

پلی مورفیسم (1082 G/A-) در ژن ایتترلوکین ۱۰ و ارتباط آن با سرطان معهده با روش Tetra arms-PCR

شایسته علی جباری^۱، الهام سیاسی^{۲*}، رباب رفیعی طباطبایی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

۲- دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

۳- دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

emi_biotech2006@yahoo.ca

صندوق پستی ۱۹۱۸۸۴۵۵۸۱، تهران، ایران

دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۲۲

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۰

چکیده

سرطان معده دومین علت شایع مرگ ناشی از بدخیمی ها در سرتاسر جهان است. سائتوکاین ها میانجی های پپتیدی هستند که در تنظیم پاسخ های ایمنولوژیکی، التهابی و ترمیمی، در مقابل عوامل مهاجم دخالت می کنند. ایتترلوکین ها سائتوکین هایی هستند که اغلب بر لئوسیت های دیگر مؤثر می باشند. ایتترلوکین ۱۰ یکی از ایتترلوکین های مهم بدن است که در مهار پاسخ های التهابی و ایمنی نقش دارد. پلی مورفیسم های مختلفی در ناحیه پروموتوری ژن ایتترلوکین ۱۰ شناسایی شدند که با تغییر در میزان بیان این ژن می توانند سبب تغییر عملکرد آن شوند. در پژوهش حاضر به بررسی ارتباط پلی مورفیسم (1082 G/A-) در پروموتور ژن ایتترلوکین ۱۰ با سرطان معده پرداخته شد. دو گروه ۵۰ نفری بیمار و ۵۰ نفر سالم به عنوان جامعه مورد مطالعه انتخاب شدند و از آنان خون گیری شد. پس از استخراج DNA از نمونه ها، توسط روش Tetra-ARMS-PCR ژنوتایپ های پلی مورفیسم مورد نظر ارزیابی شدند. سپس، نتایج آنالیز آماری شد. ژنوتایپینگ نمونه ها نشان داد که فراوانی آلل های A و G به ترتیب ۷۴ و ۲۶ درصد در افراد بیمار و در گروه کنترل ۶۸ و ۳۲ درصد بود. آنالیز آماری رابطه معنا داری بین ژنوتایپ GG در این پلی مورفیسم و سرطان معده نشان داد ($P=0.013$). نتایج این پژوهش نشان داد که می توان از پلی مورفیسم (1082 G/A-) در ژن ایتترلوکین ۱۰ به عنوان یک بیو مارکر مولکولی در سرطان معده در جمعیت بیماران ایرانی استفاده کرد.

کلید واژگان: سرطان معده، ژن ایتترلوکین ۱۰، پلی مورفیسم، Tetra arms-PCR

۱-مقدمه

سرطان‌های دستگاه گوارش، بیش از یک سوم سرطان‌های شایع و تقریباً نیمی از سرطان‌هایی که منجر به مرگ می‌شوند را تشکیل می‌دهند. از میان سرطان‌های لوله‌ی گوارش، سرطان معده دومین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در دنیا است و در جنس مذکر، سنین بالای ۵۰ سال، افراد سیگاری و چاق بیشتر گزارش شده است [۱-۳]. ابتلاء به عفونت‌ها از جمله عفونت با هلیکوباکتر پیلوری نقش مهمی در بروز التهاب مزمن در مخاط معده دارد و التهاب مزمن شرایط را برای بروز زخم پپتیک و ادنوکارسینوم معده فراهم می‌نماید. با این حال، وجود تفاوت قابل ملاحظه در میزان التهاب در معده‌ی افراد مختلف آلوده نشان می‌دهد که علاوه بر عوامل پاتوژن، فاکتورهای دیگری از جمله فاکتورهای ژنتیکی و ایمونولوژیکی مربوط به میزبان نیز، در این راستا نقش دارند [۴-۶]. بنابراین، مکانیسم‌هایی که در ایجاد التهاب در مخاط معده نقش دارند، می‌توانند به عنوان محور اصلی مطالعات پاتوژن سرطان معده قرار گیرند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سیتوکاین‌های پیش التهابی که در پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی توسط لنفوسیت‌های T تولید می‌شوند، نقش کلیدی در ایجاد التهاب داشته و در پاتوژن بسیاری از بیماری‌های خودایمنی و بیماری‌های التهابی روده‌ای و بدخیمی‌ها مؤثرند و با ایجاد التهاب مزمن می‌توانند سبب پیدایش سرطان شود [۷، ۸]. سیتوکاین‌ها میانجی‌های پدیدگی هستند که در تنظیم پاسخ‌های ایمونولوژیکی پاسخ‌های التهابی موضعی-سیستمیک و پاسخ‌های ترمیمی، در مقابل عوامل مهاجم دخالت می‌کنند و اثر خود را از طریق تحریک تکثیر و تمایز سلول‌ها و یا ممانعت از تکثیر و تمایز آنها ایفا می‌کنند. اینترلوکین‌ها سیتوکین‌های ساخته شده توسط انواع گویچه‌های سفید خون هستند که اغلب بر

