مقایسه سطح سرمی و بیان ژن اینترلوکین ۱۸ و پروتئین واکنشگر C در بیماران دیابت نوع دو مبتلا به سندرم متابولیک و افراد سالم

لیلا یدالهی فارسانی[۱]، نوشا ضیاء جهرمی[۱*]، محمد واعظی پور[۲،۱]

۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲) دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۲۱**

چکیده

مقدمه: سندرم متابولیک به عنوان یک ناهنجاری بالینی متداول، با افزایش خطر بروز بیماری دیابت نوع ۲ و عوامل خطر قلبی-عروقی می باشد. افزایش واسطه های التهابی هم چون پروتئین واکنشگر C و سایتوکین های التهابی می تواند با بروز و پیشرفت سندرم متابولیک و دیابت نوع دو در ارتباط باشد.

مواد و روش ها: مطالعه حاضر بر روی ۳۵ بیمار زن و مرد با میانگین سنی ۵۵ سال، مبتلا به دیابت نوع دو همراه با سندرم متابولیک و ۳۵ فرد سالم به عنوان گروه شاهد انجام شد. نمونه های سرمی جدا شده جهت بررسی سطح سرمی اینترلوکین ۱۸ توسط کیت الایزا و پروتئین واکنشگر C، به روش کمی تا زمان انجام آزمایشات در ۲۰- نگهداری شد. استخراج RNA از سلول ها توسط کیت JenaBioscience انجام گرفت و در نهایت سنجش بیان ژن با استفاده از Real Time RT-PCR کمی به انجام رسید.

یافته های پژوهش: میانگین مقادیر سرمی اینترلوکین ۱۸ افزایش معنا داری داشت($P=0.008$) و سطح سرمی پروتئین واکنشگر C ($P<0.001$) در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو توام باسندرم متابولیک نسبت به افراد سالم افزایش معناداری داشت. هم چنین بیان ژن اینترلوکین ۱۸ ($P=0.003$) در سلول های لنفوسیت بیماران دیابت نوع دو همراه سندرم متابولیک در مقایسه با افراد سالم به طور معناداری بالاتر بود.

بحث و نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که بیماران مبتلا به دیابت نوع دو همراه سندرم متابولیک در مقابل افراد سالم مقادیر افزایش یافته ای از فاکتورهای التهابی از قبیل اینترلوکین ۱۸، پروتئین واکنشگر C را در سرم خود دارند. بنا بر این سطح سرمی اینترلوکین ۱۸، پروتئین واکنشگر C و میزان بیان ژن اینترلوکین ۱۸ می تواند نقش مهمی در پاسخ التهابی و پیشرفت بیماری دیابت نوع دو و سندرم متابولیک داشته باشد.

واژه های کلیدی: اینترلوکین ۱۸، پروتئین واکنشگر C، دیابت نوع دو، سندرم متابولیک

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

Email: n.zia@iaushk.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]

مقدمه

سندرم متابولیک یکی از شـــایع ترین بیماری های متابولیک دهه های اخیر می باشد که در صورت عدم درمان و مراقبت مناسب باعث کاهش کیفیت زندگی و افزایش خطر ابتلا به بیماری هایی مانند بیماری دیابت نوع دو، بیماری های قلبی-عروقی، ســـرطان و غیره می شود. این بیماری به دلیل اپیدمی گسترده اضافه وزن و چاقی در سراسر جهان هر روز بیشتر از قبل مورد توجه قرار می گیرد و برای تاکید بر جنبه های ناشناخته بیماری، آن را سندرم ایکس نام گذاری کرده اند(۱). یک چهارم از بزرگسالان در جهان مبتلا به سندرم متابولیک می باشند و در افراد دارای این سندرم در مقایسه با افراد سالم دو برابر احتمال مرگ و ۳ برابر احتمال حمله قلبی یا سکته پیش‌بینی می شود(۲). از جمله علائم این سندرم، چاقی شکمی سیبی شکل، چربی اضافه در ناحیه معده که عامل خطر بیشتری برای ابتلا به بیماری قلبی است، تجمع چربی در باسن، دور کمر بیشتر از ۸۸ سانتی متر برای زنان و ۱۰۲ سانتی متر برای مردان، سطح بالای تری گلسیرید خون بالاتر از ۱۵۰ میلی گرم در دسی لیتر، سطح پائین HDL (کلسترول خوب) پایین تر از ۴۰ میلی گرم در دسی لیتر در آقایان و پایین تر از ۵۰ میلی گرم در دسی لیتر در زنان، فشارخون بالا، فشارخون سیستولیک بالاتر از ۱۲۰ میلی لیتر جیوه و فشارخون دیاستولیک بالاتر از ۸۰ میلی لیتر جیوه، قندخون ناشتا بالاتر از ۱۰۰ میلی گرم در دســـی لیتر و مقاومت به انسولین می باشد. وجود ۳ یا بیشتر از ۳ معیار فوق از نظر بالینی مطرح کننده سندرم متابولیک می باشد(۳). سندرم متابولیک یک عامل خطر ساز برای دیابت نوع دو محسوب می شود و خطر بروز دیابت نوع دو در افراد با سندرم متابولیک ۴ برابر افراد طبیعی می باشد(۴). دیابت نوع دو عبارت است از اختلال در سوخت و ساز بدن است که با بالا بودن گلوکز خون در شرایط مقاومت در مقابل انسولین و کمبود نسبی انسولین شناسایی می شود(۵). نشانه های دیابت نوع دو عبارتند از احساس تشنگی مفرط، تکرر ادرار و احساس گرسنگی مفرط که حدود ۹۰ درصد دیابتی ها دچار این نوع دیابت می باشند. چاقی دلیل عمده دیابت نوع دو در افرادی است که به لحاظ ژنتیکی مستعد ابتلا به این بیماری هستند. مهم ترین عوامل خطر بروز دیابت نوع دو دریافت بالای انرژی، سن بالا، عدم تحرک و چاقی می باشد. ابتلا به دیابت به طرز قابل توجهی در ۵۰ سال اخیر به موازات چاقی افزایش یافته است. تا سال ۲۰۱۰ تقریباً حدود ۲۸۵ میلیون نفر مبتلا به این بیماری بودند و این در حالی است که تعداد آن ها در سال ۱۹۸۵ حدود ۳۰ میلیون نفر بوده است. عوارض ناشی از قندخون بالا می تواند شامل بیماری قلبی، سکته و نارسایی کلیه باشد(۶). دیابت نوع دو با التهاب مزمن همراه می باشد و بین فاکتورهای التهابی و شدت سندرم متابولیک ارتباط معناداری وجود دارد(۷).

