

## تعیین ژن‌های کلیدی و مسیرهای پیام‌رسانی سلولی دخیل در مقاومت بیماران مبتلا به لنفوم سلول B بزرگ منتشر نسبت به درمان ریشه کن‌سازی هلیکوباکتر پیلوری

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۴

### چکیده

محمد معین فرقانی رامندی<sup>۱</sup>،  
آرین نجفی<sup>۲\*</sup>

**زمینه و هدف:** لنفوم سلول B بزرگ منتشر شایع‌ترین لنفوم غیر هوجکین مهاجم می‌باشد. ارتباطی قوی میان عفونت باکتری هلیکوباکتر پیلوری با بروز این بدخیمی مشاهده شده است. دیده شده برخی از بیمارانی که مبتلا به DLBCL در مراحل ابتدایی هستند پاسخ خوبی به درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری می‌دهند ولی برخی دیگر نسبت به این درمان مقاومند. با توجه به کمبود اطلاعات کافی راجع به نحوه بروز این مقاومت، لازم است سازوکارهای فعال در بیماران مقاوم شناسایی گردد.

**مواد و روش‌ها:** داده‌های بیان ژنی بیماران حساس و بیماران مقاوم به درمان از سایت GEO دریافت شدند. پس از تعیین ژن‌های با بیان تغییر یافته، به منظور شناسایی ژن‌های کلیدی شبکه ارتباطات پروتئینی ساخته شده و ژن‌های مهم بر اساس شاخص‌های شبکه‌ای غربال گردیدند. در نهایت مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مرتبط با ژن‌های کلیدی مشخص شدند.

**یافته‌ها:** ژن‌های CXCL8، TNF، VEGFA، EGFR، FN1، ICAM1، IL1B، TLR2، TLR4 و با توجه به ویژگی‌های شبکه‌ای و نتایج به دست آمده از تعیین مسیرهای پیام‌رسانی سلولی به عنوان ژن‌های با اهمیت بالا مشخص شدند. ژن‌های کلیدی ارتباط قابل توجهی با عملکردهای مرتبط با تنظیم فعالیت سلول‌های ایمنی نشان دادند. نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده نقش قابل توجه عملکردهای سلولی مرتبط با گیرنده‌های سطحی و همچنین تنظیم فعال‌سازی آنها در بروز مقاومت نسبت به درمان می‌باشد. ژن‌ها و مسیرهای سلولی مشخص شده در این مطالعه می‌توانند به عنوان اهداف ژن درمانی و زیست نشانگرهایی جهت تشخیص، تعیین روش درمانی مناسب برای بیمار و پیش‌آگهی استفاده گردد.

**کلمات کلیدی:** لنفوم سلول B بزرگ منتشر، DLBCL، بیوانفورماتیک، هلیکوباکتر پیلوری

- ۱- دانشجوی رشته پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
- ۲- استادیار گروه ارتوپدی، واحد توسعه و تحقیقات بالینی بیمارستان شهید مدنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

نویسنده مسئول: آرین نجفی

استادیار گروه ارتوپدی، واحد توسعه و تحقیقات بالینی بیمارستان شهید مدنی، دانشکده پزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران  
تلفن: +۹۸-۹۱۲۸۵۶۶۲۶۸

ایمیل: arvin.najafi@gmail.com

## مقدمه

مسیرهای پیام رسانی سلولی احتمالی دخیل در بروز این مقاومت تعیین می‌گردد.

نتایج به دست آمده از این مطالعه می‌تواند سبب تعیین ژن‌ها و مسیرهای DLBCL پیام رسانی سلولی کلیدی موثر در بروز مقاومت بیماران مبتلا به DLBCL در درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری گردد. این اطلاعات می‌تواند ما را در شناسایی افراد مبتلا به نوع مقاوم جهت استفاده از درمان‌های دیگر یاری نماید و همچنین موجب ابداع درمان‌های جدید و شخصی‌سازی شده از طریق هدف قرار دادن ژن‌های اصلی گردد.

## مواد و روش‌ها

### دربیافت و ارزیابی اطلاعات

سری داده‌های GSE182362 (بر اساس GPL1707) از پایگاه داده GEO استخراج RNA از نمونه‌های بافتی افراد در زمان تشخیص بیماری می‌باشد<sup>۱</sup> که شامل هشت بیمار مقاوم و هشت بیمار با پاسخ دهنده مطلوب به درمان ریشه کنی بوده و حاوی اطلاعات بیانی ۵۰۹۹ هستند. به منظور نرم‌السازی و پاک‌سازی داده‌ها از موارد تکراری، ناقص، حذف شده و پرت از زبان برنامه نویسی R استفاده شد. برای نرم‌السازی داده‌ها، ابتدا از تغییر لگاریتمی استفاده گردید و سپس، با استفاده از دستور "limma" متعلق به بسته (پکیج) "normalizeBetweenArrays" نرم‌ال شدن. در مرحله بعد ژن‌های با بیان تغییر یافته با استفاده از پکیج "limma" میان دو گروه مشخص گردیدند. آستانه قدر مطلق log fold change (logFC) یا همان لگاریتم میزان تفاوت بیان ژن‌ها، عدد ۱ و مقدار عدد P نیز، کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

با هدف مصورسازی ابتدایی، صد ژن اول با کمترین واریانس بیانی، در قالب نقشه گرمابی (heatmap) با استفاده از دستور "pheatmap" متعلق به بسته "pheatmap" به نمایش درآمدند.

