

Association of the TLR9 -1486T/C Gene Polymorphism with the Risk of Peptic Ulcer Disease and *Helicobacter pylori* Infection

Morteza Tajdar, Rasoul Zahmatkesh Roodsari*

Department of Cell and Molecular Biology, Ton.C, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Received: October 28, 2024; Accepted: October 18, 2025

Abstract

Background and Aim: Peptic ulcer disease (PUD) is characterized by open sores in the lining of the stomach or duodenum, and *Helicobacter pylori* infection is a major etiological factor. Toll-like receptors (TLRs) play an important role in detecting *H. pylori* infection and regulating and activating the host immune response. TLR9 activates immune signaling pathways by recognizing bacterial DNA invading host epithelial cells. The aim of this study was to investigate the association between the TLR9 gene -1486T/C polymorphism and the risk of PUD and *H. pylori* infection.

Methods: In this case-control study, 96 patients with PUD and *H. pylori* infection and 104 healthy individuals were enrolled. The genotypic frequency of the -1486T/C polymorphism of the TLR9 gene was determined using the PCR-RFLP method, and data were analyzed by the chi-square test.

Results: Statistical analysis showed a significant difference in the frequency of the CC genotype ($P = 0.001$, CI = 1.62-8.76, OR = 3.77) and the C allele ($P = 0.0002$, CI = 1.41-3.23, OR = 2.13) between patients with PUD and *H. pylori* infection and the control group.

Conclusion: The presence of the C allele at the -1486T/C polymorphism of the TLR9 gene appears to be associated with an increased risk of peptic ulcer disease and *H. pylori* infection in the studied population. However, further studies with larger and more diverse populations are needed to confirm these findings.

Keywords: Peptic ulcer disease; *Helicobacter pylori*; polymorphism; TLR9 gene; genotype; -1486T/C

Please cite this article as: Tajdar M, Zahmatkesh Roodsari R. Association of the TLR9 -1486T/C Gene Polymorphism with the Risk of Peptic Ulcer Disease and *Helicobacter pylori* Infection. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2025;49(3):11-20.

*Corresponding Author: Rasoul Zahmatkesh Roodsari; Email: zahmatkesh.rasoul@gmail.com

Department of Cell and Molecular Biology, Ton.C Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

ارتباط پلی مورفیسم 1486T/C- ژن TLR9 با خطر ابتلا به زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتر پیلوری

مرتضی تاجدار، رسول زحمتکش رودسری*

گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۶

چکیده

سابقه و هدف: زخم پپتیک سبب بروز زخم‌های باز در پوشش معده یا دوازدهه شده و عفونت هلیکوباکتر پیلوری یک عامل اصلی بروز آن است. TLRها در تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری، تنظیم و فعال‌سازی سیستم ایمنی میزبان علیه آن نقش مهمی دارند. TLR-9، با شناسایی DNA باکتری‌های مهاجم به سلول‌های اپی‌تلیالی میزبان، مسیر سیگنالینگ سیستم ایمنی را فعال می‌کنند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم 1486T/C- ژن TLR9 با خطر ابتلا به زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتر پیلوری بود.

روش کار: در این مطالعه موردی-شاهدی، ۹۶ بیمار مبتلا به زخم پپتیک دارای عفونت به هلیکوباکتر پیلوری و ۱۰۴ فرد سالم بررسی شدند. فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم 1486T/C- ژن TLR9 با روش PCR-RFLP تعیین و داده‌ها با آزمون مجذور کای دو آنالیز شدند.

یافته‌ها: نتایج آنالیز آماری نشان داد، اختلاف آماری معناداری در فراوانی ژنوتیپی CC ($P = ۰/۰۰۱$ ، $OR = ۳/۷۷$ ، $CI = ۱/۶۲-۸/۷۶$) و فراوانی آللی C ($P = ۰/۰۰۰۲$ ، $OR = ۲/۱۳$ ، $CI = ۱/۴۱-۳/۲۳$) بین بیماران مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و کنترل مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد حضور آلل C در جایگاه پلی مورف 1486T/C- ژن TLR9 با خطر ابتلا به زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتری در جمعیت مطالعه شده مرتبط باشد. مطالعه‌های همگروهی و یا تجربی را توصیه می‌کنیم.

واژگان کلیدی: زخم پپتیک؛ هلیکوباکتر پیلوری؛ پلی مورفیسم؛ ژن TLR9؛ ژنوتیپ؛ 1486T/C-

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Tajdar M, Zahmatkesh Roodsari R. Association of the TLR9 -1486T/C Gene Polymorphism with the Risk of Peptic Ulcer Disease and *Helicobacter pylori* Infection. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2025;49(3):11-20.

*نویسنده مسئول مکاتبات: رسول زحمتکش رودسری؛ آدرس پست الکترونیکی: zahmatkesh.rasoul@gmail.com
گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران.

