

## ارتباط پلی مورفیسم 513T/C (rs1028181) ژن IL-19 با پره‌اکلامپسی در زنان باردار

## چکیده

دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۲۱ ویرایش: ۱۳۹۹/۰۹/۲۸ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳ آنلاین: ۱۴۰۰/۰۱/۰۱

**زمینه و هدف:** با وجود سال‌ها پژوهش مداوم، هنوز هم مرگ مادران در اثر پره‌اکلامپسی به‌عنوان یک تهدید جدی مطرح می‌باشد. محققین بر این باورند که پره‌اکلامپسی یک بیماری چند عاملی است و عوامل خطر متعددی از جمله عوامل ایمنولوژیکی را برای آن پیشنهاد نموده‌اند. بنابراین بررسی رابطه‌ی پره‌اکلامپسی با تغییرات ایمنولوژیکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به نقش عوامل ایمنولوژیکی و التهابی در اتیولوژی پره‌اکلامپسی، در تحقیق حاضر ارتباط پلی مورفیسم 513T/C (rs1028181) ژن اینترلوکین ۱۹ با بیماری پره‌اکلامپسی مورد بررسی قرار گرفت. روش بررسی: این مطالعه مورد-شاهدی از دی ۱۳۹۵ تا خرداد ۱۳۹۶ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انجام شد. ۱۵۰ زن مبتلا به بیماری پره‌اکلامپسی به‌عنوان مورد و ۱۵۰ زن سالم باردار فاقد هر گونه بیماری، مراجعه‌کننده به بیمارستان ولی عصر کازرون به‌عنوان شاهد انتخاب شدند. پس از نمونه‌گیری و استخراج DNA، ژنوتیپ‌های مربوط به پلی مورفیسم اشاره شده با روش Tetra Primer ARMS PCR مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS software, version 16 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) و Chi-square test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته‌ها:** اختلاف معناداری در فراوانی همه ژنوتیپ‌ها (CC, CT و TT) ( $P=0/001$ ) و هر دو آلل (C و T) ( $P=0/002$ ) در موقعیت پلی مورفیسم 513T/C (rs1028181) بین زنان باردار مبتلا به پره‌اکلامپسی و زنان باردار سالم مشاهده شد. میان سایر پارامترهای پاراکلینیکی مورد نظر تحقیق با پلی مورفیسم مذکور ارتباط معناداری در گروه بیمار و کنترل دیده نشد.

**نتیجه‌گیری:** حضور پلی مورفیسم 513T/C (rs1028181) را می‌توان به‌عنوان عامل پیش‌بینی‌کننده‌ی ایجاد پره‌اکلامپسی در نظر گرفت.

**کلمات کلیدی:** اینترلوکین ۱۹، پلی مورفیسم، پره‌اکلامپسی، زنان باردار.

زینب محمودیان، سیروس نعیمی \*

محمد مهدی مغنی باشی، خلیل خاشعی و رانامخواستی، مرضیه علیپور

گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران.

\* نویسنده مسئول: کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، دانشکده علوم پایه، گروه ژنتیک.

تلفن: ۰۹۱-۷۱۳۹۱۴۲۰

E-mail: Naeimi801@yahoo.com

## مقدمه

فشارخون و دفع پروتئین در ادرار بعد از هفته‌ی بیستم بارداری با میزان شیوع متغییر در سرتاسر جهان مشخص می‌شود که این میزان با توجه به مطالعات انجام شده در کشورهای در حال توسعه بین ۱۶/۷-۱٪ و در ایران ۷ تا ۱۴٪ گزارش شده است.<sup>۱،۲،۳</sup> از لحاظ شدت، پره‌اکلامپسی به دو شکل خفیف و شدید تقسیم می‌گردد.

پره‌اکلامپسی (Preeclampsia)، اختلال چندسیستمی مخصوص دوران بارداری و جدی‌ترین مورد مخاطره‌آمیز بارداری‌های پرخطر، تهدیدکننده سلامت زنان باردار است.<sup>۱،۲</sup> این عارضه با افزایش

مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است.<sup>۳۳،۳۱</sup> بسیاری از محققین معتقدند که بروز پاسخ ایمنی TH<sub>1</sub> طی بارداری از سطح سرمی کاهش یافته‌ی اینترلوکین‌های ضدالتهابی خصوصاً اینترلوکین ۱۹ که قادر است سلول‌های TH<sub>2</sub> را فعال نماید، ناشی می‌شود. تعدادی از مطالعات با توجه به تاثیر چند شکلی‌های ژنتیکی بر فنوتیپ و عملکرد محصول ژن، علت نقص عملکردی یا تغییر سطح سرمی سیتوکاین‌های ضدالتهاب را حضور برخی از پلی‌مورفیسم‌ها در ژن‌های رمزکننده‌ی آنها بیان کرده‌اند.<sup>۳۴،۳۱</sup>

به‌عنوان مثال مطالعه‌ای نشان داد که پلی‌مورفیسم پروموتور ژن اینترلوکین ۱۰ می‌تواند از تنظیم‌کننده‌های اصلی ژنتیکی اتیولوژی پره‌اکلامپسی باشد.<sup>۳۵</sup> مطالعه‌ی دیگری نیز ارتباط سطح سرمی افزایش یافته‌ی اینترلوکین هشت به‌عنوان فاکتور پیش‌التهابی در مبتلایان به پره‌اکلامپسی را با حضور پلی‌مورفیسم‌های ( rs2243188, -353A/T, -251T/A, +678T/C) نشان داد.<sup>۳۶</sup> همچنین تغییر سطح سرمی اینترلوکین ۱۹ در حضور پلی‌مورفیسم rs2243188 در مبتلایان به بیماری خودایمنی لوپوس اثبات گردیده است.<sup>۳۷</sup> در این راستا در مطالعه‌ی حاضر نیز ارتباط بین پلی‌مورفیسم (rs1028181, -513T/C) ژن رمزکننده‌ی اینترلوکین ۱۹ با بیماری پره‌اکلامپسی در دو گروه بیمار و کنترل مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

