Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Relationship between the TLR5 -1174C>T Polymorphism in Patients with peptic ulcer and Helicobacter pylori infection in Mazandaran province

Morteza Tajdar[1], **Rasool Zahmatzadeh Roodsari**[1]*

ABSTRACT

Background and Aims: Peptic ulcer is a painful inflammatory disease occurring inside the gastric or the first part of the small intestine (duodenum). One of the leading causes of this disease is Helicobacter pylori infection. Toll-like receptors (TLRs) play a crucial role as a warning factor in the detection of Helicobacter pylori infection in the immune system. TLRs belong to a group of pattern recognition receptors of the host's innate immune system. The present study aimed to assess the relationship between the C1174T polymorphism of the TLR5 gene and Helicobacter pylori infection in patients with peptic ulcers in Mazandaran province.

Materials and Methods: This case-control study investigated 150 patients with peptic ulcer and Helicobacter pylori infection and 150 healthy individuals. After extracting genomic DNA from gastric biopsy samples, genotypic and allelic frequency in patients and control group was determined by Three primer ARMS PCR method. Data were analyzed in SPSS software (version 23).

Results: The frequency rates of CC, CT, and TT genotypes in patients were 19.3%, 49.3%, and 31.3%, respectively. In healthy people, these values were obtained at 38.6%, 45.3%, and 16%, respectively. Statistical analysis demonstrated a significant relationship between the C1174T polymorphism of the TLR5 gene and peptic ulcer disease.

Conclusion: As evidenced by the results of this study, the presence of the T allele at the C1174T position can be considered a factor for increasing the risk of peptic ulcer disease; nonetheless, the investigation of other TLR5 gene polymorphisms in larger populations is needed.

Keywords: Helicobacter Pylori, Peptic ulcer, Polymorphism, TLR5 gene

Citation: Tajdar M, Zahmatzadeh Roodsari R. [Relationship between the TLR5 -1174C>T Polymorphism in Patients with peptic ulcer and Helicobacter pylori infection in Mazandaran province]. J Birjand Univ Med Sci. 2024; 31(2): 140-149. [Persian]

DOI 10.61186/JBUMS.31.2.140

Received: April 4, 2024 **Accepted:** June 4, 2024

[1] Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonkabon, Iran

***Corresponding author:** Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonkabon, Iran
Tel: +989113932011 Fax: +981154274409 E-mail: zahmatkesh.rasoul@gmail.com

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی پلی‌مورفیسم 1174C>T- ژن TLR5 در بیماران مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت هلیکوباکترپیلوری در استان مازندران

مرتضی تاجدار[1]، رسول زحمتکش رودسری[1]*

چکیده

زمینه و هدف: بیماری زخم پپتیک التهاب دردناکی است که در جداره داخلی معده یا بخش ابتدایی روده کوچک (اثنی‌عشر) ایجاد می‌شود. یکی از علل اصلی بیماری، عفونت هلیکوباکترپیلوری می‌باشد. TLRs ها (Toll Like Receptors) نقش بسیار مهمی به‌عنوان یک عامل هشداردهنده در تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری در سیستم ایمنی دارند. TLRها متعلق به یک گروه از گیرنده‌های تشخیص الگو سیستم ایمنی ذاتی میزبان هستند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم C1174T ژن TLR5 در بیماران مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری در جمعیت استان مازندران بود.

روش تحقیق: در این مطالعه موردی- شاهدی ۱۵۰ فرد بیمار مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری و ۱۵۰ فرد سالم، بررسی شدند. پس از استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های بیوپسی معده، فراوانی ژنوتیپی و آللی در افراد بیمار و گروه کنترل به روش Three primer ARMS PCR تعیین شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۲۳) انجام شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های CC,CT,TT در بیماران به ترتیب ۳۱/۳، ۴۹/۳ و ۱۹/۳ درصد در افراد سالم به‌ترتیب۱۶، ۴۵/۳ و ۳۸/۶ درصد بود. آنالیز آماری نشان‌دهنده ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم جایگاه C1174T ژن TLR5 و بیماری زخم پپتیک بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد حضور آلل T در موقعیت C1174T را می‌توان به‌عنوان یک عامل برای افزایش خطر ابتلا به بیماری زخم پپتیک مطرح نمود. اگرچه بررسی سایر پلی‌مورفیسم‌های ژن TLR5 در جمعیت‌های بزرگتر مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: هلیکوباکترپیلوری،زخم پپتیک، پلی مورفیسم، ژن TLR5

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۳؛ ۳۱(۲): ۱۴۹-۱۴۰.

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۵

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

***نویسنده مسئول:** گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
آدرس: تنکابن- کیلومتر۵ جاده چالوس- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی
تلفن: ۰۹۱۱۳۹۳۲۰۱۱ نمابر: ۰۱۱۵۴۲۷۴۴۰۹ پست الکترونیکی: zahmatkesh.rasoul@gmail.com

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]

مقدمه

بیماری زخم پپتیک (Peptic Ulcer Disease) از شایع‌ترین بیماری‌های گوارشی در قرن حاضر است که به دو شکل اصلی زخم معده و زخم دوازدهه می‌باشد؛ به‌طوری که ۱۰٪ افراد در مقطعی از زندگی خود به آن مبتلا می‌شوند. میزان شیوع این بیماری در مردان و زنان تقریباً باهم برابر می‌باشد. فراوانی سالانه بیماری زخم پپتیک ۱/۸٪ بوده و میزان شیوع آن در مناطق مختلف بر اساس وجود عوامل خطرساز مانند عفونت به هلیکوباکترپیلوری متفاوت می‌باشد (۱). به علت شیوع رو به افزایش زخم پپتیک، این بیماری یکی از مسائل مهم پزشکی در عصر حاضر می‌باشد. بر اساس نتایج مطالعات انجام شده در ایران، میزان شیوع زخم پپتیک در حدود ۱۳ تا ۴۷ درصد جمعیت وجود داشته و سالانه جان ۱۴۲۰ نفر را می‌گیرد (۲).

