Volume 24, Issue 4 (July- August 2025)

PAYESH

Journal of the Iranian Institute for Health Sciences Research

The relationship between rs4986790 polymorphism in TLR4 gene and its association with severity of the COVID-19

Amir Masoud Hashemian[1], Ramin Raoufinia[2], Zahra Rashidtorabi[3], Vahid Hajali[4], Somayeh Ghavidel Yazdi[5], Ehsan Saburi[6*]

1. Department of emergency medicine, faculty of medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
2. Noncommunicable Diseases Research Center, Neyshabur University of Medical Sciences, Neyshabur, Iran.
3. Department of Medical Genetics and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
4. Department of Neuroscience, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
5. Samen Health center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
6. Medical Genetics Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Received: 25 April 2024
Accepted for publication: 2 July 2025
[EPub a head of print-9 September 2025]
Payesh: 2025; 24(4): 563- 573

Abstract

Objective(s): Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has led to severe respiratory illnesses and fatalities in both young and elderly individuals without underlying diseases; however, similar groups may also include individuals who are asymptomatic or exhibit mild symptoms. Various studies have indicated that host genetics play a significant role in the severity of diseases caused by SARS-CoV-1 and MERS-CoV, which share substantial similarities with SARS-CoV-2. One of the crucial host genetic factors involved in identifying patterns of disease-causing agents and activating the innate immune system's Toll-like receptors (TLRs) is TLR4, which shows the strongest association with surface markers of SARS-CoV-2. This study was designed to investigate the common polymorphism of the TLR4 gene (Asp299Gly) to examine the relationship between disease severity and the presence of this polymorphism.

Methods: A total of 230 COVID-19 patients, comprising 154 patients with mild COVID-19 and 76 patients with severe COVID-19, were randomly selected and matched for age and gender from individuals referred to COVID-19 healthcare centers. Peripheral blood samples of 5 mL were obtained from the patients, and DNA was extracted for the analysis of the Asp299Gly-TLR4 polymorphism using the Tetra-ARMS PCR technique.

Results: The study revealed that 67% of the patients belonged to the mild COVID-19 group, while 33% were in the severe COVID-19 group. The analysis showed no significant correlation between disease severity and the Asp299Gly-TLR4 polymorphism. The frequencies of alleles and genotypes did not exhibit a significant relationship with disease severity in either the mild or severe COVID-19 groups.

Conclusion: The findings suggest that there is no significant association between the severity of COVID-19 and the rs4986790 polymorphism in the TLR4 gene. However, further investigation with larger sample sizes is warranted to confirm the effects of different TLR4 polymorphisms on the severity of COVID-19.

Keywords: COVID-19, TLR4 gene polymorphism, rs4986790

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]

* Corresponding author: Medical Genetics Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
E-mail: sabourie@mums.ac.ir

پایش
نشریه پژوهشکده علوم بهداشتی جهاددانشگاهی

بررسی شیوع پلی مورفیسم TLR4-Asp299Gly (rs4986790) در مبتلایان به فرم شدید کووید-۱۹ در مقایسه با افراد مبتلا به فرم خفیف

امیر مسعود هاشمیان[۱]، رامین رئوفی نیا[۲]، زهرا رشید ترابی[۳]، وحید حاجعلی[۴]، سمیه قویدل یزدی[۵]، احسان صبوری[۶]*

۱. گروه طب اورژانس، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۲. مرکز تحقیقات بیماری غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی نیشابور، نیشابور، ایران
۳. گروه ژنتیک پزشکی و پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۴. گروه علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۵. مرکز بهداشت ثامن، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۶. مرکز تحقیقات ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۴/۷
[نشر الکترونیک پیش از انتشار- ۱۸ شهریور ۱۴۰۴]
نشریه پایش: ۵۷۳- ۵۶۳ :(۴)۲۴؛ ۱۴۰۴

چکیده

مقدمه: ویروس کرونا (SARS-CoV-2) موجب ابتلا فرم شدید و فوت افراد جوان و مسن بدون بیماری زمینه ای می شود در حالی که در گروه های مشابه ممکن است افراد بدون علائم بالینی و یا با علائم بالینی خفیف وجود داشته باشند. یکی از مهم ترین فاکتورهای ژنتیکی میزبان که در شناسایی الگو های عامل بیماری زا و فعال شدن سیستم ایمنی ذاتی نقش دارند (Toll-like receptors (TLRs هستند که TLR4 از زیرگروه گیرنده های خارج سلولی، قوی ترین اتصال را با مارکر های سطحی ویروس کووید-۱۹ دارد. به همین منظور مطالعه حاضر جهت بررسی وجود پلی مورفیسم شایع ژن TLR4 (Asp299Gly) طراحی شد تا ارتباط بین شدت علائم بیماری و وجود پلی مورفیسم بررسی شود.

مواد و روش کار: تعداد ۷۶ بیمار به شکل تصادفی از میان بیمارانی که با تشخیص قطعی کووید-۱۹شدید (بر اساس معیار ها و پروتکل های تعیین شده توسط وزارت بهداشت) و ۱۵۴ بیمار دیگر تشخیص کووید-۱۹ برای آن ها قطعی شده بود و فاقد علایم بالینی بودند و یا تنها علایم بالینی خفیف داشتند و از لحاظ سن و جنسیت با گروه اول همسان سازی شده بودند، انتخاب گردیدند. میزان ۵ میلی لیتر خون محیطی از بیماران گرفته شد و پس از استخراج DNA، تکنیک Tetra-ARMS PCR به منظور بررسی پلی مورفیسم ها Asp299Gly-TLR4 انجام شد.