### تعیین ژن‌های کلیدی

### ساخت شبکه ارتباطات پروتئینی و ارزیابی‌های شبکه‌ای جهت

پایگاه اطلاعاتی برخط STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins http://string-db.org)، جهت ایجاد شبکه ارتباطات پروتئینی میان ژن‌هایی که دچار تغییر بیان شده بودند استفاده گردید. سپس، با هدف شناسایی ژن‌های کلیدی یا hub genes از نرم افزار "Cytoscape" ورژن ۳/۹ جهت

۲۰ لنفوم اولیه معده یا (PML) عامل تا ۴ درصد از لنفوم‌های خارج عقده‌ای می‌باشد<sup>۲</sup>. از نظر بافت شناسی به صورت رایج شامل دو زیر گروه عمدۀ لنفوم سلول‌های mucosa-associated حاشیه‌ای در بافت لنفوئیدی مرتبط با مخاط یا diffuse lymphoid tissue (MALT) و لنفوم سلول B یا بزرگ متشر (DLBCL) large B-cell lymphoma (DLBCL) می‌باشد<sup>۳</sup>. در این بین نسبت به لنفوم‌های MALT شیوع و مرحله‌بندی (grade) بالاتری دارد، بصورتی که DLBCL شایع‌ترین لنفوم غیر هوچکینی مهاجم به حساب می‌آید<sup>۴</sup> و همچنین درمان این دو نیز با یکدیگر متفاوت است<sup>۵</sup>. مطالعات نشان دهنده وجود ارتباط قوی میان عفونت با باکتری هلیکوباکتر پیلوری با بروز هر دو نوع این بدخیمی‌ها می‌باشند<sup>۶</sup>.

با توجه به تاثیر فراوان هلیکوباکتر پیلوری در بروز این بیماری‌ها، در بیماران مبتلا به مراحل اولیه لنفوم MALT درمان اولیه ریشه کنی این باکتری می‌باشد<sup>۷</sup>. اخیرا در بیمارانی که با DLBCL در مراحل ابتدایی مراجعه می‌نمایند نیز از این درمان استفاده گردیده که نشان دهنده نتایج رضایت‌بخشی بوده است<sup>۸</sup>. با وجود این درمان بر روی تمامی بیماران DLBCL موثر نیست، با توجه به نبود دانش کافی راجع به نتیجه بروز این مقاومت، لازم است سازوکارهای فعال در بیماران مقاوم شناسایی گردد. تغییر در بیان طبیعی ژن‌ها یکی از اختلالات اولیه و مهم سلولی می‌باشد که موجب بروز بیماری و از جمله بدخیمی‌ها می‌گردد. روش میکرواری امکان اندازه‌گیری بیان هزاران ژن را در زمان و با هزینه بسیار کمتری از روش‌های سنتی فراهم نموده است. با اینحال حجم بالای داده‌های حاصله نیازمند استفاده از ابزارهای مختلف جهت تولید دانش از این اطلاعات می‌باشد. ارزیابی‌های بیانفورماتیکی ابزارهای متنوعی برای نیل به این هدف در اختیار محققان گذاشته‌اند.

در این مطالعه با استفاده از داده‌های بیان ژنی بیماران مبتلا به DLBCL مقاوم به درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری و بیمارانی که به این درمان پاسخ داده‌اند که بصورت برخط از پایگاه Gene Expression Omnibus (GEO) (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo) دریافت می‌گردد، به شناسایی ژن‌هایی که در میان این دو گروه دچار تغییر بیان شده‌اند می‌پردازم. در مرحله بعد با استفاده از شبکه ارتباطات پروتئینی و ارزیابی‌های شبکه‌ای ژن‌های کلیدی را مشخص می‌نماییم. در نهایت

## ایجاد و ارزیابی‌های شبکه ارتباطی پروتئینی جهت تعیین ژن‌های کلیدی

شبکه کامل ارتباطات پروتئینی ژن‌های با بیان تغییر یافته و همچنین زیر-شبکه حاوی ژن‌های کلیدی حاصل از ارزیابی شبکه‌ای در شکل ۴ به نمایش در آمدند. تعداد ارتباطات هر یک از ژن‌ها با سایر ژن‌های شبکه‌ای یا همان degree که یکی از مهم‌ترین شاخص‌های مرکزیت شبکه‌ای می‌باشد با استفاده از سایز و رنگ ژن‌ها به نمایش گذاشته شده‌اند، به طوری که رنگ قرمز و اندازه بزرگ‌تر حاکی از بیشتر بودن تعداد ارتباطات می‌باشد. تعداد ژن‌های حاضر در شبکه اولیه ۱۴۲۷ و تعداد ارتباطات ۲۵۷۴۵ عدد بوده که پس از ارزیابی‌های شبکه‌ای به ۱۵۰ ژن و ۵۹۹۴ ارتباط کاهش یافت.

### تعیین مسیرهای پیام رسانی سلولی مرتبط ژن‌های کلیدی

در شکل ۵ مسیرهای پیام رسانی سلولی مرتبط با ژن‌های کلیدی، KEGG Human, GO Molecular Function, GO Biological Process و Cellular Component نتایج ارزیابی ژن‌ها بر اساس KEGG Human بیان‌گر درگیری مسیرهای پیام رسانی سلولی مرتبط با بروز سرطان و مسیرهای دخیل در اینمنی می‌باشند، ده مسیر اول با کمترین P value شامل، Lipid and atherosclerosis, Rheumatoid arthritis, Cytokine–cytokine receptor interaction, Pathways in cancer, Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor, Leukocyte transendothelial migration, Chemokine signalling pathway, AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, Proteoglycans in cancer و Osteoclast differentiation می‌باشند. نتایج ارزیابی ژن‌ها بر اساس GO Molecular Function حاکی از درگیری عملکردی سلولی مرتبط با گیرندهای سطح سلولی مخصوصاً گیرندهای دخیل در تنظیم سایتوکائین‌ها هستند، ده نتیجه اول با کمترین P value شامل adhesion molecule binding (GO:0050839), cytokine receptor binding (GO:0005126), glycoprotein binding (GO:0001948), cytokine receptor activity (GO:0004896), cytokine activity (GO:0005125), chemokine receptor binding (GO:0042379), chemokine activity (GO:0008009), protein tyrosine kinase activity (GO:0004713), CCR chemokine receptor binding kinase binding (GO:0019900) و (GO:0048020) می‌باشند.