علت بروز بیماری زخم پپتیک به‌طور کامل شناخته شده نیست، ولی در بروز آن هم عوامل محیطی و هم عوامل ژنتیکی دخیل می‌باشند، دو عامل اصلی در بروز زخم پپتیک عفونت هلیکوباکترپیلوری و استفاده از داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs)[1] و استروئیدی است (۳). هلیکوباکتر پیلوری یک باسیل گرم منفی و بی‌هوازی است که در سطح مجرای پوششی معده دیده شده و در تمام گروه‌های سنی، عارض می‌شود (۴). عفونت به هلیکوباکتر پیلوری شایع‌ترین عفونت مزمن دستگاه گوارش انسان بوده و تقریباً ۵۰ درصد جمعیت جهان را مبتلا نموده که در اکثر موارد این عفونت بدون علائم بالینی و طولانی مدت است (۵). عفونت مزمن به این باکتری و التهاب علت اصلی سرطان معده نیز می‌باشد. هلیکوباکتر پیلوری به‌واسطه چندین فاکتور بیماری‌زایی خود همانند: VacA و CagA توسط تعدادی از مولکول‌های پذیرنده خود به گیرنده‌های سلول‌های اپی‌تلیالی معده متصل می‌گردد. برهمکنش این باکتری با سلول‌های اپی‌تلیالی، باعث اتصال (اتصال به کلاژن تیپ چهار و لامینین از پروتئین‌های مهم غشاء پایه) و استقرار بهتر باکتری می‌گردد. به‌دنبال آن مسیرهای آبشار پیام‌رسانی داخل سلولی شروع شده که نتیجه آن آسیب‌زایی به سلول و بافت معده میزبان و شروع تومورزایی است (۷, ۶). هلیکوباکترپیلوری از مکانیسم‌های متفاوتی برای فرار از سیستم ایمنی بدن انسان استفاده می‌نماید. یکی از سطوح سیستم دفاعی میزبان ایمنی ذاتی بوده که در آن TLR ها[2]، یک خانواده از گیرنده‌های یوکاریوتی می‌باشند و از طریق شناسایی بخش‌های خاصی (به لحاظ ساختاری مولکول‌های حفاظت شده) از باکتری‌ها، آن‌ها را شناسایی کرده و آن را به‌عنوان الگوی مولکولی در اختیار سیستم ایمنی ذاتی قرار می‌دهند (۹, ۸). TLRها به‌عنوان یک عامل هشداردهنده در تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری در سیستم ایمنی دارای نقش بسیار مهمی می‌باشند. تا کنون۱۰ نوع TLRدر انسان شناسایی شده که در آن TLR5 در شناخت هلیکوباکترپیلوری نقش مهمی را ایفا می‌نمایند (۱۱, ۱۰). ژن TLR5 بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱ قرار داشته و دارای شش اگزون می‌باشد (۱۲). TLR5 جزء گیرنده‌های سطحی سلول بوده و به‌عنوان یک عامل هشدار دهنده در تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری عمل می‌نماید. TLR5 به شدت در سلول‌های اپی‌تلیالی معده بیان شده و نقش شناسایی فلاژلین هلیکوباکترپیلوری، در زمان حمله باکتری به سطح بافت پوششی معده را بر عهده دارد (۱۳). چندین تغییر تک نوکلئوتیدی (SNP)[3] در ژن TLR5 مرتبط با بیماری‌های عفونی و التهابی متعدد انسانی گزارش شده است. در بین این تغییرات تک نوکلئوتیدی، پلی‌مورفیسم عملکردی C1174T دارای تکرار بیشتری می‌باشد. نتایج مطالعات نشان دادند که پلی مورفیسم جایگاه فوق به عنوان کدون خاتمه (Stop codon) بوده و باعث کوتاه شدن پروتئین TLR5 در موقعیت آمینو اسیدی ۳۹۲ (R392X) می‌شود (۱۴). وقوع این موتاسیون در ژن TLR5 به شدت باعث نقص در عملکرد TLR5 و اختلال در تولید فاکتورهای پیش‌التهابی مانند IL-6 شده و این اختلال امکان استعداد ابتلا به عفونت‌های باکتریایی تاژک‌دار مانند هلیکوباکترپیلوری را افزایش می‌دهد. مطالعات نشان داده که پلی‌مورفیسم فوق در ژن TLR5 باعث افزایش حساسیت در بیماری‌های التهابی و عفونی می‌گردد (۱۵).

