

The relationship between histamine receptor type 4 gene polymorphism (rs11662595) and response to H1 antihistamine drugs in patients with chronic idiopathic urticaria

Ebrahim Mohammadi^{1,2}, Fakhredin Karimpour³, Ramin Lotfi⁴, Fatemeh Zamani⁵, Abbas Aghaei⁶, Rasoul Nasiri Kalmarzi^{7,8}

1. Assistant Professor, Environmental Health Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, ORCID ID: 0000-0002-1586-0922

2. Department of Occupational Health Engineering, Faculty of Health, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, ORCID ID: 0000-0002-1586-0922.

3. Pediatrician, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, ORCID ID: 0000-0002-0184-5449.

4. MSc of Medical Immunology, Lung Diseases and Allergy Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, ORCID ID: 0000-0002-5421-5280.

5. MSc of Medical Immunology, Lung Diseases and Allergy Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, ORCID ID: 0000-0002-0795-8276.

6. Assistant Professor, Cancer and Immunology Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, ORCID ID: 0000-0001-9612-1250.

7. Associate Professor, Lung Diseases and Allergy Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran,

8. Clinical Research Development Center, Besat Hospital, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, (Corresponding Author)
Tel: 087-33664643, Email: rasoul_nsr@yahoo.com, ORCID ID: 0000-0001-6351-2909.

ABSTRACT

Background and Aim Chronic urticaria is a common allergic skin disease that is characterized by itching and hives, with or without angioedema, that persist for more than 6 weeks. This study aimed to investigate the genetic frequency of the histamine receptor 4 gene polymorphism at SNP rs11662595 in individuals with chronic urticaria and their response to antihistamine treatment and side effects.

Materials and Methods 130 patients with confirmed chronic idiopathic urticaria (CIU) and no other infectious or inflammatory diseases were selected for this study. With the consent of the patients, 5 ml of peripheral blood was taken from each patient for DNA extraction (in a CBC tube) and IgE measurement (in a hemolysis tube without anticoagulant). Genotyping of rs11662595 SNP was determined by PCR-RFLP and total IgE serum level was measured by ELISA method. The disease severity score in the first and twelfth weeks after treatment and the side effects of antihistamine drugs were determined for all patients.

Results: The frequency of rs11662595 polymorphism of HRH4 gene in chronic urticaria patients and healthy control participating in the study was calculated as 17.7% and 18.6%, respectively. However, according to the follow-up during 12 weeks, chronic urticaria patients who had the rs11662595 variant of the HRH4 gene did not show a different response to antihistamine treatment than those without the variant. The only variable that was significantly higher in people with the HRH4 gene variant than in people without this variant was the serum level of D-dimer.

Conclusion: Considering that there was no difference between patients with normal SNP and HRH4 gene polymorphism in any of the examined parameters, it is not important in the response to H1 antihistamine drugs. To find individual genetic responses to antihistamine drugs, other genes involved in the response to these drugs should be examined.

Keywords: Chronic urticaria, Antihistamine drug, Histamine receptor-4 (HRH4), Genetic polymorphism

Received: Oct 14, 2023

Accepted: April 16, 2024

How to cite the article: Ebrahim Mohammadi, Fakhredin Karimpour, Ramin Lotfi, Fatemeh Zamani, Abbas Aghaei, Rasoul Nasiri Kalmarzi. The relationship between histamine receptor type 4 gene polymorphism (rs11662595) and response to H1 antihistamine drugs in patients with chronic idiopathic urticaria. SJKU 2024;29(4):39-48.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

ارتباط بین پلیمورفیسم ژن گیرنده هیستامین نوع ۴ (rs11662595) و پاسخ به داروهای آنتی هیستامینی H₁ در بیماران مبتلا به کهیر مزمن ایدیوپاتیک

ابراهیم محمدی^{۱،۲}، فخرالدین کریم پور^۳، رامین لطفی^۴، فاطمه زمانی^۵، عباس آقایی^۶، رسول نصیری کالمزنی^{۷،۸}

۱. استادیار، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۱۵۸۶-۰۹۲۲
۲. گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۱۵۸۶-۰۹۲۲
۳. متخصص کودکان، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۱۸۴-۵۴۴۹
۴. کارشناس ارشد ایمونولوژی بالینی، مرکز تحقیقات بیماری‌های ریه و آلرژی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، کد ارکید: ۰۵۲۸۰-۰۰۰۰-۰۰۰۲-۵۴۲۱
۵. کارشناس ارشد ایمونولوژی بالینی، مرکز تحقیقات بیماری‌های ریه و آلرژی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، کد ارکید: ۰۸۲۷۶-۰۰۰۰-۰۰۰۱-۰۷۹۵
۶. استادیار، مرکز تحقیقات سرطان و ایمونولوژی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۹۶۱۲-۱۲۵۰
۷. دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ریه و آلرژی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
۸. مرکز توسعه تحقیقات بالینی، بیمارستان بعثت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. (نویسنده مسئول)، تلفن: ۰۸۷-۳۳۶۶۴۶۴۳-rasool_nsr@yahoo.com پست الکترونیک، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۶۳۵۱-۲۹۰۹