## روش بررسی

در این مطالعه مورد-شاهدی ۱۵۰ زن باردار مبتلا به بیماری پره‌اکلامپسی که دارای فشارخون سیستولی بیشتر از ۱۴۰ mmHg یا فشارخون دیاستولی بیشتر از ۹۰ mmHg با دو بار تکرار و حداقل شش ساعت فاصله‌ی زمانی و همچنین پروتئینوری بیشتر از ۰/۳ g در ادرار ۲۴ ساعته یا بیشتر از +۱ در تست نواری ادرار بودند، از بین مراجعین به بیمارستان ولی‌عصر (عج) کازرون برای بررسی‌های ملکولی بیشتر در فاصله‌ی زمانی دی ۱۳۹۵ تا خرداد ۹۶ انتخاب شدند. به‌منظور انتخاب زنان گروه مورد، ابتدا تمام مراجعین تشخیص داده شده با بیماری پره‌اکلامپسی به‌عنوان کاندید شرکت در مطالعه انتخاب شدند و پس از بررسی سوابق بالینی، زنانی که سابقه‌ی هرگونه بیماری‌های داخلی داشتند از مطالعه خارج شدند. زنان گروه شاهد (۱۵۰ زن) از بین زنان باردار سالمی که برای انجام معاینات

موارد شدید با علائم بالینی جدی‌تر، پیامدهای مادری و جنینی شدیدتر، احتمال بیشتر تبدیل به اکلامپسی و خطر عود مجدد همراه است.<sup>۶</sup> در حال حاضر آزمایش‌های کلینیکی، بیوفیزیکی و بیوشیمیایی متعددی برای شناسایی زنان در معرض خطر ابتلا به پره‌اکلامپسی وجود دارد که نتایج مطالعات حاکی از ناچیز بودن ارزش پیش‌گویی کنندگی آن‌ها در تشخیص زودرس پره‌اکلامپسی می‌باشد. بنابراین هنوز معیار قابل اعتمادی برای تشخیص زودرس این عارضه وجود ندارد.<sup>۷</sup>

محققین بر این باورند که پره‌اکلامپسی یک بیماری چندعاملی است و عوامل خطر متعددی نظیر سن پایین یا بالای مادر، دیابت، فشارخون مزمن، فاصله‌ی بین تولدها، سابقه‌ی سقط جنین، سابقه‌ی ابتلا به پره‌اکلامپسی، افزایش شاخص توده بدنی و عوامل ایمنونولوژیکی را برای آن پیشنهاد نموده‌اند.<sup>۱۰،۸،۱۱،۱۲</sup> با توجه به توصیف پره‌اکلامپسی به‌عنوان پاسخ بیش از حد سیستم ایمنی، علی‌رغم بارداری طبیعی که یک حالت پیش‌التهابی است، بررسی رابطه‌ی پره‌اکلامپسی با تغییرات ایمنونولوژیکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.<sup>۱۳،۱۴</sup>

یکی از تغییرات ایمنونولوژیکی که به‌صورت بالقوه با پره‌اکلامپسی در ارتباط است، بروز پاسخ ایمنی TH<sub>1</sub> به واسطه‌ی برخی از سیتوکاین‌ها (Cytokines) می‌باشد.<sup>۱۵</sup> سیتوکاین‌ها فاکتورهای مشتق شده از جفت می‌باشند که بر روی عملکرد ایمنی سیستمیک مادر تاثیر می‌گذارند و به دو دسته‌ی سیتوکاین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی تقسیم می‌شوند. سیتوکاین‌های پیش‌التهابی همچون TNF- $\alpha$  و IFN- $\gamma$  از مهم‌ترین آغازکننده‌ها و میانجیگرهای پاسخ ایمنی TH<sub>1</sub> و واکنش‌های التهابی طی بارداری هستند که باعث فعال‌سازی نوتروفیل‌ها شده و متعاقباً آسیب عروقی را به‌دنبال خواهند داشت.<sup>۱۶،۱۷</sup>

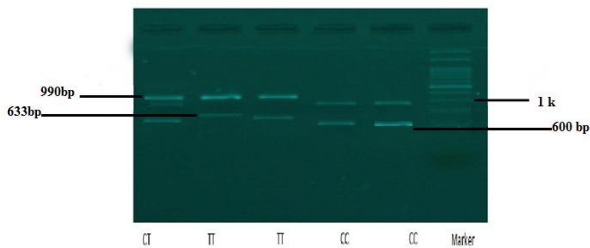
در مقابل، انحراف پاسخ ایمنی از سمت TH<sub>1</sub> به سمت TH<sub>2</sub> برای یک بارداری نرمال و موفق حائز اهمیت شناخته شده است.<sup>۱۵</sup> در پیشروی به سمت پاسخ ایمنی TH<sub>2</sub>، سیتوکاین‌های سرکوبگر التهاب تولید شده توسط جفت نظیر ابر خانواده اینترلوکین ۱۰ نقش ایفا می‌کنند.<sup>۱۸،۲۰</sup> اعضای این خانواده عبارتند از IL10/19/20/22/26/28/29 و تاکنون نقش آن‌ها به‌عنوان عوامل ضدالتهابی در بیماری‌های گوناگون از جمله بیماری‌های پوستی، بیماری‌های کبدی و بیماری‌های تنفسی

جدول ۲: مشخصات پرایمرهای مورد مطالعه

| ژن                       | نام آغازگر                 | توالی آغازگر 5'-3'                     | طول |
|--------------------------|----------------------------|--|-----|
| IL-19-513T/C (rs1028181) | Inner Forward primer-102-C | 5'-CGT TTA ATC ATA GCT CCT TAC AGC -3' | ۲۴  |
|                          | Inner Reverse primer-102-T | 5'-CGT TTA ATC GCT CCT TAC AGT -3'     | ۲۱  |
|                          | Outer Forward              | 5'-ATA TGG ATG CTT CAC ACA GAC C -3'   | ۲۲  |
|                          | Outer Reverse              | 5'- TTC CCT GTA GTC AGG AAG -3'        | ۱۸  |

