

بررسی عملکرد مولکولی بیان ژنی در ارتباط با عفونت‌های ویروسی سین سیشیال تنفسی

معصومه حمیدیان^۱، مهناز محمدی^۲، بهناز اسفندیاری^{۲*}

۱-کارشناس ارشد زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، تهران، ایران
۲-استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، تهران، ایران

یافته / دوره ۲۵ / شماره ۳ / پاییز ۱۴۰۲ / مسلسل ۹۷

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱۳/۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۸/۱۶

مقدمه: مطالعات نشان داده است که تا ۶۸ درصد از نوزادان ممکن است در سال اول زندگی خود به ویروس سین سیشیال تنفسی (RSV) مبتلا شوند و تقریباً همه کودکان تا دوسالگی مبتلا می‌شوند. در این مطالعه با استفاده از آنالیز بیوانفورماتیک به بررسی و کاندید نمودن ژن‌های موجود در مسیرهای وابسته به عفونت ویروس سین سیشیال تنفسی (RSV) پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: با مراجعه به پایگاه داده GEO مجموعه داده‌ها (دیتاست) مناسب برای آنالیز انتخاب گردید. این دیتاست شامل پروفایل بیان ژنی در عفونت ویروس سین سیشیال تنفسی (RSV) بود. کلاسترهای ژنی با بیان بالا و پایین دسته‌بندی شدند. برای ارزیابی دقیق‌تر داده از پایگاه‌های داده غنی همچون STRING، Enrichr و Panther استفاده شد. در نهایت ژن‌های کاندید شده جدا و ارتباط پروتئینی آن‌ها نیز سنجیده شد.

یافته‌ها: ۷۴۰ ژن، افزایش بیان و ۸۲۲ ژن، کاهش بیان داشتند. که این ژن‌ها می‌توانند در مسیرهای عفونت ویروس سین سیشیال تنفسی در کودکان نقش داشته باشند. مسیرهای NOD like receptor، اپشتین بار - آنفلوآنزا، توپرکلوزیس، لیسمانیازیس، نکروتوزیس و سالمونلا بیان بالا داشته و مسیرهای کرونا ویروس، هرپس ویروس، نقص سیستم ایمنی، گیرنده سلول‌های لنفوسیت (Th1)، ریپوزوم، NFkappa B و PDL1 در نقاط واری واری چرخه سلولی بیان پایین داشتند.

بحث و نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد، که پروتئین‌ها و ژن‌های مهم در تقویت التهاب ویروس سین سیشیال تنفسی در کودکان نقش عمده‌ای دارد. که از میان آن‌ها "STAT ۳، STAT ۴، RPL۲۶TLR A ۴، STAT ۱، MAPK ۴" نقش بارزتری را در این مسیر نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: ویروس سین سیشیال تنفسی، پروفایل بیان ژن، آنالیز بیوانفورماتیک، سلول‌های نازوفارنژ.

*آدرس مکاتبه: تهران، اسلامشهر، میدان نماز، خیابان صیاد شیرازی، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی.

پست الکترونیک: me_esfandiari2000@yahoo.com

مقدمه

مطالعات نشان داده است که تا ۶۸ درصد از نوزادان ممکن است، در سال اول زندگی خود به ویروس سین سیشیال تنفسی (RSV) (respiratory syncytial virus) مبتلا شوند و تقریباً همه کودکان تا دوسالگی مبتلا می‌شوند. عفونت ویروس سین سیشیال علت اصلی بستری شدن در بیمارستان در دوران کودکی است (۱). در نوزادان سالم، بیشتر عفونت‌ها منجر به بیماری خفیف می‌شوند، اما کودکان زیر شش ماه در فصل اوج ویروس سین سیشیال بیشتر در معرض خطر ابتلا به بیماری شدید ویروس سین سیشیال هستند (۲)، که احتمال ابتلا به آسم دوران کودکی و خس‌خس‌های مکرر را در آینده افزایش می‌دهد (۳).

مرگ ناشی از ویروس سین سیشیال یکی از علل مهم مرگ‌ومیر در کشورهای در حال توسعه و افراد مستعد است. اعتقاد بر این است که این دومین عامل احتمالی مرگ توسط یک عامل بیماری‌زا در کودکان زیر یک سال در سراسر جهان باشد (۴). علاوه بر عفونت اولیه شدید، عفونت مجدد ویروس سین سیشیال در طول زندگی شایع است و تا ۷۵ درصد از نوزادانی که تا ۱۲ ماهگی آلوده می‌شوند، قبل از رسیدن به سن دوسالگی مجدداً آلوده می‌شوند. علائم بیماری ممکن است با عفونت مجدد کاهش یابد. با این حال، افراد مسن، افراد دارای نقص ایمنی، و کسانی که دارای بیماری‌های مزمن، از جمله آسم هستند، در معرض خطر بالای ابتلا به عفونت‌های دستگاه تنفسی تحتانی هستند، که ویروس سین سیشیال را به یک علت مهم برای عوارض و مرگ‌ومیر در این افراد تبدیل می‌کند (۵).

علاوه بر این، اکنون به وضوح ثابت شده است که مرگ‌های ناشی از بیماری‌های شبه آنفلوآنزا عمدتاً توسط عفونت‌های شدید باکتریایی شامل میکروب‌هایی مانند پنوموکوک، استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوک پیوزن یا آنفلوآنزا ایجاد می‌شوند (۶-۸). کلونیزاسیون بینی-حلق در پاتوژن بیماری و افراد مستعد ابتلا به عفونت‌های تنفسی یک مرحله

حیاتی است. به همین دلیل یافتن ارتباط بین ژن‌های دخیل در مسیرهای سیگنالی مرتبط بین فلورهای طبیعی تنفسی و ویروس سین سیشیال تنفسی می‌تواند نقطه عطفی در یافتن و مدیریت درمان بهتر کودکان را به همراه داشته باشد (۹).

بسیاری از مطالعات تلاش کرده‌اند مکانیسم ورود و تعامل ویروس سین سیشیال با میزبان انسان را توضیح دهند (۱۰، ۱۱). Li و همکارانش مدل جدیدی از پاتوژن را پیشنهاد کردند. در مرحله اول، ویروس سین سیشیال از طریق تعامل با پروتئین G وارد سلول‌های اپیتلیال راه هوایی می‌شود. ثانیاً، این پیوست اتصال پروتئین ویروس سین سیشیال F به نوکلئولین (غنی از دامنه کلاسترول) را تعیین می‌کند که منجر به فعال شدن اسکلت سلولی و سازمان‌دهی مجدد رشته اکتین در پوشش سین سیشیال برای معرفی محتوای آن در سیتوپلاسم سلول میزبان می‌شود (۱۲).

ویروس سین سیشیال فعالیت آسیب سلولی مستقیم را نشان می‌دهد، این علائم و نشانه‌ها، وابسته به ویروس هستند. همچنین به دلیل پاسخ‌های ایمنی ذاتی و تطبیقی ایجاد شده توسط حضور آن در سلول‌های اپیتلیال راه هوایی است (۱۳-۱۵). بسیاری از مدل‌های آزمایشگاهی و حیوانی برای استنباط مسیر پاتولوژیک ویروس سین سیشیال به کار گرفته شده‌اند، اگرچه تعامل آن با میزبان انسان، به‌ویژه با کودکان، با سایر مدل‌ها بسیار متفاوت است (۱۶).