یافته‌ها: در مجموع ۵۳ درصد بیماران مورد مطالعه را زنان و ۴۷ درصد را مردان تشکیل می داد که میانگین سنی ۱۰/۰۲ ± ۴۲/۶۶ و میانگین شاخص توده بدنی ۴/۶۳ ± ۲۸/۲۴ داشتند. در بین دو گروه از نظر متغیر های جنسیت، سن و شاخص توده بدنی رابطه معنادار به دست نیامد. در بررسی سطح سرمی ایمونوگلوبولین ها نشان دهنده عدم وجود رابطه معنادار IgG بین دو گروه بود؛ اگرچه بین سطح IgM و شدت بیماری اختلاف معنادار وجود داشت که با توجه به سیر حاد بیماری، می تواند قابل توجیه باشد. در بررسی پلی مورفیسم rs4986790 از بین نمونه ۲۳۰ نمونه، ژنوتیپ ۲۲۹ بیمار قابل تعیین بود که تعداد کل الل های A ۴۲۱ و کل الل های G ۳۷ به دست آمد و تعداد ۱۹۲ نفر ژنوتیپ A/A و ۳۷ نفر ژنوتیپ A/G داشتند. در نتایج به دست آمده بین فراوانی الل ها و ژنوتیپ های این پلی مورفیسم و شدت بیماری در دو گروه کووید خفیف و شدید، رابطه معنادار یافت نشد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه بین شدت بیماری کووید-۱۹ و پلی مورفیسم rs4986790 ژن TLR4 ارتباط معنادار یافت نشد.

کلید واژه ها: کووید-۱۹، پلی مورفیسم ژن TLR4، rs4986790

کداخلاق: IR.MUMS.MEDICAL.REC.1400.436

* نویسنده پاسخگو: مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مرکز تحقیقات ژنتیک پزشکی
E-mail: sabourie@mums.ac.ir

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]

مقدمه

ویروس کرونا که به عنوان (sever acute respiratory syndrome coronavirus 2 - SARS-CoV-2) شناخته می شود از دسامبر ۲۰۱۹ در شهر ووهان چین موجب درگیری تنفسی و پنومونی در تعدادی از مبتلایان و بروز اپیدمی در چین شد [۱]. ویروس SARS-CoV-2 در ادامه آن موجب یک پاندمی جهانی شد که توسط سازمان بهداشت جهانی این بیماری به عنوان (coronavirus disease 2019 - COVID-19) نام گذاری شد [۲]. طبق آخرین آمار سازمان بهداشت جهانی تا به امروز (۱۶ آگوست ۲۰۲۳) بالغ بر ۷۶۹ میلیون نفر مبتلا قطعی به کووید-۱۹ و حدود ۷ میلیون مرگ براثر آن در جهان گزارش شده است [۳]. البته طی مطالعات انجام شده شیوع عوامل سرولوژیک در جمعیت کل (که نشان دهنده در معرض قرار گرفتن با کرونا است)، بیشتر از ۱۰ برابر افراد مبتلا قطعی به کووید-۱۹ بوده است و در نتیجه تعداد موارد واقعی ابتلا به کرونا از تعداد مبتلایان قطعی به مراتب بیشتر است [۶-۴]. به صورت میانگین دوره کمون کووید-۱۹ چهار تا پنج روز پس از تماس با ویروس است و معمولا بیشتر از دو هفته نیست [۷]. علائم و نشانه های این بیماری در تمام افراد یکسان نیست اما اغلب با علائم سرشتی شامل تب، لرز و ضعف و بی حالی شروع می شود و سایر علائم شایع شامل سرفه، تنگی نفس، بدن درد، سردرد، اختلال بویایی و چشایی و اسهال معمولا در طی یک هفته بروز می کند [۱۰-۸]. سازمان بهداشت جهانی بر اساس شدت علائم، این بیماری را به چهار دسته تقسیم کرده است که عبارت است از: ۱- خفیف: بدون علامت، یا وجود علائم خفیف. ۲-متوسط: وجود علائم پنومونی شامل تب، سرفه، تنگی نفس و یا تنفس سریع (بین ۲۰-۳۰ بار در دقیقه). ۳- شدید: وجود علائم پنومونی شدید شامل تنفس سریع (بیشتر از ۳۰ بار در دقیقه) تا در دقیقه، دیسترس تنفسی شدید و یا (saturation of peripheral oxygen-SpO2)کمتر از ۹۰ درصد. ۴- بحرانی: در صورت وجود علائم (acute respiratory distress syndrome-ARDS) بیماری بحرانی در نظر گرفته می شود [۱۱].

از عوامل خطر مطرح شده در رابطه با شدت بیماری کووید-۱۹ میتوان به سن بالا، دیابت، بیماری های قلبی و عروقی، بیماری های ریوی، بدخیمی و ضعف سیستم ایمنی اشاره کرد [۱۳, ۱۲]. در مطالعات صورت گرفته، پاسخ التهابی بیش از حد سیستم دفاعی بیماران به عنوان عامل موثر در شدت بیماری و مرگ بر اثر کووید-۱۹ شناخته شده است[۱۵, ۱۴]. در روند بیماری، پروتئین سطحی ویروس کرونا (spike protein) توسط گیرنده های الگو شناختی ماکروفاژ ها همچون (toll-like receptors-TLRs) شناسایی می شود و موجب فعال شدن پاسخ های التهابی و آزاد شدن مدیاتور های التهابی می شود که با توجه به اهمیت شدت پاسخ التهابی میزبان در روند بیماری، مطالعات متعددی در رابطه با این موضوع صورت گرفته است [۱۶, ۱۷].

TLR4 که جز گیرنده های خارج سلولی است، قادر به شناسایی PAMPs در ویروس های متفاوت از جمله ویروس های تنفسی مثل influenza A، middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)، SARS-CoV-1 و SARS-CoV-2 است. در اثر تحریک TLR4 سیستم ایمنی ذاتی از طریق دو مسیر زیر فعال می شود: [۱۸-۱۶]. مسیر TIRAP-MyD88 که منجر به تولید اینترلوکین ۲ و ۶ و ۸ می شود و مسیر TRIF-TRAM که سبب تولید و ترشح اینترفرون یک و α-TNF می شود. ژن TLR4 انسان بر روی کروموزوم ۹ 32-q33 q واقع شده است که یکی از single-nucleotide polymorphism (SNP) های شایع آن، rs4986790 یا TLR4-Asp299Glyاست [۱۹]. در این جهش که از نوعی تبادل غیر متعارف (non-synonymous substitution) است، نوکلئوتید آدنین با گوانین در جایگاه ۸۹۶ عوض می شود که موجب تغییر اسید آمینه آسپارتیک اسید با گلایسین در ۲۹۹ توالی پروتئین TLR4 می شود [۱۹]. پلی مورفیسم ذکر شده می تواند موجب کاهش پاسخ ایمنی ناشی از فعال شدن TLR4 شود و در نتیجه تغییر در روند بیماری ها شود [۲۱, ۲۰].