جدول ۳: برنامه دمایی-زمانی PCR جهت تکثیر قطعه (rs1028181) 513T/C

| ردیف    | دما    | زمان   | تکرار |
|---------|--------|--------|-------|
| 1       | 94°C   | 5 min  | 1     |
| 10 سیکل |        |        |       |
| 2       | 94°C   | 40 sec | 2     |
| 3       | 58/5°C | 30 sec | 3     |
| 4       | 72°C   | 40 sec | 4     |
| 20 سیکل |        |        |       |
| 5       | 94°C   | 40 sec | 5     |
| 6       | 62°C   | 30 sec | 6     |
| 7       | 72°C   | 40 sec | 7     |
| 8       | 72°C   | 5 sec  | 8     |



شکل ۱: محصول ARMS-PCR حاصل از تکثیر ژن IL-19 در موقعیت 513T/C (rs1028181) (اندازه قطعات تکثیر یافته برای افراد هموزیگوت CC، 633 bp، برای افراد هتروزیگوت CT، 600 bp و برای افراد هموزیگوت TT، 990 bp می باشد). تجزیه و تحلیل داده های حاصل شده با کمک نرم افزار SPSS و Chi-square test صورت گرفت.

جدول ۱: خصوصیات دموگرافیک زنان سالم و بیمار مبتلا به پره اکلامپسی

| خصوصیات                             | بیمار (n=150) | کنترل (n=150) | P      |
|-------------------------------------|---------------|---------------|--------|
| میانگین سن (سال)                    | 30/09±6/87    | 27/23±4/86    | 0/339  |
| دامنه سنی (سال)                     | 16-48         | 16-38         | -      |
| شاخص توده بدنی (kg/m <sup>2</sup> ) | 25/83±3/47    | 26/19±3/60    | 0/214  |
| فشارخون سیستولی (mmhg)              | 151/84±10/78  | 109/37±11/07  | <0/001 |
| فشارخون دیاستولی (mmhg)             | 94/95±6/88    | 64/85±9/02    | <0/001 |

خصوصیات دموگرافیک با مقایسه ی گروه بیمار و کنترل گزارش شده اند (P<0/05).

معمول به آن بیمارستان مراجعه کرده بودند و از نظر سن بارداری و محل زندگی با گروه بیمار همسان بودند، انتخاب شدند. خصوصیات دموگرافیک جمعیتی زنان بررسی شده در جدول ۱ ارایه شده است. پس از اخذ رضایت نامه از افراد مورد مطالعه و پر کردن پرسشنامه، 5 ml خون محیطی در لوله های حاوی EDTA جمع آوری گردید. پس از جمع آوری کلیه ی نمونه ها، DNA به روش Salting out توسط کیت شرکت (GeNet Bio, Korea) استخراج گردید. تعیین پلی مورفیسم rs1028181-513T/C با استفاده از روش ARMS-PCR و در حضور چهار آغازگر زیر که براساس توالی ژن مربوطه توسط نرم افزارهای ملکولی (IBM Oligo, Armonk, software, version 7) و Oligo NY, USA) و پایگاه داده (BLAST software, version X) طراحی و سپس توسط شرکت (MacroGen (MacroGen, South Korea) سنتز شد، انجام گرفت.

مخلوط واکنش PCR در حجم نهایی 21/45 µl شامل: 4/45 µl H<sub>2</sub>O (آب مقطر استریل)، 0/5 µl (0/39 pmol) از پرایمر کنترل رفت، 1 µl (0/39 pmol) از پرایمر کنترل برگشت و 1 µl (0/39 pmol) از هر پرایمر آلل C و T، 12/5 µl مسترمیکس (Ampliqon, Odense,) 2x PCR Master Mix Red. Mg cl2

کنترل و بیمار در فراوانی هر دو آلل C و T در موقعیت پلی مورفیمی 513T/C (rs1028181) نشان داد (P=۰/۰۰۲). نتایج نیز تاییدکننده‌ی افزایش استعداد ابتلا به پره‌اکلامپسی در نتیجه‌ی حضور آلل T می‌باشند (جدول ۵).

نتایج بررسی ارتباط پلی مورفسم 513T/C (rs1028181) با فاکتورهای پاراکلینیکی مورد نظر تحقیق از جمله تشنج، میزان دفع پروتئین در ادرار، ورم بیمار، فشارخون، سن شروع، کم‌کاری تیروئید، دیابت، سابقه سقط، سابقه‌ی ابتلا پیشین، چندقلوبی، نخست‌زایی و چندزایی نشان داد که رابطه‌ی معناداری بین واریانت (rs1028181) - 513T/C با پارامتر چندزایی بین گروه بیمار و کنترل وجود دارد (P=۰/۰۰۲).

این درحالی است که میان سایر پارامترهای دیگر مورد بررسی همچون تشنج (P=۰/۰۶۲)، میزان دفع پروتئین در ادرار (P=۰/۲۳۹)، ورم بیمار (P=۰/۹۳۱)، فشارخون (P=۰/۱۳۶)، سن بیمار

(Denmark)، DNA ژنومیک آماده گردید و تحت برنامه‌ی دمایی-زمانی زیر قرار گرفت: محصول PCR، برای آلل C و T بر روی ژل آگارز ۲٪ در ولتاژ ۸۵ v به مدت ۱۰ دقیقه الکتروفورز گردید و باندهای ظاهر شده با استفاده از UV Transilluminator مشاهده گردیدند (شکل ۱).