در یک دهه گذشته استفاده از دانش بیوانفورماتیک کمک شایانی به یافتن انواع بیومارکرها از سطح ژنوم تا پروتئوم را در انواع مختلف بیماری‌ها و به خصوص بیماری‌های عفونی به همراه داشته است (۱۷، ۱۸). این تکنیک به کمک آنالیز داده‌ها در سطح علوم رایانه کمک می‌کند، تا بتوانیم ژن‌ها و مولکول زیستی دقیق‌تری را انتخاب کنیم. این علم همچنین به ما این فرصت را می‌دهد، که مارکرهای زیستی در سطوح بافت یا سرم یا سایر ترشحات بدن انسان و یا حتی سایر موجودات آزمایشگاهی را پیدا کنیم. سیستم ایمنی کودکان نابالغ است. میکروبیوتای دستگاه تنفسی، فرصت

دیتاست ۱۰۵۸۸ GPL-۱۰ Illumina HumanHT-۱۲ expression beadchip ۷۴ بود (شکل ۴ و ۳).

آماده‌سازی داده‌های پروفایل بیان ژن برای انجام آنالیزهای تکمیلی:

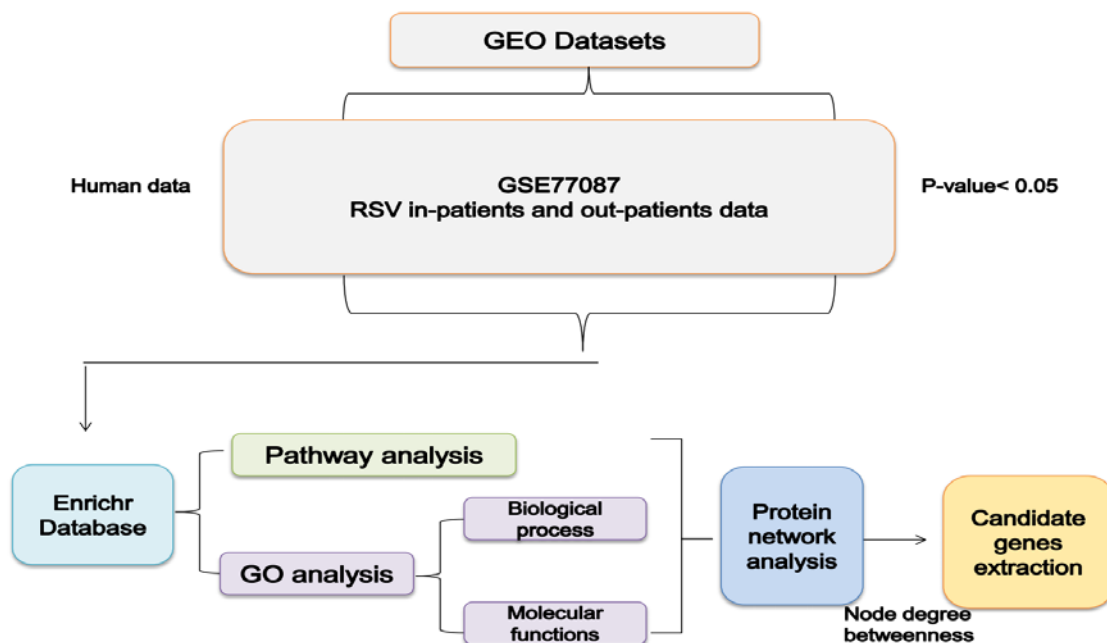
GEO (Gene Expression Omnibus) یک مخزن عمومی است که مجموعه‌های جامعی از ریزآرایه‌ها، توالی‌یابی نسل بعدی و سایر اشکال داده‌های ژنومی عملکردی با کارایی بالا ارائه شده توسط جامعه علمی را بایگانی و آزادانه توزیع می‌کند. GEO۲ R یک ابزار است که به کاربران اجازه می‌دهد دو یا چند گروه از نمونه‌ها را در یک سری GEO مقایسه کنند تا ژن‌هایی را که به‌طور متفاوت در شرایط تجربی بیان می‌شوند، را شناسایی کنند. دیتاست GSE۷۷۰۸۷ را به کمک آنالیز GEO۲ R جداسازی کرده سپس ژن‌های شناسایی شده را جدا نموده و پس از آن ژن‌هایی که بیان افزایش یافته و بیان کاهش یافته داشتند، را دسته‌بندی نمودیم. در نهایت داده‌ها را در فایل اکسل ذخیره نموده و برای سایر آنالیزها آماده شدند. مسیر شماتیک نحوه انجام آنالیز بیوانفورماتیک در شکل ۱ نشان داده شده است.

خوبی برای تقویت عفونت‌های ویروسی نشان می‌دهد. به همین دلیل این مطالعه می‌تواند نقش کاربردی در ارزیابی مسیرهای مهم و دخیل در ارتباط بین میکروبی تا عفونت سین سیشیال را به ما نشان دهد. با استفاده از آنالیزهای پیوسته و یکپارچه بیوانفورماتیک به بررسی پروفایل بیان ژن عفونت به‌واسطه ویروس سین سیشیال تنفسی پرداخته و مسیرها و پروتئین‌های اختصاصی در این سلول‌ها را جداسازی و مورد ارزیابی بیشتر قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مجموعه داده‌ها (دیتاست) بیان ژن ویروس سین سیشیال تنفسی در کودکان

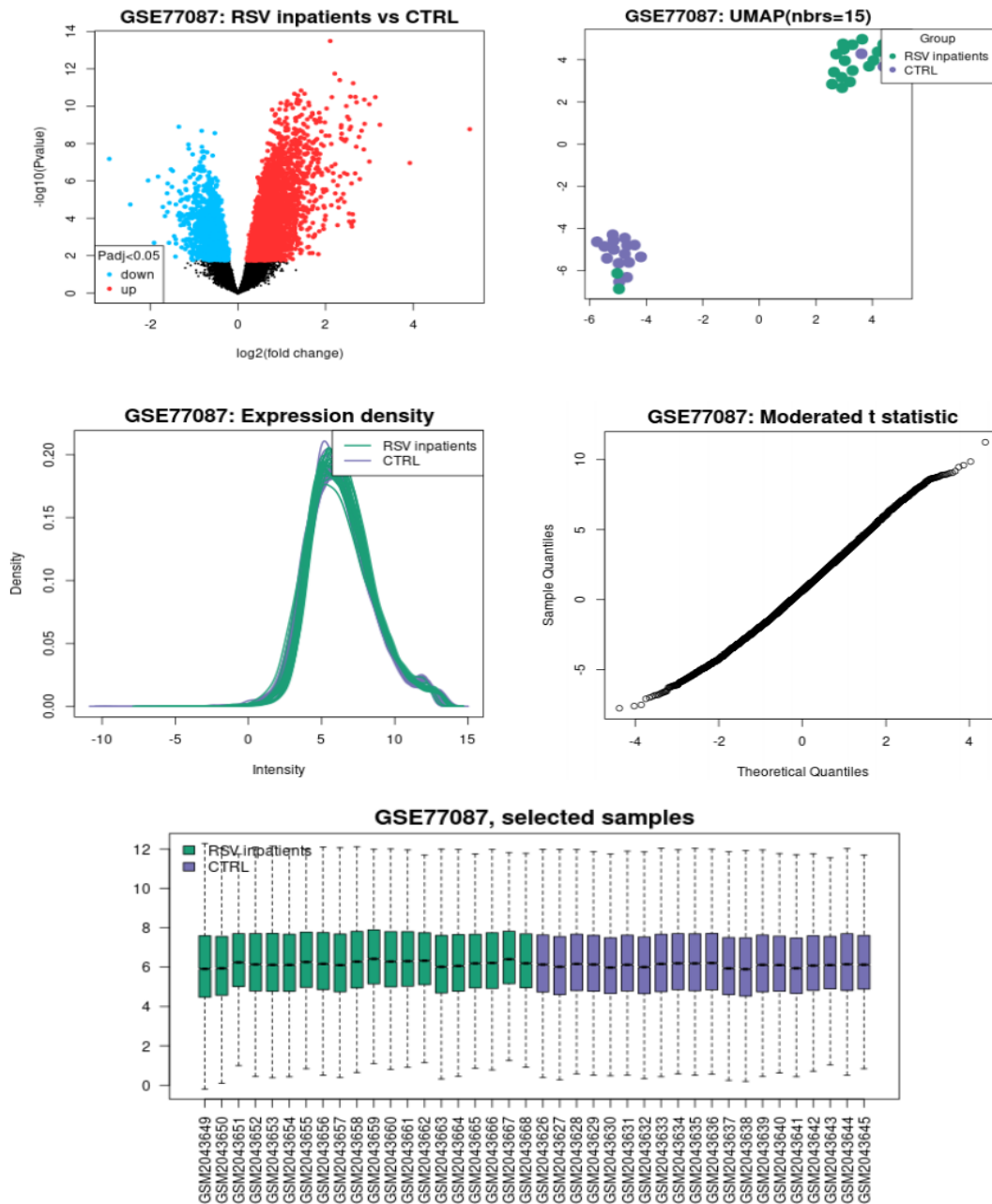
در این مطالعه دیتاست GSE۷۷۰۸۷ از پایگاه داده GEO (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>) انتخاب شده و مورد استفاده قرار گرفت. این دیتاست دارای ۱۵۰ نمونه خون از کودکان زیر یک سال تا ۵ سال و بیشتر جنس مذکر بودند، که شامل سه گروه با عنوان بیمارانی که خارج از بیمارستان تحت درمان بودند. گروه دیگر بیماران بستری در بیمارستان بودند و گروه سوم افراد سالم بودند. پلتفرم استفاده شده در این