لنفوسیت‌های دیگر مؤثر می‌باشند. اینترلوکین‌ها به عنوان یک سیتوکاین، می‌توانند در کموتاکسی گلبول‌های سفید به ویژه نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها نقش داشته و سبب تحریک و افزایش آنژیوژنز باشند. در این راستا تحقیقات انجام شده نشان داده است که اینترلوکین ۱۰ دارای اثرات پیش التهابی فراوان است و به وسیله سلول‌های طبیعی از قبیل فیبروبلاست‌ها و مونوسیت‌ها ترشح می‌شود و تولید این سیتوکاین، به ویژه در انواع سلول‌های توموری همچون سرطان‌های پروستات، ریه، پستان، معده و رحم هم مشاهده شده است. اینترلوکین ۱۰ یک سیتوکاین مهم در انواع بدخیمی محسوب می‌شود که در رشد تومور و رگ‌زایی نقش دارد [۹-۱۱]. بررسی‌ها نشان داده است که اینترلوکین ۱۰ می‌تواند به طور معنادار بیان ژن و سنتز سیتوکاین‌های پیش التهابی را متوقف کند و از مهمترین سیتوکاین‌های ضد التهابی در پاسخ ایمنی بوده و دارای اثرات فیزیولوژیک به پاسخ التهابی عمومی می‌باشد. علاوه بر این، رابطه‌ی مستقیمی بین سطوح اینترلوکین ۱۰ و آنژیوژنز، رشد و متاستاز تومور وجود دارد. به طوری که اینترلوکین ۱۰ نقش کموتاکسی را در سلول‌های هدف ایفا می‌کند و سبب جذب نوتروفیل‌ها به محل عفونت می‌شود [۹-۱۲]. ژن اینترلوکین ۱۰ که این سیتوکاین را کد می‌کند، روی کروموزوم 1q31.2 قرار دارد و پلی مورفیسم‌هایی که در ناحیه پروموتری این ژن واقع هستند با ایجاد تغییر در رونویسی، در بیان این ژن و عملکرد آن تأثیرگذار می‌باشند [۱۳-۱۶]. یکی از مهمترین پلی مورفیسم‌ها در ژن اینترلوکین ۱۰، پلی مورفیسم (GG/A-1082) است که در موقعیت پروموتری این ژن قرار دارد و بر اساس نتایج مطالعات، ژنوتیپ GG از این پلی مورفیسم سبب افزایش رونویسی از ژن اینترلوکین ۱۰ می‌شود که می‌تواند در پیدایش التهاب به ویژه التهاب مزمن نقش مؤثر داشته باشد. همچنین، بررسی‌های انجام شده در جمعیت‌های مختلف مشخص کرده که، پلی مورفیسم (GG/A-1082) در

و کنترل دارا بودن سایر بیماری‌های زمینه‌ای و مصرف داروهای خاص و عدم قرارگیری در رنج سنی تعیین شده بود). برای صحت داده‌های آماری، حجم نمونه بر اساس فرمول محاسبه حجم نمونه فرمول کوکران محاسبه شد. در این محاسبه با سطح خطای ۵ درصد، ۵۰ نمونه بیمار و ۵۰ نمونه گروه کنترل، تخمین زده شد.

$$n = \frac{\frac{z^2 pq}{d^2}}{1 + \frac{1}{N} \left(\frac{z^2 pq}{d^2} - 1 \right)}$$

n = تعداد نمونه

N = فراوانی جمعیت

P = گروهی از جمعیت

q = 1-p

z = 1.96

d = 0.05) میزان خطا

۲-۲ روش نمونه‌گیری

میزان ۵ سی‌سی از خون افراد گروه بیمار و افراد کنترل سالم در لوله‌های Venoject آماده با حجم ۵ سی‌سی (کمپانی graner/UK) و دارای (Ethylene diamine tetra EDTA) و (acetic)، جمع‌آوری شد و تا انتقال به آزمایشگاه نمونه‌ها در جعبه حاوی یخ، نگهداری شدند (نمونه‌ها برای نگهداری طولانی مدت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند).

۲-۳ استخراج DNA از نمونه‌های خون

برای استخراج DNA از کیت استخراج DNA شرکت سینا کلون با نام CAT NO: PR881612CinnaPure-DNA (whole blood, serum and plasma) 50 Preps، استفاده شد. طبق بروشور کیت ابتدا مقدار ۱ میلی‌لیتر از نمونه خون را درون میکروتیوپ‌های ۲ میکرولیتری ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور

پروموتور ژن اینترلوکین ۱۰ می‌تواند با ریسک ابتلا به سرطان‌ها به‌ویژه سرطان معده ارتباط معنی‌دار داشته باشد [۲۶-۱۶]. بنابراین، هدف این مطالعه بررسی حضور پلی مورفیسم (1082 G/A) در ژن اینترلوکین ۱۰ در جمعیتی از بیماران ایرانی و ارتباط آن با افزایش ریسک ابتلا به سرطان معده با روش Tetra Arms-PCR بود تا از نتایج آن (بررسی حضور پلی مورفیسم در این ژن) بتوان به‌عنوان مارکر مولکولی برای تشخیص و کنترل و پیش‌گهی و درمان سرطان معده در کشور استفاده کرد (قابل به ذکر است بررسی ارتباط بین این پلی مورفیسم در جمعیت بیماران ایرانی با ایجاد سرطان معده و استفاده از روش Tetra Arms-PCR که روش مقرون به صرفه از لحاظ اقتصادی می‌باشد، جنبه جدید بودن این پژوهش بود).

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-نمونه‌ها و نمونه‌گیری

این مطالعه به‌صورت موردی-شاهدی در سال ۱۳۹۹ انجام شد. ابتدا خون ۵۰ نفر از بیمارانی که مبتلا به سرطان معده بودند و با آزمایشات کلینیکی و تشخیص پزشکی متخصص و بررسی‌های پاتولوژی بیمار تشخیص داده شده بودند، جمع‌آوری شد و سپس از ۵۰ نفر که بدون هر گونه پیشینه بیماری‌های معده بودند و از نظر جنس و سن نیز با نمونه‌های تهیه شده از بیماران مشابهت داشتند، به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند (نمونه‌ها در گروه سنی بین ۲۰ تا ۶۰ سال و از هر دو جنسیت مونث و مذکر بر اساس فراوانی تعداد بیماران در نظر گرفته شدند). سپس، از آنان خونگیری انجام شد. افراد سالم حین مراجعه برای خونگیری از لحاظ سابقه بیماری و عدم مصرف دارو مورد پرسش قرار گرفتند و از سلامت آنان بر اساس سوابق پرونده‌های پزشکی اطمینان حاصل شد. همچنین، از تمامی افراد بیمار و کنترل، با کسب رضایت نامه نمونه‌گیری خون انجام شد (معیار ورود برای گروه بیمار و کنترل شامل موارد ذکر شده در نظر گرفته شد و معیار خروج برای گروه بیمار

DNA ژنومی، ۱۰ میکرولیتر از مستر میکس 10X و ۲ میکرولیتر آب دو بار تقطیر شده بود و همچنین برنامه دستگاه PCR، که در گراف ۱ آورده شده است، انجام شد.

