Downloaded from journal.bums.ac.ir at 1:40 IRST on Wednesday November 22nd 2017

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی شیوع حذف قطعه ۴۹۷۷bp از ژنوم میتوکندریایی در بیماران مبتلا به زخم پپتیک

آرزو حقیقی[۱]، زیور صالحی[۲]، کیوان امینیان[۳]، صبا فخریه اصل[۳]

چکیده

زمینه و هدف: زخم پپتیک، نقص در آستر مخاط و زیرمخاط معده یا اثنی‌عشر است. گونه‌های فعّال اکسیژن (ROS)، در فیزیوپاتولوژی اختلالات زخم پپتیک دخیل می‌باشند. تولید ROS داخل سلولی در طول فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، زمینه‌ای برای حذف ۴۹۷۷bp در ژنوم میتوکندریایی (mtDNA) فراهم می‌کند. این مطالعه، با هدف بررسی شیوع حذف قطعه ۴۹۷۷bp از ژنوم میتوکندری با بیماری زخم پپتیک انجام شده است.

روش تحقیق: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۱۰ بیمار مبتلا به زخم پپتیک و ۱۵۰ فرد سالم، مورد بررسی قرار گرفتند. پس از استخراج DNA ژنومی از نمونه بیوپسی، تعیین ژنوتیپ به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) صورت گرفت. آنالیز داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار MedCalc (ویرایش ۱۲) انجام گردید.

یافته‌ها: شیوع حذف ۴۹۷۷bp در بیماران مبتلا به زخم پپتیک (۵۲/۷٪)، بیشتر از افراد گروه کنترل (۱۵/۳٪) بود. ارتباط معنی‌داری بین حذف قطعه مذکور و بیماری زخم پپتیک وجود داشت (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: حذف ۴۹۷۷bp در DNA میتوکندریایی، با زخم پپتیک در ارتباط می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: زخم پپتیک؛ ژنوم میتوکندری

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۳؛ ۲۱ (۱): ۴۸-۵۵.

دریافت: ۱۳۹۲/۰۴/۰۵ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۲۲

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک- علوم سلولی و ملکولی- گروه زیست‌شناسی، دانشکده پردیس گیلان، دانشگاه گیلان، گیلان، رشت، ایران.

[۲] نویسنده مسؤول؛ استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، گیلان، رشت، ایران.

آدرس: رشت- خیابان نامجو- دانشگاه گیلان- گروه علوم پایه

تلفن: ۰۹۱۱۳۳۳۷۰۰۳ نمابر: ۰۱۳۱۳۲۳۳۶۴۷ پست الکترونیکی: geneticzs@yahoo.co.uk

[۳] استادیار، گروه داخلی-گوارش، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، گیلان، رشت، ایران.

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 1:40 IRST on Wednesday November 22nd 2017

مقدمه

بیماری زخم پپتیک (PUD)، نماینده یک گروه از اختلالات اولسراتیو مربوط به بخش فوقانی دستگاه گوارش است که به‌طور عمده، معده و اثنی‌عشر را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از علائم شاخص این بیماری، درد اپی‌گاستر، از دست‌دادن اشتها و کاهش وزن را می‌توان نام برد (۱). میلیون‌ها نفر در جهان، به زخم پپتیک مبتلا می‌باشند؛ بر همین اساس، زخم پپتیک یکی از مهم‌ترین بیماری‌های شایع در جهان می‌باشد (۲).

در شرایط طبیعی، تعادل فیزیولوژیک بین عوامل مهاجم و حفاظتی در سطح لومن سلول‌های اپتیلیال وجود دارد. زمانی که تعادل بین عوامل تهاجمی و مکانیسم‌های دفاعی مختل شود، زخم پپتیک رخ می‌دهد. از جمله عوامل مهاجم، می‌توان به آلودگی هلیکوباکترپیلوری، اسیدکلریدریک، پپسین، داروهای ضدّ التهابی غیراستروئیدی (NSAIDs)، اسیدهای صفراوی، ایسکمی و هیپوکسی اشاره نمود. در خصوص عوامل دفاعی، می‌توان از بیکربنات لایه مخاطی، جریان خون مخاط، پروستاگلاندین‌ها (PGs) و فاکتورهای رشد نام برد (۲). عوامل ژنتیکی (مانند گروه خونی O)، استرس شدید فیزیولوژیک، استعمال سیگار و مصرف الکل، از دیگر عوامل مؤثّر بر PUD محسوب می‌شوند (۳).

گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS)، در علت‌شناسی و فیزیوپاتولوژی برخی از بیماری‌ها از جمله: اختلالات عصبی، التهاب، عفونت‌های ویروسی، آسیب سیستم‌های خودایمنی و اختلالات دستگاه گوارش مانند: التهاب معده، روده و زخم معده دخیل می‌باشند (۴).

ژنوم میتوکندریایی (mtDNA) انسان، ۱۳ پلی‌پپتید را که زیرواحدهای ضروری کمپلکس‌های زنجیره انتقال الکترون در غشای داخلی میتوکندری هستند، ۲۲ tRNA و ۲rRNA را که برای ترجمه این ۱۳ پلی‌پپتید ضروری هستند، کد می‌کند (۵). میتوکندری، مرکز سوخت و ساز انرژی سلول و منبع اصلی تولید ROS است (۶). تولید سطوح پایین ROS، برای عملکرد طبیعی سلول‌ها حیاتی است. با این حال، تولید بیش از حدّ ROS، سمّی است و می‌تواند عوارض جانبی مضر داشته باشد. از آنجا که ROS، سبب اکسیداسیون ماکروملکول‌های سلولی می‌شود، می‌تواند منجر به آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها، غشاها و DNA میتوکندریایی گردد (۷، ۸).

هنگامی که تعادل بین تولید ROS و ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها به‌هم بخورد، استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود که ممکن است به علت اختلال در عملکرد میتوکندری و یا دفاع آندروژن ناکافی در برابر ROS باشد (۸). ژنوم میتوکندریایی، به چند دلیل هدف اصلی آسیب اکسیداتیو است. mtDNA، در مجاورت منبع اولیه گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر؛ یعنی، زنجیره انتقال الکترون قرار دارد (۹). فقدان هیستون‌ها و سیستم ترمیمی اندک نسبت به ژنوم هسته‌ای، احتمال آسیب اکسیداتیو و ایجاد جهش در mtDNA را افزایش می‌دهند (۱۰). به‌طور کلی، جهش‌های DNA میتوکندریایی شامل: جهش‌های Missense، جهش‌های سنتز پروتئین، جهش‌های تعداد کپی و جهش‌های حذف–درج می‌باشد (۱۱).

یکی از شایع‌ترین حذف‌ها در mtDNA، حذف قطعه‌ای به‌طول ۴۹۷۷bp است که حذف شایع[1] نامیده می‌شود (۱۲). حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA (از نوکلئوتید ۸۴۸۳ تا نوکلئوتید ۱۳۴۵۹) شامل: ژن‌های CoII، ATPase6، ATPase8، CoIII، ND3، ND4L، ND4 و ND5 می‌باشد. البته شش ژن کدکننده tRNA نیز در بین ژن‌های فوق قرار دارد (۱۳).

دو توالی ۱۳ نوکلئوتیدی تکرار مستقیم (5' ACC TCC CTCACC 3')، این حذف بزرگ را احاطه کرده‌اند. عنصر تکراری که در سمت '5 این حذف واقع است، در موقعیت ۸۴۸۲–۸۴۷۰ قرار دارد. در انتهای '3 این حذف، عنصر تکراری دیگری در موقعیت نوکلئوتیدی ۱۳۴۵۹–۱۳۴۴۷ قرار دارد. دلیل شایع‌بودن این حذف، احتمالاً تطابق مستقیم بین

[1] *Common Deletion*

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 1:40 IRST on Wednesday November 22nd 2017

این دو تکرار ۱۳ جفت بازی می‌باشد (۱۴). طی این حذف، حدود ۱/۳ طول DNA میتوکندریایی از دست می‌رود که منجر به fusion ژن‌های ATPase8 و ND5 می‌شود که نتیجه آن، اختلال در تنفس میتوکندری و کاهش در سنتز ATP است (۸).

تحقیقات نشان می‌دهند که تولید ROS داخل سلولی، در طول فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، زمینه‌ای برای ایجاد حذف ۴۹۷۷-bp در mtDNA می‌باشد؛ همچنین مشخص شده که زنجیره انتقال الکترون ناکارآمد (ETC) در میتوکندری، منجر به افزایش تولید ROS می‌شود؛ بنابراین یک چرخه معیوبی از افزایش ROS تشکیل می‌شود (۸). از آنجایی که حذف‌های ۴۹۷۷-bp در mtDNA، می‌توانند منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در میتوکندری و تشدید استرس اکسیداتیو شوند و با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو، نقش به‌سزایی در اختلالات دستگاه گوارش ایفا می‌کند، هدف از انجام این مطالعه، بررسی حذف ۴۹۷۷bp mtDNA در بیماری زخم پپتیک بوده است.