مقدمه

زخم پپتیک (PUD)، زخم‌های باز در دستگاه گوارش بوده که لایه عضلانی مخاط معده یا اولین قسمت دوازدهه را درگیر می‌کند. PUD یک بیماری رایج گوارشی است که میزان بروز آن بین ۱۰ تا ۱۹ درصد متغیر بوده و سالانه حدود ۴ میلیون نفر را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱، ۲). شیوع PUD در جمعیت‌های جهانی متفاوت است، اما مطالعه‌ها نشان می‌دهد که شیوع شیوع زخم‌های گوارشی در جمعیت‌های جهانی و همچنین جمعیت ایران رو به افزایش است (۳). علت PUD به طور کامل شناخته شده نیست، اما هم عوامل ژنتیکی و هم محیطی در بروز آن نقش دارند. دو عامل مهم و شایع در بروز این بیماری، عفونت هلیکوباکتریپیلوری (*H. Pylori*) و مصرف طولانی مدت داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) مانند سدیم ناپروکسن و ایبوپروفن است (۲، ۴). عفونت مزمن هلیکوباکتریپیلوری در سراسر جهان بسیار شایع بوده و در حدود ۵۰ درصد از جمعیت‌های جهان را تحت تاثیر خود قرار داده است. ریشه‌کن کردن هلیکوباکتریپیلوری به درمان PUD کمک بسیار زیادی کرده و علائم آن را به طور قابل توجهی کاهش می‌دهد (۵). عفونت هلیکوباکتریپیلوری از شایع‌ترین عفونت‌های مزمن باکتریایی در انسان است. این باکتری به واسطه چندین پروتئین بیماری‌زای خود به مخاط معده متصل شده و به دنبال این اتصال عوامل پیش‌التهابی فعال و پاسخ‌های التهابی تحریک شده که در نهایت منجر به التهاب مخاط معده می‌شود. عفونت هلیکوباکتریپیلوری از طریق برهمکنش با سیستم ایمنی میزبان شروع شده و در اثر برهمکنش فوق یک پاسخ التهابی از طریق اجزای باکتریایی، مانند لیپوپلی ساکاریدها، DNA، و غیره، آغاز می‌شود. این اجزا توسط گیرنده‌های غشایی به نام TLRها (Toll-like receptors) شناسایی می‌شوند. TLRها تنظیم‌کننده‌های ایمنی ذاتی میزبان بوده و نقش حیاتی در شناسایی لیگاند‌های مختلف با منشأ میکروبی داشته و به عنوان تنظیم‌کننده پاسخ التهابی در سیستم ایمنی شناخته می‌شوند. TLRها الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن‌ها را شناسایی کرده و مسیرهای سیگنال‌دهی درون سلولی را برای آزادسازی

سیتوکین‌ها و کموکاین‌های پیش‌التهابی فعال می‌کنند (۶، ۷). TLR9 یک عضو از خانواده TLRs بوده که ژن کدکننده آن روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۳ و در جایگاه 3p21 قرار دارد. TLR9 عمدتاً توسط نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌های B بیان شده و به عنوان خط اول دفاعی میزبان علیه پاتوژن‌ها شناخته می‌شود. همچنین TLR9 نیز توسط سلول‌های بافت اپی‌تلیالی معده انسان بیان شده و یکی از اجزای کلیدی پاسخ ایمنی ذاتی میزبان در برابر عفونت هلیکوباکتریپیلوری است (۸، ۹). TLR9 یک گیرنده غشایی اندوزومی است که می‌تواند DNA باکتری‌های مهاجم به سلول‌های اپی‌تلیالی میزبان را شناسایی کند. TLR9 به طور اختصاصی اولیگونوکلوئوتیدهای غیر متیله (CpG) در DNA هلیکوباکتریپیلوری را تشخیص داده و به دنبال آن مسیر پیام‌رسانی ایمنی میزبان علیه عفونت را تنظیم کند (۱۰، ۱۱). تحقیق‌ها نشان داده که در سلول‌های اپی‌تلیالی معده میزبان بیان TLR9 در افراد مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری نسبت به افراد سالم بیشتر است. همچنین، نتایج مطالعه‌های دیگر نشان داده که در هنگام عفونت هلیکوباکتریپیلوری، TLR9 مسیر پیام‌رسانی مربوط به فعال‌سازی فاکتورهای پیش‌التهابی و ضدالتهابی را تنظیم کرده و به عنوان یک سرکوب‌کننده التهاب (ناشی از عفونت) برای محافظت از بافت معده عمل می‌کند (۱۱، ۱۲). در پروموتور ژن TLR9 یک تغییر تک نوکلئوتیدی در جایگاه 1486T/C- (rs187084) وجود دارد که سبب تغییر در میزان بیان و تنظیم پیام‌رسانی آن می‌شود. وقوع این پلی‌مورفیسم منجر به نامتعادل شدن پاسخ سیتوکین‌های ضدالتهابی و پیش‌التهابی نسبت به التهاب شده که می‌تواند سبب التهاب مزمن در بافت معده شود. با این حال، هنوز رابطه بین پلی‌مورفیسم TLR9 و پیامدهای عفونت به هلیکوباکتریپیلوری بحث برانگیز است (۱۳، ۱۴). با توجه به چند عاملی بودن بیماری PUD و شیوع رو به افزایش آن در جامعه و همچنین اهمیت بیماری فوق به عنوان یک بیماری شایع و نقش کلیدی TLR9 در شناسایی و تنظیم پیام‌رسانی سیستم ایمنی در برابر عفونت به هلیکوباکتریپیلوری به عنوان اصلی‌ترین عامل ایجاد PUD، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین

گروه کنترل نیز شامل افراد سالم بدون ابتلا به عفونت هلیکوباکتریلوری و زخم پپتیک در خود و بستگان درجه یک در محدوده سنی و موقعیت جغرافیایی بیماران انتخاب شدند. نمونه‌های بیوپسی معده در میکروتیوپ‌های استریل برای استخراج DNA ژنومی به آزمایشگاه ژنتیک منتقل و تا زمان استخراج نهایی در فریزر 70°C - نگه‌داری شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA ژنومی از بیوپسی معده با استفاده از کیت استخراج DNA از بافت (Fafvorgen- کشور تایوان) بر اساس دستور کار آن انجام شد. سپس کیفیت DNA ژنومی استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد و رنگ‌آمیزی با safe stain (یکتا تجهیز آزما ایران) بررسی شد. همچنین درجه خلوص DNA با دستگاه نانو درآپ (اپندورف آلمان) کنترل شد.

