

بررسی ارتباط پلی مورفیسم $159C>T$ ژن CD14 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریلوری در جمعیت استان گیلان (شمال ایران)

طناز کمونه^۱، رسول زحمتکش رودسری^{۲*}

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 انتهایی نقش کلیدی دارد. هدف از این تحقیق بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم C159T ژن CD14 در بیماران مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکتریلوری است.

مواد و روش کار: در این مطالعه موردی شاهدی، ۱۳۷ فرد بیمار و ۱۲۳ فرد سالم مورد بررسی 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 ۲۴/۸ درصد، ۴۱/۶ درصد و ۳۳/۵ درصد و در افراد سالم به ترتیب ۹ درصد، ۴۳/۱ درصد و ۴۷/۳ درصد بود. آنالیز آماری نشان داد که ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم C159T ژن CD14 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریلوری وجود دارد ($P=0/003$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج آنالیز آماری نشان داد که حضور آلل T در موقعیت $159C>T$ ژن CD14 را می‌توان یک عامل خطر برای بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریلوری مطرح نمود. اگرچه بررسی سایر پلی مورفیسم‌های ژن CD14 و مطالعه در جمعیت‌های بزرگ‌تر لازم است.

کلیدواژه‌ها: CD14، هلیکوباکتریلوری، 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

بیشتر از میزان جهانی است (۲). علت بروز زخم پپتیک به‌طور کامل شناخته شده نیست، ولی در بروز آن هم عوامل محیطی و هم عوامل ژنتیکی دخیل می‌باشند. عفونت هلیکوباکتریلوری 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 هلیکوباکتریلوری است. مطالعات نشان داده‌اند که بیش از ۹۰ درصد از افراد مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت به هلیکوباکتریلوری هستند (۳، ۴). هلیکوباکتریلوری یک باکتری میکروآتروفیل ماریچی گرم منفی است که می‌تواند سلول‌های اپی تلیالی معده یا موسیون معده را آلوده نماید. در حال حاضر

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

^۱ کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
^۲ استادیار زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران (نویسنده مسئول)

هلیکوباکتریپیلوری به عنوان عامل اصلی ایجادکننده گاستریت مزمن، زخم معده و سرطان معده مطرح است. عفونت طولانی مدت 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. به‌طور کلی 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 31-5q23 قرار داشته و دارای ۲ اگزون است. محصول ژن CD14 یک پروتئین متصل به غشاء با وزن مولکولی ۵۵ کیلودالتون (ScCD14) و ۳۷۵ اسیدآمیننه 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). مشخص شده 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 عملکرد CD14 را تحت تأثیر قرار دهد. اتصال CD14 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 پروموتور 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 Sp1 قرار دارد. این جایگاه بر روی بیان ژن CD14 بسیار تأثیرگذار بوده و حضور ال T در این جایگاه باعث افزایش بیان CD14 بر روی منوسیت‌ها و افزایش پاسخ‌های التهابی در سلول‌های اپی تلیالی می‌گردد (۱۱). مولکول متصل به غشاء CD14 از طریق شناسایی LPS باعث انتقال سیگنال درون سلولی و فعال‌سازی منوسیت‌ها و ماکروفاژها و راه‌اندازی مسیر ایمنی ذاتی در سلول‌های ایمنی می‌شود (۱۳). در بیماری زخم پپتیک LPS هلیکوباکتریپیلوری می‌تواند به گیرنده CD14 متصل شده و باعث فعالیت CD14 و منوسیت‌ها گشته و به دنبال آن مقدار CD14 و منوسیت‌ها به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد. در نهایت

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 در نتیجه 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 هلیکوباکتریپیلوری و تنظیم پاسخ‌های اولیه ایمنی ذاتی میزبان، پژوهش فوق به‌منظور بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم جایگاه C159T واقع در ناحیه پروموتوری ژن CD14 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریپیلوری 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 هلیکوباکتریپیلوری و ۱۲۳ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل مورد بررسی 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 آزه، 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 هلیکوباکتریپیلوری بود. افراد مبتلا به سایر بیماری‌های معده از مطالعه خارج شدند. گروه کنترل نیز افراد سالم بدون ابتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری 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 70°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-159 در بخش پروموتوری ژن CD14 از روش Tetra Primer ARMS-PCR