## یافته‌ها

نتایج حاصل از Chi-square test ارتباط معناداری را بین گروه کنترل و بیمار در فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT در موقعیت پلی مورفیمی 513T/C (rs1028181) نشان داد (P=۰/۰۰۱). نتایج نشان می‌دهد که ژنوتیپ CT استعداد ابتلا به پره‌اکلامپسی را افزایش می‌دهد. (جدول ۴)

نتایج حاصل از Chi-square test ارتباط معناداری را بین گروه

جدول ۴: مقایسه‌ی فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT در موقعیت پلی مورفسم 513T/C (rs1028181) در بیماران مبتلا به پره‌اکلامپسی و گروه کنترل.

| P     | جمع کل نمونه‌ها | IL19rs1028181.513 |            |                 | گروه              |
|-------|-----------------|-------------------|------------|-----------------|-------------------|
|       |                 | TT                | CT         | CC              |                   |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪        | ۶۶٪-۹۹            | ۶۶٪/۳۱-۲۰  | ۳۳٪/۲۰-۱۳       | کنترل             |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪        | ۳۳٪/۶۸-۴۵         | ۳۳٪/۵۹-۳۹  | ۳۳٪/۲۳-۱۵       | بیمار             |
|       | ۳۰۰-۱۰۰٪        | ۳۳٪/۴۳-۱۴         | ۳۰٪-۹۰     | ۳۳٪/۴۳-۱۴       | تعداد کل نمونه‌ها |
| ۰/۰۰۱ |                 | مقایسه CC با TT   |            | مقایسه TT با CT | گروه              |
|       |                 |                   | ۰/۱۳۲      | ۰/۰۰۰۱۴۵        | P                 |
|       |                 |                   | ۱/۶۷۴      | ۲/۷۷۱           | OR                |
|       |                 |                   | ۳٪/۸۵۳-۲۸۵ | ۱/۴-۶۲۶/۷۲۳     | CI ۹۵٪            |

مقایسه‌ی گروه بیمار و کنترل با Chi-square test، (P<۰/۰۵)، Odds Ratio (OR) و confidence interval (CI)

جدول ۵: مقایسه‌ی فراوانی آلل‌های C و T در موقعیت پلی مورفسم 513T/C (rs1028181) در بیماران مبتلا به پره‌اکلامپسی و گروه کنترل.

| CI ۹۵٪      | OR    | P     | جمع کل نمونه‌ها | IL19rs1028181.513 |            | گروه              |
|-------------|-------|-------|-----------------|-------------------|------------|-------------------|
|             |       |       |                 | T                 | C          |                   |
|             |       |       | ۱۰۰٪-۳۰۰        | ۳۳٪/۲۲۹-۷۶        | ۶۶٪/۷۱-۲۳  | کنترل             |
| ۲۱۶/۱-۴۸۱/۲ | ۱/۷۳۷ | ۰/۰۰۲ | ۱۰۰٪-۶۰۰        | ۶۵٪-۱۹۵           | ۳۵٪-۱۰۵    | بیمار             |
|             |       |       | ۱۰۰٪-۳۰۰        | ۶۶٪/۴۲۴-۷۰        | ۳۳٪/۱۷۶-۲۹ | تعداد کل نمونه‌ها |

مقایسه‌ی گروه بیمار و کنترل با Chi-square test، (P<۰/۰۵) و Odds Ratio (OR) و confidence interval (CI)

جدول ۶: بررسی ارتباط پلی مورفیسم (rs1028181) 513T/C- با فاکتورهای پاراکلینیکی تشنج، میزان دفع پروتئین در ادرار، ورم بیمار، فشارخون، سن شروع، کم کاری تیروئید در بیماران مبتلا به پره اکلامپسی و گروه کنترل.