انجام واکنش PCR و روش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ‌ها

پس از استخراج DNA ژنومی، برای تأیید حضور هلیکوباکتریلوری و تعیین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم جایگاه-1486T/C ژن TLR9 از پرایمرهای اختصاصی (شرکت TAG Copenhagen دانمارک) استفاده شد. صحت و اختصاصیت هر پرایمر در سایت مرجع NCBI بلاست شد.

پلی‌مورفیسم 1486T/C- واقع در پروموتور ژن TLR9 با PUD و عفونت هلیکوباکتریلوری در جمعیت استان مازندران از شمال ایران انجام شد.

روش کار

نمونه‌گیری

این مطالعه از نوع موردی-شاهدی که بر روی ۹۶ بیمار مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکتریلوری و ۱۰۴ فرد سالم بدون هیچ عفونتی به عنوان گروه کنترل به صورت داوطلبانه بررسی شدند. تمامی نمونه‌های بیوپسی بیماران و گروه شاهد، پس از تشخیص اولیه توسط پزشک فوق تخصص گوارش در حین آندوسکوپی از مراکز آندوسکوپی در سطح استان مازندران جمع‌آوری شدند. تعداد نمونه‌ها بر اساس جدول استاندارد نمونه‌گیری مورگان تعیین شد. از همه بیماران فرم رضایت‌نامه آگاهانه شرکت در پژوهش با توجه به اعلامیه هلسینکی دریافت شد. شرح حال بیماران شامل سن، جنس، محل سکونت و شدت بیماری بر اساس پرونده پزشکی و تکمیل پرسش‌نامه جمع‌آوری شد. معیار انتخاب بیماران، افراد مبتلا به زخم پپتیک (تایید اولیه پزشک معالج و نتیجه پاتولوژی) همراه با عفونت هلیکوباکتریلوری (تست آلودگی به هلیکوباکتریلوری مثبت) بود. افراد مبتلا به سایر بیماری‌های معده از مطالعه خارج شدند.

جدول ۱- توالی نوکلئوتیدی پرایمرها برای ردیابی هلیکوباکتریلوری و شناسایی پلی‌مورفیسم جایگاه 1486T/C-ژن TLR9

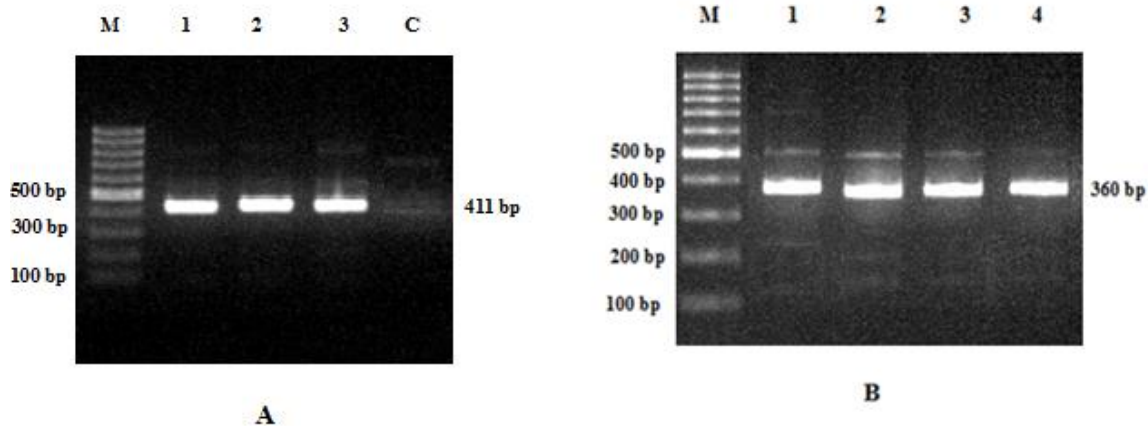
نام پرایمر	توالی نوکلئوتیدی	دمای اتصال
H F	5'-GCCAATGGTAAATTAGTT-3'	۶۳/۶
H R	5'-TGGGATTAGCGAGTATGT-3'	۶۱/۷
TLR9 F	5'- ACTATGGAGCCTGCCTGCCATGATACC- 3'	۶۱/۲
TLR9 R	5'- ATCCAGCCTTCTTACAAACCTCCCACC- 3'	۶۰/۳

Dnase Free تهیه شد. شرایط بهینه دمایی برای انجام واکنش PCR شامل: واسرشت‌سازی اولیه در 95°C (۸ دقیقه)، ۳۵ سیکل با برنامه 95°C (۳۰ ثانیه)، $60/5^{\circ}\text{C}$ (۳۰ ثانیه)، 72°C (۴۵ ثانیه) و در نهایت مرحله گسترش نهایی در

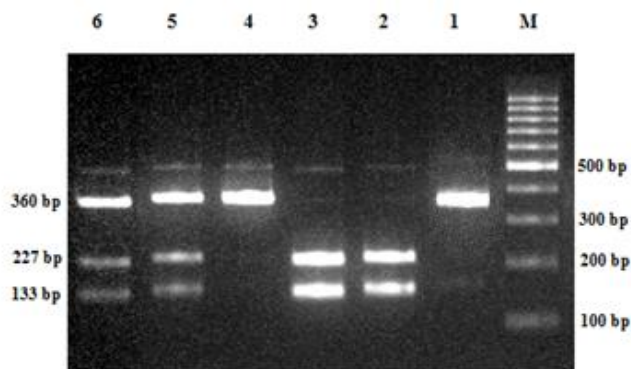
هر واکنش PCR، در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل، ۴ میکرولیتر DNA ژنومی، ۱ میکرولیتر، هرکدام از پرایمرها، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس 2X Red master mix (آمپلیکون- ساخت کشور دانمارک) و ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل

جفت پرایمر برای تکثیر قطعه‌ای به طول ۴۱۱ جفت باز از ژن 23srRNA در کنترل مثبت (صحت آزمایش) استفاده شد (شکل ۱ بخش A). برای شناسایی جایگاه پلی مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9 در مرحله اول، پس از اتمام واکنش پلیمرازی یک محصول PCR تک باندی به طول ۳۶۰ جفت باز به دست آمد (شکل ۱ بخش B).

۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر (مدل Bio rad آمریکا) انجام شد. برای بررسی کیفیت محصولات PCR هر کدام از نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز (پدیده نوژن ایران) شد و آشکارسازی باندها با رنگ آمیزی Safe stain (کیا ژن- ایران) بر روی دستگاه Gel documentation (مدل Bio rad آمریکا) انجام شد. برای ردیابی هلیکوباکتریلوری از یک



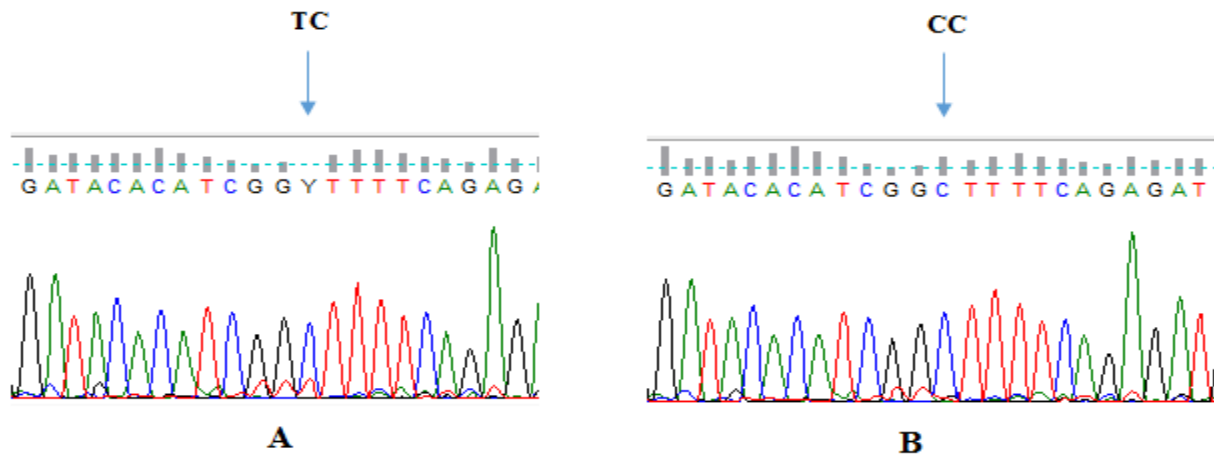
شکل ۱- ژل آگارز ۲ درصد مربوط به ردیابی هلیکوباکتریلوری (A) و محصولات PCR مربوط به ژن TLR9 (B). A: قطعه‌ای به طول ۴۱۱ جفت باز، چاهک M مربوط به مارکر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های ۱، ۲، ۳ حضور هلیکوباکتریلوری و چاهک C عدم حضور باکتری (کنترل منفی). B: چاهک M مربوط به مارکر ۱۰۰ جفت بازی و چاهک‌های ۱ تا ۴ نشان‌دهنده تکثیر قطعه‌ای به طول ۳۶۰ جفت باز.



شکل ۲- ژل آگارز ۲ درصد مربوط به ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9 پس از هضم آنزیمی با استفاده از آنزیم AflIII. چاهک M مربوط به مارکر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های ۱ و ۴ قطعه ۳۶۰ جفت بازی مربوط به ژنوتیپ TT، چاهک‌های ۲ و ۳ قطعاتی به طول ۱۳۳ و ۲۲۷ جفت باز مربوط به ژنوتیپ CC و چاهک‌های ۵ و ۶ قطعاتی به طول ۳۶۰، ۲۲۷، ۱۳۳ جفت باز مربوط به ژنوتیپ TC.

در مرحله بعد برای شناسایی ژنوتیپ‌ها ۱۰ میکرولیتر از محصولات PCR در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت توسط آنزیم AflIII هضم شد. سپس محصولات هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد. در افراد دارای ژنوتیپ TT یک باند به طول ۳۶۰ جفت باز، افراد دارای ژنوتیپ TC سه باند به طول‌های ۳۶۰، ۲۲۷، ۱۳۳ جفت بازی و در افراد دارای ژنوتیپ TT دو باند به طول‌های ۱۳۳ و ۲۲۷ جفت بازی مشاهده شد (۱۴).

برای اطمینان از نتایج ژنوتایپینگ با روش هضم آنزیمی، چند نمونه از هر ژنوتیپ (۳ نمونه) به صورت تصادفی انتخاب و تعیین توالی شدند (شکل ۳).



شکل ۳- توالی‌یابی جایگاه 1486T/C ژن TLR9 مربوط به افراد با ژنوتیپ (A) TC و ژنوتیپ (B) CC

آنالیز آماری

برای بررسی تفاوت توزیع فراوانی ژنوتیپی و آلی در دو گروه، بیمار و کنترل، از آزمون آماری مربع X^2 (Chi-square) استفاده شد. در آنالیزهای آماری، $P < 0/05$ به عنوان سطح معنادار بودن برای ژنوتیپ‌های دو گروه در نظر گرفته شد. در نهایت نیز نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان ۹۵ درصد (CI) محاسبه شد.