با توجه به مطالب مورد اشاره این مطالعه به منظور بررسی وجود پلی مورفیسم Asp299Gly ژن TLR4 در افراد مبتلا به فرم شدید کووید ۱۹ در مقایسه با افراد مبتلا به فرم خفیف آن انجام شد، تا شاید ارتباط موثری بین رخداد و شدت علائم بیماری و وجود این پلی مورفیسم یافت شود.که اگر این ارتباط اثبات شود، می توان در برخورد با بیماری کووید-۱۹ و نیاز احتمالی به بستری شدن و درمان شدید را پیش بینی کرده، و آمادگی لازم را در برخورد با این بیماری داشت.

مواد و روش کار

از میان بیمارانی که با تشخیص قطعی کووید-۱۹ در بخش مراقبت های ویژه بیمارستان امام رضا (ع) و قائم (عج) بستری شده بودند، ۷۶ بیمار به صورت تصادفی که PCR آنها برای تست کووید مثبت

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]

شده بود و طبق تشخیص متخصصان بالینی به عنوان گروه کووید شدید در نظر گرفته شده بودند وارد مطالعه شدند. همچنین از میان مراجعه کنندگان به مراکز شبانه روزی خدمات درمان سرپایی کووید-۱۹، تعداد ۱۵۴ بیمار با تشخیص قطعی کووید-۱۹ که PCR آنها برای تست کووید مثبت شده بود (بر اساس معیار های وزارت بهداشت) انتخاب شدند که فاقد علائم بالینی بودند و یا علایم بالینی خفیف داشتند. پس از توضیح فرایند مطالعه و کسب رضایت آگاهانه از بیماران، به میزان ۵ میلی لیتر خون محیطی از بیماران جهت انجام آزمایشات رایج و استفاده در این مطالعه اخذ شد و جهت بررسی به آزمایشگاه منتقل شد. در این مطالعه جهت جلوگیری از تحمیل هزینه اضافه به بیماران، تنها یک نوبت نمونه گیری صورت گرفت. در آزمایشگاه، نمونه خون محیطی بیماران تحت سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ بمدت ۵ دقیقه قرار گرفت و سه لایه مجزا شامل پلاسما (لایه بالا)، بافی کوت (لایه میانی) و گلبول قرمز (لایه پایین) در لوله تشکیل شد که از لایه بافی کوت که حاوی گلبول های سفید و پلاکت است جهت بررسی مولکولی و استخراج DNA استفاده شد. استخراج DNA توسط کیت پارس توس با توجه به دستورالعمل ذکر شده در کیت انجام شد. به منظور ارزیابی کمیت و کیفیت DNA و آگاهی از میزان غلظت و خلوص آن، از روش نانودراپ و اسپکتروفتومتری استفاده شد. در قسمت SNP سایت NCBI، SNP موردنظر جستجو و سپس توالی منطقه حاوی پلی‌مورفیسم موردنظر پیدا شده و توسط نرم‌افزار Oligo7 برای تکثیر این منطقه، پرایمر طراحی گردید. در نهایت جهت تائید اختصاصیت در محل اتصال پرایمر ها، توالی های طراحی شده بلاست شدند. توالی پرایمر ها، ناحیه هدف و نوع توالی که تکثیر می شود در جدول ۱ نشان داده شده است. واکنش PCR برای تکثیر ناحیه مورد نظر از DNA با توجه به دمای اتصال پرایمر ها و توالی مورد نظر، دمای بهینه جهت واکنش PCR انجام شد. بدین منظور یک مرحله دناتوراسیون اولیه (۹۴ درجه سانتی گراد-۵ دقیقه)، ۳۵ سیکل دمادهی متغیر و یک مرحله تکثیر انتهایی (۷۲ درجه سانتی گراد – ۷ دقیقه) در نظر گرفته شد. دمادهی متغیر شامل سه مرحله متوالی دناتوراسیون با دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، اتصال ۵۵ درجه سانتی گراد و تکثیر ۷۲ درجه سانتی گراد هر یک ۳۰ ثانیه در نظر گرفته شد. محصولات تکثیر شده با الکتروفورز روی ژل‌های آگاروز ۲٪ جدا شدند. نمایی از باندها تحت نور ماورای مرئی قرار گرفت و توسط سیستم Gel Doc ثبت شد.

داده ی مطالعه با نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد آنالیز قرار گرفت. به منظور تحلیل داده های کمی در صورت طبیعی بودن توزیع متغییر کمی، از آزمون Student T و در غیر اینصورت از آزمون Mann-Whitney U استفاده گردید. به علاوه جهت تحلیل فراوانی متغیر های کیفی از آزمون های Chi-square و یا fishers exact استفاده کردیم. همچنین به منظور صحت توزیع فراوانی ژنوتیپ ها تعادلHardy-Weinberg نیز مورد بررسی قرار گرفت. در تمامی آزمون های آماری مطالعه P value معنا دار زیر 0.05 در نظر گرفته شد.

یافته ها

به منظور مقایسه پارامتر های مختلف دموگرافیک بین گروه مبتلایان شدید و خفیف لازم است تا ثابت کنیم که هیچ عامل مداخله گر دیگری در نتیجه این تحقیقات تاثیر گذار نیست. شدت این بیماری در بیماران مورد مطالعه ما همان گونه که از نمودار۱ مشخص است با اکثریت ۶۷ درصد از بیماران خفیف تشکیل شده است. فراوانی جنسیت بیماران مورد مطالعه در نمودار ۲ قابل مشاهده است، که اکثریت جمعیت مورد مطالعه ما را (۵۳ درصد) زنان تشکیل دادند.