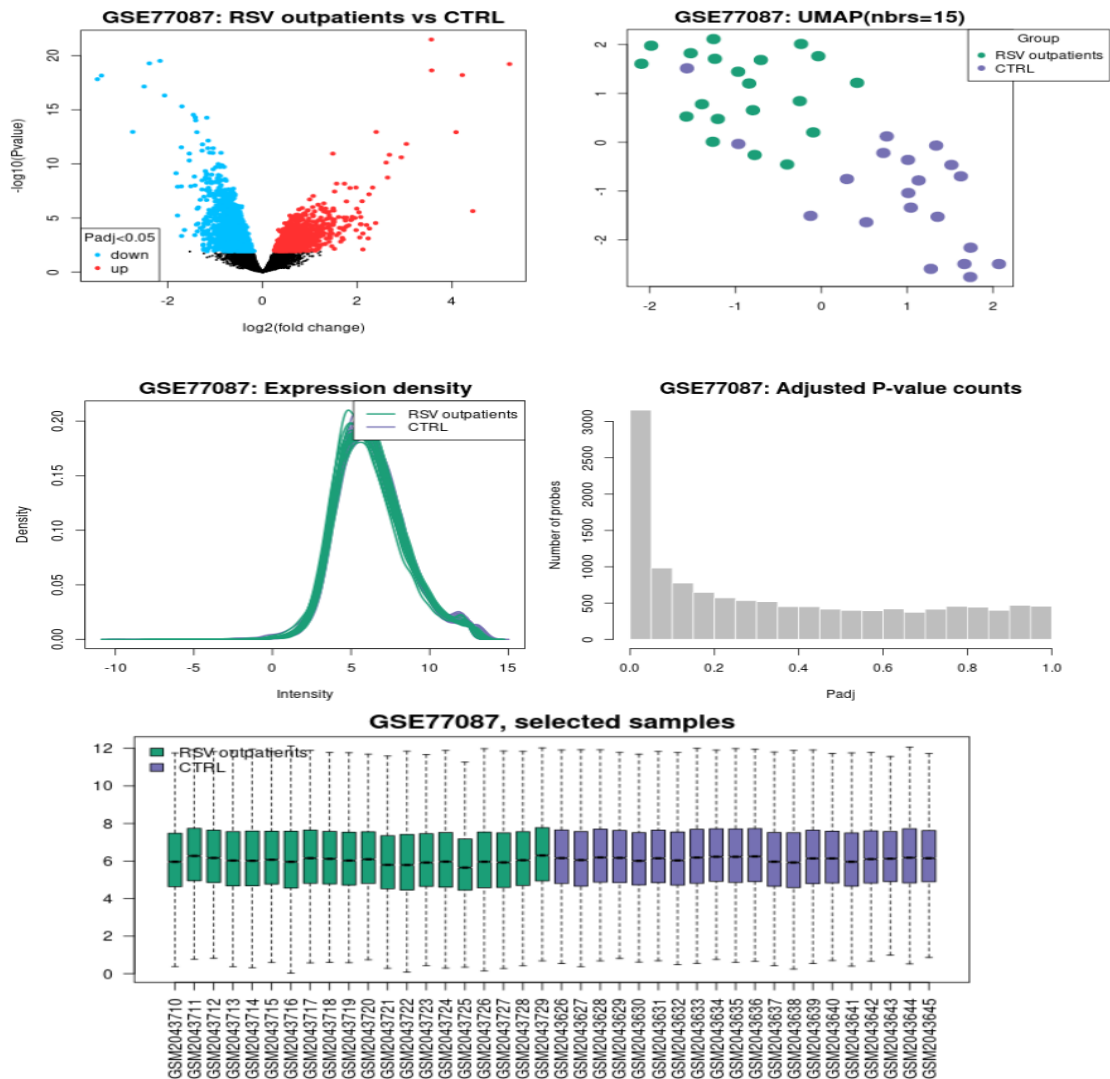
شکل ۱. مسیر شماتیک نحوه انجام آنالیز بیوانفورماتیک

شکل ۳ اطلاعات کلی که از پروفایل بیان ژن‌های در ارتباط با عفونت‌های ویروس سین سیشیال تنفسی در کودکان تحت درمان خارج از بیمارستان، به دست آمده است را نشان می‌دهد.

شکل ۲ اطلاعات از پروفایل بیان ژن‌های در ارتباط با عفونت‌های ویروس سین سیشیال تنفسی در کودکان بستری‌شده در بیمارستان به دست آمده است را نشان می‌دهد.



شکل ۲: اطلاعات کلی از پروفایل بیان ژن دیتاست GSE77087 که مرتبط با عفونت ویروس سین سیشیال تنفسی در کودکان بستری‌شده در بیمارستان است به دست آمده است. بر همین اساس تصویر A نمودار ولکانو افتراق بیان ژن‌ها را بین این دو گروه نشان داده است. در تصویر B نمودار تراکم بیان ژن‌ها برای آنالیز به‌خوبی نشان داده شده است. تصویر C بار پلات از میزان تعداد ژن‌های معنی‌دار بوده و نمودار در ارتباط با شاخص T STATIC است. تصویر D میزان تراکم افتراق بیان ژن‌ها را در هر گروه نشان داده است.



شکل ۳: اطلاعات کلی از پروفایل بیان ژن دیتاست GSE77087 که مرتبط با عفونت ویروس سین سیشیال تنفسی در کودکان تحت درمان خارج از بیمارستان به دست آمده است. بر همین اساس تصویر A نمودار ولکانو افتراق بیان ژن‌ها را بین این دو گروه نشان داده است. در تصویر B نمودار تراکم بیان ژن‌ها به خوبی نشان داده شده است. تصویر C بار پلات از میزان تعداد ژن‌های معنی دار بوده و نمودار در ارتباط با شاخص T STATIC است. تصویر D میزان تراکم افتراق بیان ژن‌ها را در هر گروه نشان داده است.

