

Original Article

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

Morteza Tajdar¹ , 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](https://doi.org/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

بررسی پلی مورفیسم T>C1174- ژن TLR5 در بیماران مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت هلیکوباکتریلوری در استان مازندران

مرتضی تاجدار^۱، رسول زحمتکش رودسری^{۱*}

چکیده

زمینه و هدف: بیماری زخم پپتیک التهاب دردناکی است که در جداره داخلی معده یا بخش ابتدایی روده کوچک (اثنی عشر) ایجاد می شود. یکی از علل اصلی بیماری، عفونت هلیکوباکتریلوری می باشد. TLRs ها (Toll Like Receptors) نقش بسیار مهمی به عنوان یک عامل هشداردهنده در تشخیص عفونت هلیکوباکتریلوری در سیستم ایمنی دارند. TLRها متعلق به یک گروه از گیرنده های تشخیص الگو سیستم ایمنی ذاتی میزبان هستند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم C1174T ژن TLR5 در بیماران مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکتریلوری در جمعیت استان مازندران بود.

روش تحقیق: در این مطالعه موردی- شاهدی ۱۵۰ فرد بیمار مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکتریلوری و ۱۵۰ فرد سالم، بررسی شدند. پس از استخراج DNA ژنومی از نمونه های بیوپسی معده، فراوانی ژنوتیپی و آلی در افراد بیمار و گروه کنترل به روش Three primer ARMS PCR تعیین شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۲۳) انجام شد.

یافته ها: فراوانی ژنوتیپ های CC,CT,TT در بیماران به ترتیب ۳۱/۳، ۴۹/۳ و ۱۹/۳ درصد در افراد سالم به ترتیب ۱۶، ۴۵/۳ و ۳۸/۶ درصد بود. آنالیز آماری نشان دهنده ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم جایگاه C1174T ژن TLR5 و بیماری زخم پپتیک بود.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان داد حضور آلل T در موقعیت C1174T را می توان به عنوان یک عامل برای افزایش خطر ابتلا به بیماری زخم پپتیک مطرح نمود. اگرچه بررسی سایر پلی مورفیسم های ژن TLR5 در جمعیت های بزرگتر مورد نیاز است.

واژه های کلیدی: هلیکوباکتریلوری، 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

^۱ 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- کیلومتر ۵ 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

مقدمه

بیماری زخم پپتیک (Peptic Ulcer Disease) از شایع ترین بیماری های گوارشی در قرن حاضر است که به دو شکل اصلی زخم معده و زخم دوازدهه می باشد؛ به طوری که ۱۰٪ افراد در مقطعی از زندگی خود به آن مبتلا می شوند. میزان شیوع این بیماری در مردان و زنان تقریباً باهم برابر می باشد. فراوانی سالانه بیماری زخم پپتیک ۱/۸٪ بوده و میزان شیوع آن در مناطق مختلف بر اساس وجود عوامل خطر ساز مانند عفونت به هلیکوباکتریلوری متفاوت می باشد (۱). به علت شیوع رو به افزایش زخم پپتیک، این بیماری یکی از مسائل مهم پزشکی در عصر حاضر می باشد. 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 می گیرد (۲). علت بروز بیماری زخم پپتیک به طور کامل شناخته شده نیست، ولی در بروز آن هم عوامل محیطی و هم عوامل ژنتیکی دخیل می باشند، دو عامل اصلی در بروز زخم پپتیک عفونت هلیکوباکتریلوری و استفاده از داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) و استروئیدی است (۳). هلیکوباکتر پیلوری یک باسیل گرم منفی و بی هوازی است که در سطح مجرای پوششی معده دیده شده و در تمام گروه های سنی، عارض می شود (۴). عفونت به هلیکوباکتر پیلوری شایع ترین 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 می باشد. هلیکوباکتر پیلوری به واسطه چندین فاکتور بیماری زایی خود همانند: VacA و CagA توسط تعدادی از مولکول های پذیرنده خود به گیرنده های سلول های اپی تلیالی معده متصل می گردد. برهمکنش این باکتری با سلول های اپی تلیالی، باعث اتصال (اتصال به کلاژن تیپ چهار و لامینین از پروتئین های مهم غشاء پایه) و استقرار بهتر باکتری می گردد. به دنبال آن مسیرهای آشار پیام رسانی داخل سلولی شروع شده که نتیجه آن آسیب زایی به سلول و بافت معده میزبان و شروع تومورزایی است (۷).