۶-۲ ارزیابی محصول Tetra Arms PCR

برای ارزیابی محصول Tetra Arms PCR، مقدار ۵ میکرولیتر از محصول PCR، هم زمان با شناساگر زیستی (۱۰۰ bp) در ژل آگاروز ۱٫۵ درصد (با توجه به طول باند محصولات PCR و رویت مناسب باندها روی ژل) الکتروفورز شد. پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید و عکسبرداری با دستگاه ژل داک باندهای مربوط به هر یک از ژنوتایپ نمونه های هموزیگوت غالب AA (۱۹۷ bp) و ۴۳۰) نمونه های هموزیگوت مغلوب GG (۲۸۸ bp) و ۴۳۰) و نمونه های هتروزیگوت AG (۱۹۷ bp) و ۲۸۸) مشاهده شدند.

سانتریفیوژ شد. سپس، تمامی مراحل استخراج ژنوم از نمونه ها بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد.

۴-۲ بررسی کمی و کیفی استخراج DNA

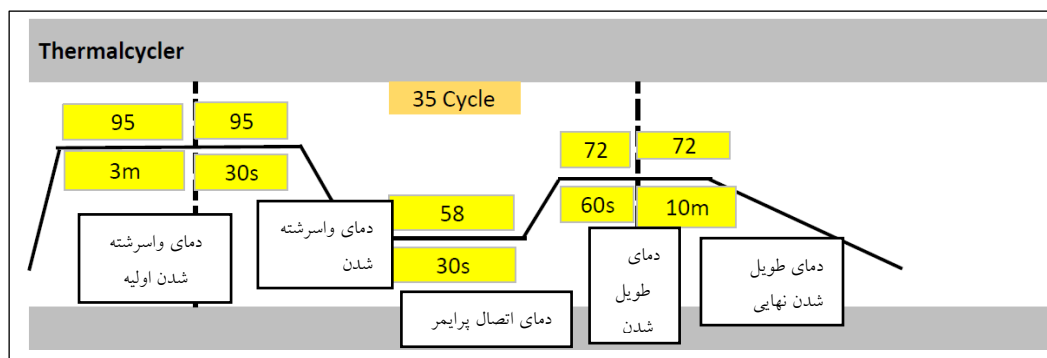
برای بررسی کمی DNA استخراج شده از دستگاه اسپکتوفوتومتر و نانودراپ با جذب نوری بین ۲۸۰-۲۶۰ استفاده شد و بررسی کیفی DNA با الکتروفورز بر روی ژل ۱ درصد انجام شد.

۵-۲ انجام واکنش Tetra Arms PCR

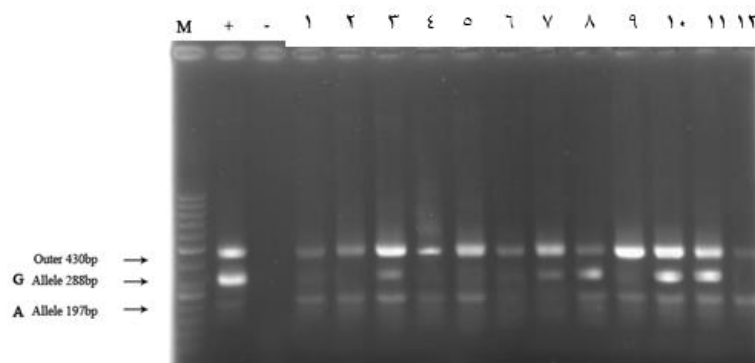
برای تکثیر پلی مورفیسیم (-1082 G/A) درژن اینترلوکین ۱۰ و بررسی ژنوتایپ های نمونه های افراد بیمار و کنترل، واکنش زنجیره ای Tetra Arms PCR، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که برگرفته از پژوهش Jaradat بود [۲۷] و در جدول ۱ نشان داده شده است و مواد مورد نیاز برای واکنش در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر که شامل ۱ میکرولیتر از هر یک از چهار پرایمر، ۴ میکرولیتر از نمونه

جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده برای پلی مورفیسیم (-1082 G/A) درژن اینترلوکین ۱۰ (۲۷)

طول محصول PCR	توالی ۵'-۳'	پرایمر های تکثیر پلی مورفیسیم
۴۳۰ bp	CCAGTTACAGTCTAAACTGGAATGCAG CTTGGATTAAATTGGCCTTAGAGTTTCT	پرایمر چپ خارجی پرایمر راست خارجی
۱۹۷ bp	AACACTACTAAGGCTTCTTTGGGCAA	پرایمر راست داخلی (آلل A)
۲۸۸ bp	ACTTTCCTCTTACCTATCCCTACTTCACC	پرایمر چپ داخلی (آلل G)



گراف ۱ چرخه ی حرارتی واکنش PCR Tetra-arms در دستگاه ترموسایکلر



شکل ۱ نتایج مربوط به ژنوتایپینگ پلی مورفیسم (1082 G/A-) در ژن ایترولوکین ۱۰ با روش Tetra Arms PCR. خانه اول مارکر مولکولی ۱۰۰ bp، خانه دوم نمونه کنترل مثبت، خانه سوم نمونه کنترل منفی، چاهک شماره ۱، ۲، ۴، ۵، ۹ و ۱۲ نمونه‌های ژنوتایپ هموزیگوت غالب AA (۱۹۷ bp و ۴۳۰ bp)، چاهک شماره ۳، ۸، ۱۰ و ۱۱ نمونه هتروزیگوت AG (۱۹۷bp و ۲۸۸ bp و ۴۳۰ bp)، چاهک شماره ۶ و ۷ نمونه‌های هموزیگوت مغلوب GG (۲۸۸ bp و ۴۳۰ bp).