بررسی مسیرهای سیگنالی

از مجموعه داده‌های GSE77087 ژن‌هایی که دارای تغییر بیان بودند را به صورت جداگانه با استفاده از پایگاه داده Enrichr (<https://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr>) آنالیز نمودیم. سپس به کمک Kyoto KEGG (Encyclopedia of Genes and Genomes) که یک پایگاهی برای تجزیه و تحلیل سیستماتیک عملکردهای ژن است، اطلاعات ژنومی را با اطلاعات عملکردی ارتباط دادیم و با

استفاده از این پایگاه‌ها توانستیم، مسیرهای سیگنالی مرتبط و ژن‌های دخیل در هر کدام را انتخاب کنیم.

بررسی ماهیت ژن‌ها

در این قسمت، از مسیرهای سیگنالی منتخب و مرتبط با عفونت ویروس سین سیشیال تنفسی ژن‌های آن‌ها را جدا نموده و به کمک پایگاه داده Enrichr و Panther (<http://www.pantherdb.org/geneListAnalysis.do>)، دو بخش، فرایندهای زیستی (BP) و عملکردهای مولکولی (MF) مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این مطالعه سنجش ژن‌های با

گرفتند. همچنین $P < 0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

ژن‌های هرپس ویروس، نکرپتوز، توبرکلوزیس و PDL1 افتراق بیان بارزتری در عفونت ویروس سین سیشیال تنفسی در کودکان نشان دادند. آنالیز پروفایل بیان ژن GSE 77087 نشان داد که 740 ژن با افزایش بیان و 822 ژن با کاهش بیان می‌توانند در مسیرهای عفونت ویروس سین سیشیال تنفسی در کودکان نقش داشته باشند. مسیرهای NOD like receptor، اپشتین بار- آنفلوآنزا، توبرکلوزیس، لیشمانیاسیس، نکرپتوزیس و سالمونلا افزایش بیان داشته و مسیرهای کرونا ویروس، هرپس ویروس، نقص سیستم ایمنی، گیرنده سلول‌های لنفوسیت Th1، ریبوزوم، NFKappa B و PDL1 در نقاط واریسی چرخه سلولی کاهش بیان داشتند (شکل 4 و 5 و جدول 1).

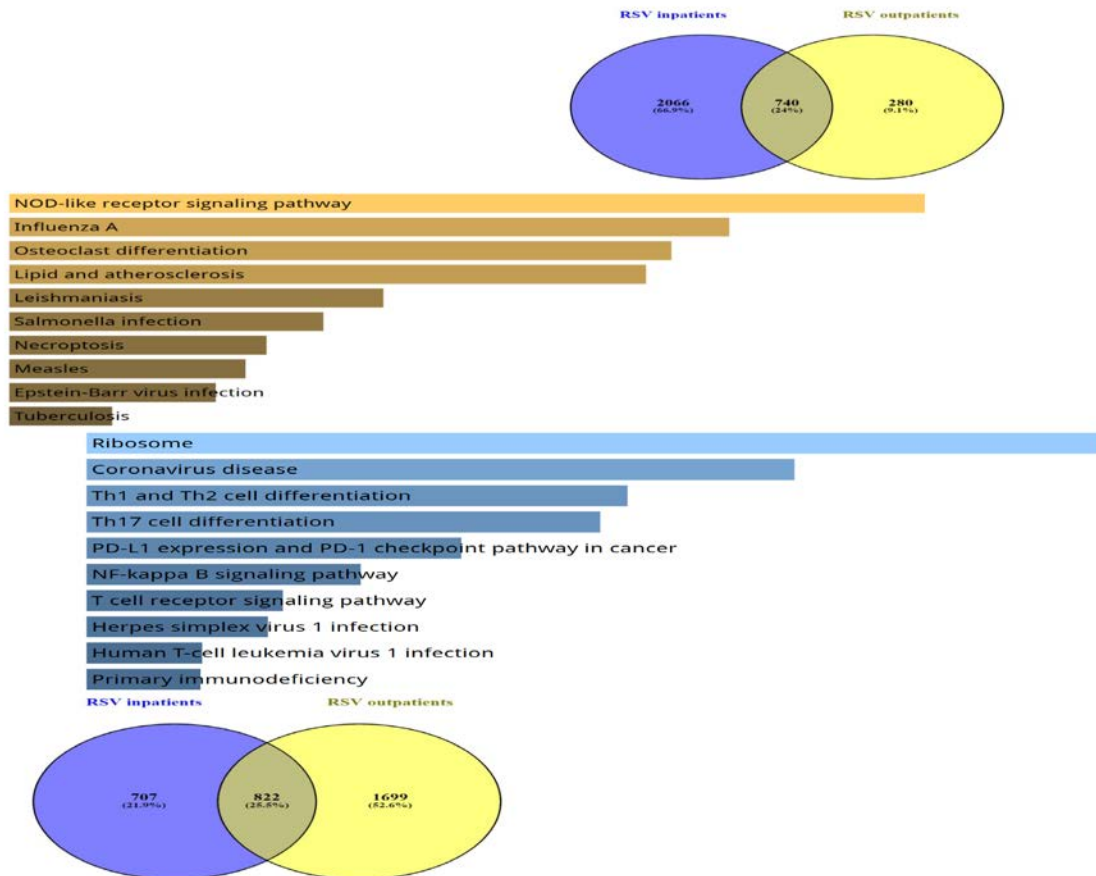
بیان بالا به دلیل انتخاب بیومارکر مناسب به‌خصوص در اجزای سلولی بیشتر حائز اهمیت بود. در قدم بعدی ده ژنی که بیشترین بیان و کمترین بیان را داشتند نیز به صورت جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این قسمت نیز برای انتخاب بهترین Ontology ژن‌ها $P < 0.05$ بررسی گردید.

بررسی ارتباط بین پروتئین‌ها

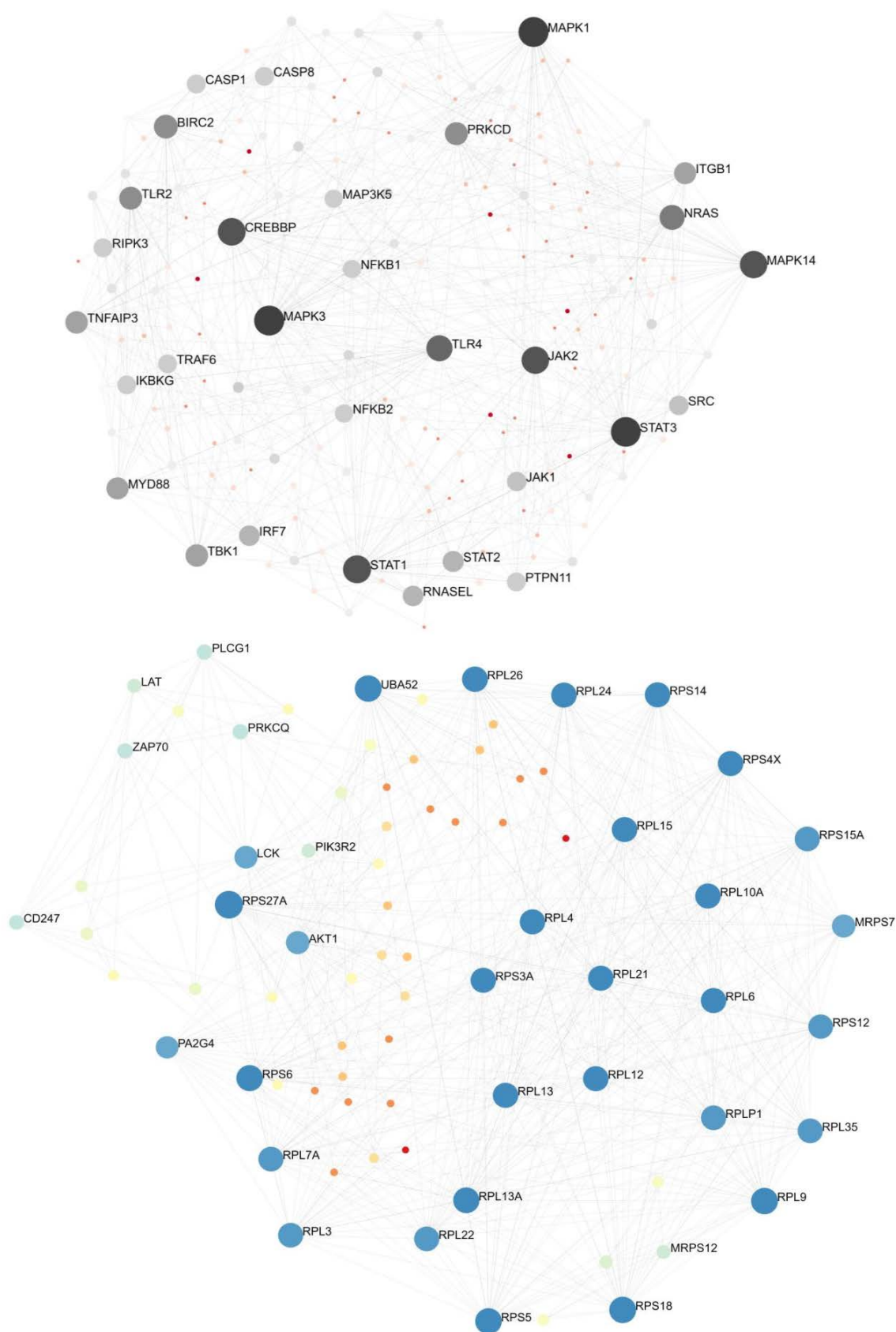
ژن‌های انتخاب‌شده از مسیرهای سیگنالی و GO در پایگاه داده STRING- STRINGS (<https://string-db.org>) آپلود شده و شبکه ارتباط بین پروتئین‌ها را به دست آوردیم. برای نمایش بهتر داده‌ها از نرم‌افزار cytoscape نسخه 3.7.1 استفاده نمودیم.