چکیده

زمینه و هدف: کهیر مزمن یک بیماری پوستی آلرژیک شایع است که با خارش و راش‌های پوستی با یا بدون آنژیوادم که برای بیش از ۶ هفته باقی می‌مانند، مشخص می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی پلیمورفیسم ژنتیکی SNP rs11662595 در ژن گیرنده هیستامین ۴ (HRH4) در افراد مبتلا به کهیر مزمن و پاسخ آنها به درمان با آنتی هیستامین و عوارض جانبی آن بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۳۰ بیمار دارای علائم بالینی کهیر مزمن ایدیوپاتیک (CIU) که به بیماری عفونی یا التهابی دیگری مبتلا نبودند، برای مطالعه انتخاب شدند. با رضایت بیماران، حدود ۵ میلی‌لیتر خون محیطی برای استخراج DNA (در لوله CBC) و اندازه‌گیری میزان IgE (در لوله همولیز فاقد ضدانقاد) از هر بیمار گرفته شد. تعیین ژنوتیپ SNP rs11662595 با روش PCR-RFLP و سطح سرمی Total IgE با روش الیزا اندازه‌گیری شد. نمره شدت بیماری در هفته‌های اول و دوازدهم پس از درمان و عوارض جانبی داروهای آنتی هیستامین برای همه بیماران مشخص گردید.

یافته‌ها: فراوانی پلیمورفیسم واریانت rs11662595 ژن HRH4 در بیماران مبتلا به کهیر مزمن شرکت کننده در مطالعه ۱۷/۷ درصد محاسبه گردید. با توجه به پیگیری‌های انجام شده در مورد سیر پاسخ به درمان در طول ۱۲ هفته، بیماران کهیر مزمن که دارای واریانت rs11662595 ژن HRH4 بودند، پاسخ به درمان متفاوتی نسبت به بیماران بدون این واریانت نداشتند. با این حال، بر اساس پیگیری‌های انجام شده طی ۱۲ هفته، بیماران دارای این واریانت پاسخ متفاوتی به درمان آنتی هیستامینی نسبت به بیماران بدون واریانت نشان ندادند. تنها تغییری که در افراد دارای واریانت ژن HRH4 به طور معنی داری بیشتر از افراد فاقد این واریانت بود، سطح سرمی دی‌دایمر بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه در هیچکدام از پارامترهای بررسی شده تفاوتی بین بیماران دارای SNP طبیعی و پلیمورفیسم ژن HRH4 دیده نشد، فاقد اهمیت در پاسخ به داروهای آنتی هیستامین H₁ بوده بایستی برای یافتن پاسخ‌های ژنتیکی فردی به داروهای آنتی هیستامین سایر ژن‌های درگیر در مسیر پاسخ به این داروها را مورد بررسی قرار داد.

کلمات کلیدی: کهیر مزمن، داروی آنتی هیستامین، گیرنده هیستامین-۴ (HRH4)، پلیمورفیسم ژنتیکی

وصول مقاله: ۱۴۰۱/۷/۲۲ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۳/۳/۱۹ پذیرش: ۱۴۰۳/۱/۲۸

مقدمه

کهیر مزمن (CIU: Chronic idiopathic urticara) یک بیماری پوستی آلرژیک شایع است که به وسیله‌ی خارش و کهیرهای دارای یا فاقد آنژیوادم، که برای بیش از ۶ هفته باقی می‌مانند، مشخص می‌شو (۱ و ۲). کهیر مزمن ایدیوپاتیک که حدود ۸۵-۹۰٪ بیماران کهیر مزمن را شامل می‌شود، فرمی از بیماری است که علی‌رغم مطالعات گسترده، تاکنون هیچ‌گونه علت مشخصی برای آن یافت نشده است (۱، ۲). فعالسازی و دگرانوله شدن نامناسب ماست‌سل‌های درمی، رویداد پاتوفیزیولوژیکی کلیدی در شروع کهیر مزمن است (۳). در اثر دگرانوله شدن بازوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها، هیستامین آزاد می‌شود، که یکی از مدیاتورهای کلیدی و مهم در ایجاد بیماری‌های آلرژیک است. هیستامین به عنوان یک منقبض‌کننده‌ی برونش در ریه‌ها، یک مدیاتور کلیدی تشکیل برجستگی (Wheal) روی پوست، یک کنترل‌کننده‌ی ترشح اسید معده و یک نوروترانسمیتر در مغز عمل می‌کند (۴). نقش هیستامین در پاتوفیزیولوژی کهیر مزمن به طور گسترده بررسی شده است، چون هیستامین آزاد شده از ماست‌سل‌های پوستی به طور مستقیم موجب تشکیل برجستگی، قرمزی‌ها و خارش در فاز اولیه می‌شود و علائم بالینی می‌تواند به وسیله آنتی‌هیستامین کنترل شود (۵). هیستامین، عملکردش را از طریق انواع مختلفی از گیرنده‌های هیستامین انجام می‌دهد. تاکنون ۴ نوع گیرنده‌ی هیستامین شناسایی شده است که همه گیرنده‌های هیستامین به خانواده‌ی شبه رودوپسین گیرنده‌های جفت شونده با پروتئین G تعلق دارند (۶). پس از اتصال هیستامین به این گیرنده‌ها، موجب انقباض عضلات صاف، اتساع عروقی، افزایش نفوذ پذیری عروق، افزایش ضربان قلب و تغییرات فشارخون می‌شود (۷). هیستامین و رسپتورهای آن نقش مهم و اساسی در وقوع بیماری‌های آلرژیک مختلف بازی می‌کنند. ماست‌سل‌ها که سلول‌های چند عملکردی مغز استخوان می‌باشند تولیدکننده‌های اصلی هیستامین در بدن می‌باشند. گیرنده هیستامین-۱ (HRH1) در بسیاری از سلول‌ها از جمله ماست‌سل‌ها وجود دارد و در واکنش افزایش

حساسیت تیپ ۱ ایفای نقش می‌کند. گیرنده هیستامین-۲ (HRH2) در تولید سایتوکین لنفوسیت نقش دارد. گیرنده هیستامین-۳ (HRH3) عموماً در سد خونی مغزی درگیر است و گیرنده هیستامین-۴ (HRH4) عمدتاً روی ماست‌سل‌ها وجود دارد یعنی جایی که تحریک آن‌ها موجب آزادسازی هیستامین و سیتوکین‌ها می‌شود (۸).

