

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

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

چکیده

زمینه و هدف: زخم پتیک، نقص در آستر مخاط و زیرمخاط معده یا اثنی عشر است. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، در فیزیوپاتولوژی اختلالات زخم پتیک 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 پتیک انجام شده است.

روش تحقیق: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۱۰ بیمار مبتلا به زخم پتیک 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 پتیک (۵۲/۷٪)، بیشتر از افراد گروه کنترل (۱۵/۳٪) بود. ارتباط معنی‌داری بین حذف قطعه مذکور و بیماری زخم پتیک وجود داشت ($P=0/001$).
نتیجه‌گیری: حذف ۴۹۷۷bp در DNA میتوکندریایی، با زخم پتیک در ارتباط می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: زخم پتیک؛ 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: genetics@yahoo.co.uk

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

مقدمه

بیماری زخم پپتیک (PUD)، نماینده یک گروه از اختلالات اولسراتیو مربوط به بخش فوقانی دستگاه گوارش است که به طور عمده، معده و اثنی عشر را تحت تأثیر قرار می دهد. از علائم شاخص این بیماری، درد اپی گاستر، از دست دادن اشتها و کاهش وزن را می توان نام برد (۱). میلیون ها نفر در جهان، به زخم پپتیک مبتلا می باشند؛ بر همین اساس، زخم پپتیک یکی از مهم ترین بیماری های شایع در جهان می باشد (۲).

در شرایط طبیعی، تعادل فیزیولوژیک بین عوامل مهاجم و حفاظتی در سطح لومن سلول های اپتیلیال وجود دارد. زمانی که تعادل بین عوامل تهاجمی و مکانیسم های دفاعی مختل شود، زخم پپتیک رخ می دهد. از جمله عوامل مهاجم، می توان به آلودگی هلیکوباکتریلوری، اسیدکلریدریک، پپسین، داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی (NSAIDs)، اسیدهای صفراوی، ایسکمی و هیپوکسی اشاره نمود. در خصوص عوامل دفاعی، می توان از بیکربنات لایه مخاطی، جریان خون مخاط، پروستاگلاندین ها (PGs) و فاکتورهای رشد نام برد (۲). عوامل ژنتیکی (مانند گروه خونی O)، استرس شدید فیزیولوژیک، استعمال سیگار و مصرف الکل، از دیگر عوامل مؤثر بر PUD محسوب می شوند (۳).

گونه های واکنش پذیر اکسیژن (ROS)، در علت شناسی و فیزیوپاتولوژی برخی از بیماری ها از جمله: اختلالات عصبی، التهاب، عفونت های ویروسی، آسیب سیستم های خودایمنی و اختلالات دستگاه گوارش مانند: التهاب معده، روده و زخم معده دخیل می باشند (۴).

ژنوم میتوکندریایی (mtDNA) انسان، ۱۳ پلی پپتید را که زیرواحدهای ضروری کمپلکس های زنجیره انتقال الکترون در غشای داخلی میتوکندری هستند، tRNA ۲۲ و ۲rRNA را که برای ترجمه این ۱۳ پلی پپتید ضروری هستند، کد می کند (۵). میتوکندری، مرکز سوخت و ساز انرژی سلول و منبع اصلی تولید ROS است (۶). تولید سطوح پایین ROS، برای

عملکرد طبیعی سلول ها حیاتی است. با این حال، تولید بیش از حد ROS، سمی است و می تواند عوارض جانبی مضر داشته باشد. از آنجا که ROS، سبب اکسیداسیون ماکرومولکول های سلولی می شود، می تواند منجر به آسیب اکسیداتیو پروتئین ها، غشاها و DNA میتوکندریایی گردد (۷)، (۸).

هنگامی که تعادل بین تولید ROS و ظرفیت آنتی اکسیدان ها به هم بخورد، استرس اکسیداتیو ایجاد می شود 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 گونه های اکسیژن واکنش پذیر؛ یعنی، زنجیره انتقال الکترون قرار دارد (۹). فقدان هیستون ها و سیستم ترمیمی اندک نسبت به ژنوم هسته ای، احتمال آسیب اکسیداتیو و ایجاد جهش در mtDNA را افزایش می دهند (۱۰). به طور کلی، جهش های DNA میتوکندریایی شامل: جهش های Missense، جهش های سنتر پروتئین، جهش های تعداد کپی و جهش های حذف-درج می باشد (۱۱).

یکی از شایع ترین حذف ها در mtDNA، حذف قطعه ای به طول ۴۹۷۷bp است که حذف شایع^۱ نامیده می شود (۱۲). حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA (از نوکلئوتید ۸۴۸۳ تا نوکلئوتید ۱۳۴۵۹) شامل: ژن های CoII، ATPase6، ATPase8، CoIII، ND3، ND4L، ND4 و ND5 می باشد. البته شش ژن کدکننده tRNA نیز در بین ژن های فوق قرار دارد (۱۳). دو توالی ۱۳ نوکلئوتیدی تکرار مستقیم (ACC TCC 5' 3' CTCACC)، این حذف بزرگ را احاطه کرده اند. 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 شایع بودن این حذف، احتمالاً تطابق مستقیم بین

¹ Common Deletion

گرفت. DNA استخراج شده، 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 پرایمرها به صورت 5' /CGGGGGTAACGGTC/3' و توالی پرایمر R به صورت 5' /GGTTTCGATGTGGTCTT/3' بود. توالی پرایمرها توسط نرم افزار Oligo7 (ویرایش ۷/۵۴، آمریکا) مشخص گردید.