سازی اولیه در دمای 95°C به مدت ۵ دقیقه، 35°C سیکل با برنامه 94°C (۳۰ ثانیه)، $58/5^{\circ}\text{C}$ (۴۵ ثانیه)، 72°C (۶۰ ثانیه) و در نهایت مرحله گسترش نهایی در 72°C 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 ۲ درصد الکتروفورز گردید. آشکارسازی باندها بر روی دستگاه Gel documentation (شرکت Bio Rad آمریکا) انجام شد. جهت صحت ژنوتایپینگ، ۱۰ درصد از نمونه‌های هموزیگوت مغلوب و هتروزیگوت به طور تصادفی انتخاب و دوباره تعیین ژنوتایپ شدند.

استفاده شد. برای ردیابی هلیکو باکتریلوری از یک جفت پرایمر H_1, H_2 و پلی مورفیسیم C159T مربوط به پروموتور 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 هر کدام از پرایمرها، $12/5$ میکرولیتر مسترمیکس 2X Red mastermix (آمپلیکون - ساخت کشور دانمارک) و $5/5$ میکرولیتر آب مقطر استریل انجام شد. شرایط بهینه دمایی جهت انجام واکنش PCR در سه مرحله تنظیم گردید، شامل: واسرشت

جدول (۱): توالی پرایمرهای مورد استفاده 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'- CTCCAGAATCCTTCTCTGTTACGAC-3'	TM=59.4
Inner for T allele	5'-TGTAGGATGTTTCAGGGAGGGGTA-3'	TM=61.7
Outer Forward	5'- TTGGTGCCAACAGATGAGGTTAC-3'	TM=62.5
Outer Reverse	5'- TTCTTTCTACACAGCGGCACCC-3'	TM=63.1

همچنین برای ردیابی پلی مورفیسیم $159\text{C}>\text{T}$ - ژن CD14، قطعاتی به طول‌های ۵۶۱، ۳۸۴ و ۲۲۷ جفت باز از این ژن تکثیر شدند (تصویر ۱). پرایمرهای استفاده شده برای بررسی پلی مورفیسیم 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 ۲۴/۸ درصد، ۴۱/۶ درصد و ۳۳/۵ درصد و در افراد سالم به ترتیب ۲۹/۳ درصد، ۵۳/۳ درصد و ۱۷/۳ درصد 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 ($\chi^2=12/75$ ، $P=0/003$ ، $OR=4/92$ ، $CI=1/48$). از نظر فراوانی آللی نیز فراوانی آلل موتانت T در بیماران ۴۵/۶ درصد و در گروه کنترل ۳۰/۴ درصد بود. با توجه به مقدار χ^2 اختلاف آماری معنی‌داری در فراوانی آللی در دو گروه مشاهده شد ($\chi^2=12/54$ ، $P=0/001$ ، $OR=1/49$ ، $CI=1/19-1/88$). 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،

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، $P < 0/05$ و نشان‌دهنده سطح معنی‌دار بودن اختلاف نتایج ژنوتیپ‌ها در دو گروه مورد مطالعه می‌باشد. همچنین از Odds Ratio و CI 95% جهت بررسی میزان تأثیر احتمالی پلی مورفیسیم فوق در بروز بیماری مورد نظر استفاده شد.

