ژنتیک نوین
دوره شانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰
صفحه ۱۶ - ۹

بررسی تغییرات سطوح بیانی ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* در بافت معده بیماران مبتلا به گاستریت

Examining of relative alternations in the expression of *CHEK2*, *DCLRE1C* and *XRCC4* genes in patients with Gastritis

امیراتابک رجایی[۱]، علی رشیدی‌نژاد*[۲،۳]، مسعود آل‌بویه[۴]، رضا شیرکوهی[۳،۵]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تخصصی ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات مادر، جنین و نوزاد، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- بخش ژنتیک، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- دانشیار، گروه ژنتیک مولکولی، مرکز تحقیقات سرطان، انستیتوکانسر، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Rajaei A[1], Rashidi-Nezhad A*[2,3], Alebouyeh M[4], Shirkoohi R[3,5]

1-McS Student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Maternal, Fetal and Neonatal Research Center, Imam Khomeini Hospital Complex, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Genetic Ward, Imam Khomeini Hospital Complex, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Pediatric infections Research Center, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5- Associate Professor, Molecular Genetic Department, Cancer Research Center, Cancer Institute, Imam Khomeini Hospital Complex, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: arashidinezhad@tums.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۳/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۸)

چکیده

گاستریت یکی از شایع ترین بیماری‌های درگیرکننده معده انسان می‌باشد. این بیماری در اغلب موارد هیچ نشانه‌ای از خود نشان نمی‌دهد و اگر تحت درمان قرار نگیرد می‌تواند سبب پاسخ التهابی مزمن، متاپلازی روده‌ای، آتروفی، و سرطان در بافت معده شود. شکسته شدن دو رشته DNA و فعال‌سازی مسیرهای ترمیم DNAی مستعد خطا در پی گاستریت ناشی از باکتری *Helicobacter pylori* می‌تواند منجر به تجمع جهش‌ها و بی‌ثباتی ژنومی شود که ممکن است باعث بروز سرطان معده شود. به‌منظور تایید این فرضیه بیان ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* که در توقف چرخه سلولی و ترمیم شکست‌های دورشته‌ای نقش دارند، در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. ۱۸۰ نمونه بیوپسی بافت معده از مراجعه کنندگان برای انجام آندوسکوپی تهیه شد. از این تعداد، ۶۰ نمونه که دارای معیارهای ورود به مطالعه بودند انتخاب شدند و به ۲ گروه مورد (گاستریت مزمن متوسط با آلودگی *H. pylori*) و شاهد (گاستریت مزمن خفیف بدون آلودگی *H. pylori*) تقسیم‌بندی شدند. استخراج RNA این نمونه‌ها صورت گرفت و پس از سنتز cDNA، در نهایت توسط روش Real Time PCR میزان سطوح تغییرات بیان ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* در گروه مورد در مقایسه با شاهد سنجیده شد. ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* در گروه مورد نسبت به شاهد به‌ترتیب ۸/۵ برابر (SD±۸/۸۶)، ۷/۶ برابر (SD±۱۳/۰۹)، و ۴/۳ برابر (SD±۱۲/۷) افزایش سطح بیان داشتند. افزایش سطوح تغییرات بیان ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* در بافت معده گروه مورد نسبت به شاهد ممکن است نشان‌دهنده فعال شدن ژن‌های مسیر نوترکیبی غیرهومولوگ در اثر عفونت *H. pylori* باشد.

واژه‌های کلیدی

شکست‌های دو رشته‌ای
گاستریت
مسیرهای ترمیم مستعد خطا
CHEK2
DCLRE1C
Helicobacter pylori
XRCC4

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.1.8.6]

مقدمه

باکتری *Helicobacter pylori* در سال ۱۹۹٤ توسط سازمان بین المللی تحقیقات سرطان (IARC) در سازمان بهداشت جهانی (WHO) به‌عنوان یک عامل سرطان‌زای گروه ۱ معرفی شده است (IARC 1994). تاکنون به‌دنبال مطالعات اپیدمیولوژیک و میکروب شناسی سلولی انواع مختلفی از عوامل بیماری‌زایی در این باکتری، از جمله انکوپروتئین CagA وسیتوتوکسین VacA، و همچنین تحریک سیستم ایمنی منتج از میانکنش این عوامل با میزبان، به‌عنوان دلایل بروز سرطان در مبتلایان معرفی شده است. این میانکنش‌ها می‌توانند سبب براه افتادن آبشار سیتوکینی در بافت معده و به‌دنبال آن جلب و تمایز سلول‌های ایمنی سیستمیک و موضعی شده، که خود منجر به رخدادهای ژنتیکی ثانویه غیرقابل بازگشت در این عضو می‌شود.

