مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۶، شماره۴، مهر و آبان ۱۳۹۰(شماره پی در پی ۶۴)

پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ و میزان سطح سرمی‌آن در بیماران مبتلا به بیماری پره اکلامپسی و مقایسه آن با افراد نرمال

محمد سلیمانی پور[۱*]، سیروس نعیمی[۲]، نصراله عرفانی[۳]

[۱]دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد استهبان، دانشکده پرستاری، گروه مامایی و پرستاری،[۲]دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد کازرون، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، [۳]دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سرطان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۳/۸

چکیده

زمینه و هدف: بیماری پره اکلامپسی یکی از عوامل مهم در مرگ و میر مادر و جنین محسوب می‌شود و به نظر می‌رسد که تغییر در پارامترهای ایمونولوژیک از قبیل اتو آنتی‌بادی و حضور سایتوکاین‌های مختلف در ایجاد این بیماری دخالت دارند. هدف این مطالعه بررسی سطح سرمی و پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ مذکور و ارتباط آنها با بیماری پره‌اکلامپسی بود.

روش بررسی: در این مطالعه مورد- شاهدی که طی سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۸۸ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد استهبان انجام شد، تعداد ۵۰ زن مبتلا به بیماری پره اکلامپسی به عنوان مورد و ۱۰۳ زن باردار سالم به عنوان شاهد انتخاب شدند. پس از نمونه‌گیری و استخراج DNA، پلی مورفیسم موقعیت‌های 607C/A- و137G/C- ژن اینترلوکین ۱۸ با روش Allele Specific PCR و میزان سطح سرمی آن با روش الیزا بررسی شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری مجذور کای، من ویتنی و تعادل هاردی- واینبرگ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد، فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌های حاصل از پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ و هم‌چنین سطح سرمی آن در افراد گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌داری ندارند($p>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ و سطح سرمی آن در ایجاد بیماری پره اکلامپسی نقشی ندارد.

واژه های کلیدی : پلی مورفیسم، پره اکلامپسی، ژنوتیپ، اینترلوکین ۱۸

[*]**نویسنده مسئول**: استهبان، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده پرستاری، گروه مامائی و پرستاری

Email: M_Solimanipour@lauestahban.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

اختلالات ناشی از فشارخون بالا از عوارض شایع در دوران بارداری می‌باشند و یکی از سه علل عمده مرگ مادران را همراه با خونریزی و عفونت تشکیل می‌دهند. تخمین زده می‌شود که در کل جهان سالانه ۵۰۰۰۰ زن بر اثر ابتلا به پره اکلامپسی[۱] فوت می‌کنند(۱). این قتل عام به علت مراقبت و درمان عالی در دوران بارداری در کشورهای توسعه یافته مشاهده نمی‌شود(۲). فشارخون بالای ناشی از بارداری در سه طبقه تقسیم می‌شود؛ فشارخون بالا به تنهایی، پره اکلامپسی و اکلامپسی. پره اکلامپسی به معنای بروز فشارخون بالا همراه با پروتئین در ادرار، ادم ژنرالیزه و آشکار یا هر دو می‌باشد. پره‌اکلامپسی به ندرت قبل از هفتهٔ بیستم بارداری رخ می‌دهد و به طور معمول این حالت در موارد مول هیداتیدیفورم یا دژنرسانس قابل توجه مولی دیده می‌شود. شیوع پره اکلامپسی در جمعیت عمومی ۶ درصد است، ولی این موضوع برحسب محل جغرافیایی فرق می‌کند. فاکتورهای مساعد کننده متعددی در بروز این بیماری دخالت دارند از جمله می‌توان به مواردی مانند؛ نوعی پارینی، نژاد سیاه، سن زیر ۲۰ یا بالای ۳۵ سال وضعیت اجتماعی اقتصادی پایین، حاملگی چند قلوئی، دیابت، فشارخون بالای مزمن و بیماری زمینه‌ای کلیوی اشاره نمود(۴و۳).

فرضیه‌ای که اخیراً در مورد پاتوژنز پره اکلامپسی ارائه شده است، این است که یک اختلال ایمونولوژیک موجب کاشته شدن غیرطبیعی جفت می‌شود و در نتیجه پرفوزیون جفت کاهش می‌یابد. پرفوزیون غیرطبیعی جفت باعث آزادشدن یک سری مواد در خون می‌گردد و این مواد سلول‌های اندوتلیال را فعال کرده و یا به آنها آسیب می‌رسانند(۷ـ۵).