برای تفسیر نتایج در این مطالعه از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و آزمون آماری فرضیه آزمون (کای اسکوئر) استفاده شد و میزان $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن نتایج در نظر گرفته شد. همچنین، در جمعیت نمونه‌های مورد مطالعه، تعادل هاردی-واینبرگ و میزان رگرسیون لجستیک بررسی آماری شد.

۳- نتایج

۳-۱ نمونه‌گیری و اطلاعات بیماران

نمونه‌های مطالعه شامل ۱۰۰ نمونه خون از نمونه‌های ۵۰ نفر مبتلا به سرطان معده و ۵۰ نفر به عنوان افراد کنترل بود. از نظر سن حداقل سن افراد بیمار در این مطالعه $20 \pm 0/5$ سال و حداکثر سن بیماران $60 \pm 0/5$ سال بود. سن ۹۰ درصد از افراد بیمار (۴۵ نفر) و ۸۲ درصد از افراد کنترل (۴۱ نفر) بیش از $30 \pm 0/5$ سال بود. بیشترین فراوانی جنسیت نمونه‌های بیماران در این مطالعه افراد جنس مذکر بودند و بیماری در این جنس با فراوانی بیشتر مشاهده شد، به طوری که فراوانی جنسیت نمونه‌ها در دو گروه بیمار و

قابل ذکر است باند های مربوط به تکثیر پرایمرهای خارجی، ۴۳۰ bp و باند مربوط به دو آلل A و G به ترتیب با ۱۹۷ bp و ۲۸۸ bp بودند. همچنین، برای مشاهده باندهای ژنوتایپینگ بر روی ژل، برای هر سری از نمونه‌ها، یک کنترل مثبت که از قبل با انجام سکانس تأیید شده بود و از یک نمونه کنترل منفی که به جای نمونه DNA، آب مقطر در آن استفاده شده بود و مارکر مولکولی ۱۰۰ bp، به کار برده شد (نتایج واکنش Tetra Arms PCR در شکل ۱ نشان داده شده است).

۲-۷ تأیید صحت نتایج ژنوتایپینگ با روش Tetra Arms PCR

برای صحت عملکرد روش PCR و برای تعیین سکانس و تأیید محصول Tetra Arms PCR چندین نمونه از هموزیگوت‌های غالب و هموزیگوت‌های مغلوب و هتروزیگوت‌ها انتخاب شدند و به وسیله کیت سینا کلون خالص سازی شدند. سپس، برای تعیین توالی به شرکت کره ای بایونیر ارسال شدند و نتایج تعیین توالی، با سایت BLAST کنترل شدند.

۲-۸ آنالیز آماری

کنترل به ترتیب برای جنس مذکر ۳۴ و ۲۸ نفر و برای جنس مونث ۱۶ و ۲۲ نفر بود.

۲-۳ نتایج استخراج DNA

نتایج جذب نوری DNA های استخراج شده، توسط دستگاه نانودراپ خوانده شد. نمونه‌هایی که نسبت جذب نوری ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر بین ۱/۸ تا ۲ را داشتند، برای ادامه کار مناسب تشخیص داده شدند. همچنین، برای اطمینان از صحت DNA استخراج شده نمونه‌هایی از DNA بر روی ژل ۱ درصد آگارز الکتروفورز شدند و بعد از رنگ‌آمیزی و عکس‌برداری، با رویت باند کاملاً مشخص مورد استفاده قرار گرفتند.