روش تحقیق

در این موردی-شاهدی، ۱۱۰ بیمار مبتلا به زخم پپتیک و ۱۵۰ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های کنترل یا سالم، با تشخیص فوق تخصص گوارش، در حین آندوسکوپی تهیه گردید. محدوده سنی افراد بیمار و گروه شاهد، ۲۵-۴۵ سال بود. افراد مورد بررسی، تحت معاینات کامل قرار گرفتند و از هر فرد در جریان آندوسکوپی، دو نمونه بیوپسی از بافت معده و دوازدهه تهیه گردید. یک نمونه برای تشخیص قطعی به آزمایشگاه آسیب‌شناسی و نمونه دیگر برای استخراج DNA، به آزمایشگاه ژنتیک فرستاده شد. نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA، در فریزر ۷۰°C- نگهداری شدند.

استخراج DNA توسط کیت Gpp Solution (شرکت ژن‌پژوهان، ایران) و بر اساس دستورالعمل مربوطه صورت گرفت. DNA استخراج‌شده، توسط اسپکتروفتومتری و الکتروفورز آگارز مورد بررسی قرار گرفت. تعیین حذف ۴۹۷۷ جفت باز در mtDNA، با استفاده از روش Gap-PCR انجام گردید. در این واکنش، از آغازگرهای mtDNA-F و mtDNA-R برای تکثیر قطعه‌ای به طول ۴۰۳ جفت باز در mtDNA مورد استفاده قرار گرفت. توالی پرایمر F پریم‌ها به‌صورت 5□/CGGGGGTAACGGTC/3□ و توالی پرایمر R به‌صورت- 5□/GGTTTCGATGTGGTCTT/3□ بود. توالی پرایمرها توسط نرم‌افزار Oligo7 (ویرایش ۷/۵۴، آمریکا) مشخص گردید.

حجم کلی هر واکنش PCR، برابر با ۲۵µl بوده و متشکل از ۳۰ng DNA ژنومی، ۱×PCR buffer، ۱/۵mM Mgcl2، ۲۰۰µm از هر dNTP، ۱۰pmol از هر پرایمر و ۱U taq DNA polymerase می‌باشد.

برنامه PCR با واسرشته‌سازی اولیه ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۵°C، ۳۵ سیکل با برنامه ۹۴°C (۳۰ ثانیه)، ۵۵/۹°C (۱ دقیقه)، ۷۲°C (۱ دقیقه) و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲°C در دستگاه ترموسایکلر (شرکت Bio Rad) تنظیم گردید؛ سپس محصولات حاصل از PCR، روی ژل آگارز ۲٪، الکتروفورز گردید و آشکارسازی باندها، توسط دستگاه Gel Documentation (شرکتBio Rad) انجام شد. آنالیز داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار MedCalc (ویرایش ۱۲) صورت گرفت.

یافته‌ها

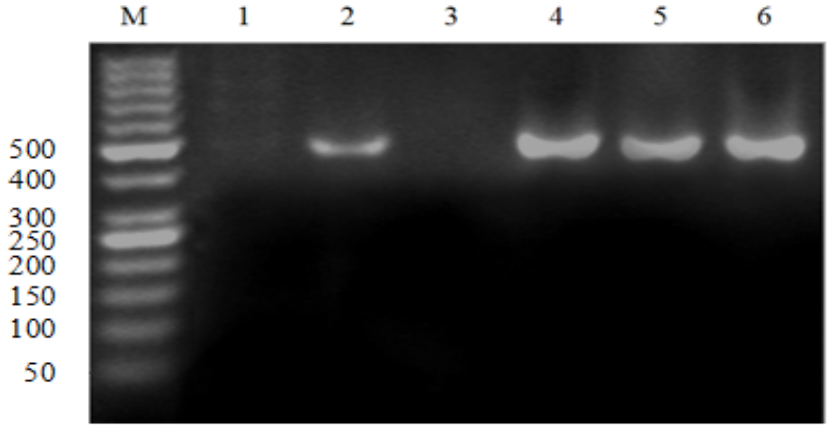
در مجموع، ۲۶۰ نفر در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. از تمامی نمونه‌های بیوپسی افراد سالم و بیمار، DNA ژنومی استخراج گردید. در مرحله بعد، حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA مورد بررسی قرار گرفت. درصورت وجود حذف ۴۹۷۷ جفت باز در mtDNA، قطعه‌ای به طول ۴۰۳ جفت باز در جریان PCR تکثیر خواهد گردید. بدیهی است در صورت

