پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال پانزدهم، شماره ۱، پی در پی ۷۳، صفحات ۱۲ تا ۱۸
فروردین و اردیبهشت ۱۳۸۹

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۷/۱۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۰/۲۹

بررسی جهش‌های اگزونی ژن NOD2 در بیماران ایرانی مبتلا به کرون

دکتر نصرت الله نادری[۱]، دکتر آلما فرنود[۲*]، منیژه حبیبی[۲]، هدیه بالایی[۲]، دکتر همایون زجاجی[۱]، محسن چیانی[۲]، علی تهامی[۲]، دکتر فرزاد فیروزی[۲]، معصومه سلطانی[۲]، دکتر رحیم آقازاده[۳]، دکتر فرامرز درخشان[۱]، دکتر محمد رضا زالی[۳]

۱. استادیار، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲. محقق، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳. استاد، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: ژن NOD2 به عنوان ژنی که ارتباطی قوی با بیماری کرون دارد، شناخته شده است. ولی جهش‌های این ژن در جمعیتهای مختلف، فراوانی‌های متفاوتی را نشان داده‌اند. هدف از مطالعه حاضر، تعیین توالی تمام اگزون‌های ژن NOD2 در بیماران ایرانی مبتلا به کرون بود تا جهش‌های موجود در این ژن را بیابیم و فراوانی هریک از آنها را در بیماری کرون در مقایسه با افراد شاهد بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تحلیلی مورد-شاهدی ۹۰ بیمار کرون و ۱۲۰ فرد سالم که از نظر سن و جنس با بیماران همسان بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. این افراد در طی سه سال (۱۳۸۸-۱۳۸۶) به بیمارستان طالقانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی مراجعه کرده بودند. تمام مناطق اگزونی ژن NOD2 در این افراد به روش PCR (polymerase chain reaction) و sequencing مورد بررسی قرار گرفت و در دو گروه بیمار و شاهد مقایسه شد.

یافته‌ها: ۲۱ جهش در تمام اگزون‌های ژن NOD2 یافت گردید که ۸ عدد از این جهش‌ها فراوانی آللی بیش از ۵٪ داشتند. هشت موتاسیون جدید (یکی در اگزون ۲ و ۷ عدد در اگزون ۴) یافت شد. سه جهش شایع ژن NOD2 (G908R، R702W و 1007fs) به ترتیب فراوانی آللی برابر با ۲/۳٪، ۱۳/۳٪ و ۱/۷٪ داشتند. سه جهش جدید P371T، A794P و Q908H و نیز جهش R702W در بیماران کرون به شکل معنی‌داری فراوان‌تر از گروه شاهد بود ($p<0/001$).

نتیجه‌گیری: ۸ جهش جدید در ژن NOD2 یافت شد ولی هنوز اهمیت پاتوفیزیولوژیک این جهش‌ها نامشخص است. بر اساس این مطالعه به نظر می‌رسد بیماران ایرانی با گنجینه ژنتیکی متفاوت ممکن است خصوصیات جدیدی را برای حساسیت به بیماری داشته باشند.

واژگان کلیدی: بیماری کرون، ژنNOD2، جهش.

مقدمه

بیماری کرون (Crohn's Disease یا CD) زیر مجموعه‌ای از بیماریهای التهابی روده (Inflammatory Bowel Disease یا IBD) است که با التهاب تمام لایه‌های جدار دستگاه گوارش مشخص می‌شود. این بیماری می‌تواند هر منطقه‌ای از دستگاه هاضمه از دهان تا معقد را گرفتار کند (۱). در بیشتر موارد بیماری کرون بر اساس علائم بالینی، اندوسکوپی و نیز یافته‌های بافت‌شناسی تشخیص داده می‌شود. با این حال تفاوت در وسعت بیماری، علائم خارج روده‌ای، سیر بیماری و پاسخ به درمان، زیر گروههای متعددی را برای بیماران به وجود می‌آورد. این تنوعهای فنوتیپی، عوامل مختلفی را به عنوان علت بیماری کرون مطرح می‌نماید.

