The Association of Functional Polymorphisms of IL-6 Gene Promoter with Stroke: Analysis in a Persian Population

Mohammad Reza Ghasemi[1], Peyman Zargari[2], Hamdam Hourfar[3], Maryam Pirhoushiaran[1], Payam Sasan Nezhad[4], Mahmoud Reza Azarpazhooh[4], Ariane Sadr-Nabavi[5, 1, 6*]

[1]Department of Medical Genetics, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[2]Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3]Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran
[4]Department of Neurology, Ghaem Hospital, Mashhad, Iran
[5]Medical Genetic Research Center (MGRC), School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[6]Academic Center for Education, Culture, and Research (ACECR)-Khorasan Razavi, Mashhad, Iran

Article Info:

Received: **6 Jun 2016** ***Revised:*** **15 Jun 2017** ***Accepted:*** **29 Jun 2017**

ABSTRACT

Introduction: Sequence variations in genes involved in inflammation system contribute to the risk of several cardiovascular diseases, such as stroke. Interleukin-6, a pleiotropic cytokine, is associated with cardiovascular disease, especially stroke. In other words, cerebral ischemia and inflammation are strongly linked. In the present study, we performed a genetic association study on two single nucleotide polymorphisms (IL6 -572 and -174 G>C) in an Iranian population in Khorasan province. ***Materials and Methods:*** Our hypothesis was tested in this case-control study on stroke patients as well as healthy controls that matched for age, sex, and some traditional risk factors. These polymorphisms were detected by Real time Taq man probe and PCR-RFLP. ***Results:*** After adjustment for the confounding risk factors, there was an association between the female patients who suffer from stroke and the IL-6 -572 G>C polymorphism and also Hemorrhagic subtype of stroke. Furthermore, there was no association between IL-6 -174 G>C and stroke, exceptone for one allele in male group. ***Conclusion:*** In conclusion, genotype of IL-6 -572 G>C May be a genetics risk factor that enhances the risk for stroke in studied population. However, it is highly controversial whether IL-6 -174 G>C is a susceptible gene for stroke in this population. This is needed to be confirmed in a larger population.

Key words:

1. Stroke
2. Inflammation
3. Polymerase Chain Reaction

***Corresponding Author:** Ariane Sadr-Nabavi

E-mail: *sadrnabavia2009@gmail.com*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]

همبستگی بین پلی‌مورفیسم‌های عملکردی پروموتر ژن اینترلوکین -۶ و سکتهٔ مغزی: تجزیه و تحلیل در بین یک جمعیت ایرانی

محمدرضا قاسمی[۱]، پیمان زرگری[۲]، همدم هورفر[۳]، مریم پیرهوشیاران[۱]، پیام ساسان نژاد[۴]، محمود رضا آذرپژوه[۴]، آریانه صدرنبوی[۱،۶،۵*]

[۱]گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۲]گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۳]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران
[۴]گروه نورولوژی، بیمارستان قائم، مشهد، ایران
[۵]مرکز تحقیقات ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۶]جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۷ خرداد ۱۳۹۶ **اصلاحیه:** ۲۵ خرداد ۱۳۹۶ **تاریخ پذیرش:** ۸ تیر ۱۳۹۶

چـــــکیده

مقدمه: واریانت‌های توالی در ژن‌هایی که درگیر در سیستم التهاب هستند به خطر ابتلا به برخی از بیماری‌های قلبی -عروقی مانند سکتهٔ مغزی کمک می‌کنند. اینترلوکین -۶ یک سایتوکین پلیوتروپ با بیماری‌های قلبی -عروقی مخصوصاً سکتهٔ مغزی در ارتباط است. به عبارت دیگر، ایسکمیک مغزی و التهاب به‌شدت با هم ارتباط دارند. در مطالعهٔ حاضر یک مطالعهٔ همبستگی ژنتیکی روی دو پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (IL6 -572 , -174 G>C) در یک جمعیت ایرانی در استان خراسان انجام دادیم. مواد و روش‌ها: فرضیهٔ ما در این مطالعهٔ مورد -شاهدی بر روی بیماران سکتهٔ مغزی و کنترل‌های سالم که برای سن، جنس و برخی عوامل خطر کلاسیک انطباق یافته بودند، آزمایش شد. این پلی‌مورفیسم‌ها توسط روش Real Time Taq Man Probe و PCR-RFLP تشخیص داده شدند. یافته‌ها: پس از تعدیل عوامل خطر مخدوش‌کننده، همبستگی بین زنان بیماری که از سکتهٔ مغزی رنج می‌برند و پلی‌مورفیسم IL-6 -572 G>C و همچنین زیرگروه هموراژیک سکتهٔ مغزی وجود داشت. علاوه بر این بین IL-6 -174 G>C و سکتهٔ مغزی، بجز یکی از آلل‌ها در گروه مردان همبستگی وجود نداشت. نتیجه‌گیری: در نتیجه ژنوتیپ IL-6 -572 G>C ممکن است یک عامل خطر ژنتیکی باشد که خطر ابتلا به سکتهٔ مغزی در جمعیت مورد مطالعه را افزایش می‌دهد. با این وجود این خیلی بحث‌برانگیز است که آیا IL-6 -174 G>C یک ژن حساس برای سکتهٔ مغزی در این جمعیت است. این مورد نیاز به تأیید در یک جمعیت بزرگ‌تر است.

کلید واژه‌ها:
۱. سکتهٔ مغزی
۲. التهاب
۳. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

* **نویسنده مسئول:** آریانه صدرنبوی
آدرس الکترونیکی: *sadrnabavia2009@gmail.com*

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]

مقدمه

سکتهٔ مغزی یک اختلال چندعاملی پیچیده است که از علل مهم مرگ و ناتوانی در بزرگسالان در تمام جهان است (۱). در انطباق با پروژهٔ سازمان جهانی بهداشت مونیکا[1]، سکتهٔ مغزی به‌عنوان "توسعهٔ سریع علایم بالینی متمرکز شده (یا عمومی) اختلال در عملکرد تعریف شدهٔ مغزی ، به مدت بیش از ۲۴ ساعت (مگر اینکه با عمل جراحی یا مرگ قطع شود) و به غیر از یک منشأ عروقی هیچ علت ظاهری دیگری مشاهده نشود" (۳، ۲). همچنین، در یک تقسیم‌بندی بر اساس پاتولوژی، سکتهٔ مغزی در دو گروه ایسکمیک و هموراژیک تقسیم می‌شود (۴). در سکتهٔ مغزی ایسکمیک (IS)، جریان خون به بخشی از مغز که مسدود شده نمی‌رسد و در نتیجه در عملکرد بافت مغز اختلال ایجاد می‌شود. این واقعه وقتی‌که مثلاً یک آمبولی و یا موارد دیگر مانند انسداد و قطع جریان خون وریدی مغزی که احتمالاً منشأ چربی دارند اتفاق می‌افتد. سکتهٔ هموراژیک نیز ناشی از یک رگ خونی پاره شده در مغز است که یا به وسیلهٔ آنوریسم ایجاد می‌شود و یا تروما ثانویه که باعث به وجود آمدنش می‌شود. هنگامی که یک رگ پاره شده باشد، سلول‌های مغزی تأمین نخواهند شد، پس موجب انفارکتوس می‌شود (۵).