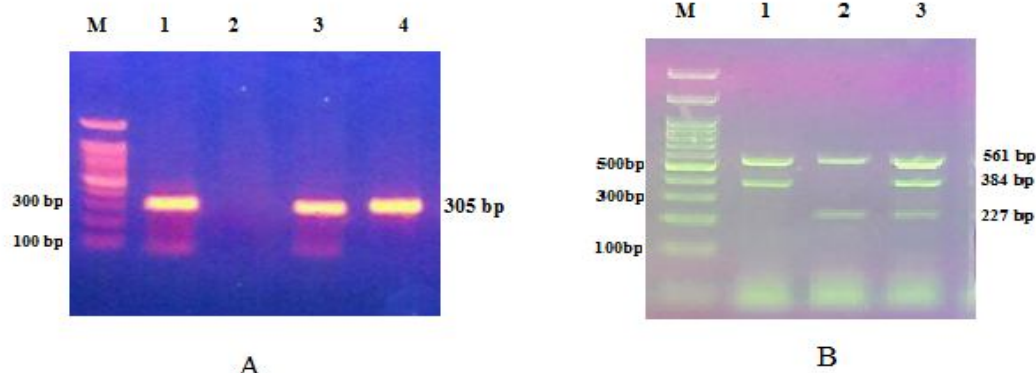
یافته‌ها

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 $52/7 \pm 9/4$ و محدوده سنی گروه کنترل ۲۳ تا ۷۲ سال با میانگین سنی $64/5 \pm 11/6$ بود. تفاوت معنی‌داری از نظر سن و جنس در دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد ($P > 0/05$). پس از استخراج DNA ژنومی، برای تأیید حضور هلیکوباکتریلوری از یک جفت پرایمر جهت تکثیر قطعه‌ای به طول ۳۰۵ جفت باز از ژن 23S rRNA در کنترل مثبت (جهت صحت آزمایش) استفاده شد.

می‌توان حضور آلل T را در جایگاه فوق به‌عنوان یک فاکتور خطر برای پیشرفت بیماری و عفونت به هلیکوباکتریپیلوری 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 هلیکوباکتریپیلوری دارد.

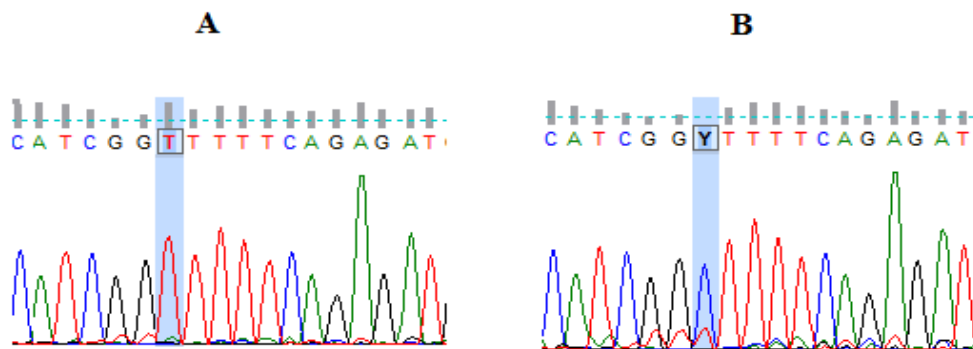
جدول (۲): فراوانی ژنوتیپی و آلی پلی مورفیسم جایگاه $C>T159$ ژن CD14

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



تصویر (۱): ژل آگارز ۲ درصد مربوط به محصولات PCR برای ردیابی هلیکوباکتریپیلوری (A) و پلی مورفیسم C159T ژن CD14 (B).
تصویر A: قطعه‌های به طول ۳۰۵ جفت باز، چاهک M مربوط به مارکر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های ۱، ۳ و ۴ نشان دهنده حضور هلیکوباکتریپیلوری و چاهک ۲ کنترل منفی (عدم حضور هلیکوباکتریپیلوری) 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 با ژنوتیپ TT و بخش B فردی با ژنوتیپ CT