۶). هلیکوباکتریلوری از مکانیسم های متفاوتی برای فرار از سیستم ایمنی بدن انسان استفاده می نماید. یکی از سطوح سیستم دفاعی میزبان ایمنی ذاتی بوده که در آن TLR ها، یک خانواده از گیرنده های یوکاریوتی می باشند و از طریق شناسایی بخش های خاصی (به لحاظ ساختاری مولکول های حفاظت شده) از باکتری ها، آن ها را شناسایی کرده و آن را به عنوان الگوی مولکولی در اختیار سیستم ایمنی ذاتی قرار می دهند (۸، ۹). TLR ها به عنوان یک عامل هشداردهنده در تشخیص عفونت هلیکوباکتریلوری در سیستم ایمنی دارای نقش بسیار مهمی می باشند. تا کنون ۱۰ نوع TLR در انسان شناسایی شده که در آن TLR5 در شناخت هلیکوباکتریلوری نقش مهمی را ایفا می نمایند (۱۱، ۱۰). ژن TLR5 بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱ قرار داشته و دارای شش اگزون می باشد (۱۲). TLR5 جزء گیرنده های سطحی سلول بوده و به عنوان یک عامل هشدار دهنده در تشخیص عفونت هلیکوباکتریلوری عمل می نماید. TLR5 به شدت در سلول های اپی تلیالی معده بیان شده و نقش شناسایی فلاژلین هلیکوباکتریلوری، در زمان حمله باکتری به سطح بافت پوششی معده را بر عهده دارد (۱۳). چندین تغییر تک نوکلئوتیدی (SNP) در ژن TLR5 مرتبط با بیماری های عفونی و التهابی متعدد انسانی گزارش شده است. در بین این تغییرات تک نوکلئوتیدی، پلی مورفیسم عملکردی C1174T دارای تکرار بیشتری می باشد. 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) می شود (۱۴). وقوع این موتاسیون در ژن TLR5 به شدت باعث نقص در عملکرد TLR5 و اختلال در تولید فاکتورهای پیش التهابی مانند IL-6 شده و این اختلال امکان استعداد ابتلا به عفونت های باکتریایی تازک دار مانند هلیکوباکتریلوری را افزایش می دهد. مطالعات نشان داده که پلی مورفیسم فوق در ژن TLR5 باعث افزایش حساسیت در بیماری های التهابی و عفونی می گردد (۱۵).

² Toll-like receptors

³ Single-nucleotide polymorphism

¹ Nonsteroidal anti-inflammatory drug

واکنش Three prime ARMS-PCR

برای ردیابی هلیکوباکتریلوری و پلی مورفیسم 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، ۱ میکرولیتر از هر کدام 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: واسرشت سازی اولیه در دمای 95°C (۵ دقیقه)، 35°C سیکل با برنامه 94°C (۶۰ ثانیه)، 58°C (۶۰ ثانیه)، 72°C (۶۰ ثانیه) و در نهایت مرحله گسترش نهایی در 72°C به مدت ۸ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر (مدل Bio 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 هلیکوباکتریلوری از یک جفت پرایمر جهت تکثیر قطعه‌ای به طول ۳۰۵ جفت باز از ژن 16S rRNA در کنترل مثبت (جهت صحت آزمایش) و شناسایی پلی مورفیسم C1174T ژن TLR5، قطعه‌ای به طول ۲۳۰ جفت باز از این ژن تکثیر شد. برای بررسی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی C>T 1174 ژن TLR5 از روش Three Prime 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 به طول 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 جهش یافته (Mutant) است. تصویر ۱ محصولات PCR را نشان می‌دهد. جهت کنترل و تأیید واکنش پلیمرازی از یک جفت پرایمر برای تکثیر قطعه‌ای به طول ۳۲۹ جفت باز که پلی مورفیسم مورد نظر در آن قرار داشت استفاده شد. در نهایت برای درستی ژنوتایپینگ، ۱۰٪ نمونه‌ها به طور تصادفی انتخاب و دوباره تعیین ژنوتیپ شدند (تصویر ۲).