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 1:40 IRST on Wednesday November 22nd 2017

عدم حضور حذف مذکور، به‌علت فاصله زیاد پرایمرها از

جدول ۱- بررسی میزان حذف mtDNA در گروه بیمار و کنترل

وضعیت ژنوم / گروه	حذف ٤٩٧٧bp در mtDNA تعداد(٪)	عدم حضور حذف ٤٩٧٧bp در mtDNA تعداد (٪)
بیماران مبتلا به زخم پپتیک	۵۸ (۵۲/۷)	۵۲ (۴۷/۳)
افراد کنترل	۲۳ (۱۵/۳)	۱۲۷ (۸۴/۷)
سطح معنی‌داری	P=۰/۰۰۰۱	Chi-Square(χ^2)=۳۹/۶۴۸



شکل ۱- تصویر ژل آگارز ۲٪ جهت بررسی حذف ٤٩٧٧ bp mtDNA. ردیف M، مارکر DNA، ردیف های ۱ و ۳ mtDNA نرمال و ردیف های ۲، ۴، ۵ و ۶ مربوط به mtDNA دارای حذف ۴۹۷۷ bp را نشان می دهد.

یکدیگر، تکثیر صورت نمی‌گیرد و باندی آشکار نمی‌گردد. شکل یک، تصویر حاصل از محصولات PCR می‌باشد.

در جدول یک، میزان حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA، در دو گروه بیمار و کنترل آورده شده است. میزان حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA در گروه بیمار، ۵۲/۷٪ و در گروه کنترل، میزان حذف مورد نظر در DNA میتوکندری ۱۵/۳٪ بود.

با استفاده از نرم‌افزار MedCalc، مقدار Chi-Square (χ^2) معادل ۳۹/۶۴۸ بود که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه بیمار و کنترل از نظر فراوانی حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA وجود داشت (P=۰/۰۰۰۱). مقدار Odds Ratio (OR) معادل ۶/۲ بود؛ لذا افراد مبتلا به زخم پپتیک، ۶/۲ برابر بیشتر از افراد سالم، دارای حذف در mtDNA نمونه بیوپسی خود می‌باشند.

بحث

زخم پپتیک، یکی از شایع‌ترین بیماری‌هاست. شیوع آن بین ۶-۱۵ درصد تخمین زده شده است و حدود ۱۰ درصد از مردم، علائم این بیماری را در یک دوره از زندگی خود تجربه می‌کنند. مطالعات نشان داده‌اند که کیفیت زندگی و سلامت بیماران مبتلا به زخم پپتیک، تحت تأثیر این بیماری است (۱۵). این بیماری، به‌عنوان زخم در معده یا اثنی‌عشر توصیف شده که معمولا با عود مجدد زخم همراه است (۱۶).

برای مدت‌های طولانی در گذشته، بیماری زخم پپتیک (PUD)، به‌عنوان مشکل جدّی پزشکی مطرح بوده است. این مشکل همچنان با مرگ و میر بالاتر زخم معده نسبت به زخم اثنی‌عشر پابرجاست (۱۷، ۱۸)؛ به‌طوری‌که این بیماری،

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 1:40 IRST on Wednesday November 22nd 2017

مسؤول حدود ۲۰۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ مرگ و میر در هر سال در اروپا است (۱۹). مطالعات نشان می‌دهند که گسترده‌ترین عامل خطر مرگ و میر در این بیماری، افزایش سن (به‌ویژه سن بالای ۶۰ سال) است (۲۰). میزان شیوع این بیماری، در کشورهای مختلف متفاوت است. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ در استان گیلان صورت گرفت، از ۱۳۸۲ مورد، ۵/۹٪ مبتلا به زخم معده و ۶/۹٪ مبتلا به زخم اثنی‌عشر بودند (۲۱).

