

## مقاله پژوهشی

# همراهی پلی مورفیسم جایگاه ۱۳۷ در پروموتور ژن اینترلوکین-۱۸ با دیابت ملیتوس نوع یک در جمعیت آذربایجان شرقی

محمد رهبانی نوبن: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران، نویسنده رابط:

E-mail: rahbanim@hotmail.com

علی رضایی: گروه پاتوبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران  
ستار بزاز دهخوارقانی: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران  
ناصر آقامحمدزاده: گروه اندوکرینولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۹۱/۵/۱ پذیرش: ۹۱/۶/۱۴

## چکیده

**زمینه و اهداف:** اینترلوکین-۱۸ (IL-18) نقش کلیدی در بیماری‌های اتوایمیون، التهابی و عفونی دارد و سطوح بالای آن در مراحل بدون تظاهرات بالینی دیابت ملیتوس نوع ۱ نیز گزارش شده است. در این مطالعه کثرت یکی از پلی مورفیسمهای تک نوکلئوتیدی در پروموتور ژن IL-18 در جایگاه ۱۳۷- که با تغییر در اتصال فاکتور نسخه برداری، در فعالیت ژن IL-18 موثر واقع می شود در افراد مبتلا به بیماری دیابت ملیتوس نوع ۱ مورد ارزیابی قرار می گیرد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه (توصیفی - مقایسه‌ای) ۱۰۴ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۱ (۳۳ مؤنث و ۷۱ مذکر) با میانگین سن  $19 \pm 10/8$  سال به عنوان گروه بیمار و ۹۲ نفر افراد به ظاهر سالم که از لحاظ جنس و سن با بیماران هم‌تا سازی شده و بدون سابقه فامیلی دیابت و بیماریهای اتوایمیون بودند به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در موقعیت ۱۳۷-(G/C) در ناحیه پروموتور ژن IL-18 بوسیله Allele Specific PCR انجام گرفت.

**یافته‌ها:** توزیع ژنوتیب بطور قابل توجهی ما بین گروه بیمار و گروه کنترل متفاوت بود ( $P=0/038$ ). اختلاف در افزایش در ژنوتیب‌های GG و یک کاهش در ژنوتیب‌های CG منعکس بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج ممکن است همراهی ما بین دیابت نوع ۱ و پلی مورفیسم در پروموتور ژن IL-18 در افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ را در افراد آذربایجان شرقی پیشنهاد کنند.

**کلید واژه‌ها:** IL-18، پلی مورفیسم ۱۳۷، ژن IL، ۱۸، دیابت نوع I

## مقدمه

(۴). همراهی‌های اولیه مابین دیابت نوع ۱ و MHC برای آنتی ژن-های A1-B8 و B15 طبقه HLA شرح داده شده است. با پیدایش سرولوژی کلاس II همراهی‌های نزدیکتری با HLA-DR با کثرت افزایش یافته DR3 و DR4 و کثرت کاهش یافته DR2 در افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ مشاهده شده است (۵). همراهی مابین دیابت نوع ۱ و آلل‌های آنتی ژن لکوسیت انسانی ژن‌های HLA-DQ AI و HLA-DQB در بین جمعیت بخوبی شناخته شده است (۶). این‌ها

دیابت نوع ۱، یک بیماری خود ایمنی است که بوسیله انهدام سلولهای بتا پانکراس مشخص می‌شود و هر دو عوامل ژنی و محیطی در پاتوژن آن نقش دارند (۱-۳). استعداد به بیماری دیابت نوع ۱ ارثی است ولی شیوه توارث پیچیده بوده و ناشناخته است. بزرگترین سهم ژنی از ژنهای اصلی کمپلکس سازگاری بافتی (MHC) در بازوی کوتاه کروموزوم ۶ می‌باشد. اجزاء MHC برای حدود ۳۵ درصد استعداد ژنی نسبت به این بیماری پاسخگو است