با توجه به اهمیت بیماری زخم پپتیک به عنوان یکی از بیماری‌های شایع گوارشی و نقش مهم TLR5 در شناسایی هلیکوباکتریلوری 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 پلی مورفیسم عملکردی C1174T ژن TLR5 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریلوری در جمعیت استان مازندران بود.

روش تحقیق

جمع‌آوری نمونه‌ها

در این مطالعه موردی شاهی، ۱۵۰ بیمار مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت هلیکوباکتریلوری و ۱۵۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل، مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی نمونه‌ها پس از تشخیص و تأیید توسط پزشک فوق تخصص 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 هلیکوباکتریلوری 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 هلیکوباکتریلوری 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 -70°C 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.

جدول ۱- توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده برای پلی مورفیسم 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 (T allele)	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

به منظور تفسیر نتایج به دست آمده از بررسی های آزمایشگاهی از نرم افزار SPSS (ویرایش 23.86.64) استفاده شد. تفاوت در فراوانی ژنوتیپی و آلی در دو گروه بیمار و کنترل، با آزمون آماری کای دو (Chi-square) انجام گرفت. در آنالیزهای آماری، $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار بودن برای ژنوتیپ های دو گروه در نظر گرفته شد. در نهایت نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان ۹۵٪ (CI) محاسبه گردید.

یافته ها

به طور کلی، ۳۰۰ نمونه در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. محدوده سنی بیماران ۲۱ تا ۷۳ سال با میانگین سنی 42.3 ± 12.4 و گروه کنترل ۱۸ تا ۶۸ سال با میانگین سنی 40.5 ± 13.6 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 پرسش نامه ها تفاوت آماری معناداری از لحاظ سن و جنس در دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشد ($P > 0.05$).

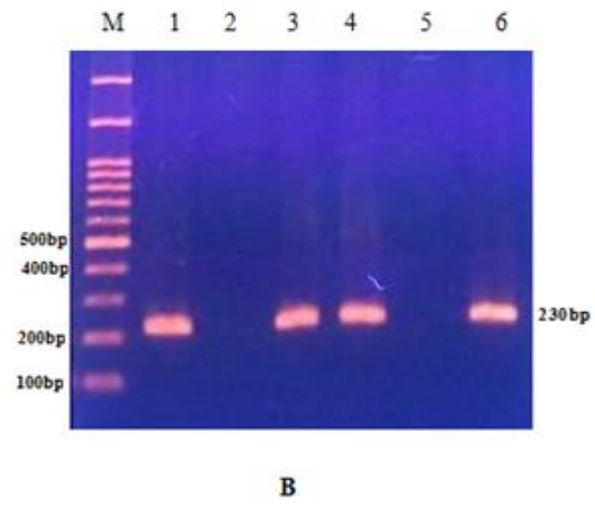
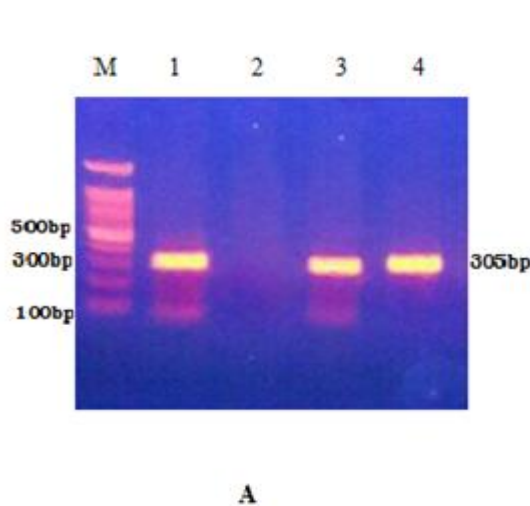
فراوانی آلی C و T در گروه بیمار دارای عفونت