زخم پپتیک، جزء بیماری‌های چندعاملی است. عوامل گوناگون مانند: شیوه زندگی استرس‌زا، مصرف الکل، استفاده از داروهای ضدّ التهابی استروئیدی و غیراستروئیدی (NSAIDs) و داروهای تحریک‌کننده ترشح اسید معده و پپسین، عفونت با هلیکوباکتر پیلوری، استعمال سیگار، وضعیت اجتماعی و اقتصادی پایین و سابقه خانوادگی، در ایجاد این بیماری دخیل می‌باشد (۲۲). در سال‌های اخیر، به نقش استرس اکسیداتیو در بیماری PUD توجه زیادی شده است. حضور گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) در علت‌شناسی و فیزیوپاتولوژی اختلالات دستگاه گوارش مانند: التهاب معده، روده و زخم معده گزارش شده است (۴). احتمالاً گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر تولیدشده توسط متابولیسم اسیدآراشیدونیک، پلاکت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های ماهیچه‌ای صاف، به آسیب مخاطی معده کمک می‌کنند (۲۳).

آسیب مخاط، می‌تواند با تولید اکسیژن فعال درونی/بیرونی و رادیکال‌های آزاد، به راحتی ایجاد گردد. طی برهمکنش رادیکال هیدروکسیل با غشای سلولی، پراکسیداسیون لیپیدی صورت می‌گیرد و به‌دنبال آن، رادیکال‌های آزاد مشتق‌شده از چربی مانند: لیپید هیدروپراکساید (hydroperoxid lipid) تولید می‌شوند. این رادیکال، بسیار واکنش‌پذیر است و موجب آسیب اکسیداتیو می‌شود (۲۴). چنین انتظار می‌رود که استرس اکسیداتیو، زمانی که میتوکندری‌های سلول‌های مخاطی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، می‌تواند سبب آسیب اکسیداتیو DNA میتوکندری شود.

میتوکندری، خود منبع اصلی تولید ROS است (۶). ROS، سبب اکسیداسیون ماکروملکول‌های سلولی می‌شود؛ همچنین با ایجاد آسیب اکسیداتیو در پروتئین‌ها، غشاها و DNA میتوکندریایی، می‌تواند به توانایی میتوکندری در سنتز ATP لطمه وارد کند. ژنوم میتوکندریایی، به‌علت مجاورت با گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن، فقدان هیستون‌ها و سیستم ترمیمی اندک، هدف اصلی آسیب اکسیداتیو می‌باشد (۷، ۹)؛ بنابراین با فرکانس بیشتری دچار جهش می‌شود.

حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA، از مهمترین تغییرات در mtDNA است که می‌تواند منجر به نقص در زنجیره انتقال الکترون شود (۲۵)؛ به‌عبارت دیگر، آنزیم‌های زنجیره تنفسی که زیرواحدهای پروتئینی آنها توسط mtDNA دارای حذف کد می‌شود، ناقص بوده و می‌توانند منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در میتوکندری و تشدید استرس اکسیداتیو شوند. طی حذف ۴۹۷۷bp در DNA میتوکندریایی، برخی از ژن‌های زنجیره انتقال الکترون به‌درستی بیان نمی‌شوند. این ژن‌ها شامل: CoII، ATPase 6، ATPase 8، CoIII، ND3، ND4L، ND4 و ND5 هستند. همه ژن‌های نام‌برده، جزء ژن‌های زنجیره تنفسی بوده و در کمپلکس‌های I، IV و V میتوکندریایی حضور دارند (۸، ۱۳). ارتباط حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA با برخی از بیماری‌ها مورد بررسی قرار گرفته است که از آن‌جمله می‌توان به اندومتریوز (۵)، واریکوسل (۱۳) و بسیاری از نئوپلازی‌های انسانی (۸) اشاره نمود. در تحقیقی که توسط Juan و همکارانش در سال ۲۰۰۹ در خصوص سرطان معده صورت گرفت، نتایج نشان داده که حذف mtDNA ۴۹۷۷bp، با ایجاد و حتی در پیشرفت سرطان معده مرتبط می‌باشد (۸).