مورفیسیم در پروموتور ژن IL-18 در دیابت نوع ۱ در آذربایجان شرقی (ایران) ارزیابی و با نتایج شاهد موردی بدست آمده از گروه کنترل مقایسه گردید.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه روی ۱۰۴ نفر بیمار مبتلا به دیابت نوع ۱ در آذربایجان شرقی - ایران انجام گرفته است. ۳۳ نفر از بیماران مونث و بقیه مذکر و میانگین سنی آنها  $41.0 \pm 19.6$  سال بود. بیماران براساس داده‌ها از کمیته دیابت آذربایجان شرقی با مساعدت متخصص اندوکریولوژی انتخاب شدند. بیماران برای خونگیری به دیارتمان اندوکریولوژی بیمارستان سینا در تبریز (ایران) دعوت شدند. تشخیص دیابت نوع ۱ مطابق ملاک معین شده توسط سازمان بهداشت جهانی در سال ۱۹۸۵، وجود کتوزیس، BMI پایین و نیاز به درمان با انسولین (با میانگین سنی تشخیص  $5/8 \pm 11/4$  سال) انجام گرفت. گروه کنترل شامل از ۹۲ فرد غیرمرتبط از آذربایجان شرقی (۲۹ مونث و بقیه مذکر) با میانگین سنی  $9/3 \pm 22/8$  سال و بدون سابقه فامیلی دیابت یا سایر بیماریهای اتوایمن بودند. همه بیماران و افراد کنترل از هدف مطالعه اطلاع پیدا نمودند و از آنها و یا والدین آنها رضایت آگانه اخذ گردید.

### نمونه‌گیری

از همه افراد مورد مطالعه حدود ۵ میلی‌لیتر خون در حالت ناشتا گرفته شد و در لوله حاوی EDTA اضافه گردید.

### استخراج DNA

۳۰۰ میکرولیتر نمونه خون حاوی ضد انعقاد EDTA و ۹۰۰ میلی لیتر محلول سل لایزر را در میکروتیوب درب دار ریخته و ۶ بار سرو ته می‌نماییم. مدت ۱۲ دقیقه در دمای اطاق انکوبه و طی انکوباسیون میکروتیوب را سرو ته می‌کنیم. سپس میکروتیوب‌ها را در دور ۱۳۰۰۰g به مدت ۴۰ ثانیه سانتریفوژ می‌کنیم. مایع رویی را با احتیاط برمی‌داریم نموده تا رسوب سفید در ته میکروتیوب باقی بماند. لازم به ذکر است برای خون فریز شده چندین مرتبه شستشو انجام می‌گیرد. جهت باز شدن کامل رسوب سفید میکروتیوب را مدت ۱۵ ثانیه در ورتکس قرار می‌دهیم.

بر روی رسوب ۳۰۰ میکرولیتر محلول لیز هسته اضافه کرده و چندین مرتبه با پیست کردن آن را مخلوط می‌کنیم. مایع باید به حالت ویسکوز درآید. مقدار ۱/۵ میکرولیتر محلول RNase اضافه و ۵ بار سرو ته می‌کنیم و سپس در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد مدت ۱۵ دقیقه انکوبه می‌کنیم. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر محلول رسوب پروتئین اضافه کرده و مدت ۲۰ ثانیه میکروتیوب را ورتکس می‌کنیم. میکروتیوب را مدت ۵ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰g سانتریفوژ می‌کنیم یک رسوب تیره پروتئینی باید دیده شود. مایع رویی را به میکروتیوب تمیز حاوی ۳۰۰ میکرولیتر محلول ایزوپروپانول منتقل می‌کنیم و به آرامی میکروتیوب را سرو ته می‌کنیم تا اینکه رشته‌های سفید DNA دیده شود. مایع

بهترین مارکر ژنی انفرادی برای دیابت نوع ۱ هستند. این ژنها بوسیله یک اسیدآمینه غیر از اسپاراتات در موقعیت ۵۷ ملکول DQB (کد شده بوسیله DQB1) و یک آرژنین در موقعیت ۵۲ ملکول DQX (کد شده بوسیله ژن IQAI) مشخص می‌شوند (۶).