یافته های مربوط به بررسی نتیجه ایمونوگلوبولین های سرمی IgG و IgM کووید در نمودار ۳ قابل مشاهده است. IgG و IgM علیه آنتی ژن اسپایک ویروس کرونا به ترتیب در ۲۷/۴ درصد (۶۳ نفر) و در ۱۰ درصد از بیماران (۲۳ نفر) مثبت گزارش شد. پس از تعیین فراوانی متغیر ها اقدام به مقایسه اختلاف متغیر ها در دو گروه مبتلا به کووید خفیف و شدید کردیم. نتایج این بررسی در جدول ۲ قابل مشاهده است. همانطور که در جدول شماره یک نشان داده شد بین دو گروه بیماران کووید-۱۹ با علائم بیماری خفیف و شدید در متغیرهای ایمونوگلوبولین در IgM اختلاف معنا دار یافت (P-value<0.01) بر خلاف IgG که اختلاف معنادار نبود. همچنین در سایر متغییر ها از جمله جنسیت، سن، BMI اختلاف معنا دار نبود و P-value بالای 0.05 بود. همانطور که در جدول ۳ قابل مشاهده است، تعداد آلل های A ۴۲۱ (۹۲ درصد) و آلل های G ۳۷ (۸ درصد) است که ۹۲/۵۴ درصد از گروه کووید خفیف حامل الل A (۲۸۵ الل A) در حالی که ۹۰/۶۶ درصد از گروه کووید شدید حامل الل A (۱۳۶ اللA) بودند. همچنین ۷/۴۶ درصد از گروه کووید خفیف

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]

حامل الل G (۲۳ الل G) در صورتی که از گروه کووید شدید ۹/۳۳ درصد حامل الل G (۱۳۶ الل G) بودند.

در بررسی فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم rs4986790 در گروه خفیف و شدید (نمودار ۴)، به ترتیب درصد بیماران دارای ژنوتیپ A/A ۸۵/۰۶ درصد (۱۳۱ بیمار) در مقابل ۸۱/۳۳ درصد (۶۱ بیمار) و ژنوتیپ A/G ۱۴/۹۳ درصد (۲۳ بیمار) در مقابل ۱۸/۶۶ درصد (۱۴ بیمار) بود. لازم به ذکر است که ژنوتیپ G/G در هیچ کدام از گروه ها تشخیص داده نشد.

با توجه به داده های آماری که در جدول ۴ مشاهده می کنید بین شدت بیماری کووید-۱۹ بین گروه های خفیف و شدید کووید و ژنوتیپ ها و الل های پلی مورفیسم rs4986790 ژن TLR4، ارتباط معنادار مشاهده نمی شود (P-value=0.97).

جدول ۱: توالی نوکلئوتید پرایمر ها

Primer	Sequence (5'->3')
upper Outer	5'-TGAACCCTATGAACTTTATCC-3'
lower Outer	5'-GTTAACTAATTCTAAATGTTGCCATC-3'
inner upper	5'-GCATACTTAGACTACTACCTCGAAGA-3'
inner lower	5'-CAAACAATTAAATAAGTCAATAATAC-3'

جدول ۲: مقایسه متغیر های مورد بررسی در دو گروه کووید خفیف و شدید

متغیر		شدت کووید خفیف (۱۵۴ بیمار)	شدید (۷۶ بیمار)	P-value
تعداد هر جنس	زن	۸۰	۴۳	۰/۵**
	مرد	۷۴	۳۳	
سن (برحسب سال) میانگین ± انحراف معیار		۴۳/۱۹ ± ۹/۸۶	۴۱/۵۸ ± ۱۰/۳۰	۰/۹۶*
سطح ایمونوگلوبولین سرمی	IgG	۱/۴۴ ± ۲/۷۱	۱/۳۵ ± ۲/۴۹	۰/۳۳*
میانگین ± انحراف معیار	IgM	۰/۲۵ ± ۰/۳۷	۰/۷۳ ± ۰/۷۶	۰/۰۱≥*
شاخص توده بدنی(بر حسب کیلوگرم بر متر مربع) میانگین ± انحراف معیار		۲۸/۱۲ ± ۴/۷۷	۲۸/۴۸ ± ۴/۳۶	۰/۱۵*

* از تست Student T برای مقایسه دو گروه استفاده شد.

** از تست Chi-squre برای مقایسه دو گروه استفاده شد.

جدول ۳: فراوانی آلل در پلی مورفیسم rs4986790

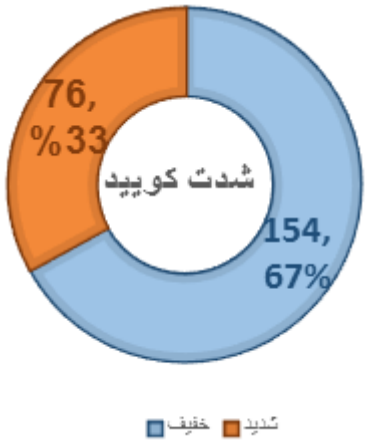
شدت کووید	تعداد نمونه	آلل G	آلل A	p-value
خفیف	۱۵۴	۲۳	۲۸۵	P<0.05
شدید	۷۶	۱۴	۱۳۶	P<0.05

جدول ۴: نتایج بررسی پلی مورفیسم rs4986790

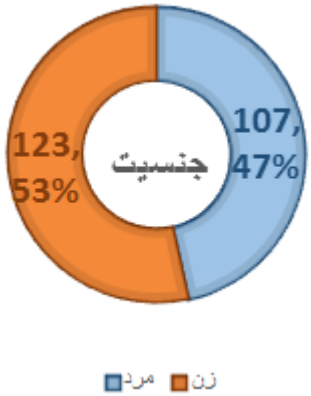
ژنوتیپ / گروه	A/A	A/G	G/G	A	G	P-value
کووید خفیف	۱۳۱	۲۳	۰	۲۸۵	۲۳	
کووید شدید	۶۱	۱۴	۰	۱۳۶	۱۴	
کل	۱۹۲	۳۷	۰	۴۲۱	۳۷	0.97

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]