| P     | ژنوتیپها     |              |              |              | ویژگی‌ها<br>جمع کل نمونه‌ها   |
|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------------------------|
|       | (تعداد-درصد) | (تعداد-درصد) | (تعداد-درصد) | (تعداد-درصد) |                               |
|       |              | TT           | CT           | CC           | تشنج                          |
| ۰/۰۶۲ | ۱-۱۰۰٪       | ۰-۰٪         | ۰-۰٪         | ۱-۱۰۰٪       | دارد                          |
|       | ۱۴۹-۱۰۰٪     | ۶/۶۸-۴۵      | ۶/۵۹-۳۹      | ۸/۲۲-۱۴      | ندارد                         |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪     | ۶/۶۸-۴۵      | ۳/۵۹-۳۹      | ۳/۲۳-۱۵      | تعداد کل نمونه‌ها             |
| ۰/۲۳۹ | ۵۳-۱۰۰٪      | ۳/۲۴-۴۵      | ۷/۲۰-۳۷      | ۹-۱۷٪        | دفع پروتئین در ادرار<br>ندارد |
|       | ۱۸-۱۰۰٪      | ۹-۵۰٪        | ۹/۷-۳۸       | ۱/۲-۱۱       | تریس                          |
|       | ۴۶-۱۰۰٪      | ۲/۲۴-۵۲      | ۶/۱۵-۳۲      | ۲/۷-۱۵       | +۱                            |
|       | ۱۵-۱۰۰٪      | ۳/۱۸-۵۳      | ۶-۴۰٪        | ۷/۱-۶        | +۲                            |
|       | ۱۴-۱۰۰٪      | ۳/۲-۱۴       | ۴/۱۰-۷۱      | ۳/۲-۱۴       | +۳                            |
|       | ۴-۱۰۰٪       | ۱-۲۵٪        | ۱-۲۵٪        | ۲-۵۰٪        | +۴                            |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪     | ۳/۱۸۶-۴۵     | ۳/۵۹-۳۹      | ۳/۲۳-۱۵      | تعداد کل نمونه‌ها             |
| ۰/۹۳۱ | ۲۳-۱۰۰٪      | ۱/۹-۳۹       | ۸/۱۱-۴۷      | ۳-۱۳٪        | میزان ورم بیمار<br>ندارد      |
|       | ۹۱-۱۰۰٪      | ۲/۴۲-۴۶      | ۴/۳۴-۳۷      | ۵/۱۵-۱۶      | +۱                            |
|       | ۲۵-۱۰۰٪      | ۱۱-۴۴٪       | ۱۱-۴۴٪       | ۳-۱۲٪        | +۲                            |
|       | ۱۱-۱۰۰٪      | ۵/۶-۵۴       | ۳/۳-۲۷       | ۲/۲-۱۸       | +۳                            |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪     | ۳/۶۸-۴۵      | ۳/۵۹-۳۹      | ۳/۲۳-۱۵      | تعداد کل نمونه‌ها             |
| ۰/۱۳۶ | ۱۱۶-۱۰۰٪     | ۹/۵۹-۵۰      | ۳/۴۱-۳۵      | ۸/۱۶-۱۳      | فشارخون<br>فشارخون خفیف       |
|       | ۲۶-۱۰۰٪      | ۹/۷-۲۶       | ۱۳-۵۰٪       | ۱/۶-۲۳       | فشارخون متوسط                 |
|       | ۸-۱۰۰٪       | ۲-۲۵٪        | ۵/۱۵-۶۲      | ۵/۱-۱۲       | فشارخون شدید                  |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪     | ۳/۱۸۶-۴۵     | ۳/۵۹-۳۹      | ۳/۲۳-۱۵      | تعداد کل نمونه‌ها             |
| ۰/۲۰۷ | ۱۰-۱۰۰٪      | ۵-۵۰٪        | ۳-۳۰٪        | ۲-۲۰٪        | سن شروع بیماری<br>>۲۰ سال     |
|       | ۱۰۹-۱۰۰٪     | ۹/۵۰-۴۵      | ۶/۴۱-۳۷      | ۱۸/۱۶-۵      | ۲۰-۳۵ سال                     |
|       | ۳۱-۱۰۰٪      | ۹/۱۳-۴۱      | ۴/۱۵-۴۸      | ۷/۳-۹        | <۳۵ سال                       |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪     | ۳/۶۸-۴۵      | ۳/۵۹-۳۹      | ۳/۲۳-۱۵      | تعداد کل نمونه‌ها             |
| ۰/۱۵۷ | ۱۷-۱۰۰٪      | ۱/۱۸-۴۷      | ۵/۴-۲۳       | ۴/۵-۲۹       | کم کاری تیروئید<br>دارد       |
|       | ۱۳۳-۱۰۰٪     | ۱/۶۰-۴۵      | ۴/۵۵-۴۱      | ۵/۱۸-۱۳      | ندارد                         |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪     | ۳/۶۸-۴۵      | ۳/۵۹-۳۹      | ۳/۲۳-۱۵      | تعداد کل نمونه‌ها             |

مقایسه‌ی گروه بیمار و کنترل با Chi-square test (P<۰/۰۵).

جدول ۷: بررسی ارتباط پلی مورفیسم (rs1028181) 513T/C با فاکتورهای پاراکلینیکی دیابت، سابقه سقط، سابقه ابتلای پیشین، چندقلویی، نخست‌زایی و چندزایی در بیماران مبتلا به پره‌اکلامپسی و گروه کنترل.

| P     | ژنوتیپ‌ها    |              |              |              | ویژگی‌ها<br>جمع کل نمونه‌ها |
|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------------------------|
|       | (تعداد-درصد) | (تعداد-درصد) | (تعداد-درصد) | (تعداد-درصد) |                             |
|       |              | TT           | CT           | CC           | دیابت                       |
| ۰/۵۴۱ | ۹-۱۰۰٪       | ۶٪/۵۵-۵۵     | ۲٪/۲-۲۲      | ۲٪/۲-۲۲      | دارد                        |
|       | ۱۰۰-۱۴۱٪     | ۷٪/۶۳-۴۴     | ۴٪/۵۷-۴۰     | ۹٪/۲۱-۱۴     | ندارد                       |
|       | ۱۰۰-۱۵۰٪     | ۳٪/۶۸-۴۵     | ۳٪/۵۹-۳۹     | ۳٪/۲۳-۱۵     | تعداد کل نمونه‌ها           |
|       |              |              |              |              | سابقه سقط                   |
| ۰/۷۲۹ | ۳۰-۱۰۰٪      | ۳٪/۱۳-۴۳     | ۷٪/۱۱-۳۶     | ۶-۲۰٪        | دارد                        |
|       | ۱۲۰-۱۰۰٪     | ۸٪/۵۵-۴۵     | ۴۸-۴۰٪       | ۲٪/۱۷-۱۴     | ندارد                       |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪     | ۳٪/۶۸-۴۵     | ۳٪/۵۹-۳۹     | ۳٪/۲۳-۱۵     | تعداد کل نمونه‌ها           |
|       |              |              |              |              | سابقه پیشین ابتلا           |
| ۰/۶۶۲ | ۱۳-۱۰۰٪      | ۲٪/۶-۴۶      | ۸٪/۴-۳۰      | ۱٪/۳-۲۳      | دارد                        |
|       | ۱۳۷-۱۰۰٪     | ۳٪/۶۲-۴۵     | ۱٪/۵۵-۴۰     | ۶٪/۲۰-۱۴     | ندارد                       |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪     | ۳٪/۶۸-۴۵     | ۳٪/۵۹-۳۹     | ۳٪/۲۳-۱۵     | تعداد کل نمونه‌ها           |
|       |              |              |              |              | چندقلویی                    |
| ۰/۳۳۸ | ۱۴۴-۱۰۰٪     | ۱٪/۶۵-۴۵     | ۳٪/۵۸-۴۰     | ۶٪/۲۱-۱۴     | ندارد                       |
|       | ۶-۱۰۰٪       | ۳-۵۰٪        | ۷٪/۱-۱۶      | ۳٪/۲-۳۳      | دارد                        |
|       | ۱۵۰-۱۰۰٪     | ۳٪/۶۸-۴۵     | ۳٪/۵۹-۳۹     | ۳٪/۲۳-۱۵     | تعداد کل نمونه‌ها           |
|       |              |              |              |              | نخست‌زایی                   |
| ۰/۱۵۳ | ۷۴-۱۰۰٪      | ۸۱٪/۴۵-۶۰    | ۳۲٪/۱۸-۲۴    | ۸۶٪/۱۱-۱۴    | زنان نخست‌زای کنترل         |
|       | ۶۳-۱۰۰٪      | ۴۴٪/۲۸-۴۴    | ۵٪/۲۳-۳۶     | ۴٪/۱۲-۱۹     | زنان نخست‌زای بیمار         |
|       | ۱۳۷-۱۰۰٪     | ۲۸٪/۷۳-۵۳    | ۹۲٪/۴۱-۲۹    | ۷۸٪/۲۳-۱۶    | تعداد کل نمونه‌ها           |
|       |              |              |              |              | چندزایی                     |
| ۰/۰۰۲ | ۷۶-۱۰۰٪      | ۵٪/۵۴-۷۱     | ۱۰٪/۱۳-۱۷    | ۸۴٪/۹-۱۱     | زنان چندزای کنترل           |
|       | ۸۷-۱۰۰٪      | ۹۷٪/۴۰-۴۵    | ۳۷٪/۳۶-۴۱    | ۶۴٪/۱۱-۱۲    | زنان چندزای بیمار           |
|       | ۱۶۳-۱۰۰٪     | ۶۶٪/۹۴-۵۷    | ۶٪/۴۹-۳۰     | ۲۶٪/۲۰-۱۲    | تعداد کل نمونه‌ها           |