یکی از اولین پاسخ های ایمنی ذاتی در مقابل عفونت ها و آسیب های بافتی، ترشح سایـــتوکین ها می باشد. سایتوکین ها به طور عمده توسط ماکروفاژها و لنفوسیت های تحریک شده ترشح می شوند(۸). اینترلوکین ۱۸ در بسیاری از ســـلول ها از جمـــــله سلول های عصبی(دندریتیک)، سلول های آندوتلیال، ماکروفاژهای کبدی و آدیپوسیت(بافت چربی) سنتز و ترشح می شود(۹). اینترلوکین ۱۸ یـــک سایتوکین التهابی است که توســـط ماکـــــروفاژهای فعال، مونوسیت ها و سلول های دندرتیک تولید شده و در تکامل و شکل گیری دیابت موثر است(۱۰). ژن اینترلوکین ۱۸ در ناحیه کروموزومی ۱۱q۲۲,۲–۲۲,۳ قرار دارد(۱۱). در مراحل اولیه ابتلا به دیابت اینترلوکین ۱۸ افزایش می یابد در نتیجه باعث افزایش رده فرعی لنفوسیت کمکی ۱ همراه با اثر تقویتی بر اینترلوکین ۱۲ شده و متعاقبا باعث افزایش قدرت سایتوتوکسیکی سلول ها می شود. نتیجه این مکانیسم ایجاد یک التهاب مزمن در فرد بیمار است(۱۲،۱۳). اینترلوکین ۱۸ به همراه برخی از اینترلوکیـــن هـــــای دیگر مانند اینترلوکین ۱، اینترلوکین ۶ با تولید ایمونوگلبولین در ایجاد پروسه های التهابی و ایمنی نقش مهمـــــی ایفا می کنند(۱۴،۱۵). اینترلوکین ۱۸ به عنوان فاکتور القاء کننده اینترفرون گاما در حضور اینترلوکین ۱۲ باعث القاء واکنش های ایمنی وابسته به سلول های کمکی ۱ می شود. در صورتی که در غیاب اینترلوکین ۱۲ باعث القاء واکنش های ایمنی وابسته به سلول های کمکی ۲

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]

می گردد. مطالعات صورت گرفته نشان می دهد که بازوفیل ها و ماست سل ها در واکنش به اینترلوکین ۱۸ و اینترلوکین ۳ مقدار زیادی اینترلوکین ۴ و اینترلوکین ۱۳ تولید می کنند(۱۶). اینترلوکین ۱۸ یک سایتوکین پیش التهابی است که جزء خانواده اینترلوکین ۱ است(۱۷،۱۸). گیرنده اینترلوکین ۱۸ به خانواده گیرنده اینترلوکین ۱ تعلق دارد. گیرنده اینترلوکین ۱۸ متشکل از دو زنجیره اتصال لیگاند و کورسپتور می باشد که وجود هر دو زنجیره برای سیگنالینگ لازم است(۱۹،۲۰). اینترلوکین ۱۸ از جمله سایتوکین هایی می باشد که با اثر همکاری با اینترلوکین ۱۲ باعث القاء تولید اینترفرون گاما شده و در نتیجه پاسخ ایمنی را به سمت سلول های کمکی نوع یک سوق می دهد، اینترلوکین ۱۸ در فرم بیولوژیکی به صورت یک پیش ساز غیر فعال ساخته می شود و بعد از این که به وسیله کاسپاز ۱ یا دیگر کاسپازها شکسته شد به فرم فعال تبدیل می شود(۸). پروتئین واکنشی(C) پروتئین اصلی فرآیندی به نام پاسخ مرحله حاد در خون است که از کبد ترشح و واکنش بدن در برابر هر نوع التهاب محسوب می شود(۲۱). هدف از انجام این مطالعه مقایسه سطح سرمی و بیان ژن اینترلوکین ۱۸ و پروتئین واکنشگر C در بیماران دیابت نوع دو مبتلا به سندرم متابولیک و افراد سالم می‌باشد.