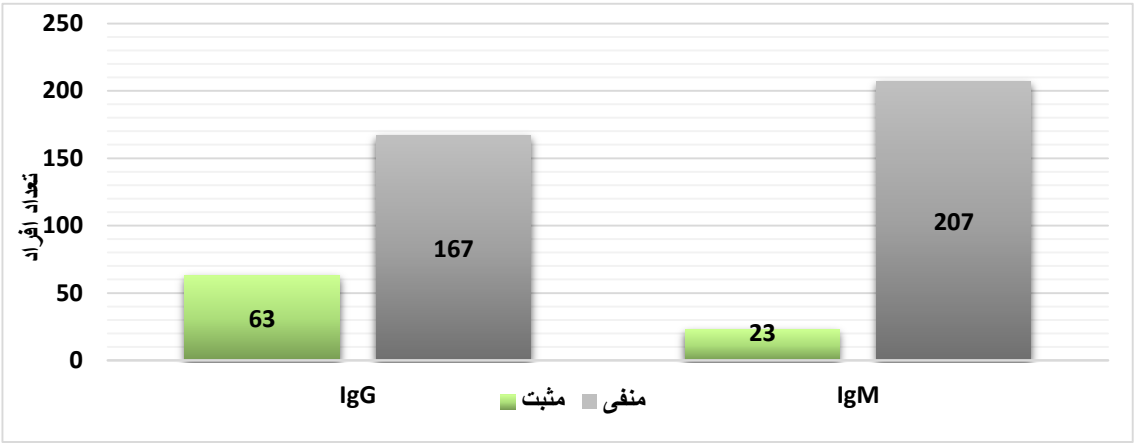
[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]



نمودار ۱: فراوانی شدت کووید در جمعیت مورد مطالعه

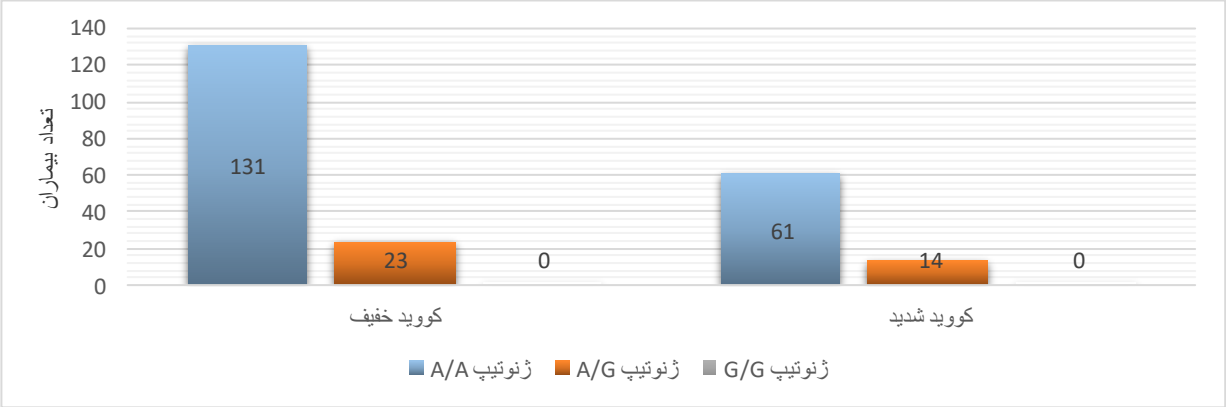


نمودار ۲: فراوانی جنسیت بیماران مورد مطالعه



نمودار ۳: فراوانی ایمونوگلوبولین کووید

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]
[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]



نمودار ۴: فراوانی ژنوتیپی در پلی مورفیسم rs4986790

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه تعداد ۲۳۰ بیمار مبتلا به کووید-۱۹ مورد بررسی قرار گرفتند که ۶۷ درصد بیماران (۱۵۴ نفر) با توجه به علایم بالینی در گروه کووید خفیف و ۳۳ درصد (۷۶ نفر) در گروه کووید شدید قرار گرفتند. در مجموع ۵۳ درصد (۱۲۳ نفر) بیماران مورد مطالعه را زنان و ۴۷ درصد (۱۰۷ نفر) را مردان تشکیل می داد و میانگین سنی آنان ۱۰/۰۲ ± ۴۲/۶۶ با بیشترین سن ۶۶ سال و کمترین ۲۰ سال بود. به علاوه میانگین شاخص توده بدنی در جمعیت مورد مطالعه ۲۸/۲۴ با انحراف معیار ۴/۶۳ بود. در بین دو گروه کووید خفیف و شدید از نظر متغیر های جنسیت، سن و شاخص توده بدنی رابطه معنادار به دست نیامد. نتایج به دست آمده در بررسی سطح سرمی ایمونوگلوبولین ها نشان دهنده عدم وجود رابطه معنادار IgG بین دو گروه کووید خفیف و شدید بود؛ اگرچه بین سطح سرمی ایمونوگلوبولین IgM و شدت بیماری اختلاف معنادار وجود داشت که با توجه به سیر حاد بیماری، می تواند قابل توجیه باشد. در بررسی پلی مورفیسم rs4986790 از بین نمونه ۲۳۰ بیمار، ژنوتیپ ۲۲۹ بیمار قابل تعیین بود که تعداد کل الل های A ۴۲۱ و کل الل های G ۳۷ به دست آمد و تعداد ۱۹۲ نفر ژنوتیپ A/A و ۳۷ نفر ژنوتیپ A/G داشتند. در نتایج به دست آمده بین فراوانی الل ها و ژنوتیپ های این پلی مورفیسم و شدت بیماری در دو گروه کووید خفیف و شدید، رابطه معنادار یافت نشد. Zhacher و همکارانش در مطالعه ای یک عامل ژنتیکی اضافی را شناسایی کرد که ممکن است به عنوان یک پیش‌بین ثابت برای نتایج COVID-19 عمل کند. ژنوتیپ AG/GG rs4986790 از TLR4خطر نیاز به بستری شدن، مراقبت‌های ویژه یا نتیجه مرگبار در بیماران COVID-19 را به نصف کاهش داد. علاوه بر این، آنها توانستند تأثیر عوامل شناخته شده قبلی مانند شرایط پیشین و نشانگرهای التهابی را بر بروز بیماری در روند-COVID 19تأیید کنند [۲۲]. در مطالعه دیگری توسط Flores-Gonzalez ژنوتیپ GG rs4986790 از TLR4 با خطر ابتلا به COVID-19و سندرم زجر تنفسی حاد مرتبط است. سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران حامل ژنوتیپ GG (TLR4) نسبت به ژنوتیپ‌های AA وAG ، تحویل محدودتری از سیتوکین‌های پیش‌التهابی داشتند، در حالی که تحریک TLR-4 تولیدIL-10 ، IL-6، فاکتور نکروز تومور α-و لیگاند Fas را القا می‌کند [۲۳]. همچنین Bakaros و همکارانش تایید کردندکه زمینه ژنتیکی میزبان نیز به عنوان یک عامل تعیین‌کننده مهم در پیش‌آگهی بیماری شناخته شده است. با توجه به نقش کلیدی ایمنی ذاتی در کنترل عفونتSARS-CoV-2 ، به تحلیل احتمال مشارکت چندین پلی‌مورفیسم ژن ایمنی ذاتی شامل-TLR2 rs5743708، TLR4-rs4986790، TLR4-rs4986791، CD14-rs2569190، CARD8-rs1834481، IL18-rs2043211 و CD40-rs1883832 در شدت و پیش آگهی بیماری شناخته شد [۲۴]. Tulic و همکارانش در مطالعه ای in vitro به بررسی تفاوت پاسخ ایمنی سلول های منونوکلئر و مونوسیت ها در برابر ویروس RSV در افراد با پلی مورفیسم