آنالیزهای آماری

داده‌های بیوانفورماتیک در این مطالعه بر اساس روش‌های قیدشده و به‌صورت پیوسته و یکپارچه مورد ارزیابی قرار



شکل 4. ارزیابی مسیرهای سیگنالی (A برای ژن‌های با افزایش بیان و B برای ژن‌های با کاهش بیان)



شکل ۵. شبکه پروتئینی بین ژن‌های با بیان بالا و پایین در عفونت ویروس سینسیتیل تنفسی در کودکان

مسیرهای تنظیم متابولیسم فسفر، تنظیم تحرک سلولی، پاسخ به استرس‌های سلولی، پاسخ به مولکول‌های آلی، سازماندهی اندامک‌های سلولی و اصلاح ساختار ماکرومولکول‌ها در فرآیندهای زیستی و فعالیت NADH dehydrogenase و فعالیت ATP در عملکردهای مولکولی شرکت داشتند. پروتئین‌ها و ژن‌های مهمی در تقویت التهاب ویروس سینسیتال تنفسی در کودکان نقش عمده‌ای داشته که از میان آن‌ها STAT3، TLR4، MAPK4 و STAT1، RPL26A نقش بارزتری را در این مسیر در شکل ۵ نشان می‌دهند.

بحث و نتیجه‌گیری

شیوع بیماری‌های وابسته به عفونت‌های ویروسی در کشور ایران رو به افزایش است. از سوی دیگر سیستم ایمنی کودکان همچنان نابالغ بوده و این فرصت مناسبی است که فلور طبیعی دستگاه تنفسی فرصت خوبی برای تقویت عفونت‌های ویروسی نشان دهند.

پیش‌ازاین مطالعه بیوانفورماتیکی با دقت بالا برای ویروس سینسیتال در کودکان انجام نشده بود. مطالعه حاضر توانست نتایج بهتری از ژن‌ها و محصولات پروتئینی دخیل در ایجاد این بیماری را ارائه نموده و بتواند با میکروبیوتا موجود در نواحی حفره دهانی به درمان‌های بهینه‌تر دست یابد. اندرسون و همکاران نشان دادند سطوح پایین رونوشت CX3CR1 اغلب، اما نه همیشه، در هر دو راه هوایی فوقانی (۶۲٪) و پایینی (۳۶٪) از افراد کودکان بیان شد. رونوشت CX3CR1 و بیان پروتئین در سلول‌های اپیتلیال بافت طبیعی ریه اطفال تشخیص دادند. بیان CX3CR1 به آسانی در کشت‌های اولیه سلول‌های اپیتلیال ریه اطفال / نوزاد یافت شد. ویروس سینسیتال، عفونت ترجیحی سلول‌های CX3CR1 مثبت را نشان داد و مهار کردن تعامل ویروس سینسیتال CX3CR1 به طور قابل توجهی میزان ویروسی را کاهش داد (۱۹). کموکاین‌ها

جدول ۱. ده ژن اول بیشترین افتراق بیان را در عفونت ویروس سین

سیشیال تنفسی در کودکان		
ژن‌ها	LogFC	P-مقدار
ژن‌های بیان بالا		
IFIT1	۵/۲۹	۱/۷۱ E -۰۹
GPR84	۳/۹۲	۱/۱۰ E -۰۷
MMP9	۳/۲۳	۹/۸۴ E -۱۰
SLC1A2	۳/۱۳	۳/۲۹ E -۱۱
IFIT4	۲/۹۹	۳/۳۰ E -۰۸
LILRA5	۲/۹۹	۸/۸۶ E -۱۱
IL1RN	۲/۸۹	۷/۸۲ E -۱۰
MCEMP1	۲/۸۸	۴/۴۶ E -۱۱
FCGR1	۲/۸۷	۲/۰۸ E -۰۸
IFIT6	۲/۸۲	۲/۰۷ E -۰۹
ژن‌های بیان پایین		
CCR3	-۲/۹۳	۶/۶۲ E -۰۸
CLC	-۲/۴۵	۱/۸۲ E -۰۵
HLA-DRB6	-۲/۰۵	۹/۵۳ E -۰۷
HDC	-۲/۹۱	۲/۰۶ E -۰۳
CHI3L3	-۱/۸۲	۵/۸۹ E -۰۷
ZNF823	-۱/۷۱	۲/۴۷ E -۰۵
MYOM2	-۱/۶۶	۷/۶۲ E -۰۵
FCER1A	-۱/۶۱	۴/۶۲ E -۰۶
FCGBP	-۱/۶۱	۴/۵۶ E -۰۵
SPIN1	-۱/۶۰	۱/۳۷ E -۰۶

آنالیز Gene Ontology

در این قسمت ما با استفاده از پایگاه داده‌ها و نرم‌افزارهای گفته‌شده در بالا، ژن‌های با بیان بالا و پایین را در دو بخش فرآیندهای سلولی و عملکردهای مولکولی ارزیابی کردیم. در بخش فرآیندهای زیستی مسیرهای چرخه سلولی، پردازش فرآیندهای سلولی، خودتنظیمی مثبت در مسیرهای متابولیسمی، تنظیم فرآیندهای بیوسنتزی و انتقالات درون سلولی، همچنین در عملکردهای مولکولی فسفات‌ها، اتصالات فریزلد، اتصالات اینترگرین‌ها، فاکتور رشد رگ‌های اندوتلیالی ۲ و فعالیت سایتوکاین‌ها وجود داشتند. همین بررسی به‌طور مشابه برای ژن‌های با بیان پایین نیز صورت گرفت که