با وجود انجام مطالعات گسترده بالینی و ژنتیکی، هنوز علت و پاتوژنز دقیق بیماریهای التهابی روده و بیماری کرون مشخص نشده است. بیماری کرون از بیماریهای چند عاملی است که به طور عمده سه عامل ایمونولوژیک، عوامل محیطی و خصوصیات ژنتیکی فرد در پاتوژنز آن نقش دارند (۲). مطالعات اپیدمیولوژیک عوامل مختلف محیطی از جمله علل عفونی و مصرف سیگار را به عنوان عامل خطر بیماری کرون

*نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر آلما فرنود؛ تهران، بزرگراه چمران، خیابان یمن، بیمارستان طالقانی، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد؛
پست الکترونیک: a_farnood@yahoo.com

مطرح نموده‌اند. از طرفی عوامل ژنتیکی نیز با بیماری کرون ارتباطی قوی دارند و در مطالعات اولیه بر روی دو قلوهای تک‌تخمی و نیز بررسیهای بعدی در مطالعات فامیلی و linkage analysis این ارتباط مطرح شده است (۳). تحقیقات متعددی در جهت روشن‌تر شدن ارتباط ژنتیکی مناطق مختلف ژنوم با بیماری کرون انجام گرفته است و مناطق بسیاری از کروموزوم‌ها را با این بیماری مرتبط دانسته‌اند. هریک از این مناطق یا لوکوس‌های ژنتیکی، ژن‌های متعددی را در برمی‌گیرند (۷-۲،۴).

یکی از لوکوس‌های مرتبط با بیماری کرون، ناحیه‌ای بر روی کروموزوم ۱۶ به نام IBD1 است که شامل ژن NOD2 است. ژن NOD2 یا CARD15 که در سال ۲۰۰۱ به طور جداگانه توسط Hugot و همکاران (۸) و Ougra و همکاران (۹) معرفی شد، اولین ژن شناخته شده مرتبط با بیماریهای التهابی روده به خصوص بیماری کرون است. ژن NOD2 پروتئین NOD2 را کد می‌کند که دارای دو قسمت CARD (caspase recruitment domain)، یک بخش NBD (nuclear binding domain) و یک بخش غنی از لوسین به نام LRR (leucin-rich repeats) است (۱۰). بخش LRR در تشخیص لیپوپلی‌ساکاریدهای باکتریایی (LPS) نقش دارد، در حالی که قسمتهای CARD پروتئین NOD2 را قادر به فعال ساختن آبشار (nuclear factor B) NF-kB و ایجاد آپوپتوز می‌نماید (۸).

با توجه به اینکه تاکنون مطالعات محدودی در زمینه ژنتیک بیماری کرون در جمعیت ایرانی صورت گرفته است و در تنها مطالعه انجام شده بر روی سه جهشهای شایع ژن NOD2، فقط یکی از آنها (R702W) با بیماری کرون در ایران مرتبط شناخته شده است (۱۰)، در مطالعه حاضر تصمیم گرفتیم تا تمام اگزون‌های ژن NOD2 را برای یافتن جهشهای این ژن بررسی کنیم و فراوانی هریک از آنها را در بیماری کرون در مقایسه با افراد شاهد بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تحلیلی مورد-شاهدی، ۹۰ بیمار کرون اسپورادیک و ۱۲۰ فرد شاهد سالم که از نظر سن و جنس با بیماران همسان بودند، وارد مطالعه گردیدند. این افراد در مدت سه سال (۱۳۸۸-۱۳۸۶) به بیمارستان طالقانی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی مراجعه نموده بودند. بیماری کرون براساس یافته‌های بالینی، آندوسکوپی، رادیولوژیک و هیستوپاتولوژیک (۱۳-۱۱) توسط متخصص گوارش تشخیص داده شد و پرسشنامه کاملی برای هر بیمار تکمیل گردید. فنوتیپ کرون براساس طبقه‌بندی وین (Vienna Classification) (۱۴) شامل منطقه بیماری، رفتار بیماری و سن در زمان تشخیص، گروه‌بندی شد. گروه شاهد از افراد سالم بدون علائم گوارشی یا سابقه شخصی یا خانوادگی هر بیماری مهمی انتخاب شدند. پروتکل مطالعه توسط گروه اخلاق مرکز تحقیقات گوارش مورد تأیید قرار گرفته و از تمام افراد شرکت‌کننده در مطالعه فرم رضایت‌نامه کتبی اخذ گردید.