اخیراً مشاهده شده است که پرزهای خارجی تروفوبلاست افراد مبتلا به بیماری پره اکلامپسی HLAG[۲] را بیان نمی‌کنند. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که بیان HLAE و HLAG می‌تواند فعالیت کشندگی سلول‌های کشنده طبیعی[۳] را کاهش دهد، که این کار را از طریق گیرنده CD49/NKG2 انجام می‌دهد که یک گیرنده ممانعتی می‌باشد(۸).

تعدادی از شواهد و یافته‌های امروزی پیشنهاد می‌کند که پره اکلامپسی همراه با تغییر در بالانس بین سلول‌های T کمکی نوع یک و دو[۴] و سوق یافتن سیستم ایمنی به سمت تولید سلول‌های T کمکی نوع یک می‌باشد. از جمله این شواهد این است که در افراد مبتلا به پره اکلامپسی میزان بیان mRNA اینترلوکین ۱۲ و اینترلوکین ۲، افزایش می‌یابد که این سایتوکاین‌ها در سوق دادن سلول‌های T سیستم ایمنی به سمت سلول‌های T کمکی نوع یک دخالت دارند(۹).

اینترلوکین ۱۸ از جمله سایتوکاین‌هایی می‌باشد که با اثر سینرژیستی اینترلوکین ۱۲باعث

1-Preeclampsia
2-Human Leukocyte Antigen G
3-Natural Killer Cells(NK-Cells)
4-Th1 & Th2

Archive of SID

www.SID.ir

القاء تولید اینترفرون گاما شده و در نتیجه پاسخ ایمنی را به سمت سلول‌های T کمکی نوع یک سوق می‌دهد و یکی از اعضای جدید خانواده اینترلوکین یک است. اینترلوکین ۱۸ در فرم بیولوژیکی به صورت یک پیش ساز غیر فعال ساخته شده و بعد از این که به وسیله کاسپاز ۱ یا دیگر کاسپازها شکسته شد به فرم فعال تبدیل می‌شود(۱۱و۱۰) .

اینترلوکین ۱۸ می‌تواند بر روی سلول‌های T کمکی نوع یک، سلول‌های کشنده طبیعی، سلول‌های B و سلول‌های دندریتیک اثر کرده و این سلول‌ها را در حضور اینترلوکین ۱۲ وادار به تولید اینترفرون گاما نماید(۱۱). ژن مولکول اینترلوکین ۱۸ بر روی کروموزوم شماره ۱۱ قرار دارد و دارای شش اگزون می‌باشد. چندین پلی مورفیسم برای ژن مذکور شناخته شده است که در موقعیت‌های مختلف قرار دارند(۱۲) .

هدف از این مطالعه بررسی پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ در موقعیت‌هایC-607A و G-137C در افراد مبتلا به بیماری پره اکلامپسی و مقایسه آن با زنان حامله سالم و هم‌چنین اندازه‌گیری سطح سرمی اینترلوکین ۱۸ در بیماران مبتلا به پره اکلامپسی و مقایسه آن با افراد سالم بود.

روش بررسی

در این مطالعه مورد ــ شاهدی که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد استهبان انجام شد، انتخاب بیماران از میان افراد مراجعه کننده به مراکز زنان و زایمان شیراز در طی سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۸۹ به صورت تصادفی صورت گرفت. بیماری افراد مذکور با توجه به علایم کلینیکی بیماری و اطلاعات حاصل از آزمایش‌ها، به وسیله پزشک متخصص زنان و زایمان مورد تأیید قرار گرفت. قبل از خون‌گیری، افراد مورد مطالعه به طور کامل توجیه شده و از آنها رضایت‌نامه کتبی مبنی بر اجازه استفاده از نمونه‌های خون ایشان در جهت کارهای تحقیقاتی گرفته شد.

با توجه به شیوع بیماری و نظر متخصص آمار بررسی بر روی ۵۰ بیمار مبتلا پره اکلامپسی به عنوان گروه مورد صورت گرفت. اطلاعات مربوط به میزان فشارخون، وجود پروتئین در ادرار وسن بیماران گرفته شد. تعداد ۱۰۳ نفر از زنان حامله سالم، به طور تصادفی از میان مراجعه‌کنندگان به کلینیک زنان درمانگاه شهید مطهری شیراز که در سه ماهه سوم بارداری خود قرار داشتند و هیچ‌گونه علایم بالینی ناشی از وجود بیماری پره‌اکلامپسی را نشان ندادند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند.