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]
[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]

rs4986790 مثبت در ژن TLR4 و افراد بدون پلی مورفیسم پرداختند. شواهد حاکی از آن بود عملکرد TLR4 و پاسخ ایمنی در افراد با پلی مورفیسم مثبت کاهش یافته و احتمال عفونت با ویروس RSV در آنان افزایش می یابد [۲۵]. اگرچه در مطالعه ای مشابه که توسط Kresfelder و همکارانش در سال ۲۰۱۱ جهت بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs498679 در ژن TLR4 و ابتلا به ویروس RSV انجام شد، ارتباط معنادار بین وجود پلی مورفیسم و ابتلا به بیماری RSV یافت نشد. به رغم اینکه در این مطالعه ۲۹۶ بیمار و ۱۱۳ نفر به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شده بود اما توصیه به بررسی این موضوع در مقیاسی بزرگتر شده بود [۲۶]. Esposito و همکارانش در سال ۲۰۱۲ به بررسی ارتباط بین احتمال ابتلا به آنفولانزا /A/H1N1 و وجود پلی مورفیسم rs498679در ژن TLR4 در بین ۲۷۲ مبتلا به آنفولانزا و ۱۶۴ نفر سالم به عنوان گروه کنترل پرداختند. نتایج نشان داد که وجود این پلی مورفیسم در ژن TLR4 موجب افزایش احتمال ابتلا به آنفولانزا /A/H1N1 می شود [۲۷]. به علاوه Malyarchikov و همکارش به بررسی ارتباط بین شدت عوارض ناشی از پونومونی آنفولانزا /A/H1N1 و وجود پلی مورفیسم rs498679 در ژن TLR4 پرداختند. در این مطالعه تعداد ۵۵ بیمار بر اساس میزان اختلال عملکرد ارگان ها که توسط معیار SOFA ارزیابی شده، به دو گروه پونومونی شدید (SOFA بیشتر از ۲) و گروه پونومونی خفیف (SOFA کمتر از ۲) تقسیم شدند و طی بررسی ژنومی صورت گرفته، خطر اختلال عملکرد ارگان ها ناشی از پونومونی آنفولانزا /A/H1N1 در افراد با پلی مورفیسم rs498679 مثبت، ۲,۱ برابر سایر افراد گزارش شد [۲۸]. مطالعه ای که توسط Taha و همکارانش در مصر صورت گرفته به بررسی تاثیر پلی مورفیسم TLR4-Asp299Gly و پلی مورفیسم TLR4-Thr399Ile بر شدت بیماری کووید-۱۹ پرداخته است. در این مطالعه تعداد ۳۰۰ بیمار مبتلا به کووید ۱۹ به دو گروه مساوی کووید شدید (۱۵۰ نفر) و کووید خفیف (۱۵۰ نفر) تقسیم شدند. طی نتایج به دست آمده وجود پلی مورفیسم Asp299Gly و Thr399Ile ارتباط معنا دار ($P< 0.001$) با خطر ابتلا به فرم شدید کووید-۱۹ داشت و موجب شدت بخشیدن به سیر بیماری از طریق افزایش IL-6 و افزایش احتمال پدیده طوفان سایتوکینی می شود [۲۹]. نتیجه به دست آمده متفاوت با نتیجه مطالعه ما در پلی مورفیسم Asp299Gly بود؛ که از علت های این مغایرت می توان به وجود عوامل خطر موثر بر کووید در بیماران مطالعه فوق اشاره کرد. به علاوه Taha و همکارانش یک سال بعد مجدد در مطالعه ای با ۱۴۵ بیمار مبتلا به کووید-۱۹ به بررسی تاثیر پلی مورفیسم TLR4-Asp299Gly بر سیر بیماری بر اساس یافته های تصویر برداری از ریه با سی تی اسکن، نیاز به بستری شدن در بخش مراقبت های ویژه و مرگ افراد پرداختند؛ که ژنوتیپ ۷۳/۱ ٪ بیماران AA، ۱۸/۶ ٪ AG و ۸/۳ ٪ GG به دست آمد. نتیجه به دست آمده از این مطالعه نیز حاکی از تاثیر مثبت وجود الل G در پلی مورفیسم Asp299Gly بر شدت بیماری کووید-۱۹ و مرگ بیماران بود [۳۰]؛ که تفاوت ژنتیکی نژاد مورد بررسی می تواند از علل تفاوت نتیجه مطالعه ما با این مطالعه باشد. طی مطالعه ای که توسط Salamaikina و همکارانش در روسیه انجام شد، تاثیر ۶ SNP در TLR های مختلف بر احتمال ابتلا به پنومونی در سیر بیماری کووید-۱۹ و پنومونی بر اثر سایر میکروارگانیسم های تنفسی مورد بررسی قرار گرفت؛ که یکی از SNP های مورد بررسی، پلی مورفیسم TLR4-Asp299Gly بود. جمعیت مورد مطالعه آن شامل ۸۵ بیمار مبتلا به پنومونی بر اثر کووید-۱۹، ۷۶ بیمار مبتلا به پنومونی بر اثر سایر میکروارگانیسم های تنفسی و ۹۹ نفر به عنوان گروه کنترل بود. در این مطالعه، وجود پلی مورفیسم TLR4-Asp299Gly ارتباط معنادار با احتمال بروز پنومونی نداشت [۳۱]؛ که مشابه نتیجه مطالعه حاضر بود.