تاکنون هیچ گزارشی در خصوص بررسی حذف ۴۹۷۷bp mtDNA با بیماری زخم پپتیک در دسترس نمی‌باشد؛ لذا در این تحقیق بر آن شدیم که به بررسی حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA در بیماری زخم پپتیک بپردازیم. در این پروژه،

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 1:40 IRST on Wednesday November 22nd 2017

۱۱۰ نمونه بافت پپتیک در افراد مبتلا به زخم پپتیک و ۱۵۰ نمونه مربوط به افراد کنترل، از لحاظ وجود حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه مورد مطالعه بود. میزان حذف ۴۹۷۷bp mtDNA، در افراد بیمار ۵۲/۷٪ و در افراد گروه کنترل ۱۵/۳٪ بود. حذف mtDNA در افراد مبتلا به زخم پپتیک شایع‌تر از افراد کنترل بود؛ لذا ارتباط معنی‌داری بین این حذف و زخم پپتیک وجود داشت؛ به بیان دیگر، افراد مبتلا به زخم پپتیک، حدود ۶/۲ برابر بیشتر در معرض ایجاد حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA پپتیک خود نسبت به افراد سالم می‌باشند.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتیجه حاصل از این تحقیق، اهمیت حذف قطعه ۴۹۷۷bp را در mtDNA بیماران مبتلا به زخم پپتیک، در مقایسه با افراد کنترل در جمعیت مورد مطالعه نشان می‌دهد. این نتیجه مربوط به جمعیت مورد مطالعه حاضر می‌باشد و نتیجه قطعی را باید در جمعیت‌های بزرگتر جستجو نمود؛ همچنین با توجه به اینکه زخم پپتیک، یک بیماری چندعاملی است و عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی در ایجاد و توسعه آن مؤثّر هستند، در مطالعات مربوط به این بیماری، باید عوامل مختلف در کنار هم و تأثیر متقابل آنها بر همدیگر مورد بررسی قرار گیرند.

تقدیر و تشکر

از تحصیلات تکمیلی دانشگاه گیلان، برای حمایت مالی از بخشی از پروژه، کمال تشکر را داریم.

منابع:

1- Ramakrishnan K, Salinas RC. Peptic ulcer disease. Am Fam Physician. 2007; 76(7): 1005-12.

2- Awaad AS, El-Meligy RM, Soliman GA. Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. Journal of Saudi Chemical Society. 2013; 17(1): 101-24.

3- Blair KA, Beltz J. Dyspepsia: Is It Gastroesophageal Reflux Disease Peptic Ulcer Disease? J Nurse Pract. 2006; 2(3): 157-63.

4- Repetto MG, Llesuy SF. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. Braz J Med Biol Res. 2002; 35(5): 523-34.

5- Salahi E, Salehi Z, Zahiri Z, Sadri S, Khoshdel Rad N. Mitochondrial DNA 4977-bp deletion in endometriosis. Genes Genom. 2013; 35(5): 563-7.

6- Sharma H, Singh A, Sharma C, Jain SK, Singh N. Mutations in the mitochondrial DNA D-loop region are frequent in cervical cancer. Cancer Cell Int. 2005; 5: 34.

7- Doria E, Buonocore D, Focarelli A, Marzatico F. Relationship between human aging muscle and oxidative system pathway. Oxid Med Cell Longev. 2012; 2012: 830257.

8- Wang J, Lü YY. Mitochondrial DNA 4977-bp deletion correlated with reactive oxygen species production and manganese superoxidedismutase expression in gastric tumor cells. Chin Med J (Engl). 2009; 122(4): 431-6.

9- Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Radic Biol Med. 2000; 29(3-4): 222-30.

10- Croteau DL, Stierum RH, Bohr VA. Mitochondrial DNA repair pathways. Mutat Res. 1999; 434(3): 137-48.

11- Wallace DC. Diseases of the mitochondrial DNA. Annu Rev Biochem. 1992; 61(1): 1175-212.

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 1:40 IRST on Wednesday November 22nd 2017

12- Quigley A, Reardon K, Kapsa R, Dennett X, Byrne E, Thyagarajan D. A novel clinical phenotype of myopathy, sensorimotor neuropathy, infertility, and hypogonadism with multiple mitochondrial DNA deletions. J Clin Neuromuscul Dis. 2001; 3(2): 77-82.

13- Gashti NG, Salehi Z, Madani AH, Dalivandan ST. 4977□bp mitochondrial DNA deletion in infertile patients with varicocele. Andrologia. 2014; 46(3): 258-62.

14- Samuels DC, Schon EA, Chinnery PF. Two direct repeats cause most human mtDNA deletions. Trends Genet. 2004; 20(9): 393-8.