از افراد مورد مطالعه ۷ سی‌سی خون سیاه‌رگی گرفته شد و به لوله‌های آزمایش حاوی EDTA منتقل شد. DNA ژنومی از لکوسیت‌های خون محیطی با روش پروتئیناز K استخراج شد. جهت تعیین ژنوتیپ افراد مورد مطالعه در موقعیت‌های 607C/A- و 137G/C- از روش Allele Specific PCR (ASP-PCR) استفاده شد. این نوع واکنش زمانی استفاده می‌شود که تفاوت بین پلی‌مورفیسم ژن‌های مختلف تنها در نوکلئوتید

Archive of SID

www.SID.ir

آخری باشد. آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با پرایمرهای زیر انجام شد؛

الف ـ پرایمر برای بررسی پلی مورفیسم 607C/A ـ .

1-Common Reverse 5'-TAA CCT CAT ggA CTTCC-3'
2-Forward I 5'-gTT gcA gAAagT gTAAAAATT ATTAc-3'
3-Forward II 5'-gTT gcA gAAagT gTAAAAATT ATTAA-3'
4-Controle(internal)5'-CTT Tgc TAT CATTCC Agg AA-3'

ب ـ پرایمر جهت بررسی پلی مورفیسم 138G/C-

1-Common reverse 5' –Agg Agg gcA AAATgc AcT gg-3'
2-Forward I 5'- ccc cAA cTT TTA Cgg AAg AAAAg-3'
3-forwardII5'- ccc CAA Ctt TTA Cgg AAg AAA Ac-3'
4-(internal controle)5'-ccA ATA ggA CTg ATT Att ccg Ca-3'

برای هر نمونه دو لوله ۰/۵ میلی‌لیتری مخصوص واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در نظر گرفته شد و در لوله مزبور به مقدار ۲/۵ میکرولیتر بافر مخصوص، ۰/۷۵ میکرولیتر از مخلوط ۱۰ میلی مولار dNTP, ۰/۵۵ میکرولیتر کلرید منیزیم با غلظت ۲۵ میلی‌مولار، یک میکرولیتر از پرایمر FI در لوله شماره ۱ و یک میکرولیتر از پرایمر FII در لوله شماره ۲، مقدار ۰/۳٤ میکرولیتر از پرایمر کنترل در هر لوله و مقدار یک میکرولیتر از پرایمر معکوس در هر لوله ریخته شد، که همگی دارای غلظت ۲۰ پیکومول بودند. سپس با آب دیونیزه شده به مقدار ۱۵/۸٦ میکرولیتر مقدار محلول موجود در هر لوله به ۲۲ میکرولیتر رسانده شد. مقدار یک میکرولیتر از DNA الگو با غلظت ۰/۳ میکرو گرم بر میلی لیتر به آن اضافه شد و در نهایت به هر کدام از لوله‌ها مقدار ۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلی مراز با غلظت ۱ واحد بر میکرولیتر اضافه شد. مخلوط حاصل ابتدا در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شد و سپس برای ۳۲ دور ، تحت فرآیند واکنش قرار گرفت. این فرآیند شامل ۲۰ ثانیه جداسازی دو رشته الگو در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ ثانیه جهت اتصال پرایمرها به الگو در دمای ۶۴ درجه و ۸۰ ثانیه جهت تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود و نهایتاً به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به عنوان تکثیر نهایی قرار گرفت.

مقادیر استفاده شده جهت موقعیت137 G/C- نیز مشابه موقعیت 607C/A- می‌باشد، با این تفاوت که در این جا از پرایمرهای اختصاصی خود موقعیت که قبلاً به آن اشاره شده است استفاده می‌گردد. مخلوط حاصل ابتدا در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شد و سپس برای ۳۰ دور، تحت فرآیند واکنش قرار گرفت. این فرآیند شامل ۲۰ ثانیه جداسازی دو رشته الگودر دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۸۰ ثانیه جهت اتصال پرایمرها به الگو در دمای ۶۴ درجه و ۱۰۰ ثانیه جهت تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود و نهایتاً به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به عنوان تکثیر نهائی قرار گرفت.