مواد و روش ها

نمونه گیری: نمونه گیری(خون وریدی) از تعداد ۳۵ نفر(۲۰ نفر زن و ۱۵ نفر مرد) مبتلا به دیابت نوع دو و سندرم متابولیک از بین بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه های خصوصی و دولتی و مراکز درمانی در سطح شهرستان فارسان انجام شد. همچنین تعداد ۳۵ نفر(زن و مرد) از افراد سالم که از لحاظ سن(±۵) و جنس با گروه بیمار، همسان سازی شده بودند، به عنوان گروه کنترل تهیه گردید. نمونه گیری در یک فاصله زمانی ۳ ماهه و با تایید نهایی بیماری مستلزم بر بیماری دیابت نوع دو و سندرم متابولیک انجام گرفت. معیارهای ورود بیماران در این مطالعه تایید پزشک و عدم وجود بیماری های دیگر بود. به علاوه گروه کنترل فاقد هر گونه بیماری مرتبط با دیابت نوع دو و سندرم متابولیک بودند. بعد از گرفتن خون آن را به لوله پلی اتیلن ژل دار انتقال داده و برای جداسازی سرم از دستگاه سانتریفوژ با نیروی نسبی برابر با ۳۰۰۰g در مدت ۱۵ دقیقه استفاد شد. نمونه های سرم تا زمان انجام سنجش های بیوشیمیایی درون فریزر۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

جهت جداسازی لنفوسیت از خون کامل ۵ میلی لیتر خون حاوی ماده ضد انعقاد خون تهیه شد. سپس ۵ میلی لیتر نرمال سالین سرد به خون اضافه کرده و به آرامی مخلوط شد. سپس مقدار ۳ میلی لیتر فایکول را در یک لوله سانتریفوژ تمیز می ریزیم و ۵ میلی لیتر خون رقیق شده با نرمال سالین سرد را به آرامی بر روی فایکول اضافه می کنیم. لوله حاوی فایکول و خون را به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ می‌کنیم و لایه حاوی لنفوسیت ها را به آرامی جدا می کنیم و وارد یک لوله سانتریفوژ جدید می کنیم. معادل حجم لنفوسیت های جدا شده نرمال سالین سرد اضافه و به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ می کنیم. مایع روی سلول پک شده را بیرون ریخته و مقدار نیم میلی لیتر نرمال سالین سرد به سلول ها می افزاییم. سوسپانسیون سلولی را تا مرحله ارزیابی در ظرف یخ نگه می داریم. سپس تمام نمونه ها برای نگهداری طولانی مدت به دمای ۷۰- انتقال داده شدند.

اندازه گیری غلظت اینترلوکین ۱۸ در سرم: در این روش از کیت اینترلوکین ۱۸ با مارک EASTBIOPHARM طبق پروتکل شرکت سازنده انجام شد. در این سنجش اندازه گیری غلظت اینترلوکین ۱۸ با استفاده از تکنیک الایزای ساندویچی انجام گرفت. در زمان انجام آزمایش، نمونه های استاندارد، گروه کنترل سالم و بیماران مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ با استفاده از آزمون ANOVA از نظر بیان ژن در دو گروه مختلف بررسی گردید.

اندازه گیری میزان پروتئین واکنشگر C در سرم با روش فتومتریک: در این آزمایش از کیت پارس آزمون استفاده شد. پروتئین واکنشگر C موجود در نمونه بیمار با آنتی بادی حساس شده بر علیه پروتئین واکنشگر C انسانی، تشکیل کمپلکس داده و ایجاد کدورت

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]

می نماید. مقدار کدورت ایجاد شده با مقدار پروتئین واکنشگر C موجود در نمونه بیمار رابطه مستقیم دارد.