ارزیابی‌های شبکه‌ای با استفاده از شاخص‌های درجه (degree)، معیار بینایین (betweenness) و معیار نزدیکی (closeness) استفاده شد. در نهایت ژن‌های واحد بیشترین مقدار از شاخص‌های مرکزیت به عنوان زیر-شبکه غربال شدند.

به منظور به نمایش در آوردن ارتباطات پروتئینی موجود در شبکه اولیه و زیر-شبکه نهایی، نرم افزار "Gephi" ورژن ۰.۹.۲ مورد استفاده قرار گرفت.

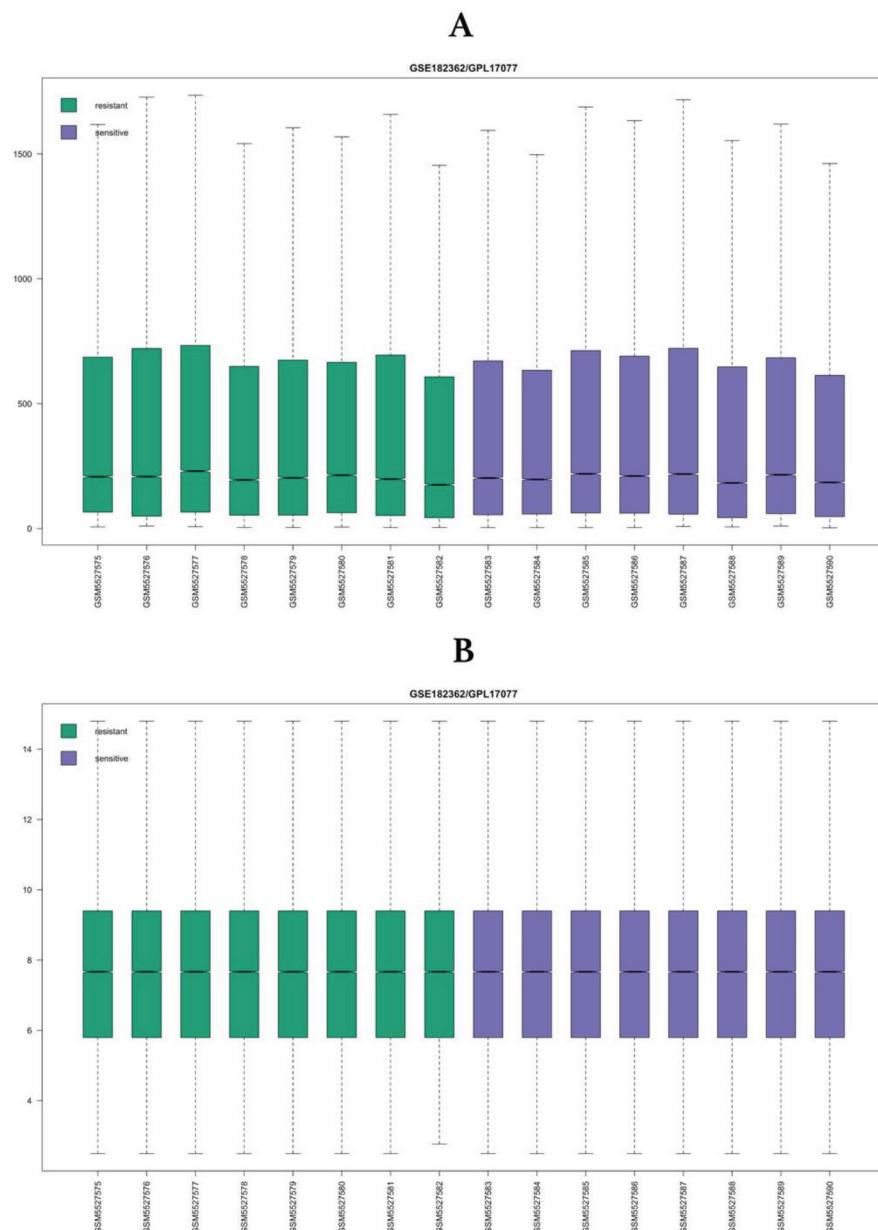
### تعیین مسیرهای پیام رسانی سلولی متاثر از ژن‌های کلیدی

در مرحله آخر به منظور شناسایی مسیرهای پیام رسانی سلولی متاثر از ژن‌های کلیدی، از پایگاه اطلاعاتی "enrichr" (<https://maayanlab.cloud/Enrichr/enrichment>) استفاده شد. زبان برنامه نویسی R و بسته "Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes" (KEGG gene ontology (GO) مورد استفاده قرار گرفتند.