DNA ژنومی از لکوسیت‌های خون محیطی به روش استاندارد "فنل کلروفورم" (۱۵) استخراج شد. تمام اگزون‌های ژن NOD2 براساس بانک اطلاعاتی Genbank و با پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) تکثیر شدند. برای هر اگزون از یک جفت پرایمر استفاده گردید، به جز اگزون ۴ که به دلیل بزرگی قطعه از ۵ جفت پرایمر استفاده شد. واکنش PCR در حجم ۲۵µl شامل ۱۰mM، Tris-HCL با PH برابر ۸/۸، ۱/۵mM از محلول $MgCl_2$، ۵۰mM از محلول KCL، ۲۵۰mM از dNTPs، ۰/۵mM از هر یک از پرایمرها، ۲ واحد آنزیم DNA پلی‌مراز (فرمنتاز، آلمان) و ۲۰۰ ng از DNA ژنومی انجام گرفت. شرایط PCR برای تمام قطعات شامل: دناتوراسیون ابتدایی در ۹۴°C به مدت ۱۰ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل شامل ۹۴°C برای ۳۰ ثانیه، ۵۶°C برای ۳۰ ثانیه و ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه و طویل شدن نهایی در ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه بود. سنتز مناسب محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز (۱/۵٪) بررسی گردید و سپس قطعات تکثیر شده، سکانس گردیدند (با دستگاه ABI 3130XL Genetic Analyzer ساخت شرکت Applied Biosystems، آمریکا) (شکل ۱). نتایج حاصله با استفاده از نرم‌افزار Lasergene (Version 6، محصول شرکت DNASTAR، آمریکا) با سکانس ثبت شده ژن NOD2 در Genbank (Accession No: AF178930) مقایسه گردید.

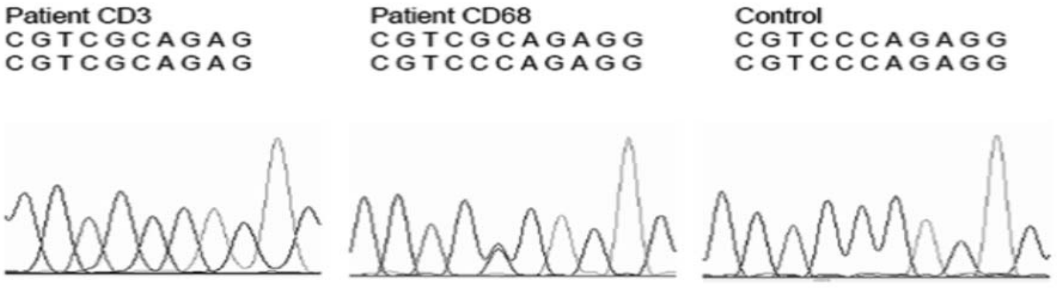
بررسیهای آماری با استفاده از آزمون مربع کای یا دقیق فیشر انجام گرفت و p کوچکتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد. اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Version 13) تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها

میانه سن در گروه شاهد و بیماران مبتلا به کرون به ترتیب ۳۱ سال (۶۲-۱۷ سال) و ۳۲ سال (۶۵-۱۶ سال) بود.