به استثنای موارد بسیار نادر، دیابت نوع ۱ فقط در افراد مستعد از نظر ژنی مشاهده می‌شود. اما فقط ۳۰-۲۰ درصد آنهایی که استعداد ژنی دارند دچار بیماری می‌شوند. شروع و پیشرفت انهدام سلول B احتمالاً بوسیله عوامل محیطی، ویروس، سموم و غذا معین می‌شود که به همه آنها در مقالات مختلف اشاره شده است.

اخیراً گزارش شده (۷) که سطوح سرمی IL-18 در مرحله بدون تظاهر بالینی دیابت نوع ۱ در خویشاوندان درجه یک بیماران دیابت نوع ۱ افزایش می‌یابد. IL-18 که بطور فراوان بوسیله منوسیت‌ها و ماکروفاژها ترشح می‌شود یک سیتوکائین با ویژگی متعدد (pkiotropic) است که در تنظیم ایمنی ذاتی و اکتسابی شرکت نموده و نقش کلیدی را در بیماریهای اتوایمن، التهابی و عفونی بازی می‌کند (۸). IL-18 بعنوان یک عامل پیش التهابی عمل کرده و همراه با IL-12 پاسخ لنفوسیت Th1 را بوسیله القاء تولید گاما-انترفرون ( $IFN-\gamma$ ) توسعه داده، فعالیت سلولهای NK را تعدیل نموده، فاکتور نکروز آلفا و تولید IL-1 بوسیله ماکروفاژها را سبب گردیده، بیان ملکولهای چسبنده را افزایش و تولید نیتریک اسید در منطقه التهاب را القاء می‌کند (۹).

نقش IL-18 در دیابت اتوایمن در مدل حیوانی اولین بار بوسیله Rothe و همکاران (۱۰) گزارش شده‌اند. آنها مشاهده کردند که افزایش تولید mRNA IL-18 بوسیله ماکروفاژها با افزایش سطوح  $IFN-\gamma$  دنبال شده و موجب یک مرحله فعال دیابت اتوایمن در موش NOD می‌گردد (۱۰)، اخیراً نشان داده شده در دوره انسولیت (Insulinitis) IL-18 بوسیله سلولهای B پانکراس نیز تولید می‌شود که سبب القاء بیشتر التهاب می‌گردد (۱۱). از طرف دیگر نشان داده شده تجویز وریدی IL-18 به موش‌های NOD توسعه دیابت را احتمالاً بوسیله فرونشانی فعالیت‌های پیش التهابی سیستم ایمنی ذاتی کاهش می‌دهد (۱۲).

دیابت نوع ۱ در انسان نیز یک بیماری بواسطه لنفوسیت Th1 بوده و عوامل ژنی و محیطی نقشی در بیماری‌زایی آن دارند. مطالعات بسیار کمی در مورد نقش پلی مورفیسیم پروموتور IL-18 در ایجاد استعداد نسبت به دیابت نوع ۱ در انسان به عمل آمده است. لکوس ژن IL-18 در q22.2-q23.3۱۱ قرار گرفته و چندین پلی - مورفیسیم در ناحیه پروموتور آن تعیین شده است (۱۳). جایگزینی  $G > C$  در موقعیت ۱۳۷- نشان داده شده که محل اتصال H4TF-1 را مختل می‌کند در حالی که تغییر  $C > A$  در موقعیت ۶۰۷- ممکن است محل اتصال یک عنصر حساس به cAMP را مختل کند. این تغییرات فعالیت نسخه‌برداری ژن IL-18 را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در مطالعات مختلف همراهی تغییرات ژن IL-18 با بیماریهای ایمنی و التهابی شامل بیماری قلبی و عروقی (۱۴) دیابت نوع ۱ (۱۵) و بیماری آزیایمر (۱۶) گزارش شده است.