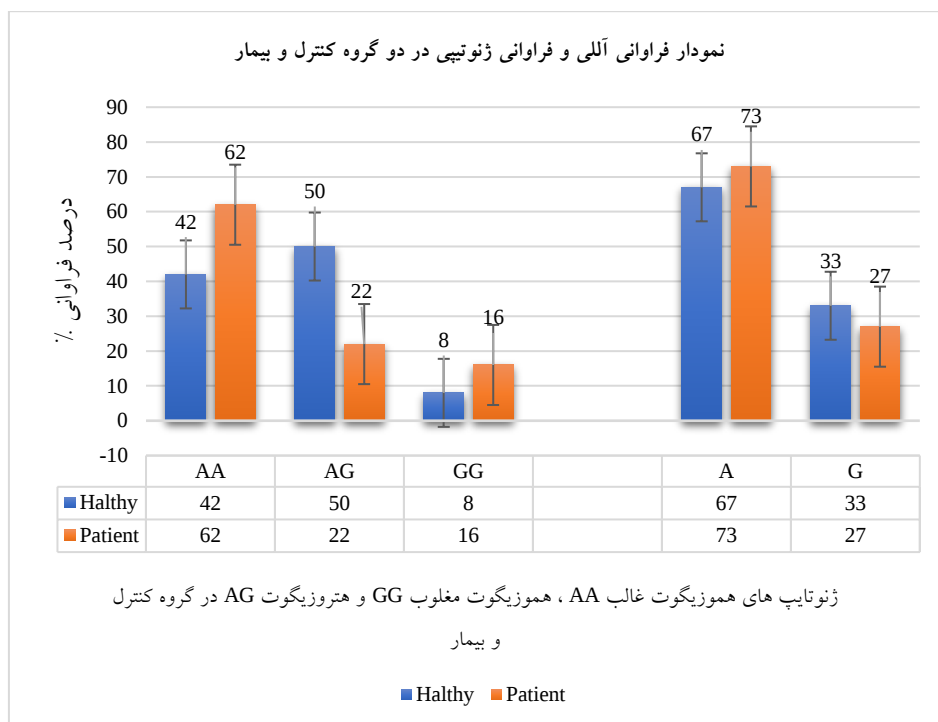
۳-۳ نتایج ژنوتیپ با روش Tetra-Arms PCR

نمونه‌های بیمار و کنترل پس از انجام واکنش Tetra PCR Arms الکتروفورز شدند و سپس رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید و عکس‌برداری با ژل داک انجام شد و نتایج ژنوتایپینگ بررسی شد. فراوانی ژنوتیپ‌های AA, AG و

GG به ترتیب در گروه بیمار ۳۱ نفر (۶۲ درصد)، ۱۱ نفر (۲۲ درصد) و ۸ نفر (۱۶ درصد) و در گروه کنترل، ۲۱ نفر (۴۲ درصد)، ۲۵ نفر (۵۰ درصد) و ۴ نفر (۸ درصد) بود. این نتایج در نمودار ۱ نشان داده شده است.

۴-۳ تعیین توالی برای تایید محصول حاصل از Tetra-Arms PCR

برای تایید محصول PCR از هر یک از حالت‌های هموزیگوت غالب و مغلوب و هتروزیگوت به همراه پرایمرها، جهت سکانس به شرکت بایونیرکره ارسال شد. داده‌ها در سایت NCBI بلاست شدند و صحت نتایج ژنوتایپینگ، کنترل شد. بلاست کردن نتایج تعیین توالی نمونه‌های هموزیگوت و هتروزیگوت از پلی‌مورفیسم (-1082 G/A) در ژن اینترلوکین ۱۰، نتایج ژنوتایپینگ با روش Tetra-Arms PCR برای نمونه‌های هتروزیگوت AG و نمونه‌های هموزیگوت مغلوب GG و نمونه‌های هموزیگوت غالب AA را تایید کرد.



نمودار ۱ نتایج آنالیز آماری پلی‌مورفیسم (-1082 G/A) در ژن اینترلوکین ۱۰

۳-۵ نتایج آماری

فراوانی ژنوتایپ های گروه بیماران و افراد سالم و فراوانی آلل ها در این دو گروه در نمودار ۱ آورده شده است. نتایج نشان داد فراوانی آلل A و آلل G در گروه بیمار به ترتیب ۷۳ و ۲۷ درصد و در گروه کنترل به ترتیب ۶۷ و ۳۳ درصد بود. همانطور که مشاهده می شود آلل A بیشترین فراوانی را در هر دو گروه نشان داد (به ترتیب در گروه بیمار و کنترل ۳۷ نفر (۷۳ درصد) و ۳۴ نفر (۶۷ درصد) بود). با آنالیز آماری و محاسبه میزان P value ($P = 0/013$) نشان داده شد ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ با سرطان معده در افراد مورد مطالعه وجود دارد. همچنین، فراوانی ژنوتایپ های هموزیگوت غالب و مغلوب و هتروزیگوت در جمعیت های مورد مطالعه (گروه بیمار، گروه کنترل و کل نمونه ها) از نظر تعادل هاردی واینبرگ بررسی شدند (رابطه $p^2 + 2pq + q^2 = 1$). نتایج آنالیز آماری نشان داد که کل جمعیت مورد مطالعه (۱۰۰ نفر) و جمعیت گروه سالم (۵۰ نفر) به ترتیب با میزان $P = 0/153$ و $P = 0/355$ در تعادل هاردی-واینبرگ قرار داشتند و جمعیت گروه بیمار (۵۰ نفر) با میزان $P = 0/001$ در تعادل هاردی-واینبرگ قرار نداشتند. از سوی دیگر، بررسی آماری در پژوهش حاضر برای محاسبه ضریب رگرسیون لجستیک بین نمونه های مورد مطالعه (گروه بیمار و گروه کنترل) و ژنوتایپ های به دست آمده در این پلی مورفیسم نشان داد ضریب دگرسیون برابر با ۱،۵۱- و میزان significant برابر با ۰/۰۳۳ بود. این نتایج همبستگی ضعیف را بین ژنوتایپ های پلی مورفیسم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ و بروز بیماری سرطان معده در نمونه های مورد مطالعه نشان داد و مشخص کرد که آلل G ریسک فاکتور بسیار ضعیفی برای بیماری سرطان معده در جمعیت مورد مطالعه، می باشد.