جدول ۱- پرایمرهای استفاده شده در PCR اگزون‌های ژن NOD2

اگزون	پرایمرها		اندازه قطعه PCR
	Reverse	Forward	
۱	CCCAGAAACAGAGTCAGCAC	GTAGACAGATCCAGGCTCACC	۲۹۳
۲	CCTTTCCTGAGAACTCTGTG	ACCCTGCATCTGGCTTCTG	۵۵۵
۳	GACTGCCCTTCCCTTTCTG	ACATTGCTCCATCAGCCTTC	۲۰۱
۴a	AGTAGAGTCCGCACAGAGAG	TGCCTCTTCTTCTGCCTTCC	۴۲۲
۴b	CCCTGTTCAGAGAAGCCC	TTTCTCTTTGTCTTCCCATTC	۳۸۰
۴c	AGCCAAGAGAAATGTCATCAG	GAAGTACATCCGCACCGAG	۴۴۶
۴d	CAGACACCAGCGGGCACAG	ATGTGCTGCTACGTGTTCTC	۴۵۶
۴e	GCTCCCCCATACCTGAAC	ACCTTCAGATCACAGCAGCC	۴۹۴
۵	AGCCCATTGTCCACAGCC	TTGTCTTACTAGCTCCATTTTC	۱۶۲
۶	GGGAGATCACAGCATTAGAG	CTGTTTGCATGATGGGGGG	۳۷۲
۷	ACTCTCTCCCTGGCTTGTC	CGTCCCGCTGCCCCTTTC	۴۳۵
۸	CCCAGCTCCTCCCTCTTC	AAGTCTGTAATGTAAAGCCAC	۳۸۰
۹	CCCCAGAGCAGAGAATCC	CTTTCCCTGCTCTGACATAC	۱۵۶
۱۰	CTTTATTGGTTACCTTCACTTC	GCTGCAATGGAGAGTGGG	۶۵۴
۱۱	GAATGTCAGAATCAGAAGGG	CTCACCATTGTATCTTCTTTTC	۲۲۸
۱۲	AAACTCACAGCCTGCTCAC	TAAAAACAGCCCTGACTTCC	۲۷۹



شکل ۱- الکتروفروگرام جهش S178S در دو بیمار مبتلا به کرون و یک فرد شاهد سالم، از چپ به راست

نسبت مرد به زن در هر دو گروه مطالعه ۱/۶ به ۱ بود. خصوصیات بالینی بیماران بر اساس طبقه‌بندی ویین در جدول ۲ خلاصه شده است.

در مجموع ۴۲۰ آلل ژن NOD2 در ۹۰ بیمار مبتلا به کرون و ۱۲۰ شاهد سالم جهت یافتن هر تغییر در نوکلئوتیدها به روش sequencing مستقیم بررسی گردید. در مناطق اگزونی این ژن، ۲۱ موتاسیون در اگزون‌های ۲، ۴، ۸ و ۱۱ یافت شد (جدول ۳). در سایر اگزون‌های بررسی شده در مطالعه ما هیچ جهشی مشاهده نگردید.

بیش از ۷۰٪ جهش‌ها (n=۱۶) در اگزون ۴ متمرکز شده بودند. سایر جهش‌ها به ترتیب ۲ عدد در اگزون ۲، ۲ عدد در اگزون ۸ و یک جهش در اگزون ۱۱ قرار داشتند. تمام جهش‌ها ناشی از جابجایی یک نوکلئوتید بودند، بجز جهش 1007fsinsC (SNP۱۳) که ناشی از ورود یک نوکلئوتید و ایجاد موتاسیون frame shift بود. یک جهش nonsense جدید در اگزون ۴ یافت شد که در اثر جایگزینی یک نوکلئوتید C بجای A و ایجاد کدون ایست زودرس در محل ۸۱۳ زنجیره اسیدآمینه بوجود آمده بود. در هیچیک از اگزون‌های بررسی شده حذف یا وارد شدن قطعه‌ای از نوکلئوتیدها (جهش deletion یا insertion) یافت نشد.

بیش از ۵۰٪ (n=۱۱) جهش‌های مشاهده شده missense بودند و موجب تغییر در اسیدآمینه شده بودند. بیشتر این جهش‌ها از نوع transition (۶۱/۹٪)، بخصوص جابجایی C→T (۳۳/۳٪) بودند. ۱۸ جهش فراوانی بیش از ۱٪ در بیماران کرون داشتند. فقط ۱۰ جهش چنین فراوانی را در گروه شاهد نشان دادند. ۸ جهش S178S، P268S، P371T، R459R، R587R، R702W، R794P و Q809H در بیماران کرون فراوانی بیش از ۵٪ داشتند.