استخراج RNA و تهیه cDNA: برای بررسی بیان ژن مورد نظر، ابتدا با استفاده از کیت JenaBioscience، RNA تام سلولی از سلول استخراج شد. برای به حداقل رساندن فعالیت آنزیم RNase کلیه مراحل روی یخ و در شرایط RNase free انجام گرفت. کمیت RNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ در طول موج ۲۶۰/۲۸۰ مورد بررسی قرار گرفت. RNA تام سلولی توسط کیت شرکت تاکارا ژاپن به cDNA تبدیل شد. cDNA سنتز شده در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد برای مصارف بعدی نگهداری شد.

پرایمرها: در این مطالعه ژن IL-18 به عنوان ژن هدف مورد بررسی قرار گرفت. ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت توالی پرایمر ژن GAPDH ساخت کمپانی Macro Gen در جدول شماره ۱ آورده شده است.

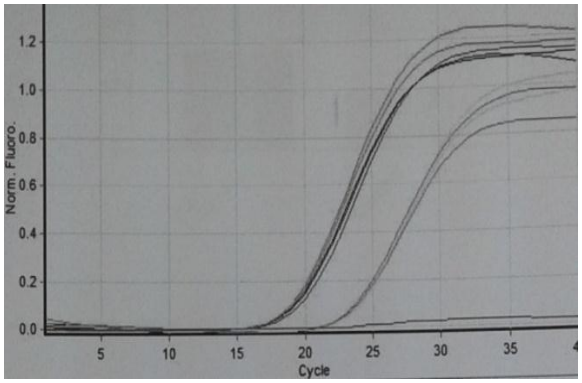
جدول شماره ۱. توالی پرایمرها

GAPDH-Forward	5'-GGAAGGTGA AGGTCGGAGTC-3'	Tm 62.5
GAPDH-Reverse	5'-TCAGCCTTG ACGGTGCCATG-3'	Tm 62.5
IL-18- Forward	5'-GACGCATG CCCTCAATCC-3'	Tm 58.4
IL-18- Reverse	5'-CTAGAGCGC AATGGTGCAATC-3'	Tm 61.3

واکنش Real Time RT- PCR: در این روش از یک رنگ اختصاصی DNA دو رشته ای به نام سایبرگرین به عنوان گزارش گر استفاده شد و در طی آمپلی فایر شدن سایبرگرین به شیار کوچک DNA دو رشته ای متصل می شود و در اثر تهیج از خود نور ساطع می کند بنا بر این با افزایش محصول میزان فلورسانس هم افزایش می یابد. برنامه زمانی-گرمایی دستگاه در سه مرحله تنظیم گردید. مرحله اول ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه، مرحله دوم ۳۵ سیکل که شامل ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه جهت واسرشتگی، ۶۱ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای جفت شدن(Annealing) و هم چنین ۷۲ درجه به مدت یک دقیقه برای مرحله گسترش (Extension) انجام شد. این واکنش ها در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر در میکروتیوب های ۰/۱ میلی لیتری انجام شد. ترکیبات هر واکنش شامل ۹ میکرولیتر از PCR Master Mix (۱x)، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت با غلظت ۵ پیکومولار، ۱ میکرولیتر از cDNA الگو و ۹ میکرولیتر RNase-free water بود. نمونه مورد نظر در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد. در این واکنش از ژن GAPDH به عنوان ژن مرجع استفاده کردیم. لازم به ذکر است که از کیت ترایزول RNA تام سلولی استخراج و بعد از آن با استفاده از کیت تاکارا نمونه ها به cDNA تبدیل شد و سپس نمونه ها با روش Real Time RT-PCR به منظور بررسی بیان ژن بررسی شد و نتایج حاصل به ژل الکتروفورز منتقل گردید و باند تشکیل شده مشاهده شد. بعد از اتمام واکنش Real timeRT- PCR سیکل آستانه هر نمونه به صورت جداگانه به دست آمد که با مقایسه سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن مرجع(Housekeeping)، میزان بیان ژن مورد نظر را به صورت کمی از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ =fold change به دست آمد. تکثیر ژن مورد نظر، عدم جفت شدن پرایمرها و عدم تکثیر غیر اختصاصی برای هر ژن با استفاده از منحنی تکثیر تعیین شد(نمودار شماره ۱).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]



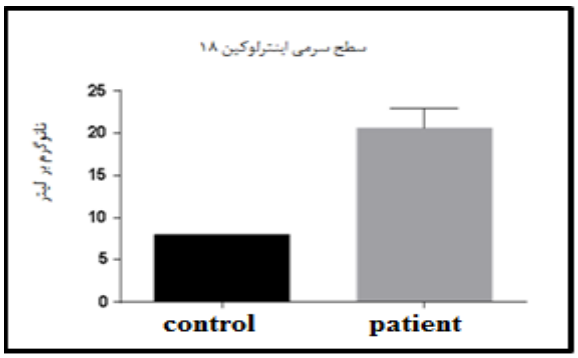
نمودار شماره ۱. منحنی تکثیر ژن اینترلوکین ۱۸

در نهایت اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ با استفاده از آزمون ANOVA از نظر بیان ژن در دو گروه مختلف بررسی گردید.