همکاران مشاهده کردند که G/A SNP با برونشیولیت ناشی از ویروس سین سیشیال و نیاز به تهویه مکانیکی در بیماران مبتلابه کیولیت برون مرتبط است. گیرنده‌های غیر از TLR۴ نقش عمده‌ای در ژنتیک بیماری شدید ویروس سین سیشیال بازی نمی‌کنند (۲۲). باین حال، Nuolivirta و همکاران، با تعیین ژنوتیپ جهش ژن TLR۳ F۱۲۴۳، نشان دادند که آلل T جزئی در نوزادان بستری با برونشیولیت در بیمارستان و آلل اصلی C به‌عنوان هموزیگوت همراه با خس خس مکرر پس از برونشیولیت بیش‌از حد نشان داده شده است. تغییرات rs۵۷۴۴۱۷۴ ممکن است حساسیت به برونشیولیت را افزایش دهد که ناشی از ویروس سین سیشیال نیست. برونشیولیت نوزادی با فراوانی ۷۰ درصد عفونت ویروس سین سیشیال است. گروهی دیگر، از طریق ژنوتیپ کردن ۱۹ پلی مورفیسم در TLRهای اتوزومی، ارتباط ضعیفی از یک پلی مورفیسم پروموتور (TLR۹rs۵۷۴۳۸۶) و هاپلوتیپ TLR۱۰ با عفونت‌های ویروس سین سیشیال، تعداد بیشتری از ویروس‌ها را پیدا کردند (Alper، ۲۳). دریافت که پلی مورفیسم TLR۹rs۱۸۷۰۸۴ ممکن است با خس خس سینه پس از برونشیولیت مرتبط باشد، درحالی‌که پلی مورفیسم TLR۱۰rs۴۲۲۹۰۰۹ ممکن است با آتوپی همراه باشد. در مجموع، این گزارش‌ها به شناسایی نوزادان در معرض خطر و توسعه درمان‌های این عفونت بالقوه‌کشنده کمک می‌کند (۲۴). گیرنده‌های نابینوئید (CB۱ و CB۲) گیرنده‌های جفت شده با پروتئین G گذرنده هستند که میل ترکیبی به پپتیدهای درون‌زا و آگزوژن دارند. سیگنال دهی آن‌ها توجه قابل‌توجهی را به خود جلب کرده است زیرا آن‌ها توانایی تغییر عملکرد ایمنی و تأثیر بر پیشرفت بیماری را دارند. داده‌های حاصل از مطالعه ما، برای اولین بار، شواهدی را ارائه کرد که تغییرات ژنتیکی در این گیرنده‌ها باعث اختلال در تنظیم پاسخ

پروتئین‌های کوچکی هستند که با اتصال به گیرنده‌های خاص جفت شده با پروتئین G روی سلول‌های هدف، فعال‌سازی و مهاجرت سلول‌های ایمنی را تحریک می‌کنند. عفونت ویروس سین سیشیال اپیتلیوم راه هوایی باعث ایجاد انواع کموکاین‌ها (CX۳C، CXC، CC) و XC می‌شود که دارای یک نقش مهمی در جذب لکوسیت‌ها به محل عفونت و پیوند شدید دارد. بر اساس فعال‌سازی، سلول T طبیعی بیان و ترشح می‌شود (RANTES) یا لیگاند ۵ کموکاین (موتیف) (CCL۵) به عنوان یک کموکاین CC از طریق گیرنده‌های CCR۱، CCR۳ و CCR5 عمل می‌کند و به شدت با آسیب‌شناسی ایمنی ویروس سین سیشیال مرتبط است. Hall و همکاران برای اولین بار گزارش دادند که تنوع ژنتیکی در مسیر RANTES بر سیر بالینی عفونت ویروس سین سیشیال تأثیر می‌گذارد. آن‌ها تعیین کردند که انواع G و T ژن CCR۵ با برونشیولیت شدید ویروس سین سیشیال مرتبط است. RANTES و پلی مورفیسم در اینترون اول (In ۱/۱ T/C) بر شدت عفونت ویروس سین سیشیال تأثیر می‌گذارد. آن‌ها هیچ ارتباطی بین برونشیتیس ویروس سین سیشیال و این SNPها در آزمایش جداگانه پیدا نکردند، اما ژنوتیپ ترکیبی T/T در بیماران مبتلابه ویروس سین سیشیال به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از گروه شاهد بود (Guo، ۲۰). همکاران گزارش کردند که چندشکلی پروموتور ژن C/G-۲۸ RANTES با حساسیت به برونشیولیت ویروس سین سیشیال در جمعیت قوم هان چینی مرتبط است. نکته مهم این است که مطالعه دیگری تشخیص داده است که تنوع G/A- فعالیت رونویسی RANTES را افزایش می‌دهد که منجر به سرم بالا می‌شود. سطوح RANTES، در نتیجه خطر خس خس مکرر را پس از برونشیولیت ویروس سین سیشیال افزایش می‌دهد (Alvarez، ۲۱). اخیراً،

(rs731236TaqI) نیز یافت شد. به طور مهمی، Drysdale و همکاران گزارش کردند که SNP rs 10735810 با افزایش عوارض تنفسی مزمن و کاهش عملکرد ریه در نوزادانی که عفونت ویروس سین سیشیال داشتند، مرتبط است (۲۹). ارتباط پلی مورفیسم FokI با عفونت ویروس سین سیشیال از یک متآنالیز اخیر قابل توجه بود (۳۰). همچنین، SNP دیگری در ژن VDR (rs2228570) گزارش شد که با پیشرفت به سمت مرگ ناشی از برونشیت حاد ویروسی به‌ویژه برونشیت مرتبط با ویروس سین سیشیال مرتبط است. طبق مطالعه Stoppelenburg و همکاران، استعداد VDR SNPs برای برونشیت شدید ویروس سین سیشیال ممکن است به دلیل اختلال در توانایی ویتامین D برای تعدیل پاسخ‌های ضدویروسی در اپیتلیوم راه هوایی باشد که منجر به افزایش ایمنی و تشدید برونشیت ویروس سین سیشیال می شود (۳۱).

Janssen و همکاران از طریق آزمایش ۳۸۴ SNP در ۲۲۰ ژن کاندید در هلند به این نتیجه رسیدند که در پشت ژن VDR، تنوع در سایر ژن‌های مرتبط با ایمنی ذاتی JUN، IFNA5 و NOS2 قوی‌ترین ارتباط را با برونشیت ویروس سین سیشیال دارند (۳۲). بررسی بیشتر در مورد همان مجموعه داده‌ها، نشان داد که عوامل ژنتیکی در ژن‌های ایمنی ذاتی (IFNA13، IFNAR2، STAT2، IL27، IL1، TNF، NFKBIA، C3، IL1، TLR5)، در ایمنی ذاتی و سازگار (IFNG)، و در ژن‌های بازسازی راه هوایی (ADAM33 و TGFBR1) بر بیماری تأثیر می‌گذارند. حساسیت به میزان متفاوتی در کودکان نارس متولدشده با ریه‌های توسعه‌نیافته نسبت به کودکان سالم مشاهده شد. تحقیقات دیگر نشان داد که پلی مورفیسم ژن متالوپروتئیناز ۳ (MMP3) ماتریکس (rs522616) با عفونت شدید ویروس سین سیشیال مرتبط است. ژن پروتئین سلول (G A38 10CC ra) در شدت عفونت

ایمنی بدن به دنبال ویروس سین سیشیال می‌شود. تغییرات ژنتیکی در ژن (2 Q3CNRR) که گیرنده‌های CB2 کانابینوئیدی را رمزگذاری می‌کند، مرتبط با شدت بیماری ویروس سین سیشیال است. نوع RR 2-63-CB کمتر مستعد ابتلا به عفونت‌های شدید بود و نوع QQ 2-63-CB با بیماری شدیدتر و خطر بستری شدن در بیمارستان مرتبط بود. گیرنده‌ها، همچنین با شدت بیماری ویروس سین سیشیال مرتبط است. ناقلین آلل G نسبت به حاملان آلل A کمتر مستعد ابتلا به عفونت شدید ویروس سین سیشیال بودند (۲۵). اینها اهمیت گیرنده‌های اپیوئیدی/کانابینوئیدی را در شدت بیماری ویروس سین سیشیال نشان می‌دهد، که به ما امکان می‌دهد انواع جدیدی از ژن‌ها را در آسیب‌شناسی ایمنی ویروس سین سیشیال پیدا کنیم.