گیرنده هیستامین-۴ فعالیت گونه‌های زیادی از سلول‌های مرتبط با التهاب را تحت تاثیر قرار داده و فرایند التهابی را پیش می‌برد (۹). HRH4 به عنوان یک هدف اصلی برای درمان‌های جدید قرار گرفته است (۱۰). ژن HRH4 به طور گسترده‌ای در سلول‌های هماتوپویتیکی بیان می‌شود یعنی جایی که تحریک آن‌ها موجب آزادسازی هیستامین و سیتوکین‌ها می‌شود (۱۱). همچنین خواص کموتاکتیک آن نقش تنظیمی این رسپتور را در سیستم ایمنی نشان می‌دهد. گیرنده‌های H4 مهاجرت ائوزینوفیل و بکارگیری انتخابی ماست سل‌ها را تعدیل می‌کنند، که منجر به تقویت پاسخ‌های ایمنی با واسطه هیستامین و در نهایت التهاب مزمن می‌شود. دخالت گیرنده H4 در فعالسازی سلول‌های دندریتیک و تمایز سلول‌های T عملکرد تعدیل‌کننده ایمنی آن را مستند می‌کند. توصیف H4 به عنوان گیرنده هیستامین سیستم ایمنی، توجه فزاینده‌ای را به سمت بهره‌برداری درمانی از آن در اختلالات التهابی مانند آلرژی، آسم، خارش مزمن و بیماری‌های خود ایمنی معطوف کرد (۱۲). و آنتاگونیست‌های انتخابی HRH4 موجب کاهش التهاب ریه و پاسخ سلول‌های ایمنی در مدل‌های حیوانی مبتلا به آسم آلرژیک و همچنین کاهش علائم مربوط به بینی و سطح سرمی Ige در مدل‌های حیوانی مبتلا به رینیت آلرژیک شده‌اند (۱۳).

افراد مستعد به بروز بیماری‌های آلرژیک مانند CU یک زمینه‌ی ژنتیکی دارند و برهمکنش فاکتورهای محیطی و عوامل ژنتیکی نقش مهمی در استعداد افراد به بروز بیماری‌های آلرژیک و همچنین گسترش و تشدید بیماری در این افراد دارد. پلیمورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs)

همولیز فاقد ضد انعقاد انتقال داده شد. سطح سرمی Total IgE، با روش الیزا اندازه گیری گردید.

جهت تعیین ژنوتیپ موردنظر، با استفاده از کیت، استخراج DNA از خون محیطی با کمک کیت شرکت GeneAll کره جنوبی و بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد. برای شناسایی پلیمورفیسم rs11662595 در ژن HRH4 پرایمرهای اختصاصی طراحی شد و اختصاصی بودن آنها در سایت NCBI بررسی گردید. از روش PCR-RFLP برای شناسایی پلیمورفیسم موردنظر استفاده گردید. توالی پرایمرهای انتخاب شده به صورت زیر بودند: پرایمر مستقیم به صورت 5'-ATCCTTGCCATCACATCATTC-3' و پرایمر معکوس به صورت 3'-ACTACTCTTTCTCCTCTGTCTC-3' برای انجام ژنوتایپینگ، ابتدا قطعه ۲۵۵ جفت بازی ژن HRH4 در ناحیه موردنظر با روش PCR در یک واکنش ۲۵ میکرولیتری تکثیر شد. برای ایجاد این واکنش ۰/۳ میکرولیتر از پرایمرهای مستقیم و معکوس، ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس (Ampliqon Master Mix RED)، آب و حدود ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی در میکروتیوب های ۰/۲ تهیه و در شرایط زیر در دستگاه ترموسایکلر تکثیر شد: واسرشت اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه، و ۳۵ چرخه از مراحل واسرشت در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه، اتصال پرایمرها در دمای ۵۶°C به مدت ۳۰ ثانیه، گسترش قطعه در ۷۲°C به مدت ۲۵ ثانیه و نهایتاً مرحله پایانی گسترش قطعات به مدت ۲۵ ثانیه در دمای ۷۲°C انجام گردید. برای تمامی محصولات تکثیر الکتروفورز ژل آگارز ۲٪ انجام شد و برای انجام RFLP مجدداً واکنش پلیمریزاسیون انجام شد. محصولات PCR در دمای ۵۵°C به مدت ۵ ساعت تحت تاثیر آنزیم محدودگر BclI (شرکت Thermo Scientific) قرار گرفتند که قطعه موردنظر را در نوکلئوتید پالیندرومی طبیعی (AA)، سه قطعه ۱۵۸، ۹۳ و ۴ جفت بازی (bp) در ژل نمایان می شد. در مقابل یک قطعه فاقد جایگاه برش برای