با این وجود پیشرفت‌های عالی در زمینهٔ شناخت، پیشگیری و درمان سکتهٔ مغزی، بسیاری از عوامل ناشناخته در مورد دیگر مکانیسم‌های موجود که باعث ایجاد مشکلاتی در پیشگیری و درمان این بیماری می‌شوند وجود دارد. با وجود اینکه پروفایل ژنتیکی خود به تنهایی نقش مهمی در استعداد ابتلاء به سکتهٔ مغزی بازی می‌کند، عوامل خطر زیست‌محیطی کلاسیک مانند فشار خون بالا، سن بالا، کلسترول بالا، دیابت، سیگار کشیدن، چاقی و غیره نیز با عوامل ژنتیکی در سکتهٔ مغزی همراهی نشان می‌دهند (۶). اگرچه، مطالعات همبستگی یک ابزار قدرتمند برای شناسایی عوامل خطر ژنتیکی هستند، انتخاب روش مطالعهٔ مناسب و تکرار نتایج، در گروه‌های کوهورت مستقل، موارد لازم برای اثبات رابطهٔ علت و معلولی بین یک نشانگر ژنتیکی و سکتهٔ مغزی است (۷).

ایسکمی مغزی و التهاب به‌شدت با هم ارتباط دارند: محرکی که به طور بالقوه برای التهاب مضر و عفونی است ایسکمی می‌باشد و التهاب همراه آن یک عامل خطر شناخته شده برای سکتهٔ مغزی ایسکمیک است. التهاب نیز به وقایع ایسکمیک از طریق ارتقاء آترواسکلروز کمک می‌کند. پلی‌مورفیسم عملکردی ژن‌های التهابی ممکن است باعث احتمال بروز سکتهٔ مغزی ایسکمیک شود (۹، ۸).

اینترلوکین ۶ (IL-6) یکی از سایتوکین‌های التهابی پلیوتروپیک است که با تصلب شریان و بیماری‌های قلبی -عروقی همبستگی نشان داده است. همچنین ممکن است یک میانجی کلیدی در پاسخ التهابی به ایسکمی مغزی باشد. سطح IL-6 هم در سرم و هم در مایع مغزی نخاعی پس از سکتهٔ مغزی ایسکمیک افزایش می‌یابد، بنابراین با شدت سکتهٔ مغزی، با بدتر شدن اولیهٔ اعصاب، حجم بزرگ‌تر نهایی سکتهٔ مغزی و نتایج بالینی بدتر در ۳، ۶ و ۱۲ ماه ارتباط مستقیم دارد (۹، ۸).

ژن IL-6 از ۵ اگزون، ۴ اینترون و یک منطقهٔ پروگزیمال پروموتر است که واقع در لوکوس کروموزومی 7p21 در انسان می‌باشد (۱۰). مناطق کدینگ پروموتر ژن IL-6 دارای پلی‌مورفیسم عملکردی می‌باشد که با افزایش سطح پلاسمایی این سایتوکین در ارتباط است. اگر موقعیت ۱۷۴- از ژن IL-6 تحت تغییر G به C قرار بگیرد، یک سایت بالقوهٔ اتصال برای عامل رونویسی NF-1 ایجاد می‌گردد که باعث مهار بیان ژن می‌شود. از سوی دیگر، آلل G با سطح بالاتر IL-6 گردشی در ارتباط است (۱۱). مکان پلی‌مورفیسمی دیگری در ۵۷۲- این ژن فعالیت پروموتر را تحت تأثیر قرار می‌دهد که به نظر می‌آید به جهت کنترل اثر پلی‌مورفیسم در موقعیت ۱۷۴- است (۱۲).

به امید پیدا کردن اطلاعات جدید و دلایل منطقی از بروز زودتر و پایین‌تر سکتهٔ مغزی در شمال شرق ایران که در مطالعات قبل اثبات شده بود (۱۵-۱۳) ما بر روی این دو پلی‌مورفیسم عملکردی این ژن حیاتی که میانجی‌گر التهاب است در این مطالعه تمرکز کردیم.

مواد و روش‌ها

جامعهٔ مورد مطالعه

روش‌های انتخاب بیمار با توجه به مورد -شاهدی بودن مطالعه گزیده شد. بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان قائم که مهم‌ترین مرکز مغز و اعصاب در شرق ایران می‌باشد، بین ماه‌های اسفند ۱۳۹۱ تا آذر ۱۳۹۲ انتخاب شدند. هر بیمار مشکوک به سکتهٔ مغزی توسط متخصصین مغز و اعصاب به جهت تأیید تشخیص بیماری مورد بررسی قرار می‌گرفت. به جهت طبقه‌بندی بیماران توسط سکتهٔ مغزی نخستین (FESs)[2] که به زیر گروه‌های سکتهٔ مغزی ایسکمیک، گروه‌های خونریزی‌دهنده (ICH و SAH) و دیگر گروه‌بندی می‌شدند از تصویربرداری عصبی استفاده شد. علاوه بر این، طبقه‌بندی به زیرگروه‌های ایسکمیک و هموراژیک توسط توموگرافی کامپیوتری (سی‌تی‌اسکن) و تصویربرداری رزونانس مغناطیسی

[1] MONICA project
[2] First-ever stroke

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]

(MRI)[3] نیز انجام گرفت. تأیید موارد[4] و اخلاق کار نیز بر طبق مطالعهٔ آقای دکتر آذرپژوه و همکاران رعایت شد (۲).