محصول نهایی سپس بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد و با رنگ‌آمیزی ژل قرمز الکتروفورز شده و مشاهده گردید. براین اساس سه ژنوتیپ برای این پلی‌مورفیسم‌ها قابل مشاهده می‌باشد. نتایج حاصل از آزمایش ASP-PCR بر روی بیماران و گروه کنترل با شرایط ذکر شده مورد آزمایش منجر به تولید محصولی به طول ۱۹٦ جفت باز به عنوان قطعه مورد آزمایش و قطعه‌ای به طول ۳۰۱ به عنوان کنترل

Archive of SID

www.SID.ir

داخلی در مورد پروموتر 607C/A- و هم‌چنین یک قطعه به طور ۲٦۱ جفت باز به عنوان قطعه مورد آزمایش و قطعه‌ای به طول ٤٤٦ جفت باز به عنوان کنترل داخلی در مورد پروموتر 137G/C- گردید. در الکتروفورز در صورتی که فرد دارای ژنوتیپ هموزیگوت باشد، فقط قطعه C و یا قطعه A در مورد پروموتر ٦۰۷- و یا فقط قطعه G و یا قطعهC در مورد پروموتر ۱۳۷- مشاهده می‌شود. اگر فرد هتروزیگوت باشد، هر دو قطعه در ژل الکتروفورز ظاهر شود.

برای اندازه‌گیری سطح سرمی اینترلوکین ۱۸ از کیت اندازه‌گیری این سایتو کاین که تولید شرکت Bender Med می‌باشد، استفاده شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار های SPSS[1] و آرلی کوئین[2] و آزمون‌های آماری مجذور کای[3]تست دقیق فیشر[4]، من ویتنی[5] و تعادل هاردی ـ واینبرگ[6] تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

میانگین سنی افراد گروه مورد و شاهد به ترتیب؛ ۷ ±۲۷/۷ و ۵±۲۵/۸ سال بود.

نتایج حاصل از آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز منجر به ایجاد قطعات مختلفی از ژنوم گردید (تصاویر ۱ و ۲).

از ۵۰ نفر گروه مورد در پروموتر ۶۰۷- تعداد ۱۷ نفر(۳۴ درصد) ژنوتیپ CC، ۶ نفر(۱۲ درصد) ژنوتیپ AA و ۲۷ نفر(۵۴ درصد) ژنوتیپ CA را نشان دادند. درصد این ژنوتیپ‌ها در۱۰۳ نفر افراد گروه شاهد به ترتیب؛ ۳۲ نفر(۳۱ درصد)، ۱۷ نفر (۱۶/۵ درصد) و ۵۴ نفر(۵۲/۵ درصد) بودند. هم‌چنین در مورد پروموتر ۱۳۷ـ ، ۲۸ نفر(٥٦ درصد) ژنوتیپ GG، ٤ نفر (۸درصد) ژنوتیپ CC و ۱۸ نفر (۳٦ درصد) ژنوتیپ GC را داشتند که این نسبت در افراد شاهد به ترتیب ٥٦ نفر(٥٤/۳ درصد) ، ۸ نفر(۷/۷ درصد) و ۳۹ نفر(۳۸ درصد) بودند. این نتایج نشان می‌دهد، تفاوت معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم پروموترهای اینترلوکین ۱۸ در افراد گروه مورد و شاهد وجود ندارد($p>0/05$).

نتایج نشان داد که در افراد گروه مورد در پروموتر ۶۰۷- تعداد ۶۱ نفر(۶۱ درصد) دارای آلل C و تعداد ۳۹ نفر(۳۹ درصد) دارای آلل A می‌باشند که این نسبت در افراد گروه شاهد به ترتیب ۱۱۸ نفر (۵۷/۲۸ درصد) و ۸۸ نفر(۴۲/۷۲ درصد) می‌باشد. در مقایسه فراوانی آلل‌های C و A افراد گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد($p>0/05$). هم‌چنین در مورد پروموتر۱۳۷- مشاهده شد که در افراد گروه مورد تعداد ۷۴ نفر (۷۴ درصد) دارای آلل G و ۲۶ نفر(۲۶ درصد) آلل C را دارا بوده و در گروه شاهد تعداد ۱۵۱ نفر(۷۳/۳۱ درصد) دارای آللG و ۵۵ نفر(۲۶/۶۹درصد) دارای آلل C می‌باشند.