سرطان معده سومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان‌ها در جهان می‌باشد (Ge et al. 2018). از آنجا که نشانگرهای زیستی سرطان معده، به اندازه کافی حساس و اختصاصی برای تشخیص این بیماری نیستند، از روش آندوسکوپی تحت عنوان یک روش تهاجمی معمول، در تشخیص سرطان معده استفاده می‌شود (Yoo et al. 2017). گاستریت مزمن، دیگر بیماری درگیر کننده معده، به‌عنوان یک بیماری التهابی چند مرحله‌ای، پیشرونده و طولانی مدت مشخص می‌شود (Sipponen and Maaroos 2015). مطالعات نشان داده‌اند که بین سرطان معده و گاستریت، ارتباط وجود دارد (Rugge et al. 2019). در مورد مکانیسم مولکولی سرطان معده اسناد متعددی وجود دارد که بر نقش ژن‌های بی‌شمار در شروع و پیشرفت این بیماری تأکید دارند (Zali et al. 2011). ژنتیک گاستریت مزمن به‌ویژه نوع مرتبط آن با *H. pylori* نشان داد که ژن‌های مختلف در رشد این بیماری، نقش دارند (Moss et al. 1994).

القای پلی‌مورفیسم‌ها، شکست‌های تک رشته‌ای و دو رشته‌ای در DNA سلول‌های بافت معده از جمله رخدادهای ژنتیکی شناخته شده مبتلایان به سرطان معده می‌باشد (Cover And Blaser 1992) که فعال‌سازی مسیرهای ترمیم را از طریق (HR) Homologous Recombination و Non-Homologous (NHEJ) End Joining به‌دنبال دارند (Takata et al. 1998). مسیر ترمیمی NHEJ بیشتر مستعد خطا می‌باشد، زیرا از هیچ‌گونه الگوی مکمل DNA جهت ترمیم مناطق آسیب دیده استفاده نمی‌کند و این امر می‌تواند سبب بروز ناپایداری ژنومی پس از ترمیم DSB (Double strand break) شود (Lieber et al. 2010). مطالعات نشان داده‌اند که آسیب DNA می‌تواند سبب توقف چرخه سلولی شود تا سلول فرصت لازم جهت ترمیم آسیب DNA و اطمینان از صحت DNA جهت انتقال به نسل‌های بعدی سلول به‌دست آید (Hanada et al. 2014). NHEJ می‌تواند ریسک ابتلا به سرطان در بیماران را به‌واسطه تجمع موتاسیون‌های حذف شدگی و اضافه شدگی افزایش دهد (Mao et al. 2008). از آنجاکه اطلاعات کمی در رابطه با نقش عفونت *H. pylori* و شکستگی DSB و القای مکانیسم ترمیم NHEJ در مبتلایان وجود دارد، در این مطالعه به‌منظور بررسی احتمال دخالت *H. pylori* در ایجاد آسیب DNA در مراحل اولیه گاستریت معده، به سنجش بیان ژن‌هایی پرداخته شد که در توقف چرخه سلولی (*CHEK2*) و نیز فعال‌سازی مسیر NHEJ نقش ایفا می‌کنند.

مواد و روش‌ها

روش و چگونگی نمونه‌گیری جهت بررسی آندوسکوپیک و هیستوپاتولوژیک ضایعات معده در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه و پس از تائید مفاد آن در کمیته اخلاق پزشکی، به اجرا گذاشته شد. با هماهنگی صورت گرفته با واحد آندوسکوپی بیمارستان فیروزگر تهران، تعداد ۱۸۰ نمونه بیوپسی از بافت معده بیماران مبتلا به ضایعات مختلف هیستوپاتولوژیک در بازه زمانی ٦ ماه اول سال ۱۳۹۸، تهیه شد و در تمامی موارد از افراد شرکت کننده در مطالعه، رضایت نامه تهیه شد. در نهایت نمونه‌هایی که دارای معیارهای ورود به مطالعه یعنی دارای گاستریت مزمن خفیف یا متوسط و آلودگی یا عدم آلودگی با باکتری *H. pylori* بودند، مورد مطالعه قرار گرفتند. معیارهای خروج از مطالعه شامل: افراد دارای گاستریت حاد، افراد دارای سرطان معده در سطوح مختلف، بیماران دارای سابقه جراحی‌های دستگاه گوارش، بیماران مصرف‌کننده آنتی بیوتیک در سه هفته

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.1.8.6]

گذشته، و افراد دارای متاپلازی روده‌ای، نئوپلازی و دیسپلازی است.