یافته‌ها

در مطالعه فوق، در مجموع ۲۰۰ نفر مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد ۹۶ نفر بیمار مبتلا به زخم پپتیک همراه با عفونت هلیکوباکتریلوری (گروه بیمار) و ۱۰۴ نفر دارای بافت معده نرمال بدون عفونت به هلیکوباکتریلوری (گروه کنترل) بودند. در گروه بیمار ۵۴ نفر زن و ۴۲ نفر مرد و در گروه کنترل ۶۳ نفر مرد و ۴۱ نفر زن بودند. محدوده سنی بیماران ۲۳ تا ۷۲ سال با میانگین سنی $10/7 \pm 57/6$ و محدوده سنی افراد حاضر در گروه کنترل ۱۷ تا ۶۹ سال با میانگین سنی $11/3 \pm 49/5$ بود.

همان‌گونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، فراوانی ژنوتیپ‌های TT, TC, CC مربوط به پلی مورفیسم 1486T/C- ژن TLR9 در گروه سالم به ترتیب ۱۰/۵ درصد، ۳۵/۶ درصد، ۵۳/۸ درصد و

در بیماران به ترتیب ۲۳/۹ درصد، ۴۳/۷ درصد، ۳۲/۳ درصد بود. همچنین فراوانی آلی T و C نیز در گروه کنترل ۴۶/۱ درصد و ۲۸/۳ درصد و در افراد بیمار ۵۴/۱ درصد و ۶۷/۷ درصد بود. نتایج آنالیز آماری بر اساس آزمون کای دو نشان داد که ارتباط معناداری بین فراوانی ژنوتیپ CC و بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریلوری در دو گروه مطالعه شده وجود دارد ($\chi^2 = 10/14$). در ادامه نیز مقادیر CI و OR محاسبه شد ($P = 0/001$, $OR = 3/77$, $CI = 1/62-8/76$). با توجه به نتایج به دست آمده ژنوتیپ CC احتمال ابتلا به بیماری را ۳/۷ برابر افزایش می‌دهد. از نظر فراوانی آلی، میزان فراوانی آلل C در پلی مورفیسم مورد نظر در افراد بیمار ۴۵/۸ درصد و در گروه کنترل ۲۸/۳ درصد بود. با در نظر گرفتن مقدار کای دو به دست آمده ($\chi^2 = 13/10$) تفاوت معناداری در فراوانی آلل C بین گروه بیمار و کنترل مشاهده شد. همچنین بر اساس نسبت شانس به دست آمده آلل C احتمال ابتلا به عفونت هلیکوباکتریلوری و زخم پپتیک را ۲/۱۳ برابر افزایش می‌دهد ($P = 0/0002$, $OR = 2/13$, $CI = 1/41-3/23$). با در نظر گرفتن مقدار Odds Ratio، به نظر می‌رسد که حضور آلل C در جایگاه پلی مورف - 1486T/C ژن TLR9 با زخم پپتیک و عفونت به هلیکوباکتریلوری در جمعیت مطالعه شده ارتباط دارد.

جدول ۲- فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتر پیلوری

ژنوتیپ ها و آلل ها	N=104 تعداد کنترل (درصد)	N=96 تعداد بیماران (درصد)	OR (95%CI)	P-value
TT	۵۶ (۵۳/۸ درصد)	۳۱ (۳۲/۳ درصد)	Ref	-
TC	۳۷ (۳۵/۶ درصد)	۴۲ (۴۳/۷ درصد)	۲/۰۵ (۱/۱۰-۳/۸۲)	۰/۰۲۳
CC	۱۱ (۱۰/۵ درصد)	۲۳ (۲۳/۹ درصد)	۳/۷۷ (۱/۶۲-۸/۷۶)	۰/۰۰۱
TC+CC	۴۸ (۴۶/۱ درصد)	۶۵ (۶۷/۷ درصد)	۲/۴۳ (۱/۳۷-۴/۳۵)	۰/۰۰۲
T	۱۴۹ (۷۱/۶ درصد)	۱۰۴ (۵۴/۱ درصد)	Ref	-
C	۵۹ (۲۸/۳ درصد)	۸۸ (۴۵/۸ درصد)	۲/۱۳ (۱/۴۱-۳/۲۳)	۰/۰۰۰۲

بحث

TLR9 با راه‌اندازی مسیر پیام‌رسانی به NF-kB و پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن (MAPK)، اینترفرون‌ها، سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند TNF- α ، اینترفرون گاما (γ -IFN) و اینترلوکین ۴ در سلول‌های بافت معده را القا می‌کند. پلی‌مورفیسم جایگاه 1486T/C- واقع در بخش پروموتری ژن TLR9 سبب تغییر بیان و اختلال در عملکرد پیام‌رسانی TLR9 شده که در نهایت سبب التهاب مزمن معده می‌شود (۱۸). نتایج مطالعه‌های متفاوت نشان داده که وقوع تغییرهای تک نوکلئوتیدی واقع در بخش پروموتری ژن‌ها به دلیل تغییر در سطح رونویسی و بیان ژن‌ها می‌توانند نقش مهمی در بروز بیماری‌های گوارشی داشته باشند. در یک مطالعه، Susi و همکاران به ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ناحیه پروموتری ژن TLR9 با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و خطر ابتلا به سرطان معده پرداختند. نتیجه مطالعه آنها نشان داد که ارتباط معناداری بین پلی‌مورفیسم rs187084 ژن TLR9 با افزایش خطر ابتلا به سرطان معده در جمعیت مطالعه شده وجود دارد. آنها گزارش دادند که حضور پلی‌مورفیسم rs187084 واقع در ناحیه پروموتری ژن TLR9 با افزایش خطر ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری همراه بوده و نتایج آنها نشان داد که فراوانی ژنوتیپ CC در بیماران به مراتب بیشتر از گروه کنترل است (۱۹). Qi و همکاران، در یک مطالعه متاآنالیز ارتباط بین پلی‌مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9 با سرطان معده را بررسی کردند، آنها با بررسی بر روی مطالعه‌های موردی-شاهدی متفاوت نشان دادند که پلی‌مورفیسم فوق با خطر ابتلا به سرطان

