



ارتباط پلی مورفیسم ناحیه پروموتور (-1082 A/G) (rs1800896) ژن IL10 انسانی با بیماری پسوریازیس و لکاریس در غرب مازندران و شرق گیلان با استفاده از تکنیک ARMS-PCR

الهه ناز حاجی مطلبی: کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
^{ID} سمیه اسدیان نارنجی: استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران (* نویسنده مسئول)
S_Asadian@toniau.ac.ir
رضا گلیجانی مقدم: استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

پسوریازیس،
اینترلوکین ۱۰،
پلی مورفیسم،
ARMS-PCR

زمینه و هدف: پسوریازیس، نوعی بیماری مزمن التهابی پوستی چند عاملی و با زمینه‌ایمونوژنتیکی است که در بین جمعیت‌ها و قومیت‌های مختلف شیوع دارد. اینترلوکین ۱۰ یک سایتوکاین ضد التهابی است که توسط منوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها و سایر سلول‌ها تولید می‌شود. چندین مطالعه که به بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs1800896 ژن اینترلوکین ۱۰ و حساسیت پذیری به بیماری پسوریازیس پرداخته‌اند، نتایج ضدو نقیضی را نشان دادند؛ بنابراین هدف مطالعه اخیر، بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم -1082G/A ژن IL-10 و پسوریازیس در شمال ایران می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه مورد-شاهدی، تعداد ۵۰ نمونه خون تام افراد مبتلا به پسوریازیس در غرب مازندران و شرق گیلان که بیماری آنان توسط پزشک متخصص تایید شده بود و نیز تعداد ۳۵ نمونه خون تام افراد سالم به عنوان گروه کنترل که تمام شرایط گروه کنترل را دارا بودند، از آزمایشگاه‌های مناطق ذکر شده جمع‌آوری گردید. بعد از استخراج DNA نمونه‌ها، به کمک روش ARMS-PCR، ارتباط بین ژنوتیپ‌های AA، AG و GG در ژن IL-10 با احتمال ابتلا به پسوریازیس تعیین شد. به منظور تایید صحت انجام کار از تکنیک تعیین توالی استفاده شد. معنی‌دار بودن تفاوت در فراوانی آللی و ژنوتیپی بین دو گروه با آزمون مربع کای دو بر سر گردید. به منظور حذف اثر عوامل مداخله گر احتمالی از آزمون رگرسیون لجیستیک استفاده شد و Odds Ratio در محدوده اطمینان (۹۵٪) CI محاسبه گردید. $p < 0.05$ به عنوان مقدار سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج حاصله نشان داد تفاوت معناداری در میزان بروز این آلل‌ها بین دو گروه مورد مطالعه وجود دارد، بطوریکه آلل G در افراد مبتلا به پسوریازیس بیشتر از افراد سالم می‌باشد و از نظر ژنوتیپی، ژنوتیپ GG در افراد مبتلا به پسوریازیس در مقایسه با افراد سالم بیشتر است؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت، ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم rs1800896 ژن اینترلوکین ۱۰ و استعداد ابتلا به بیماری پسوریازیس در غرب مازندران و شرق گیلان وجود دارد.

نتیجه‌گیری: پیشنهاد می‌شود برای حصول اطمینان بیشتر و نتایج قابل تعمیم، بررسی در مناطق مختلف ایران و با جامعه آماری تا حد ممکن بالاتر و نیز بر روی تمام پلی مورفیسم‌های این ژن انجام شود.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Haji Motalebi E, Assadian narenji S, Golejani moghadam R. Association of (-1082 A/G) (rs1800896) Promoter Region of Human IL-10 Gene Polymorphisms with Psoriasis Vulgaris in The West of Mazandaran and East of Guilan Provinces Using ARMS-PCR Technique. Razi J Med Sci. 2022;29(6):73-88.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

Association of (-1082 A/G) (rs1800896) Promoter Region of Human IL-10 Gene Polymorphisms with Psoriasis Vulgaris in The West of Mazandaran and East of Guilan Provinces Using ARMS-PCR Technique

Elahenaz Haji Motalebi: MSc, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

Somayeh Assadian narenji: Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran (* Corresponding author) S_Assadian@toniau.ac.ir

Reza Golejani moghadam: Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

Abstract

Background & Aims: Psoriasis is a chronic inflammatory skin disease with an immunogenetic background that is prevalent among ethnic groups. The prevalence of this disease varies from region to region; and it is reported to affect 2-4% of the population in Western countries. While in Asian and some African countries, the lowest prevalence rate (between 0.3 to 1.2% in China) has been reported. On the other hand, in the Scandinavian and Caucasian populations, this rate reaches 11%. In Iran, its prevalence is between 1.3% to 2.5% (1-3, 5, 7). IL-10 is a cytokine produced primarily by monocytes and lymphocytes. The gene encoding IL-10 is located on the long arm of chromosome 1. The promoter region is highly polymorphic, with 3-point mutations including: single nucleotide polymorphisms (SNPs) at positions: -1082 (G/A), -819 (C/T) and -592 (C/A) (4, 12, 13, 14). The association between interleukin-10 gene rs1800896 polymorphism and susceptibility to psoriasis has been investigated in several studies, but with contradictory findings. Therefore, the aim of the present study was to investigate the possible links between -1082(G/A) polymorphism of the IL-10 gene and psoriasis in cases from the north of Iran. The results of this study can be used to find biomarkers that are used in personal medical science for the early diagnosis of diseases and are highly regarded by the scientific community today.

Methods: This case-control study was performed on 50 patients and 35 healthy individuals in the west of Mazandaran and east of Guilan province. Genomic DNA was extracted from the blood samples and genotyping was performed by means of the amplification refractory mutation system polymerase chain reaction (ARMS-PCR) method. This method is based on the design of specific pairs of allele primers and the amplification of the desired allele. To amplify the region containing the mutation, two primer pairs can be used, designed for mutated alleles and natural alleles, respectively. All primers used were designed using Gene Runner and Oligo7 software based on the IL-10 gene sequence on chromosome 1. After selecting the primers, their sequences were compared with the sequences of the human genome in the Gene Bank database. In the primer design, in addition to the 3' terminal mismatch, at the third end of 3' primers, a base was changed to ensure that the primer did not bind to the opposite allele. The results were validated using the DNA sequencing method. To perform this reaction, a vial containing 25 μ l of Master Mix, 2 μ l of each primer; and 5 μ l of DNA was used and reached to 50 μ l by adding 16 μ l of distilled water. The mix was then placed in a thermocycler with an annealing binding temperature of 61.5 °C to perform the polymerase chain reaction. After PCR, qualitative analysis was performed using 2.5% agarose gel; and the rest of the PCR products with Reverse primer were sent to taq-Copenhagen

Keywords

Psoriasis,
Interleukin-10,
Polymorphism,
ARMS PCR

Received: 25/06/2022

Published: 27/08/2022

(Denmark) for PCR Sequencing. The submitted sequence analysis was performed using Chromas software and the known mutations in the samples were confirmed. Data were analyzed using the chi-squared test. A logistic regression test was used to eliminate the effect of possible interfering factors and odd ratios (OR) and their respective 95% confidence intervals were calculated.

Results: AA, AG, and GG genotypes and A and G alleles were examined in patients with psoriasis. The genotypic distribution of the patient and control groups was in Hardy-Weinberg equilibrium. PCR products were analyzed on 2.5% agarose gel using a DNA marker with a molecular weight of 100 bp. The results of statistical studies showed that the studied groups did not differ significantly in terms of gender and age. The frequency percentages of AA, AG and GG genotypes were 82%, 18% and 0% in the control group and 56%, 32% and 12% in the patient group, respectively. This difference is significant at the level of 0.05 ($p = 0.014$). Also, the frequency of A and G alleles in the control group were 91% and 9%, respectively, and in the patient group were 72% and 28%, respectively. Therefore, this difference is significant at the level of 0.05 ($p = 0.002$).

The results showed that there is a significant difference in the frequency of alleles between the two groups; so the G allele is detected more in people with psoriasis than healthy group and in terms of genotypic distribution, the GG genotype in the psoriasis group is more than the controls. Also, due to the fact that this significant difference may be related to interfering and in Fisher's exact test, these factors were not controlled, so logistic regression was used to remove these factors. The results showed that even after matching and eliminating the interfering factors, there were still significant differences between the genotypes. Therefore, a significant relationship is observed between rs 1800896 rs polymorphism of interleukin 10 gene and susceptibility to psoriasis.

Conclusion: We conclude that IL-10 gene polymorphism (rs 180096) is likely to increase the risk of susceptibility to psoriasis in western Mazandaran and eastern Gilan. According to various studies, it can be seen that one of the reasons for explaining the contradictory results could be that these studies have been conducted on different populations around the world. Another possible reason is that the regulation of IL-10 varies in different cell types (T cells, B cells, and macrophages) and with different stimuli. In addition, transcriptional levels and IL-10 protein levels may differ due to post-transcriptional regulation of IL-10 gene expression. Other causes of different results in the study of gene polymorphisms include different gene pools, molecular methods used; and the size of the study population. Using the right sample size for each type of disease phenotype can better reflect the true effect of the polymorphism on the characteristics of that disease (1, 13,15, 44). More research is needed focusing on different populations to reach a definitive overall conclusion about this relationship. Also; studies should be conducted in a larger group of patients as high as possible and on all polymorphisms of this gene in order to validate these findings.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Haji Motalebi E, Assadian narenji S, Golejani moghadam R. Association of (-1082 A/G) (rs1800896) Promoter Region of Human IL-10 Gene Polymorphisms with Psoriasis Vulgaris in The West of Mazandaran and East of Guilan Provinces Using ARMS-PCR Technique. Razi J Med Sci. 2022;29(6):73-88.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

پسوریازیس و لگاریس که پسوریازیس پلاک نیز نامیده می‌شود، نوعی بیماری پوستی مزمن خود ایمنی، با زمینه پلی ژنیک و چند عاملی است که تأثیر منفی بر کیفیت زندگی بیماران گذاشته (۱، ۲) و فرد مبتلا را با مشکلات جسمانی و اجتماعی زیادی روبرو می‌سازد (۳). در این بیماری که با التهاب همراه است، سلول‌های T و نوتروفیل‌ها به لایه‌های درم و اپیدرم پوست نفوذ کرده و در اثر تکثیر بیش از حد اپیدرم و تمایز نابجای کراتینوسیت‌ها، پوست فلس مانند و پوسته پوسته می‌شود (۴). از مهم‌ترین تظاهرات بالینی می‌توان به پلاک‌های خارش‌دار کاملاً مشخص و اریتماتیک، سوزش و حساسیت، درد و پوستی پوشیده از فلس‌های نقره‌ای اشاره کرد. این پلاک‌ها که در نواحی تنه، سطح کششی اندام‌ها و پوست سر رایج‌ترند، می‌توانند به هم پیوند خورده و مناطق وسیعی از پوست را بپوشانند (۲ و ۵). این بیماری یک عارضه مادام‌العمر است و بنابراین هدف اصلی درمان، کنترل آن و طولانی کردن فواصل عود بیماری می‌باشد (۵). از اثرات نامطلوب این بیماری می‌توان به اختلال جسمی در فعالیت‌های روزانه، اضطراب، کناره‌گیری اجتماعی و تجربه بیماری‌های قلبی، دیابت، افسردگی و غیره اشاره نمود (۶).

شیوع این بیماری در سراسر جهان بسته به مناطق مختلف متفاوت است و طبق گزارشات، در کشورهای غربی ۲-۴٪ جمعیت را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در حالیکه در کشورهای آسیایی و برخی کشورهای آفریقایی، کمترین میزان شیوع (بین ۰/۳ تا ۱/۲٪ در چین) گزارش شده است. از طرفی در جمعیت‌های اسکانندیناوی و قفقازی این میزان به ۱۱٪ می‌رسد (۱، ۲، ۳، ۷). در ایران، شیوع آن بین ۱/۳٪ تا ۲/۵٪ می‌باشد (۵).

بر اساس تحقیقات جدید، فاکتورهای ژنتیکی در سن شروع بیماری، تظاهرات بالینی، نوع و شدت بیماری تأثیرگذار هستند (۶). با توجه به وراثت‌پذیری نسبت بالای این بیماری، تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی در سراسر جهان به منظور شناسایی ژن‌هایی که خطر ابتلا به پسوریازیس را تحت تأثیر قرار می‌دهند، در حال انجام است. بر اساس مطالعات، چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی مختلف (SNPs) که در فرایندهایی چون

عملکرد سد کنندگی پوست و تنظیم پاسخ‌های ایمنی و التهابی دخالت دارند، با افزایش خطر پسوریازیس در ارتباط هستند (۸). بررسی‌ها نشان داده که بیان بیش از حد پوستی و سیستمیک چند سایتوکاین پیش التهابی به‌ویژه سایتوکاین‌های تیپ ۱ نظیر اینترلوکین-۲ (IL-۲) (۲)، اینترلوکین-۶ (IL-۶) (۶)، اینترلوکین-۸ (IL-۸) و فاکتور نکروزه‌ی توموری آلفا (TNF- α) مسئول شروع، حفظ و عود آسیب‌های پوستی هستند. از طرف دیگر، سایتوکاین‌های ضد التهابی نظیر IL-۱، IL-۴ و IL-۱۰، در این بیماری بیان نسبت کمی داشته‌اند (۹). به نظر می‌رسد کمبود IL-۱۰ در پاتوفیزیولوژی پسوریازیس نقش اساسی دارد (۴، ۱۰، ۱۱) و از طرفی، تزریق سیستمیک IL-۱۰ در درمان بیماری مؤثر بوده است (۱۱).

اینترلوکین‌ها، انواع مولکول‌های سیگنالینگ هستند که عملکرد سیستم ایمنی بدن انسان را تنظیم می‌کنند. چند شکلی‌های ژنتیکی در اینترلوکین‌ها، ارتباط نزدیکی با میزان فعالیت آن‌ها دارد. IL-۱۰، یک هومودایمر ۳۷ کیلودالتونی و یک سایتوکاین ضد التهابی چند عملکردی مهم است که به‌طور طبیعی توسط سلول‌های Th، سلول‌های Treg، همچنین برخی ماکروفاژهای فعال شده، منوسیت‌ها، ماست سل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، لنفوسیت‌های B و کراتینوسایت‌ها تولید می‌شود و مهارکننده بالقوه تکثیر سلول‌های T و تولید سایتوکاین تیپ ۱ است و تشکیل سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF را در سلول‌های T و منوسیت‌ها مهار می‌کند (۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶). این اثرات IL-۱۰، در کنترل پاسخ‌های التهابی پوستی ضروری است (۴، ۱۲). همین دلیل این سایتوکاین به عنوان یک تعدیل‌کننده پاسخ ایمنی شناخته شده است (۱۲). ژن کد کننده IL-۱۰ بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱ (q31-1q32) قرار دارد و از ۴ اینترون و ۵ اگزون تولید کننده یک پروتئین ۱۷۸ آمینو اسیدی تشکیل شده است (۱۲، ۱۵، ۱۷، ۱۸) چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) جایگزین‌های دو آللی جفت بازی هستند و تقریباً ۶ میلیون SNP مشترک در ژنوم انسان وجود دارد (۱۹). تولید IL-۱۰ در ارتباط با تغییرات ژنتیکی و SNPs ها در منطقه پروموتور آن است و این منطقه که رونویسی را کنترل می‌کند بسیار پلی مورفیک بوده (۴، ۹) و حاوی دو

ژن و بیماری پسوریازیس مطالعات کم و معدود و گاه ضد و نقیض وجود دارد. اسداله (Asadullah) و همکاران در ۱۹۹۸ در مطالعه خود دریافتند که بیان mRNA IL-0 پوستی در بیماری پسوریازیس کمتر از سایر التهابات پوستی بوده است. همچنین بر اساس شواهد، با تجویز دارو هایی که سبب افزایش سطح IL-10 می‌شدند، بهبود پسوریازیس مشاهده شد. به همین دلیل یک پیشنهاد برای تخفیف این بیماری، تجویز IL-10 بود (۲۲). در سال ۱۹۹۹، رایش (Reich) و همکاران، در مطالعه خود هیچ اختلاف معنی‌داری را در پلی مورفیسم IL-10 در موقعیت 1082- بین گروه بیمار و گروه کنترل و در اوایل و اواخر بیماری مشاهده نکردند. (۲۳). از طرفی، کراون (Craven) و همکارانش در سال ۲۰۰۱، اختلاف معنی‌داری را در توزیع ژنوتیپی مربوطه بین دو گروه کنترل و گروه بیمار مبتلا به پسوریازیس که در مرحله آخر بیماری بودند مشاهده نمودند. این گروه بیمار فراوانی بالاتری از ژنوتیپ G/A نسبت به گروه کنترل داشتند اما ژنوتیپ‌های G/G و A/A در آن‌ها نسبت به گروه کنترل کمتر بود (۲۴). در مطالعه‌ای که کینگو (Kingo) و همکارانش در سال ۲۰۰۳ انجام دادند، در توزیع هاپلو تایپ سه پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی IL-10 (1082، 819، و -592) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. با بررسی نتایج، محققین این‌طور استنباط کردند که هاپلو تایپ ACC در پیشرفت بیماری نقش محافظتی دارد و تایید کننده مطالعات قبلی بود که پیشنهاد می‌کرد هاپلو تایپ ACC (تبدیل A به G در موقعیت 1082-) با تولید بالای IL10 همراه است (۱۰). در مطالعه دیگری که توسط باران (Baran) و همکارانش در ۲۰۰۸ صورت پذیرفت ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم ناحیه پروموتوری ژن IL-10 و حساسیت به بیماری پسوریازیس دیده نشد (۹).

با توجه به اینکه به نظر می‌رسد بین IL-10 و بیماری پسوریازیس ارتباط وجود دارد و از آنجائی که تغییرپذیری ژن‌هایی که این سایتوکاین را کد می‌کنند می‌تواند روی بیان آن تأثیر گذار باشد، هدف از این مطالعه این است که ارتباط ژنتیکی پلی مورفیسم rs

مایکروساتلایت به نام‌های IL-10.G و IL-10.R و نیز پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی مختلفی است که سه عدد از آن‌ها که در مکان‌های (G/A)1082-، (C/T)819 و (C/A)592- رخ داده و به‌صورت سه هاپلو تایپ ACC، GCC و ATA ظاهر می‌شوند، از بقیه رایج‌تر بوده و با تعدادی از بیماری‌ها در ارتباط هستند (۱۳، ۱۴، ۱۵). این پلی مورفیسم‌ها در نواحی تنظیمی موجود در پروموتور واقع شده‌اند، در نتیجه می‌توانند جایگاه‌های اتصال فاکتورهای رونویسی را تغییر داده و بدین ترتیب بر میزان تولید IL-10 اثر می‌گذارند. کاهش تولید IL-10 سبب تغییر همئوستازی ایمنولوژیک بدن شده و منجر به پاتوژن بیماری‌های التهابی مختلف از جمله پسوریازیس می‌شود. ژن IL-10، به دلیل موقعیت مکانی‌اش، پلی مورفیسم ژنتیکی‌اش و ارتباط عملکردی‌اش در بسیاری از مطالعات مورد توجه قرار می‌گیرد (۱۵). از بین این پلی مورفیسم‌ها، پلی مورفیسم ۱۰۸۲- ناحیه پروموتوری این ژن با اختلالات ایمنی و التهابی چندانگانه در ارتباط است (۲۰). مطالعات انجام شده قبلی نشانگر وجود ارتباط بین این SNPs ها در ناحیه پروموتور IL-10 و سطوح بیان IL-10 هستند اما نتایج حاصل از این تحقیقات ضد و نقیض است. دلیل احتمالی این نتایج متفاوت می‌تواند این باشد که تنظیم IL-10 در سلول‌های مختلف (سلول‌های T، B و ماکروفاژها) و نیز با محرک‌های مختلف، با هم تفاوت دارد (۱۳). برخی یافته‌ها نشان داده‌اند که حضور A در موقعیت 1082- (تبدیل G به A در موقعیت 1082-) در ارتباط با کاهش سطح IL-10 بوده و حضور G (تبدیل A به G در موقعیت 1082-) با تولید بیشتر این سایتوکاین همراه است. در برخی مطالعات نیز ارتباط برعکس بین پلی مورفیسم در موقعیت 1082- و تولید IL-10 گزارش شده است (۹). نقش پلیوتروپیک IL-10 در تنظیم سیستم ایمنی بدن در کنار تنظیم پلی مورفیک بیان آن، سبب ایجاد چالش‌هایی در تفسیر نتایج به‌ویژه نتایج مربوط به پاتوفیزیولوژی بیماری‌ها شده است (۲۱).

در زمینه ارتباط بین پلی مورفیسم‌های رایج در IL-10 از جمله پلی مورفیسم ۱۰۸۲- ناحیه پروموتوری این

استفاده از روش فنل-کلروفورم اصلاح شده صورت پذیرفت. بدین منظور از بافر لیز کننده‌ی سلول شامل Mgcl₂, Sucrose 11% w/v, Tris-Hcl 10mm/l, Triton X-100(1%u/v), 5mm/l بافر لیز کننده‌ی هسته شامل SDS 1% w/v, Tris-Hcl 10mm/l, EDTA 10mm/l و Sodium citrate 10mm/l و NaCl 5mol استفاده شد. سپس کمیت و کیفیت نمونه‌های استخراج شده با استفاده از دستگاه بایوفوتومتر (اپندرف-آلمان) بررسی شد. همچنین به دلیل اهمیت کیفیت نمونه‌ها، تمام DNA های استخراج شده با کمک الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ مورد بررسی کیفی قرار گرفتند. نمونه‌هایی که کیفیت مناسب نداشتند دوباره استخراج شدند. نمونه‌های با کیفیت مناسب و ۲-۱/۸ = OD260/280 برای ادامه کار استفاده شدند.

ژنوتایپینگ: برای شناسایی پلی مورفیسم rs 1800896 ژن IL-10 در موقعیت A/G-1082، روش ARMS-PCR بکار برده شد. این روش بر اساس طراحی جفت آغازگرهای اختصاصی آلل‌ها و تکثیر آلل مورد نظر انجام می‌شود. برای تکثیر منطقه حاوی جهش می‌توان از دو جفت آغازگر که به ترتیب برای آلل جهش یافته و آلل طبیعی طراحی شده استفاده کرد (۲۵). خصوصیات کلی جفت آغازگرهای مخصوص آلل جهش یافته و آلل طبیعی در جدول ۱ نشان داده شده است. تمام آغازگرهای استفاده شده به کمک نرم‌افزارهای gene Runner و Oligo7 و بر اساس توالی ژن IL-10 بر روی کروموزوم شماره ۱ طراحی شدند. بعد از انتخاب آغازگرها، توالی آن‌ها با توالی ژنوم انسان در پایگاه Gene Bank مقایسه گردید. در طراحی آغازگر، علاوه بر عدم تطابق انتهای ۳'، در سومین باز انتهای ۳' آغازگرها یک باز تغییر داده شد تا از عدم اتصال آغازگر به آلل مخالف اطمینان حاصل شود. به منظور اپتیمایز کردن، واکنش ARMS PCR در دو ویال جداگانه انجام گرفت که هر کدام حاوی ۱۰ μl از Master Mix 2x ساخت کشور دانمارک و ۵ μl DNA استخراج شده بود. به یکی از ویال‌ها ۱ μl از هر کدام جفت آغازگر ۱۰ پیکو مول آلل طبیعی (وحشی) و به

1800896 ژن IL-10 در موقعیت A/G-1082 را با بیماری پسوریازیس در جمعیت ایرانی غرب استان مازندران و شرق گیلان بررسی نماییم و فراوانی ژنوتیپی و آللی آن را در دو جمعیت بیمار و سالم مقایسه کنیم. نتایج حاصل از این تحقیق در یافتن بیومارکرهای زیستی که در علم پزشکی شخصی برای تشخیص زودرس بیماری‌ها کاربرد داشته و امروزه بسیار مورد توجه مجامع علمی است، قابل استفاده خواهد بود.

روش کار

پروپوزال این پژوهش توسط کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی واحد رشت مورد بررسی و کد اخلاق IR.IAU.RASHT.REC.1398.013 به آن تعلق گرفت. پژوهشگر متعهد شد که تمام اصول اخلاقی کار با نمونه‌های بالینی را به‌طور کامل رعایت نماید و از نمونه‌ها صرفاً در این تحقیق استفاده نماید.

روش نمونه‌گیری: در این مطالعه مورد-شاهدی، تعداد ۵۰ نمونه خون تام افراد مبتلا به پسوریازیس در غرب مازندران و شرق گیلان که بیماری آنان توسط پزشک متخصص تایید شده بود و نیز تعداد ۳۵ نمونه خون تام افراد سالم به عنوان گروه کنترل که تمام شرایط گروه کنترل از جمله سلامت، مطابقت سنی با بیماران، نداشتن سابقه پسوریازیس در خانواده و عدم ابتلا به بیماری‌های خود ایمنی را دارا بودند، از آزمایشگاه‌های مناطق ذکر شده جمع‌آوری گردید. عدم تمایل بیمار برای شرکت در تحقیق، داشتن بیماری‌های زمینه‌ای هم‌زمان، مصرف داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی و بارداری از معیارهای خروج نمونه‌ها از مطالعه بود. با توجه به تعداد نسبت کم نمونه در جامعه مطالعاتی، نمونه‌گیری به صورت در دسترس صورت گرفت. قبل از خون‌گیری از بیماران خواسته شد تا پرسشنامه‌های حاوی اطلاعات مربوط به سن و جنسیت را پر نموده و فرم رضایت‌نامه آگاهانه را با دقت تکمیل نمایند. نمونه‌های خون به لوله‌های حاوی EDTA منتقل شد و تا زمان استخراج DNA، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه نگهداری شدند.

استخراج DNA: در این مطالعه، استخراج DNA با

ژل آغازگر ۲/۵٪ الکتروفورز شد. برای بررسی بهتر هموزیگوت و هتروزیگوت بودن آلل ها در هر فرد، نمونه PCR مربوط به آلل نرمال و آلل موتانت در دو چاهک کنار هم لود شدند و سپس مورد بررسی قرار گرفتند. تعیین توالی DNA: به منظور تایید صحت انجام کار برای هر ژنوتیپ (AA-AG-GG) از تکنیک PCR Sequencing به کمک آغازگرهایی که در جدول ۱ ذکر شده اند استفاده شد. برای انجام این واکنش، یک ویال که حاوی ۲۵μl Master Mix، ۲μl از هر آغازگر و ۵μl از DNA استخراج شده بود، مورد استفاده قرار گرفت و با ۱۶μl آب مقطر به حجم ۵۰μl رسانده شد. سپس این مخلوط واکنش در دستگاه ترموسایکلر با شرایط ذکر شده در بالا و دمای اتصال آغازگر ۶۱/۵°C قرار گرفت تا واکنش زنجیره‌ای پلی مرز انجام پذیرد. پس از انجام PCR، آنالیز کیفی با استفاده از ژل آغازگر ۲/۵٪ انجام شده و باقی‌مانده‌ی محصولات PCR همراه با آغازگر Reverse به منظور انجام PCR Sequencing

ویال دیگر، ۱μl از هر کدام جفت آغازگر ۱۰ پیکومول آلل جهش یافته اضافه گردید. هر کدام از ویال ها با ۳μl آب مقطر به حجم ۲۰μl رسانده شد. سپس توسط دستگاه ترموسایکلر BIORAD، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز انجام شد. در ابتدای کار، واکنش با غلظت‌های مختلف DNA بر روی نمونه‌های مختلف انجام شد و غلظت بهینه DNA به دست آمد. برای اپتیمایز کردن دمای اتصال آغازگر، بین دمای ۵۰ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد به تدریج دما را به روش شیب دمایی تغییر داده تا شرایط بهینه حاصل و بهترین دمای اتصال انتخاب گردید. همچنین غلظت آغازگرها و نیز سایر شرایط دمایی نیز اپتیمایز شدند. پروفایل و برنامه حرارتی PCR در جدول ۲ نشان داده شده است. برای بررسی عدم آلودگی، یک چاهک حاوی تمام محتویات آزمایش بدون DNA به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. پس از انجام واکنش PCR برای اطمینان از تکثیر قطعه‌ی مورد نظر، محصول به دست آمده بر روی

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده و مشخصات کلی آن‌ها

نام آغازگر	توالی آغازگر (5'-3')	دمای ذوب	طول قطعه PCR محصول (bp)
L10-nF	5'-GAC AAC ACT ACT AAG GCT TCT TTG GTA A -3'	64 °C	244
IL10-nR	5'-TTT CCT CAC CCT ACT GTA CAC CAT CTC-3'	65 °C	244
IL10-mF	5'-GAC AAC ACT ACT AAG GCT TCT TTG GTA G-3'	65 °C	178
IL10-mR	5'-AGT TTC TTT TAG TTG TAA GCT TCT GTG GC-3'	64.8 °C	178
IL10-SF(Sequencing primer)	5'-ATA TCT GAA GAA GTC CTG ATG TCA CTG C-3'	64.8 °C	322
IL10-SR	IL10-mR primer	64.8 °C	178

N=normal F:Forward M=mutant R=Reverse

جدول ۲- برنامه PCR جهت تکثیر پلی مورفیسم پلی مورفیسم rs 1800896 IL-10 در موقعیت A1082G(A→G)

مرحله	دما (°C)	زمان	تعداد سیکل
دنا تورا سیون اولیه	۹۵	۵ دقیقه	۱
دنا تورا سیون ثانویه	۹۴	۴۰ ثانیه	
اتصال	۶۴	۴۰ ثانیه	۳۰
طویل سازی	۷۲	۳۰ ثانیه	
طویل سازی نهایی	۷۲	۱۰ دقیقه	۱

شکل ۱، محصول PCR سه بیمار را نشان می‌دهد، همان‌طور که در تصویر دیده می‌شود نمونه شماره ۱ هموزیگوت غالب (AA)، نمونه شماره ۲ هموزیگوت مغلوب (GG) و نمونه شماره ۳ هتروزیگوت (AG) می‌باشد.

شکل ۲، نمونه‌های ۱ تا ۵ از گروه کنترل (سالم) را نشان می‌دهد، همان‌طور که در تصویر دیده می‌شود نمونه‌های شماره ۱ و ۲ هتروزیگوت (AG) و نمونه‌های شماره ۳، ۴ و ۵ هموزیگوت غالب (AA) می‌باشند.

همچنین به منظور آنالیز نتایج سکانس از توالی ژن Variant type: JL-10 CTAAGGCTTCTTTGGGA(A/G)GGGGAAGT AGGGATA که SNP مورد نظر در این توالی قرار دارد استفاده شد. نتایج به دست آمده در سکانس، آنتی سنس توالی فوق می‌باشد. SNP مورد نظر در جایگاه ۱۲۱ قرار دارد. در صورتی که نمونه هموزیگوت غالب (AA) باشد، در جایگاه SNP، T قرار گرفته و در صورتی که هموزیگوت مغلوب (GG) باشد، C قرار می‌گیرد. در صورت هتروزیگوت (AG) بودن نمونه یکی از بازهای T و یا C قرار می‌گیرند، در این حالت دو پیک در این جایگاه دیده می‌شود. صحت نتایج حاصل از PCR و مطابقت آن‌ها با نتایج حاصل از تعیین توالی را در شکل ۳ می‌توان مشاهده نمود.

بررسی‌های آماری نشان داد که گروه‌های مورد مطالعه از لحاظ جنسیت و نیز از نظر سن با هم تفاوت معنی‌داری ندارند. درصد فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AG و GG در گروه بیمار به ترتیب ۵۶٪، ۳۲٪ و ۱۲٪ و در گروه کنترل به ترتیب ۸۲٪، ۱۸٪ و ۰٪ می‌باشد. این اختلاف در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است ($p=0/014$). همچنین درصد فراوانی آلل‌های A و G در گروه بیمار به ترتیب ۷۲٪ و ۲۸٪ و در گروه کنترل به ترتیب ۹۱٪ و ۹٪ می‌باشد؛ بنابراین این اختلاف در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است ($p=0/002$) (جدول ۳). در جدول ۳ همچنین می‌توان تعداد افراد دارای ژنوتیپ‌های AA، AG و GG را در دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نمود. نتایج حاصله نشان داد تفاوت معناداری در میزان بروز این آلل‌ها بین دو گروه مورد مطالعه وجود دارد.

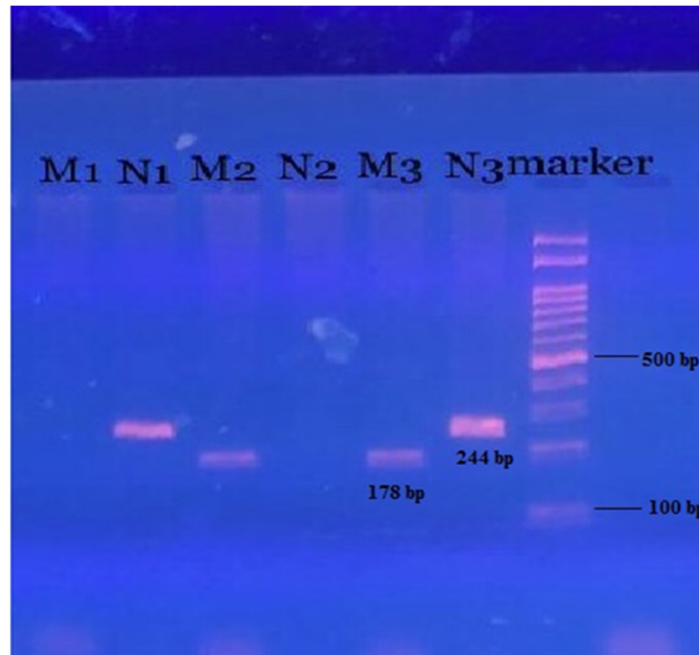
به شرکت taq-kopenhagen (دانمارک) ارسال شد. تجزیه و تحلیل توالی آر سال شده با استفاده از نرم‌افزار Chromas صورت پذیرفت و جهش شناخته شده در نمونه‌های بکار رفته تایید شد.

تجزیه و تحلیل آماری: پس از تایید صحت نتایج به دست آمده، داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ افراد دو گروه بیمار و کنترل با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و برای مقایسه میانگین سن افراد در دو گروه از آزمون یو من ویتنی استفاده شد. برای هر پلی مورفیسم، یک جدول 2×2 شامل افراد بیمار و کنترل در ستون‌ها و هر یک از دو آلل در سطرها در نظر گرفته شد. معنی‌دار بودن تفاوت در فراوانی آللی و ژنوتیپی بین دو گروه با آزمون مربع کای دو به دست آمد. اگر خانه‌های جدول کمتر از ۵ بودند از آزمون دقیق فیشر به جای مربع کای دو استفاده شد. همچنین مقدار سطح معنی‌دار $p < 0,05$ در نظر گرفته شده است. به منظور حذف اثر عوامل مداخله‌گر احتمالی از آزمون رگرسیون لجیستیک استفاده شد و Odds Ratio در محدوده اطمینان (۰/۹۵) CI محاسبه گردید.

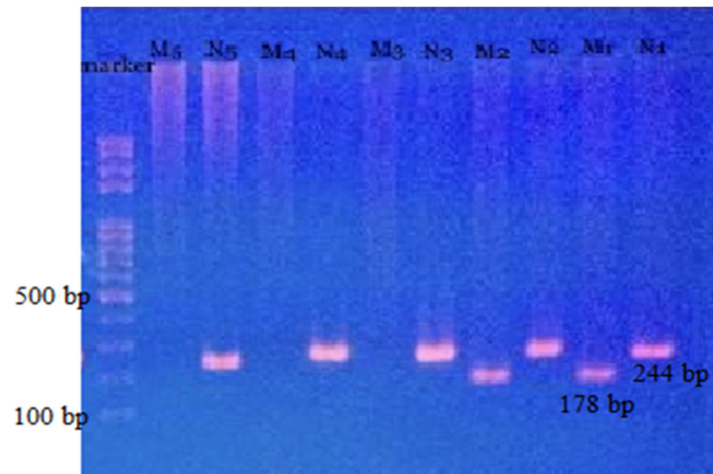
یافته‌ها

در این مطالعه با نمونه‌گیری از ۵۰ فرد مبتلا به پسوریازیس و ۳۵ فرد سالم، ارتباط پلی مورفیسم rs1800896 ژن IL-10 در موقعیت A/G-1082 با بیماری پسوریازیس بررسی شده است.

ژنوتیپ‌های AA، AG و GG و آلل‌های A و G در بیماران مبتلا به پسوریازیس بررسی گردید. توزیع ژنوتیپی گروه‌های بیمار و کنترل در تعادل هاردی واینبرگ بودند. بررسی محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲/۵٪ به همراه مارکر DNA با وزن مولکولی ۱۰۰bp صورت گرفت. با توجه به طراحی‌های صورت گرفته می‌بایست شاهد قطعه ۲۴۴ جفت بازی به عنوان قطعه نرمال و قطعه ۱۷۸ جفت بازی به عنوان قطعه جهش یافته باشیم. نتایج به دست آمده از ژل الکتروفورز این موضوع را تایید کرد (شکل ۱ و شکل ۲).



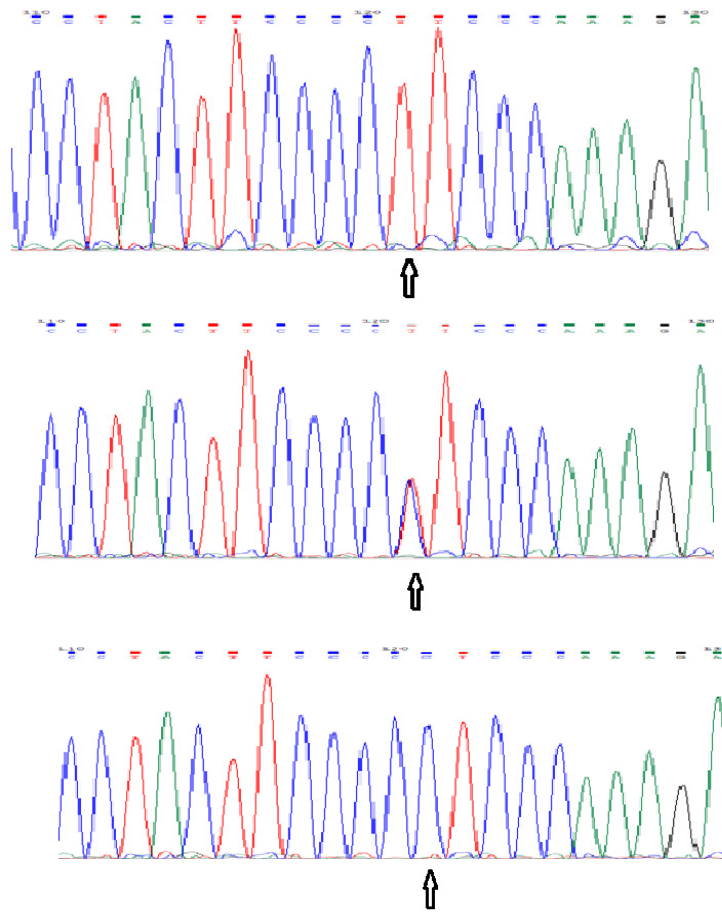
شکل ۱- محصول PCR بررسی پلی مورفیسم rs 1800896 ژن IL-10 در موقعیت A1082G(A→G) در سه نمونه از گروه بیمار. M1 و N1. نمونه شماره ۱ هموزیگوت غالب (AA)؛ M2 و N2. نمونه شماره ۲ هموزیگوت مغلوب (GG) و M3 و N3. نمونه شماره ۳ هموزیگوت (AG) می باشد.



شکل ۲- محصول PCR بررسی پلی مورفیسم rs 1800896 ژن IL-10 در موقعیت A1082G(A→G) در پنج نمونه از گروه کنترل یا سالم. M1 و N1. نمونه شماره ۱ هموزیگوت (AG)؛ M2 و N2. نمونه شماره ۲ هموزیگوت (AG)؛ M3 و N3. نمونه شماره ۳ هموزیگوت غالب (AA)؛ M4 و N4. نمونه شماره ۴ هموزیگوت غالب (AA) و M5 و N5. نمونه شماره ۵ هموزیگوت غالب (AA) می باشد.

وجود دارد. همچنین با توجه به اینکه این معنی داری ممکن است با عوامل مداخله گر مثل جنس و سن و غیره ارتباط داشته باشد و در آزمون دقیق فیشر این عوامل مورد کنترل واقع نشد، بنابراین حذف این عوامل رگرسیون لجستیک استفاده شد. نتایج نشان داد حتی بعد از همسان سازی و حذف عوامل مداخله گر،

بطوریکه آلل G در افراد مبتلا به پسوریازیس بیشتر از افراد سالم می باشد و از نظر ژنوتیپی، ژنوتیپ GG در افراد پسوریازیس در مقایسه با افراد سالم بیشتر است؛ بنابراین از نظر آماری می توان نتیجه گرفت، ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم rs 1800896 ژن اینترلوکین ۱۰ و استعداد ابتلا به بیماری پسوریازیس



شکل ۳- نتیجه تعیین توالی DNA برای یک نمونه هموزیگوت غالب (AA) فرد سالم در بالا، هتروزیگوت (AG) بیمار در وسط و هموزیگوت مغلوب (GG) در بیمار در پایین (نمونه جهش یافته). همانطور که مشخص شده است در جایگاه ۱۲۱ در رشته آنتی سنس، باز T در نمونه سالم با باز C در نمونه بیمار جایگزین شده است.

کنترل بیشتر است و OR نیز بالاتر از ۱ می‌باشد. توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های AA و GG نشان داد که ژنوتیپ AA دارای فراوانی (۵۶٪، ۸۲٪) و ژنوتیپ GG دارای فراوانی (۱۲٪، ۰٪) به ترتیب در گروه‌های بیمار و کنترل می‌باشند که تفاوت معناداری بین ژنوتیپ GG در افراد پسر یازیس با افراد سالم وجود دارد، به طوری که ژنوتیپ GG در افراد پسر یازیس در مقایسه با افراد سالم افزایش چشمگیر داشته است؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت شیوع بیماری پسر یازیس در افرادی که پلی مورفیسم rs 1800896 ژن اینترلوکین ۱۰ را دارند، بیشتر است و بین این پلی مورفیسم با بیماری پسر یازیس ارتباط وجود دارد ($p=0.027$). همچنین توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های AG و GG نشان

همچنان تفاوت‌های معنی‌دار ذکر شده بین ژنوتیپ‌ها وجود داشت؛ بنابراین ارتباط معنی‌دار بین پلی مورفیسم rs 1800896 ژن اینترلوکین ۱۰ و استعداد ابتلا به بیماری پسر یازیس مشاهده می‌شود.

در ادا مه، فراوانی ژنوتیپ‌ها بین گروه‌های بیمار و کنترل به صورت جداگانه مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج بررسی توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های AA و AG نشان داد که ژنوتیپ AA دارای فراوانی (۵۶٪، ۸۲٪) و ژنوتیپ AG دارای فراوانی (۳۲٪، ۱۸٪) به ترتیب در گروه‌های بیمار و کنترل می‌باشند و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های بیمار و کنترل مشاهده نشد؛ اما ژنوتیپ AA در گروه کنترل بیشتر از بیمار بوده در حالیکه ژنوتیپ AG در گروه بیمار نسبت به گروه

جدول ۳- مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها در ۲ گروه بیمار و کنترل

مقدار احتمال*	مقدار احتمال	کنترل	بیمار		
		تعداد (درصد)	تعداد (درصد)		
۰/۰۰۱	۰/۰۱۴	۲۹ (۸۳٪)	۲۸ (۵۶٪)	AA	ژنوتیپ
		۶ (۱۷٪)	۱۶ (۳۲٪)	AG	
		۰ (۰٪)	۶ (۱۲٪)	GG	
۰/۰۰	۰/۰۰۲	۶۴ (۹۱٪)	۷۲ (۷۲٪)	A	آلل
		۶ (۹٪)	۲۸ (۲۸٪)	G	

*همسان سازی شده بر اساس سن و جنس

جدول ۴- مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌ها بین دو گروه کنترل و بیمار

ژنوتیپ	بیمار (%)	کنترل (%)	p.value	OR	OR (CI 95%)
AA	۲۸ (۵۶٪)	۲۹ (۸۲٪)	۰/۰۷	۲/۷۶۲	۰/۹۴۵-۸/۰۷۱
AG	۱۶ (۳۲٪)	۶ (۱۸٪)			
AA	۲۸ (۵۶٪)	۲۹ (۸۲٪)	۰/۰۲۷	۰/۴۹۱	۰/۴۹۱-۰/۶۴۰
GG	۶ (۱۲٪)	۰ (۰٪)			
AG	۱۶ (۳۲٪)	۶ (۱۷٪)	۰/۲۸۹	۰/۷۲۷	۰/۵۶۳-۰/۹۳۹
GG	۶ (۱۲٪)	۰ (۰٪)			

پسوریازیس در نمونه‌های غرب استان مازندران و شرق استان گیلان انجام شد. بررسی نتایج نشان داد که بین دو گروه مبتلا به پسوریازیس و سالم، از نظر ژنوتیپی تفاوت معنی‌دار وجود داشته (p = ۰/۰۱۴) و ژنوتیپ مغلوب GG در افراد مبتلا به پسوریازیس بیشتر از افراد سالم می‌باشد. همچنین فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت AG نیز اگرچه معنی‌دار نشده است اما در گروه بیمار بیشتر از افراد سالم است. در میزان فراوانی و بروز آلل‌ها بین دو گروه مورد مطالعه نیز تفاوت معنی‌دار دیده می‌شود (p = ۰/۰۰) بطوریکه فراوانی آلل G در افراد مبتلا به پسوریازیس بیشتر از افراد سالم می‌باشد؛ بنابراین از نظر آماری می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که بین پلی مورفیسم rs 1800896 ژن اینترلوکین ۱۰ و استعداد ابتلا به بیماری پسوریازیس در منطقه مورد مطالعه ارتباط وجود دارد.

ارتباط SNP های پروموتور IL-10 با دخالت آن‌ها در تعیین حساسیت و/ یا شدت تعدادی از بیماری‌های التهابی ایمنی از جمله آرتریت روماتوئید (۱۶، ۲۶)، کولیت اولسروز (۱۷)، سندرم اولیه شوگرن (۲۷)، بیماری التهابی روده (۲۸)، لوپوس اریتماتوز سیستمیک (۲۹)، آسم شدید (۳۰)، پره اکلامپسی (۳۱)، پریدنتیت (۳۲) و غیره توسط محققان خارجی و ایرانی نشان داده

داد ژنوتیپ AG دارای فراوانی (۳۲٪، ۱۷٪) و ژنوتیپ GG دارای فراوانی (۱۲٪، ۰٪) به ترتیب در گروه‌های بیمار و کنترل می‌باشند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های بیمار و کنترل از لحاظ ژنوتیپ AG و GG مشاهده نگردید. ولی ژنوتیپ‌های AG و GG در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل بیشتر بوده است (جدول ۴).

بحث

IL-10، در پاتوفیزیولوژی بیماری پسوریازیس نقش مهمی دارد که این نقش در ارتباط با کمبود نسبی این سایتوکاین می‌باشد. ناحیه پروموتوری IL-10 بسیار پلی مورفیک بوده و رونویسی ژن IL-10 را کنترل می‌کند. در بیماری‌های چند عاملی، انجام تحقیقات گسترده و حتی تکرار آن‌ها در مناطق مختلف، قبل از اتخاذ یک تصمیم‌گیری قطعی ضروری به نظر می‌رسد (۱۱). از آنجائی که بیماری پسوریازیس یک بیماری التهابی چند عاملی است و پیشرفت آن تحت تأثیر سیستم ایمنی، جایگاه‌های ژنتیکی مرتبط، اتوانتی ژن‌ها و فاکتورهای محیطی مختلف قرار دارد (۳)، پژوهش حاضر به منظور کشف ارتباط احتمالی پلی مورفیسم rs 1800896 ژن IL-10 در موقعیت A1082G(A→G) در بیماری

ژنوتیپ هتروزیگوت GA در موقعیت 1082(G/A)- ژن IL-10 بودند و به این نتیجه رسیدند که ژنوتیپ هتروزیگوت GA می‌تواند با مرحله دیررس پسوریازیس در ارتباط باشد (۲۴).

در مطالعه اولیه‌ای که کینگو و همکاران در سال ۲۰۰۳ بر روی ۲۴۸ بیمار و ۱۴۸ فرد سالم انجام دادند، به کمک روش ARMS-PCR به بررسی ارتباط سه SNP رایج در ژن IL-10 با پسوریازیس در افراد نژاد قفقازی ساکن در استونی پرداختند. در این مطالعه تفاوت معنی‌داری در بین گروه سالم و بیمار مشاهده نشد. همچنین تفاوت معنی‌داری در توزیع هاپلوتایپ ژن IL-10 با سن شروع بیماری و سابقه فامیلی و تاریخچه بیماری دیده نشد؛ اما از طرف دیگر، آنالیزها نشان داد که هاپلوتایپ ACC با شدت کمتر بیماری و هاپلوتایپ ATA با افزایش شدت بیماری در ارتباط هستند. آن‌ها در این بررسی نتیجه‌گیری کردند که پلی مورفیسم های IL-10 یک تغییردهنده بیماری محسوب می‌شود اما یک ریسک فاکتور برای این بیماری نبوده هرچند ممکن است مراحل بالینی بیماری را تحت تأثیر قرار دهد (۱۰، ۳۴).

بالدینگ (Balding) و همکاران در سال ۲۰۰۳ با مطالعه‌ای که بر روی ۱۴۷ بیمار مبتلا به آرتریت پسوریازیس، بیماری رایج در افراد پسوریازیس و ۳۸۹ فرد سالم در ایرلند انجام دادند به بررسی پلی مورفیسم ژنی یکسری از سایتوکاین‌های پیش التهابی و نیز ضد التهابی از جمله IL-10 پرداختند. نتایج هیچ اختلاف معنی‌داری را بین پلی مورفیسم ژن IL-10 و بیماری در دو گروه مورد مطالعه نشان نداد (۳۵).

پدل (Peddle) و همکاران در ۲۰۰۵ در نیوفلاند نشان داد پلی مورفیسم های بررسی شده از جمله - 1082 ژن IL-10 ارتباطی با بیماری آرتریت پسوریازیس نداشتند. البته در نتیجه‌گیری یکی از دلایل احتمالی را کوچک بودن حجم نمونه‌گیری و اندازه نمونه دانستند که شاید نتوانست تفاوت‌های کوچک در فراوانی آلی را نشان دهد (۳۶).

چانگ (Chang) و همکاران در سال ۲۰۰۷ به بررسی ۲۸ پلی مورفیسم در ۱۱ ژن سایتوکاینی از جمله ژن

شده و مورد بررسی قرار گرفته است. در ارتباط با بیماری پسوریازیس مطالعات بالینی و آزمایشگاهی نشان داده‌اند که سطح بیان سایتوکاین‌های ضد التهابی از جمله IL-10 در این بیماری کاهش می‌یابد (۳۳)؛ بنابراین اعتقاد بر این است که این سایتوکاین در پاتولوژی و نیز روند بالینی پسوریازیس نقش کلیدی ایفا می‌کند.

مطالعات ژنتیکی که در باره ارتباط پلی مورفیسم ناحیه پروموتوری ژن IL-10 با بیماری پسوریازیس انجام شده‌اند، بر اهمیت این موضوع تاکید داشته‌اند، برخی مطالعات بیانگر ارتباط قوی پلی مورفیسم ژنتیکی IL-10 با پسوریازیس در جمعیت‌های مختلف مطالعه شده بوده و برخی برعکس ارتباط ضعیفی را گزارش کرده‌اند. برخی مطالعات نیز ارتباط معنی‌داری را گزارش نکردند؛ بنابراین شواهد و نتایج ضد و نقیضی ارائه شده است.

رایش و همکاران در سال ۱۹۹۹، در مطالعه خود که بر روی ۱۰۰ بیمار در مرحله اول بیماری، ۵۱ بیمار در تیپ II (مرحله دیررس) پسوریازیس و ۱۲۳ نفر گروه کنترل در جمعیت قفقازی‌های آلمانی انجام دادند، به بررسی آنالیز ترکیبی و ارتباط بیماری پسوریازیس با پلی مورفیسم های مناطق پروموتوری سایتوکاین‌هایی چون TNF- α و IL-10 و آنزیم های متابولیزه کننده زنوبیوتیک پلی مورفیک، به عنوان دو عاملی که ممکن است بر روی سیستم ایمنی پوست اثرگذار باشند، پرداختند. در ارتباط با ژن IL-10 هیچ تفاوت معنی‌داری در ناحیه پروموتوری 1082- این ژن بین گروه‌های بیمار و گروه کنترل مشاهده نشد؛ اما TNF- α -238A به عنوان یک فاکتور خطر برای حساسیت پذیری به بیماری در مراحل اولیه آن تایید شد (۲۳).

کراون و همکاران نیز در بررسی‌های خود در سال ۲۰۰۲ دریافتند که پلی مورفیسم rs1800896 و ژنوتیپ GA یافت شده با پسوریازیس دیررس ارتباط دارد. در این مطالعه ژنوتایپینگ ژن های IL-10، IL-4، TNF- α و IFN- γ بر روی ۸۴ بیمار و مقایسه آن با گروه کنترل صورت پذیرفت. فراوانی ژنوتیپی تفاوت معنی‌داری را در هیچ‌کدام از این ژن‌ها بین دو گروه نشان نداد اما بیماران مرحله پسوریازیس دیررس با اختلاف معنی‌داری دارای

1082G/A، ژنوتیپ GG داشتند (۲۰). این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه ما مطابقت دارد.

همچنین لی (Lee) و همکاران در ۲۰۱۲ با انجام یک مطالعه متاآنالیز در دانشگاه کره که ۲۶۴۷ بیمار و ۳۳۸۳ فرد سالم را شامل می‌شد، شواهدی را فراهم آوردند مبنی بر اینکه پلی مورفیسم 1082G/A- ژن IL-10 سبب حساسیت پذیری به پسوریازیس و آرتريت پسوریازیس در جمعیت‌های آسیایی بوده اما هیچ خطری در جمعیت‌های اروپایی و سایر مناطق مورد مطالعه دیده نشد و به همین دلیل یک اثر وابسته به قومیت را پیشنهاد کردند (۳۹).

کرم (Karam) و همکارانش در ۲۰۱۴ مطالعه‌ای را با هدف بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم ژن TNF- α -308 و IL-10-1082 با بیماری پسوریازیس و نیز ارتباط سطح سرمی آن‌ها با شدت بیماری در ۱۱۰ بیمار و ۱۲۰ فرد سالم در جمعیت مصری انجام دادند. نتایج حاصله نشان داد که بین پلی مورفیسم TNF- α -308 و IL-10 1082 G/A ژن با بیماری پسوریازیس در مصری‌ها ارتباط وجود دارد. سطح سرمی TNF- α -308 در بیماران نسبت به گروه کنترل بالاتر بوده اما سطح سرمی IL-10-1082 در بیماران کمتر از گروه کنترل بود. همچنین نتایج ژنوتایپینگ، بیانگر افزایش معنی‌دار در ژنوتیپ‌های GG و نیز آلل G در بیماران بود. این یافته‌ها نیز با نتایج به دست آمده از تحقیق ما منطبق است (۴۰).

ایندهوماتی (Indhumathi) و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۱۷ بر روی جمعیت تامیل‌های هند جنوبی، به بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن IL-10 در دو موقعیت rs 1800871 و rs 1800896 با پسوریازیس پرداختند. نتایج نشان داد که پلی مورفیسم ژن IL-10، خطر ابتلا به پسوریازیس را در جمعیت جنوب هند افزایش داده است. این مطالعه نشان داد که SNP در موقعیت rs 1800871 (C/T)-819، یک فاکتور خطر برای بیماری بوده و حساسیت پذیری به بیماری را افزایش داده است و ژنوتیپ موتانت CC در بیماران مورد مطالعه غالب بود؛ اما در موقعیت rs 1800896 - 1082(G/A) ارتباطی با بیماری دیده نشد (۳۴).

IL-10 در ۱۷۰ فرد بیمار در مقایسه با ۲۱۰ فرد سالم پرداختند. بجز ژن IL-12B، در بقیه ژن‌ها از جمله IL-10 تفاوت معنی‌داری بین دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد و بنابراین این‌طور نتیجه گرفتند که ژن‌های سایتوکاینی با حساسیت پذیری به پسوریازیس ولگاریس در بیماران چینی که در تایوان زندگی می‌کنند ارتباط ندارد (۳۷).

نتیجه بررسی‌های ونگپیابورن (Wongpiyabovorn) و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی ۱۳۹ بیمار مبتلا به پسوریازیس و ۱۵۵ فرد سالم در تایلند، هیچ تفاوت آماری معنی‌داری را بین فراوانی آللی ۴ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی بررسی شده ژن IL-10 از جمله در - 1082 G/A در دو گروه بیمار و کنترل نشان نداد؛ اما آلل 2763A- در گروه پسوریازیس دیررس نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود. این مطالعه پیشنهاد کرد که آلل 2763A- و هاپلو تایپ AAGC می‌توانند به عنوان یک مارکر ژنتیکی برای حساسیت پذیری به پسوریازیس دیررس در جمعیت‌های تایلندی بکار برده شود (۳۸).

باران و همکاران در سال ۲۰۰۸ در لهستان به این نتیجه رسیدند که حضور آلل A در موقعیت (1082) (تبدیل G به A) با کاهش سطح IL-10 همراه بوده در حالی که وجود G در این موقعیت (تبدیل A به G) با تولید بیشتر این سایتوکاين همراه است که این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیق ما و مطالعات ذکر شده در بالا مغایرت دارد (۹).

در مطالعه دیگری که توسط ستین (Settin) و همکاران در ۲۰۰۹ بر روی ۴۵ فرد بیمار و ۹۸ فرد سالم صورت پذیرفت، به ارتباط پلی مورفیسم ژن‌های TNF- α -308(G/A), IL-10-1082(G/A), IL-6-174(G/C), and IL-1Ra (VNTR) با پسوریازیس در منطقه دلتای نیل مصر پرداختند. در مقایسه با گروه کنترل، گروه بیمار افزایش معنی‌داری را در فراوانی ژنوتیپ‌های IL-6-174 CC و IL-10-1082 GG و TNF- α -308 GG نشان دادند. افزایش خطر ابتلا به بیماری با پلی مورفیسم 1082G/A- در جمعیت دلتای نیل مصر گزارش شد. اکثریت افراد بیمار در SNP مربوط به -

است. برخی مطالعات ارتباط بین این پلی مورفیسم با بیماری پسوریازیس را گزارش کردند؛ اما تحقیقات بیشتری با تمرکز بر روی جمعیت‌های گوناگون ضروری است تا به یک نتیجه قطعی کلی درباره این ارتباط دست یابیم (۱۵). دلیل احتمالی دیگر برای توجیه نتایج متنوع و احتمالاً مخالف این است که تنظیم IL-10 در انواع سلول‌های مختلف (سلول‌های T، سلول‌های B و ماکروفاژها) و با محرک‌های مختلف، متفاوت بوده و فرق دارد. علاوه بر این، سطح رونویسی و سطح پروتئین IL-10 ممکن است به دلیل تنظیم پس از رونویسی بیان ژن IL-10 متفاوت باشد (۱۳). از دیگر علل نتایج متفاوت در بررسی پلی مورفیسم ژنی می‌توان به خزانی ژنی متفاوت، روش‌های مولکولی بکار رفته و نیز اندازه جمعیت مورد بررسی اشاره کرد (۴۴). بکار بردن اندازه نمونه مناسب برای هر نوع فنوتیپی از بیماری‌ها می‌تواند تأثیر درست پلی مورفیسم را بر روی خصوصیات آن بیماری بهتر منعکس نماید (۱).

از کاربردهای این طرح این است که از نتایج به دست آمده می‌توان برای یافتن نشانگرها یا بیومارکرهای زیستی استفاده کرد که در علم پزشکی شخصی برای تشخیص زودهنگام بیماری‌ها از جمله بیماری پسوریازیس مورد استفاده قرار می‌گیرند و امروزه بسیار مورد توجه جامعه علمی هستند. همچنین با تفسیر نتایج و مقایسه آن‌ها با سایر مطالعات محققان جهان، می‌توان به روش‌های درمان متناسب با هر بیمار برای به حداکثر رساندن اثربخشی درمان استفاده نمود. از مهم‌ترین محدودیت‌های این طرح، تعداد کم مناطق نمونه‌گیری و در نتیجه محدود شدن تعداد نمونه‌ها بوده است. همچنین به دلیل محدود بودن زمان، مطالعه تنها بر روی یک پلی مورفیسم این ژن صورت گرفت؛ بنابراین پیشنهاد می‌گردد که برای حصول اطمینان بیشتر و نتایج قابل تعمیم، بررسی در مناطق مختلف ایران و با جامعه آماری تا حد ممکن بالاتر و نیز بر روی تمام پلی مورفیسم‌های این ژن انجام شود. همچنین علاوه بر ژنوتایپینگ، مطالعه بیان ژن نیز به نظر مفید می‌رسد، چرا که ترکیب این داده‌ها با هم می‌تواند ما را در شناخت بیومارکرهای احتمالی خاص که در تشخیص

عادل (Aadil) و همکاران در سال ۲۰۱۹ طی مطالعه خود، مکان‌های پلی مورفیسم در IL-10 را با روش ARMS-PCR تعیین ژنوتایپ کردند. همچنین سطح سرمی IL-10 توسط الایزا اندازه‌گیری شد. در این مطالعه که در جمعیتی از شمال هند صورت پذیرفت، ۲۰۰ فرد بیمار و ۲۰۰ فرد سالم شرکت داشتند. نتایج نشان داد که پلی مورفیسم IL-10 در موقعیت 592-C/A و 1082 A/G با افزایش خطر پسوریازیس ارتباط معنی‌دار نشان می‌دهد. همچنین سطح سرمی IL-10 در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد (۴۱).

ایساک و جیکوان (Isac L, Jiquan)، در ۲۰۱۹ در مقاله خود به بررسی مروری نقش پلی مورفیسم IL-10 در پاتوژنز بیماری پسوریازیس پرداختند. در این مطالعه با مرور و آنالیز نتایج مطالعات انجام شده قبلی در این زمینه به این نتیجه رسیدند که پلی مورفیسم 1082G/A رایج‌ترین پلی مورفیسم ژن IL-10 در ارتباط با خطر پسوریازیس است. در حالیکه پلی مورفیسم 819 C/T و 592C/A کمترین ارتباط را دارند (۱۵).

در ایران نیز در مطالعه‌ای مشابه که توسط تاج شرقی و همکاران در سال ۱۳۹۴ انجام شد، میزان بیان ژن IL-10 در بیماران مبتلا به پسوریازیس و افراد سالم با استفاده از تکنیک Real time PCR مورد بررسی قرار گرفت و این نتیجه حاصل شد که میزان بیان ژن IL-10 در ضایعات پوستی بیماران نسبت به افراد سالم کاهش بیان دارد (۴۲).

سبحان و همکارانش در سال ۲۰۱۶ به مقایسه سطح سرمی سایتوکاین‌های IL-10 و IL-22 در ۲۸ بیمار ایرانی مبتلا به پسوریازیس و مقایسه آن با افراد سالم پرداختند. سطح IL-10 در بیماران نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد که نشانگر نقش این سایتوکاین در جلوگیری از بیماری پسوریازیس و اهمیت بالینی آن می‌باشد (۴۳).

بنابراین با توجه به مطالعات مختلف، می‌توان دریافت که یکی از دلایل برای توضیح نتایج مخالف و ضد و نقیض می‌تواند این نکته باشد که این بررسی‌ها بر روی جمعیت‌های گوناگون در سرتاسر جهان صورت پذیرفته

Comprehensive Review of Entire Therapies. *Curr Drug Targets*. 2020; 15: 1-23.

8. Villarreal-Martinez A, Gallardo-Blanco H, Cerad-Flores R, Torres-Munoz I, Gomez-Flores M, salas-Alanis J, et al. Candidate gene polymorphisms and risk of psoriasis: A pilot study. *Exp Ther Med*. 2016; 11: 1217-1222.

9. Baran W, Szepietows ki JC, Mazur G, Baran E. IL-6 and IL-10 Promoter Gene Polymorphisms in Psoriasis Vulgaris. *Acta Derm Venereol*. 2008; 88: 113-116.

10. KingoK, Koks S, Silm H, Vasar E. IL-10 promoter polymorphisms influence disease severity and course in psoriasis. *Genes Immun*. 2003; 4: 455-457.

11. Hensen P, Asadullah K, Windemuth C, Ruschendorf F, Huffmeier U, Stander M, et al. Interleukin-10 promoter polymorphism IL10.G and familial early onset psoriasis. *Br J Dermatol*. 2003; 149: 381-385.

12. Kang J, Liu Ch H, Lee Ch N, Li HY, Yang Ch W, Huang Sh Ch, et al. Novel Interleukin-10 Gene Polymorphism Is Linked to Gestational Diabetes in Taiwanese Population. *Front Genet*. 2019; 10: 1-9.

13. Kingo K. The interleukin-10 family cytokines gene polymorphisms in plaque psoriasis. Tartu University Press. 2005: 1-77.

14. Abanmi A, Al Harthi F, Zouman A, Kudwah A, Al Jamal M, Arfin M, et al. Association of Interleukin-10 gene promoter polymorphisms in Saudi patients with Vitiligo. *Dis Markers*. 2008; 24: 51-57.

15. Isac L, Jiquan S. Interleukin 10 promoter gene polymorphism in the pathogenesis of Psoriasis. *Acta Dermatovenerol APA*. 2019; 28: 119-123.

16. Dadkhah G, Bazzazi H, Yazdan Y. Association of IL-10 rs1800896 (-1082 G/A) gene polymorphism and susceptibility to rheumatoid arthritis (RA) in Northeast of Iran. *Jorjani Biomed J*. 2018; 6: 14-23.

17. Naeimi M, Zahmatkesh Roudsari R. [Detection of IL-10 gene polymorphisms in patients with ulcerative colitis in Northern Iran]. *Med Sci J Islamic Azad Univ Tehran Med Branch*. 2019; 29: 141-149(in Persian).

18. Eskdale J, Kube D, Tesch H, Gallagher G. Mapping of the human IL10 gene and further characterization of the 5' flanking sequence. *Immunogenetics*. 1997; 2: 120-128.

19. Crawford DC, Nickerson DA. Definition and clinical importance of haplotypes. *Annu Rev Med*. 2005; 56: 303-20.

20. Settin A, Hassan H, El-Baz R, Hassan T. Association of cytokine gene polymorphisms with psoriasis in cases from the Nile Delta of Egypt. *Acta Dermatoven APA*. 2009; 18: 105-112.

21. Trifunović J, Miller L, Debeljak Z, Horvat V.

بیماری بکار می‌روند یاری نماید.

نتیجه‌گیری

در پایان نتیجه می‌گیریم که پلی مورفیسم ژن IL-10 (rs 180096) در غرب مازندران و شرق گیلان به احتمال زیاد سبب افزایش حساسیت به پسوریازیس می‌شود. تشخیص این واریانت‌های ژنتیکی به عنوان عوامل خطر پیش بینی کننده ممکن است منجر به انتخاب روش درمانی متناسب با بیمار برای به حداکثر رساندن اثربخشی درمان شود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از تمام کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، به‌ویژه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن و پرسنل آزمایشگاه تحقیقاتی این واحد، نهایت تقدیر و تشکر را داریم.

References

1. Puscas AD, Catana A, Puscac C, Roman II, Vornicescu C, Somlea M, et al. Psoriasis: Association of interleukin-17 gene polymorphisms with severity and response to treatment (Review). *Exp Ther Med*. 2019; 18: 875-880.
2. Rendon A, Schäkel K. Psoriasis Pathogenesis and Treatment. *Int J Mol Sci*. 2019; 20: 1-28.
3. Tanel Traks1 T, Keermann M, Prans E, Karelson M, Loite U, Kõks G, et al. Polymorphisms in IL36G gene are associated with plaque psoriasis. *BMC Med Genet*; 2019; 20: 1-8.
4. Reich K, Garbe C, Blaschke V, Maurer C, Middel P, Westphal G, et al. Response of Psoriasis to Interleukin-10 is Associated with Suppression of Cutaneous Type 1 Inflammation, Downregulation of the Epidermal Interleukin-8/CXCR2 Pathway and Normalization of Keratinocyte Maturation. *J Invest Dermatol*. 2001; 116: 319-329.
5. Moradi M, Rencz F, Moradi A, Balogh O, Gulácsi L. Health Status and Quality of Life in Patients with Psoriasis: An Iranian Cross-Sectional Survey. *Arch Iran Med*. 2015; 18: 153-159.
6. Ermis E, Celik SK, Solak N, Genc GC, Dursun A. The role of GNLY gene polymorphisms in psoriasis pathogenesis. *An Bras Dermatol*. 2019; 94: 198-203.
7. Bakshi H, Nagpal M, Singh M, Dhingra GA, Aggarwal G. Treatment of Psoriasis: A

Pathologic patterns of interleukin 10 expression – A review. *Biochemia Medica*. 2015; 25: 36-48.

22. Asadullah K, Sterry W, Stephanek K, Jasulaitis D, Leupold M, Audring H, et al: IL-10 is a key cytokine in psoriasis: Proof of principle by IL-10 therapy. A new therapeutic approach. *J Clin Invest*. 1998;101:783-794.

23. Reich K, Westphal G, Schulz T, Muller M, Zipprich S, Fuchs T, et al. Combined analysis of polymorphisms of the tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 promoter regions and polymorphic xenobiotic metabolizing enzymes in psoriasis. *J Invest Dermatol*. 1999; 113: 214–220.

24. Craven NM, Jackson CW, Kirby B, Perrey C, Pravica V, Hutchinson IV, et al. Cytokine gene polymorphisms in psoriasis. *Br J Dermatol*. 2002;144: 849–853.

25. Alavi S, Shahbazi Sh, Mahdian R, Kamyab AR, Shokrgozar MA. [Comparison of the sensitivity between real-time PCR and ARMS PCR on detection of vWF gene Q793X mutation in von Willebrand Disease type 3 patients]. *Sci J Iran Blood Transfus Organ*.; 2012; 9: 104-113(in Persian).

26. Crawley E, Kay R, Sillibourne J, Patel P, Hutchinson I, Woo P. Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis. Rheum*. 1999; 42: 1101–1108.

27. Hulkkonen J, Pertovaara M, Anttonen J, Lahdenpohja N, Pasternack A, Hurme M. Genetic association between interleukin-10 promoter region polymorphisms and primary Sjogren's syndrome. *Arthritis. Rheum*. 2001; 44: 176–179.

28. Tagore A, Gonsalkorale WM, Pravica V, Hajeer AH, McMahon R, Whorwell PJ, et al. Interleukin-10 (IL-10) genotypes in inflammatory bowel disease. *Tissue. Antigens*. 1999;54: 386–90.

29. Gibson AW, Edberg JC, Wu J, Westendorp RG, Huizinga TW, Kimberly PR. Novel single nucleotide polymorphisms in the distal IL-10 promoter affect IL-10 production and enhance the risk of systemic lupus erythematosus. *J Immunol*. 2001; 166: 3915–3922.

30. Lim S, Crawley E, Woo P, Barnes PJ. Haplotype associated with low interleukin-10 production in patients with severe asthma. *Lancet*. 1998; 352: 113–114.

31. Sowmya S, Ramaiah A, Sunitha T, Nallari P, Jyothy A, Venkateshwari A. Evaluation of Interleukin-10 (G-1082A) Promoter Polymorphism in Preeclampsia. *J Reprod Infertil*. 2013; 14: 62-66.

32. Mellati E, Arab HR, Tavakkol-Afshari J, Ebadian AR, Radvar M. Analysis of -1082 IL-10 gene polymorphism in Iranian patients with generalized aggressive periodontitis. *Med Sci Monit*. 2007; 13: 10-14.

33. Trifunović J, Miller L, Debeljak Ž, Horvat V. Pathologic patterns of interleukin 10 expression—a

review. *Biochemia medica*. 2015; 25: 36-48.

34. Indhumathi S, Rajappa M, Chandrashekar L, Ananthanarayanan PH, Thappa DM, Negi VS. T helper-2 cytokine/regulatory T-cell gene polymorphisms and their relation with risk of psoriasis in a South Indian Tamil cohort. *Hum Immunol*. 2017; 78: 209-215.

35. Balding J, Kane D, Livingstone W, Mynett-Johnson L, Bresnihan B, Smith O, et al. Cytokine gene polymorphisms: association with psoriatic arthritis susceptibility and severity. *Arthritis Rheum*. 2003; 48: 1408-1413.

36. Peddle L, Butt C, Snelgrove T, Rahman P. Interleukin (IL) 1a, IL1b, IL receptor antagonist, and IL10 polymorphisms in psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005; 1093-1094.

37. Chang YT, Chou CT, Yu CW, Lin MW, Shiao YM, Chen CC, et al. Cytokine gene polymorphisms in Chinese patients with psoriasis. *Br J Dermatol*. 2007; 156: 899-905.

38. Wongpiyabovorn J, Hirankarn N, Ruchusatsawat K, Yooyongsatit S, Asawanonda P, Poovorawan Y. Association of the interleukin-10 distal promoter (-2763A/C) polymorphism with late-onset psoriasis. *Clin Exp Dermatol*. 2008; 33: 186-189.

39. Lee Y H, Bae S Ch, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Associations between interleukin-10 polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012; 39: 1-7.

40. Karam, RA, Zidan HE, Khater MH. Polymorphisms in the TNF- α and IL-10 gene promoters and risk of psoriasis and correlation with disease severity. *Cytokine*. 2014; 66: 101-105.

41. Aadil W, Kaur R, Ganai BA, Akhtar T, Narang T, Hassan I, et al. Variation at Interleukin-10 Locus Represents Susceptibility to Psoriasis in North Indian Population. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2019; 19: 53-58.

42. Tajsharghi A, Jorjani E, Aghdami N, Boozarpoor S. [Evaluation of interleukin 10 and interleukin 17 gene expression in Iranian patients with psoriasis]. The first international conference on new findings in science and technology; 2015(in Persian).

43. Sobhan MR, Farshchian M, Hoseinzadeh A, Ghasemibasir HR, Solgi G. Serum Levels of IL-10 and IL-22 Cytokines in Patients with Psoriasis. *Iran J Immunol*. 2016; 13: 317-323.

44. Ahmadi Mazjin M, Salehi Z, Bahadori MH. [The Study of GPx1 Pro198Leu Polymorphism in Idiopathic Male Infertility]. *Sci J Hamedan Univ Med Sci*. 2015; 22: 76-82(in Persian).