بررسی هیستوپاتولوژیک بیوپسی‌های تهیه شده، توسط واحد پاتولوژی بیمارستان فیروزگر تهران (شش ماه اول سال ۱۳۹۸) صورت گرفت. شاخص‌های تشخیصی جهت ارزیابی گاستریت بر اساس Updated Sydney classification of Gastritis طبقه‌بندی شد (Dixon et al. 1996). همچنین بررسی کشت میکروبی نمونه‌های تهیه شده در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت گرفت.

برای استخراج RNA از نمونه‌های بیوپسی، از کیت استخراج RNA شرکت پارس توس (به شماره کاتالوگ A101231) استفاده شد. کمیت و کیفیت RNA استخراجی توسط دستگاه طیف سنج نانودراپ ۱۰۰۰ تعیین شد. RNA استخراج شده بلافاصله برای انجام مرحله نسخه‌برداری معکوس و ساخت cDNA توسط کیت شرکت پارس توس (به شماره کاتالوگ A101161) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور همسان‌سازی غلظت cDNAهای تولید شده، قبل از انجام واکنش تولید cDNA رقیق‌سازی RNAها توسط آب‌مقطر فاقد DNase و RNase به غلظت تقریبی ۲۵۰ ng/µl صورت گرفت و غلظت نهایی توسط نانودراپ تائید شد.

طراحی آغازگرهای اختصاصی برای ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C*، *XRCC4* و *B2M* با استفاده از نرم‌افزار Primer3 (نسخه ٤,١,٠) انجام شد. سپس با استفاده از ابزارهای قدرتمند Blast و Oligo Analyzer از یکتا بودن محل جفت آغازگرها و ساختمان فضایی آن‌ها اطمینان حاصل شد. ساخت و تولید آغازگرها توسط شرکت متابیون آلمان صورت گرفت (جدول۱). در خلال این مطالعه ژن *B2M* به‌عنوان ژن کنترل یا Housekeeping gene انتخاب شد.

برای اندازه‌گیری برای ژن‌ها از واکنش Real time PCR بر اساس روش استاندارد به‌صورت نسبی صورت گرفت. تعیین کمیت نسبی در Real Time PCR به‌وسیله اندازه‌گیری افزایش تشعشع فلورسانس در نتیجه اتصال رنگ سایبرگرین با استفاده از دستگاه واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در لحظه (Qiagen, Rotorgene 5-plex محصول سال ۲۰۱٦ در کشور آلمان) انجام گرفت. اجزای واکنش PCR Real Time در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر در جدول ۲ نمایش داده شده است.

جدول ۱- توالی آغازگرهای اختصاصی طراحی شده ژن‌های *B2M*، *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4*

توالی پرایمر	Tm(°C)	طول محصول هدف(bp)
B2M-Forward: AGATGTCTCGCTCCGTGG	۸/۵۸	۸۵
B2M-Reverse: TGAATCTTTGGAGTACGCTGG	۰۳/۵۸	
CHEK2-Forward: TTTGCCAATCTTGAATGTGTGAATG	۳/۵۹	۱۸۹
CHEK2-Reverse: GCCACTGTGATCTTCTATGTATGC	۵۵/۵۹	
DCLRE1C-Forward: CAACAGACCGCAACACTCAGA	۸۱/٦۰	۱۹۸
DCLRE1C-Reverse: ATGAACTCTCTCCAGTCCTCACA	۵/٦۰	
XRCC4-Forward AGGCTTCTGAGAGATTGGAATGATG	٦۹/٦۰	۲۰۰
XRCC4-Reverse: GCAGTTTCCCCTTCTTGTTTGATG	۸/٦۰	

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.1.8.6]

جدول ۲- اجزای واکنش استاندارد Real Time PCR

اجزای واکنش	حجم مصرفی اجزای واکنش
SYBR Green Master Mix 2X(BioFACT)	۵ µL
cDNA (250 ng/µl)	۱ µL
Forward and Reverse primer (5 pmol/µL)	۱ µL
ddH_2O	۳ µL
حجم نهایی واکنش ۱۰ µL	