1-Statistical Package for Social Sciences
2- Arliquin
3-Chi-Square Test
4-Fisher's Exact Test
5-Mann-Whitney U Test
6-Hardy-Weinberg Equilibrium

Archive of SID

www.SID.ir

مقایسه فراوانی آلل‌های G و C در افراد گروه مورد و شاهد نیز تفاوت معنی‌داری را نشان نداد($p>۰/۰۵$).

میزان سطح سرمی اینترلوکین ۱۸ ، تعداد ۳۰ نفر از افراد گروه مورد و ۳۰ نفر از افراد گروه شاهد اندازه‌گیری شد. میانگین سرمی اینترلوکین ۱۸ در افراد گروه مورد ۳۵۳/۲ و در افراد گروه شاهد ٤۲۱/۳٦ واحد بین‌المللی در میلی لیتر بود. این نتایج نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین میانگین سطح سرمی افراد گروه مورد و شاهد وجود ندارد($p>۰/۰۵$).

ترکیب آلل‌های دو پلی مورفیسم با یکدیگر منجر به ایجاد چهار هاپلوتیپ می‌گردد .جدول ۱ فراوانی هاپلوتایپ‌های موجود در افراد دو گروه مورد و شاهد را نشان می‌دهد. این نتایج نشان دهنده عدم ارتباط معنی‌دار هاپلوتایپ‌ها و بیماری پره اکلامپسی بود ($p>۰/۰۵$).

نتایج همراهی فشار خون بالای ۱۴۰ میلی‌متر جیوه با پلی مورفیسم ژن اینترلوکین نشان دهنده عدم ارتباط فاکتور مذکور با پلی‌مورفیسم این ژن است($p>۰/۰۵$)(جدول ۲).

جدول ۱: مقایسه فراوانی هاپلوتایپ‌های اینترلوکین ۱۸در افراد گروه‌های مورد و شاهد

گروه هاپلوتایپ ۱۳۷-/٦۰۷-	بیمار(تعداد=۵۰) تعداد(درصد)	کنترل(تعداد=۱۰۳) تعداد(درصد)	سطح معنی‌داری
A/C	(۲۴) *+۱۲	(۲۲/۳)+۲۳	۰/۱
	(۷۶) *-۳۸	(۷۲/۷)-۸۰	
A/G	(۱٤)+۷	(۱۹/٤۱)+۲۰	۰/٤
	(۸٦)-٤۳	(۸۰/۵۹)-۸۳	
C/C	(۲)+۱	(٤/۳)+۵	۰/۳۹
	(۹۸)-٤۹	(۹۵/۲)-۹۸	
C/G	(٦۰)+۳۰	(۵۳/۳۹)+۵۵	۰/٤٤
	(٤۰)-۲۰	(٤٦/٦۱)-٤۸	

* + نشان دهنده وجود هاپلوتایپ مورد نظر

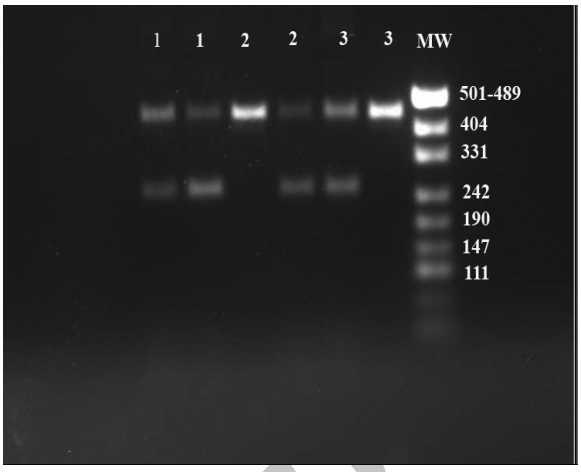
* - نشان دهنده عدم وجود هاپلوتایپ مورد نظر

جدول ۲: مقایسه ارتباط فشارخون ماکزیمم وپلی مورفیسم ژن اینتر لوکین ۱۸ در افراد گروه مورد

موقعیت	فشار خون ماکزیمم (میلی‌متر جیوه) ۱۳۰ -۱۴۰	فشار خون ماکزیمم (میلی‌متر جیوه) >۱۴۰	ژنوتیپ	جمع کل	سطح معنی‌داری
-۶۰۷	۱۳	۳	CC	۱۶	
	۳	۴	AA	۷	۰/۲۱
	۱۹	۸	CA	۲۷	
-۱۳۷	۲۳	۵	GG	۲۸	
	۳	۲	CC	۵	۰/۱۵
	۱۱	۶	GC	۱۷	