۴-بحث

سایتوکاين ها میانجی های پیتیدی هستند که در تنظیم پاسخ های ایمنولوژیکی، پاسخ های التهابی موضعی- سیستمیک و پاسخ های ترمیمی، در مقابل عوامل مهاجم دخالت می کنند. آنها اثر خود را از طریق تحریک، تکثیر و تمایز سلول ها و یا ممانعت از تکثیر و تمایز آنها ایفا می کنند. اینترلوکین ها سایتوکین های ساخته شده توسط انواع گویچه های سفید خون هستند که اغلب بر لنفوسیت های دیگر مؤثر می باشند. این ترکیبات در سیستم ایمنی نقش مهمی دارند. تعداد آنها بسیار زیاد است و با شماره مشخص می شوند مانند اینترلوکین ۱۰، این پروتئین ها با تنوع زیادی که دارند عملکردهایی خارج از سیستم ایمنی هم دارند [۷-۱۰]. پلی مورفیسم های مختلفی در اینترلوکین ۱۰ وجود دارد که اغلب آنها در ناحیه پروموتری این ژن واقع شده اند و تحقیقات نشان داده است که از طریق تغییر در میزان بیان ژن اینترلوکین ۱۰ موجب تغییر عملکرد آن می شوند. مطالعات متعدد ارتباط این پلی مورفیسم ها و سرطان های مختلف را گزارش کرده اند [۱۳-۲۶]. یکی از مهمترین این پلی مورفیسم ها، پلی مورفیسم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ می باشد و در مطالعاتی که در جمعیت های مختلف در خصوص ارتباط حضور این پلی مورفیسم در ژن اینترلوکین ۱۰ و سرطان معده پرداخته شده است، ارتباط ژنوتایپ های این پلی مورفیسم و افزایش ریسک ابتلا به سرطان معده گزارش شده است [۱۶-۲۳]. این پلی مورفیسم در ناحیه پروموتری ژن اینترلوکین ۱۰ قرار دارد و بر روی بیان ژن مذکور تاثیر دارد. در مطالعات گذشته مشخص شده است که حضور این پلی مورفیسم سبب کاهش بیان ژن اینترلوکین ۱۰ می شود و در نتیجه می تواند در بروز سرطان های مختلف از جمله سرطان معده مؤثر باشد. در بروز سرطان معده پاسخ های التهابی سیستم ایمنی دخالت دارند و اینترلوکین ۱۰ که از سلول های T ترشح می شود به عنوان یک مهار کننده سیستم ایمنی (ایمنوساپرسور) عمل می کند در نتیجه می تواند مانع

آنژیوزنز باشد و از روند تومور زایی جلوگیری نماید ولی با کاهش بیان ژن اینترلوکین ۱۰ که در نتیجه حضور پلی مورفیسیم (1082 G/A-) در ناحیه پروموتور این ژن ایجاد می شود مانع ایفای نقش اینترلوکین ۱۰ در مهار متاستاز تومورها در سلول های سرطانی شده و پیشرفت تومور زایی و بروز سرطان را سبب می شود. همچنین، در تحقیقاتی که بر روی پلی مورفیسیم های ژن اینترلوکین ۱۰ انجام گرفته است، گزارش شده که حضور پلی مورفیسیم (1082 G/A-) در این ژن، با کاهش بیان ژن اینترلوکین ۱۰ و ریسک ابتلا به سرطان معده، در مقایسه بین گروه بیمار و کنترل ارتباط معنی دار دارد و فراوانی آلل موتانت و جایگزینی به جای آلل وحشی می تواند نقش موثری در رونویسی ژن اینترلوکین ایجاد کرده و سطح تولید mRNA و بیان ژن مذکور را با تغییر قابل ملاحظه ای از نظر کاهش بیان همراه کند. در نتیجه مانع عملکرد اینترلوکین ۱۰ در پاسخ های سیتوتوکسیک و نقش تنظیمی آن در التهابات و متعاقب آن مهار تومور زایی و متاستاز شود و با افزایش تمایز سلول ها و آنژیوزنز، سبب پیشرفت سلول های سرطانی می شود [۲۷-۱۷]. بنابراین، هدف این مطالعه نیز بررسی ارتباط بین پلی مورفیسیم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ و بیماری سرطان معده در جمعیتی از نمونه های بیماران ایرانی بود و نتایج این پژوهش نشان داد که ارتباط معنی دار بین حضور پلی مورفیسیم مذکور و سرطان معده در نمونه های مورد مطالعه در جمعیت ایرانی وجود دارد.

Martinez-Compose و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطالعه ای را بر روی ارتباط حضور پلی مورفیسیم های ناحیه پروموتور در ژن اینترلوکین ۱۰ و ریسک ابتلا به سرطان معده در جمعیتی از بیماران مکزیک انجام دادند. نتایج مطالعه آنها مشخص کرد بین پلی مورفیسیم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ و بروز سرطان معده در جمعیت بیماران مکزیک ارتباطی وجود ندارد ولی حضور پلی مورفیسیم دیگری از ژن اینترلوکین ۱۰ (819 C/T-) را به عنوان ریسک

فاکتور ضعیف در ارتباط با ابتلا به سرطان معده در جمعیت مکزیک مطرح کردند [۱۷]. در نتایج پژوهش حاضر بر خلاف پژوهش Martinez-Compose که در جمعیت مکزیک انجام شده بود، در جمعیت بیماران ایرانی ارتباط معناداری بین حضور پلی مورفیسیم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ و ابتلا به سرطان معده مشخص شد که این تفاوت می تواند به دلیل تفاوت نژادی و جغرافیایی و تعداد نمونه های مورد مطالعه در این دو پژوهش باشد. در یک مطالعه متاآنالیز که Namazi و همکاران در سال ۲۰۱۸ در ایران، بر روی ۶۱۰۱ بیمار و ۸۵۵۷ گروه کنترل انجام دادند، ارتباط معناداری را بین حضور پلی مورفیسیم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ و ریسک ابتلا به سرطان معده یافتند. نتایج آنان نشان داد که حضور این پلی مورفیسیم به ویژه در جمعیت آسیایی ریسک ابتلا به سرطان معده را افزایش می دهد [۱۸]. در مطالعه حاضر نیز بین حضور پلی مورفیسیم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ بین گروه بیماران و گروه کنترل اختلاف معناداری نشان داده است و همراستای پژوهش Namazi حضور این پلی مورفیسیم را در بیماران با ابتلا به سرطان معده در ارتباط نشان می دهد که احتمال نزدیکی ویژگی های ژنتیکی در جمعیت های آسیایی را نشان می دهد. Kuo و همکاران در سال ۲۰۱۴ مطالعه ای را برای بررسی ارتباط بین حضور پلی مورفیسیم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ و سرطان معده در جمعیت بیماران تایوانی انجام دادند. آنان با روش PCR-RFLP به ژنوتایپینگ بیماران و گروه کنترل پرداختند و نتایج آنان نشان داد که ارتباط معناداری بین فراوانی ژنوتایپ های پلی مورفیسیم (1082 G/A-) در ژن اینترلوکین ۱۰ در جمعیت بیمار و افراد سالم وجود دارد و آلل G به عنوان یک ریسک فاکتور قوی نسبت به آلل A در ایجاد سرطان معده موثر است. همچنین نتایج آنها مشخص کرد بیماران با ژنوتایپ های GG و AG همراه با عادت مصرف سیگار حساسیت بیشتری برای ابتلا به سرطان معده در جمعیت