یافته های پژوهش

مطالعه حاضر بر روی ۳۵ نفر زن و مرد مبتلا به دیابت نوع دو و سندرم متابولیک پس از تشخیص قطعی بیماری و ۳۵ نفر زن و مرد سالم انجام شد.

مقادیر اینترلوکین ۱۸ در سرم افراد مبتلا به دیابت نوع دو و سندرم متابولیک: آنالیز آماری نشان داد که تفاوت معنی داری بین مقادیر سرمی اینترلوکین ۱۸ در افراد مبتلا به دیابت نوع دو و سندرم متابولیک و افراد سالم وجود دارد($P=0.008$)(شکل شماره ۱).

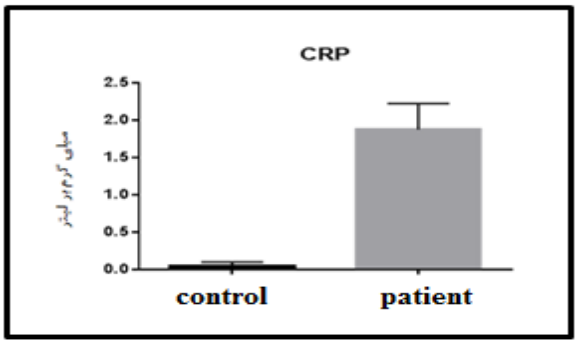


شکل شماره ۱. مقادیر سرمی اینترلوکین ۱۸ در افراد مبتلا به دیابت نوع دو و سندرم متابولیک و افراد سالم

مقادیر پروتئین واکنشگر C در سرم افراد مبتلا به دیابت نوع دو همراه سندرم متابولیک و گروه نرمال: آنالیز آماری نشان داد که تفاوت معنی داری بین مقادیر سرمیپروتئین واکنشگر C در افراد مبتلا به دیابت نوع دو و سندرم متابولیک و افراد سالم وجود دارد($P<0.001$)(شکل شماره ۲).

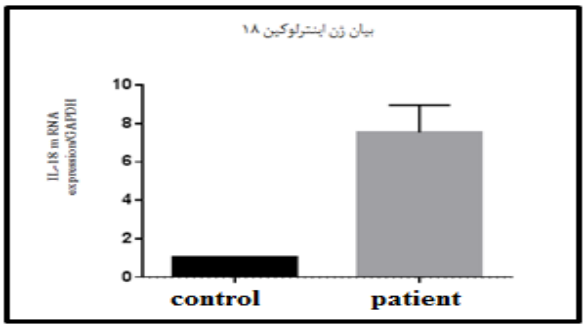
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]



شکل شماره ۲. مقادیر سرمی پروتئین واکنشگر C در گروه مبتلا به دیابت نوع دو همراه سندرم متابولیک و افراد سالم

مقادیر بیان ژن اینترلوکین ۱۸ در لنفوسیت های افراد مبتلا به دیابت نوع دو همراه سندرم متابولیک و گروه نرمال: آنالیز آماری نشان داد که تفاوت معنی داری بین مقادیر بیان ژن اینترلوکین ۱۸ در لنفوسیت های افراد مبتلا به دیابت نوع دو و سندرم متابولیک و افراد سالم وجود دارد($P=0.003$)(شکل شماره ۳).



شکل شماره ۳. مقادیر بیان ژن اینترلوکین ۱۸ در لنفوسیت های گروه مبتلا به دیابت نوع دو همراه سندرم متابولیک و افراد سالم

بحث و نتیجه گیری

یکی از اولین پاسخ های ایمنی ذاتی در مقابل عفونت ها و آسیب های بافتی، ترشح سایتوکین ها توسط سلول های بافتی و گلبول های سفید می باشد که این عمل برای پاسخ های التهابی حاد بسیار ضروری و حیاتی می باشد. سایتوکین ها به طور عمده توسط ماکروفاژها و لنفوسیت های تحریک شده ترشح می شود که از جمله این سایتوکین ها می توان به اینترلوکین ۱۸ و اینترلوکین ۱ اشاره نمود(۲۲). اینترلوکین ۱۸ شاخصی برای پیش بینی مرگ قلبی-عروقی در بیماران مبتلا به بیماری قلبی-عروقی بوده و در بروز دیابت نوع دو نقش اساسی دارد(۲۳). اینترلوکین ۱۸ نیز یک سیتوکین پیش التهابی و عضوی از خانواده بزرگ اینترلوکین ۱ می باشد. اگر چه از نظر ساختاری به اینترلوکین ۱ شبیه است، اما برخلاف اینترلوکین ۱، عملکرد بیولوژیکی اصلی آن افزایش تولید IFN-γ به وسیله سلول های T و القای تمایز سلول های $TCD4^+$ تولیدکننده IFN-γ می باشد. سلول هایی که منبع اصلی اینترلوکین ۱۸ هستند از جمله ماکروفاژها و سلول های دندریتیک می باشند. اینترلوکین ۱۸ به طور گسترده ای در بافت های انسانی بیان می شود و پیش ساز آن، به وسیله آنزیم کاسپاز ۱ برش می خورد تا اینترلوکین ۱۸ فعال را تولید کند. اینترلوکین ۱۸ فعالیت های بیولوژیکی متنوعی را از خود نشان می دهد، این سیتوکین پاسخ ایمنی Th1 را پیش می برد، سنتز IFN-γ را در سلول های T و سلول های کشنده طبیعی تحریک می کند و فعالیت سیتوتوکسیک سلول های کشنده طبیعی را از طریق

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]

تنظیم لیگاند(Fas) افزایش می دهد(۲۴). در این مطالعه سطح رونوشت اینترلوکین ۱۸ در لنفوسیت های بیماران دیابت نوع دو و سندرم متابولیک افزایش داشت. این امر نشان می دهد که دیابت و سندرم متابولیک در افزایش اینترلوکین ۱۸ نقش دارد. چرا که اینترلوکین ۱۸ در سرم و هم چنین در لنفوسیت های این افراد افزایش معناداری نشان داد. مطالعات حاضر برای اولین بار در ایران ارتباط بیماری دیابت نوع دو و سندرم متابولیک و اینترلوکین ۱۸ را مورد بررسی قرار داده است. مطالعات بسیاری به خصوص در کشورهای آسیایی انجام گرفته، طی مطالعه ای که در سال ۲۰۰۵ در ژاپن انجام شد. اندازه گیری سطح اینترلوکین ۱۸ با روش الایزا بر روی هشتاد و دو فرد ژاپنی مبتلا به دیابت نوع دو و ۵۵ فرد سالم به عنوان شاهد، پارامترهای بالینی و اندازه گیری اینترلوکین ۱۸ در سرم و ادرار این افراد و هم چنین اینترلوکین ۶ مورد برررسی قرار گرفت. نتایج سرم و ادرار حاصل از این تحقیق نشان داد که غلظت اینترلوکین ۱۸ در سرم و اینترلوکین ۱۸ در ادرار ارتباط معنی داری با دیابت نوع دو و سندرم متابولیک دارد، که این تحقیق با نتایج مطالعات حاضر هم خوانی داشت(۲۵). مطالعه Liu و همکاران در سال ۲۰۰۹ در لهستان بر روی ۱۳۰ فرد، ۶۲ فرد لاغر شاخص توده بدنی(BMI<25) کیلوگرم از ۳۰ مرد و ۳۲ زن و ۶۸ فرد با اضافه وزن از ۲۴ مرد و ۴۴ زن با تحمل قند طبیعی و بدون بیماری هم زمان انجام شد، و با اندازه گیری آزمایش تحمل گولوکز خوراکی، هایپر انسولینمی، غلظت سرمی اینترلوکین ۱۸، اینترلوکین ۶، گیرنده های فاکتور تومور نکروز آلفا و سطح آدیپونکتین در سرم این افراد با روش الایزا پرداختند. نتایج این دانشمندان حاکی از آن بود که سطح سرمی اینترلوکین ۱۸ با سطح سرمی آدیپونکتین رابطه معکوسی دارد و افزایش سطح سرمی اینترلوکین ۱۸ در افراد چاق با سطح آدیپونکتین(Adiponectin) و حساسیت به انسولین ارتباط معنی داری دارد که این تحقیق با نتایج مطالعات حاضر هم خوانی داشت(۲۶). مطالعه Troseid و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مورد اینترلوکین ۱۸ به عنوان یک پیش بینی کننده قوی حوادث قلبی-عروقی در مردان سالمند مبتلا به سندرم متابولیک بر روی ۵۶۳ مرد مسن ۲۲۱ بیمار و تعداد ۳۴۲ فرد بدون سندرم متابولیکی و با احتمال وجود مارکرهای التهابی با اندازه‌گیری اینترلوکین ۱۸ در سرم این بیماران دریافتند که سطح سرمی اینترلوکین ۱۸ و اینترلوکین ۶ در افراد مبتلا به سندرم متابولیک افزایش می یابد و اینترلوکین های التهابی قوی ترین پیش بینی کننده ها برای بیماری قلبی-عروقی می باشند. از سوی دیگر ارتباط معنی داری بین گلوکز ناشتا و اینترلوکین ۱۸ وجود دارد ولی با پروتئین واکنشگر C ارتباطی دیده نشد. افزایش گلوکز ناشتا ارتباط قابل توجهی با شاخص های التهابی داشت و نتیجه این که اینترلوکین ۱۸ یک فاکتور پیش بینی کننده برای حوادث قلبی-عروقی در افراد مبتلا به سندرم متابولیک است. یافته ها نشان داد که اثر متقابل مهار قندخون و واسطه های التهابی در پیش بینی بیماری های قلبی-عروقی وجود دارد که این تحقیق با نتایج مطالعات حاضر هم خوانی داشت(۲۷). اینترلوکین ۱۸ ممکن است در پاسخ های التهابی مزمن و افزایش پاسخ لنفوسیت کمکی ۱ و اثر متعاقب با اینترلوکین ۱۲ در دیابت نوع دو و سندرم متابولیک نقش مهمی ایفا کند. هم چنین این اینترلوکین ممکن است در تشدید این بیماری ها نقش داشته باشد. در مراحل اولیه ابتلا به دیابت اینترلوکین ۱۸ افزایش می یابد در نتیجه باعث افزایش رده فرعی لنفوسیت کمکی ۱ همراه با اثر تقویتی با اینترلوکین ۱۲ باعث افزایش قدرت سایتوتوکسیکی سلول ها می شود نتیجه این مکانیسم ایجاد یک التهاب مزمن در فرد بیمار می شود.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد مولف اول می باشد که با حمایت دانشگاه آزاد شهرکرد و در مرکز تحقیقات این دانشگاه به انجام رسید، که بدین وسیله نویسنده مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از این دانشگاه اعلام می نماید.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]

References

1. Aguilarsalinas CA, Rojas R, Gomezperez FJ, Mehta R, Franco A, Olaiz G, et al. The metabolic syndrome a concept hard to define. Arch Med Res2005; 36:223-31. doi: org/10.1016/j.arcmed.2004.12.003.

2. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. New England J Med1994; 331:1480-7. doi: 10.1056/NEJM19941201 3312203.

3. Schrier R. Effect of blood pressure control on diabetic microvascular complications in patients with hypertension and type 2 diabetes. Diab Care2000; 23: 54-64.

4. Guerreroromero F, Rodriguez M, Fuentes R, Guillen MC, Ortiz M, Abundis E, et al. Prediabetes and its relationship with obesity in Mexican adults the Mexican diabetes prevention study. Metab Syn Rel Disord2008; 6:15-23. doi: org/10.1089/met.2007.0020.

5. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and cotran pathologic basis of disease professional. 1th ed. Elsevier Health Sci Publication. 2014; P.123-234.

6. Fasanmade O, Odeniyi I, Ogbera A. Diabetic ketoacidosis diagnosis and management. Af J Med Sci2008; 37:99-105.

7. Wilund KR. Is the anti inflammatory effect of regular exercise responsible for reduced cardiovascular disease? Clin Sci2007; 112:543-55. doi: 10.1042/CS20060368.

8. Thorand B, Kolb H, Baumert J, Koenig W, Chambless L, Meisinger C, et al. Elevated levels of interleukin 18 predict the development of type 2 diabetes results from the MONICA/KORA augsburg study 1984-2002. Diabetes2005; 54:2932-8. doi: org/10.2337/diabetes. 54. 10.2932.

9. Kapoor M, Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier JP, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. Nature Rev Rheumatol2011; 7:33.

10. Pasdar Y, Moridi S, Najafi F, Niazi P, Heidary M. [The effect of nutritional intervention and physical activities on weight reduction]. J Kermanshah Uni Med Sci2012; 15:34-38. (Persian)

11. Zyberk C, Joosten LA, Helsen MM, Sattonnetroche P, Siegfried C, Alouani S, et al. Therapeutic effect of neutralizing endogenous IL 18 activity in the collagen induced model of arthritis. J Clin Invest2001; 108:1825-32.

12. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes1988; 37:1595-607. doi: org/10.2337/diab.37.12.1595.

13. Schaumberg DA, Glynn RJ, Jenkins AJ, Lyons TJ, Rifai N, Manson JE, et al. Effect of intensive glycemic control on levels of markers of inflammation in type 1 diabetes mellitus in the diabetes control and complications trial. Circulation2005; 111:2446-53. doi: org/10. 1161/01.CIR.0000165064.31505.3B

14. Selvaraj N, Bobby Z, Sridhar M. Oxidative stress does it play a role in the genesis of early glycated proteins? Med Hyp2008; 70:265-8. doi: org/10.1016/j.mehy. 2007. 04. 049.

15. Shafiee G, Hadaegh F, Azizi F. Comparison of waist to height ratio and body mass index for prediction of type 2 diabetes mellitus risk in women Tehran lipid and glucose study. Iranian J Endocrinol Metab2009; 11:121-6.

16. Sharma SK, Ghimire A, Radhakrishnan J, Thapa L, Shrestha NR, Paudel N, et al. Prevalence of hypertension obesity diabetes and metabolic syndrome in Nepal. Int J Hyperten2011; 2011. doi:10.4061/2011/821971.