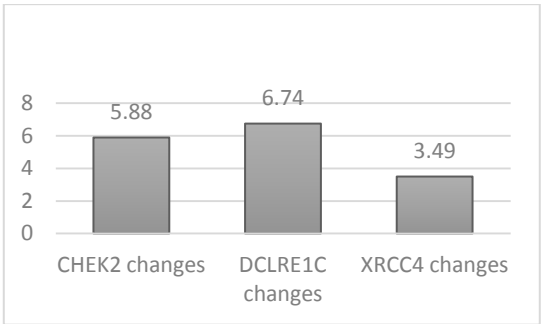
همچنین برنامه حرارتی برای تکثیر هر٤ ژن با استفاده از روش Real Time PCR یکسان و طبق جدول ۳ بود. رسم منحنی ذوب به‌وسیله اندازه‌گیری تغییرات میزان فلورسانس در زمان‌های مختلف توسط دستگاه Real Time PCR صورت گرفت. در تمامی مراحل Real Time PCR از یک نمونه کنترل منفی جهت اطمینان از عدم آلودگی Master Mix واکنش، استفاده شد. کنترل منفی از آب، پرایمرها و Master Mix تهیه شده است و به‌عنوان یک نمونه همانند نمونه‌های دیگر در واکنش PCR قرار گرفت. پس از انجام واکنش تکثیر به روش Relative Quantitative Real Time PCR داده‌های خام به‌صورت Ct (Cycle Threshold) از دستگاه استخراج شد و در نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 وارد شد و توسط فرمول $RQ = 2^{-\Delta\Delta CT}$ تغییرات بیان ژن‌ها محاسبه شد. تمام تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار SPSS (Statistical package for the social science نسخه ۲۳) انجام شد. تست Chi-square جهت بررسی ارتباط بین متغیرهای کیفی استفاده شد. همچنین برای مقایسه اطلاعات کمی و کیفی از تست Independent-Samples T test استفاده شد. تفاوت‌ها در صورتی معنی‌دار در نظر گرفته شدند که $p \leq 0.05$ باشد. آنالیز داده‌ها به‌صورت بدون نام انجام گرفت و اطلاعات حاصل از آن به‌صورت محرمانه در اختیار مسئول پژوهش قرار گرفت. از مجموع ۱۸۰ فرد مراجعه کننده، در نهایت ٦۰ نفر به‌عنوان جامعه آماری مورد مطالعه در این پژوهش که دارای معیارهای ورود به مطالعه بودند، در نظر گرفته شدند. بر این اساس ۳۰ نفر دارای گاستریت مزمن خفیف بدون عفونت هلیکوباکتر پیلوری به‌عنوان گروه شاهد و ۳۰ نفر دارای گاستریت مزمن متوسط با حضور عفونت هلیکوباکترپیلوری تحت عنوان گروه مورد طبقه‌بندی شدند. اطلاعات مربوط به توزیع فراوانی جنسیت بیماران در جدول ٤ نمایش داده شده است. تغییرات بیان ژن‌های *CHEK2*، *DLCRE1C* و *XRCC4* با استفاده از روش Real-time PCR سنجیده شد. نتایج به‌دست آمده حاکی از این امر بودند ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* به‌ترتیب ۸۸/۵، ۷٤/٦ و ٤۹/۳ برابر افزایش بیان در گروه مورد نسبت به شاهد نشان دادند (نمودار ۱، جدول شماره ۵).

جدول ۳- برنامه حرارتی تکثیر ژن‌های *B2M* ، *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4*

تعداد چرخه	زمان	دما (°C)
۱	۱۵ دقیقه	۹۵
٤۰	۱۰ ثانیه	۹۵
	۵ ثانیه	٦۲
	۵ ثانیه	۵۸
	۵ ثانیه	۵۵
	۱۵ ثانیه	۷۲

جدول ٤- توزیع فراوانی جنسیت در گروه‌های مورد و شاهد.

جنسیت	مورد (٪) تعداد	شاهد (٪) تعداد	مجموع (٪) تعداد
مذکر	۱٦ (۲٦/۷٪)	۱۱ (۱۸/۳٪)	۲۷ (٤۵/۸٪)
مونث	۱٤ (۲۳/۳٪)	۱۹ (۳۱/۷٪)	۳۳ (۵۵/۲٪)
مجموع	۳۰ (۵۰/۰٪)	۳۰ (۵۰/۰٪)	٦۰ (۱۰۰٪)



نمودار ۱- میانگین تغییرات بیان ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* در گروه افراد مورد نسبت به شاهد

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.1.8.6]