جدول ۳- جهش‌های یافت شده در اگزون‌های ۴ و ۸ ژن NOD2 در بیماران ایرانی مبتلا به کرون

محل و تغییر در نوکلئوتید	شماره GenBank	تغییر پپتید	مارکر پلی‌مورفیک	محل NCBI (buid36)	محل تغییر در پروتئین	تعداد (٪) آلل‌های جهش‌یافته		P value
						کرون (n=180)	شاهد (n=240)	
اگزون ۲								
484 G → A	EF364441	V162I			CARD1	(۱/۷)۳	0 (0)	NS
534 C → G	rs2067085	S178S		49291360	CARD2	(۲۹/۴)۵۳	(۲۹/۲)۷۰	NS
اگزون ۴								
802 C → T	rs2066842	P268S	SNP5	49302125		(۳۴/۴)۶۲	(۲۹/۶)۷۱	NS
866 A → G	rs5743271	N289S		49302189	NBD	(۱/۱)۲	(۰/۴)۱	NS
1111 C → A	EF624393	P371T			NBD	(۵/۵)۱۰	(۰/۸)۲	<۰/۰۰۱*
1167 G → A	EU817180	T389T			NBD	(۰/۶)۱	۰	NS
1295 T → C	rs2076754	V432A		49302618	NBD	(۰/۶)۱	۰	NS
1377 T → C	rs2066843	R459R	SNP6	49302700	NBD	(۳۴/۴)۶۲	(۲۸/۳)۶۸	NS
1384 G → A	EF624392	E462K			NBD	(۱/۱)۲	۰	NS
1761 T → G	rs1861759	R587R	SNP7	49303084		(۲۵/۶)۴۶	(۲۷/۱)۶۵	NS
1833 C → T	EF624394	A611A				(۱/۷)۳	۰	NS
2104 C → T	rs2066844	R702W	SNP8	493030427		(۱۳/۳)۲۴	(۱/۳)۳	<۰/۰۰۱†
2196 C → T	rs6413461	S732S		49303519		(۱/۱)۲	۰	NS
2278 C → T	rs3813758	R760C		49303601	LRR	(۱/۱)۲	۰	NS
2376 C → T	rs5743280	P792P		49303699	LRR	(۴/۴)۸	(۱/۳)۳	NS
2380 G → C	EU888273	A794P			LRR	(۸/۹)۱۶	(۱/۳)۳	<۰/۰۰۱‡
2427 G → C	EU888274	Q809H			LRR	(۷/۲)۱۳	(۰/۸)۲	<۰/۰۰۱§
2439 C → A	EU888275	C813X			LRR	(۲/۲)۴	(۲/۹)۷	NS
اگزون ۸								
2718 C → T	rs58586167	F906F		49314037	LRR	(۰/۶)۱	(۱/۷)۴	NS
2722 G → C	rs2066845	G908R	SNP12	49314041	LRR	(۲/۲)۴	(۱/۳)۳	NS
اگزون ۱۱								
3020insC	rs5743293	1007fs	SNP13	49321282:49321283	LRR	(۱/۷)۳	(۰/۸)۲	NS

NS: Not significant

جدول ۲- خصوصیات بالینی بیماران ایرانی مبتلا به کرون (بر اساس تقسیم‌بندی وین)

محل بیماری	
درگیری ایلئوم (L1)	(۳۰)۲۷
درگیری کولون (L2)	(۳۰)۲۷
درگیری ایلئوکولیک (L3)	(۳۶/۷)۲۷
درگیری دستگاه گوارش فوقانی (L4)	(۳/۳)۳
رفتار بیماری	
بیماری التهابی	(۵۷/۸)۵۲
بیماری stricturing	(۲۰)۱۸
بیماری penetrating	(۲۲/۲)۲۰
سن در زمان تشخیص (زیر ۴۰ سال)	*(۴۱/۱)۳۷*