علاوه بر این، پایگاه داده‌های ژنتیکی توسط گروه ما طراحی گردید که ۲۰۴ بیمار سکتهٔ مغزی ایزوله و ۲۲۲ فرد سالم غیر مرتبط با محدودهٔ سنی ۲۰ تا ۷۰ که از همان منطقهٔ جمعیتی بدون سابقهٔ سکتهٔ مغزی بودند، انتخاب شدند. همچنین از نظر سن، جنسیت و برخی از عوامل خطر کلاسیک سکتهٔ مغزی با گروه بیماران منطبق[5] شدند. جامعهٔ مورد مطالعه (مورد شاهدی) و عوامل خطر در جدول ۱ قابل‌مشاهده است.

تعیین ژنوتیپ

نمونهٔ خون جهت استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی Prime Prep از گروه مورد و شاهد گرفته شد[6]. با استفاده از DNA استخراج شده به‌عنوان الگو، انواع مختلف از واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)[7] انجام گرفت. برای پلی‌مورفیسم G>C IL-6 -174 و IL-6 -572 G>C به ترتیب از روش‌های RFLP-PCR،Real-Time PCR Taqman probe برای تعیین SNP ها استفاده شد. اطلاعات دقیق در مورد شرایط PCR، پرایمرها و پروب توالی در جدول ۲ و ۳ خلاصه شده است.

جدول ۱- اطلاعات جمعیت‌شناختی و پروفایل عوامل خطر در بیماران مبتلا به سکتهٔ مغزی و کنترل مربوطه برای پلی‌مورفیسم‌های IL-6 -572 G>C و IL-6 -174 G>C.

فاکتورهای خطر مرسوم	IL-6 -174 G>C			IL-6 -572 G>C		
	ارزش P	کنترل تعداد ۲۱۲	بیمار تعداد ۲۰۳	ارزش P	کنترل تعداد ۲۰۱	بیمار تعداد ۲۰۱
سن (mean ± SD)*	۰/۲۷۲*	۵۰/۵±۱۲/۰	۵۱/۸۴±۱۳/۰	۰/۱۸۹*	۵۰/۲±۱۱/۷	۵۱/۹±۱۳/۰
جنس (مرد / زن)	۰/۶۲۲†	(۱۱۵/۹۷)	(۱۱۵/۸۸)	۰/۷۶۲†	(۱۱۸/۸۳)	(۱۱۵/۸۶)
دیابت شیرین (٪)	۰/۱۰۵†	۴۵ (۲۱/۲)	۵۷ (۲۸/۱)	۰/۰۶۱†	۴۵(۲۰)	۵۷ (۲۸)
LDL	۰/۱۱۸*	۱۲۱/۵±۳۲/۱	۱۲۷/۱±۳۴/۵	۰/۱۱۵*	۱۲۱/۶±۳۲/۳	۱۲۷/۳±۳۴/۴
HDL	۰/۳۵۵*	۴۱/۷±۸/۵	۴۰/۹±۹/۵	۰/۱۷۲*	۴۲/۴±۸/۸	۴۱±۹/۵
Triglyceride	۰/۶۳۷*	۱۴۴/۷±۸۶/۷	۱۴۰/۲±۹۳/۱	۰/۸۳۷*	۱۴۰/۴±۸۰/۹	۱۳۸/۵±۸۹/۷
Total Cholesterol	۰/۲۵۹*	۱۹۰/۶±۴۲/۳	۱۸۵/۳±۴۵/۹	۰/۲۸۷*	۱۹۰/۵±۴۱/۹	۱۸۵/۵±۴۵/۶

جدول ۲- پرایمرها و توالی‌های پروب Taq Man (پرایمر و پروب‌ها به‌خصوص، توسط نرم‌افزار Allele ID طراحی شده‌اند).

ژن و پلی‌مورفیسم مربوطه	توالی پرایمر و پروب ها	
IL-6 -174 (G>C)	Forward primer	5'-TTGTCAAGACATGCCAAAGTGCT-'3
IL-6 -174 (G>C)	Reverse primer	5'-GCCTCAGACATCTCCAGTCC-'3
IL-6 -572 (G>C)	Forward primer	5'-GCACGAAATTTGAGGATGGC-'3
IL-6 -572 (G>C)	Reverse primer	5'-TCTGAGTTCTTCTGTGTTCTGG-'3
IL-6 -572 (G>C)	Probe C	5-FAM-AGTTCTACAACAGCCCCTCACA-PHOSPHATE3'
IL-6 -572 (G>C)	Probe G	5-HEX-AGTTCTACAACAGCCGCTCACA PHOSPHATE'3

جدول ۳- شرایط PCR و تعیین ژنوتیپ.

قطعات آمپلیکون به جفت باز(bp)	تعداد سیکل	زمان	دماهای مربوط به مراحل PCR
IL-6-174 بعد از هضم آنزیمی با آنزیم Hin1II (NlaIII)	۱ سیکل	۵ min	۹۵°
GG: ۲۳۳ GC: ۲۳۳+۱۲۲ CC: ۱۲۲	۳۵ سیکل	۶۰/۳۰ sec ۶۰/۳۰ sec ۶۰/۳۰ sec	۹۵° ۶۰/(IL6-572) ۵۷° (IL6-174) ۷۲
	۱ سیکل	۵ min	۷۲

[3] Magnetic resonance imaging
[4] Case ascertainment
[5] Matched
[6] Catalog No K-2000; genet bio
[7] Polymerase chain reaction

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]

تجزیه و تحلیل آماری

در جامعهٔ مورد مطالعه داده‌های کیفی به صورت فراوانی و درصد و داده‌های کمّی به صورت میانه با انحراف معیار استاندارد گزارش شده است. به‌منظور مقایسهٔ این متغیرهای کیفی و کمّی بین گروه‌های مورد و شاهد به ترتیب از آزمون‌های x2 و Student t test یا Mann–Whitney U پس از نرمال کردن داده‌ها با one-sample Kolmogorov – Smirnov استفاده شد. مقدار $P<۰/۰۵$ نیز به‌عنوان ارزش معنی‌دار آماری در نظر گرفته شد. همچنین، تجزیه و تحلیل‌ها برای سن، جنسیت و همچنین برخی از عوامل خطر سکتهٔ مغزی که منطبق شده بودند انجام گرفت. سپس، نسبت‌های مورد انتظار برای هر ژنوتیپ و هر آلل در گروه‌های مورد و شاهد محاسبه شد. در نهایت این تجزیه و تحلیل‌ها همچنین به جهت محاسبهٔ خطر سکتهٔ مغزی در زیرگروه‌ها و جنسیت مورد استفاده قرار گرفت. همهٔ تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۱/۵ انجام شد.

یافته‌ها

نتایج مطالعهٔ فوق به دو قسمت اطلاعات مربوط به خود بیماران و افراد کنترل و فراوانی ژنوتیپ‌ها تقسیم می‌شود که در ذیل اشاره می‌شود.

خصوصیات افراد بیمار و کنترل

جدول ۱ شامل مشخصات جمعیت‌شناختی و بالینی بیماران سکتهٔ مغزی و نمونه‌های کنترل مربوطه از جمعیت شرق ایران است. همچنین تعداد مردان و زنان برای پلی‌مورفیسم‌های ژن IL-6 در جدول ۱ نشان داده شده است. به‌منظور تطبیق عوامل خطر غیر ژنتیکی، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در سن، جنسیت، دیابت شیرین، LDL، HDL، تری گلیسیرید و کلسترول کل بین گروه‌های مورد و شاهد در جمعیت این دو پلی‌مورفیسم وجود ندارد.

فراوانی ژنوتیپ

ما ۲ جامعهٔ آماری مختلف را منوط به آزمون‌های آماری مرتبط با جمعیت‌های مختلف و بر اساس فراوانی‌های این پلی‌مورفیسم‌ها محاسبه کردیم که شامل؛572- IL-6 : ۲۰۱ بیمار سکتهٔ مغزی و ۲۰۱ فرد سالم و 174- IL-6: ۲۰۳ بیمار سکتهٔ مغزی و ۲۱۲ فرد سالم است. جدول‌های ۴ و ۵ نشان‌دهندهٔ توزیع ژنوتیپ‌ها و فراوانی‌های آللی پلی‌مورفیسم IL6 -572G/C و جدول‌های ۶ و ۷ نشان‌دهندهٔ توزیع ژنوتیپ‌ها و فراوانی‌های آللی پلی‌مورفیسم IL-6 -174G/C می‌باشد. ازلحاظ آماری تفاوت معنی‌داری در توزیع پلی‌مورفیسم IL-6 -572 G>C بین زیرگروه زنان که از سکتهٔ مغزی رنج می‌بردند و کنترل مربوطه و همچنین در زیرگروه هموراژیک سکتهٔ مغزی (به ترتیب ارزش P ۰/۰۰۷ و ۰/۰۱۰) وجود دارد. بنابراین، ژنوتیپ GC و آلل C این پلی‌مورفیسم ممکن است عامل خطر برای بیماران سکتهٔ مغزی زنان و همچنین زیرگروه سکتهٔ مغزی هموراژیک باشند (جدول‌های ۴ و ۵).

همان‌طور که در جدول‌های ۶ و ۷ نشان داده شده است، هیچ اختلاف آماری معنی‌داری در پلی‌مورفیسم IL-6 -174 G>C (بجز فراوانی آللی بین زیرگروه مردان) وجود ندارد. به عبارت دیگر، آلل C از این پلی‌مورفیسم ممکن است یک عامل خطر نه چندان قابل اطمینان برای زیرگروه مردان در بیماری سکتهٔ مغزی باشد.

همچنین، تصاویر ۱ و ۲ نمونه‌هایی از تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی این پلی‌مورفیسم‌ها را توسط روش‌های متفاوت مبتنی بر PCR نشان می‌دهد.

جدول ۴- ژنوتیپ و فراوانی آلل IL-6 -572 G>C در بیماران سکتهٔ مغزی و برحسب جنسیت در مقابل گروه کنترل و ارزش P.

توزیع ژنوتیپی	بیمار تعداد ۲۰۱	کنترل تعداد ۲۰۱	ارزش P	بیمار مرد تعداد ۸۶	کنترل مرد تعداد ۸۴	ارزش P	بیمار زن تعداد ۱۱۵	کنترل زن تعداد ۱۱۷	ارزش P
GG (تعداد و ٪)	۱۶۳ (۸۱/۱)	۱۷۵ (۸۷/۱)	۰/۰۹۳	۷۵ (۸۷/۲)	۶۸ (۸۱/۰)	۰/۱۱۸	۸۸ (۷۶/۵)	۱۰۷ (۹۱/۵)	۰/۰۰۷
CC (تعداد و ٪)	۳ (۱/۵)	۰		۲ (۲/۳)	۰		۱ (۰/۹)	۰	
GC (تعداد و ٪)	۳۵ (۱۷/۴)	۲۶ (۱۲/۹)		۹ (۱۰/۵)	۱۶ (۱۹/۰)		۲۶ (۲۲/۶)	۷۳ (۸/۵)	
توزیع آللی	**بیمار تعداد ۴۰۲**	**کنترل تعداد ۴۰۲**	**ارزش P**	**بیمار مرد تعداد ۱۷۲**	**کنترل مرد تعداد ۱۶۸**	**ارزش P**	**بیمار زن تعداد۲۳۰**	**کنترل زن تعداد۲۳۴**	**ارزش P**
G (تعداد و ٪)	۳۶۱ (۸۹/۹)	۳۷۶ (۹۳/۵)	۰/۰۵۶	۱۵۹ (۹۲/۴)	۸۳ (۹۰/۵)	۰/۵۱۶	۲۰۲ (۸۷/۸)	۲۲۴ (۹۵/۷)	۰/۰۰۲
C (تعداد و ٪)	۲۱ (۱۰/۲)	۲۶ (۶/۵)		۱۳ (۷/۶)	۱۶ (۹/۵)		۲۸ (۱۲/۲)	۱۰ (۴/۳)	

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]

جدول ۵- ژنوتیپ و فراوانی آلل IL-6 -572 G>C در بیماران سکتهٔ مغزی و برحسب زیرگروه در مقابل گروه کنترل و ارزش *P*.

توزیع ژنوتیپی	بیمار ایسکمیک تعداد ۱۱۱	کنترل تعداد ۲۰۱	ارزش P	بیمار هموراژیک تعداد ۶۶	کنترل تعداد ۲۰۱	ارزش P	دیگر بیماران تعداد ۲۴	کنترل تعداد ۲۰۱	ارزش P
GG (تعداد و ٪)	۹۳ (۸۳/۸)	۱۷۵ (۸۷/۱)	۰/۳۳۴	۵۰ (۷۵/۸)	۶۸ (۸۱/۰)	۰/۰۱۰	۲۰ (۸۳/۳)	۱۰۷ (۹۱/۵)	۰/۶۱۱
CC (تعداد و ٪)	۱ (۱)	۰		۲ (۳/۰)	۰		۰	۰	
GC (تعداد و ٪)	۱۷ (۱۵/۲)	۲۶ (۱۲/۹)		۱۴ (۲۱/۲)	۱۶ (۱۹/۰)		۴ (۱۶/۷)	۷۳ (۸/۵)	
توزیع آللی	**بیمار ایسکمیک تعداد ۲۲۲**	**کنترل تعداد ۴۰۲**	**ارزش P**	**بیمار هموراژیک تعداد ۱۳۲**	**کنترل تعداد ۴۰۲**	**ارزش P**	**دیگر بیماران تعداد ۴۸**	**کنترل تعداد ۴۰۲**	**ارزش P**
G (تعداد و ٪)	۲۰۳ (۹۱/۴)	۳۷۶ (۹۳/۵)	۰/۳۳۴	۱۱۴ (۸۶/۴)	۳۷۶ (۹۳/۵)	۰/۰۰۹	۴۴ (۹۱/۷)	۳۷۶ (۹۳/۵)	۰/۶۲۴
C (تعداد و ٪)	۱۹ (۸/۶)	۲۶ (۶/۵)		۱۸ (۱۳/۶)	۲۶ (۶/۵)		۴ (۸/۳)	۲۶ (۶/۵)	

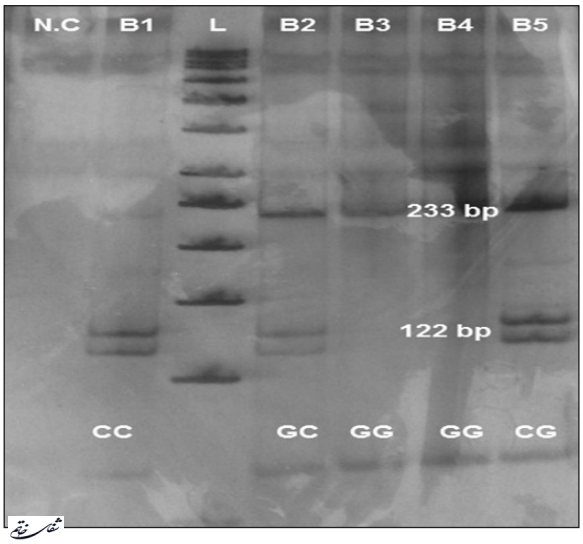
جدول ۶- ژنوتیپ و فراوانی آلل IL-6 -174 G>C در بیماران سکتهٔ مغزی و برحسب جنسیت در مقابل گروه کنترل و ارزش *P*.

توزیع ژنوتیپی	بیمار تعداد ۲۰۳	کنترل تعداد ۲۱۲	ارزش P	بیمار مرد تعداد ۸۹	کنترل مرد تعداد ۹۷	ارزش P	بیمار زن تعداد ۱۱۵	کنترل زن تعداد ۱۱۵	ارزش P
GG (تعداد و ٪)	۱۲۵ (۶۱/۶)	۱۳۱ (۶۱/۸)	۰/۹۳۰	۲۶ (۲۹/۲)	۱۵ (۱۵/۵)	۰/۰۵۴	۷۵ (۶۵/۲)	۲۲ (۶۶/۱)	۰/۵۶۹
CC (تعداد و ٪)	۶ (۳/۰)	۵ (۲/۴)		۱۸ (۲۰/۲)	۲۹ (۲۹/۹)		۱ (۰/۹)	۳ (۲/۶)	
GC (تعداد و ٪)	۷۲ (۳۵/۵)	۷۶ (۳۵/۸)		۴۵ (۵۰/۶)	۵۳ (۵۴/۶)		۳۹ (۳۳/۹)	۳۶ (۳۱/۳)	
توزیع آللی	**بیمار تعداد ۴۰۶**	**کنترل تعداد ۴۲۴**	**ارزش P**	**بیمار مرد تعداد ۱۷۸**	**کنترل مرد تعداد ۱۹۴**	**ارزش P**	**بیمار زن تعداد ۲۳۰**	**کنترل زن تعداد ۲۳۰**	**ارزش P**
G (تعداد و ٪)	۳۲۲ (۷۹/۳)	۳۳۸ (۷۹/۷)	۰/۸۸۵	۹۷ (۵۴/۵)	۸۳ (۴۲/۸)	۰/۰۲۴	۱۸۹ (۸۲/۲)	۱۸۸ (۸۱/۷)	۰/۹۰۳
C (تعداد و ٪)	۸۴ (۲۰/۷)	۸۶ (۲۰/۳)		۸۱ (۴۵/۵)	۱۱۱ (۵۷/۲)		۴۱ (۱۷/۸)	۴۲ (۱۸/۳)	

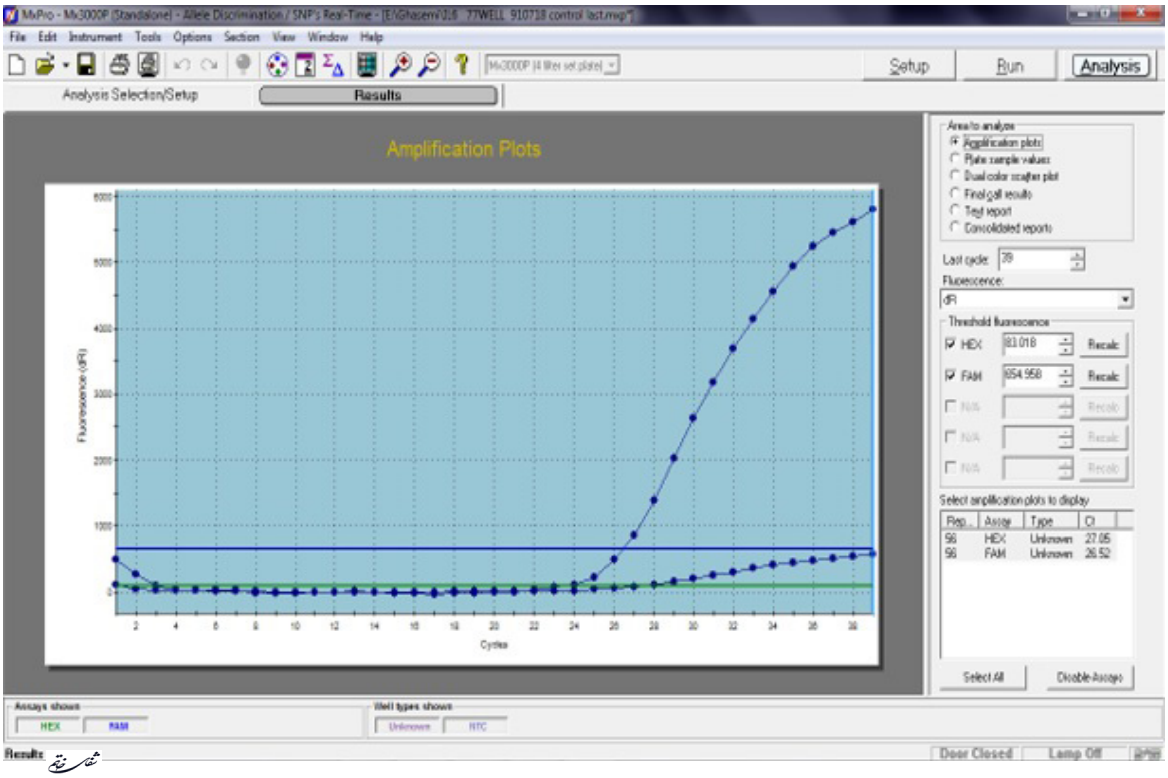
جدول ۷- ژنوتیپ و فراوانی آلل IL-6 -174 G>C در بیماران سکتهٔ مغزی و برحسب زیرگروه در مقابل گروه کنترل و ارزش *P*.

توزیع ژنوتیپی	بیمار ایسکمیک تعداد ۱۱۳	کنترل تعداد ۲۱۲	ارزش P	بیمار هموراژیک تعداد ۶۶	کنترل تعداد ۲۱۲	ارزش P	دیگر بیماران تعداد ۲۴	کنترل تعداد ۲۱۲	ارزش P
GG (تعداد و ٪)	۶۵ (۵۷/۵)	۱۳۱ (۶۱/۸)	۰/۵۱۱	۴۷ (۷۱/۲)	۱۳۱ (۶۱/۸)	۰/۳۷۶	۱۳ (۵۴/۲)	۱۳۱ (۶۱/۸)	۰/۵۰۸
CC (تعداد و ٪)	۵ (۴/۴)	۵ (۲/۴)		۱ (۱/۵)	۵ (۲/۴)		۰	۵ (۲/۴)	
GC (تعداد و ٪)	۴۳ (۳۸/۱)	۷۶ (۳۵/۸)		۱۸ (۲۷/۳)	۷۶ (۳۵/۸)		۱۱ (۴۵/۸)	۷۶ (۳۵/۸)	
توزیع آللی	**بیمار ایسکمیک تعداد ۲۲۶**	**کنترل تعداد ۴۲۴**	**ارزش P**	**بیمار هموراژیک تعداد ۱۳۲**	**کنترل تعداد ۴۲۴**	**ارزش P**	**دیگر بیماران تعداد ۴۸**	**کنترل تعداد ۴۲۴**	**ارزش P**
G (تعداد و ٪)	۱۷۳ (۵۲/۷)	۳۳۸ (۷۹/۷)	۰/۳۴۸	۱۱۲ (۸۴/۸)	۳۳۸ (۷۹/۷)	۰/۱۹۰	۳۷ (۷۷/۱)	۳۳۸ (۷۹/۷)	۰/۶۶۹
C (تعداد و ٪)	۵۳ (۲۳/۵)	۸۶ (۲۰/۳)		۲۰ (۱۵/۲)	۸۶ (۲۰/۳)		۱۱ (۲۲/۹)	۸۶ (۲۰/۳)	

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]



تصویر ۱- یک نمونه از قطعات ران شدهٔ پلی‌مورفیسم IL-6 -174 G>C بر روی ژل پلی اکریل آمید، بعد از هضم محصول PCR با آنزیم NlaIII قطعهٔ ۲۳۳ جفت باز برای ژنوتیپ (G/G)، قطعات ۲۳۳/۱۲۲ جفت باز برای ژنوتیپ (G/C) و قطعهٔ ۱۲۲ جفت باز برای ژنوتیپ (C/C). L: 50bp ladder، B1 تا B5: برخی از نمونه‌ها هستند. N.C: کنترل منفی.



تصویر ۲- SNP discrimination Real-time PCR با پروب Taqman اختصاصی برای پلی‌مورفیسم IL-6 -572 G>C (در تصویر نمونه‌ای با ژنوتیپ GC).

بحث و نتیجه‌گیری

علی‌رغم نتایج نامطلوب در مورد سختی تعیین ارتباط منطقی و واقعی بین پلی‌مورفیسم‌های فاکتورهای التهابی با ابتلاء به سکتهٔ مغزی، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که افزایش یا کاهش حساسیت به سکتهٔ مغزی ممکن است با تفاوت در توزیع پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های دخیل در سیستم التهابی ارتباط داشته باشد (۱۶، ۱۰-۸). از این رو، پروفایل‌های جامع نشانگرهای ژنتیکی التهاب در یک شیوهٔ منحصر به جمعیت خاص با ویژگی[8] بالاتر که به معنی حساسیت بالاتر فرد در یک جمعیت برای توسعهٔ سکتهٔ مغزی است تعریف شده است. در جمعیت ایرانی، هیچ اطلاعاتی در مورد نقش ژن‌های التهابی در بیماریزایی سکتهٔ مغزی وجود ندارد.

[8] Specificity

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]

علاوه بر این، مطالعات انجام شده در حوزهٔ سکتهٔ مغزی در سرتاسر دنیا اهمیت پاسخ التهابی که با آسیب نکروتیک مغز همراه می‌شود را نشان داده است (۱۷). با این حال، مکانیسم‌های بسیار متفاوتی که در بیماریزایی سکتهٔ مغزی دخیل هستند وجود دارد که به طور فزاینده‌ای التهاب به‌عنوان یکی از مسیرهای مهم تلقی می‌شود (۱۸). این مکانیسم به نظر می‌رسد به طور حادی در آسیب‌شناسی ایسکمیک سهیم باشد. التهاب یک واژهٔ در برگیرندهٔ یک فرایند پیچیده که مستلزم تغییرات سلولی، هورمونی و بیوشیمیایی متعددی است که هر دو سیستمیک و ارگان محور هستند (۱۹). سایتوکین‌ها، واسطه‌های التهابی هستند که در مغز پس از سکتهٔ مغزی افزایش می‌یابند. اینترلوکین ۶ یکی از بیشترین سایتوکین مورد مطالعهٔ مربوط به التهاب در سکتهٔ مغزی است که ممکن است باعث محافظت اعصاب شود (۲۰).

IL-6 را تا حد زیادی به‌عنوان مهم‌ترین واسطهٔ واکنش‌های التهابی در داخل بدن و یکی از سایتوکین‌های پیش التهابی تصور می‌کردند. برخی مطالعات این واسطهٔ التهابی را به‌عنوان فاکتور مفید (۲۱) و برخی به‌عنوان فاکتور مضر (۲۲) پیشنهاد داده بودند. علاوه بر این، مطالعات بالینی در بیماران سکتهٔ مغزی این موضوع را پیشنهاد داده است که نه تنها غلظت سرمی IL-6 افزایش قابل‌توجهی در سکتهٔ مغزی ایسکمیک داشته است (۱۶)، بلکه همچنین آن را به‌عنوان قوی‌ترین معیار مستقل برای مرگ و میر در بیمارستان معرفی کرده است (۲۳). در یک کار آزمایی بالینی دو سو کور[9] در بیماران مبتلا به سکتهٔ مغزی حاد، سطح IL-6 در کسانی که داروی rhIL-1Ra که یک داروی محافظت‌کنندهٔ نورونی است استفاده کرده بودند به طور قابل‌توجهی پایین بوده است. به عبارت دیگر، نتیجهٔ بهتری نسبت به گروه درمان شده با دارونما[10] ارائه داده بودند (۲۴). علاوه بر این، شواهد در حال افزایش نشان می‌دهند که IL-6 یک تنظیم‌کنندهٔ کلیدی مکانیسم التهابی است که نقش محوری در توسعه و پاتوفیزیولوژی سکتهٔ مغزی بازی می‌کنند (۲۵).

برخی از SNP ها، به‌ویژه در پروموتر غیر کد شونده در ژن IL-6، نشان داده شده است که تأثیر شگفت‌انگیزی در بیان این ژن دارند (۲۶). پیرو آن، مطالعهٔ ما نشان می‌دهد که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های خاص پروموتر و آلل IL-6 -572 C، سکتهٔ مغزی زیرگروه زنان وجود دارد ($P<0/007$، $P<0/002$). علاوه بر این، این ژنوتیپ و آلل مرتبط با زیرگروه هموراژیک ($P<0/010$، $P<0/009$) به‌جای زیرگروه ایسکمیک که ما انتظار داشتیم رابطه داشته باشد، همبستگی نشان داد. در این پلی‌مورفیسم نشان داده شده است که می‌تواند بر روی زیرگروه هموراژیک تأثیر داشته باشد. به جهت تأیید مجدد نتایج، ما قصد داریم بررسی دیگری را با حجم نمونهٔ بزرگ‌تر و با جزئیات بیشتر در زیرگروه‌ها و مکانیسم‌های متفاوت به‌خصوص هموراژیک انجام دهیم.

به جهت مروری بر نکات قوت مطالعه، می‌توانیم برخی از مزایای مطالعهٔ خودمان را در پنج مورد طبقه‌بندی کنیم: اول، حجم نمونهٔ مطالعهٔ ما یکی از بزرگ‌ترین‌ها در منطقه است و به صورت آزمایشی[11] تمام زیرگروه‌های سکتهٔ مغزی را شامل می‌شود (فراگیر بودن). دوم، به جهت اطمینان، تائید و اثبات صحت نتایج و جمع‌آوری نمونه و اطلاعات، افراد مشکوک به سکتهٔ مغزی توسط متخصص مغز و اعصاب به همراه CT اسکن و MRI (با توجه به مطالعهٔ بروز سکتهٔ مغزی مشهد (MSIS)) تشخیص داده می‌شدند. علاوه بر این، برای جلوگیری از طبقه‌بندی نادرست نیز از گزارش‌های بیمارستانی به تنهایی استفاده نکردیم. سوم، به دلیل توجه به همبستگی بین سن با سکتهٔ مغزی، یک محدودهٔ سنی گسترده‌تر مورداستفاده قرار گرفت. چهارم، این دو پلی‌مورفیسم با روش‌های دقیق آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفتند (با درصد اطمینان بالا و بررسی چندبارهٔ نتایج) و پنجمین مزیت، بیماران و کنترل‌ها برای حذف اثرات غیر ژنتیکی (محیطی) عوامل خطر ایجادکنندهٔ سکتهٔ مغزی معمول مانند دیابت، سن، جنسیت، عوامل چربی مورد تطابق قرار گرفتند.

بنابراین، در ابتدا نتیجه می‌گیریم که فراوانی آلل C در منطقهٔ ۵۷۲- پروموتر ژن IL-6 در یک جمعیت ایرانی (خراسان) برای تأیید مطالعات دیگر بسیار کم است. همچنین پلی‌مورفیسم ژن IL-6 در منطقهٔ ۵۷۲- می‌تواند باعث ایجاد استعداد قابل‌توجهی به سکتهٔ مغزی در منطقهٔ شرق ایران شود. با کمال تعجب، ما دریافتیم همبستگی قوی بین زیرگروه سکتهٔ هموراژیک و این پلی‌مورفیسم و همچنین در زیرگروه با جنسیت زن که هدف مطالعات بیشتر آیندهٔ گروه ماست وجود دارد. علاوه بر این، هیچ ارتباط معنی‌داری از لحاظ آماری بین IL-6 -174 G>C و سکتهٔ مغزی به طور کل، بجز آلل C در زیرگروه مردان، وجود نداشت که مؤید برخی از مطالعات دیگر بود (۲۷).

به‌عنوان نتیجهٔ کلی، پلی‌مورفیسم IL-6 -572 G>C که در مکانیسم التهاب نقش دارد، ممکن است یکی از عوامل خطر سکتهٔ مغزی برای جمعیت شرق ایران محسوب شود. با توجه به این مطلب، این همبستگی ممکن است یکی از دلایل شیوع با سن کمتر سکتهٔ مغزی در جمعیت شرق ایران استدلال شود و بنابراین این یافته‌ها می‌تواند تأثیر بسزایی برای تشخیص سریع‌تر و درمان بهتر سکتهٔ مغزی داشته باشد.

[9] Double-blind
[10] Placebo
[11] Pilot

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]
[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]

منابع

1. Hachiya T, Kamatani Y, Takahashi A, Hata J, Furukawa R, Shiwa Y, et al. Genetic predisposition to ischemic stroke. Stroke. 2017; 48(2): 253-8.

2. Azarpazhooh MR, Etemadi MM, Donnan GA, Mokhber N, Majdi MR, Ghayour-Mobarhan M, et al. Excessive incidence of stroke in Iran. Stroke. 2010; 41(1): e3-e10.

3. Investigators WMPP. The world health organization MONICA project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. J Clin Epidemiol. 1988; 41(2): 105-14.

4. Kumar A, Misra S, Kumar P, Sagar R, Gulati A, Prasad K. Relationship of phosphodiesterase 4D (PDE4D) gene polymorphisms with risk of ischemic stroke: a hospital based case-control study. Neurol Res. 2017; 31: 1-6.

5. Dierick F, Dehas M, Isambert JL, Injeyan S, Bouché AF, Bleyenheuft Y, et al. Hemorrhagic versus ischemic stroke: who can best benefit from blended conventional physiotherapy with robotic-assisted gait therapy? PloS one. 2017; 12(6): e0178636.

6. Yuan H, Wang X, Xia Q, Ge P, Wang X, Cao X. Angiotensin converting enzyme (I/D) gene polymorphism contributes to ischemic stroke risk in Caucasian individuals: a meta-analysis based on 22 case-control studies. Int J Neurosci. 2016; 126(6): 488-98.

7. Terni E, Giannini N, Brondi M, Montano V, Bonuccelli U, Mancuso M. Genetics of ischaemic stroke in young adults. BBA Clinical. 2015; 3: 96-106.

8. Sand PG. IL-6 variants in ischemic stroke. Ann Neurosci. 2016; 23(1): 60-1.

9. Tong Y, Wang Z, Geng Y, Liu J, Zhang R, Lin Q, et al. The association of functional polymorphisms of IL-6 gene promoter with ischemic stroke: analysis in two Chinese populations. Biochem Biophys Res Commun. 2010; 391(1): 481-5.

10. Ma Y, Tang R-K, Yang X, Peng G-G, Liu Y, Wang X-M, et al. Lack of an association between interleukin-6 gene promoter polymorphisms (− 174G/C,− 572G/C) and ischemic heart disease and/or ischemic stroke: a meta-analysis. Human Immunology. 2011; 72(8): 641-51.

11. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. J Clin Invest. 1998; 102(7): 1369-76.

12. Chauhan G, Debette S. Genetic risk factors for ischemic and hemorrhagic stroke. Curr Cardiol Rep. 2016; 18(12): 124. Doi: 10.1007/s11886-016-0804-z.

13. Pirhoushiaran M, Ghasemi MR, Hami J, Zargari P, Nezhad PS, Azarpazhooh MR, et al. The association of coagulation factor V (Leiden) and factor II (Prothrombin) mutations with stroke. Iran Red Crescent Med J. 2014; 16(11). e11548. Doi: 10.5812/ircmj.

14. Ghasemi MR, Zargari P, Pirhoushiaran M, Azarpazhooh MR, Sadr-Nabavi A. Is apolipoprotein genotype a reason for the excessive incidence of stroke in persian population? J Biomed. 2016; 1(1): 1-6.

15. Zargari P, Ghasemi MR, Pirhoushiaran M, Vakili V, Hami J, Farzadfard MT, et al. Renin-angiotensin a1166c polymorphism and the rrisk of stroke. Journal of Cell and Molecular Research. 2015; 7(1): 32-7.

16. Kumar P, Yadav AK, Kumar A, Sagar R, Pandit AK, Prasad K. Association between Interleukin-6 (G174C and G572C) promoter gene polymorphisms and risk of ischemic stroke: a meta-analysis. Ann Neurosci. 2015; 22(2): 61-9.

17. Becker KJ, Buckwalter M. Stroke, inflammation and the immune response: dawn of a new era. Neurotherapeutics. 2016; 13(4): 659-60.

18. Libby P, Hansson GK. Inflammation and immunity in diseases of the arterial tree. Circ Res. 2015; 116(2): 307-11.

19. Anrather J, Iadecola C. Inflammation and stroke: an overview. Neurotherapeutics. 2016: 13(4): 661-70.

20. Lee JH, Yoon EJ, Seo J, Kavoussi A, Chung YE, Chung SP, et al. Hypothermia inhibits the propagation of acute ischemic injury by inhibiting HMGB1. Molecular Brain. 2016; 9(1): 81. Doi.org/10.1186/s13041-016-0260-0.

21. Han D, Liu Z, Wang G, Zhang Y, Wu Z. Electroacupuncture improves cognitive deficits through increasing regional cerebral blood flow and alleviating inflammation in CCI rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2017. Doi.org/10.1155/2017/5173168.

22. Smith CJ, Emsley HC, Gavin CM, Georgiou RF, Vail A, Barberan EM, et al. Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome. BMC Neurology. 2004; 4(1): 2. Doi.org/10.1186/1471-2377-4-2.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]

23. Rallidis LS, Vikelis M, Panagiotakos DB, Rizos I, Zolindaki MG, Kaliva K, et al. Inflammatory markers and in-hospital mortality in acute ischaemic stroke. Atherosclerosis. 2006; 189(1): 193-7.

24. Emsley H, Smith C, Georgiou R, Vail A, Hopkins S, Rothwell N, et al. A randomised phase II study of interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke patients. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry. 2005; 76(10): 1366-72.

25. Licata G, Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Corrao S, Di Sciacca R, Pinto A. Immuno-inflammatory activation in acute cardio-embolic strokes in comparison with other subtypes of ischaemic stroke. Thromb Haemost. 2009;101 (5): 929-37.

26. Ota N, Nakajima T, Nakazawa I, Suzuki T, Hosoi T, Orimo H, et al. A nucleotide variant in the promoter region of the interleukin-6 gene associated with decreased bone mineral density. Journal of Human Genetics. 2001; 46(5): 267-72.

27. Yan J, Greer J, McCombe P. Interleukin 6 promoter 174 G/C polymorphisms in acute ischemic stroke: G allele is protective but not associated with IL-6 levels or stroke outcome. Journal of Neuroimmunology. 2016; 293: 22-7.

[Downloaded from shefayekhatam.ir on 2025-12-19]

[DOI: 10.18869/acadpub.shefa.5.4.37]