هلیکوباکتریلوری به ترتیب ۴۳/۶ و ۵۶/۳ درصد و در گروه کنترل فراوانی آلی C و T به ترتیب ۶۱/۶ و ۳۸/۳ درصد بود. در بیماران فراوانی ژنوتیپ های 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 آلی به دست آمده برای پلی مورفیسم C1174T ژن TLR5 در دو گروه بیمار و سالم مشاهده می شود. نتایج آنالیز آماری ارتباط معناداری بین ژنوتیپ TT پلی مورفیسم C1174T ژن TLR5 با بیماری زخم پپتیک در جمعیت مطالعه شده نشان داد ($\chi^2 = 18.13$ ، $P = 0.0003$ ، $OR = 1.44$ ، $CI = 1.1-2.2$). همچنین ارتباط معناداری نیز در فراوانی آلی بین دو گروه بیمار و کنترل به دست آمد ($\chi^2 = 19.49$ ، $P = 0.0001$ ، $OR = 1.44$ ، $CI = 1.1-2.2$). با توجه به نتایج به دست آمده افراد بیمار دارای ژنوتیپ TT، دو برابر بیشتر از سایر ژنوتیپ ها در معرض خطر برای بیماری زخم پپتیک قرار داشتند. با توجه به نسبت شانس به دست آمده آل T احتمال خطر ابتلا به بیماری زخم پپتیک را ۱/۴۴ برابر افزایش داده است ($P = 0.0001$ ، $OR = 1.44$ ، $CI = 1.1-2.2$).

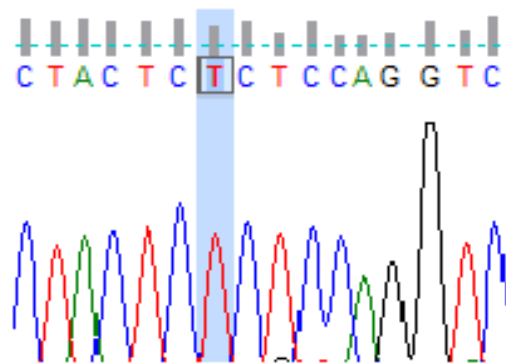
جدول ۲- فراوانی آلی و ژنوتیپی پلی مورفیسم جایگاه $C>T$ 1174- ژن TLR5

ژنوتیپ ها و آل ها	(درصد) تعداد بیماران (n=150)	(درصد) تعداد کنترل (n=150)	OR(95%CI)	سطح معنی داری
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)		-

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



قطعه‌ای به طول ۳۰۵ جفت باز، چاهک M مربوط به نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های ۱، ۳ و ۴ نشان‌دهنده حضور هلیکوباکتریلوری و چاهک ۲ عدم حضور باکتری را نشان می‌دهد. تصویر B: تکثیر قطعه‌ای به طول ۲۳۰ جفت باز جهت ردیابی پلی مورفیسم C1174T ژن TLR5، چاهک M، مربوط به نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت باز، چاهک‌های ۱ و ۲ مربوط به ژنوتیپ CC، چاهک‌های ۳ و ۴ مربوط به ژنوتیپ C/T و چاهک‌های ۵ و ۶ مربوط به ژنوتیپ T/T می‌باشد.