چهار جهش، شامل جهش S178S در اگزون ۲ و جهش‌های P268S (SNP5)، R459R (SNP6) و R587R (SNP7) در اگزون ۴ از موارد فوق در جمعیت شاهد فراوانی بیش از ۱۰٪ داشتند. ولی هیچیک از جهش‌های مذکور در بیماران مبتلا به کرون در مقایسه با گروه شاهد فراوانی بیشتری که از نظر آماری معنی‌دار شود، نداشتند. همه جهش‌های مذکور در گروه شاهد فراوانی کمتر از ۱۰٪ داشتند. در میان سه جهش شایع ژن NOD2 فقط SNP8 (R702W) فراوانی آلل بیشتری را در بیماران مبتلا به کرون نسبت به افراد شاهد سالم نشان داد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود (۱۳/۳٪ در بیماران مبتلا به کرون در برابر ۱/۳٪ در افراد شاهد، p< ۰/۰۰۱، OR=۱۲/۲ و ۹۵٪CI:۳/۶-۴۱/۱). فراوانی آلل جهش‌های SNP12 (G908R) و SNP13 (1007fs) در بیماران ایرانی مبتلا به کرون کمتر از ۳٪ بود (به ترتیب ۲/۲٪ و ۱/۷٪). در کل ۸ جهش جدید، یکی در اگزون ۲ و هفت جهش در اگزون ۴ در بیماران کرون ایرانی مشاهده شد. از این جهش‌ها ۵ عدد missense بودند که ۳ عدد آنها شامل P371T، A794P و Q809H در بیماران کرون فراوانی بیشتری نسبت به افراد شاهد داشتند که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱). حدود اطمینان هریک از جهش‌های مذکور به ترتیب ۹۵٪CI:۲/۱-۴۱/۶، OR=۹/۲۶؛ ۹۵٪CI:۲/۲-۲۶/۹وOR=۷/۷؛ ۹۵٪CI:۲/۱-۴۱/۶وOR=۹/۳ بود.

بحث

نتایج به دست آمده در این مطالعه، موید نتایج قبلی گزارش شده درباره همراهی جهش R702W ژن NOD2 با بیماری کرون در بیماران ایرانی است (۱۰). همچنین، در این بررسی ۸ جهش جدید در ژن NOD2 پیدا شد. بررسی فراوانی آلل‌های این جهش‌ها در بیماران مبتلا به کرون در مقایسه با افراد شاهد سالم بیانگر فراوانی بیشتر بعضی از جهش‌های ژن NOD2 در بیماران ایرانی مبتلا به کرون بود.

ژن NOD2 به عنوان یکی از ژن‌های موثر در افزایش حساسیت به بیماری کرون در بسیاری از جمعیتهای سفیدپوست مطرح شده است. سه جهش شایع این ژن (1007fs, R702W, G908R) در مطالعات متعددی در جوامع اروپایی و سفیدپوستان آمریکایی با بیماری کرون مرتبط شناخته شده‌اند (۱۷،۱۶) . ولی بررسی جمعیتهای غیرسفیدپوست مانند جمعیتهای آسیای دور نتوانسته‌اند چنین رابطه‌ای را تائید کنند. در جمعیتهای ژاپن، کره و چین فراوانی این جهش‌های ژن NOD2 بسیار کم گزارش شده است (۱۹،۱۸).

جمعیت ایرانی از نظر ژنتیکی جامعه‌ای متفاوت است که این موضوع در اثر اختلاط گنجینه ژنتیکی قومهای مختلف مهاجر به ایران (از جمله ترکها و عربها) با جمعیت اولیه این ناحیه می‌باشد. بنابراین انتظار می‌رود فراوانی جهش‌ها در این جمعیت نسبت به جوامع سفیدپوست و نیز آسیایی و زردپوست متفاوت باشد. در مطالعه در ایران بر روی جهش‌های شایع ژن NOD2 در بیماران کرون، فقط جهش R702W (SNP8) با بیماری کرون مرتبط شناخته شده بود (۱۰). در مطالعه حاضر به طور کلی ۲۱ جهش در ژن NOD2 یافت شد و شامل ۸ جهش جدید بود که در مقایسه با dbSNP تایید شدند. به تازگی مطالعاتی برای یافتن سایر تغییرات توالی در ژن NOD2 در جمعیتهای مختلف صورت گرفته است (۲۲-۲۰). در مطالعه چند مرکزی در جمعیت اروپایی، ۶۷ جهش جدید در ۴۵۳ بیمار مبتلا به کرون پیدا شده است (۲۰). در مطالعه دیگری در جمعیت اسکاتلندی نیز ۱۸ جهش جدید ژن NOD2 در ۶۶۳ بیمار کرون یافت گردیده است (۲۲).