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از انجام این تحقیق بررسی ارتباط پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی جایگاه C159T واقع در بخش پروموتری ژن CD14 در بیماران مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکتریپیلوری بود. در این مطالعه ۱۳۷ بیمار مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت هلیکوباکتریپیلوری و ۱۲۳ فرد سالم از نظر فراوانی ژنوتیپی و آللی در جایگاه C159T ژن CD14 مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج آماری، ارتباط معنی‌داری هم از نظر فراوانی ژنوتیپی (ژنوتیپ TT) و هم از نظر فراوانی آللی (آل T) با زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریپیلوری مشاهده شد. با توجه به نتایج بدست آمده، می‌توان حضور آل T در جایگاه C159T ژن CD14 را به‌عنوان یک عامل خطر برای ابتلا به بیماری زخم پپتیک و به عفونت هلیکوباکتریپیلوری و ژنوتیپ CC را به‌عنوان یک فاکتور محافظتی و کاهش دهنده 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 هلیکوباکتریپیلوری می‌باشد (۱۵). عوامل ایمنونوتیکی نقش بسیار مهمی در شدت و پیشرفت التهاب به‌واسطه عفونت هلیکوباکتریپیلوری 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 مانند *H. pylori* است. مولکول CD14 متصل به غشاء با شناسایی LPS عوامل عفونی، باعث انتقال سیگنال به لیپوپروتئین‌های پلاسمای سلول و پاسخ‌های التهابی سایتوکین‌های سلولی و در نهایت تنظیم پاسخ‌های ایمنی همورال 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 هلیکوباکتریپیلوری، گزارش دادند که پلی مورفیسم‌های عملکردی ناحیه پروموتری ژن CD14 با افزایش خطر برای بیماری سرطان معده و عفونت هلیکوباکتریپیلوری مطرح می‌باشند (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 159C/T - 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 ژن CD14 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 آل T را به‌عنوان یک فاکتور خطر برای بیماری مذکور معرفی نمودند (۲۲). نتیجه مطالعات نشان داده، افرادی که دارای عفونت هلیکوباکتریپیلوری هستند و در جایگاه 159C/T - ناحیه پروموتری ژن CD14 آل T دارند، التهاب مخاط معده آن‌ها به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد (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 آل 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 آل T را به‌عنوان یک فاکتور خطر برای ابتلا به بیماری معرفی نمودند (۲۴). در مطالعه دیگری شاهرخ آبادی و همکاران، به بررسی ارتباط پلی

مطالعه یک جهش عملکردی در ناحیه پروموتوری 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 محدودیت های مطالعه ما از جمله 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 جمعیت های بزرگتر در مناطق متفاوت ایران می باشد.

نتایج مطالعه ما نشان داد که ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ TT در پلی مورفیسم $C159T$ ژن $CD14$ با بیماری زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکتریپلوری در استان گیلان از جمعیت شمال ایران وجود دارد. با توجه به نتایج بدست آمده می توان آلل T را به عنوان یک فاکتور خطر احتمالی برای افزایش ریسک ابتلا به بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریپلوری 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 می تواند درک ما را نسبت به مسیرهای ژنتیکی و مولکولی بیماری بیشتر نماید.

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد خانم طنز 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 می دارند 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.

مورفیسم $C159T$ ژن $CD14$ با عفونت کرونا ویروس در جمعیت مشهد پرداختند. نتایج پژوهش آنها نشان داد که فراوانی ژنوتیپ CT به طور معناداری بیشتر از سایر ژنوتیپها بوده و پلی مورفیسم $C159T$ ژن $CD14$ با بروز بیماری ارتباط مؤثر داشته و ژنوتیپ TT رابطه معنی داری با عفونت کرونا ویروس دارد. همچنین آنها عنوان کردند آلل T یک فاکتور خطر احتمالی برای بیماری می باشد (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 پاسخ های 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 سیتوکین های پیش التهابی و کاهش سطح سیتوکین های ضد التهابی در بیماران کبد چرب الکلی می گردد (۲۶). Zhang و همکاران در یک مطالعه متا آنالیز ارتباط پلی مورفیسم $C159T$ ژن $CD14$ با خطر سکتة مغزی ایسکمیک را مورد بررسی قرار دادند. نتیجه مطالعه آنها نشان داد ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم $C159T$ ژن $CD14$ با خطر سکتة مغزی ایسکمیک وجود ندارد (۲۷).

در یک مطالعه متا آنالیز دیگر، ارتباط بین پلی مورفیسم $C159T$ ژن $CD14$ با بیماری سسیس در یک جمعیت آسیایی توسط Ren همکاران مورد بررسی قرار گرفت. آنها گزارش دادند که بین پلی مورفیسم $C159T$ ژن $CD14$ با بیماری سسیس ارتباط معناداری وجود دارد. نتایج مطالعه آنها نشان داد که ژنوتیپ TT باعث افزایش سسیس در جمعیت آسیایی می شود (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 معنی داری 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 می باشند (۲۹).

نتایج متفاوت در مطالعات مختلف احتمالاً نشان دهنده تأثیر متفاوت فاکتورهای ژنتیکی و محیط با بیماری می باشد. در این

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*

- 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 *Helicobacter 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 *Helicobacter pylori* on TNF-A cytokine production 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

- 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, Dimitriadis GD. 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. Akmalı A, Shahrokhbabadi 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>

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 Kamooneh¹, 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](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) 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 Assistant Professor, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran (Corresponding Author)