15- Baghianimoghadam MH, Mohamadi S, Baghianimoghadam M, Falahi A, Roghani HS. Survey on Quality Of Life related factors in patients with Peptic Ulcer based on PRECEDE Model in Yazd, Iran. J Med Life. 2011; 4(4): 407-11.

16- Baron J. The relationship between basal and maximum acid output in normal subjects and patients with duodenal ulcer. Clin Sci. 1963; 24: 357-70.

17- Kurata JH, Haile BM. Epidemiology of peptic ulcer disease. Clin Gastroenterol. 1984; 13(2): 289-307.

18- Sonnenberg A, Everhart JE. Health impact of peptic ulcer in the United States. Am J Gastroenterol. 1997; 92(4): 614-20.

19- Bucher P, Oulhaci W, Morel P, Ris F, Huber O. Results of conservative treatment for perforated gastroduodenal ulcer in patients not eligible for surgical repair. Swiss Med Wkly. 2007; 137(23-24): 337-40.

20- Lau JY, Sung J, Hill C, Henderson C, Howden CW, Metz DC. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. Digestion. 2011; 84(2): 102-13.

21- Mansour-Ghanaei F, Sokhanvar H, Joukar F, Shafaghi A, Yousefi-Mashhour M, Valeshabad AK, et al. Endoscopic Findings in a Mass Screening Program for Gastric Cancer in a High Risk Region-Guilan Province of Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 2012; 13(4): 1407-12.

22- Bandyopadhyay D1, Biswas K, Bhattacharyya M, Reiter RJ, Banerjee RK. Gastric toxicity and mucosal ulceration induced by oxygen-derived reactive species: protection by melatonin. Curr Mol Med. 2001; 1(4): 501-13.

23- Hahm KB, Park IS, Kim YS, Kim JH, Cho SW, Lee SI, et al. Role of rebamipide on induction of heat-shock proteins and protection against reactive oxygen metabolite-mediated cell damage in cultured gastric mucosal cells. Free Radic Biol Med. 1997; 22(4): 711-6.

24- Bagchi D, Carryl OR, Tran MX, Krohn L, Bagchi DJ, Garg A, et al. Stress, diet and alcohol-induced oxidative gastrointestinal mucosal injury in rats and protection by bismuth subsalicylate. J Appl Toxicol. 1999; 18(1): 3-13.

25- Lee HC, Wei YH. Mutation and oxidative damage of mitochondrial DNA and defective turnover of mitochondria in human aging. J Formos Med Assoc. 1997; 96(10): 770-8.

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 1:40 IRST on Wednesday November 22nd 2017

Abstract *Original Article*

Functional assessment of mitochondrial DNA 4977 bp deletion in peptic ulcer disease

Arezoo Haghighi[1], **Zivar Salehi[2], Keyvan Aminian[3], saba Fakhrieh Asl[3]**

Background and Aim: A peptic ulcer is a breach in the gastric or duodenal mucosa down to the submucosa. There is evidence concerning the role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the genesis of such ulcers production of intracellular ROS along mitochondria oxidative phosphorylation (OXPHOS) predisposes the deletion of 4977 bp mtDNA.

The aim of the present study was to evaluate the association of 4977 bp mtDNA deletion with peptic ulcer disease.

Materials and Methods: In this case-control study included 110 patients with peptic ulcer disease and 110 healthy individuals were compared. Genomic DNAs of the cases and controls were extracted from bioptic tissues. Then, their genotypes were determined by means of Polymerase Chain Reaction (PCR). Finally, statistical analysis was performed using the MedCalc program.

Results: Deletion of 4977 bp mtDNA was found to be more frequent among patients with peptic ulcer disease (52.7%) compared to the controls (15.3%). A significant association was found between the deletion with peptic ulcer disease.

Conclusion: Deletion of 4977 bp in mitochondrial DNA is associated with peptic ulcer disease.

Key Words: Peptic ulcer disease; Mitochondria genome

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2014; 21 (1): 48-55.

Received: June 26, 2013 ***Accepted: March 13, 2014***

[1] *Postgraduate in Genetics, Cellular and Molecular Sciences, Department of Biology, Faculty of Guilan Pardis, Department of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran.*
[2] *Corresponding author; Ph.D in Molecular Genetics, Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.*
[3] *Gastroenterologist, Asistant professor, Internal Medicine Department, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.*