می توانند در نواحی کدکننده، پروموتور یا اینترون ژن ها قرار گیرند. جهش در نواحی کدکننده می تواند باعث تغییر در ساختار پروتئین از طریق تغییر در یک اسید آمینه شود. همچنین وجود این پلیمورفیسم ها در نواحی پروموتور و اینترون می تواند باعث تغییر در بیان ژن شود (۱۴). پلیمورفیسم rs11662595 A/G بر روی اگزون ۳ ژن HRH4 قرار دارد و با تغییر باز آلی گوانین (G) به جای آدنین (A) همراه است. این تغییر باز منجر به تغییر اسید آمینه آرژنین به جای هیستیدین در جایگاه ۲۰۶ (His206Arg) در سومین لوپ درون سلولی پروتئین گیرنده هیستامین می شود که بر اساس مطالعات قبلی بیان و نه پایداری پروتئین گذشته را دستخوش تغییر می کند (۱۵). با این وجود، در مطالعات گذشته این پلیمورفیسم که در کودکان مبتلا به آسم انجام شده اند، ژن HRH4 با پاسخ به هیستامین مرتبط بوده است (۱۶). با توجه به اینکه فراوانی پلیمورفیسم rs11662595 دارای فراوانی قابل توجهی در بین جمعیت های مختلف می باشد و فراوانی آلل مغلوب (MAF) آن ۰/۰۶-۰/۰۸ است (۱۷)، در همین راستا این پژوهش با هدف بررسی فراوانی پلیمورفیسم rs11662595 ژن رسپتور ۴ هیستامین در افراد مبتلا به بیماری کپهر مزمن ایدیوپاتیک تحت درمان با آنتی هیستامین انجام شد. همچنین در این تحقیق ارتباط بین این پلیمورفیسم با پاسخ به داروهای آنتی هیستامین در بیماران مبتلا به CIU مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تعداد ۱۳۰ نفر بیمار از میان افرادی که دارای علائم بالینی CIU بوده و ابتلاء آنها به CIU توسط پزشک فوق تخصص آسم و آلرژی تایید شده باشد، انتخاب شدند. با کسب رضایت آگاهانه و کتبی از بیماران و حفظ محرمانگی اطلاعات و عدم تحمیل بار مالی به بیماران از افراد بیمار حدود ۵ میلی لیتر خون گرفته می شود، ۲ میلی لیتر برای استخراج DNA به ویال CBC دارای ضد انعقاد (EDTA) و ۳ میلی لیتر برای سنجش سطح سرمی Total IgE به لوله ی

در این پژوهش تعداد ۱۳۰ بیمار وارد مطالعه شدند و سپس داده های حاصل تجزیه و تحلیل گردیدند. براساس داده های جدول ۱ بیش از ۷۳ درصد موارد (۹۶ نفر) زن بودند. میانگین سن افراد تحت مطالعه $39/28 \pm 10/281$ سال بود. کمترین سن ۲۱ و بیشترین آن ۵۹ ساله بود. میانگین نمره شدت کبیر (UAS) در هفته اول $11/697 \pm 26/06$ و هفته ۱۲ شروع درمان $20/469 \pm 10/60$ بود. نسبت شدت کبیر بر اساس نمره دهی ۰-۳ در هفته اول و هفته ۱۲ پس از درمان: در هفته اول بیشترین نسبت مربوط به نمره شدت ۳ با $50/8$ درصد فراوانی بود. در هفته ۱۲ بیشترین نسبت به نمره شدت ۱ با $43/8$ درصد فراوانی بود. 47 نفر یعنی $36/2$ درصد Ige بالاتر از نرمال داشتند. 36 نفر یعنی $27/7$ درصد دی دایمر بالاتر از 500 یعنی غیرنرمال داشتند. 37 نفر یعنی $28/5$ درصد سطح ائوزینوفیل بالاتر از 450 یعنی غیرنرمال داشتند. 23 نفر یعنی $16/2$ درصد دارای پلیمورفیسم rs11662595 در ژن HRH4 بودند. مطابق جدول ۳ در زیر، متغیر دی دایمر بین دو پلیمورفیسم به لحاظ آماری تفاوت معنی دار داشت، به طوری که سطح این متغیر در گروه با پلیمورفیسم rs11662595 بیشتر از گروه فاقد این پلیمورفیسم بود و اختلاف به لحاظ آماری نیز معنی دار بود ($p = 0/003$). بر اساس آزمون کولموگروف اسمیرنوف توزیع تمامی متغیرهای کمی غیرنرمال بود ($0/005$). بنابراین از آزمون های آماری ناپارامتریک من ویتنی برای تحلیل داده ها استفاده می شود. مقایسه میانگین متغیرهای کمی بین دو گروه AA (هموزیگوت نرمال) و AG (هتروزیگوت) بر اساس آزمون من ویتنی انجام شد. تنها متغیری که تفاوت معنی داری بین دو گروه داشت متغیر دی دایمر بود. به طوری که میانگین دی دایمر در گروه هتروزیگوت (471 ± 279) بزرگتر از گروه هموزیگوت (280 ± 282) بود و این اختلاف بر اساس آزمون من ویتنی معنی دار بود ($p = 0/003$).