نتایج آنالیز آماری این مطالعه نشان داد که ارتباط معناداری بین پلی‌مورفیسم مورد نظر (هم از نظر فراوانی ژنوتیپی و هم از نظر فراوانی آللی) با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتر پیلوری در جمعیت مطالعه شده وجود دارد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که بین حضور آلل C در جایگاه پلی‌مورف 1486T/C-ژن TLR9 و ابتلا به آلودگی هلیکوباکتر پیلوری و بروز زخم پپتیک ارتباط وجود دارد. بیماری زخم پپتیک از شایع‌ترین بیماری‌های گوارشی بوده و عفونت به هلیکوباکتر پیلوری یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد زخم پپتیک در جمعیت‌های انسانی است. عفونت به این باکتری شایع‌ترین عفونت باکتریایی مزمن در سراسر جهان است (۱۵). اپیتلیوم معده به عنوان اولین خط دفاعی در برابر عفونت عمل کرده و گیرنده‌های TLR در سلول‌های اپیتلیالی معده، اجزای حساس باکتری را شناسایی کرده و به دنبال آن سیستم ایمنی ذاتی را فعال می‌کند. اگرچه مکانیسم ایمنی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری از طریق مسیر سیگنالینگ TLR به طور کامل شناخته شده نیست، اما مشخص شده که TLRها در شناسایی عوامل پاتوژن‌زا و تنظیم و فعال‌سازی سیستم ایمنی ذاتی نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کنند. در بین این گروه از گیرنده‌های درون غشایی، TLR9 پس از شناسایی DNA هلیکوباکتر پیلوری، سلول‌های T کمکی ۱ و ۲ (Th_1, Th_2) در ایمنی ذاتی را فعال کرده و همزمان سبب تنظیم مسیر پیام‌رسانی و فعال‌سازی فاکتورهای پیش‌التهابی و ضدالتهابی برای از بین بردن پاتوژن‌های میکروبی می‌شود (۱۷، ۱۶).

همچنین گزارش دادند، ارتباط معناداری بین ژنوتیپ CC و سویه‌های هلیکوباکتریپیلوری حامل ژن‌های حدت hsp60, sodB و vacAm1 وجود دارد. نتیجه مطالعه آنها نشان داد بیماران دارای ژنوتیپ CC پلی‌مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9، ممکن است در معرض خطر بیشتری برای ابتلا به سرطان معده باشند و وجود همزمان آن با سویه‌های هلیکوباکتریپیلوری حامل ژن‌های حدت hsp60, sod B یا vacAm1، ممکن است اثر هم‌افزایی در ابتلا به سرطان معده داشته باشد (۲۴). دلیل نتایج متفاوت مطالعه‌ها در فراوانی ژنوتیپی و آلی شاید به دلیل تعداد متفاوت نمونه‌ها و تاثیر احتمالی عوامل مختلف (ژنتیکی و محیطی) بر بیماری باشد. از محدودیت‌های مطالعه ما می‌توان به تعداد کم نمونه‌ها اشاره کرد. در این پژوهش یک تغییر تک نوکلئوتیدی واقع در پروموتور ژن TLR9 بررسی شد و سایر پلی‌مورفیسم‌ها بررسی نشد. همچنین تاثیر فاکتورهای محیطی بر بیماری نیز بررسی نشد که می‌توان این دو عامل هم جزو محدودیت‌های این مطالعه در نظر گرفت. از محدودیت‌های دیگر این مطالعه، به دلیل کم بودن موارد زخم پپتیک عاری از آلودگی هلیکوباکتریپیلوری و آلوده به هلیکوباکتریپیلوری بدون زخم پپتیک، نتوانستیم گروه‌های چهارگانه شامل: سالم، مبتلا به زخم پپتیک بدون آلودگی هلیکوباکتریپیلوری، آلوده به هلیکوباکتریپیلوری بدون زخم پپتیک و آلوده به هلیکوباکتریپیلوری همراه با زخم پپتیک را تأمین کنیم. با توجه به چند عاملی بودن بیماری زخم پپتیک و اینکه عوامل متعدد ژنتیکی و محیطی در بروز و گسترش آن نقش دارند. برای درک بهتر نقش عوامل ژنتیکی نیاز به مطالعه‌های گسترده تر بوده و باید عوامل متعدد در کنار یکدیگر و اثر متقابل آنها بر هم بررسی شود.