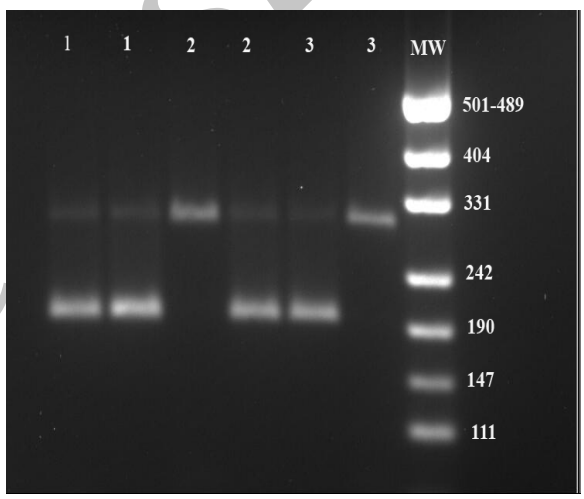
Archive of SID

www.SID.ir



تصویر ۱ : ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ در موقعیت ۱۳۷- در ژل آگارز ۱/۵درصد

۱ـ باند هتروزیگوت GC ۲ـ باند هموزیگوت CC ۳ـ باند هموزیگوت GG



تصویر۲: ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ در موقعیت ۶۰۷- در ژل آگارز ۱/۵درصد

۱ـ باند هتروزیگوت AC ۲ـ باند هموزیگوت CC ۳ـ باند هموزیگوت AA

بحث

شواهد متعددی پیشنهاد می‌کند که پره اکلامپسی ممکن است، منشاء ایمونولوژیکی داشته باشد. تصور می‌شود سایتوکاین‌ها می‌توانند به عنوان یک میانجی در مکانیسم‌هایی که منجر به ایجاد پره اکلامپسی می‌شود، عمل نمایند و بنابراین می‌توانند به عنوان یک مارکر مفید برای شناسایی پاسخ‌های ایمنی ناخواسته‌ای که در خلال حاملگی در این بیماران ایجاد می‌شود، تلقی گردند(۱۵ـ۱۳). هدف این مطالعه بررسی سطح سرمی‌اینتر لوکین ۱۸ و پلی مورفیسم ژن این سایتوکاین در موقعیت‌های ۱۳۷- و ۶۰۷- و ارتباط آنها با بیماری پره اکلامپسی بود.

نتایج این مطالعه نشان دهنده عدم ارتباط عوامل ذکر شده با بیماری مذکور می‌باشد. در تحقیقی که برای اندازه‌گیری سطح سرمی‌اینترلوکین ۱۸ انجام شد، ارتباطی بین سطح سرمی و بیماری مذکور مشاهده نشد، اگرچه سطح سرمی‌دارای تفاوت در بیماران و گروه کنترل بوده است(۱۶). در مطالعه دیگری مشاهده شد، اگر چه سطح سرمی اینترلوکین ۱۸ بیماران مبتلا به پره اکلامپسی نشان‌دهنده افزایش اینترلوکین ۱۲ بوده، ولی نتایج در مورد اینترلوکین ۱۸ مشابه نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر می‌باشد(۱۷). در تحقیق دیگری، محققین به بررسی پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ در موقعیت ۱۳۷- پرداخته و در این تحقیق نیز نتیجه مشابه با داده‌های به دست آمده در مطالعه حاضر بود(۱۵). مطالعه‌های دیگری که در رابطه با این سایتوکاین و بیماری مذکور انجام شد، نتایج متفاوتی را با نتیجه به دست آمده از مطالعه حاضر ارایه داده‌اند، برای مثال در مطالعه‌ای نشان داده شد که میزان این سایتوکاین با افزایش قابل ملاحظه‌ای در افراد بیمار نسبت به گروه کنترل همراه است(۱۸). در مطالعه دیگری، میزان این