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

برنامه PCR با واسرشته سازی 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 (شرکت Bio Rad) انجام شد. آنالیز داده‌ها، با استفاده از نرم افزار 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. در صورت وجود حذف ۴۹۷۷ جفت باز در mtDNA، قطعه‌ای به طول ۴۰۳ جفت باز در جریان PCR تکثیر خواهد گردید. بدیهی است در صورت

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

تحقیقات نشان می دهند که تولید ROS داخل سلولی، در طول فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، زمینه ای برای ایجاد حذف ۴۹۷۷-bp در mtDNA می باشد؛ همچنین مشخص شده که زنجیره انتقال الکترون ناکارآمد (ETC) در میتوکندری، منجر به افزایش تولید ROS می شود؛ بنابراین یک چرخه معیوبی از افزایش ROS تشکیل می شود (۸). از آنجایی که حذف های ۴۹۷۷-bp در mtDNA، می تواند منجر به افزایش تولید رادیکال های آزاد در میتوکندری و تشدید استرس اکسیداتیو شوند و با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو، نقش به سزایی در اختلالات دستگاه گوارش ایفا می کند، هدف از انجام این مطالعه، بررسی حذف ۴۹۷۷bp mtDNA در بیماری زخم پتیک بوده است.

روش تحقیق

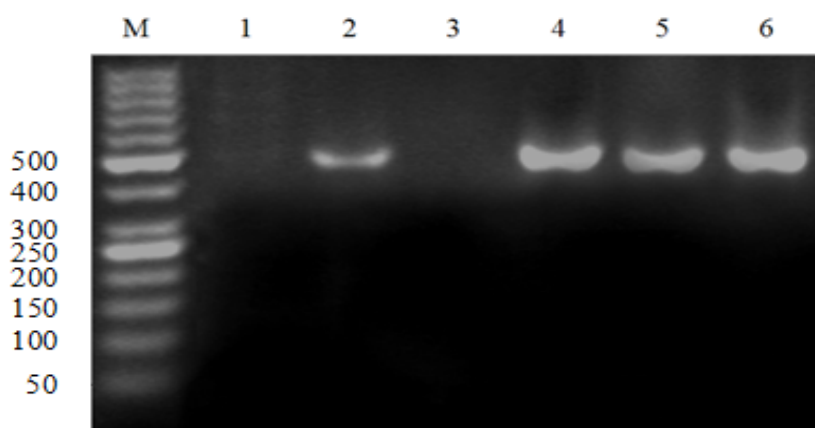
در این موردی-شاهدی، ۱۱۰ بیمار مبتلا به زخم پتیک و ۱۵۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه های کنترل یا سالم، با تشخیص فوق تخصص گوارش، در حین آندوسکوپی تهیه گردید. محدوده سنی افراد بیمار و گروه شاهد، ۲۵-۴۵ سال بود. افراد مورد بررسی، تحت معاینات کامل قرار گرفتند و از هر فرد در جریان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

استخراج DNA توسط کیت Gpp Solution (شرکت ژن پژوهان، ایران) و بر اساس دستورالعمل مربوطه صورت

عدم حضور حذف مذکور، به علت فاصله زیاد پرایمرها از

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

وضعیت ژنوم گروه	حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA تعداد (%)	عدم حضور حذف ۴۹۷۷bp در mtDNA تعداد (%)
بیماران مبتلا به زخم پپتیک	۵۸ (۵۲/۷)	۵۲ (۴۷/۳)
افراد کنترل	۲۳ (۱۵/۳)	۱۲۷ (۸۴/۷)
سطح معنی داری	$P=۰/۰۰۰۱$	$\text{Chi-Square}(\chi^2)=۳۹/۶۴۸$



شکل ۱- تصویر ژل آگارز ۲٪ جهت بررسی حذف mtDNA ۴۹۷۷ bp. 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 نمی گیرد و باندی آشکار نمی گردد.

شکل یک، تصویر حاصل از محصولات PCR می باشد.

بحث

زخم پپتیک، یکی از شایع ترین بیماری هاست. 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 می کنند. مطالعات نشان داده اند که کیفیت زندگی و سلامت بیماران مبتلا به زخم پپتیک، تحت تأثیر این بیماری است (۱۵). این بیماری، به عنوان زخم در معده یا اثنی عشر توصیف شده که معمولاً با عود مجدد زخم همراه است (۱۶).

برای مدت های طولانی در گذشته، بیماری زخم پپتیک (PUD)، به عنوان مشکل جدی پزشکی مطرح بوده است. این مشکل همچنان با مرگ و میر بالاتر زخم معده نسبت به زخم اثنی عشر پابرجاست (۱۷، ۱۸)؛ به طوری که این بیماری،

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 نرم افزار MedCalc، مقدار χ^2 (Chi-Square) معادل ۳۹/۶۴۸ بود که تفاوت معنی داری 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 می باشند.

میتوکندری شود.

میتوکندری، خود منبع اصلی تولید ROS است (۶). ROS، سبب اکسیداسیون ماکرومولکول‌های 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)؛ به عبارت 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 آن جمله 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 ۴۹۷۷bp mtDNA، 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،

مسئول حدود ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ 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 ضد 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 مخاطی، 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 به دنبال 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

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 مؤثر 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.

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

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 superoxidodismutase 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.

- 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. 4977bp 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.

Abstract

Original Article

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

Arezoo Haghighi¹, Zivar Salehi², Keyvan Aminian³, saba Fakhrieh Asl³

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 biptic 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, Assistant professor, Internal Medicine Department, Faculty of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.