مقایسه‌ی گروه بیمار و کنترل با Chi-square test ( $P < 0/05$ ).

اهمیت است، کاملاً پذیرفته شده است و هم‌اکنون محققین معتقدند بروز پره‌اکلامپسی با پاسخ ایمنی TH<sub>1</sub> مرتبط می‌باشد.<sup>۲۸</sup> اعضای ابر خانواده اینترلوکین ۱۰، به‌عنوان سیتوکاین‌های ایفاکننده‌ی نقش در بارداری موفق دارای اثر بازدارندگی بر پاسخ ایمنی TH<sub>1</sub> می‌باشند، طوری که محققین اعلام داشته‌اند، سطح سرمی این سیتوکاین‌ها در مبتلایان به پره‌اکلامپسی کاهش می‌یابد.<sup>۲۹</sup> برخی مطالعات علت این کاهش را حضور پلی مورفیسم‌هایی در ژن رمزکننده‌ی سیتوکاین‌ها دانسته‌اند. برای مثال تغییرات پلی مورفیسمی سه موقعیت ۱۰۸۲-

( $P=0/207$ )، کم‌کاری تیروئید ( $P=0/157$ )، دیابت ( $P=0/541$ )، سابقه سقط ( $P=0/729$ )، سابقه ابتلا پیشین ( $P=0/662$ )، چندقلویی ( $P=0/338$ ) و نخست‌زایی ( $P=0/153$ ) با پلی مورفیسم مذکور ارتباط معناداری در گروه بیمار و کنترل دیده نشد. (جدول ۶ و ۷).

## بحث

براساس تحقیقات صورت گرفته، فرضیه‌ای که بیان می‌دارد انحراف به سمت پاسخ ایمنی TH<sub>2</sub> برای یک بارداری موفق حایز

چندقلوبی، نخست‌زایی و چندزایی بررسی شد که میان هیچکدام از پارامترهای مورد نظر تحقیق با پلی‌مورفیسم مذکور ارتباط معناداری در گروه بیمار و کنترل دیده نشد. به‌طور مشابه ارتباط معناداری بین ژنوتیپ پروموتور ژن اینترلوکین ۱۰ با فاکتورهای خطر پره‌اکلامپسی در مطالعه دیگری نیز مشاهده نشده است.<sup>۳۵</sup>

اما از آنجایی که بروز پره‌اکلامپسی به احتمال زیاد نتیجه‌ی تداخل عمل چندین ژن پلی‌مورفیک می‌باشد، عدم‌وجود ارتباط معنادار بین یک پلی‌مورفیسم ژنی با فاکتورهای خطر بیماری دور از انتظار نخواهد بود، بنابراین بهتر است جهت دستیابی به ارزیابی مطمئن‌تر وضعیت پلی‌مورفیسم در ژن‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرد.<sup>۳۶</sup>

با توجه به معنادار بودن ارتباط بین پلی‌مورفیسم (rs1028181) - 513T/C و بروز پره‌اکلامپسی که تاکیدکننده‌ی نقش زمینه‌ی ژنتیکی در بروز این بیماری است، می‌توان حضور این پلی‌مورفیسم را به‌عنوان عامل پیش‌بینی‌کننده‌ی ایجاد پره‌اکلامپسی در نظر گرفت و نتیجه گرفت که مارکر ژنتیکی چندشکلی، استراتژی‌های پیشگویی‌کننده‌ی مناسبی برای تشخیص زودرس پره‌اکلامپسی در هفته‌های پیش از هفته بیست بارداری می‌باشد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان ارتباط پلی‌مورفیسم (rs1028181) - 513T/C - ژن IL-19 با پره‌اکلامپسی در زنان باردار مراجعه‌کننده به بیمارستان ولی‌عصر کازرون در سال ۱۳۹۶ در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۶ و کد IR.IAU.KAU.REC.1398.004 دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می‌باشد که با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انجام شده است.