Archive of SID

www.SID.ir

سایتوکاین در سرم خانم‌های باردار نسبت به افراد بیمار یک افزایش سطح را نشان می‌دهد(۱۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده این است که چندشکلی ژنوتیپی اینترلوکین ۱۸ در بیماران نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد، که می‌توان به این دلایل به عنوان دلایل احتمالی عدم مشاهده این ارتباط اشاره نمود. آنچه در محیط بدن مشاهده می‌شود، حاصل نهایی تمام اثراتی است که یک ماده چند کاره مانند اینتر لوکین ۱۸ می‌تواند از خود به جای بگذارد. از طرف دیگر، وجود پلی‌مورفیسم در دیگر نقاط پروموتر ژن اینتر لوکین ۱۸ می‌تواند بر روی عملکرد این سایتو کاین تأثیر گذاشته و بهتر است در مطالعات بعدی مورد توجه قرار گیرد. وجود و عدم وجود گیرنده اینترلوکین ۱۸ نیز می‌تواند در این امر دخیل بوده و بهتر است که به عنوان یک عامل مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر این، همان طوری که اشاره شد، پره اکلامپسی یک بیماری چند عاملی بوده و به نظر می‌رسد که نبایستی از ژن‌های غیر سایتوکاینی و نقش آنها غافل بود.

از طرفی تفاوت‌های به دست آمده در مطالعه‌های مختلف می‌تواند به دلایل متفاوتی باشد، از جمله این که چون سایتوکاین‌ها پروتئین‌هایی هستند که در مراحل مختلف ساخته شده و نیمه عمر کوتاهی دارند(۲۰)، بنابراین ممکن است که تهیه سرم افراد در زمان‌های مختلف بارداری باشد و این ممکن است منجر به تغییراتی در سطح سرمی این سایتوکاین گردد، بنابراین بهتر است که در مطالعه‌های آینده افرادی که سابقه این بیماری را داشته، به طور دایم در دوران بارداری تحت نظر بوده و سطح سرمی این سایتوکاین را در سه دوره سه ماهه بررسی نمود. از طرفی اینترلوکین ۱۸ به عنوان یک سایتوکاین دو طرفه عمل کرده و باعث سوق یافتن سیستم ایمنی به سمت سلول‌های T کمکی نوع یک و یا نوع دو می‌شود، که این امر خود وابسته به حضور دیگر سایتوکاین‌ها می‌باشد. بنابراین ضروری به نظر می‌رسد که در مطالعه‌های آینده هم‌زمان به بررسی دیگر سایتوکاین‌ها نیز پرداخته شود .

نتیجه‌گیری

در مجموع این مطالعه نشان داد که بین پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ وسطح سرمی آن و بیماری پره اکلامپسی ارتباطی برقرار نمی‌باشد و با یستی به دیگر عوامل در ایجاد این بیماری توجه نمود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه منتج از طرح پژوهشی است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد استهبان انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES:

