

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

محمد سلیمانی پور^۱، سیروس نعیمی^۲، نصراله عرفانی^۳

^۱دانشگاه آزاد اسلامی واحد استهبان، دانشکده پرستاری، گروه مامایی و پرستاری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، ^۲دانشگاه 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 ایمنولوژیک 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 ۱۳۸۸-۱۳۸۹ 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، پلی‌مورفیسم موقعیت‌های -607C/A و -137G/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 پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ و همچنین سطح سرمی آن در افراد گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌داری ندارند ($p > 0.05$).

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

واژه‌های کلیدی: پلی‌مورفیسم، پره اکلامپسی، ژنوتیپ، اینترلوکین ۱۸

نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده پرستاری، گروه مامایی و پرستاری

Email: M_Solimanipour@lauestahban.ac.ir

ایمونولوژیک موجب کاشته شدن غیرطبیعی جفت می‌شود و در نتیجه پرفوزیون جفت کاهش می‌یابد. پرفوزیون غیرطبیعی جفت باعث آزاد شدن یک سری مواد در خون می‌گردد و این مواد سلول‌های اندوتلیال را فعال کرده و یا به آنها آسیب می‌رسانند (۵-۷).

اخیراً مشاهده شده است که پره‌های خارجی تروفوبلاست افراد مبتلا به بیماری پره اکلامپسی HLAG^(۲) را بیان نمی‌کنند. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که بیان HLA E 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 سینرژستی اینترلوکین ۱۲ باعث

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. پره اکلامپسی به ندرت قبل از هفته بیستم بارداری رخ می‌دهد و به طور معمول این حالت در موارد مول هیدراتید فورم یا دژنراسانس 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 (۳ و ۴).

فرضیه‌ای که اخیراً در مورد پاتوژنز پره اکلامپسی ارائه شده است، این است که یک اختلال

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

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 (۱۱ و ۱۰).

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 و اِدار 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 موقعیت‌های C-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 - ششاهدی 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 و سن 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 C-607A و G-137C- از روش Allele Specific PCR (ASP-PCR) استفاده شد. این نوع واکنش زمانی استفاده می‌شود که تفاوت بین پلی‌مورفیسم ژن‌های مختلف تنها در نوکلئوتید

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 موقعیت 137 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 نهایی 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 پلی‌مورفیسیم‌ها 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 ۱۹۶ جفت باز به عنوان قطعه مورد آزمایش و قطعه‌ای به طول ۳۰۱ به عنوان کنترل

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

الف - پرایمر برای بررسی پلی مورفیسیم 607C/A-.

1-Common Reverse 5'-TAA CCT CAT ggA CTTC-3'
2-Forward I 5'-gTT gcA gAAAgT gTAAAAATT ATTA-3'
3-Forward II 5'-gTT gcA gAAAgT gTAAAAATT ATTA-3'
4-Controle(internal)5'-CTT Tgc TAT CATTC Agg AA-3'

ب - پرایمر جهت بررسی پلی مورفیسیم 138G/C-

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

برای هر نمونه دو لوله ۰/۵ میلی‌لیتری

مخصوص واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران 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 ۰/۳۴ 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 ۱۵/۸۶ 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 مران 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

داخلی در مورد پروموتر 607C/A- و همچنین یک قطعه به طور ۲۶۱ جفت باز به عنوان قطعه مورد آزمایش و قطعه‌ای به طول ۴۴۶ 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 ۶۰۷- و یا فقط قطعه G و یا قطعه C 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 نرم‌افزارهای SPSS^(۱) و آرلی کوئین^(۲) و آزمون‌های آماری مجذور کای^(۳) تست دقیق فیشر^(۴)، من ویتنی^(۵) و تعادل هاردی - واینبرگ^(۶) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

میانگین سنی افراد گروه مورد و شاهد به ترتیب؛ $27/7 \pm 7$ و $25/8 \pm 5$ 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 در ۱۰۳ 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 ۱۳۷-، ۲۸ نفر (۵۶ درصد) ژنوتیپ GG، ۴ نفر (۸ درصد) ژنوتیپ CC و ۱۸ نفر (۳۶ درصد) ژنوتیپ GC را داشتند که این نسبت در افراد شاهد به ترتیب ۵۶ نفر (۵۴/۳ 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) می‌باشند. در مقایسه فراوانی آلل‌های C و A افراد گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). همچنین در مورد پروموتر ۱۳۷- 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 آلل G و ۵۵ نفر (۲۶/۶۹ درصد) 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

ترکیب آللهای دو پلی مورفیسم با یکدیگر منجر به ایجاد چهار هاپلوتایپ 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 ($p > 0.05$).

نتایج همراهی فشار خون بالای ۱۴۰ میلی‌متر جیوه با پلی مورفیسم ژن اینترلوکین نشان دهنده عدم ارتباط فاکتور مذکور با پلی‌مورفیسم این ژن است ($p > 0.05$) (جدول ۲).

مقایسه فراوانی آللهای G و C در افراد گروه مورد و شاهد نیز تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$).

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 ۴۲۱/۳۶ واحد بین‌المللی در میلی لیتر بود. این نتایج نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین میانگین سطح سرمی افراد گروه مورد و شاهد وجود ندارد ($p > 0.05$).

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

گروه	بیمار (تعداد=۵۰)	کنترل (تعداد=۱۰۳)	سطح معنی‌داری
هاپلوتایپ ۱۲۷-۶۰۷	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	
A/C	۱۲ (+۲۴)	۲۳ (+۲۲/۳)	۰/۱
A/G	۷ (+۱۴)	۸۰ (-۷۲/۷)	۰/۴
C/C	۱ (+۲)	۵ (+۴/۳)	۰/۳۹
C/G	۳۰ (+۶۰)	۹۸ (-۹۵/۲)	۰/۴۴
	۲۰ (-۴۰)	۴۸ (-۴۶/۶۱)	

* نشان دهنده وجود هاپلوتایپ مورد نظر

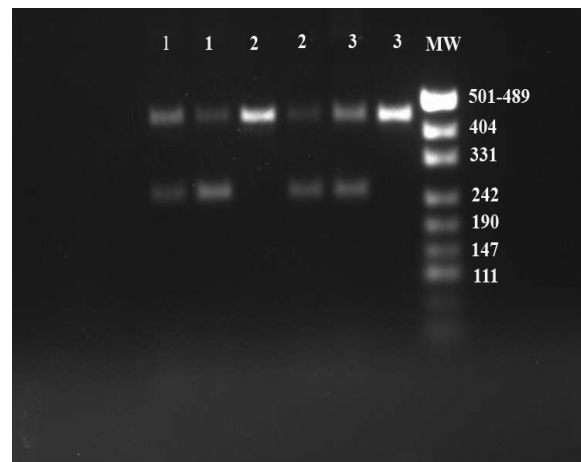
* نشان دهنده عدم وجود هاپلوتایپ مورد نظر

جدول ۲: مقایسه ارتباط فشارخون ماکزیمم و پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ در افراد گروه مورد

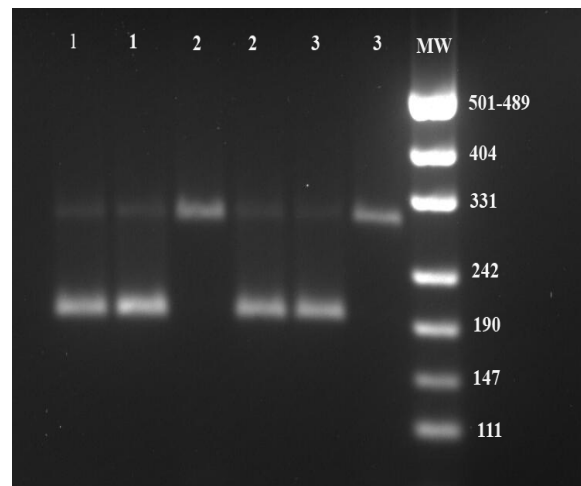
موقعیت	فشار خون ماکزیمم (میلی‌متر جیوه)	ژنوتیپ	جمع کل	سطح معنی‌داری
	۱۴۰-۱۳۰			
	>۱۴۰			
۶۰۷-	۱۳	CC	۱۶	۰/۲۱
	۳	AA	۷	
	۱۹	CA	۲۷	
۱۳۷-	۲۳	GG	۲۸	۰/۱۵
	۳	CC	۵	
	۱۱	GC	۱۷	

ناخواسته‌ای که در خلال حاملگی در این بیماران ایجاد می‌شود، تلقی گردند (۱۵-۱۳). هدف این مطالعه بررسی سطح سرمی اینترلوکین 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 سرمی اینترلوکین ۱۸ انجام شد، ارتباطی بین سطح سرمی و بیماری مذکور مشاهده نشد، اگرچه سطح سرمی دارای 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 نشان دهنده 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 ارائه 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



تصویر ۱: ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ در موقعیت ۱۳۷- در ژل آگارز ۱/۵ درصد
۱- باند هتروزیگوت GC ۲- باند هموزیگوت CC ۳- باند هموزیگوت GG



تصویر ۲: ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۱۸ در موقعیت ۶۰۷- در ژل آگارز ۱/۵ درصد
۱- باند هتروزیگوت AC ۲- باند هموزیگوت CC ۳- 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

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 پلی‌مورفیسزم ژن اینترلوکین ۱۸ و سطح 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.

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 اینترلوکین ۱۸ می‌تواند از خود به جای بگذارد. از طرف دیگر، وجود پلی‌مورفیسزم در دیگر نقاط پروموتور ژن اینترلوکین ۱۸ می‌تواند بر روی عملکرد این سایتوکاین 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 نیاستی 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

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-Nevo 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, Pendelosi 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

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

Solimanipour M^{1*}, Naeimi S², Erfani N³

¹Department of Midwife and Nursing, Faculty of Nursing, Islamic Azad University– Estahban branch, Estahban, Iran, ²Department of biology, School of Science, Islamic Azad University– Kazerun branch, Kazerun, Iran, ³Shiraz 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

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