جدول ۵- میانگین تغییرات بیان ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* در گروه افراد مورد نسبت به شاهد

تغییرات بیان ژن	تعداد	کمینه	بیشینه	میانگین نسبی تغییرات *(RQ)	انحراف معیار *(SD)
CHEK2	۳۰	۱۰/۰	۵۰/٤٤	۵/۸۸۷	۸٦۵/۸
DCLRE1C	۳۰	۰/۰	۱۰/۵۸	۷٤۱/٦	۰۹۸/۱۳
XRCC4	۳۰	۰/۰	۷۰/۳۰	٤۹۳/۳	۱۲۰/۷

* RQ; Relative quantification, * SD; Standard deviation

بحث

در حال حاضر، *H.pylori* به‌عنوان یک عامل اتیولوژیک متداول در سرطان‌های مرتبط با عفونت در نظر گرفته می شود، که سهم نسبتاً زیادی از سرطان را در سراسر جهان شامل می‌شود. شیوع *H.pylori* بسته به وضعیت اقتصادی- اجتماعی، تحصیلات، سطح زندگی و شغل متفاوت است. میزان عفونت هلیکوباکترپیلوری در کشورهای در حال توسعه بالاتر از کشورهای پیشرفته و صنعتی گزارش شده است. میزان عفونت هلیکوباکترپیلوری در استان‌های مختلف ایران ۳٦ تا ۹۰ درصد گزارش شده است.

عفونت *H.pylori* بزرگ‌ترین عامل خطر برای گاستریت و بیماری زخم معده است و گزارش شده است که ارتباط نزدیکی با بروز سرطان معده دارد. اگرچه بیشتر مبتلایان به *H.pylori* در طول زندگی بدون علامت هستند، انتظار می‌رود اکثریت به سمت التهاب مزمن پیشرفت کنند.

التهاب مزمن به‌عنوان یکی از عوامل خطر در بسیاری از انواع سرطان‌ها در نظر گرفته شده است. التهاب مزمن ناشی از عفونت *H.pylori* در مخاط معده به‌عنوان مرحله شروع در ایجاد سرطان معده در نظر گرفته می‌شود.

تحریک مزمن اپی‌تلیوم معده توسط آنتی ژن‌های *H.pylori* و همچنین سموم و سایر ترشحات در ارتباط با جذب سلول‌های سیستم ایمنی به مخاط معده (سایتوکین‌ها)، همه با هم، یک محیط ریز فعال شده را به نفع شروع زخم‌های بدخیم فراهم می‌کنند. درک پاسخ ایمونولوژیک به گاستریت ناشی از *H.pylori* و در نتیجه سرطان زایی، راهی روشن به سمت استراتژی‌های جدید علیه این عفونت مهم را فراهم می‌کند (Shamsdin et al. 2019).

قبل از اینکه سرطان از نظر بالینی آشکار شود، یک فرآیند پیش سرطانی طولانی مدت انجام می‌شود، با مراحل متوالی کاملاً مشخص: گاستریت فعال مزمن، گاستریت آتروفیک مزمن، متاپلازی روده‌ای (ابتدا نوع روده‌ای کامل یا کوچک) و سپس دیسپلازی (که به آن نئوپلازی داخل اپی‌تلیال نیز گفته می‌شود) و سرانجام سرطان تهاجمی. این فرآیند با عفونت با *H.pylori* آغاز و پایدار می‌ماند. اگرچه که کلنی‌های باکتری در محیط معده باقی می‌مانند، اما فرآیند التهابی را در مخاط معده القا می‌کنند که معمولاً ده‌ها سال به طول می‌انجامد و ممکن است منجر به از بین رفتن غدد معده (آتروفی) شود (Correa 2013).

با توجه به این که سرطان معده هنوز به‌عنوان یک بیماری مرگبار شناخته می‌شود، شناسایی نشانگرهای مولکولی، ژنتیکی و تغییرات اپی‌ژنتیکی و ویژگی‌های فارماکوژنتیک جدید ممکن است وضعیت تشخیص و درمان بیماران را بهبود بخشد و امیدهایی در زمینه توسعه روش‌های تشخیصی و درمانی مؤثرتر ایجاد نماید و همچنین باعث افزایش آگاهی در زمینه ایجاد و نحوه گسترش سرطان معده شود. در سال‌های اخیر ارتباط بین RNAها و ژن‌های هدف آن‌ها در سرطان معده مورد توجه قرارگرفته است (Effatpanah et al. 2015) و از آنجایی که تحقیق بر روی نشانگرهای نوع RNA با پیشرفت در تکنیک‌های PCR به‌ویژه Real Time PCR گسترده شده است، می‌توان به سراغ روش‌های تشخیصی زودرس رفت، تا بتوان شانس بهبودی بیماران را افزایش و هزینه‌های تشخیص و درمانی آن‌ها را کاهش داد (Zabaleta 2012).