نظر به اینکه IL-18 یک سیتوکائین پیش التهابی قوی بوده و با بروز دیابت در حیوانات همراه می‌باشد در این مطالعه کثرت پلی

فزون (amplify) قطعه ۲۴۶-bp پوشاننده محل پلی مورفیک بعنوان کنترل فزون سازی مثبت فاصله گذاری بکار گرفته شد. پرایمرها با بکارگیری primer 3 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/software/>) طراحی شدند.

PCR در حجم ۱۰ µl حاوی ۰/۵µM از یک پرایمر با ترادف اختصاصی -R1۳۷، ۰/۳µM، CTRL ۱۳۷، ۱۰ mM تریس - هیدروکلریک اسید با PH=8.3، ۵۰ mM MgCl<sub>2</sub>، ۱ mM MgCl<sub>2</sub>، ۲۰۰ µM dNTPs، ۱U Amplitag Tag Polymerase (Perkin-Elmer, Foster City, C.A.USA)، و ۵۰ نانو گرم DNA ژنومیک. شرایط سایکلینق ۲ دقیقه در ۹۴°C بوده که بدنبال آن ۵ سیکل ۲۰ ثانیه ای در ۹۴°C، ۶۰ ثانیه در ۶۸°C و ۲۵ سیکل ۲۰ ثانیه ای در ۹۴°C، ۲۰ ثانیه در ۶۲°C و ۴۰ ثانیه در ۷۲°C بود. همه محصولات PCR در ژل آگاروز ۲ درصد از هم جدا بوسیله اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شدند.

### آنالیز آماری

آزمون X<sup>2</sup> (کای اسکور) برای بررسی اختلاف در توزیع آلل ها و ژنوتیپها مابین گروه های مطالعه شده بکار گرفته شد. در این مطالعه کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS.15 انجام شد. در این مطالعه ۰/۰۵ < P از لحاظ آماری معنی دار تلقی شد.

### یافته ها

این مطالعه در روی ۱۰۴ بیمار دیابتی از آذربایجان شرقی انجام گرفت که ۳۳ نفر آنها مونث و ۷۱ نفر مذکر بودند. میانگین سنی بیماران ۱۰/۴ ± ۱۹/۶ بود. گروه شاهد در این بررسی شامل ۹۲ نفر بود که ۲۹ نفر آنها مونث و ۷۳ نفر آنها را افراد مذکر تشکیل می داد. میانگین سنی گروه شاهد ۹/۳ ± ۲۲/۸ سال بود.

کثرت آلل ژن -۱۳۷ در موقعیت C/G در بیماران با دیابت نوع ۱ و گروه کنترل در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. اختلاف قابل توجهی در توزیع آللها در موقعیت -۱۳۷ بین بیماران و گروه شاهد مشاهده گردید. کثرت آلل G در موقعیت -۱۳۷ در بیماران بیشتر از افراد کنترل بود (P=۰/۰۳۹۵).

کثرت ژنوتیپ ژن IL-18 در موقعیت های -۱۳۷ C/G در بیماران با دیابت نوع ۱ و افراد کنترل در جدول ۲ نشان داده شده است. کثرت ژنوتیپها در موقعیت -۱۳۷ بطور قابل توجهی ما بین بیماران و گروه کنترل متفاوت بود. اختلاف در افزایش ژنوتیپ GG و کاهش در ژنوتیپ CC در موقعیت -۱۳۷ منعکس بود. این اختلاف افزایش قابل توجهی را در ژنوتیپ GG (P=۰/۰۳۷) در موقعیت -۱۳۷ نشان داد.