جدول ۱. فراوانی و درصد متغیرهای کیفی و میانگین متغیرهای کیفی تحت مطالعه

نام متغیر	فراوانی (درصد)	نام متغیر	میانگین (انحراف معیار)
جنسیت	زن	سن	$39/28(10/281)$
	۹۶(۷۳/۸)		

آل های هموزیگوت واریانت (GG) یعنی یک قطعه ۲۵۵ جفت بازی، و در صورت وجود آلل هتروزیگوت (GA)، چهار قطعه ۲۵۵، ۱۵۸، ۹۳ و ۴ جفت بازی در ژل نمایان می شد، البته در همه ی این حالت ها قطعه ۴ جفت بازی یک Overhang بوده و قابلیت شناسایی در این نوع از ژل را ندارد بنابراین فاقد باند می باشد (شکل ۱). در پایان، محصول حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۳٪ و در حضور رنگ DNA Safe Stain الکتروفورز گردید و بعد از الکتروفورز، باندهای حاصل در مقایسه با مارکر مولکولی مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند.

به علاوه، کارایی دارو براساس پرسشنامه UAS و تغییر تعداد کبیر بیماران که توسط خود بیماران گزارش شده، سنجیده گردید.

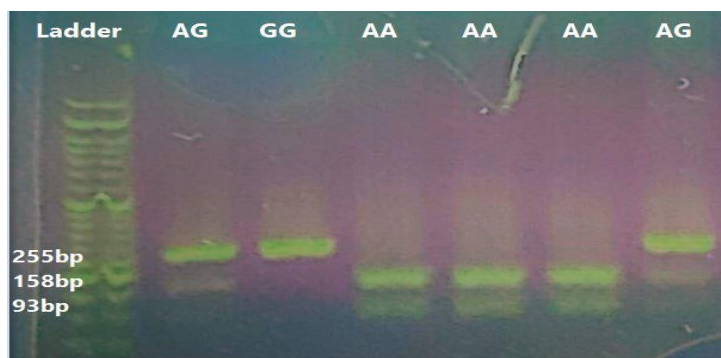
پس از جمع آوری داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 16 به بررسی و تجزیه و تحلیل اطلاعات پرداخته و نتایج حاصله استخراج شدند. مقایسه ی فراوانی ژنوتایپ های ژن های آنزیم های متابولیسم هیستامین بین افراد مورد مطالعه با استفاده از آزمون X^2 مورد بررسی قرار گرفت. برای مقایسه ی پارامترهای کمی ابتدا از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (Sample K-S-1) برای تشخیص نرمال بودن یا نبودن توزیع داده ها استفاده شد، در صورت توزیع نرمال از آزمون T و در صورتی که داده ها از توزیع نرمال برخوردار نباشند از آزمون غیرپارامتریک من ویتنی استفاده گردید. جهت بررسی رابطه ی بین واریانت های ژن های مورد نظر با پاسخ به داروهای آنتی هیستامینی در بین گروه های مورد مطالعه از آزمون آنالیز واریانس استفاده شد. در این مطالعه $P < 0/05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

		۳۴(۲۶/۲)	مرد
	نمره شدت کهیر در هفته اول	۱۳۰(۱۰۰)	کل
	نمره شدت کهیر در هفته دوازده	۳۳(۲۵/۴)	۱ UAS1 rank
	IgE	۳۱(۲۳/۸)	۲
		۶۶(۵۰/۸)	۳
		۱۳۰(۱۰۰)	کل
		۵۷(۴۳/۸)	۰ UAS12 rank
	WBC	۴۹(۳۷/۷)	۱
		۱۸(۱۳/۸)	۲
		۶(۴/۶)	۳
		۱۳۰(۱۰۰)	کل
	EOSinophils	۸۳(۶۳/۸)	نرمال <۱۰۰ IgE rank
		۴۷(۳۶/۲)	غیرنرمال >۱۰۰
		۱۳۰(۱۰۰)	کل
		۹۴(۷۲/۳)	نرمال <۵۰۰ D-dimer rank
		۳۶(۲۷/۷)	غیرنرمال >۵۰۰
		۱۳۰(۱۰۰)	کل
	D-dimer	۹۳(۷۱/۵)	۴۵۰> Eos rank
		۳۷(۲۸/۵)	۴۵۰<
		۱۳۰(۱۰۰)	کل
		۱۰۸(۸۳/۱)	AA rs11662595
		۲۱(۱۶/۲)	AG
		۱(۱۰۰)	GG

جدول ۲. آزمون کلموگروف اسمیرنف برای متغیرهای کمی

سن	IgE	D-dimer	7UAS-1	7UAS-12	WBC	اوتوزینوفیل	
۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	تعداد
۳۹/۲۸	۱۰۷/۸۶	۳۱۴/۱۳	۲۶/۰۶	۱۰/۶۰	۶۷۳/۰۰	۳۴۰/۸۱۰	میانگین
۱۰/۲۸۱	۷۱/۴۵۷	۲۹۰/۳۵۳	۱۱/۶۹۷	۲۰/۴۶۹	۱۷۸/۸۷	۳۰۷/۳۰۴	انحراف معیار
۰/۰۷۵	۰/۰۰۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۳۹۹	۰/۰۰۱	P-Value



شکل ۱. تصویر ژل آگارز محصولات PCR-RFLP برای ژن HRH4: ستون ۱ مربوط به DNA شاخص 50bp، ستونهای ۲ و ۷ مربوط به نمونه آلل هتروزیگوت (AG)، ستون ۳ نمونه آلل هوموزیگوت واریانت (GG) و ستونهای ۴-۶ نمونه‌های دارای آلل طبیعی (AA) هستند.