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، تغییرات توالی ژن NOD2 به دست آمده در جمعیت ایرانی با جمعیتهای اروپایی از نظر تعداد فراوانی قابل مقایسه است. بیش از ۷۰٪ تغییرات مشاهده شده، در اگزون ۴ یافت شدند که قطعه‌ای با ۱۸۱۶ جفت باز است و قسمت بزرگی از پروتئین NOD2 از منطقه NBD تا بخش غنی از لوسین (LRR) این پروتئین را کد می‌کند. بخش غنی از لوسین (LRR) پروتئین NOD2 نقشی اساسی در شناسایی اجزای باکتریایی دارد (۲۳). بنابراین تغییرات توالی که این بخش پروتئین را تحت تاثیر قرار می‌دهند ممکن است موجب تغییر در عملکرد آن گردند.

سه جهش جدید A794P, P371T و Q908H فراوانی بیشتری را در بیماران مبتلا به کرون در مقایسه با افراد شاهد سالم نشان دادند ($p<۰/۰۰۱$). این سه جهش هر سه در منطقه‌ای از ژن بودند که در برابر تغییرات نسبتاً ثابت (conserved) است و این موضوع بر اساس سایت UCSC تایید شد (htt:/genome:UCSC.de.ir). بیشتر بودن فراوانی این جهش‌ها می‌تواند نقش جهش‌های ژن NOD2 در حساسیت به بیماری کرون را در جمعیت ایرانی مطرح نماید. جمعیت ایرانی، در این مطالعه جهش‌هایی جدید از ژن NOD2 با شیوعی متفاوت را نشان داده است.

دو جهش شایع ژن NOD2 (G908R و 1007fs) در مطالعه‌ای قبلی فراوانی‌های کمتر از ۵٪ را در بیماران ایرانی مبتلا به کرون نشان داده‌اند (۱۰) که این نتایج با مشاهدات مطالعه حاضر همخوانی دارد. فراوانی آلل جهش‌های G908R و 1007fs در بیماران کرون، در این بررسی به ترتیب ۲/۲٪ و ۱/۷٪ به دست آمده است که هر دو کمتر از ۵٪ می‌باشند و هیچیک از این دو جهش در بیماران کرون نسبت به گروه شاهد سالم فراوان‌تر نبودند. این نتایج با مطالعاتی که در سایر جمعیتهای اروپایی که فراوانی بالای جهش‌های شایع ژن NOD2 را گزارش نموده‌اند، مغایرت دارد.

روش بررسی در این مطالعه مناطق پروموتر و سایر نواحی تنظیم‌کننده ژن، که ممکن است در ترجمه ژن دخیل باشند، را بررسی نکرده است و نیز تعداد بیماران مورد بررسی در این مطالعه محدود است. با این حال علیرغم این محدودیتها، تغییرات توالی متعددی در اگزون‌های ژن NOD2 در بیماران ایرانی مبتلا به کرون یافت شد. جهش‌های این ژن به خصوص جهش‌هایی که موجب تغییر در اسیدآمینه شده‌اند از نظر تئوری می‌توانند موجب تغییر در ترجمه و عملکرد پروتئین NOD2 شوند. تغییر در ساختمان این پروتئین ممکن است به عنوان عامل افزایش دهنده احتمال ابتلا به کرون عمل کند.

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشانگر افزایش فراوانی بعضی از جهش‌های ژن NOD2 در بیماران ایرانی مبتلا به کرون است و می‌تواند این ژن را به عنوان عاملی برای افزایش حساسیت

ابتلا به کرون در ایران مطرح نماید. بررسی مناطق غیراگزونی شامل نواحی پروموتر و اینترون‌های این ژن در مطالعه‌ای با حجم نمونه بیشتر به روشن‌تر شدن هر چه بیشتر نقش ژن NOD2 در بیماران ایرانی مبتلا به کرون کمک خواهد کرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از پرسنل آزمایشگاه مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد تشکر و قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. N Engl J Med 2002;347(6):417-29.