تایوان داشته‌اند[۳]. نتایج پژوهش حاضر نیز در راستای مطالعه Kuo مشخص کرد آل G از پلی مورفیسم (1082-G/A) درژن ایتترلوکین ۱۰ می‌تواند به عنوان یک ریسک فاکتور برای ابتلا به سرطان معده در جمعیت بیماران ایرانی مطرح باشد که این هم‌راستایی نتایج می‌تواند نشانگر حضور شباهت ژنتیکی در جمعیت‌های آسیایی نسبت به سایر جمعیت‌های جهان باشد. در پژوهش Li و همکاران که در سال ۲۰۱۴ به صورت مطالعه‌ای گسترده بر روی ۷۱۹۵ بیمار و ۱۱۷۵۵ فرد سالم، با روش متاآنالیز انجام شد، به بررسی ارتباط حضور پلی مورفیسم (1082-G/A) درژن ایتترلوکین ۱۰ و ابتلا به سرطان معده پرداخته شد. نتایج مطالعه آنها مشخص کرد که آل G از پلی مورفیسم (1082-G/A) درژن ایتترلوکین ۱۰ به طور معناداری سبب افزایش ریسک ابتلا به سرطان معده می‌شود. همچنین، آنها گزارش کردند حضور این پلی مورفیسم، به ویژه در جمعیت بیماران آسیایی سبب افزایش حساسیت به ابتلا به سرطان معده می‌شود[۱۹]. در پژوهش حاضر نیز در راستای مطالعه Li، نتایج نشان داد که بین حضور پلی مورفیسم (1082-G/A) درژن ایتترلوکین ۱۰ و ابتلا به سرطان معده در جمعیت بیماران ایرانی ارتباط معناداری وجود دارد و با وجود آنکه مطالعه حاضر از نظر تعداد نمونه‌های مورد مطالعه محدودتر از مطالعه Li و همکاران بود ولی وجود ارتباط معنی دار بین پلی مورفیسم (1082-G/A) و سرطان معده را در کشور ایران که زیر مجموعه ایی از جمعیت‌های آسیایی است، نشان می‌دهد. در پژوهش Wang و همکاران که در سال ۲۰۱۲ به صورت متاآنالیز انجام شد، به بررسی ارتباط حضور پلی مورفیسم (1082-G/A) درژن ایتترلوکین ۱۰ و ریسک ابتلا به سرطان در جمعیت‌های مختلف پرداخته شد. نتایج مطالعه آنان نشان داد بین حضور این پلی مورفیسم و ریسک افزایش ابتلا به سرطان‌های مختلف از جمله سرطان ریه و سرطان لنفوما ارتباط معنادار وجود دارد و این نرخ افزایش ارتباط بین ریسک ابتلا به سرطان و حضور پلی مورفیسم (-

1082 G/A) درژن ایتترلوکین ۱۰ را در جمعیت آسیایی نسبت به سایر جمعیت‌ها بیشتر گزارش کردند[۲۱]. در پژوهش حاضر نیز افزایش ریسک ابتلا به سرطان معده و حضور پلی مورفیسم (1082-G/A) درژن ایتترلوکین ۱۰ در جمعیت بیماران ایرانی که مجموعه‌ای کوچک از جمعیت آسیایی هستند، به دست آمده است. در پژوهشی که Chand-Bhaya و همکاران در سال ۲۰۱۲ در کشور هند بر روی پلی مورفیسم (1082-G/A) درژن ایتترلوکین ۱۰ در دو گروه بیماران سرطان معده و افراد سالم انجام دادند، فراوانی ژنوتایپ‌ها در جامعه بیمار شامل، ۱۸ درصد GG، ۳۵ درصد GA و ۴۷ درصد AA بود. فراوانی ژنوتایپ‌ها در جامعه سالم شامل ۳۱/۸۲ درصد GG و ۳۷/۸۸ درصد GA و ۳۰/۳ درصد AA بود. فرکانس آل G و A در جامعه بیمار به ترتیب ۰/۳۵۵ و ۰/۶۴۵ بود و در جامعه سالم به ترتیب ۰/۵۰۸ و ۰/۴۹۲ بود. نتایج نشان دهنده این بود که آل A به عنوان یک ریسک فاکتور در بیماری سرطان معده در جمعیت جنوب هند مطرح می‌باشد[۲۲]. در پژوهش حاضر نیز ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم مذکور و سرطان معده در جمعیت بیماران ایرانی مشاهده شد و فراوانی آل A و آل G در گروه بیمار به ترتیب ۷۳ و ۲۷ درصد و در گروه کنترل به ترتیب ۶۷ و ۳۳ درصد نشان داده شد که می‌تواند نشان دهنده وجود شباهت‌های ژنتیکی بین جمعیت کشورهای هند و ایران باشد. Ni و همکاران در سال ۲۰۱۲ به بررسی نقش آل‌های A و G از پلی مورفیسم پروموتور ژن ایتترلوکین ۱۰ (1082-G/A) در ارتباط با سرطان معده به مطالعه مروری با روش متاآنالیز پرداختند. نتایج آنان نشان داد بین ژنوتایپ‌های GG و AG از پلی مورفیسم (1082-G/A) درژن ایتترلوکین ۱۰ و ریسک ابتلا و گسترش سرطان معده در جمعیت بیماران آسیایی ارتباط معنا دار وجود دارد[۲۳]. در مطالعه Ni و همکاران مانند سایر تحقیقات انجام شده در جمعیت‌های آسیایی و مشابه با پژوهش حاضر که در جمعیتی از بیماران ایرانی به