جدول ۱: توزیع آللی ژن ایترلوکین-۱۸ در جایگاه نوکلئوتیدی C/G-۱۳۷ در بیماران و کنترل

آلل	دیابت نوع ۱ (٪ تعداد)	کنترل (٪ تعداد)	P
آلل ۱۳۷G	۶۹(۶۵/۹)	۷۱(۷۶/۹)	۰/۰۳۹۵
آلل ۱۳۷C	۳۵(۳۴/۱)	۲۱(۲۳/۱)	-

رویی را حذف کرده و سپس به مقدار ۳۰۰ میکرو لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه می کنیم و به آرامی چندین بار میکروتیوب را سروته می نماییم. میکروتیوب را در دور ۱۳۰۰۰g بمدت ۳ دقیقه سانتریفوژ می کنیم. سپس اتانول را با بکارگیری سمپلر از میکروتیوب حذف و مدت ۱۰ دقیقه در روی دستمال کاغذی تمیز خشک می کنیم. مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر محلول هیدراسیون DNA را به میکروتیوب اضافه می کنیم و در حرارت ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت انکوبه و در طی زمان انکوباسیون به صورت دوره ای میکروتیوب را بهم می زنیم. میکروتیوب حاوی DNA استخراج شده را در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره می کنیم. برای بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از روش اسپکتروفتومتری استفاده گردید.

### بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده

لازمه یک PCR موفق داشتن DNA خالص به مقدار معین است. جهت بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده می توان از دو روش معمولی اسپکتروفتومتری و الکتروفورز استفاده کرد که در این مطالعه از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد.

### تعیین غلظت DNA با روش اسپکتروفتومتری

غلظت DNA با استفاده از جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر و از رابطه زیر به دست می آید:

ضریب رقت  $2.3 \times 50 \times$  جذب در ۲۶۰ نانومتر = غلظت DNA در محلول برحسب OD260 µg/ml برابر معادل با ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر DNA دو رشته ای می باشد.

کیفیت DNA نیز با استفاده از این روش قابل بررسی است یعنی میزان ناخالصی ناشی از پروتئین را هم می توان با استفاده از جذب نوری آن در طول موج ۲۸۰ نانومتر اندازه گیری کرد و سپس با استفاده از فرمول زیر میزان خلوص DNA را بدست آورد:

نسبت جذبی = جذب در ۲۸۰ نانومتر / جذب در ۲۶۰ نانومتر، هر چه این نسبت به ۱/۹-۱/۷ نزدیکتر باشد شدت ناخالصی DNA با پروتئینها و RNA کمتر است نسبت بیشتر از ۱/۹ بیانگر وجود ناخالصی با RNA م و نسبت، کمتر از ۱/۷ بیانگر وجود ناخالصی با پروتئینها می باشد.

### پلی مورفیسم پروموتور ژن IL-18

SNP در موقعیت ۱۳۷- در ناحیه پروموتور ژن IL-18 انسانی قرار گرفته در کروموزوم q22.2-q22.3۱۱ بوسیله روش Sequence-specific PCR با بکارگیری DNA ژنومی جدا شده از خون محیطی انجام گرفت (۱۷). برای اختصاصی موقعیت ۱۳۷- پرایمر reverse (-۱۳۷) 5'-R; 3'AGGAGGGCAAATGCACTGG- و دو پرایمر Forward با ترادف اختصاصی: (-۱۳۷) 5'-FG; 3'CCCAACTTTTACGGAAGAAAAG-FC; (-۱۳۷) 3'CCCAACTTTTACGGAAGAAAAC- برای فزون محصول BP-۲۶۱ بکار برده شد. یک پرایمر Forward کنترل- 3'CTRL; CCAATAGGACTGATTATTCCGCA-۱۳۷ برای

جدول ۲: فراوانی ژنوتیپ اینترلوکین ۱۸- در جایگاه ۱۳۷C/G- در بیماران و کنترل

ژنوتیپ	دیابت نوع ۱ (%)	کنترل (%)	P	X <sup>2</sup>
GG-۱۳۷	۳۱ (۵۹/۵)	۱۹ (۴۱/۲)	٪۳۸	٪۵۶
GC-۱۳۷	۱۴ (۲۶/۹)	۱۷ (۳۶/۹)	٪۴۱۲	٪۴۹
CC-۱۳۷	۷ (۱۳/۶)	۱۰ (۲۱/۰۹)	٪۳۶۱	٪۴۲

## بحث

در این مطالعه ما نشان دادیم که پلی مورفیسیم ژن IL-18 با مستعد شدن به دیابت نوع ۱ همراه می‌گردد. IL-18 یک سیتوکائین پیش التهابی قوی است. نشان داده شده که سطح IL-18 در مرحله بدون تظاهرات بالینی دیابت نوع ۱ در خویشاوندان بیماران که اتو آنتی‌بادی مثبت علیه سلولهای جزیره دارند افزایش می‌یابد و این نشان می‌دهد که IL-18 می‌تواند در بیماری‌زایی دیابت نوع ۱ نقش داشته باشد (۱۸). مطالعات کمی در مورد نقش پلی مورفیسیم- پروموتور IL-18 در استعداد به دیابت نوع ۱ در انسان وجود دارد بنابراین ما تصمیم گرفتیم نقش آنرا در کاندیدا بودن برای دیابت نوع ۱ مطالعه کنیم چون که همراهی ژنی مابین IL-18 و انسولیت منهدم کننده در مدل حیوانی دیابت اتو ایمن گزارش شده است (۱۹). بعلاوه نشان داده شده است که IL-18 در همبازی با IL-12 نسخه برداری RNA پیامبر IFN-8 را افزایش می‌دهد. در این مطالعه داده‌های ما نشان داد که ژنوتیپ GG در جایگاه ۱۳۷- ناحیه پروموتور ژن IL-18 در دیابت نوع ۱ بطور قابل توجهی بیشتر از گروه کنترل می‌باشد. دو پلی مورفیسیم تک نوکلئوتیدی در جایگاه ۶۰۷- و ۱۳۷- می‌توانند پروموتور ژن IL-18 را تحت تأثیر قرار دهند چونکه پلی مورفیسیم تک نوکلئوتیدی در جایگاه ۶۰۷- ممکن است محل اتصال یک عنصر حساس به c.AMP را مختل کند و پلی مورفیسیم تک نوکلئوتیدی در جایگاه ۱۳۷ محل اتصال فاکتور هسته‌ای H4IF-I را تغییر دهد (۲۰). بدین ترتیب امکان دارد فعالیت بالاتر پروموتور ژن IL-18 بیان IL-18 را افزایش داده و منجر به زیاد شدن سلولهای T تولیدکننده IFN- $\gamma$  گردد (۲۱).

بیماری اتو ایمن همراه شده با پلی مورفیسیم تک نوکلئوتیدی اساساً در گروه‌های نژادی مختلف تغییر می‌کند و اطلاع از این

اختلافات در فهم بهتر مکانیسم‌های پاتولوژیک پلی مورفیسیم مهم می‌باشد (۲۲). بطور کلی اروپایی‌های قفقازی به عنوان ذخیره ژنی هموژن در نظر گرفته شده‌اند ولی تغییرات خیلی زیاد در ژن اروپایی‌ها و افراد نسبتاً نزدیک به آنها نشان داده شده و تغییرات کثرت آلل در آنها وجود دارد (۲۳). پلی مورفیسیم در ناحیه پروموتور ژن IL-18 ممکن است فعالیت نسخه‌برداری و بدین ترتیب سطح بیان سیتوکائین را تغییر و تحت تأثیر قرار دهد (۱۷). سطوح پائین قابل توجه IL-18 در بیماران دیابتی ژنوتیپ-۱۳۷ CC در مقایسه با ژنوتیپ‌های CG+GG گزارش شده است (۲۴). نتایج این تحقیق که نشان دهنده افزایش کثرت آلل G و افزایش کثرت ژنوتیپ GG در دیابت نوع ۱ می‌باشد با گزارش ذکر شده در بالا موافقت دارد. همراهی مابین پلی مورفیسیم پروموتور ژن IL-18 و دیابت نوع ۱ در بیماران ژاپنی نیز گزارش شده است و آنها نشان دادند که هاپلوتیپ ۱ (-/C-137G6۰۷) در ناحیه پروموتور ژن IL-18 اثر مستعدکنندگی در توسعه دیابت نوع ۱ در جمعیت ژاپنی دارد (۲۵). اخیراً Szeszkó و همکاران (۲۶) همراهی قابل توجهی را در جمعیت انگلستان بین پلی مورفیسیم IL-18 و دیابت نوع ۱ مشاهده نکردند.