۲. نادری ن، فرنود آ، میناکاری م، فیروزی ف، زالی م ر. نقش فاکتورهای ژنتیکی در بیماریهای التهابی روده. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی ۱۳۸۶. سال ۱۷، شماره ۱: صفحات ۵۱ تا ۶۳.

3. Hugot JP. Genetic origin of IBD. Inflamm Bowel Dis 2004;10 Suppl 1:S11-5.

4. Farnood A, Naderi N, Moghaddam SJ, Noorinayer B, Firouzi F, Aghazadeh R, et al. The frequency of C3435T MDR1 gene polymorphism in Iranian patients with ulcerative colitis. Int J Colorectal Dis 2007;22(9):999-1003.

5. Naderi N, Farnood A, Habibi M, Derakhshan F, Balaii H, Motahari Z, et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms in Iranian patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol Hepatol 2008;23(12):1816-22.

6. Bonen DK, Cho JH. The genetics of inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2003;124:521–36.

7. Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugerie L, et al. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. Nature 1996;379:821–3.

8. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. Nature 2001;411:599–603.

9. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, et al. A frame shift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. Nature 2001;411:603–6.

10. Derakhshan F, Naderi N, Farnood A, Firouzi F, Habibi M, Rezvany MR, et al. Frequency of three common mutations of CARD15/NOD2 gene in Iranian IBD patients. Indian J Gastroenterol 2008;27(1):8-11.

11. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. N Engl J Med 2002;347(6):417-29.

12. Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol Suppl 1989;170:2-6.

13. Malchow H, Ewe K, Brandes JW, Goebell H, Ehms H, Sommer H, et al. European Cooperative Crohn's Disease Study (ECCDS): results of drug treatment. Gastroenterology 1984;86:249–66.

14. Monkholm P, Binder V. Clinical features and national history of Crohn's disease. In: Sartor RB, Sandborn WJ, editors. 6th ed. Kirsner's inflammatory bowel disease. Saunders: Philadelphia, 2004;p:289-300.

15. Sambrooks J, Fritsch EF, Manitis T, editors. Molecular cloning, laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1992.

16. Büning C, Genschel J, Bühner S, Krüger S, Kling K, Dignass A, et al. Mutations in the NOD2 gene in Crohn's disease are associated with ileocecal resection and are a risk factor for reoperation. Aliment Pharmacol Ther 2004;19:1073-8.

17. Vavassori P, Borgiani P, Biancone L, D'Apice MR, Blanco Gdel V, Vallo L, et al. CARD15 mutation analysis in an Italian population: Leu1007fsinsC but neither Arg702Trp nor Gly908Arg mutations are associated with Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis 2004;10:116-21.

18. Inoue N, Tamura K, Kinouchi Y, Fukuda Y, Takahashi S, Ogura Y, et al. Lack of common NOD2 variants in Japanese patients with Crohn's disease. Gastroenterology 2002;123:86–91.

19. Yamazaki K, Takazoe M, Tanaka T Kazumori T, Nakamura Y. Absence of mutation in the NOD2 gene among 483 Japanese patients with Crohn's disease. J Hum Genet 2002;47:469–72.

20. Lesage S, Zouali H, Cezard JP, Colombel JF, Belaiche J, Almer S, et al. CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. Am J Hum Genet 2002;70:745–7.

21. Economou M, Trikalinos TA, Loizou KT, sianos EV, Ioannidis JP. Differential effects of NOD2 variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a meta analysis. Am J Gastroenterol 2004;99:2393-404.

22. Russell RK, Drummond HE, Wilson DC, Anderson NH, Arnott ID, Van Limbergen JE, et al. Detailed assessment of NOD2 exonic variation in inflammatory bowel disease in Scotland: implications for disease pathogenesis. Genes Immun 2008;9:556-60.

23. Lichtenberger GS, Flavell RA, Alexopoulou L. Innate immunity and apoptosis in IBD. Inflamm Bowel Dis 2004; 10 Suppl 1:S58-62.