28. Wu Q, Xu X, Ren J, Liu S, Liao X, Wu X, et al. Association between the -159C/T polymorphism in the promoter region of the CD14 gene and sepsis: a meta-analysis. BMC Anesthesiol 2017;17(11): 1-11. https: //doi.org/10.2147/NDT.S185313

29. Panda AK, Tripathy R, Das BK. CD14 (C-159T) polymorphism is associated with increased susceptibility to SLE and soluble CD14 plasma levels are a novel biomarker of disease activity: a hospital-based case-control study. Lupus 2021;30(2): 219-27. https: //doi.org/10.1177/0961203320972799

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.61186/umj.35.4.265]

Original Article

EVALUATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN −159 C>T CD14 POLYMORPHISM WITH PEPTIC ULCER DISEASE AND HELICOBACTER PYLORI INFECTION IN GUILAN PROVINCE POPULATION, NORTHERN IRAN

Tannaz Kamooneh[1], Rasoul Zahmatzadeh Roudsari[2]*

Received: 29 June, 2024; Accepted: 25 July, 2024

Abstract

Background & Aims: Peptic ulcer disease causes open sores in the lining of the stomach or duodenum. Helicobacter pylori infection is the main cause of gastrointestinal ulcers. CD14 is a pattern recognition receptor in the cell membrane that identifies bacterial products and plays a key role in the early stages of immune and inflammatory responses. The aim of this study was to investigate the association between the C159T polymorphism of the CD14 gene in patients with peptic ulcer and Helicobacter pylori infection.

Materials & Methods: In this case-control study, 137 patients with peptic ulcers and 123 healthy individuals were evaluated. Genomic DNA was extracted from gastric biopsies, and genotypic frequency in patients and the control group was determined using the Tetra primer ARMS-PCR method. Data analysis was performed using SPSS v.26 software.

Results: The frequency of CC, CT, and TT genotypes in patients was 24.8%, 41.6%, and 33.5%, respectively, while in healthy individuals, it was 8.9%, 43.1%, and 47.3%, respectively. Statistical analysis revealed a significant relationship between the C159T polymorphism of the CD14 gene and peptic ulcer disease and Helicobacter pylori infection (P = 0.0003).

Conclusion: The results of the statistical analysis showed that the presence of the T allele at the C159T position of the CD14 gene is considered a risk factor for peptic ulcer disease and Helicobacter pylori infection. However, further studies on other CD14 gene polymorphisms and larger populations are needed.

Keywords: CD14, Helicobacter Pylori, Peptic Ulcer, Polymorphism

Address: Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
Tel: +981154271105
Email: zahmatkesh.rasoul@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2024: 35(4): 273 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

[1] *MSc Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran*
[2] *Asistant Professor, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences,Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran (Corresponding Author)*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-11-09]

[DOI: 10.61186/umj.35.4.265]