ویتامین D تکثیر سلول‌های ایمنی، بلوغ و بیان سیتو کاین را تعدیل می‌کند و نقش مهمی در دفاع ذاتی در برابر ویروس‌ها ایفا می‌کند. عملکردهای بیولوژیکی ویتامین D از طریق سیگنال دهی گیرنده ویتامین (D VDR) انجام می‌شود (۲۶). ارتباط تغییرات VDR در پیامد عفونت ویروس سین سیشیال توسط نقش شناخته‌شده ویتامین D در ایمنی و الگوی فصلی عفونت ویروس سین سیشیال در طول زمستان پشتیبانی می‌شود. تولید ویتامین D در UV-B کم است (۲۷). یک مطالعه ارتباط ژنتیکی در نوزادان بستری در هلند، که برونشیت مرتبط با ویروس سین سیشیال با یک SNP در ژن VDR (پلی مورفیسم FokI؛ rs 10735810)، که در یک جمعیت آفریقای جنوبی را نشان داد. آن‌ها دریافتند که حاملان آلل "f" جزئی بیشتر با برونشیت ویروس سین سیشیال مرتبط هستند (۲۸). مطالعه دیگری نشان داد که ژنوتیپ "ff" با عفونت حاد تنفسی تحتانی در نوزادان با ۸۲٪ فراوانی عفونت RSV مرتبط است. در این مطالعه، ارتباط ضعیف‌تری با پلی مورفیسم

مشارکت نویسندگان

معصومه حمیدیان، تهیه پیش نویس. مهناز محمدی، طراحی علمی و گردآوری، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده ها. مهناز اسفندیاری، اصلاح نوشتار اولیه.

ملاحظات اخلاقی و درج کد اخلاق

این تحقیق، برگرفته از پایان‌نامه‌ای با عنوان بررسی عملکرد مولکولی میکروبیوتا موجود در نازوفارنژ کودکان مرتبط با عفونت ویروس تنفسی سینسیتیل که در تاریخ ۱۴۰۱/۰۴/۱۱ تصویب شده است و تمام منشور اخلاقی (اساسنامه منشور اصول اخلاقی پایان نامه های دانشگاه آزاد که شامل ۹ بند می باشد و انجام فعالیت های پژوهشی را مد نظر قرار داده است و دانشجوی و عضو هیئت علمی را متعهد می گرداند که از آن تخطی نکنند) در آن رعایت و در دانشگاه آزاد واحد اسلامشهر- تهران انجام گرفته است.

RSV یا خس خس دخیل نیست. Groger و همکاران با ارزیابی پلی مورفیسم‌های موجود در ژن‌های ICAM-۱ و VCAM-۱ و E-selectin هیچ مدرکی پیدا نکردند. گیرنده مهارکننده ایمنی ذاتی (MARCO انسانی) پروموتور SNP (rs۱۳۱۸۶۴۵) که باعث از دست دادن بیان ژن می‌شود، پاسخ سلولی در شرایط آزمایشگاهی به عفونت ویروس سین سیشیال را افزایش می‌دهد و با افزایش خطر ابتلا به بیماری در کودکان مبتلا به ویروس سین سیشیال مرتبط است. چندین ارتباط پیشنهادی برای برونشولیت ویروس سین سیشیال پیدا شد، که یکی از آنها یک منبع صفت کمی بیانی (QTL) در KCND۳ (عضو زیرخانواده ۳ D کانال دردار ولتاژ پتاسیم) بود. (۳۳-۳۷).

در نهایت، مطالعه حاضر نشان داد که پروتئین‌ها و ژن‌های مهمی در تقویت التهاب ویروس سینسیتیل تنفسی در کودکان نقش عمده‌ای داشته که از میان آنها STAT۳، TLR۴، RPL۲۶ A، STAT۱، MAPK۴ نقش بارزتری را در این مسیر نشان دادند. مطالعات مولکولی بیشتری برای اثبات دقیق‌تر مسیرهای ویروسی مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق، برگرفته از پایان‌نامه‌ای می باشد، که تمام منشور اخلاقی در آن رعایت و در دانشگاه آزاد واحد اسلامشهر- تهران انجام گرفته است. بدین‌وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از کلیه کسانی که در این پژوهش ما را یاری نموده اند، را اعلام می‌نماییم.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافی در پژوهش حاضر بین نویسندگان وجود ندارد.

حمایت مالی

این مطالعه بدون هیچ حمایت مالی انجام پذیرفت.

References

1. Heinonen S, Rodriguez-Fernandez R, Diaz A, Rodriguez-Pastor S O, Ramilo O, & Mejias A. Infant immune response to respiratory viral infections. *Immunology and Allergy Clinics*. 2019; 39(3): 361–376.
2. Simões E F, Bont L, Manzoni P, Fauroux B, Paes B, Figueras-Aloy J, et al. Present and future approaches to the prevention and treatment of respiratory syncytial virus infection in children. *Infectious Diseases and Therapy*. 2018; 7(1): 87–120.
3. Soudani N, Caniza M A, Assaf-Casals A, Shaker R, Lteif M Su Y, et al. Prevalence and characteristics of acute respiratory virus infections in pediatric cancer patients. *Journal of Medical Virology*. 2019; 91(7): 1191–1201.
4. Kini S, Kalal B S, Chandy S, Shamsundar R, Shet A. Prevalence of respiratory syncytial virus infection among children hospitalized with acute lower respiratory tract infections in Southern India. *World Journal of Clinical Pediatrics*. 2019; 8(2): 33.
5. Toivonen L, Karppinen S, Schuez-Havupalo L, Teros-Jaakkola T, Mertsola J, Waris M, et al. Respiratory syncytial virus infections in children 0--24 months of age in the community. *Journal of Infection*. 2020; 80(1): 69–75.
6. O'Dwyer D N, Dickson R P, Moore B B. (2016). The lung microbiome, immunity, and the pathogenesis of chronic lung disease. *The Journal of Immunology*, 196(12), 4839–4847.
7. Langevin S, Pichon M, Smith E, Morrison J, Bent Z, Green R, et al. Early nasopharyngeal microbial signature associated with severe influenza in children: a retrospective pilot study. *The Journal of General Virology*. 2017; 98(10): 2425.
8. Teo S M, Mok D, Pham K, Kusel M, Serralha M, Troy N, et al. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host & Microbe*. 2015; 17(5): 704–715.
9. Morens D M, Taubenberger J K, Fauci A S. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *The Journal of Infectious Diseases*. 2008; 198(7): 962–970.
10. Welliver T P, Garofalo R P, Hosakote Y, Hintz K H, Avendano L, Sanchez K, H, et al. Severe human lower respiratory tract illness caused by respiratory syncytial virus and influenza virus is characterized by the absence of pulmonary cytotoxic lymphocyte responses. *J. Infect. Dis.* 2007; 195, 1126–1136.
11. Lay M K, González P A, León M A, Céspedes P F, Bueno S M, Riedel C A, et al. Advances in understanding respiratory syncytial virus infection in airway epithelial cells and consequential effects on the immune response. *Microbes Infect.* 2013; 15, 230–242.
12. Rossi G A, Colin A A. Infantile respiratory syncytial virus and human rhinovirus infections: Respective role in inception and

