

Türkiye’de çölyak hastalığı ile ICAM-1 gen polimorfizminin ilişkisi

Association of celiac disease with an ICAM-1 gene polymorphism in Turkey

Fatma Ebru AKIN¹, Gülay Güleç CEYLAN², Aylin DEMİREZER BOLAT¹, Öykü TAYFUR YÜREKLİ³, Mustafa TAHTACI³, Eyüp SELVİ¹, Naciye Şemnur BÜYÜKAŞIK¹, Osman ERSOY³

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ¹Gastroenteroloji Bölümü, Ankara

Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ²Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, ³Gastroenteroloji Bilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: Çölyak hastalığı, genetik olarak yatkın kişilerde gluten alımından sonra gelişen kronik intestinal inflamatuvar hastalıktır. İntersellüler adezyon molekül-1 geni, inflamatuvar olaylarda rol alan intersellüler adezyon molekül-1’i kodlamaktadır. Çölyak hastalığı olanların intestinal biyopsi ve serumlarında intersellüler adezyon molekül-1 seviyelerinde artış gösterilmiştir. Bu çalışmada amacımız, çölyak hastalığı riski ile intersellüler adezyon molekül-1 gen polimorfizminin ilişkisini araştırmaktır. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 40 çölyak hastası ve 40 sağlıklı kontrol dahil edildi. İntersellüler adezyon molekül-1 genindeki G241R(rs1799969) polimorfizmi analiz edildi. **Bulgular:** Çölyak hastalığı olanlarla kontrol grubu arasında intersellüler adezyon molekül-1 geninde G241R polimorfizmi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. **Sonuç:** Bizim çalışmamızdaki sonuçlara göre çölyak hastalığında intersellüler adezyon molekül-1 G241’in rolünü gösteremedik.

Anahtar kelimeler: Çölyak hastalığı, intersellüler adezyon molekül-1

GİRİŞ

Çölyak hastalığı (ÇH), genetik yatkınlığı olan kişilerde ince barsağın, gliadin ile tetiklenen, T-hücre aracılı immün hastalıktır. Bu durum, villöz atrofi, kript hiperplazisi ve malabsorbsiyon ile sonuçlanır (1).

ÇH, ince barsakta lamina propria da aktive CD4 T hücreler ve epitelde CD8 T hücrelerinin infiltrasyonu ile karakterizedir (2). ÇH ile en güçlü genetik ilişki HLA-DQ2 ve DQ8 molekülleri ile gösterilmiştir (3). HLA genleri dışında, ÇH ile ilişkisi olabileceği düşünülen bazı genlerle ilgili çalışmalar mevcuttur. Myosin IXB (MYO9B) geni ile ÇH arasında pozitif ilişki saptanmıştır (4). Hollanda popülasyonunda, CYP4F3 ve CYP4F2 ile ÇH riski arasında ilişki gösterilmiştir (5). ÇH riski ile ilişkisi olan diğer bir gen ise 19p13’de bulunan intersellüler adezyon molekül-1 (ICAM-1) genidir. ICAM-1 geni, hücre yüzey glikoproteinini olan ICAM-1’i (CD54) kodlar ve lökosit integrinleri (LFA-1, Mac-1) için ligand fonksiyonuna sahiptir. İmmün ve inflamatuvar olaylarda rol alan hücrelerden (vasküler endotel, epitel, antijen sunan hücreler, aktive lenfositler) salgınır. İnterferon- γ , interlökin-1, tümör nekrozis faktör- α

Background and Aims: Celiac disease is a chronic inflammatory disease of the intestines that occurs after gluten intake in genetically susceptible individuals. The intercellular adhesion molecule -1 gene codes for the intercellular adhesion molecule -1 protein, which plays a pivotal role in inflammatory diseases. Intercellular adhesion molecule -1 levels have been shown to be increased in celiac disease patients. We aimed to define the relationship between an intercellular adhesion molecule -1 gene polymorphism and celiac disease risk in the Turkish population. **Material and Methods:** Forty celiac disease patients and 40 healthy controls were included in this study. The G241 R (rs 1799969) polymorphism was analyzed. **Results:** No statistically significant difference was detected in the frequency of the G241R polymorphism in the intercellular adhesion molecule -1 gene between celiac disease patients and healthy controls. **Discussion:** Further larger scale analyses are needed to support the findings of the present study.

Key words: Celiac disease, intercellular adhesion molecule -1

gibi proinflamatuvar sitokinler tarafından salgılanması artar. ICAM-1, lökosit adezyonu ve inflamatuvar ve immün yanıtın oluşmasında kritik basamaktır. ICAM-1, lökositlerin endotel hücrelerine adezyonunu arttırır (6). Glutensiz diyet alanlar ile sağlıklılar karşılaştırıldığında aktif ÇH olan kişilerin ince barsak biyopsilerinde ICAM-1 ekspresyonunun artmış olduğu görülmüş (7). Aktif ÇH olan kişilerin serumunda da ICAM-1 seviyelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiş (8). ICAM-1 geninde birkaç polimorfizm tanımlanmıştır. G241R (rs1799969) ve K469E (rs5498) en çok çalışılan ICAM-1 gen polimorfizmleridir. Biz bu çalışmada Türkiye’de ÇH olanlarda, ÇH riski ile ICAM-1 G241R polimorfizminin ilişkisini araştırdık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 2008-2011 yılları arasında ÇH tanısı ile takip edilmekte olan hastalar alındı. ÇH tanısı revize European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition kriterlerine göre kondu (9). Çalışmaya 40 ÇH olan hasta ve 40 sağlıklı kontrol dahil edildi.