بر اساس اطلاعات حاصل از مطالعات صورت گرفته بر روی حضور آلودگی ناشی از باکتری *H. pylori* در بافت معده و نقش احتمالی آن در ایجاد سرطان معده، در این مطالعه تصمیم بر این شد تا فازهای پیش سرطانی (گاستریت‌های مزمن خفیف و

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.1.8.6]

متوسط) را از نظر بروز DSB با بررسی بیان ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* بررسی کنیم.

ژن *CHEK2* که به‌عنوان یک ژن سرکوب‌گر سرطان (Tumor suppressor gene) تلقی می‌شود، در نمونه‌های مورد نسبت به شاهد به‌طور میانگین تا ۸۸/۵ برابر افزایش بیان داشته است. این افزایش بیان می‌تواند نشان‌دهنده این موضوع باشد که در گروه مورد نسبت به شاهد، توقف چرخه سلول افزایش پیدا کرده است. این امر می‌تواند به‌علت آسیب‌های DNA القاء شده توسط باکتری *H. pylori* باشد. بنابراین سلول با ایجاد توقف در چرخه سلولی، از انتقال ماده وراثتی معیوب به نسل بعد ممانعت می‌کند. بر اساس اطلاعات موجود، در زمان شکستگی DNA سیکل سلولی متوقف و سلول به سمت آپوپتوزیس یا ترمیم می‌رود. در توافق با این نتیجه، مطالعه‌ی مشابهی که توسط Hanada et al. (2014) انجام شد، گزارش شد که عفونت بافت معده توسط *H. pylori* سبب افزایش بیان ژن *CHEK2* می‌شود. این امر می‌تواند زمان لازم جهت ترمیم شکست دو رشته DNA را توسط مسیرهای ترمیم NHEJ و HR فراهم نماید. از طرف دیگر بیان ژن *DCLRE1C* که محصول آن (پروتئین ARTEMIS) به‌عنوان یکی از پروتئین‌های اصلی مسیر ترمیم NHEJ می‌باشد، تا ۷/٦ برابر افزایش پیدا کرده است و می‌تواند نشان‌دهنده این امر باشد که مسیر NHEJ در گروه مورد نسبت به گروه شاهد فعالیت بیشتری کسب کرده و در صدد ترمیم آسیب‌های احتمالی وارد شده بر DNA، بر آمده است.

ژن *XRCC4* در مراحل آخر مسیر NHEJ ایفای نقش می‌کند (Dueva and Iliakis 2013). بیان این ژن در گروه مورد نسبت به گروه شاهد تا ٤/۳ برابر افزایش پیدا کرده است. *XRCC4* نسبت به *DCLRE1C* افزایش بیان کمتری از خود نشان داده است که این امر می‌تواند به‌علت نیاز کمتر سلول به پروتئین این ژن نسبت به ژن *DCLRE1C* باشد.

با توجه به نقش ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* در توقف چرخه سلولی و ترمیم DSB افزایش بیان این ژن‌ها در بیماران مبتلا به گاستریت مزمن متوسط با آلودگی *H. pylori* در مقایسه با بیماران گاستریت مزمن خفیف بدون آلودگی با *H. pylori* نشانگر فعال شدن ژن‌های این مسیرها به‌دنبال عفونت با باکتری *H. pylori* می‌باشد. همچنین ممکن است نشان‌دهنده که این باکتری با ایجاد شکست‌های دو رشته‌ای توانسته است توقف چرخه سلولی را القاء کند و مسیرهای ترمیم DNA مستعد خطا را فعال سازد.

با توجه به اطلاعات نویسندگان در تحقیق حاضر، مطالعات دیگری در رابطه با عفونت *H. pylori* که به بررسی بیان ژن‌های مسیر NHEJ بر روی بافت معده پرداخته باشد، صورت نگرفته است. تغییرات بیان ژن‌های درگیر در ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای (مانند بیان ژن *CHEK2*) به‌واسطه *H. Pylori* تنها در یک مطالعه توسط Koeppel et al. (2015) در رده سلولی Human gastric primary cell مورد گزارش قرار داده شده است که نتایج آن با توجه به آنکه در رده سلولی و شرایط in vitro انجام گرفته است، قابل مقایسه با نتایج مطالعه حاضر نیست (Koeppel et al. 2015).