۸۱۹- و ۵۹۲- شناسایی شده در پروموتور ژن IL-10 با تولید نامنظم IL-10 و شروع و شدت پره‌اکلامپسی مرتبط دانسته شده‌اند.<sup>۳۱</sup> در این مطالعه نیز ارتباط حضور پلی‌مورفیسم (rs1028181) - 513T/C در ژن IL-19 با بیماری پره‌اکلامپسی در دو گروه بیمار و کنترل مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج اختلاف معناداری را در فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT و فراوانی هر دو آلل C و T در موقعیت پلی‌مورفیسم (rs1028181) - 513T/C ژن رمزکننده‌ی IL-19 بین زنان باردار مبتلا به پره‌اکلامپسی و زنان باردار سالم نشان داد.

طی این پژوهش مشخص شد که داشتن ژنوتیپ CT و حضور آلل T در این موقعیت، استعداد ابتلا به پره‌اکلامپسی را افزایش می‌دهد. در مطالعه‌ی نشان داده شده است که حضور نوکلئوتید G در موقعیت ۱۰۸۲- ژن اینترلوکین ۱۰ مبتلایان به پره‌اکلامپسی باعث کاهش سطح سرمی آن می‌شود.<sup>۳۲</sup>

به‌طور مشابه ارتباط بین چندشکلی‌های ژن‌های رمزکننده‌ی ابر خانواده‌ی اینترلوکین ۱۰ با سطح سرمی کاهش یافته‌ی این سیتوکاین‌ها در مبتلایان به آلرژی اثبات گردیده است.<sup>۳۳</sup>

همچنین نشان داده شده است که حضور پلی‌مورفیسم‌های rs153109 و rs17855750 در ژن رمزکننده‌ی IL-27 استعداد ابتلا به پره‌اکلامپسی را افزایش می‌دهند.<sup>۳۴</sup>

در مطالعه‌ی حاضر نیز ارتباط این پلی‌مورفیسم با فاکتورهای نظیر تشنج، میزان دفع پروتئین در ادرار، ورم بیمار، فشارخون، سن شروع، کم‌کاری تیروئید، دیابت، سابقه‌ی سقط، سابقه‌ی ابتلای پیشین،

## References

- Muchemi OM, Gichogo AW. Maternal mortality in central province, Kenya, 2009-2010. *Pan Afr Med J* 2014;17(1):201
- Sharemi SH, Milani F, Zahir Z, Zendedel M, Salamat F, Rafipour B, et al. Comparison of pre-eclampsia risk factors regarding to its severity in pregnant women referred to Alzahra Hospital of Rasht, Iran, 2012. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2013;16(69):1-8. (Persian)
- Duley L, Meher S, Abalos E. Management of pre-eclampsia. *BMJ* 2006;332(7539):463-8.
- Reyes LM, García RG, Ruiz SL, Camacho PA, Ospina MB, Aroca G, et al. Risk factors for preeclampsia in women from Colombia: a case-control study. *PloS one* 2012;7(7):e41622.
- Alahyari E, Rahimi Foroushani A, Zeraati H, Mohammad K, Taghizadeh Z. A. Predictive Model for the Diagnosis of Preeclampsia. *J Reprod Infertil* 2010; 10(4): 329.
- Lawlor D.A, Morton S. M, Nitsch D, Leon D. A. Association between childhood and adulthood socioeconomic position and pregnancy induced hypertension: Results from the Aberdeen children of the 1950s cohort study. *J Epidemiol Community Health* 2005; 59(1): 49-55.
- Taghizadeh Z, Rezaei-pour A, Kazemnejad A, Golboni F. Effect of Positive Predictive Value of Serum Hematocrit Levels on Early Detection of Preeclampsia. *Hayat* 2009;15(2):39-45.