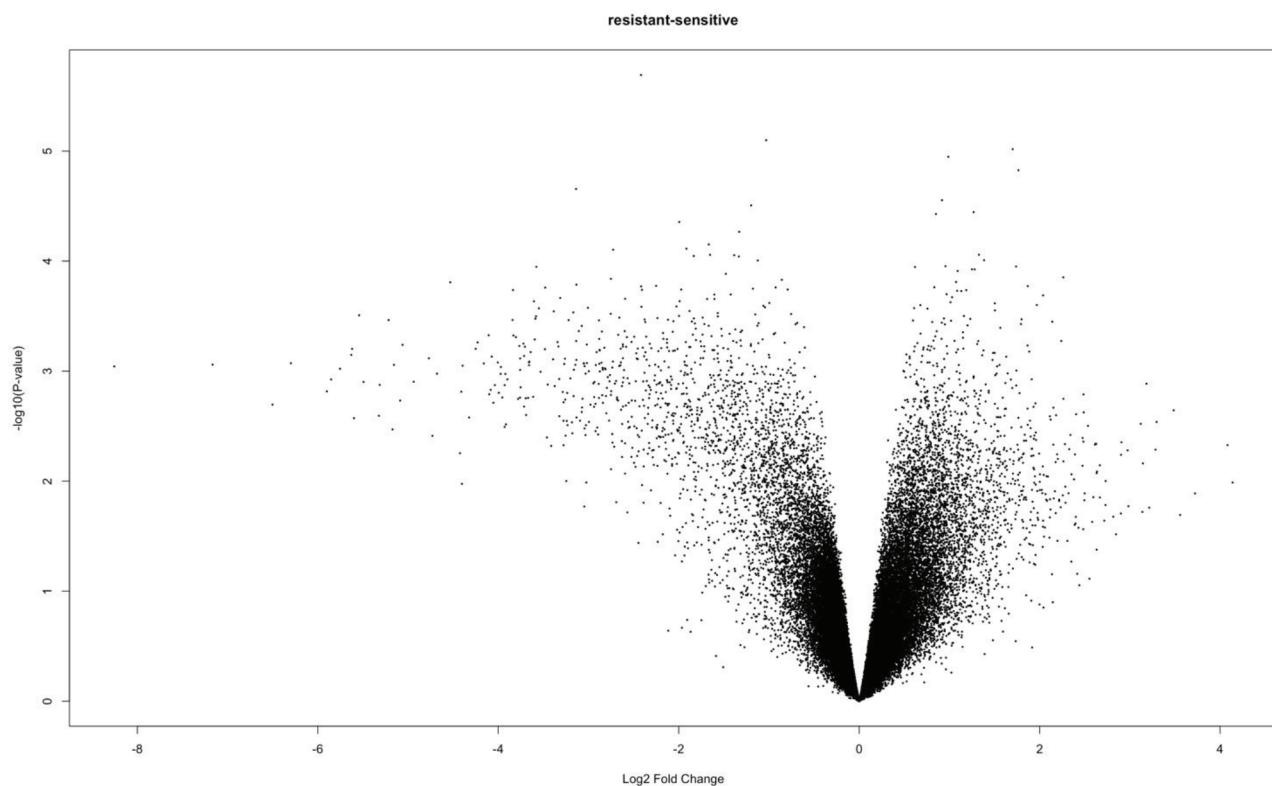
### یافته‌ها

#### دريافت اطلاعات و تعیین ژن‌های با بیان تغییر یافته

اجرای مراحل پیش‌پردازشی شامل پاک‌سازی داده‌ها، موجب کاهش تعداد ژن‌ها از ۵۰۵۹۹ به ۳۲۰۸۰ ژن گردید. نمودارهای جعبه‌ای نمونه‌ها، پیش و پس از نرم‌السازی در شکل ۱ به نمایش درآمدند. تعداد ژن‌های با بیان تغییر یافته در برابر با ۱۷۸۴ مورد شامل ۸۱۴ ژن با بیان افزایش یافته و ۹۷۰ ژن با بیان کاهش یافته در بیماران مبتلا به نوع مقاوم در مقایسه با نوع GKN1، GKN2، AKR1B10، CAPN8 و ANXA10 به ترتیب با logFC ۰/۸۹، ۰/۸۵، ۰/۸۴ و ۰/۸۳ بهترین کاهش بیان و ژن‌های IL8، G0S2، S100A8، BCL2A1 و CAMP به ترتیب با logFC ۴/۱۳، ۳/۷۲، ۳/۷۲ و ۳/۴۸ بهترین افزایش بیان را در بیماران مبتلا به نوع مقاوم نشان دادند. نمودار آتشفسانی (volcano plot) بیان ژن‌ها که حاوی اطلاعات مقایسه‌ای لگاریتم میزان تغییر بیان ژن‌ها با لگاریتم عدد P آنها می‌باشد در شکل ۲ به نمایش در آمدند است. نقشه گرمایی صد ژن اول با کمترین واریانس در شکل ۳ به تصویر کشیده شده است. در این شکل ژن‌ها بر اساس طبقه‌بندی انجام شده مرتب شده‌اند، همچنین رنگ قرمز نماینده بیان بالاتر و رنگ سبز نماینده بیان پایین‌تر می‌باشد.