پاندمی ناشی از ویروس کرونا تاکنون تمام کشورهای جهان را دچار بحران بهداشتی کرده است. با وجود پیشرفت های حاصله در شناسایی عوامل موثر و مسیر پاتوژنز درمان قطعی و شناسایی مسیر پاتوژنز همچنان در حاله ای از ابهام قرار دارد [۳۲]. شناسایی مسیر پاتوژنز بیماری ممکن است راهگشا باشد. با توجه به نقشTLR4 در فعال سازی سیستم ایمنی، امروزه در بسیاری از مطالعات برای تعیین نقشTLR4 توجهات به سمت تعیین انواع پلی مورفیسم های این ژن جلب شده تا بتوان ارتباط بین انواع پلی مورفیسم و شدت بیماری کووید-۱۹ به دست آورد. با توجه به نتایج به دست آمده که به علت کمبود حجم نمونه ها احتمالا نتایج مطالعه ی ما معنی دار نشده است در گام بعدی در حجم نمونه بیشتر به در حال تکرار نتایج هستیم. در صورت مساعد بودن نتایج و وجود معنی داری بین پلی مورفیسم های مختلف TLR4 و شدت کووید به عنوان یکی از عوامل خطر موثر در پروگنوز بیماری کووید میتواند مطرح باشد. نتایج بررسی بر روی ۲۳۰ بیمار مبتلا به کووید در دو

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]

گروه کووید خفیف و شدید نشان داد که از نظر متغیر های سن، جنسیت، شاخص توده بدنی اختلاف معنادار وجود ندارد . همچنین در بررسی سطح ایمونوگلوبولین های سرمی IgG نتایج نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در هر دو گروه بود. در صورتی که بین دو گروه مذکور از نظر IgM اختلاف معنادار وجود داشت. در نتایج به دست آمده از بررسی پلی مورفیسم rs4986790، بین فراوانی الل ها و ژنوتیپ های این پلی مورفیسم و شدت بیماری در دو گروه کووید خفیف و شدید، رابطه معنادار یافت نشد. به علاوه تعادل هاردی واینبرگ برای پلی مورفیسم rs4986790 در جمعیت مورد مطالعه برقرار نبود. یکی از علل عدم برقراری تعادل هاردی واینبرگ می تواند طیف وسیع بیماران مورد بستری در مشهد باشد. مشهد از طرفی دارای طیف جمعیتی از نژادهای مختلف بوده و از طرفی به عنوان مرکز ارجاع بیماران شرق کشور شناخته می شود که خود می تواند علت واریانس ژنتیکی بیماران باشد. باتوجه به یافته های فوق به نظر می رسد با وجود اختلاف بین ژنوتایپ های مختلف در افراد گروه های مختلف و با توجه به برهم خوردن تعادل هاردی واینبرگ که می تواند ناشی از حجم نمونه پایین باشد لیکن بررسی، حجم نمونه بیشتر می تواند صحت فرضیه فوق مبنی تاثیر پلی مورفیسم های مختلف ژن TLR4 شدت بیماری کووید را تایید نماید. تضاد منافع: هیچ تضاد منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان

احسان صبوری: طراحی مطالعه، اجرای مطالعه، تجزیه وتحلیل داده، نگارش و اصلاح مقاله

امیر مسعود هاشمیان: طراحی مطالعه، اجرای مطالعه، تجزیه و تحلیل داده، نگارش و اصلاح مقاله

رامین رئوفی نیا: طراحی مطالعه، اجرای مطالعه، تجزیه و تحلیل داده، نگارش و اصلاح مقاله

زهرا رشید ترابی: اجرای مطالعه، نگارش مقاله

وحید حاجعلی: اجرای مطالعه، نگارش مقاله

سمیه قویدل یزدی: نگارش مقاله، اصلاح نهایی مقاله

تشکر و قدردانی

از پرسنل بخش اورژانس و بخش مراقبت های ویژه بیمارستان امام رضا (ع) و قائم (عج) مشهد که در جمع آوری نمونه ها همکاری کردند؛ همچنین پرسنل آزمایشگاه گروه ژنتیک دانشکده مشهد جهت بررسی مولکولی نمونه ها و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به جهت تامین مالی پروژه تشکر می گردد

منابع

1. Khanmohammadi S, Rezaei N. Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19. Journal Of Medical Virology 2021;93:2735-9

2. McIntosh K, Hirsch MS, Bloom A. COVID-19: Epidemiology, virology, and prevention. UpToDate Available online: https://www uptodate com/contents/covid-19-epidemiology-virology-and-prevention (accessed on 18 March 2021) 2021

3. WHO. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 78. 2020 [cited 2020 7 April]; Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200407-sitrep-78-covid-19.pdf?sfvrsn=bc43e1b_24

4. Stringhini S, Zaballa ME, Pullen N, Perez-Saez J, de Mestral C, Loizeau AJ, et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies 6 months into the vaccination campaign in Geneva, Switzerland, 1 June to 7 July 2021. Eurosurveillance 2021;26: 2100830

5. Havers FP, Reed C, Lim T, Montgomery JM, Klena JD, Hall AJ, et al. Seroprevalence of Antibodies to SARS-CoV-2 in 10 Sites in the United States, March 23-May 12, 2020. JAMA Internal Medicine 2020; 180:1576-1586

6. Sabouri E, Saburi A, Gerami R, Zeraati T, Saburi E, Ghanei M. Computerized Intelligence and Mathematical Models for COVID-19 Diagnosis: A Review. Journal of Human Environment and Health Promotion 2023;9:55-62

7. Chan JF-W, Yuan S, Kok K-H, To KK-W, Chu H, Yang J, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. The Lancet 2020;395:514-23

8. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. The Lancet 2020;395:497-506

9. Ochani R, Asad A, Yasmin F, Shaikh S, Khalid H, Batra S, et al. COVID-19 pandemic: from origins to outcomes. A comprehensive review of viral pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic evaluation, and management. Le Infezioni in Medicina 2021;29:20-3610

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]

10. Payvar B, Azami S, Khodadadegan M, Saburi E, Sahab Negah S, Hajali V. Clinical Symptoms of COVID-19 Patients admitted to Hazrat Musa Ibne Jafar Hospital in Quchan City. Navid No 2022;25:11-7 [Persian]
11. World Health Organization. (2020). Clinical management of COVID-19: interim guidance, 27 May 2020. World Health Organization. https://iris.who.int/handle/10665/332196. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
12. Rashedi J, Mahdavi Poor B, Asgharzadeh V, Pourostadi M, Samadi Kafil H, Vegari A, et al. Risk factors for COVID-19. Le Infezioni in Medicina 2020;28:469-74
13. Arab F, Mollazadeh S, Ghayourbabaei F, Moghbeli M, Saburi E. The role of HLA genotypes in understanding the pathogenesis of severe COVID-19. Egyptian Journal of Medical Human Genetics 2023;24:14
14. Merad M, Martin JC. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. Nature Reviews Immunology 2020;20:355-62
15. Saburi E, Abazari MF, Hassannia H, Mansour RN, Eshaghi-Gorji R, Gheibi M, et al. The use of mesenchymal stem cells in the process of treatment and tissue regeneration after recovery in patients with Covid-19. Gene 2021;20:777:145471
16. Choudhury A, Mukherjee S. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs. Journal Of Medical Virology 2020;92:2105-13
17. Shirato K, Kizaki T. SARS-CoV-2 spike protein S1 subunit induces pro-inflammatory responses via toll-like receptor 4 signaling in murine and human macrophages. Heliyon 2021;7:2
18. Jungi TW, Farhat K, Burgener IA, Werling D. Toll-like receptors in domestic animals. Cell and Tissue Research 2011;343:107-20
19. Bisyuk ya. tlr-4 gene polymorphism (asp299gly) in adult patients with atopic and non-atopic bronchial asthma in the crimea population. Pulmonologiya 2014:68-72
20. Barbarash O, Golovkin A, Ponasenko A, Kutikhin A, Zhidkova I, Khutornaya M, et al. The role of Toll-like receptors polymorphism in atherosclerosis complications development. Russian Journal of Cardiology 2015:36:72-9
21. Bogodukhova E, Bayke E. Polymorphism of genes of Toll-like receptors as a potential factor of predisposition to tuberculosis. Tuberculosis and Lung Diseases 2018;96:11-6
22. Zacher C, Schönfelder K, Rohn H, Siffert W, Möhlendick B. The single nucleotide polymorphism rs4986790 (c. 896A> G) in the gene TLR4 as a protective factor in corona virus disease 2019 (COVID-19). Frontiers In Immunology 2024;15:1355193
23. Flores-Gonzalez J, Chavez-Galan L, Falfán-Valencia R, Roldán IB, Fricke-Galindo I, Veronica-Aguilar A, et al. Variant rs4986790 of toll-like receptor 4 affects the signaling and induces cell dysfunction in patients with severe COVID-19. International Journal of Infectious Diseases 2024;138:102-9
24. Bakaros E, Voulgaridi I, Paliatsa V, Gatselis N, Germanidis G, Asvestopoulou E, et al. Innate immune gene polymorphisms and COVID-19 prognosis. Viruses 2023;15:1784
25. Tulic MK, Hurrelbrink RJ, Prêle CM, Laing IA, Upham JW, Le Souef P, et al. TLR4 polymorphisms mediate impaired responses to respiratory syncytial virus and lipopolysaccharide. The Journal of Immunology 2007;179:132-40
26. Kresfelder T, Janssen R, Bont L, Venter M. Confirmation of an association between single nucleotide polymorphisms in the VDR gene with respiratory syncytial virus related disease in South African children. Journal Of Medical Virology 2011;83:1834-40
27. Esposito S, Molteni CG, Giliani S, Mazza C, Scala A, Tagliaferri L, et al. Toll-like receptor 3 gene polymorphisms and severity of pandemic A/H1N1/2009 influenza in otherwise healthy children. Virology Journal 2012;9:1-8
28. Malyarchikov A, Shapovalov K. The role of Toll-like receptor 4 gene polymorphism in the development of organ dysfunction in patients with severe pneumonia associated with A/H1N1 influenza. Acta Biomedica Scientifica 2023;8:79-85
29. Taha SI, Shata AK, Baioumy SA, Fouad SH, Anis SG, Mossad IM, et al. Toll-like receptor 4 polymorphisms (896A/G and 1196C/T) as an indicator of COVID-19 severity in a convenience sample of Egyptian patients. Journal of Inflammation Research 2021;14:6293
30. Taha SI, Shata AK, El-Sehsah EM, Mohamed MF, Moustafa NM, Youssef MK. Comparison of COVID-

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]
[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]

19 characteristics in Egyptian patients according to their Toll-Like Receptor-4 (Asp299Gly) polymorphism. Le Infezioni in Medicina 2022;30:96
31. Salamaikina S, Karnaushkina M, Korchagin V, Litvinova M, Mironov K, Akimkin V. TLRs Gene Polymorphisms Associated with Pneumonia before and during COVID-19 Pandemic. Diagnostics 2022;13:121
32. Hajali V, Payvar B, Fattahi A, Izadpanah K, Esfahani H, Saburi E, et al. Clinical and Laboratory Characteristics of Hospitalized Patients With COVID-19 After Vaccination in Quchan-Iran. Research in Molecular Medicine 2023;11:57-66

[Downloaded from payeshjournal.ir on 2026-11-16]

[DOI: 10.61882/payesh.24.4.563]