8. Trogestad L, Magnus P, Stoltenberg C. Pre-eclampsia: Risk factors and causal models. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011;25(3):329-42.
9. Shen M, Smith GN, Rodger M, White RR, Walker MC, Wen SW. Comparison of risk factors and outcomes of gestational hypertension and pre-eclampsia. *PLoS one* 2017;12(4):e0175914.
10. Khalil MM, Alzahra E. Fetal gender and pregnancy outcomes in Libya: a retrospective study. *Libyan J Med* 2013;8(1).
11. Negro A, Delaruelle Z, Ivanova T, Khan S, Ornello R, Raffaelli B, et al. Headache and pregnancy: a systematic review. *J Headache Pain* 2017;18(1):1-20.
12. Burgess A, Johnson TS, Simanek A, Bell T, Founds S. Maternal ABO blood type and factors associated with preeclampsia subtype. *Biol Res Nurs* 2019;21(3):264-71.
13. Amaral LM, Wallace K, Owens M, LaMarca B. Pathophysiology and current clinical management of preeclampsia. *Curr Hypertens Rep* 2017;19(8):1-6.
14. Regal JF, Burwick RM, Fleming SD. The complement system and preeclampsia. *Curr Hypertens Rep* 2017;19(11):1-12.
15. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001;19(1):683-765.
16. Mahnam K, Payab N. Proactive cytokines and their containment methods. *J Biosaf* 2016;9(2):74-87.
17. Raghupathy R, Al-Azemi M, Azizieh F. Intrauterine growth restriction: cytokine profiles of trophoblast antigen-stimulated maternal lymphocytes. *Clin Develop Immunol* 2012;2012.
18. Conti P, Kempuraj D, Frydas S, Kandere K, Boucher W, Letourneau R, et al. IL-10 subfamily members: IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 and IL-26. *Immunol Lett* 2003;88(3):171-4.
19. Fickenscher H, Hör S, Küpers H, Knappe A, Wittmann S, Sticht H. The interleukin-10 family of cytokines. *Trends Immunol* 2002;23(2):89-96.
20. Morel F, Boniface K, Guignouard E, Pedretti N, Garcia M, Delwail A, et al. 104 A role for Th17-Derived IL-22 in Psoriatic Skin Inflammation. *Cytokine* 2007;1(39):28-9.
21. Commins S, Steinke JW, Borish L. The Extended IL-10 Superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121(5):1108-11.
22. Hsing C-H, Hsieh M-Y, Chen W-Y, So EC, Cheng B-C, Chang M-S. Induction of interleukin-19 and interleukin-22 after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2006;81(6):2196-201.
23. Huang F, Wachi S, Thai P, Loukoianov A, Tan KH, Forteza RM, et al. Potentiation of IL-19 expression in airway epithelia by IL-17A and IL-4/IL-13: important implications in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121(6):1415-21. e3.
24. Yılmaz V, Yentür SP, Saruhan-Direskeneli G. IL-12 and IL-10 polymorphisms and their effects on cytokine production. *Cytokine* 2005;30(4):188-94.
25. Sowmya S, Ramaiah A, Sunitha T, Nallari P, Jyothy A, Venkateshwari A. Role of IL-10-819 (t/c) promoter polymorphism in preeclampsia. *Inflammation* 2014;37(4):1022-7.
26. Sun L, Mao D, Cai Y, Tan W, Hao Y, Li L, et al. Association between higher expression of interleukin-8 (IL-8) and haplotype-353A/-251A/+678T of IL-8 gene with preeclampsia: A case-control study. *Medicine* 2016;95(52).
27. Lin J, Qin H, Wang Y, Liang J, Xu J, Jh X. Analysis of interleukin 19 serum levels and single nucleotide polymorphisms in systemic lupus erythematosus. *Genet Mol Res* 2016;15(2).
28. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Ann Rev Immunol* 2001;19(1):683-765.
29. Howell WM, Rose-Zerilli MJ. Cytokine gene polymorphisms, cancer susceptibility, and prognosis. *J Nutr* 2007;137(1):194S-9S.
30. Schneider BG, Camargo MC, Ryckman KK, Sicinski LA, Piazzuelo MB, Zabaleta J, et al. Cytokine polymorphisms and gastric cancer risk: an evolving view. *Cancer Biol Ther* 2008;7(2):157-62.
31. Westendorp RG, Langermans JA, Huizinga TW, Elouali AH, Verweij CL, Boomsma DI, et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet* 1997;349(9046):170-3.
32. Kamali-Sarvestani E, Kiany S, Ghahesi-Fard B, Robati M. Association study of IL-10 and IFN- $\gamma$  gene polymorphisms in Iranian women with preeclampsia. *J Reprod Immunol* 2006;72(1-2):118-26.
33. Chen T-K, Lee J-H, Yu H-H, Yang Y-H, Wang L-C, Lin Y-T, et al. Association between human IL-10 gene polymorphisms and serum IL-10 level in patients with food allergy. *J Formos Med Assoc* 2012;111(12):686-92.
34. Chen P, Gong Y, Pu Y, Wang Y, Zhou B, Song Y, et al. Association between polymorphisms in IL-27 gene and preeclampsia. *Placenta* 2016;37:61-4.
35. De Groot C, Jansen M, Bertina R, Schonkeren J, Helmerhorst F, Huizinga T. Interleukin 10-2849AA genotype protects against preeclampsia. *Genes Immun* 2004;5(4):313-4.
36. Redman C, Jacobson S, Russell R. Hypertension in pregnancy. de Swiet's Medical Disorders in Obstetric Practice. 2010:153-81.



## Association between IL-19 gene (-513T/C (rs1028181)) polymorphism with preeclampsia in pregnant women

### Abstract

Received: 11 Dec. 2020 Revised: 18 Dec. 2020 Accepted: 13 Mar. 2021 Available online: 21 Mar. 2021

Zeynab Mahmoodian M.Sc.  
Siros Naeimi Ph.D.\*  
Mohammad Mahdi Moghanibashi  
Ph.D.  
Khalil Khashei Varnamkhasti  
Ph.D.  
Marzieh Alipour Ph.D.

Department of Genetics, Faculty of  
Basic Sciences, Kazerun branch,  
Islamic Azad University, Kazerun,  
Iran.

**Background:** Despite years of continuous research, maternal mortality due to preeclampsia is still a serious threat. Researchers believe that preeclampsia is a multifactorial disease and proposed many risk factors including immunological factors for it. Given the description of preeclampsia as an excessive response of the immune system, the relationship between preeclampsia and immunological changes is of particular importance. Genetic polymorphisms are considered to be one of the causes of immunological defects. Due to the role of immunologic and inflammatory factors in the etiology of preeclampsia, in the present study, the association of rs1028181-513T/C polymorphism of interleukin 19 gene with preeclampsia in the patient and control groups who were referred to Valiasr hospital in Kazerun, was compared.

**Methods:** The present case-control study was conducted at Islamic Azad University of Kazerun from December 2016 to May 2017. 150 preeclampsia patients and 150 healthy pregnant women who were referred to Valiasr hospital in Kazerun, were enrolled. Genotypes of participants for the -513T/C (rs1028181) variant were determined by the Tetra Primer ARMS-PCR method. SPSS software and Chi-square statistical test were used for data analysis.

**Results:** In the position of the -513T/C (rs1028181) polymorphism, a significant difference in frequency of all genotypes (CC, CT and TT) ( $P=0.001$ ) and both alleles (C and T) ( $P=0.002$ ) between preeclampsia pregnant women and healthy pregnant women was observed. There was no significant relationship between the other parameters of the study with the mentioned polymorphism in the patient and control groups.

**Conclusion:** Due to the significant relationship between (rs1028181) -513T/C polymorphism and the occurrence of preeclampsia, which emphasizes the role of genetic predisposition in the development of preeclampsia disease, the presence of this polymorphism can be considered as a predictor of preeclampsia and concluded that polymorphic genetic markers are good predictive strategies for early detection of preeclampsia before the twentieth week of pregnancy.

**Keywords:** interleukin 19, polymorphism, preeclampsia, pregnant women.

\* Corresponding author: Department of  
Genetics, Faculty of Basic Sciences,  
Kazerun branch, Islamic Azad University,  
Kazerun, Iran.  
Tel: +98-91-71391420  
E-mail: Naeimi801@yahoo.com