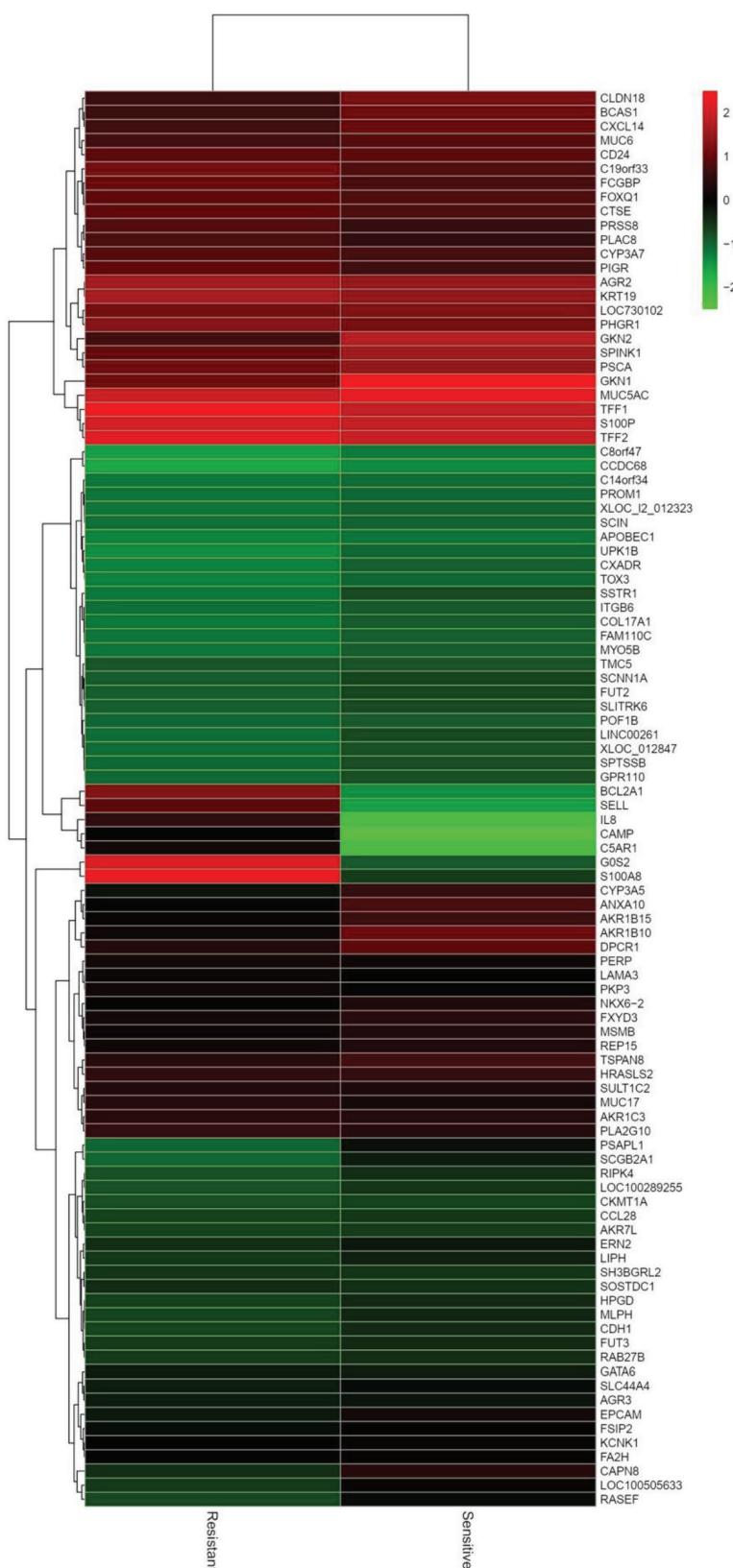
**شکل ۱**- نمودار جعبه‌ای نمونه‌ها قبل و بعد از انجام نرمال‌سازی. A) نمودار جعبه‌ای قبل از نرمال‌سازی، B) نمودار جعبه‌ای پس از نرمال‌سازی.



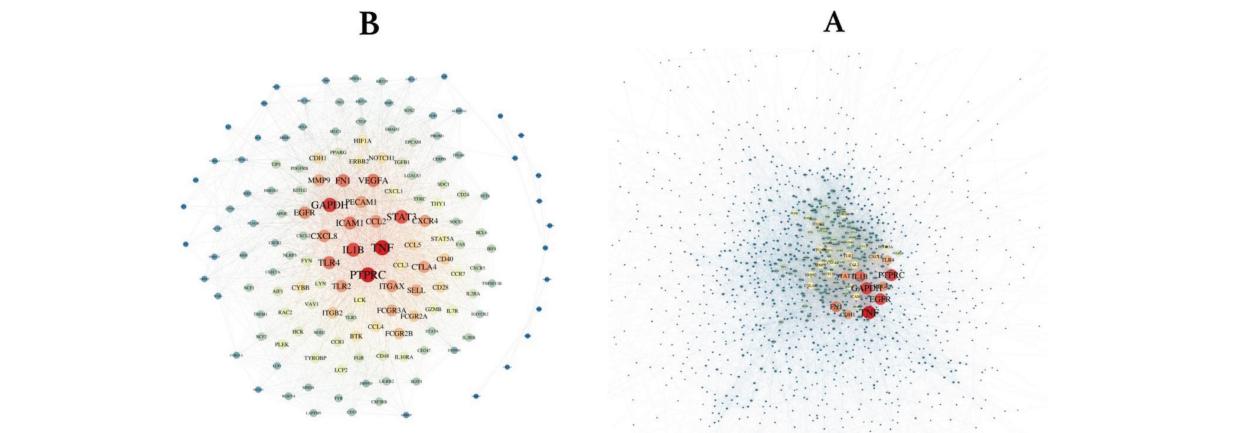
**شکل ۲-** نمودار آتشفهانی ژن‌ها. نمایانگر لگاریتم میزان تغییر بیان ژن‌ها در مقایسه با  $P$  آن می‌باشد.

در گیری عملکردهای مرتبط با فعال‌سازی سلول‌های ایمنی هستند، ده نتیجه اول با کمترین  $P$  شامل regulation of cell activation (GO:0050865), leukocyte migration (GO:0050900), positive regulation of cell activation (GO:0050867), regulation of leukocyte activation (GO:0002694), regulation of lymphocyte activation (GO:0051249), positive regulation of leukocyte activation (GO:0002696), positive regulation of lymphocyte activation (GO:0051251), leukocyte activation (GO:0045321), regulation of T cell (inflammatory response (GO:0006954 و activation (GO:0050863) می‌باشند. (ضمیمه شماره ۱)