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

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

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

شناسایی فلاژلین باعث تحریک مسیر سیگنالینگ سیستم ایمنی ذاتی می‌گردد (۱۹). مطالعات نشان داده که پلی‌مورفیسم‌های واقع شده در ناحیه پروموتوری 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)^۱ می‌گردد. سپس با فعال نمودن فاکتور رونویسی هسته‌ای NFkB^۲ 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 هلیکوباکتریلوری 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 تحریک کننده 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 فعالیت TLR5 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 پروموتوری ژن می‌تواند موجب تغییر در میزان رونویسی، بیان، عملکرد ژن و پروتئین گردد. در این مطالعه ۱۵۰ فرد مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت هلیکوباکتریلوری 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 ۱/۷۲ و ۱/۸۳ برابر بیشتر در معرض ابتلا به بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریلوری

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 هلیکوباکتریلوری 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 هلیکوباکتریلوری پرداختند، آن‌ها با مطالعه بر روی ۲۵۰ بیمار گزارش دادند ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم C1174T با عفونت هلیکوباکتریلوری و زخم پپتیک وجود دارد. آن‌ها عنوان کردند این پلی‌مورفیسم با شدت عفونت هلیکوباکتریلوری 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 هلیکوباکتریلوری را ارزیابی کردند. نتیجه مطالعه آن‌ها نشان داد ارتباط معنی‌دار بین پلی‌مورفیسم فوق با عفونت هلیکوباکتریلوری در جمعیت مطالعه شده وجود نداشت و آن‌ها عنوان کردند که پلی‌مورفیسم C1174T یک فاکتور خطر ژنتیکی برای عفونت مزمن هلیکوباکتریلوری نمی‌باشد (۲۴). در مطالعه‌ای مشابه Xu و همکاران، نشان دادند که افراد مبتلا به سرطان معده همراه با عفونت هلیکوباکتریلوری 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 هلیکوباکتریلوری مطرح نمودند (۲۵). Othaim و همکاران در سال ۲۰۲۳ یک مطالعه مروری و متاآنالیز بر روی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های متداول خانواده TLR با بیماری سرطان معده انجام دادند، آن‌ها با بررسی ۴۵ مطالعه متفاوت گزارش دادند تغییر

¹ Natural Killer Cells

² Nuclear Factor Kappa-B

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 پروموتوری 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 پلی‌مورفیسم 1174-C>T در ژن TLR5 در این پژوهش مشاهده گردید. نتایج آماری مطالعه ما نشان داد که وجود آلل T در موقعیت C>T 1174- ژن TLR5 می‌تواند خطر ابتلا به بیماری زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکتریلوری 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 تشکر

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه رشته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی تحت عنوان "بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم ناحیه پروموتوری ژن‌های TLR5 و TLR9 با زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریلوری" 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 تشکر 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.

تضاد منافع

پژوهش حاضر وجود ندارد.

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی 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](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 methods. *J Res Med Sci*. 2018; 23: 8. DOI: [10.4103/jrms.JRMS_1035_16](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36791443/)
- 5- Narayanan M, Reddy KM, Marsicano E. Peptic ulcer disease and Helicobacter pylori infection. *Mo. Med*. 2018; 115(3): 219–24. PMID: [30228726](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30228726/)
- 6- Victor E Reyes. Helicobacter pylori and Its Role in Gastric Cancer. *Microorganisms*. 2023; 11(5):1312. DOI: [10.3390/microorganisms11051312](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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 pylori. *Trends in microbiology*. 2023; 31(9): 903-15. URL: [10.1016/j.tim.2023.03.009](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1155/2019/8197048).
- 11- Kim JH, Byeol Namgung, Jeon YJ, Song WS, 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](https://doi.org/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.celrep.2020.108159>.
- 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.7759/cureus.22001)

- 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120697)
- 28- Törmänen S, Teräsjarvi 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](https://doi.org/10.1002/hsr2.38).