جدول ۳. مقایسه میانگین (انحراف معیار) متغیرهای تحت مطالعه بر اساس پلیمورفیسم rs11662595 من ویتنی

p-value	میانگین (انحراف معیار)			متغیر
	نوع پلیمورفیسم*			
	GG	AG	AA	
۰/۳۶۸	۳۶/۰۰	۳۷/۶۲(۱۲/۰۷)	۳۹/۶۴(۹/۹۷)	سن
۰/۳۰۹	۱۳/۰۰	۱۰۴/۶۱(۷۹/۷۲)	۱۰۹/۳۷(۶۹/۸۵)	IgE
۰/۰۰۳	۲۴۰/۰۰	۴۹۱/۸۵(۲۷۸/۹۷)	۲۸۰/۲۵(۲۸۲/۲۸)	D-dimer
۰/۳۰۸	۱۴/۰۰	۲۸/۷۱(۱۰/۳۰)	۲۵/۶۶(۱۱/۹۲)	نمره شدت بیماری در هفته اول پس از درمان
۰/۵۱۱	۰/۰۰	۱۰/۱۴(۸/۶۷)	۱۰/۷۹(۲۲/۱۳)	نمره شدت بیماری در هفته دوازدهم پس از درمان
۰/۵۵۵	۶۵۰/۰۰	۶۹۰/۰۰(۱۵۹۱/۵۹)	۶۷۰/۰۹(۱۸۳۰/۸۳)	WBC
۰/۶۶۱	۰/۰۲۰	۰/۰۴۴(۰/۰۳۲)	۰/۰۵۳(۰/۰۴۵)	Eosinophils/
۰/۸۳۱	۱۳۰/۰۰	۲۹۹/۵۹(۲۲۷/۶۳)	۳۵۱/۹۸(۳۲۱/۳۹)	Eosinophils*WBC

* فراوانی پلیمورفیسم هوموزیگوت GG در افراد مورد مطالعه صرفاً یک نفر بود که به لحاظ آماری غیرقابل تحلیل می‌باشد و به همین جهت نتایج به دست آمده و آنالیز داده‌های جدول، به دو گروه هوموزیگوت AA و هتروزیگوت AG مرتبط می‌باشد.

بحث

HR4H در بیماران مبتلا به کپهر مزمن شرکت کننده در مطالعه ۱۷/۷ درصد تخمین زده شد که بیشتر از فراوانی این ژن در جمعیت کرد است که در دیتابیس ایرانوم (Iranome.ir) به ثبت رسیده است. این تفاوت ممکن است به استعداد ابتلا به کپهر مزمن در جمعیت ایرانی مرتبط باشد که نیازمند بررسی بیشتر است، چرا که جمعیت مورد بررسی در این مطالعه ۱۳۰ نفر و جمعیت مورد بررسی در دیتابیس ایرانوم ۱۰۰ نفر می‌باشد (۱۸). به طور کلی به پلیمورفیسم‌های ژن HR4H چه در بیماریهای التهابی و چه در بیماری‌های پوستی توجه زیادی نشده است و تنها در چند مورد محدود واریانت‌های این ژن با پاتوژنز درماتیت

این مطالعه به بررسی ارتباط پلیمورفیسم ژنتیکی HR4H در نقطه rs11662595 و ارتباط آن با پاسخ به داروهای آنتی هیستامینی در افراد مبتلا به کپهر مزمن پرداخت. در مطالعات پیشین نشان داده شد که تغییر تک نوکلئوتیدی در نقطه rs11662595 منجر به فقدان عملکرد (-loss-of function) پروتئین HR4H می‌شود (۱۵). بر اساس مطالعات پیشین میانگین فراوانی این پلیمورفیسم در جمعیت‌های آسیایی حدود ۳۳ درصد است که اندکی بیشتر از فراوانی این پلیمورفیسم در جمعیت ایرانی مورد بررسی در این مطالعه است (۵). فراوانی پلیمورفیسم rs11662595

HRH4 بیشتر از گروه فاقد این واریانت بود ($p = ۰/۰۰۳$). قبلاً در مطالعه‌ای Farres و همکاران نشان داده‌اند که سطح سرمی دی‌دایمر در بیماران دارای کپیر مزمن بیشتر از گروه کنترل سالم بود و همچنین میزان این قطعه‌ی پروتئینی در بیماران با شدت بیماری بالا بیشتر از بیماران با شدت بیماری پایین بود (۲۲). نتایج حاصل از این پژوهش با مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۱ توسط Dabas و همکاران در هندوستان انجام شد، نیز هماهنگ بود. در مطالعه این محققین نشان داده شد که سطح سرمی دی‌دایمر هم با شدت بیماری کپیر مزمن ایدیوپاتیک مرتبط است و هم بر اساس آن می‌توان دوز مورد نیاز داروی آنتی‌هیستامین و همچنین درمان‌های بعدی این بیماری را پیش‌بینی نمود (۲۳). اطلاعاتی که مطالعه حاضر افزوده است، ارتباط ژن گیرنده هیستامین و پلیمورفیسم RS11662595 آن با سطح سرمی قطعه پروتئینی دی‌دایمر در بیماری کپیر مزمن است که بر اساس این اطلاعات نمی‌توان در مورد مکانیسم آن اظهار نظر نمود. چیزی که در بیماری‌های دیگر مانند آسم بیشتر بررسی شده است. در مطالعه Simon و همکاران به بررسی ارتباط بین پلیمورفیسم دیگری در ژن هیستامین ۴ و آسم یا اندوفونوتیپ‌های آسم پرداخته شده است. در این مطالعه ژنوتیپ ۲۱ پلیمورفیسم در ژن گیرنده هیستامین ۴ (HRH4) مشخص شد و نتیجه این مطالعه نشان داد که چندشکلی‌های ژنتیکی HRH4 می‌توانند پاتوژنز آسم مرتبط با عفونت را تحت تاثیر قرار دهد. هیچیک از پلیمورفیسم‌های متعدد جدید به صورت مستقیم با افزایش ریسک آسم مرتبط نبودند (۲۴).