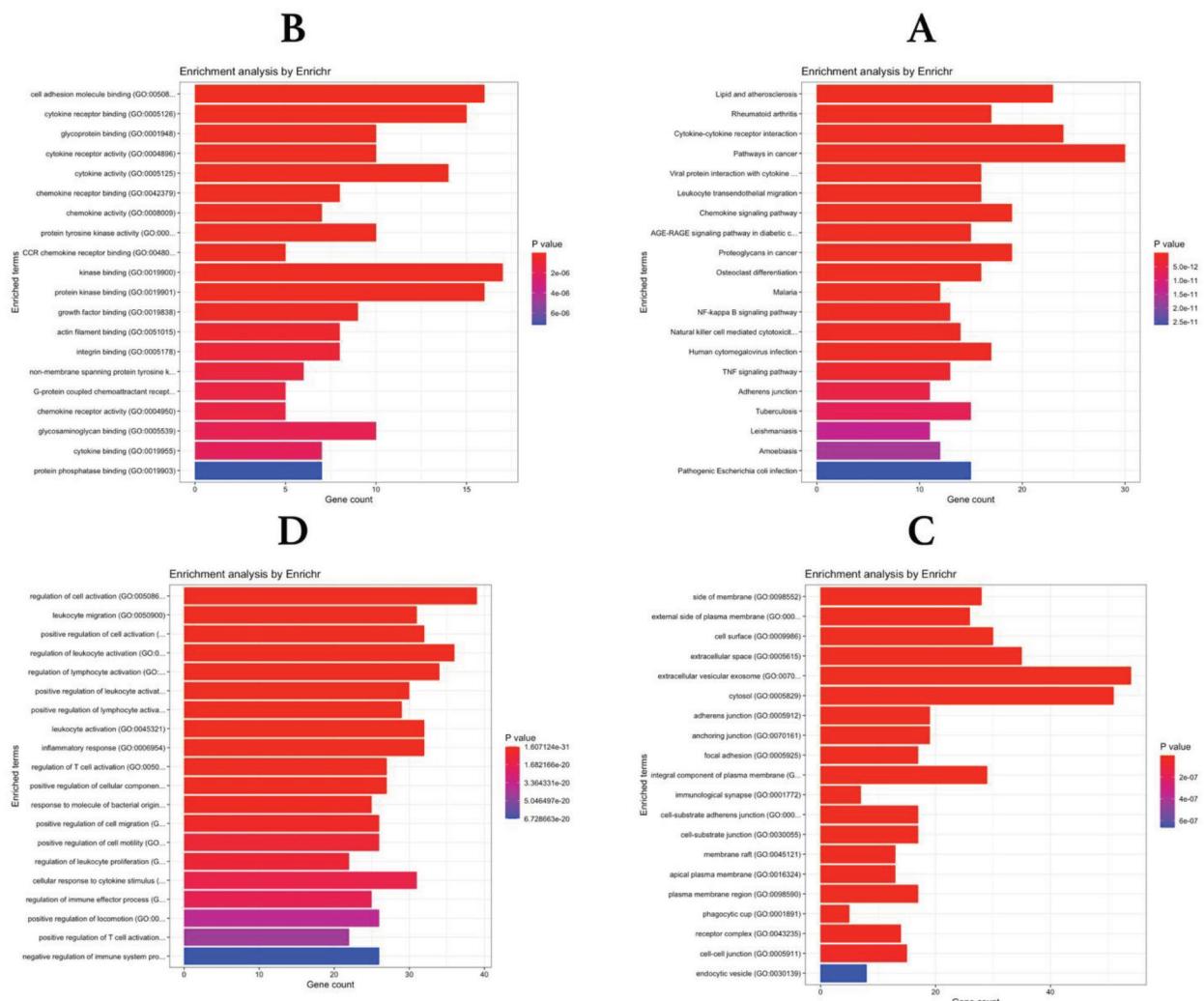
نتایج ارزیابی ژن‌ها بر اساس GO Cellular Component نیز نشان دهنده در گیری اعضای سلولی مرتبط غشاء سطحی سلول‌ها هستند، ده نتیجه اول با کمترین  $P$  شامل side of membrane (GO:0098552)، external side of plasma membrane (GO:0009897)، cell surface (GO:0009986)، extracellular space (GO:0005615)، extracellular vesicular exosome (GO:0070062)، cytosol (GO:0005829)، adherens junction (GO:0005912)، anchoring junction (GO:0070161)، focal adhesion (GO:0005925 و integral component of plasma membrane (GO:0005887 می‌باشند. نتایج ارزیابی ژن‌ها بر اساس GO Biological Process نمایانگر



شکل ۳- نقشه گرمایی ۱۰۰ ژن اول با کمترین واریانس بیانی در میان دو گروه



شکل ۴- شبکه ارتباطات پروتئینی. (A) شبکه کامل ارتباطات پروتئینی ژن‌های با بیان تغییر یافته و (B) زیر-شبکه حاصل پس از اعمال ارزیابی‌های شبکه‌ای



شکل ۵- مسیرهای پیام رسانی سلولی مرتبط با ژن‌ها بر اساس نتایج Biological Process

## بحث

کاهش ساخت پروتئین‌های مجموعه سازگاری بافتی اصلی یا major histocompatibility (MHC) کلاس ۱ که در پیچه‌اه در صد بیماران مشاهده شده است به عنوان رایج‌ترین روش فرار از دستگاه ایمنی معرفی گردید.<sup>۹</sup> پپتیدهای داخلی و خارجی مانند آنتی ژن‌های ویروسی و آنتی ژن‌های مرتبط با بدخیمی‌ها توسط MHC‌ها بر روی سطح سلول ارائه می‌گردند. در نتیجه لنفوцит‌های T کشنده یا cytotoxic T lymphocytes (CTL) در نتیجه طبیعی CTL‌ها و از بین بردن سلول‌های سرطانی حیاتی می‌باشند و کاهش بیان این ژن‌ها موجب فرار ایمنی می‌گردد.