17. Sprague AH, Khalil RA. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. Biochem Pharmacol2009; 78:539-52. doi.org/10.1016/j.bcp.2009.04.029

18. Stensvold D, Slordahl SA, Wisloff U. Effect of exercise training on inflammation status among people with metabolic syndrome. Metab Syn Rel Disord2012; 10:267-72. doi.org/10.1089/met.2011.0140.

19. Szeszko JS, Howson JM, Cooper JD, Walker NM, Twells RC, Stevens HE, et al. Analysis of polymorphisms of the interleukin 18 gene in type 1 diabetes and hardy weinberg equilibrium testing. Diabetes2006; 55:559-62. doi: org/10.2337/diabetes.55.02.06.db05-0826

20. Thompson S, Humphries S. Interleukin 18 genetics and inflammatory disease susceptibility. Gen Immun2007; 8:91.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]

21. Ramezanpour MR, Hejazi SM, Hosseinnezhad M. [The Comparison of HS-CRP TG LDL-c and HDL-c in Active and Non Active Middle aged Women]. Med J Mashhad Uni Sci2013; 56:93-8. (Persian)
22. Pankow JS, Jacobs DR, Steinberger J, Moran A, Sinaiko AR. Insulin resistance and cardiovascular disease risk factors in children of parents with the insulin resistance metabolic syndrome. Diabetes Care2004; 27:775-80. doi: org/10.2337/diacare.27.3.775.
23. Zirlik A, Abdullah SM, Gerdes N, Macfarlane L, Schonbeck U, Khera A, et al. Interleukin 18 the metabolic syndrome, and subclinical atherosclerosis results from the Dallas heart study. Arteriosclerosis Thromb Vascul Biol2007; 27:2043-9. doi: org/10.1161/ATVBAHA.107.149484.
24. Rooney T, Murphy E, Benito M, Lombard P, Fitzgerald O, Dayer J, et al. Synovial tissue interleukin 18 expression and the response to treatment in patients with inflammatory arthritis. Annal Rheum Dis2004; 63:1393-8. doi: org/10.1136/ard.2003.016428.
25. Nakamura A, Shikata K, Hiramatsu M, Nakatou T, Kitamura T, Wada J, et al. Serum interleukin 18 levels are associated with nephropathy and atherosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. Diabetes Care2005; 28:2890-5. doi: org/10.2337/diacare.28.12. 2890.
26. Liu SW, Qiao SB, Yuan JS, Liu DQ. Association of plasma visfatin levels with inflammation atherosclerosis and acute coronary syndromes in humans. Clin Endocrinol2009; 71:202-7. doi: org/10.1111/j.1365-2265.2008.03453.x.
27. Troseid M, Seljeflot I, Hjerkinn EM, Arnesen H. Interleukin 18 is a strong predictor of cardiovascular events in elderly men with the metabolic syndrome. Synergistic effect of inflammation and hyperglycemia. Diabetes Care2008. doi: org/10.2337/dc08-1710.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]

Comparison of Serum Level and IL-18 Gene Expression and Reactive Protein in Patients with Type 2 Diabetes with Metabolic Syndrome and Healthy People

Yadolahifarsani L[1], Ziajahromi N[1], Vaezipour M[1,2]*

(Received: December 31, 2018 Accepted: May 11, 2019)

Abstract

Introduction: Metabolic syndrome is a common clinical anomaly, with an increased risk of developing type 2 diabetes and cardiovascular risk factors. Increased inflammatory mediators, such as reactive protein,as well as the inflammatory cytokines can be associated with the incidence and progression of metaboli syndrome and type 2 diabetes.

Materials & Methods: This study was performed on 35 male and female patients with an average age of 55 years, type 2 diabetes mellitus with metabolic syndrome and 35 healthy subjects as control group. Separated serum samples were kept at -20 ° C for quantitative evaluation of serum IL-18 by ELISA kit and C-reactive protein. RNA extraction from cells was performed by JenaBioscience kit and finally Gene expression assay was performed quantitatively using Real Time RTPCR.

Findings: The mean serum levels of IL-18 were significantly increased (P=0.008), and serum reactive protein (P<0.001) was significantly increased in patients with type 2 diabetes mellitus with metabolic syndrome compared with healthy subjects. Also, expression of IL-18 gene (P=0.003) in lymphocyte cells of type II diabetes patients with metabolic syndrome was significantly higher than healthy subjects.

Discussion & Conclusions: The present study showed that patients with type 2 diabetes mellitus with metabolic syndrome have high levels of inflammatory factors such as IL-18 in their serum. it can be concluded that serum levels of IL-18, C-reactive protein and IL-18 expression play an important role in inflammatory response and progression. Type 2 diabetes and metabolic syndrome.

Keywords: Interleukin 18, C-reactive protein, Type II diabetes, Metabolic syndrome

1.Dept of Basic Science, Faculty of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran,
2.Faculty of Medical Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran,
**Corresponding author Email: n.zia@iaushk.ac.ir*

Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-07-30]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.3.173]