وجود هلیکوباکتر پیلوری در مخاط معده عامل مهمی برای زخم پپتیک است. مشخص شده که این باکتری می‌تواند به شدت به سلول‌های اپی‌تلیال معده متصل و پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی را القا کند. از سوی دیگر TLR9 نقش مهمی در شناسایی باکتری دارد، چراکه با تنظیم مسیر پیام رسانی NF-κB سبب ایجاد پاسخ ایمنی قوی‌تری می‌شود. وقوع این

معده ارتباط داشته و ژنوتیپ CC در بیماران مبتلا به سرطان معده به‌طور چشمگیری بالاتر بود (۲۰). در یک مطالعه، Hamady و همکاران به ارتباط بین پلی‌مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9 با گاستریت شدید همراه با عفونت هلیکوباکتریپیلوری و فاکتورهای بیماری‌زایی آن پرداختند. آنها نشان دادند که بیماران دارای ژنوتیپ CC نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها ریسک بالاتری برای ابتلا به گاستریت شدید دارند و یک اثر هم‌افزایی بین ژنوتیپ CC و هلیکوباکتر پیلوری حامل ژن‌های hsp60 و vacA s1/m1 مشاهده کردند که منجر به گاستریت شدید می‌شود (۲۱). Gao و همکاران ارتباط پلی‌مورفیسم rs187084 با عفونت هلیکوباکتر و سرطان معده غیر کاردیا را در جمعیت چین بررسی کردند. آنها با مطالعه بر روی ۲۸۸ بیمار گزارش دادند که پلی‌مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9 ممکن است با خطر ابتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری ارتباط داشته، ولی با بیماری سرطان معده غیرکاردیا ارتباطی ندارد (۲۲). در یک مطالعه، Liang و همکاران ارتباط بین پلی‌مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9 و خطر ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری را بررسی کردند. آنها در کنار مطالعه خود یک مطالعه متاآنالیز هم انجام دادند. نتیجه مطالعه آنها نشان داد که پلی‌مورفیسم rs187084 در ژن TLR9 نقش حیاتی در خطر ابتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری داشته و ژنوتیپ CC خطر ابتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری را در جمعیت جنوب چین افزایش می‌دهد. اما نتیجه مطالعه متاآنالیز آنها ارتباط معناداری بین پلی‌مورفیسم مورد نظر ژن TLR9 با خطر ابتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری در جمعیت چین نشان نداد. آنها عنوان کردند، پس از درک تأثیر پلی‌مورفیسم ژن TLR9 بر عفونت هلیکوباکتریپیلوری، می‌توان خطر عفونت هلیکوباکتریپیلوری را بهتر ارزیابی کرد (۲۳). در یک مطالعه، Sultan و همکاران به ارتباط بین پلی‌مورفیسم-1486T/C ژن TLR9 با عملکرد ژن‌های حدت cagA, sodB, hsp60 و vacA هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به سرطان معده پرداختند. آنها گزارش دادند که فراوانی ژنوتیپ CC مربوط به پلی‌مورفیسم 1486T/C- در بیماران مبتلا به سرطان معده در مقایسه با افراد سالم، به طور توجهی بالاتر بود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل بخشی از پایان نامه شماره ۳۰۵۵۴۹۴۲۰۰۹ آقای مرتضی تاجدار برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی علوم سلولی و مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن بود.

از مشارکت‌کنندگان محترم و تمامی بزرگوارانی که در اجرای پژوهش حاضر ما را یاری کردند، سپاسگزاریم.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافی را گزارش نکرده‌اند.

پلی‌مورفیسم در پروموتور ژن TLR9 بر بیان آن مؤثر بوده و می‌تواند بر توسعه و تظاهرات بالینی بیماری تأثیرگذار باشد. الگوی پاسخ ایمنی میزبان، همراه با عوامل ژنتیکی، برای درک آسیب‌شناسی هلیکوباکتریپیلوری ضروری است. شناسایی این تغییرهای تک نوکلئوتیدی می‌تواند درک ما را نسبت به شناخت مسیرهای مولکولی بیشتر کرده و همچنین می‌تواند در تعیین ژنوتیپ مستعدکننده مفید باشد، تا از این طریق، توانایی تشخیص سریع و غربال‌گری افراد مستعد به هلیکوباکتریپیلوری افزایش یابد. نتایج آنالیز آماری این مطالعه نشان داد که افراد دارای ژنوتیپ CC شانس بیشتری برای ابتلا به بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریپیلوری دارند. از نظر فراوانی آللی نیز ارتباط معناداری بین فراوانی آلل C در افراد بیمار نسبت به گروه سالم مشاهده شد. بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان حضور آلل C را به عنوان یک فاکتور مرتبط برای ابتلا به بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریپیلوری معرفی و حضور آلل T را می‌توان به عنوان یک فاکتور محافظتی در برابر بیماری و عفونت مطرح کرد. مطالعه فوق بر روی جمعیت کوچکی در استان مازندران از شمال ایران انجام شد. برای درک بهتر ارتباط پلی‌مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریپیلوری نیاز به مطالعه بر روی جمعیت‌های بزرگ‌تر در نقاط متفاوت ایران است.

نتیجه‌گیری

در مطالعه ما ارتباط معناداری بین پلی‌مورفیسم 1486T/C-ژن TLR9 با بیماری زخم پپتیک و عفونت هلیکوباکتریپیلوری در جمعیت مطالعه شده مشاهده شد. مطالعه‌های همگروهی و تجربی توصیه می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه، در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن بررسی و با کد اخلاق IR.IAU.TON.REC.1398.007 ثبت شده است.

تأمین بودجه

این پژوهش حامی مالی نداشت.

References

1. Laucirica I, Iglesias, P.G, Calvet X. Peptic Ulcer, Ulcera Peptica. *Medicina Clínica* 2023; 161(6):260-266.
2. Alsinnari Y.M, Alqarni M.S, Attar M, Bukhari Z.M, Almutairi M, Baabbad F.M, et al. Risk Factors for Recurrence of Peptic Ulcer Disease: A Retrospective Study in Tertiary Care Referral Center. *Cureus* 2022; 14(2):e22001.
3. Sayehmiri K, Abangah G, Kalvandi Gh, Tavana H, Aazam S. Prevalence of peptic ulcer in Iran: Systematic review and meta-analysis methods. *J Res Med Sci* 2018; 23:8.
4. Narayanan M, Reddy KM, Marsicano E. Peptic ulcer disease and Helicobacter pylori infection. *Mo Med* 2018; 115:219–224.
5. He X, Li L, Lu C. Eradicate Helicobacter pylori first, or treat peptic ulcer disease? *SAGE Open Medicine* 2023; 11:1-6.
6. Tang K, McLeod L, Livis T, Alison C, Dawson W.R, Yu L, et al. Toll-like Receptor 9 Promotes Initiation of Gastric Tumorigenesis by Augmenting Inflammation and Cellular Proliferation. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2022; 14(3):567-586.
7. Kircheis R and Planz O. The Role of Toll-like Receptors (TLRs) and Their Related Signaling Pathways in Viral Infection and Inflammation. *Int J Mol Sci* 2023; 24(7):6701.
8. Miyake K, Shibata T, Fukui R, Sato R, Saitoh Sh, Murakami Y. Nucleic Acid Sensing by Toll-Like Receptors in the Endosomal Compartment. *Front Immunol.* 2022; 23 : (13): 941931.
9. Yang X, Zhang L, Sha S, Huang J, Peng J, Wen L, et al. Tlr9 deficiency in B cells leads to obesity by promoting inflammation and gut dysbiosis. *Nat Commun* 2024; 18:15(1):4232.
10. Xiulin Z, Ke Z, Linlin Y, Pengfei W, Fan Z, Shoukui H. Role of toll-like receptors in immune tolerance induced by Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2023; 28(6):E13020.
11. Jin Sh, Nepal N, Gao Y. The role of toll-like receptors in peptic ulcer disease. *Immunol Med* 2022; 45(2):69-78.
12. Meliț L.E, Marginean C.O, Mărginean C.D, Mărginean M.O. The Relationship between Toll-like Receptors and Helicobacter pylori-Related Gastropathies: Still a Controversial Topic. *J Immunol Res* 2019; 2019: e 8197048.
13. Wang X, Xue L, Yang Y, Xu L, Zhang G. TLR9 promoter polymorphism is associated with both an increased susceptibility to gastric carcinoma and poor prognosis. *PLOS One* 2013; 128(6):e65731.
14. Hegazyc M.K, Auf F.A, Neseem N.O, Al-Harrass M.F. Toll-like receptor (TLR9) -1486 T/C (rs187084) gene polymorphism in Egyptian patients with rheumatoid arthritis. *The Egyptian Rheumatologist.* 2019; 41(3): 173-176
15. Malfertheiner P, Camargo M.C, El-Omar E, Liou J.M, Peek R, Schulz C, et al. Helicobacter pylori infection. *Nature Reviews Disease Primers* 2023; 9(19):1-24.
16. Zhang X, He Y, Zhang X, Fu B, Song Z, Wang L, et al. Sustained exposure to Helicobacter pylori induces immune tolerance by desensitizing TLR6. *Gastric Cancer* 2024; 27(2):324–342.
17. Cheok Y.Y, Yi Tan G.M, Qin Lee C.Y, Abdullah S, Looi C.Y, Wong W.F, Innate Immunity Crosstalk with Helicobacter pylori: Pattern Recognition Receptors and Cellular Responses. *Int J Mol Sci* 2022; 23(14):7561.
18. Kou M, Wang L. Surface toll-like receptor 9 on immune cells and its immunomodulatory effect. *Front Immunol* 2023; 14(1):1259989.
19. Susi M.D, Caroline M.L, Lucas Rasmussen T, Payao S.L.M, Rossi A.F.T, Silva A.E, et al. Toll-like receptor 9 polymorphisms and Helicobacter pylori influence gene expression and risk of gastric carcinogenesis in the Brazilian population. *World J Gastrointest Oncol* 2019; 11(11):998-1010.
20. Qyi Y.Z, Aung H.H, Aye S.N, Tung W.S , Naing C. Toll-like receptor 9 (-1237 T/C, -1486 T/C) and the risk of gastric cancer: a meta-analysis of genetic association studies. *BMC Cancer* 2023; 23:1027.
21. Marei Y.E, Mansour B, Ahmed S.A, Nassar H.S.A, Nasr E.F, Ehamady A.B. Impact of TLR9 gene Polymorphism on Severity of Helicobacter pylori Infection and Its Association with Virulence genes. *Egyptian Journal of Medical Microbiology* 2024; 33(1):99-110.
22. Gao F, Qin J, Wei X, Tian X, Dong W, Dang T, et al. Polymorphisms of TLR9 gene are associated with a decreased risk of H. pylori infection in a Chinese population. *Transl Cancer Res* 2020; 9(2):683–689.
23. Liang Y, Wang D. TLR9 gene polymorphism confers risk to Helicobacter pylori infection in Jiangsu, China and its inspiration for precision nursing car. *Technol Health Care* 2024; 32(5):3073-3082.
24. Sultan A.M, Shenouda R, Sultan A.M, Shehta A, Nabil Y. The Relation Between Host TLR9 - 1486T/C, rs187084 Gene Polymorphisms and Helicobacter pylori cagA, sodB, hsp60, and vacA Virulence Genes among Gastric Cancer Patients. *PJM* 2022; 71(1): 35–42.