İletişim: Fatma Ebru AKIN

Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji Bölümü,
Üniversiteler Mahallesi Bilkent Caddesi No:1 Çankaya, Ankara, Türkiye
E-mail adresi: ebrudakin@hotmail.com

Geliş Tarihi: 10.02.2016 • **Kabul Tarihi:** 17.03.2016

Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi etik kurulundan onay alındı, çalışmaya katılanlara gönüllü olur formu imzalatıldı.

ICAM-1 Genotipleme

Hastalardan ve kontrollerden alınan periferik kandan genomik DNA izolasyonu, hazır kit (Qiagen, GmbH, Hilden, Germany) ile yapıldı. ICAM1 kodon 241 (G241R) polimorfizmi tayini için RFLP [PCR-restriction fragment-length polymorphism (RFLP)] yöntemi kullanıldı. Bu bölgelere spesifik hazırlanan primerler kullanılarak ilgili bölgeler amplifiye edildikten sonra, R241 alleli için BsrGI restriksiyon enzimi ile kesim yapıldı. Sonuç ürünler %2'lik agaroz jelde yürütülerek genotipler belirlendi.

İstatistiksel Analiz

ÇH ve kontrol grubunun genotip ve allel yüzdelerinin karşılaştırılmasında Ki kare testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 18.0 paket programı kullanıldı.

BULGULAR

ÇH ve kontrol grubundaki, 241. kodondaki (rs1799969) ICAM-1 genotip ve allellerinin sıklıkları karşılaştırıldı. ÇH ve kontrol grubu'nun G241R genotiplerinin arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p > 0,05$). ÇH ve kontrol grubunda homozigot GG genotipi yüzdesi sırasıyla %90 ve %80 idi ($p = 0,348$). Heterozigot GR genotipi olgu yüzdesi ÇH ve kontrol grubunda sırasıyla %3 ve %8 idi ($p = 0,194$). Homozigot RR genotipi olgu yüzdesi ÇH ve kontrol grubunda sırasıyla %1 ve %0 idi ($p = 1$). ÇH ve kontrol grubunda homozigot GG genotipi, heterozigot GR genotipi ve homozigot RR genotipi olanların sayıları yönünden dağılımı Şekil 1'de verilmiştir.

Her iki grup toplam G alleli ve R alleli yüzdeleri yönünden karşılaştırıldı. ÇH ve kontrol grubunda toplam G alleli yüzdesi sırasıyla %93.75 ve %90 idi ($p = 0,563$). ÇH ve kontrol grubunda toplam R alleli yüzdesi sırasıyla %6.25 ve %10

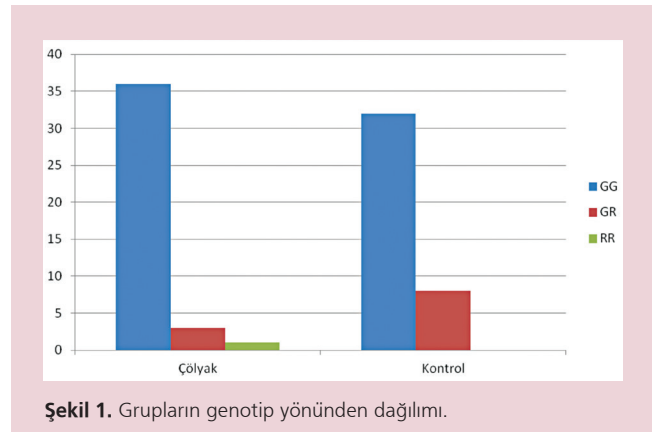
idi ($p = 0,563$). Gruplar arasında allel yüzdesi açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 1).

TARTIŞMA

Biz bu çalışmada Türkiye'de ÇH olan hastalarda ÇH riski ile ICAM-1 genindeki polimorfizmin rolünü araştırdık. ÇH ve diğer otoimmün hastalıklarda daha önce çalışılmış olan G241R (rs1799969) mutasyonunu analiz ettik. Bizim çalışmamızda ÇH riski ile G241R mutasyonu arasında ilişki saptamadık. Literatüre baktığımızda ÇH riski ile G241R mutasyonu arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalarda farklı toplumlarda farklı sonuçlar elde edildiğini görmekteyiz (10-12).