تناقض در نتایج مطالعات مختلف را می‌توان به دو روش توضیح داد. یکی ممکن است به سبب تأثیر سایر عوامل ژنی و محیطی باشد که به احتمال در بین دو نژادها می‌تواند متفاوت باشد و توضیح دیگر می‌تواند این باشد که لوکوس ژن IL-18 در کروموزوم ۱۱<sup>q22.2-q22.3</sup> علیرغم همراهی پلی مورفیسیم‌های IL-18 با دیابت نوع ۱ در مطالعات بالا (۱۵ و ۲۵) ممکن است ناحیه اصلی مستعدکننده دیابت نوع ۱ نباشد. بنابراین تعجب آور نیست که چرا در برخی مطالعات پلی مورفیسیم‌های IL-18 در دیابت نوع ۱ سهمی ندارد.

بطور خلاصه چنین استنتاج می‌شود که ژنوتیپ GG در جایگاه ۱۳۷- پروموتور ژن IL-18 ممکن است نقشی در مستعد شدن جمعیت آذربایجان شرقی به دیابت نوع ۱ داشته باشد ولی نقش واقعی پلی مورفیسیم‌های پروموتور ژن IL-18 در ایجاد دیابت نوع ۱ باید با انتخاب حجم نمونه بالا بیشتر مورد تحقیق قرار گیرد.

## References

- Patterson CC, Dahlquist G, Soltesz A. Is childhood-Onset type1 diabetes a wealth- related disease? An ecological analysis of European incidence rates. *Diabetologia* 2001; Supp3: 44.
- Lonnrot M, Korpela K, Knip M, Ilonen J, Simell O. Enterovirus infection as a risk factor for beta- cell autoimmunity in a prospectively observed birth cohort: The Finnish Diabetes prediction and prevention study. *Diabetes* 2000; 6: 1314-1318.
- Kallmann BA, Lampeter EF, Hanifi- Moghaddam P, Hawa M. Cytokine secretion patterns in twins discordant for type 1 diabetes. *Diabetologia* 1999; 42: 1080-1085.
- Cordell HJ, Todd IA. Multi factorial inheritance in type 1 diabetes. *Trends Genet* 1995; 2: 499-503.
- Wolf E, Spencer KM, Cudworth AG. The genetic susceptibility to Type1 Cinsalin dependents diabetes: Analysis of the HLA-DR association. *Diabetologia* 1984; 24: 224-230.
- Told JA, Bell JL, McDevitt HD. HLA-DQB gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent mellitus. *Nature* 198; 329: 599-604.
- Nicoletti F, Congent I, DiMarco R, Special AM, Morinigo R. Serum levels of intern-gamma-inducing cytokine interleakin-18 are increased in individual at high risk of developing type1 diabetes. *Diabetologia* 2001; 44: 309-311.