نتیجه‌گیری

با توجه به پیگیری‌های انجام شده در مورد سیر پاسخ به درمان در طول ۱۲ هفته، نتایج مطالعه ما نشان داد بیماران مبتلا به کپیر مزمن که دارای واریانت RS11662595 ژن گیرنده هیستامین-۴ بودند پاسخ به درمان متفاوتی نسبت به بیماران بدون این واریانت نداشتند، اما این دسته از بیماران

تماسی مرتبط شناخته شده است (۱۹). کپیر مزمن فرمی از بیماری است که علیرغم مطالعات گسترده، تاکنون هیچگونه علت مشخصی برای آن یافت نشده است (۱،۲). اگر چه کپیر مزمن شیوع کمی برابر با ۰/۱ تا ۰/۳ را شامل می‌شود، اما اثرات قابل ملاحظه‌ای بر کیفیت زندگی بیماران دارد. مطالعات متعددی جهت ارزیابی اثرات کپیر مزمن بر کیفیت زندگی با استفاده از ابزارهای مختلف از جمله اندیس کیفیت زندگی درماتولوژی انجام شده است. کیفیت زندگی بیماران دارای کپیر مزمن بسیار اهمیت دارد به طوری که اختلاف کیفیت زندگی بیماران با کپیر مزمن مشابه بیماران دارای آکنه بوده و حتی بدتر از بیماران است که دارای ویتیلیگو می‌باشند (۲۰). در مطالعاتی که قبلاً در جمعیت‌های دیگر انجام شده است، پلیمورفیسم‌های دیگری در ژن HRH4 یافت شده که با درماتیت اتوئیک به عنوان یک بیماری خودایمنی، آسم و رینیت آلرژیک مرتبط بوده‌اند (۲۱ و ۲۲).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد بین میانگین سن، سطح سرمی IgE، نمره شدت بیماری در هفته اول پس از درمان، نمره شدت بیماری در هفته دوازدهم پس از درمان، تعداد WBC و تعداد ائوزینوفیل با جنسیت بیماران رابطه معنی‌داری وجود ندارد و تنها متغیری که بین دو جنس تفاوت معنی‌داری داشت مقدار دی‌دایمر بود ($p = ۰/۰۰۶$). در مورد مقایسه متغیرهای کمی بین دو پلیمورفیسم، نتایج نشان داد در مورد متغیرهای نمره شدت هفته اول و دوازدهم، IgE، WBC و ائوزینوفیل بین دو پلیمورفیسم HRH4 به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت؛ البته باید این نکته را مدنظر قرار داد که اگرچه امکان آنالیز آماری داده‌های تنها مورد واریانت با دو گروه دیگر وجود نداشت، اما گروه هوموزیگوت واریانت (پلیمورفیسم GG) دارای مقدار IgE، دی‌دایمر، شدت بیماری و سایر فاکتورهای مورد بررسی پاینتری از دو گروه دیگر بود که می‌تواند به اثر محافظتی این تغییر نوکلئوتید اشاره کند. با این وجود متغیر دی‌دایمر در گروه با واریانت RS11662595 ژن

این مقاله، حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کردستان با شماره‌ی کمیته اخلاق IR.MUK.REC.1401.097 می‌باشد. بدین وسیله مراتب قدردانی و سپاس خود را از همه‌ی کسانی که به نحوی ما را در انجام مطالعه یاری کردند، اعلام می‌نمایم. امید است نتایج این پژوهش باری از مشکلات بیماران بردارد.

میزان دی‌دایمر بیشتری از گروه بدون واریانت داشتند. با توجه به اینکه در گروه واریانت هوموزیگوت صرفاً یک نفر قرار گرفت، ممکن است بررسی این مطالعه در تعداد نمونه بالاتر نتایج را به شدت تقویت کند و به اهمیت نقش ژن HRH4 در کهیر مزمن ایدیوپاتیک بیفزاید.