Fransa'dan Abel M ve ark.'larının 180 ÇH olan hasta ve 212 sağlıklı kontrolün karşılaştırıldığı çalışmalarında ICAM1 R241 varyantı ÇH ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada ÇH olan hastalar çocukluk dönemi ya da erişkin döneminde tanı almalarına göre incelendiğinde erişkin dönemde tanı alanlarda R241 varyantının daha belirgin olduğu görülmüştür (10). Biz çalışmamızda hastalarımızı ÇH tanısı aldıkları yaşlara göre gruplandırmadık.

Kaur G ve ark.'larının Hindistan'dan yaptıkları çalışmada 37 ÇH olan çocuk hasta 166 sağlıklı kontrol ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada ÇH riski yönünden ICAM-1 genindeki



Tablo 1. Grupların G241R genotip ve allel sıklığının karşılaştırılması

| | Çölyak (n=40) | Kontrol (n=40) | P değeri |
|----------------|---------------|----------------|----------|
| G241R | | | |
| GG | 36 (90) | 32 (80) | 0,348 |
| GR | 3 (7,5) | 8 (20) | 0,194 |
| RR | 1 (2,5) | 0 (0) | 1 |
| Allel G | 75 (93,75) | 72 (90) | 0,563 |
| Allel R | 5 (6,25) | 8 (10) | 0,563 |

*Parametreler n (%) olarak verilmiştir.

G241R allel ve genotip sıklığında istatistiksel fark saptanmamıştır. Bu çalışmadaki sonuçlar bizim çalışmamızdaki sonuçlar ile benzerlik göstermektedir (11).

Son olarak İspanya'dan yapılan çalışmada ise 608 ÇH olan hasta 537 sağlıklı ile karşılaştırılmıştır. Dema B ve ark.'larının yaptığı bu çalışmada ÇH olan hastalar ve kontrol grubu arasında G241R polimorfizminin genotipik ve allelik sıklıklarında herhangi bir fark saptanmamıştır (12). Bu çalışma ile bizim çalışmamızın sonuçları benzerlik göstermekle birlikte bizim çalışmamızın kısıtlılığı hasta sayımızın az olmasıdır. Bu sonuçların Türk popülasyonu için geçerliliği daha fazla sayıda hasta ile yapılan çalışmalarla doğrulanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Ferguson A, MacDonald TT, McClure JP, Holden RJ. Cell-mediated immunity to gliadin within the small-intestinal mucosa in coeliac disease. *Lancet* 1975;1:895-7.
2. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol* 2002;2:647-55.
3. Sollid LM, Markussen G, Ek J, et al. Evidence for a primary association of coeliac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer. *J Exp Med* 1989;169:345-50.
4. Monsuur AJ, de Bakker PI, Alizadeh BZ, et al. Myosin IXB variant increases the risk of coeliac disease and points toward a primary intestinal barrier defect. *Nat Genet* 2005;37:1341-4.
5. Curley CR, Monsuur AJ, Wapenaar MC, et al. A functional candidate screen for coeliac disease genes. *Eur J Hum Genet* 2006;14:1215-22.
6. van de Stolpe A, van der Saag PT. Intercellular adhesion molecule-1. *J Mol Med (Berl)* 1996;74:13-33.
7. Sturgess RP, Macartney JC, Makgoba MW, et al. Differential upregulation of intercellular adhesion molecule-1 in coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 1990;82:489-92.
8. Jelínková L, Tucková L, Sánchez D, et al. Increased levels of circulating ICAM-1, E-selectin, and IL-2 receptors in coeliac disease. *Dig Dis Sci* 2000;45:398-402.
9. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. *Arch Dis Child* 1990;65:909-11.
10. Abel M, Cellier C, Kumar N, Cerf-Bensussan N, et al. Hum adult-hood-onset coeliac disease is associated with intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene polymorphism. *Immunol* 2006;67:612-7.
11. Kaur G, Rappaport CC, Kumar S, et al. Polymorphism in L-selectin, E-selectin and ICAM-1 genes in Asian Indian pediatric patients with coeliac disease. *Hum Immunol* 2006;67:634-8.
12. Dema B, Martínez A, Polanco I, et al. ICAM1 R241 is not associated with coeliac disease in the Spanish population. *Hum Immunol* 2008;69:675-8.

Literatüre baktığımızda aktif ÇH olan kişilerin ince barsak biyopsilerinde ve serumlarında ICAM-1 ekspresyonunun artmış olduğu görülmüş (7,8). Ancak, İspanya ve Hindistan'dan yapılan çalışmalara benzer olarak bizim çalışmamızda ÇH ile ICAM-1 gen polimorfizmi arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. ÇH'na sahip kişilerin doku ve serumunda ICAM-1 seviyesinde artış varken ICAM-1 geninde polimorfizm saptanmaması, ÇH ile ICAM-1 arasındaki ilişkinin sebepten çok sonuç ilişkisi olduğunu düşündürülebilir.

Sonuç olarak, çalışmamızda ÇH riski ile ICAM-1 gen polimorfizminin ilişkisini gösteremedik. Bu konuda ülkemiz açısından kesin bir sonuca varabilmek için farklı bölgelerden daha fazla sayıda hastayı içeren çalışmalar yapılmalıdır.