8. MCInnes IB, Gracie IA, Leung BP. Interleukins 18: a pleiotropic participant in chronic inflammation. *Immunol Today* 2000; **21**: 312-315.
9. Nakahira M, Ahn HJ, Park WR, Gao P, Tomura M, Park CS. Synergy of IL-12 and IL-18 for IFN- $\gamma$  gene expression: IL-12-induced STAT3 contributes to IFN- $\gamma$  promoter activation by up-regulating the binding activity of IL-18-induced activator protein 1. *J Immune* 2002; **168**: 1146-1153.
10. Rothe H, Ito Y, Kolb H. Disease resistant, NOD-related strains reveal checkpoints of immunoregulation in pancreas. *J Mal Med* 2001; **79**: 190-197.
11. Frigerio S, Hollander GA, Zumsteg U. Functional IL-18 is produced by primary pancreatic mouse islets and NIT-1 beta cells and participates in the progression towards destructive insulinitis. *Horm Res* 2002; **57**: 94-104.
12. Rothe M, Hausmann A, Casteels K, Okamura H, Kurimoto M, Burkart V. IL-18 inhibits diabetes development in nonobese diabetic mice by counter regulation of Th1-dependent destructive insulins. *J Immunol* 1999; **163**: 1230-1236.
13. Giedraitis V, Huang WX, Hillert J. Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *J Neuroimmunol* 2001; **112**(1-2): 146-152.
14. Liu W, Tang Q, Jiang H, Ding X. promoter polymorphism of interleukin-18 in angiographically proven coronary artery disease. *Angiology* 2009; **60**(2): 180-185.
15. Kretowski A, Mironczuk K, Karpinska A, Bojaryn U. Interleukin-18 promoter polymorphisms in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; **51**(11): 3347-3349.
16. Bossu P, Ciarrella A, Moro ML, Bellincampi L. Interleukin 18 gene polymorphisms predict risk and outcome of Alzheimer's disease.
17. Giedraitis V, He B, Hung WX, Hillert J. Cloning and mutation analysis of human IL-18 promoter: possible role polymorphisms in expression regulation. *J Neuroimmunol* 2001; **112**: 146-52.
18. Nicoletti F, Marco R, Magano K, Patti F, Reggio E. Increased serum levels of interleukin-18 in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2001; **57**: 342-344.
19. Concannon P, KJ-Hinds DA, Wapelhorst B, Morrison VA, Stirling B, Mitra M. A second-generation screen of the human genome for susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus Natgenet 1998; **19**: 292-296.
20. Hernessniemi JA, Karhunen PJ, Rontu R, Ilveskoski E. Interleukin-18 promoter polymorphism associates with the occurrence of sudden cardiac death among Caucasian males: The Helsinki sudden death study. *Atherosclerosis* 2008; **196**(2): 643-649.
21. Marshall JD, Aste-Amazaga M, Olsen H, Trinchieri G. Regulation of human IL-18 mRNA expression. *Clin Immunol* 1999; **6**: 15-21.
22. Mori M, Yamada R, Kobayashi K, Kawaida R, Yamamoto K. Ethnic difference in allele frequency of autoimmune disease-associated SNPs. *J Hum Genet* 2005; **50**: 264-266.
23. Sokal RR, Harding RM, Oden NL. Spatial patterns of human gene frequencies in Europe. *Am J physanthropol* 1989; **80**: 267-294.
24. Arimitsu J, Hirano T, Higa S, Kawai M. IL-18 gene polymorphisms effect IL-18 production capability by monocytes, *Biochem, Biophys. Res Commun* 2006; **324**(4): 1413-1416.
25. Ide A, Kawasaki E, Abiru N, Sun F, Kobayashi M, Fukushima T, Takahashi R, Kuwahara H, Kita A. Association between IL-18 gene promoter polymorphism and CTLA-4 gene 49 A/G polymorphism in Japanese patients with type 1 diabetes. *J Autoimmunity* 2004; **22**: 73-78.
26. Szeszko Js, Howson, MM, Cooper JD, Walker NM. Analysis of polymorphisms of interleukin-18 Gene in Type 1 Diabetes and Hardy-Weinberg Equilibrium Testing. *Diabetes* 2006; **55**: 559-562.