فعال شدن مسیر سلولی رسپتور سلول / B فاکتور هسته‌ای κB یا B-cell receptor /NF-κB (BCR)، یکی از ویژگی‌های اصلی در لنفوم‌های غیر هوچکینی سلول B، مخصوصاً لنفوم سلول B بزرگ متشر می‌باشد.<sup>۱۰</sup> مسیر پیام رسانی سلولی رسپتور سلول B نقش‌هایی حیاتی در رشد، تکامل و بقای سلول‌های B طبیعی و در صد بالایی از سلول‌های بدخیم دارد. مطالعات متعددی، بروز اختلالات ژنتیکی در اعضای اصلی این مسیر پیام رسانی سلولی و همچنین مسیرهای متأثر از آن را در برخی از زیر گروه‌های لنفوم سلول B بزرگ متشر شناسایی نموده اند.<sup>۱۱</sup> بنابراین مسیرهای پیام رسانی سلولی NF-κB و فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز یا phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) به عنوان هدف‌های درمانی این بیماران انتخاب شده اند.<sup>۱۲</sup>

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده برجسته بودن تاثیر اختلال مسیرهای پیام رسانی سلولی مرتبط با گیرنده‌های سطحی سلول‌های ایمنی و همچنین تنظیم فعل سازی آنها در بروز مقاومت نسبت به درمان ریشه کن‌سازی هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد. این نتایج با سایر مطالعات انجام شده در این زمینه نیز همسو می‌باشند. بنابراین بررسی‌های بیشتر جهت ارزیابی این فرضیه می‌تواند منجر به شناسایی ژن‌های کلیدی قابل استفاده به عنوان هدف‌های درمانی و زیست نشانگرهای تشخیصی، تعیین روش درمانی مناسب برای بیمار و پیش‌آگهی گردد.

در مطالعه حاضر الگوی بیان ژنی بیماران مبتلا به DLBCL مقاوم به درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری با افراد حساس به این درمان با هدف شناسایی ژن‌ها و مسیرهای پیام‌رسانی سلولی دخیل در بروز مقاومت مقایسه شدند. بر اساس نتایج به دست آمده، ژن‌های CXCL8، EGFR، VEGFA با توجه به ویژگی‌های شبکه‌ای و نتایج به دست آمده از تعیین مسیرهای پیام رسانی سلولی به عنوان ژن‌های بالاهمیت بالا مشخص شدند. ژن‌های کلیدی موجود در زیر-شبکه، ارتباط قابل ملاحظه‌ای با گیرنده‌های سطحی سلول‌های ایمنی و در نتیجه مسیرهای پیام رسانی سلولی مرتبط با فعال‌سازی آنها و همچنین تولید سایتوکاین‌ها، مهاجرت سلولی و مسیرهای پیام رسانی سلولی مرتبط با بروز بدخیمی‌ها دارند.

تولید سایتوکاین توسط سلول‌های سرطانی نه تنها موجب تکثیر این سلول‌های می‌گردد، بلکه باعث ایجاد و حفظ محیطی مناسب نیز می‌شود.<sup>۸,۹</sup> برای مثال، در مطالعه Lloyd T Lam و همکاران در سال Interleukin-10، Interleukin-6 (IL6) و Interleukin-10 (IL10) در سلول‌های DLBCL مشاهده گردیده است IL-6.<sup>۱۰</sup> که به عنوان سایتوکاین به دست آمده از سلول T نیز شناخته می‌شود، موجب تکثیر سلول‌های B به سلول پلاسمایی می‌گردد IL-10.<sup>۱۱</sup> نیز که به عنوان محصولی از سلول‌های T کمکی معروف است، تکثیر سلول‌های طبیعی B را شدت می‌بخشد.<sup>۱۲</sup> سطوح پلاسمایی و میزان تولید این سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های سرطانی، با یکدیگر بسیار مرتبط هستند.<sup>۱۳</sup> در مطالعات متعددی ارتباط میان سطوح بالای پلاسمایی IL-6 و IL-10 با پیش‌آگهی ضعیف بیماران گزارش شده است.<sup>۱۴-۱۶</sup>

Huang و همکاران در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۲۱، با هدف تعیین علل بروز مقاومت نسبت به درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری در میان بیماران مبتلا به (microRNA-155) miR-155 را به عنوان مارکر اصلی بیماران مقاوم معرفی نمودند.<sup>۱۷</sup> میکرو RNA‌های کوچکی هستند که خود حاوی اطلاعات لازم جهت ساخت پروتئین‌ها نمی‌باشند (non-protein-coding). با اینحال نقش‌های مهمی در تنظیم بیان سایر ژن‌ها دارند miR-155.<sup>۱۸</sup> تنظیم کننده مهاجرت سلولی و تولید سایتوکاین‌ها در لنفوم سلول B بزرگ متشر می‌باشد.<sup>۱۹</sup> در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۲۱ توسط Fangazio و همکاران،