1.Duley L. Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America and the Caribbean. Br J Obstet Gynaecol 1992; 99(7): 547-53.
2.Walker JJ. Pre-eclampsia. Lancet 2000; 356(9237): 1260-5.
3.Hall G, Noble W, Lindow S, Masson E. Long-term sexual co-habitation offers no protection from hypertensive disease of pregnancy. Hum Reprod 2001; 16(2): 349-52.
4.Loke YW, King A. Immunological aspects of human implantation. J Reprod Fertil Suppl 2000; 55: 83-90.
5.Taylor RN, De Groot CJ, Cho YK, Lim KH. Circulating factors as markers and mediators of endothelial cell dysfunction in preeclampsia. Semin Reprod Endocrinol 1998; 16(1): 17-31.
6.Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. Br J Obstet Gynaecol 1994; 101(8): 669-74.
7.Koelman CA, Coumans AB, Nijman HW, Doxiadis, II, Dekker GA, Claas FH. Correlation between oral sex and a low incidence of preeclampsia: a role for soluble HLA in seminal fluid. J Reprod Immunol 2000; 46(2):155-66.
8.Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome?. J Clin Invest 1997; 99(9): 2152-64.
9.Roland L, Gagne A, Belanger MC, Boutet M, Julien P, Bilodeau JF. Plasma interleukin-18 (IL-18) levels are correlated with antioxidant vitamin coenzyme Q(10) in preeclampsia. Acta Obstet Gynecol Scand 2010; 89(3): 360-6.
10.Bohn E, Sing A, Zumbihl R, Bielfeldt C, Okamura H, Kurimoto M, et al. IL-18 (IFN-gamma-inducing factor) regulates early cytokine production in, and promotes resolution of, bacterial infection in mice. J Immunol 1998;160(1): 299-307.
11.Okamura H, Tsutsui H, Kashiwamura S, Yoshimoto T, Nakanishi K. Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and acquired immunity. Adv Immunol 1998; 70: 281-312.
12.Sanchez E, Palomino-Morales RJ, Ortego-Centeno N, Jimenez-Alonso J, Gonzalez-Gay MA, Lopez-Nevot MA, et al. Identification of a new putative functional IL18 gene variant through an association study in systemic lupus erythematosus. Hum Molec Genet 2008;18: 3739-48.
13.Xu D, Chan WL, Leung BP, Hunter D, Schulz K, Carter RW, et al. Selective expression and functions of interleukin 18 receptor on T helper (Th) type 1 but not Th2 cells. J Exp Med 1998; 188(8): 14.
14.Cerretti DP, Kozlosky CJ, Mosley B, Nelson N, Van Ness K, Greenstreet TA, et al. Molecular cloning of the interleukin-1 beta converting enzyme. Science 1992; 256(5053): 97-100.
15.Franchim CS, Sass N, Mattar R, Pendeloski KP, Lin LH, Torloni MR, et al. Inflammatory Mediators Gene Polymorphisms in Preeclampsia. Hypertens Pregnancy 2011; 30(3):338-46.
16.Adams KM, Mandel LS, Guthrie KA, Atkinson MW. Interleukin-18 in the plasma of women with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2003;188(5):1234.
17.Bachmayer N, Rafik Hamad R, Liszka L, Bremme K, Sverremark-Ekstrom E. Aberrant uterine natural killer (NK)-cell expression and altered placental and serum levels of the NK-cell promoting cytokine interleukin-12 in pre-eclampsia. Am J Reprod Immunol 2006; 56(5-6): 292-301.
18.Seol HJ, Lee ES, Jung SE, Jeong NH, Lim JE, Park SH, et al. Serum levels of YKL-40 and interleukin-18 and their relationship to disease severity in patients with preeclampsia. J Reprod Immunol 2009; 79(2):183-7.
19.Szarka A, Rigo J, Lazar L, Beko G, Molvarec A. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. BMC Immunol 2010;11:59.
20. Okamura HH, Tsutsui S, Kashiwamura T, Yoshimoto KN. Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and acquired immunity. Adv Immunol 1998; 70:281-312

Archive of SID

www.SID.ir

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Investigation of Interleukin -18 Gene Polymorphisms and Serum Level in Patients with Preeclampsia

Solimanipour M[1*], Naeimi S[2], Erfani N[3]

[1]Department of Midwife and Nursing, Faculty of Nursing, Islamic Azad University– Estahban branch, Estahban, Iran, [2]Department of biology, School of Science, Islamic Azad University– Kazerun branch, Kazerun, Iran, [3]Shiraz Institute for Cancer Research, school of medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Received: 9 Apr2011 Accepted: 29 May 2011

Abstract

Background & Aim: Preeclampsia is one of the most important factors in fetal and maternal mortality that seems to change immunological parameters such as rate of auto antibodies and cytokines involved in the disease. This study aimed to evaluate the serum level and frequency of the two polymorphisms in the IL-18 gene promoter in patients with preeclampsia and normal pregnant women.

Methods: In the present case-control study conducted at Islamic Azad University of Estahban in 2009-2010, fifty preeclampsia patients and 103 healthy pregnant women were enrolled. Single nucleotide polymorphisms of the IL-18 gene at positions -607 (C/A) and -137 (G/C) were analyzed by the Allel specific PCR method. IL-18 serum level was determined, using ELISA method. Data were analyzed with chi-square tests, Mann-Whitney and the Hardy Weinberg equilibrium.

Results: No significant association was found between the serum level, allele, genotype, and haplotype distributions of the SNPs and preeclampsia ($p>0.05$).

Conclusion: Results of this study showed that IL-18 gene promoter polymorphisms at positions -607 and -137 and serum level did not confer susceptibility to preeclampsia in patients.

Keywords: IL-18, Polymorphism, Preeclampsia, Genotype

***Coresponding Author: Mohammad Solimanipour,** Department of Midwife and Nursing, Faculty of Nursing, Islamic Azad University – Estahban branch, Estahban, Iran
Email: M_Solimanipour@lauestahban.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir