مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۵, شماره‌ی ۱۱۲, آذر و دی ۱۳۹۶, صفحات ۹۹ تا ۱۰۷

بررسی پلی‌مورفیسم‌های A/C۵۹۲- و A /G۱۰۸۲- ناحیه پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ در افراد مبتلا به دیابت نوع دو در شمال غرب ایران

فرزین فردوسی[۱]، دکتر امیرحسین تارمچی[۲]، دکتر عبدالرضا اسماعیل‌زاده[۳]

نویسنده‌ی مسئول: گروه بیوتکنولوژی و نانوتکنولوژی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان taromchi@zums.ac.ir

دریافت: ۹۵/۳/۱۹ پذیرش: ۹۵/۹/۵

چکیده

زمینه و هدف: *امروزه دیابت نوع دو یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غیر واگیر دنیا است. شواهد زیادی مبنی بر دخالت واکنش‌های التهابی در بروز این بیماری وجود دارند. اینترلوکین ۱۰ به عنوان یکی از مهم‌ترین سایتوکین‌های ضد التهابی به شمار می‌رود. از این رو، مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم های A/C۵۹۲- و A/G۱۰۸۲- ناحیه پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ و استعداد ابتلا به دیابت نوع دو انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه، ۷۵ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو و ۷۵ فرد سالم انتخاب شدند. سپس استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ‌های افراد در موقعیت‌های A/C۵۹۲- و A/G۱۰۸۲- پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ به‌روش PCR-RFLP صورت گرفت و برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون X^2 استفاده شد.*

یافته‌ها: *فراوانی ژنوتیپی CC و AC در موقعیت A/C۵۹۲- در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل بیشتر بود ($P<۰/۰۵$).*

نتیجه گیری: *فراوانی بالاتر آلل C در موقعیت A/C۵۹۲- ژن اینترلوکین ۱۰ می‌تواند به‌عنوان عامل مستعد کننده برای ابتلا به بیماری دیابت نوع دو مطرح شود.*

واژگان کلیدی: ***دیابت نوع دو ، پلی مورفیسم، اینترلوکین ۱۰***

مقدمه

سایتوکین‌ها، پروتئین‌ها یا گلیکوپروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم بوده که توسط گلبول‌های سفید یا دیگر سلول‌ها در پاسخ به تعدادی از محرک‌ها ترشح می‌شوند. این پروتئین‌ها در گسترش سلول‌های موثر ایمنی شرکت داشته و تعدادی از آنها نیز اعمال خود را به صورت مستقیم انجام می‌دهند (۱). سایتوکین‌ها به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند؛ سایتوکین‌های پیش التهابی (شامل IL-1، IL-6، TNF-α و TGF-β) و ضد التهابی (شامل IL-1Ra، IL-4، IL-10 و IL-13) که دارای اثرات متقابلی نسبت به هم هستند. سایتوکین‌های پیش التهابی مانند TNF-α و IL-6 به

۱- کارشناس ارشد ژنتیک، گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان
۲- دکترای تخصصی بیوتکنولوژی، استادیار گروه بیوتکنولوژی و نانوتکنولوژی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان
۳- دکترای تخصصی ایمونولوژی، دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، مرکز تحقیقات بیمارهای متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان

پیام رسانی انسولین در بافت‌های حساس انسولین آسیب می‌زنند. به هر حال فعال سازی مسیرهای التهابی در بافت‌های حساس به انسولین موجب مقاومت به انسولین می‌شود (۲). اینترلوکین ۱۰ از مقاومت به انسولین وابسته به TNF-α در سلول‌های چربی محافظت می‌کند. در ماکروفاژها، اینترلوکین ۱۰ پیام رسانی التهابی TNF-α را از طریق تغییر میزان رونویسی ژن‌های التهابی تضعیف می‌کند (۳). در بیماران مقاوم به انسولین، کاهش میزان حساسیت سلول‌های چربی به هورمون انسولین موجب افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد خون می‌شود که این یکی از علائم بیماری دیابت نوع دو محسوب می‌شود و به تدریج سبب گسترش مقاومت به انسولین و اختلال در سلول‌های β پانکراس می‌شود (۵و ۴). مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان داده‌اند که افزایش سطح اسیدهای چرب خون به‌عنوان زنگ خطری جدی برای ایجاد دیابت نوع دو و برخی از بیماری‌های خطرآفرین دیگر نیز می‌باشد که در نهایت منجر به بیماری‌های قلبی و عروقی می‌گردد (۶). اینترلوکین ۱۰ یکی از مهم‌ترین سایتوکین‌های ضد التهابی است که نقش حیاتی در تنظیم سیستم ایمنی بدن ایفا می‌کند. اینترلوکین ۱۰ یک هموداییمر با وزن مولکولی ۳۷ کیلودالتون است که هرمونومر آن متشکل از ۱۶۰ اسید آمینه با وزن مولکولی ۱۸/۵ کیلو دالتون می‌باشد. ژن اینترلوکین ۱۰ انسانی بر روی کروموزوم ۱ واقع شده است و شامل ۵ اگزون و ۴ اینترون می‌باشد (۷). گزارش شده است که تولید کم اینترلوکین ۱۰ با افزایش قند خون و دیابت نوع دو در ارتباط می‌باشد. برخی از پلی‌مورفیسم‌های پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ با سطوح رونویسی آن در ارتباط هستند. مهم‌ترین این پلی‌مورفیسم‌ها در موقعیت‌های ۱۰۸۲- و ۵۹۲- از پروموتر ژن قرار گرفته‌اند (۸). لذا با توجه به نقش ضد التهابی اینترلوکین ۱۰ و با توجه به التهابی بودن دیابت نوع دو، در این مطالعه جهت یافتن نقش اینترلوکین ۱۰ و استعداد ابتلا به دیابت نوع دو به بررسی پلی‌مورفیسم‌های پروموتور ژن اینترلوکین ۱۰ پرداخته شد.

روش بررسی

الف- گروه‌های مورد مطالعه: جامعه‌ی مورد مطالعه در این تحقیق ۱۵۰ نفر بودند که در دو دسته‌ی افراد مبتلا به دیابت نوع دو و افراد سالم با محدوده سنی ۲۵ تا ۷۵ سال قرار گرفتند. شاخص دیابتی بودن مطابق معیارهای سازمان بهداشت جهانی؛ قند خون ناشتای بالای ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و HbA1c بالای ۶/۵ در نظر گرفته شد. داوطلبین به‌مدت ۱۲ ساعت قبل از انجام آزمایشات ازخوردن، فعالیت شدید فیزیکی و استعمال دخانیات امتناع کردند. افراد فاقد هرگونه بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های غدد و اختلالات متابولیکی دیگر بودند. درمورد بیماران دیابتی نوع دو، برای حذف اثر انسولین تزریقی بر روی میزان مقاومت به انسولین، بیمارانی که انسولین دریافت می‌کردند از مطالعه خارج شدند.

ب- متغیرهای تحقیق: متغیرهایی که در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفتند، عبارتند از: قد، وزن، نمایه توده‌ی بدنی، سابقه‌ی بیماری‌های قلبی و عروقی، هیپرلیپیدمی، سابقه‌ی فامیلی چاقی، دیابت و فاکتورهای بیوشیمیایی از قبیل تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL-C، HDL-C و HbA1c (جدول ۱).

ج- ژنوتیپ: در این مطالعه، DNA با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سینا کلون (cat No:PR881612) استخراج گردید. سپس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۲)، ژنوتیپ ناحیه پروموتور ژن اینترلوکین ۱۰ در موقعیت‌های ۵۹۲- و ۱۰۸۲- به روش PCR-RFLP تعیین شد. محصولات PCR ناحیه پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ در موقعیت ۵۹۲- توسط آنزیم محدودگر Rsa 1 به قطعات ۲۳۶ و ۲۰۱ جفت بازی و در موقعیت ۱۰۸۲- توسط آنزیم محدودگر Mnl 1 به قطعات ۱۰۱ و ۳۸ جفت بازی شکسته

شدند. محصولات هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تفکیک شدند و بعد از رنگ آمیزی با DNA safe stain توسط ترانس ایلومیناتور مورد مطالعه قرار گرفتند. فراوانی آللی و ژنوتیپی بر روی گروه‌های کنترل و بیمار با شمارش ژنوتیپ‌ها و بررسی آماری داده‌ها در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ و آزمون استقلال انجام گردید. P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری در آنالیزهای آماری در نظر گرفته شد. توان مطالعه (Study power) نیز برای هر آلل و ژنوتیپ محاسبه شد. این پژوهش با کد کمیته‌ی اخلاق ۳۷-۱۳۹۵ مورد تایید قرار گرفت.

جدول ۱: مشخصات تن سنجی و بیوشیمیایی افراد شرکت کننده در مطالعه

مشخصه	کنترل	بیمار	P value
جنسیت (مرد/زن)	۵۸/۱۷	۵۵/۲۰	
سن (سال)	۵۶/۱±۳/۲	۶۰/۲±۲/۴	
نمایه توده بدن (kg/m2)	۲۲/۹±۲/۸	۲۶/۲±۲/۱	P<۰/۰۰۱
گلوکز ناشتا (mg/dl)	۵۱/۴±۱۷/۲	۱۷۳/۶±۱۴/۲	P<۰/۰۰۱
تری گلسرید (mg/dl)	۱۳۱/۴±۱۸/۵	۱۷۶/۳±۱۲/۱	P<۰/۰۰۱
کلسترول (mg/dl)	۱۵۰/۴±۹/۲	۱۵۷/۲±۳۰/۱	P<۰/۰۰۱
LDL-C(mg/dl)	۱۱۸/۷±۹/۳	۱۱۶/۲±۱۱/۱	P<۰/۰۰۱
HDL-C(mg/dl)	۴۸/۴±۱۰/۶	۵۰/۶±۱۰/۱	P<۰/۰۰۱

جدول ۲: شرایط لازم برای انجام واکنش تکثیر و هضم آنزیمی

لوکوس	پرایمر	توالی	شرایط انجام واکنش PCR	آنزیم		قطعه حاصل (bp)
-592	592F	cctaggtcacagtgacgtgg	94 °C(10m);35 cycle: *94 °C(1m),58/9 °C(45s),72 °C(1m); 72 °C(10m)	Rsa 1	CC	437
	592R	ggtgagcactacctgactagc			AC	437 و 236 و 201
					AA	236 و 201
-1082	1082F	ctcgctgcaacccaactggc	95 °C(5m);30 cycle: 95 °C(45s),49 °C(45s),72 °C(1m); 72 °C(5m)	Mnl 1	GG	101 و 38
					GA	139 و 101 و 38
	1082R	ccttacctatccctacttcc			AA	139

** درجه سانتی‌گراد*

یافته‌ها

در مورد پلی‌مورفیسم ۵۹۲- نتایج ما حاکی از این بود که فراوانی ژنوتیپ CC در موقعیت ۵۹۲-، در گروه بیمار (۱/۴۱-۵/۴۹) OR= ۲/۷۷ (۹۵ CI درصد) (P value=۰/۰۰۲) و فراوانی ژنوتیپ AC در موقعیت ۵۹۲-، در گروه بیمار (۰/۱۶-۰/۶۹)OR= ۰/۳۳ (۹۵ CI درصد)، P value=۰/۰۰۲) به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل است. همچنین نتایج فوق نشان می‌دهد که فراوانی آلل C در موقعیت ۵۹۲-، در گروه بیمار (۰/۳۵-۰/۸۸)OR= ۰/۵۵ (۹۵ CI درصد)، (P value=۰/۰۱۳) نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بالاتر است (جدول ۳). در مورد پلی‌مورفیسم ۱۰۸۲- براساس

نتایج ارتباطی میان ژنوتیپ‌های AA، GG و AG در موقعیت ۱۰۸۲-، با بروز دیابت مشاهده نگردید (جدول ۴).

جدول ۳: توزیع ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم A/C۵۹۲- پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ در گروه‌های مورد مطالعه

	ژنوتیپ	گروه			
		کنترل	بیمار	**P value**	OR(CI: ۹۵%)
-۵۹۲	CC	۲۱	۳۹	* Reff	
	AC	۳۹	۲۴	۰/۰۰۲	۰/۳۳(۰/۱۶-۰/۶۹)
	AA	۱۵	۱۲	۰/۰۷۱	۰/۴۳(۰/۱۷-۱/۰۸)
	آلل				
	C	۸۱	۱۰۲	Reff	
	A	۶۹	۴۸	۰/۰۱۳	۰/۵۵(۰/۳۵-۰/۸۸)

* P value=۰/۰۰۲ ، OR(CI: 95%) =۲/۷۷(۱/۴۱-۵/۴۹)

جدول ٤: توزیع ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم A/G۱۰۸۲- پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ در گروه‌های مورد مطالعه

	ژنوتیپ	گروه			
		کنترل	بیمار	**P value**	OR(CI: ۹۵%)
-۱۰۸۲	GG	۳۱	۳۷	* Reff	
	AG	۳۸	۳۴	۰/۳۹۵	۰/۸(۰/۴-۱/۵)
	AA	۶	۴	۰/۳۹۴	۰/۶(۰/۱۴-۲/۲)
	آلل				
	G	۱۰۰	۱۰۸	Reff	
	A	۵۰	۴۲	۰/۳۱۹	۰/۸(۰/۵-۱/۳)

* P value=۰/۳۲۵ ، OR(CI: 95%) =۱/۳۸(۰/۷۳-۲/۶۳)

بحث

در این مطالعه پلی‌مورفیسم‌های A/C ۵۹۲- و A/G ۱۰۸۲- پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ در افراد دیابتی و غیر دیابتی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج بررسی پلی‌مورفیسم‌های A/C ۵۹۲- حاکی از ارتباط معنی‌دار ژنوتیپ CC (OR=۲/۷۷(۱/۴۱-۵/۴۹ ۹۵ CI درصد)، P value=۰/۰۰۲) و ژنوتیپ AC (OR=۰/۳۳(۰/۱۶-۰/۶۹) ۹۵CI درصد)، P value=۰/۰۰۲) با دیابت نوع دو بود. همچنین فراوانی آلل C (OR=۰/۵۵(۰/۳۵-۰/۸۸ ۹۵ CI درصد)، Pvalue=۰/۰۱۳) در گروه دیابتی بیشتر از افراد نرمال بود و افراد حامل آلل C استعداد ابتلا به دیابت بالاتری داشتند. با توجه به کم بودن فراوانی آلل A در افراد جامعه و بالا بودن فراوانی آلل A در افراد سالم احتمال می‌رود که حضور آلل A نقش حفاظت کننده‌ای در برابر ابتلا به دیابت نوع دو داشته باشد. با توجه به این که پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی منطقه پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ در میزان بیان آن نقش مهمی دارند، احتمال تغییر بیان و کاهش سطح اینترلوکین ۱۰ و تاثیر آن در استعداد

ابتلا به دیابت نوع دو بالا خواهد بود. همچنین پلی مورفیسم‌های مختلف پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ با شیوع بیماری‌ها و شدت آن‌ها در ارتباط بوده است (۹). با توجه به نقش ضد التهابی اینترلوکین ۱۰ و با درک التهابی بودن دیابت نوع دو، در این مطالعه جهت یافتن نقش اینترلوکین ۱۰ و استعداد ابتلا به دیابت نوع دو به بررسی پلی مورفیسم‌های پروموتر این ژن پرداختیم. فعال کننده‌های رونویسی Sp یکی از تنظیم کننده‌های ضروری فعالیت پروموتر اینترلوکین ۱۰ هستند و به یک ناحیه غنی از گوانین در پروموتور اینترلوکین ۱۰ واقع درbp ۱۸۳- (bp ۱۶۳- در موش) به سمت فوقانی سایت شروع ترجمه اتصال می‌یابند. جهش در جایگاه‌های فاکتور رونویسی Sp می‌تواند منجر به کاهش فعالیت پروموتر اینترلوکین ۱۰ شود. PARP-1 به‌عنوان یکی از محدود کننده‌های بیان اینترلوکین ۱۰ مطرح است و نقش مهمی در آپوپتوز و تنظیم التهاب سیستماتیک برعهده دارد. تنظیم بیان اینترلوکین ۱۰ توسط PARP-1 به هاپلوتیپ‌های پلی‌مورفیسمی پروموتر اینترلوکین ۱۰ بستگی دارد. در این میان، پلی مورفیسم A/G ۱۰۸۲- با سطوح مختلفی از بیان اینترلوکین ۱۰ در ارتباط است. به نحوی که افراد با پلی‌مورفیسم G/G ۱۰۸۲- دارای میزان بیان بسیار بالاتری از اینترلوکین ۱۰ نسبت به افراد با پلی مورفیسم A/A ۱۰۸۲- می‌باشند. تمایل اتصال فاکتور PARP-1 نیز به پلی‌مورفیسم A/A ۱۰۸۲- بسیار بالاست و همین می‌تواند عاملی برای محدودیت بیان در این پلی‌مورفیسم باشد (۱۰). پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد که میل ترکیبی آلل G۱۰۸۲- برای SP1 بسیار قوی تر از آلل A۱۰۸۲- می‌باشد که ممکن است به تولید بالاتر اینترلوکین ۱۰ از سلول های B بیانجامد. در این تحقیق ما تفاوت معنی‌داری بین فراوانی آلل A و G در گروه بیمار و گروه دیابتی مشاهده ننمودیم. البته احتمالا کم بودن فراوانی آلل G در جامعه مورد مطالعه ما باعث شد تفاوت معنی‌دار در فراوانی آلل G بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نگردد. بیان پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی ۵۹۲- ممکن است توسط تمایل زیاد PARP-1 به اتصال با C ۵۹۲- به جای آلل A، افزایش یابد (۱۱).

مطالعات لارسون و همکاران (۲۰۱۰) و نیز چانگ و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده‌اند که حضور آلل G در موقعیت ۱۰۸۲- و نیز حضور آلل C در موقعیت ۵۹۲- به‌دلیل تمایل بالای اتصال عوامل رونویسی به این نواحی منجر به افزایش بیان اینترلوکین ۱۰ می‌شود (۱۳و ۱۲). در مورد پلی‌مورفیسم ۵۹۲- نتایج نشان دادند که ژنوتیپ CC و ژنوتیپ AC در موقعیت ۵۹۲- در گروه بیماران نسبت به گروه کنترل دارای فراوانی بالاتری است. همچنین نتایج حاکی از بالاتر بودن فراوانی آلل C در موقعیت ۵۹۲- گروه بیماران، نسبت به گروه کنترل بود. لذا حضور آلل C ممکن است در بالا بردن خطر ابتلا به دیابت نوع دو نقش داشته باشد. در تایید نتایج ما، بر اساس مطالعه کانگ و همکاران (۲۰۱۱) که در تایوان انجام شد، گزارش شد که ژنوتیپ‌های C/C و C/A در پلی مورفیسم‌های پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ به‌طور قابل توجهی در افراد مبتلا به دیابت نوع دو مشاهده شدند. آن‌ها همچنین اعلام کردند که فراوانی آلل C در افراد بیمار بیشتر از افراد سالم بود (۱۴). ایشی و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند که میزان فراوانی آلل C در افراد مبتلا به دیابت نوع دو دارای تیتر بالای آنتی‌بادی آنتی گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز در مقایسه با افراد سالم است (۱۵). اسکارپلی و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند که پلی‌مورفیسم ۵۹۲- با سطوح کم اینترلوکین ۱۰ در گردش همراه بود و خطر مقاومت به انسولین را در سفید پوستان ایتالیایی افزایش می‌داد (۱۶). در تضاد با نتایج ما، ازیدی و همکاران (۲۰۰۹) مطالعه‌ای را در تونس انجام دادند و اعلام کردند که میان توسعه‌ی دیابت نوع دو نفروپاتی و پلی‌مورفیسم ۵۹۲- ارتباطی وجود ندارد (۱۷). در مورد پلی‌مورفیسم ۱۰۸۲- ارتباطی میان ژنوتیپ‌های AA، GG و AG در موقعیت ۱۰۸۲-، با بروز دیابت مشاهده

نگردید. همسو با نتایج ما، تسیاوو و همکاران (۲۰۰۴) نیز در مطالعه‌ای اعلام داشتند که میان پلی‌مورفیسم A/G ۱۰۸۲- ژن اینترلوکین ۱۰ و خطر ابتلا به دیابت نوع دو در جامعه‌ی یونان ارتباطی مشاهده نشده است ولی این پلی مورفیسم می‌تواند عاملی در تعیین پاتوژنز دیابت ناشی از خود ایمنی باشد (۱۸). اردوغان و همکاران (۲۰۱۲) نیز ارتباطی میان پلی‌مورفیسم A/G ۱۰۸۲- ژن اینترلوکین ۱۰ و افراد مبتلا به دیابت نیافتند. همچنین بیان کردند که ممکن است این نتایج به علت تعداد جامعه‌ی آماری آن‌ها باشد (۱۹). در تضاد با نتایج ما، در مطالعه‌ای که در کشور هند انجام گرفته است ارتباط مهمی بین میزان پلی‌مورفیسم A/G ۱۰۸۲- ژن اینترلوکین ۱۰ و افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع دو گزارش شد (۲۰). در مطالعه‌ی دیگری که در سال ۲۰۱۳ انجام گرفت، اعلام گردید که میان پلی‌مورفیسم A/G ۱۰۸۲- ژن اینترلوکین ۱۰ و افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع دو رابطه‌ی مستقیمی وجود دارد در حالی که هیچ ارتباطی میان پلی‌مورفیسم A/C ۵۹۲- ژن اینترلوکین ۱۰ و ابتلا به دیابت نوع دو مشاهده نشد (۲۱). هلالی و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی پلی‌مورفیسم ۱۰۸۲- ژن اینترلوکین ۱۰ در میان افراد مبتلا به دیابت پرداختند و اعلام کردند که فراوانی این پلی‌مورفیسم در میان مصریان مبتلا به دیابت افزایش می‌یابد (۲۲). پنگ و همکاران نیز (۲۰۱۵) پلی‌مورفیسم A/G ۱۰۸۲- ژن اینترلوکین ۱۰ را به‌عنوان یک فاکتور خطر برای ابتلا به دیابت نفروپاتی پیشنهاد دادند (۲۳). در ادامه‌ی تحقیق پیشنهاد می‌شود، پارامتر چاقی و اضافه وزن در افراد مورد مطالعه مورد بررسی قرار گیرد تا تاثیر پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه در چاقی مشخص گردد. احتمال داده می‌شود که فراوانی آلل A در افراد با وزن نرمال بالاتر باشد.

نتیجه گیری

تحلیل کلی از بررسی پلی‌مورفیسم‌های A/C۵۹۲- و A/G۱۰۸۲- پروموتر ژن اینترلوکین ۱۰ در مطالعه‌ی ما حاکی از این مطلب است که ژنوتیپ C/C۵۹۲- ممکن است عاملی مستعد کننده برای ابتلا به دیابت نوع دو محسوب شود. همچنین حضور آلل C در موقعیت ۵۹۲- نیز می‌تواند عاملی برای بروز دیابت نوع دو باشد.

References

1- Banerjee M, Saxena M. Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: role in type 2 diabetes. *Clin Chim Acta.* 2012; 413: 1163-70.

2- Cai D, Yuan M, Frantz DF, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- β and NF-κB. *Nature medicine.* 2005; 11: 183-90.

3- Gottschlich MM, Mayes T, Khoury JC, Warden GD. Significance of obesity on nutritional,immunologic, hormonal, and clinical outcome parameters in burns. *J Am Dietetic Assoc*. 1993; 93: 1261-8.

4- Abate N, Garg A. Heterogeneity in adipose tissue metabolism: causes, implications and management of regional adiposity. *Prog Lipid Res*. 1995; 34: 53-70.

5- Ritenbaugh C, Goodby CS. Beyond the thrifty gene: metabolic implications of prehistoric migration into the New World. *Med Anthropol*. 1989; 11: 223-27.

6- Boyd-Eaton S, Konner M, Shostak M. Stone-agers in the fast lane: chronic degenerative

diseases in evolutionary perspective. *Am J Med*. 1988; 84: 739-49.

7- Bassols J, Botas P, Delgado E, et al. Environmental and genetic factors influence the relationship between circulating IL-10 and obesity phenotypes. *Obesity*. 2010; 18: 611-18.

8- Kim HJ, Higashimori T, Park SY, et al. Differential effects of interleukin-6 and 10 on skeletal muscle and liver insulin action in vivo. *Diabetes*. 2004; 53: 1060-67.

9- Westendorp RG, Langermans JA, Huizinga TW, et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet.* 1997; 349: 170-73.

10- Stanilova SA. Functional relevance of IL-10 promoter polymorphisms for sepsis development. *Crit Care*. 2010; 14: 119-21.

11- Chung EY, Liu J, Zhang Y, Ma X. Differential expression in lupus-associated IL-10 promoter single-nucleotide polymorphisms is mediated by poly(ADP-ribose) polymerase-1. *Genes Immun*. 2007; 8: 577-89.

12- Larsson L, Rymo L, Berglundh T. Sp1 binds to the G allele of the-1087 polymorphism in the IL-10 promoter and promotes IL-10 mRNA transcription and protein production. *Genes Immun*. 2010; 11: 181-87.

13- Chung EY, Liu J, Zhang Y, Ma X. Differential expression in lupus-associated IL-10 promoter single-nucleotide polymorphisms is mediated by poly(ADP-ribose) polymerase-1. *Genes Immun*. 2007; 8: 577-89.

14- Kung WJ, Lin CC, Liu SH, et al. Association of interleukin-10 polymorphisms with cytokines in type 2 diabetic nephropathy. *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2011; 12: 809-13.

15- Ishii MG, Hasegawa M, Fukui M, et al. Clinical and genetic characteristics of diabetic patients with high-titer (>10,000 U/ml) of antibodies to glutamic acid decarboxylase. *Immunology Letters*. 2005; 99: 180-85.

16-Scarpelli D. Variants of the interleukin-10 promoter gene are associated with obesity and insulin resistance but not type 2 diabetes in Caucasian Italian subjects. *Diabetes*, 2006. **55**: 1529-33.

17- Ezzidi I, Mtiraoui N, Kacem M, et al. Interleukin-10-592C/A, -819C/T and -1082A/G promoter variants affect the susceptibility to nephropathy in Tunisian type 2 diabetes (T2DM) patients. *Clin Endocrinol*. 2009; 70: 401-40.

18- Tsiavou A, Hatziagelaki E, Chaidaroglou A, et al. TNF-α,TGF-beta1, IL-10, IL-6 gene polymorphisms in latent autoimmune diabetes of adults (LADA) and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Immunol*. 2004; 24: 591-9.

19- Erdogan M, Cetinkalp S, Ozgen AG, et al. Interleukin-10 (-1082G/A) gene polymorphism in patients with type 2 diabetes with and without nephropathy. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012; 16: 91-94.

20- Kolla VK, Madhavi G, Pulla Reddy B, et al. Association of tumor necrosis factor alpha,interferon gamma and interleukin 10 gene polymorphisms with peripheral neuropathy in

South Indian patients with type 2 diabetes. *Cytokine*. 2009; 47: 173-77.

21- Hua Y, Shen J, Song Y, et al. Interleukin-10 –592 C/A, –819C/T and –1082A/G polymorphisms with risk of type 2 diabetes mellitus. a HuGE review and meta-analysis. *PLoS One*. 2013; 8: 466-568.

22- Helaly M, Hatata E, Abu-Elmagd M, et al. Association of IL-10 and IL-6 gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus among egyptian patients. *Eur J Gen Med*. 2013; 10: 158-62.

23- Peng X, Xu J, Wang P, Zhou J, Guo H. Interleukin-10-1082A/G polymorphism and diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Med Sci Monit*. 2015; 21: 890-94.

Survey of Interleukin 10 Gene Promoter Polymorphisms at Position -592 (A/C) and -1082 (A/G) in Type 2 Diabetes Patients in Northwest Iran

Ferdousi F[1], Taromchi AH[2], Esmaeilzadeh AR[3]

[1]Genetic, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

[2]Dept. of Biotechnology and Nanotechnology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

[3]Dept. of Immonology, Faculty of Medicine, Metabolic Research Center, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

Corresponding Author: Taromchi AH, Dept. of Biotechnology and Nanotechnology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

E-mail: taromchi@zums.ac.ir

Received: 8 Jun 2016 **Accepted:** 26 Nov 2016

Background and Objective: Today diabetes is one of the most prevalent noncontagious diseases around the world. There is strong evidence showing inflammatory reactions play a crucial role in initiating this disease. Interleukin 10 is one of the most significant anti-inflammatory cytokines. Thus the present study was conducted to investigate the relationship between Interleukin 10 gene polymorphisms -592 A/C and -1082 A/G and susceptibility to type 2 diabetes patients **(**T2D).

Materials and Methods: In this study 75 T2D patients and 75 healthy controls were selected. DNA extraction was carried out and then the genotype in the -592 A/C and -1082A/G positions were determined using PCR-RFLP while chi squared (X^2) was used as the statistical method for data analysis.

Results: The frequency of genotype AC and CC in the -592A/C position was significantly higher in type 2 diabetes patients compared to healthy controls ($p<0.05$).

Conclusions: The high frequency of C allele in -592A/C can be considered as a predisposing factor for type 2 diabetes.

Key words: Type 2 diabetes, Polymorphism, Interleukin 10