## References

1. Ghimire P, Wu GY, Zhu L. Primary gastrointestinal lymphoma. *World J Gastroenterol.* Feb 14 2011;17(6):697-707. doi:10.3748/wjg.v17.i6.697
2. Wang YG, Zhao LY, Liu CQ, et al. Clinical characteristics and prognostic factors of primary gastric lymphoma: A retrospective study with 165 cases. *Medicine (Baltimore).* Aug 2016;95(31):e4250. doi:10.1097/md.0000000000004250
3. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* May 19 2016;127(20):2375-90. doi:10.1182/blood-2016-01-643569
4. Violeta Filip P, Cuciureanu D, Sorina Diaconu L, Maria Vladareanu A, Silvia Pop C. MALT lymphoma: epidemiology, clinical diagnosis and treatment. *J Med Life.* Jul-Sep 2018;11(3):187-193. doi:10.25122/jml-2018-0035
5. Mulalic E, Delibegovic S. An Aggressive Form of MALT Lymphoma of the Stomach with Pancreas Infiltration. *Med Arch.* Jun 2016;70(3):235-7. doi:10.5455/medarh.2016.70.235-237
6. Kuo SH, Yeh KH, Wu MS, et al. Helicobacter pylori eradication therapy is effective in the treatment of early-stage H pylori-positive gastric diffuse large B-cell lymphomas. *Blood.* May 24 2012;119(21):4838-44; quiz 5057. doi:10.1182/blood-2012-01-404194
7. Huang WT, Kuo SH, Kuo YC, Lin CW. miR-155-regulated mTOR and Toll-like receptor 5 in gastric diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Med.* Feb 2022;11(3):555-570. doi:10.1002/cam4.4466
8. Takahara T, Nakamura S, Tsuzuki T, Satou A. The Immunology of DLBCL. *Cancers (Basel).* Jan 29 2023;15(3)doi:10.3390/cancers15030835
9. de Jong D, Enblad G. Inflammatory cells and immune microenvironment in malignant lymphoma. *J Intern Med.* Dec 2008;264(6):528-36. doi:10.1111/j.1365-2796.2008.02032.x
10. Lam LT, Wright G, Davis RE, et al. Cooperative signaling through the signal transducer and activator of transcription 3 and nuclear factor- $\kappa$ B pathways in subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* Apr 1 2008;111(7):3701-13. doi:10.1182/blood-2007-09-111948
11. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature.* Nov 6-12 1986;324(6092):73-6. doi:10.1038/324073a0
12. Rousset F, Garcia E, Defrance T, et al. Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Mar 1 1992;89(5):1890-3. doi:10.1073/pnas.89.5.1890
13. Voorzanger N, Touitou R, Garcia E, et al. Interleukin (IL)-10 and IL-6 are produced in vivo by non-Hodgkin's lymphoma cells and act as cooperative growth factors. *Cancer Res.* Dec 1 1996;56(23):5499-505.
14. Blay JY, Burdin N, Rousset F, et al. Serum interleukin-10 in non-Hodgkin's lymphoma: a prognostic factor. *Blood.* Oct 1 1993;82(7):2169-74.
15. Gupta M, Han JJ, Stenson M, et al. Elevated serum IL-10 levels in diffuse large B-cell lymphoma: a mechanism of aberrant JAK2 activation. *Blood.* Mar 22 2012;119(12):2844-53. doi:10.1182/blood-2011-10-388538
16. Giachelia M, Voso MT, Tisi MC, et al. Interleukin-6 plasma levels are modulated by a polymorphism in the NF- $\kappa$ B1 gene and are associated with outcome following rituximab-combined chemotherapy in diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma.* Mar 2012;53(3):411-6. doi:10.3109/10428194.2011.621566
17. Budakoti M, Panwar AS, Molpa D, et al. Micro-RNA: The darkhorse of cancer. *Cell Signal.* Jul 2021;83:109995. doi:10.1016/j.cellsig.2021.109995
18. Jabłońska E, Białopiotrowicz E, Szydłowski M,

- Prochorec-Sobieszek M, Juszczyski P, Szumera-Cieckiewicz A. DEPTOR is a microRNA-155 target regulating migration and cytokine production in diffuse large B-cell lymphoma cells. *Exp Hematol.* Aug 2020;88:56-67.e2. doi:10.1016/j.exphem.2020.07.005
19. Fangazio M, Ladewig E, Gomez K, et al. Genetic mechanisms of HLA-I loss and immune escape in diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jun 1 2021;118(22)doi:10.1073/pnas.2104504118
20. Raskov H, Orhan A, Christensen JP, Gögenur I. Cytotoxic CD8(+) T cells in cancer and cancer immunotherapy. *Br J Cancer.* Jan 2021;124(2):359-367. doi:10.1038/s41416-020-01048-4
21. Reimann M, Schrezenmeier J, Richter-Pechanska P, et al. Adaptive T-cell immunity controls senescence-prone MyD88- or CARD11-mutant B-cell lymphomas. *Blood.* May 20 2021;137(20):2785-2799. doi:10.1182/blood.2020005244
22. Xu W, Berning P, Lenz G. Targeting B-cell receptor and PI3K signaling in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* Sep 30 2021;138(13):1110-1119. doi:10.1182/blood.2020006784
23. Davis RE, Ngo VN, Lenz G, et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature.* Jan 7 2010;463(7277):88-92. doi:10.1038/nature08638

## Determination of key genes and cellular signaling pathways involved in the resistance of patients with diffuse large B-cell lymphoma to Helicobacter pylori eradication treatment

Received: 24 Jun 2023; Accepted: 28 Aug. 2023

Mohammad-Moien Forghani-Ramandi<sup>1</sup>,  
Arvin Najafi<sup>2</sup>

1- Student Research Committee, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

2- Assistant Professor of Orthopedics, School of Medicine, Clinical Research Development Unit, Shahid Madani Hospital, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

### Abstract

**Background:** Diffuse large B-cell lymphoma is the most common invasive non-Hodgkin's lymphoma. There is a strong relationship between Helicobacter pylori infection and the occurrence of this malignancy. It has been seen that some patients with DLBCL in the early stages respond well to Helicobacter pylori eradication treatment, but others are resistant to it. Due to the lack of sufficient knowledge about the occurrence of this resistance, it is necessary to identify mechanisms of resistance.

**Methods:** The gene expression data of sensitive and resistant patients were obtained from GEO site. After determining the genes with altered expression, in order to identify the key genes, the protein interaction network was constructed and the important genes were filtered based on the network centrality indices. Finally, cellular signaling pathways associated with key genes were determined.

**Results:** CXCL8, EGFR, FN1, ICAM1, IL1B, TLR2, TLR4, TNF and VEGFA genes were identified as highly important genes according to the network analysis and the results obtained from the pathway enrichment analysis. Key genes showed a significant relationship with functions related to the regulation of immune cells activation.

**Conclusion:** The results obtained from this study show the significant role of cell functions related to surface receptors and also the regulation of immune cells activation in the occurrence of resistance to treatment. The genes and cellular pathways identified in this study can be used as therapeutic targets and biomarkers for diagnosis, determination of the appropriate treatment method for the patients and prognosis.

**Keywords:** Diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL, Bioinformatics, Helicobacter pylori

#### Corresponding author:

Arvin Najafi  
Assistant Professor of Orthopedics,  
School of Medicine, Clinical Research  
Development Unit, Shahid Madani  
Hospital, Alborz University of Medical  
Sciences, Karaj, Iran

Phone: +98-912-8566268  
Email: arvin.najafi@gmail.com