[1] Nonsteroidal anti-inflammatory drug

[2] Toll-like receptors

[3] Single-nucleotide polymorphism

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]

با توجه به اهمیت بیماری زخم پپتیک به‌عنوان یکی از بیماری‌های شایع گوارشی و نقش مهم TLR5 در شناسایی هلیکوباکترپیلوری توسط سیستم ایمنی و با توجه به اینکه عفونت این باکتری یک عامل اصلی در بروز بیماری زخم پپتیک می‌باشد، هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم عملکردی C1174T ژن TLR5 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکترپیلوری در جمعیت استان مازندران بود.

روش تحقیق

جمع‌آوری نمونه‌ها

در این مطالعه موردی شاهدی، ۱۵۰ بیمار مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت هلیکوباکترپیلوری و ۱۵۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل، مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی نمونه‌ها پس از تشخیص و تأیید توسط پزشک فوق‌تخصص گوارش در حین آندوسکوپی جمع‌آوری شدند. از همه بیماران رضایت نامه آگاهانه شرکت در پژوهش با توجه به اعلامیه هلسینکی (ویرایش ۲۰۱۳) دریافت گردید. معیار انتخاب بیماران، افراد مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری بود. تمامی افراد بومی و ساکن استان مازندران بوده و افراد غیربومی و مسافر از مطالعه حذف شدند. افراد گروه کنترل، از بین داوطلبین سالم در محدوده سنی و جغرافیایی بیماران، بدون عفونت به هلیکوباکترپیلوری و سابقه خانوادگی زخم پپتیک انتخاب شدند. پس از معاینه کامل افراد، از هر فرد در حین آندوسکوپی، یک نمونه بیوپسی از بافت معده تهیه شد. نمونه‌ها برای استخراج DNA به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی فرستاده و تا زمان استخراج نهایی DNA در فریزر C^{0} ۷۰- نگهداری شدند.

استخراج DNA از بیوپسی معده

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

واکنش Three prime ARMS-PCR

برای ردیابی هلیکوباکترپیلوری و پلی‌مورفیسم C1174T مربوط به ژن TLR5 از آغازگرهای نام برده در جدول ۱ استفاده شد. صحت و اختصاصیت آغازگرها در سایت مرجع NCBI بلاست گردید. حجم کلی هر واکنش PCR، ۲۵ میکرولیتر شامل، ۳ میکرولیتر DNA ژنومی، ۱میکرولیتر از هرکدام از پرایمرها، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس 2X Red mastermix (آمپلیکون- ساخت کشور دانمارک) و ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل تهیه شد. شرایط بهینه دمایی جهت انجام واکنش PCR شامل: واسرشت‌سازی اولیه در دمای $95^{0}c$ (۵ دقیقه)، ۳۵ سیکل با برنامه $94^{0}c$ (۶۰ثانیه)، $58^{0}c$ (۶۰ ثانیه)، $72^{0}c$(۶۰ ثانیه) و در نهایت مرحله گسترش نهایی در $72^{0}c$ به مدت ۸ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر (مدلBio rad) انجام شد. جهت تأیید صحت انجام واکنش، محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردید و آشکارسازی باندها بر روی دستگاه Gel documentation انجام شد. برای ردیابی هلیکوباکترپیلوری از یک جفت پرایمر جهت تکثیر قطعه‌ای به طول ۳۰۵ جفت باز از ژن 16S rRNA در کنترل مثبت (جهت صحت آزمایش) و شناسایی پلی‌مورفیسم C1174T ژن TLR5، قطعه‌ای به‌طول ۲۳۰ جفت باز از این ژن تکثیر شد. برای بررسی پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی 1174 C>T ژن TLR5 از روش Three Primer ARMS-PCR استفاده و برای هر نمونه دو بار PCR انجام شد. PCR اول مربوط به پرایمر F_1 و R می‌باشد. در صورت وجود آلل C قطعه‌ای به‌طول ۲۳۰ جفت باز تکثیر یافته ولی در حضور آلل T هیچ تکثیری صورت نمی‌گیرد. PCR دوم مربوط به پرایمر F_2 و R است که در حضور آلل T قطعه مورد نظر تکثیر یافته و در حضور آلل C تکثیری انجام نمی‌شود. پس بر اساس روش مورد نظر سه ژنوتیپ CC,CT,TT قابل شناسایی می‌باشد. لازم به ذکر است که آلل C فرم سالم (Wild Type) و آلل T فرم جهش‌یافته (Mutant) است. تصویر۱ محصولات PCR را نشان می‌دهد. جهت کنترل و تأیید واکنش پلیمرازی از یک جفت پرایمر برای تکثیر قطعه‌ای به‌طول ۳۲۹ جفت باز که پلی‌مورفیسم مورد نظر در آن قرار داشت استفاده شد. درنهایت برای درستی ژنوتایپینگ، ۱۰٪ نمونه‌ها به‌طور تصادفی انتخاب و دوباره تعیین ژنوتیپ شدند(تصویر۲).

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]

جدول ۱- توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده برای پلی‌مورفیسم C1174T ژن TLR5

نام آغازگر	توالی نوکلئوتیدی	دمای اتصال
H1 primer	CTGGAGAGACTAAGCCCTCC	TM=56.6
H2 primer	AGGATCAAGGTTTAAGGATT	TM=58.4
Forward (C allele)	5'- TTA CAG ACC TTG GAT CTC T-3'	TM=60/4
Forward (Tallele)	5'-TTA CAG ACC TTG GAT CTC C-3'	TM=59/3
Common reverse	5'- CAG AAT CTG GAG ATG AGG TAC CCG-3'	TM=54/4

محاسبات آماری

به‌منظور تفسیر نتایج به‌دست آمده از بررسی‌های آزمایشگاهی از نرم‌افزار SPSS (ویرایش 23.86.64) استفاده شد. تفاوت در فراوانی ژنوتیپی و آللی در دو گروه بیمار و کنترل، با آزمون آماری کای دو (Chi-square) انجام گرفت. در آنالیزهای آماری، P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌دار بودن برای ژنوتیپ‌های دو گروه در نظر گرفته شد. در نهایت نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان ۹۵٪ (CI) محاسبه گردید.

یافته‌ها

به‌طور کلی، ۳۰۰ نمونه در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. محدوده سنی بیماران ۲۱ تا ۷۳ سال با میانگین سنی ۱۲/۴±۴۲/۳ و گروه کنترل ۱۸ تا ۶۸ سال با میانگین سنی ۱۳/۶±۴۰/۵ بودند. از ۱۵۰ فرد بیمار ۹۶ نفر مرد و ۵۴ نفر زن و در گروه کنترل ۶۹ نفر مرد و ۸۱ نفر زن قرار داشتند. با توجه به اطلاعات پرسش‌نامه‌ها تفاوت آماری معناداری از لحاظ سن و جنس در دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

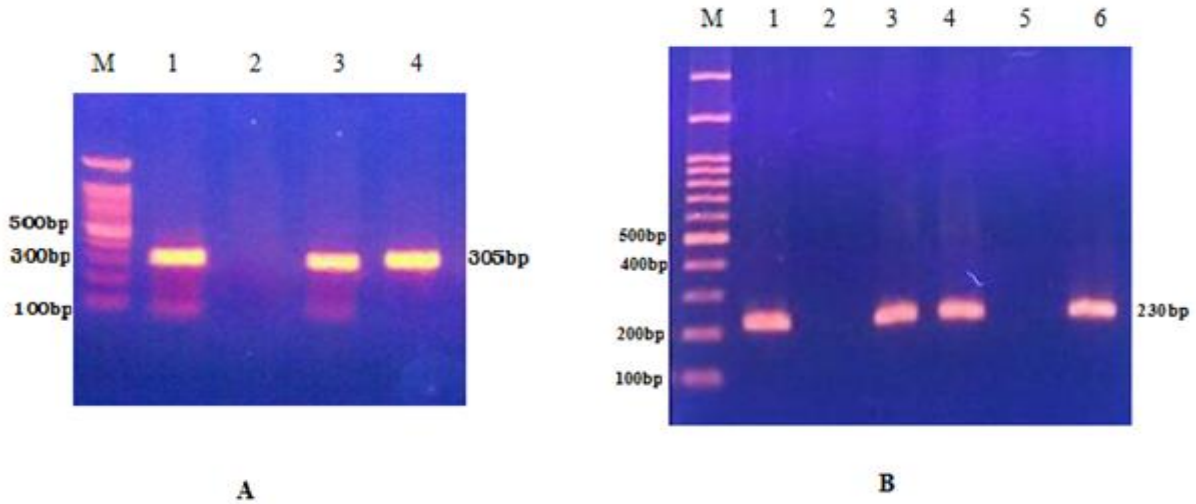
فراوانی آللی C و T در گروه بیمار دارای عفونت هلیکوباکترپیلوری به‌ترتیب ۴۳/۶ و ۵۶/۳ درصد و در گروه کنترل فراوانی آللی C و T به‌ترتیب ۶۱/۶ و ۳۸/۳ درصد بود. در بیماران فراوانی ژنوتیپ‌های CC,CT,TT به ترتیب ۳۱/۳، ۴۹/۳ و ۱۹/۳ درصد و در افراد سالم به ترتیب ۱۶، ۴۵/۳ و ۳۸/۶ درصد مشاهده شد. در جدول ۲ فراوانی ژنوتیپی و آللی به‌دست آمده برای پلی‌مورفیسم C1174T ژن TLR5 در دو گروه بیمار و سالم مشاهده می‌شود. نتایج آنالیز آماری ارتباط معناداری بین ژنوتیپ TT پلی‌مورفیسم C1174T ژن TLR5 با بیماری زخم پپتیک در جمعیت مطالعه شده نشان داد (χ2=۱۸/۱۳، P=۰/۰۰۰۳، ۲/۸۶-۱/۴۰ =CI، OR=۲). همچنین ارتباط معناداری نیز در فراوانی آللی بین دو گروه بیمار و کنترل به‌دست آمد (χ2=۱۹/۴۹ ، P=۰/۰۰۰۱، ۲۲/۷۱-۱/۱ =CI، OR=۱/۴۴) (جدول ۲). با توجه به نتایج به‌دست آمده افراد بیمار دارای ژنوتیپ TT، دو برابر بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها در معرض خطر برای بیماری زخم پپتیک قرار داشتند. با توجه به نسبت شانس به‌دست آمده آلل T احتمال خطر ابتلا به بیماری زخم پپتیک را ۱/۴۴ برابر افزایش داده است (P=۰/۰۰۰۱، ۲۲/۷۱-۱/۱= CI، OR=۱/۴۴).

جدول ۲- فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم جایگاه 1174C>T- ژن TLR5

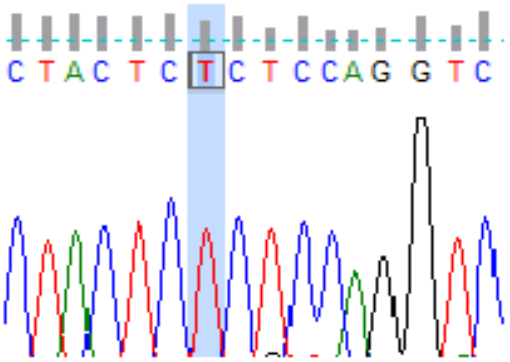
ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها	(درصد) تعداد بیماران (n=۱۵۰)	(درصد) تعداد کنترل (n=۱۵۰)	OR(95%CI)	سطح معنی‌داری
CC	۲۹(٪ ۱۹/۳)	۵۸(٪ ۳۸/۶)		
CT	۷۴(٪ ۴۹/۳)	۶۸(٪ ۴۵/۳)	۱/۴۳(۱/۱۴-۱/۸۰)	۰/۰۰۲
TT	۴۷(٪ ۳۱/۳)	۲۴(٪ ۱۶)	۲(۱/۴۰-۲/۸۶)	۰/۰۰۰۳
T	۱۶۹(٪ ۵۶/۳)	۱۱۵(٪ ۳۸/۳)	۱/۴۴(۱/۲۲-۱/۷۱)	۰/۰۰۰۱
C	۱۳۱(٪ ۴۳/۶)	۱۸۵(٪ ۶۱/۶)		-

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]

تصویر ۱- ژل آگارز ۲٪ مربوط به محصولات PCR برای ردیابی هلیکوباکترپیلوری (A) و پلی‌مورفیسم C1174T ژن TLR5 (B). تصویر A:



قطعه‌ای به طول ۳۰۵ جفت باز، چاهک M مربوط بهنشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های ۱،۳ و ۴ نشان‌دهنده حضور هلیکوباکترپیلوری و چاهک ۲ عدم حضور باکتری را نشان می‌دهد. تصویر B: تکثیر قطعه‌ای به طول ۲۳۰ جفت باز جهت ردیابی پلی‌مورفیسم C1174T ژن TLR5، چاهک M، مربوط به نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت باز، چاهک‌های ۱و۲ مربوط به ژنوتیپ CC، چاهک‌های ۳و۴ مربوط به ژنوتیپ C/T و چاهک‌های ۵و۶ مربوط به ژنوتیپ T/T می‌باشد.



تصویر ۲- تعیین توالی جایگاه پلی‌مورفیسم C1174T ژن TLR5 مربوط به فردی با ژنوتیپ T/T

بحث

یکی از بخش‌های مهم و حیاتی بدن انسان دستگاه گوارش می‌باشد که معده نقش بسیار مهمی در تجزیه مواد غذایی بر عهده دارد. از مهم‌ترین آسیب‌های معده زخم پپتیک می‌باشد (۱۶). حدود ۳۰-۴۰ سال پیش پزشکان دریافتند که عامل اصلی بروز این زخم‌ها وجود و تکثیر هلیکوباکتر پیلوری است که از راه‌های مختلفی از جمله آسیب به لایه محافظ مخاط معده موجب ایجاد زخم پپتیک می‌شود (۱۷). سیستم ایمنی ذاتی اولین خط دفاعی بدن در مقابل عوامل پاتوژن می‌باشد. TLR ها نقش بسیار مهمی در تنظیم سیستم ایمنی ذاتی و انطباقی انسان دارند (۱۸). در میان TLR ها، TLR5 نقش شناسایی فلاژلین باکتری را برعهده داشته و با

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]

شناسایی فلاژلین باعث تحریک مسیر سیگنالینگ سیستم ایمنی ذاتی می‌گردد (۱۹). مطالعات نشان داده که پلی‌مورفیسم‌های واقع شده در ناحیه پروموتری ژن TLR5 باعث توقف یا کاهش اتصال به لیگاند (پاتوژن باکتریایی) و ایجاد اختلال در پاسخ‌های ایمنی ذاتی نسبت به عامل پاتوژن می‌گردد (۲۰, ۱۵). TLR5 توسط فلاژلین تعداد زیادی از باکتری‌ها فعال شده و با انتقال پیام باعث فعال‌سازی سلول‌های کشنده طبیعی (NK cells)[1] می‌گردد. سپس با فعال نمودن فاکتور رونویسی هسته‌ای NFkB[2] تولید سیتوکین‌ها را تحریک نموده که باعث تنظیم پاسخ ایمنی ذاتی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا و تحریک کننده التهاب می‌شود. نتایج مطالعات نشان داده بیان TLR5 توسط عفونت هلیکوباکترپیلوری در بافت معده القا می‌شود. همچنین گزارش شده TLR5 نقش مهمی در تحریک ژن‌های دخیل در پاسخ ایمنی، سیتوکین‌های تنظیم کننده، سیتوکین‌های التهابی و مولکول‌های تحریک‌کننده پاسخ ایمنی تطبیقی در بافت معده دارد. ژنوتیپ TT در پلی‌مورفیسم C1174T ژن TLR5، باعث کاهش بیان و فعالیت عملکردی TLR5 می‌گردد. در بیماران دارای ژنوتیپ TT، با کاهش فعالیتTLR5 مسیر فعال‌سازی فاکتور هسته‌ای NF- kB- متوقف شده و با عدم تحریک سیتوکین‌ها، سطوح پایین‌تری از IL-1b، TNF-α، IL-6 و IL-10 در بافت معده بیان می‌شود که احتمال بروز زخم پپتیک و سرطان معده را افزایش می‌دهد (۲۲, ۲۱).

همان‌گونه که مطالعات متفاوت نشان داده، پلی‌مورفیسم ژن‌ها نقش بسیار مهمی در بروز بیماری‌های متفاوت دارند؛ چراکه وقوع پلی‌مورفیسم در بخش پروموتری ژن می‌تواند موجب تغییر در میزان رونویسی، بیان، عملکرد ژن و پروتئین گردد. در این مطالعه ۱۵۰ فرد مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت هلیکوباکترپیلوری و ۱۵۰ فرد سالم از نظر فراوانی ژنوتیپی و آللی در جایگاه C1174T ژن TLR5 مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس نتایج آماری افراد دارای ژنوتیپ‌های C/T و T/T به ترتیب حدود ۱/۷۲و۱/۸۳ برابر بیشتر در معرض ابتلا به بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکترپیلوری نسبت به افراد دارای ژنوتیپ C/C بودند. لذا احتمالاً می‌توان حضور آلل T ژن TLR5 در جایگاه C1174T، به‌عنوان یک فاکتور افزایش خطر برای بیماران مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت هلیکوباکترپیلوری مطرح نمود. در مجموع نتایج تحقیق ما و محققین دیگر بر روی سایر بیماری‌ها نشان می‌دهد جهش ایجاد شده در جایگاه فوق در ژن TLR5 نقش مهمی در بیماری مربوط به سیستم ایمنی دارد. با توجه به عملکرد ژن TLR5 در تحریک و راه‌اندازی مسیر پیام‌رسانی سیستم ایمنی در پاسخ به عوامل پاتوژن ، وجود این گونه جهش‌ها می‌تواند اثر افزایشی در استعداد ابتلا به بیماری زخم پپتیک در دستگاه گوارش انسان داشته باشند.

در یک مطالعه Eitan و همکاران در جمعیت اردن به ارتباط پلی‌مورفیسم جایگاه C1174T ژن TLR5 با بیماری زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری پرداختند، آن‌ها با مطالعه بر روی ۲۵۰ بیمار گزارش دادند ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم C1174T با عفونت هلیکوباکترپیلوری و زخم پپتیک وجود دارد. آن‌ها عنوان کردند این پلی‌مورفیسم با شدت عفونت هلیکوباکترپیلوری در گروه‌های قومی متفاوت ارتباط دارد (۲۳). در مطالعه‌ای که توسط Goda و همکاران در یک جمعیت هندی صورت گرفت، ارتباط پلی‌مورفیسم جایگاه C1174T ژن TLR5 با عفونت هلیکوباکترپیلوری را ارزیابی کردند. نتیجه مطالعه آن‌ها نشان داد ارتباط معنی‌دار بین پلی‌مورفیسم فوق با عفونت هلیکوباکترپیلوری در جمعیت مطالعه شده وجود نداشت و آن‌ها عنوان کردند که پلی مورفیسم C1174T یک فاکتور خطر ژنتیکی برای عفونت مزمن هلیکوباکتر پیلوری نمی‌باشد (۲۴). در مطالعه‌ای مشابه Xu و همکاران، نشان دادند که افراد مبتلا به سرطان معده همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری دارای پلی‌مورفیسم جایگاه C1174T در ژن TLR5 بوده و حضور آلل T را در این جایگاه به عنوان یک فاکتور خطر برای پیشرفت سرطان معده همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری مطرح نمودند (۲۵). Othaim و همکاران در سال ۲۰۲۳ یک مطالعه مروری و متاآنالیز بر روی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های متداول خانواده TLR ها با بیماری سرطان معده انجام دادند، آن‌ها با بررسی ۴۵ مطالعه متفاوت گزارش دادند تغییر

[1] Natural Killer Cells
[2] Nuclear Factor Kappa-B

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]

تک نوکلئوتیدی جایگاه C1174T در ژن TLR5 یک عامل خطر بالقوه برای سرطان معده می‌باشد (۲۶).

پلی‌مورفیسم جایگاه C1174T در ژن TLR5 با سایر بیماری‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفته است. در پژوهشی که توسط Meena و همکاران بر روی بیماری گوارشی کولیت اولسراتیو در شمال هند انجام شد، آن‌ها گزارش دادند که افراد دارای ژنوتیپ T/T در جایگاه C1174T ژن TLR5 دارای افزایش میزان خطر برای بیماری التهابی روده از نوع کولیت اولسروز هستند (۲۷). Tormanen و همکاران ارتباط پلی‌مورفیسم جایگاه C1174T ناحیه پروموتری ژن TLR5 را با بیماری برونشیت و آسم در کودکان مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها گزارش دادند که پلی‌مورفیسم C1174T با برونشیت نوزادی به علت عفونت ویروسی ارتباط دارد ولی این پلی‌مورفیسم با آسم پس از برونشیت مرتبط نمی‌باشد (۲۸).

نتایج مطالعات مختلف در جمعیت‌های گوناگون نشان‌دهنده تأثیر متفاوت عوامل ژنتیکی و محیطی بر روی بیماری زخم پپتیک است. در مطالعه ما فقط یک جهش تک نوکلئوتیدی و عملکردی در ژن TLR5 مورد بررسی قرار گرفت و سایر پلی‌مورفیسم‌های این ژن بررسی نشد. مطالعه ما بر روی جمعیت استان مازندران صورت گرفت، با این وجود مطالعات بیشتر بر روی سایر پلی‌مورفیسم‌های این ژن در جمعیت‌های بزرگتر در سایر استان‌های کشور برای درک بهتر نقش این فاکتورهای ژنتیکی در بروز بیماری حائز اهمیت می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در حالت کلی ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم 1174- C>T ژن TLR5 در این پژوهش مشاهده گردید. نتایج آماری مطالعه ما نشان داد که وجود آلل T در موقعیت 1174- C>T ژن TLR5 می‌تواند خطر ابتلا به بیماری زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکترپیلوری را در انسان افزایش دهد. با توجه به اینکه بیماری زخم پپتیک جزء بیماری‌های چندعاملی محسوب می‌گردد، بررسی سایر پلی‌مورفیسم‌ها در ژن‌های دیگر سیستم ایمنی به‌خصوص دیگر ژن‌های خانواده TLR و عوامل محیطی که در گسترش بیماری مؤثرند، لازم می‌باشد تا تأثیر عوامل مختلف در کنار هم مورد ارزیابی قرار گیرد. شناسایی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی می‌تواند درک ما را نسبت به تأثیر عوامل ژنتیکی بر روی بیماری بیشتر نماید. همچنین درک مسیرهای مولکولی برای تشخیص به موقع بیماری و شناسایی هدف‌های درمانی جدید برای زخم پپتیک بسیار مهم می‌باشد.

تقدیر و تشکّر

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه رشته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی تحت عنوان "بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم ناحیه پروموتری ژن‌های TLR5 و TLR9 با زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکترپیلوری" در مقطع کارشناسی‌ارشد با کد پروپوزال ۱۵۹۳۰۵۵۴۹۴۲۰۰۹ و حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن می‌باشد. از بخش تحصیلات تکمیلی و پرسنل آزمایشگاه تحقیقات ژنتیک مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن کمال تشکّر و قدردانی را داریم. از دکتر بهمن ساجدی، به منظور تأمین بخش اعظم نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌گردد. در نهایت از تمام افراد بیمار و سالم شرکت کننده در این پژوهش سپاس‌گزاری می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر پس از تأیید شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، توسط کمیته اخلاق آن واحد دانشگاهی با کد IR.IAU.TON.REC.1398.007 انجام شد.

حمایت مالی

این مطالعه حامی مالی نداشت.

مشارکت نویسندگان

مرتضی تاجدار جمع‌آوری نمونه‌ها و انجام آزمایش‌ها، رسول زحمتکش طراحی پژوهش، تجزیه و تحلیل داده‌های آماری، نگارش و ویرایش مقاله. مقاله نهایی توسط هر دو نویسنده تأیید شد.

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]

تضاد منافع

پژوهش حاضر وجود ندارد.

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در

منابع

1- Ren J, Jin X, Li J, Li R, Gao Y, Jingjing Zhang, 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; 31(5): 1666-76. DOI: 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 methods. J Res Med Sci. 2018; 23: 8. DOI: 10.4103/jrms.JRMS_1035_16.

3- Tuerk E, Doss S, Polsley K. Peptic ulcer disease. Prim Care. 2023; 50(3): 351-62. DOI: 10.1016/j.pop.2023.03.003

4- McConaghy JR, Decker A, Nair S. Peptic Ulcer disease and H. pylori infection: common questions and answers. Am Fam Physician. 2023; 107(2): 165-72. PMID: 36791443

5- Narayanan M, Reddy KM. Marsicano E. Peptic ulcer disease and Helicobacter pylori infection. Mo. Med. 2018; 115(3): 219–24. PMID: 30228726

6- Victor E Reyes. Helicobacter pylori and Its Role in Gastric Cancer. Microorganisms. 2023; 11(5):1312. DOI: 10.3390/microorganisms11051312.

7- Silvia Salvatori, Irene Marafini,Federica Laudisi ,Giovanni Monteleone, Carmine Stolfi. Helicobacter pylori and Gastric Cancer: Pathogenetic Mechanisms. Int. J. Mol. Sci. 2023, *24*(3), 2895; DOI: 10.3390/ijms24032895

8- Duan T, Yang, Xing Ch, Wang HY, Wang RF. Toll-Like Receptor Signaling and Its Role in Cell-Mediated Immunity. Front Immunol. 2022; 13: 812774. DOI: 10.3389/fimmu.2022.812774

9- Pachathundikandi SK, Tegtmeyer N, Backert S. Masking of typical TLR4 and TLR5 ligands modulates inflammation and resolution by Helicobacter pyliri. Trends in microbiology. 2023; 31(9): 903-15. URL: 10.1016/j.tim.2023.03.009

10- Meliț LE**,** Mărginean CO**,** Mărginean CD, Mărginean MO. The Relationship between Toll-like Receptors and Helicobacter pylori-Related Gastropathies: Still a Controversial Topic. J Immunol Res. 2019; 2019(1): 8197048. DOI: 10.1155/2019/8197048.

11- Kim JH, Byeol Namgung, JeonYJ, SongWS, Lee J,Kang SG. Helicobacter pylori flagellin: TLR5 evasion and fusion-based conversion into a TLR5 agonist. Biochem Biophys Res Commun. 2018; 505(3):872-8. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.09.179.

12- Tegtmeyer N, Neddermann M, Lind J, Pachathundikandi SK, Sharafutdinov I, Gutierrez-Escobar AJ, et al. Toll-like Receptor 5 Activation by the CagY Repeat Domains of Helicobacter pylori. Cell Rep. 2020; 32(11): 108159. DOI: https://doi.org/10.1016/j.

13- Pachathundikandi SK, Tegtmeyer N, Arnold IC, Lind J, Neddermann M, Falkeis-Veit C, et al. T4SS-dependent TLR5 activation by Helicobacter pylori infection. Nat Commun. 2019; 10(1): 5717. URL: 10.1038/s41467-019-13506-6

14- Kurz B, Arndt S, Unger P, Ivanova I, Berneburg M, Hellerbrand C, Karrer S. Association of polymorphous light eruption with NOD-2 and TLR-5 gene polymorphisms. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2022; 36(11): 2172–80. DOI: 10.1111/jdv.18364

15- Shuang C, Weiguang Y, Zhenkun F, Yike H, Jiankun Y, Jing X, et al. Toll-like receptor 5 gene polymorphism is associated with breast cancer susceptibility. Oncotarget. 2017; 8(51): 88622-9. DOI: 10.18632/oncotarget.20242

16- Alsinnari YM, Alqarni MS, Attar M, Bukhari ZM, Almutairi M, Baabbad FM. Risk Factors for Recurrence of Peptic Ulcer Disease: A Retrospective Study in Tertiary Care Referral Center. Cureus. 2022; 14(2): e22001. DOI: 10.7759/cureus.22001

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]

17- Peiffer S, Pelton M, Keeney L, Kwon EG, Ofosu-Okromah R, Acharya Y, et al. Risk factors of perioperative mortality from complicated peptic ulcer disease in Africa: systematic review and meta-Analysis. BMJ Open Gastro. 2020; 7(1): e000350. DOI:10.1136/bmjgast-2019-000350

18- Malik JA, Kaur G, Agrewala JN. Revolutionizing medicine with toll-like receptors: A path to strengthening cellular immunity. Int J Biol Macromol. 2023; 253(7): e127252. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127252

19- Yang J, Yan H. TLR5: beyond the recognition of flagellin. Cell Mol Immunol. 2017; 14(12): 1017–9. DOI:10.1038/cmi.2017.122

20- Feng S, Zhang C, Chen S, He R, Chao G, Zhang S. TLR5 Signaling in the Regulation of Intestinal Mucosal Immunity. J Inflamm Res. 2023; 16: 2491–501. DOI: 10.2147/JIR.S407521

21- Jin S, Nepal N, Gao Y. The role of toll-like receptors in peptic ulcer disease Immunol Med. 2022; 45(2): 69–78. DOI: 10.1080/25785826.2021.1963190

22- Noh J, Yoon S, Don Kim T, Inpyo Choi I,Jung H . Toll-Like Receptors in Natural Killer Cells and Their Application for Immunotherapy. J Immunol Res. 2020; 2020: 2045860. DOI: 10.1155/2020/2045860

23- AL-Eitan L, Almomani FA, Al-Khatib SM, Aljamal HA, Al-Qusami MN, Aljamal RA. Association of toll-like receptor 4, 5 and 10 polymorphisms with Helicobacter pylori- positive peptic ulcer disease in a center in Jordan. Ann Saudi Med. 2021; 41(4): 206-15. DOI: 10.5144/0256-4947.2021.206.

24- Goda V, Jayaraman M, Loganathan R, Nazeer M, Ali M, Karunakaran P. TLR5 Polymorphisms rs2072493, rs5744174, and rs5744168 Are Not Genetic Risk Factors for Chronic Helicobacter pylori Infection in Indian Tamils. Immunol Invest. 2017; 46(6): 537-43. DOI: 10.1080/08820139.2017.1319381

25- Xu T, Fu D, Ren Y, Dai Y, Lin J, Tang L. Genetic variations of TLR5 gene interacted with Helicobacter pylori infection among carcinogenesis of gastric cancer. Oncotarget. 2017; 8(19): 31016-22. DOI: 10.18632/oncotarget.16050

26- Al Othaim A, Al-Hawary SI, Alsaab HO, Almalki SG, Najm MA, Hjazi A, et al. Common variants in toll-like receptor family genes and risk of gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. Front Genet. 2023; 14: 1280051. DOI: 10.3389/fgene.2023.1280051

27- Meena NK, Ahuja V, Meena K, Paul J. Association of TLR5 Gene Polymorphisms in Ulcerative Colitis Patients of North India and Their Role in Cytokine Homeostasis. PLOS One. 2015; 10(3): e0120697. DOI: 10.1371/journal.pone.0120697

28- Törmänen S, Teräsjärvi J, Lauhkonen E, Helminen M, Koponen P, Korppi M, et al. TLR5 rs5744174 gene polymorphism is associated with the virus etiology of infant bronchiolitis but not with post- bronchiolitis asthma. Health Sci Rep. 2018; 1(6): e38. DOI: 10.1002/hsr2.38.

[DOI: 10.61186/JBUMS.31.2.140]