در مطالعه‌ای که توسط Bae et al. (2013) بر روی بافت معده مدل‌های حیوانی صورت گرفت تا اثر باکتری*H. pylori* بر بیان ژن *CHEK2* بررسی شود، نشان داده شد که بیان این ژن افزایش پیدا کرده است که در توافق با نتایج پژوهش ما می‌باشد. این محققان اشاره کردند که بیان ژن *TP53* نیز در کنار ژن *CHEK2* افزایش پیدا کرده است که می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که سلول پس از توقف چرخه سلولی به‌علت بروز DSB، به سمت مرگ سلولی هدایت می‌شود (Bae et al. 2013). بر اساس این نتایج می‌توان نتیجه گرفت که باکتری *H. pylori* ممکن است سبب بروز شکست‌های دو رشته‌ای در DNA سلول‌های معده مدل‌های حیوانی شود و توقف چرخه سلولی را القاء کند. گزارشات از بیان ژن‌های *DCLRE1C* و *XRCC4* بر روی بافت معده در دسترس نیست.

عدم امکان انجام آزمایش بر روی افراد سالم به‌منظور دستیابی به سطوح بیانی پایه ژن‌های هدف و مقایسه آن با بیماران، عدم امکان بررسی سطوح تغییرات بیانی تمامی ژن‌ها و تنظیم گرهای مسیر NHEJ، عدم تعیین میزان شکستگی DNA در سطح کروموزوم و شافلینگ‌ها و ترانسلوکیشن‌های احتمالی، و در نهایت عدم امکان بررسی ژنوم سویه‌های باکتریایی موجود در نمونه‌های بیماران و

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.1.8.6]

درک ارتباط آن‌ها با میزان فعال شدن مسیر NHEJ از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌باشند.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج این مطالعه افزایش بیان ژن‌های *CHEK2*، *DCLRE1C* و *XRCC4* را در بیماران مبتلا به گاستریت مزمن متوسط با آلودگی *H. pylori* در مقایسه با بیماران گاستریت مزمن خفیف بدون آلودگی با *H. pylori* نشان داد که نشانگر فعال شدن ژن‌های مسیرهای ترمیمی و توقف چرخه سلولی به دنبال عفونت با باکتری *H. pylori* باشد. با توجه به نتایج این مطالعه و در صورت اثبات نقش این ژن‌ها در ایجاد سرطان معده در مطالعات آینده ممکن است بتوان از بررسی بیان ژن‌های مذکور به‌طور بالقوه به‌عنوان نشانگر زیستی برای تشخیص زودهنگام ابتلا به سرطان معده به‌کار رود و زمینه ساز درمان مناسب باشد.

سپاسگزاری

از بیمارانی که در این طرح شرکت نمودند، همچنین از جناب آقای دکتر هاشم فخریاسری و سایر پزشکان و کادر درمانی بیمارستان فیروزگر تهران که در جمع‌آوری نمونه‌ها ما را باری نمودند کمال تشکر را داریم. از زحمات جناب آقای دکتر عباس شکوری رئیس بخش ژنتیک بیمارستان امام خمینی (ره)، جناب آقای دکتر مجتبی صفاری و سرکار خانم دکتر زهره میرباقری به‌خاطر کمک‌های بی دریغ در انجام مراحل آزمایشگاهی، کمال تشکر را داریم.

این مطالعه برگرفته از پایان مقطع فوق لیسانس دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات است که در آزمایشگاه تحقیقاتی بخش ژنتیک مجتمع بیمارستان امام خمینی (ره) دانشگاه علوم پزشکی تهران، با همکاری علمی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در خلال سال ۱۳۹۸ به اجرا رسیده است.

منابع

Bae M, Lim JW, Kim H (2013) Oxidative DNA Damage Response in Helicobacter pylori-Infected Mongolian Gerbils. Journal of cancer prevention 18: 271-275.

Correa P (2013) Gastric cancer: overview. Gastroenterology clinics of North America 42: 211–217.

Cover TL, Blaser MJ (1992) Purification and characterization of the vacuolating toxin from Helicobacter pylori. The Journal of biological chemistry 267: 10570-10575.

Dueva R, Iliakis G (2013) Alternative pathways of non-homologous end joining (NHEJ) in genomic instability and cancer. Translational Cancer Research 2:163-177.