تشکر و قدردانی

منابع

1. Vestergaard C, Deleuran M. Chronic spontaneous urticaria: latest developments in aetiology, diagnosis and therapy. *Ther Adv Chronic Dis*. 2015;6(6):304–13.
2. Losol P, Yoo H, Park H. Molecular Genetic Mechanisms of Chronic Urticaria. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2014;6(1):13–21.
3. Kaplan AP, Greaves M. Pathogenesis of chronic urticaria. *Clin Exp Allergy*. 2009 Jun;39(6):777-87.
4. Kim SH, Kang YM, Kim SH, Cho BY, Ye YM, Hur GY, et al. Histamine N-methyltransferase 939A> G polymorphism affects mRNA stability in patients with acetylsalicylic acid-intolerant chronic urticaria. *Allergy*. 2009;64(2):213-21.
5. García-Martín E, Ayuso P, Martínez C, Blanca M, Agúndez JA. Histamine pharmacogenomics. *Pharmacogenomics*. 2009;10(5):867–83.
6. Charlesworth EN. The role of basophils and mast cells in acute and late reactions in the skin. *Allergy*. 1997;52:31-43.
7. Histamine and histamine intolerance Laura Maintz, Natalija Novak, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 85, Issue 5, May 2007, Pages 1185–
8. Ayuso P, García-Martín E, Martínez C, Agúndez JAG. Genetic variability of human diamine oxidase: occurrence of three nonsynonymous polymorphisms and study of their effect on serum enzyme activity. *Pharmacogenet Genomics*. 2007;17(9):687–93.
9. Szczepankiewicz A, Br A, Sobkowiak P, Popiel A. Polymorphisms of two histamine-metabolizing enzymes genes and childhood allergic asthma: a case control study. *Clin Mol Allergy*. 2010;8(14):4–9.
10. Blauvelt A, Hwang ST, Udey MC. 11. Allergic and immunologic diseases of the skin. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(2 Suppl):S560-70.
11. Thangam EB, Jemima EA, Singh H, Baig MS, Khan M, Mathias CB, Church MK, Saluja R. The Role of Histamine and Histamine Receptors in Mast Cell-Mediated Allergy and Inflammation: The Hunt for New Therapeutic Targets. *Front Immunol*. 2018 Aug 13;9:1873.
12. Charlesworth EN. The role of basophils and mast cells in acute and late reactions in the skin. *Allergy*. 1997;52(s34):31–43.
13. Hodge E, Chang WY, Selby KA, Hall IP, Sayers I. Effects of atopy and grass pollen season on histamine H4 receptor expression in human leukocytes. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2013;111(1):38-44. e1
14. Qin, D., Zhang, H., Wang, J. et al. Histamine H4 receptor gene polymorphisms: a

potential contributor to Meniere disease. *BMC Med Genomics* 12, 71 (2019).

15. Cai WK, Zhang JB, Chen JH, Meng JR, Ma X, Zhang J, Zhou YL, Xu GL, He GH. The HRH4 rs11662595 mutation is associated with histamine H4 receptor dysfunction and with increased epithelial-to-mesenchymal transition progress in non-small cell lung cancer. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017 Nov;1863(11):2954-2963. doi: 10.1016/j.bbadis.2017.08.018. Epub 2017 Aug 25. PMID: 28847511.

16. Jones BL, Sherwin CM, Liu X, Dai H, Vyhlidal CA. Genetic Variation in the Histamine Production, Response, and Degradation Pathway Is Associated with Histamine Pharmacodynamic Response in Children with Asthma. *Front Pharmacol.* 2017 Jan 4;7:524. doi: 10.3389/fphar.2016.00524. PMID: 28101058; PMCID: PMC5209333.

17. Reference SNP (refSNP) cluster report: rs11662595
www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=11662595

18. Fattahi Z, Beheshtian M, Mohseni M, Poustchi H, Sellars E, Nezhadi SH, Amini A, Arzhang S, Jalalvand K, Jamali P, Mohammadi Z, Davarnia B, Nikuei P, Oladnabi M, Mohammadzadeh A, Zohrehvand E, Nejatizadeh A, Shekari M, Bagherzadeh, M., ... Najmabadi, H. (2019). Iranome: A catalog of genomic variations in the Iranian population. *Human Mutation*, 40(11), 1968–1984. <https://doi.org/10.1002/humu.23880>.

19. Yu B, Shao Y, Zhang J, Dong XL, Liu WL, Yang H, Liu L, Li MH, Yue CF, Fang ZY, Zhang C, Hu XP, Chen BC, Wu Q, Chen YW, Zhang W, Wan J. Polymorphisms in human histamine receptor H4 gene are associated with atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* 2010 May;162(5):1038-43. doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.09675.x. Epub 2010 Mar 1. PMID: 20199554.

20. Poon E, Seed P, Greaves M, Kobza-Black A. The extent and nature of disability in different urticarial conditions. *The British journal of dermatology.* 1999;140(4):667-71.

21. Gu J, Mao XH, Yang XZ, Ao HF, Zhang Z, Li Y. Histamine H4 receptor gene polymorphisms: a potential predictor of oral H1 antihistamine efficacy for allergic rhinitis. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2017 Mar;7(3):268-275.

22. Farres MN, Refaat M, Melek NA, Ahmed EE, Shamseldine MG, Arafa NA. Activation of coagulation in chronic urticaria in relation to disease severity and activity. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2015 Mar-Apr;43(2):162-7. doi: 10.1016/j.aller.2014.04.002. Epub 2014 Aug 1. PMID: 25088671.

23. Dabas G, Thakur V, Bishnoi A, Parsad D, Kumar A, Kumaran MS. Causal Relationship between D-Dimers and Disease Status in Chronic Spontaneous Urticaria and Adjuvant Effect of Oral Tranexamic Acid. *Indian Dermatol Online J.* 2021 Aug 2;12(5):726-730. doi: 10.4103/idoj.IDOJ_106_21. PMID: 34667760.

24. Simon T, Semsei AF, Ungvári I, Hadadi E, Virág V, Nagy A, Vangor MS, László V, Szalai C, Falus A. Asthma endophenotypes and polymorphisms in the histamine receptor HRH4 gene. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;159(2):109-20.