- persistence of wheezing. *Eur. Respir J.* 2014; 45, 774–789.
13. Guo-Parke H, Canning P, Douglas I, Villenave R, Heaney LG, Coyle P V, et al. Relative respiratory syncytial virus cytopathogenesis in upper and lower respiratory tract epithelium. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013; 188, 842–851.
 14. Noor A, Krilov L R. Respiratory syncytial virus vaccine: Where are we now and what comes next? *Expert Opin. Biol. Ther.* 2018; 18, 1247–1256.
 15. González-Parra G, Dobrovolsky H M. A quantitative assessment of dynamical differences of RSV infections in vitro and in vivo. *Virology.* 2018; 523, 129–139.
 16. Roe M, O'Donnell D, Callif C G. Respiratory viruses in the intensive care unit. *Paediatr. Respir. Rev.* 2003;4, 166–171.
 17. Analysis I. Integrated Analysis of Dysregulated miRNA-gene Expression in HMGA2- silenced Retinoblastoma Cells. 2014; 177–191.
 18. Leidinger P Ph D, Keller A, Bioinformatics C. The miRNome of Alzheimer's disease: consistent downregulation of the miR-132/212 cluster. *Neurobiology of Aging.* 2016; 50(4): 167–177.
 19. Tian M, Liu F, Wen GY, Shi SY, Chen RH, Zhao DY. Effect of variation in RANTES promoter on serum RANTES levels and risk of recurrent wheezing after RSV bronchiolitis in children from Han, Southern China. *Eur J Pediatr.* 2009;168(8):963-967.
 20. Hall C B. Respiratory syncytial virus in young children. *Lancet* 2010; 375, 1500–1502.
 21. Guo-Parke H, Canning P, Douglas I, Villenave R, Heaney L G, Coyle P V, et al. Relative respiratory syncytial virus cytopathogenesis in upper and lower respiratory tract epithelium. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013; 188, 842–851.
 22. Alvarez AE, Marson FAL, Bertuzzo CS. Association between single nucleotide polymorphisms in TLR4, TLR2, TLR9, VDR, NOS2 and CCL5 genes with acute viral bronchiolitis. *Gene.* 2017;7-17.
 23. Korppi M, Nuolivirta K, Lauhkonen E, et al. IL-10 gene polymorphism is associated with preschool atopy and early-life recurrent wheezing after bronchiolitis in infancy. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52(1):14-20.
 24. Alper CM, Winther B, Hendley JO, Doyle WJ. Cytokine polymorphisms predict the frequency of otitis media as a complication of rhinovirus and RSV infections in children. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009;266(2):199-205.
 25. Heylen E, Neyts J, Jochmans D. Drug candidates and model systems in respiratory syncytial virus antiviral drug discovery. *Biochem.Pharmacol.* 2017; 127, 1–12.
 26. Ke Z, Dillard R S, Chirkova T, Leon F, Stobart C C, Hampton C M, et al. The morphology and assembly of respiratory syncytial virus revealed by cryo-electron tomography. *Viruses* 2018; 10, 446.

27. Graham B S, Modjarrad K, McLellan J S. Novel antigens for RSV vaccines. *Curr Opin Immunol*. 2015; 35, 30–38.
28. Kresfelder TL, Janssen R, Bont L, Pretorius M, Venter M. Confirmation of an association between single nucleotide polymorphisms in the VDR gene with respiratory syncytial virus related disease in South African children. *J Med Virol*. 2011;83(10):1834-1840.
29. Drysdale SB, Prendergast M, Alcazar M, et al. Genetic predisposition of RSV infection-related respiratory morbidity in preterm infants. *Eur J Pediatr*. 2014;173(7):905-912.
30. Ambrose C S, Chen X, Kumar V R. A population-weighted, condition-adjusted estimate of palivizumab efficacy in preventing RSV-related hospitalizations among US high-risk children. *Hum Vaccines Immunother*. 2014; 10, 2785–2788.
31. Stoppelenburg AJ, von Hegedus JH, Huis in't Veld R, Bont L, Boes M. Defective control of vitamin D receptor-mediated epithelial STAT1 signalling predisposes to severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Pathol*. 2014;232(1):57-64.
32. Janssen R, Bont L, Siezen CL. Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus bronchiolitis is predominantly associated with innate immune genes. *J Infect Dis*. 2007;196(6):826-834.
33. Ralston S L, Lieberthal A S, Meissner H C, Alverson B K, Baley J E, Gadomski A M, et al. Clinical practice guideline: The diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics* 2014; 134, e1474–e1502.
34. Ambrose C S, Chen X, Kumar V R. A population-weighted, condition-adjusted estimate of palivizumab efficacy in preventing RSV-related hospitalizations among US high-risk children. *Hum Vaccines Immunother*. 2014; 10, 2785–2788.
35. Domachowske J B, Khan A A, Esser M, Jensen K, Takas T, Villafana T, et al. Tolerability and Pharmacokinetics of MEDI8897, an Extended Half-life Single-dose Respiratory Syncytial Virus Prefusion F-targeting Monoclonal Antibody Administered as a Single Dose to Healthy Preterm Infants. *Pediatrics Infect Dis J*. 2018; 37, 886–892.
36. Bianchini S, Argentiero A, Camilloni B, Silvestri E, Alunno A, Esposito S. Vaccination against paediatric respiratory pathogens. *Vaccines* 2019; 7, 168.
37. Esposito S, Scarselli E, Lelii M, Scala A, Vitelli A, Capone S, et al. Antibody response to respiratory syncytial virus infection in children <18 months old. *Hum Vaccines Immunother*. 2016; 12, 1700–1706.

Investigating the Molecular Function of Gene Expression in Relation to Respiratory Syncytial Virus Infections

Hamidian M¹, Mohammadi M², Esfandiari B^{2*}

1. MSc in Biology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Islamshahr Branch of Islamic Azad University, Islamshahr, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Islamshahr Branch of Islamic Azad University, Islamshahr, Tehran, Iran, me_esfandiari2000@yahoo.com

Received: 2023/5/24 Accepted: 2023/11/7

Abstract

Background: Studies have shown that up to 68% of infants may be infected with respiratory syncytial virus (RSV) in their first year of life, and almost all children are infected by the age of two. In this study, using bioinformatics analysis, the genes in the pathways related to respiratory syncytial virus (RSV) infection were examined and nominated.

Materials and Methods: By referring to the GEO database, the appropriate dataset was selected for analysis. This dataset included gene expression profiles in respiratory syncytial virus (RSV) infection. Gene clusters with high and low expression were categorized. Rich databases such as Enrichr, STRING, and Panther were used for more accurate data evaluation. Finally, the candidate genes were isolated, and their protein relationship was also measured.

Results: A total of 740 and 822 genes had high and low expressions, respectively. These genes can play a role in RSV infection pathways in children. The NOD-like receptor, Epstein-Barr-influenza, tuberculosis, leishmaniasis, necroptosis, and salmonella pathways are highly expressed, and the pathways of coronavirus, herpes virus, immune system deficiency, Th1 lymphocyte cell receptor, ribosome, NFKappa B, and PDL1 had low expression at checkpoints of the cell cycle.

Conclusion: The present study revealed that important proteins and genes played a major role in strengthening RSV inflammation in children, among which STAT3, TLR4, RPL26A, STAT1, and MAPK4 showed a more prominent role in this pathway.

Keywords: Bioinformatic analysis, Gene expression profile, Nasopharyngeal cells, Respiratory syncytial virus (RSV).

***Citation:** Hamidian M, Mohammadi M, Esfandiari B. Investigating the Molecular Function of Gene Expression in Relation to Respiratory Syncytial Virus Infections. *Yafte*. 2023; 25(3):51-65.