Effatpanah H, Yadegarazari R, Karami M, Majlesi A, Shabab N, Saidijam M (2015) Expression Analysis of mir-21 and mir-221 in Cancerous Tissues from Iranian Patients with Gastric Cancer 19: 188-193.

Ge, Sai, Xia Xia, Chen Ding, Bei Zhen, Quan Zhou, Jinwen Feng, Jiajia Yuan, Rui Chen, Yumei Li, Zhongqi Ge, Jiafu Ji, Lianhai Zhang, Jiayuan Wang, Zhongwu Li, Yumei Lai, Ying Hu, Yanyan Li, Yilin Li, Jing Gao, Lin Chen, Jianming Xu, Chunchao Zhang, Sung Yun Jung, Jong Min Choi, Antrix Jain, Mingwei Liu, Lei Song, Wanlin Liu, Gaigai Guo, Tongqing Gong, Yin Huang, Yang Qiu, Wenwen Huang, Tieliu Shi, Weimin Zhu, Yi Wang, Fuchu He, Lin Shen, and Jun Qin (2018) "A Proteomic Landscape of Diffuse-Type Gastric Cancer." *Nature Communications.*

Hanada K, Uchida T, Tsukamoto Y, Watada M, Yamaguchi N, Yamamoto K, Shiota S, Moriyama M, Graham DY, Yamaoka Y (2014) Helicobacter pylori infection introduces DNA double-strand breaks in host cells. Infection and immunity 82: 4182-4189.

IARC (1994) Schistosomes, Liver Flukes and Helicobacter pylori. Iarc Monogr Eval Carcinog Risks To Humans.

Koeppel, Max, Fernando Garcia-Alcalde, Frithjof Glowinski, Philipp Schlaermann, and Thomas F. Meyer. 2015. "Helicobacter Pylori Infection Causes Characteristic DNA Damage Patterns in Human Cells." *Cell Reports* 11: 1703-13.

Lieber MR, Gu J, Lu H, Shimazaki N, Tsai AG (2010) Nonhomologous DNA End Joining (NHEJ) and Chromosomal Translocations in Humans. In: Nasheuer HP. (eds) Genome Stability and Human Diseases. Subcellular Biochemistry, vol 50. Springer, Dordrecht.

Mao Z, Bozzella M, Seluanov A, Gorbunova V (2008) Comparison of nonhomologous end joining and homologous recombination in human cells. DNA repair 7: 1765-1771.

Moss SF, Legon S, Davies J, Calam J (1994) Cytokine gene expression in Helicobacter pylori associated antral gastritis. Gut 35: 1567-1570.

Rezaei-Tavirani M, Rezaei-Tavirani M, Mansouri V, Mahdavi SM, Valizadeh R, Rostami-Nejad M, Zali MR (2017) Introducing crucial protein panel of gastric adenocarcinoma disease. Gastroenterology and hepatology from bed to bench 10: 21-28.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.1.8.6]

Rugge M, Meggio A, Pravadelli C, Barbareschi M, Fassan, M, Gentilini M, Zorzi M, Pretis G, Graham DY, Genta RM (2019) Gastritis staging in the endoscopic follow-up for the secondary prevention of gastric cancer: a 5-year prospective study of 1755 patients. Gut 68: 11-17.

Shamsdin SA, Alborzi A, Lankrani KB, Ghaderi A, Pouladfar GR. Significance of TC9 and TH9 in Helicobacter pylori-induced gastritis (2020) Helicobacter. 25: e12672.

Sipponen P, Maaroos HI (2015) Chronic gastritis. Scandinavian journal of gastroenterology 50: 657-667.

Takata M, Sasaki MS, Sonoda E, Morrison C, Hashimoto M, Utsumi H, Yamaguchi-Iwai Y, Shinohara A, Takeda S (1998) Homologous recombination and non-homologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells. The EMBO journal 17: 5497-5508.

Yoo MW, Park J, Han HS, Yun YM, Kang JW, Choi DY, Lee JW, Jung JH, Lee KY, Kim KP (2017) Discovery of gastric cancer specific biomarkers by the application of serum proteomics. Proteomics 17: 10.

Zabaleta J (2012) Multifactorial etiology of gastric cancer. Methods in molecular biology 863: 411-435.

Zali H, Rezaei-Tavirani M, Azodi M (2011) Gastric cancer: prevention, risk factors and treatment. Gastroenterology and hepatology from bed to bench 4: 175-185.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.1.8.6]