بررسی ارتباط حضور این پلی مورفیسم و سرطان معده پرداخته شده بود نتایجی مشابه گزارش شده است و در این تحقیقات نشان داده شده که آلل G به عنوان ریسک فاکتور برای سرطان معده می تواند مطرح باشد. اما برخلاف پژوهش های ذکر شده، Pan و همکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی ارتباط حضور پلی مورفیسم (G/A-1082) در ژن اینترلوکین ۱۰ و ریسک ابتلا به سرطان معده در جمعیتی از بیماران جنوب غربی چین پرداختند. نتایج مطالعه آنان مشخص کرد که بین حضور پلی مورفیسم (G/A-1082) در ژن اینترلوکین ۱۰ در بیماران و افزایش ریسک ابتلا به سرطان معده در جمعیت بیماران چینی ارتباطی وجود ندارد [۲۰]. نتایج مطالعه آنان در جمعیت چین، برخلاف نتایج تحقیقات گذشته در جمعیت های آسیایی و پژوهش حاضر، ارتباط معناداری را بین حضور پلی مورفیسم (G/A-1082) در ژن اینترلوکین ۱۰ و ابتلا به سرطان معده نشان نداده است که این اختلافات می تواند به دلیل نژاد و قومیت های خاص که در کشور چین حضور دارند و استفاده از روش کار و تعداد نمونه های مورد مطالعه در این تحقیقات باشد. به طور کلی با مقایسه ی مطالعه ی حاضر با تحقیقات گذشته که در آنها با روش های متفاوت پژوهش انجام شده است و یا نژادهایی از جمعیت های مختلف مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته اند و مقایسه نتایج حاصل از آن مطالعات انجام شده و پژوهش حاضر، مشخص می شود که در کشورهای مختلف الگوهای متفاوتی از ارتباط بین حضور پلی مورفیسم (G/A-1082) در ژن اینترلوکین ۱۰ و ابتلا به سرطان معده وجود دارد و می توان تفاوت در این نتایج را به دلیل تأثیر فاصله نژادی و جغرافیایی بر الگوهای ژنوتایپی جمعیت های مختلف و حضور الگوهای ژنتیک جمعیت متفاوت، توجیه کرد. بنابراین، مطالعات بیشتر جهت بررسی اثر پلی مورفیسم ها بر خطر بیماری سرطان معده در نژادهای مختلف، آسیایی، اروپایی و امریکایی-آفریقایی، توصیه می شود. اما با توجه به اینکه در این سرطان عوامل محیطی

هم علاوه بر عوامل ژنتیکی نقش به سزایی دارند، مناسب است برای ادامه تحقیقات در این زمینه، جمعیت مورد مطالعه بیشتر، تفاوت در نمونه های مورد مطالعه از نظر جنس و سن، شرایط زیستی گوناگون و یا عوامل سبک زندگی همچون مصرف دخانیات و نوع تغذیه و ورزش و قرارگیری در معرض عفونت با باکتری هلیکوباکتر پیلوری نیز مورد نظر قرار گیرد. بنابراین برای یافتن نتایج قابل تعمیم به کل جمعیت جهان مطالعات گسترده تری در زمینه حضور این پلی مورفیسم و سایر پلی مورفیسم های ژن اینترلوکین ۱۰ که می توانند با یکدیگر بر هم کنش داشته باشند، در جمعیت ها و قومیت های مختلف و با حجم نمونه بیشتر پیشنهاد می شود. لزوم مطالعات بیشتر در این زمینه، با شایع بودن این بیماری در اکثر نقاط جهان و برخی مناطق کشور ایران و نقشی که می تواند در پیشگیری، پیش آگهی، کنترل و درمان آن داشته باشد، توصیه می شود.

۵- نتیجه گیری

بیماری سرطان معده یک بیماری چند فاکتوری می باشد و عوامل مختلف ژنتیکی، محیطی و ریسک فاکتورهای عادات زندگی افراد در ایجاد آن موثر است که در این مطالعه به بررسی یکی از علل ژنتیکی آن که پلی مورفیسم (G/A-1082) در ژن اینترلوکین ۱۰ می باشد، پرداخته شده است. طبق نتایج پژوهش حاضر از نظر آماری بین ژنوتیپ های این پلی مورفیسم در گروه بیمار و کنترل اختلاف معناداری مشاهده شد. بنابراین، با استفاده از این مطالعه می توان پلی مورفیسم (G/A-1082) در ژن اینترلوکین ۱۰ را به عنوان یک بیو مارکر ژنتیکی در تشخیص و پیش آگهی و در نتیجه درمان بیماری سرطان معده در جمعیت کشور استفاده کرد. پیشنهاد می شود در تایید نتایج پژوهش حاضر، مطالعات بیشتر و بررسی هایی با تعداد نمونه های فراوان تر، در جمعیت ها و قومیت های مختلف از بیماران کشور، همچنین بررسی تغییرات بیان این ژن با حضور پلی مورفیسم مذکور، انجام پذیرد.

871-91.

[8] Quan X, Ding Y, Feng R, Zhu X, Zhang Q. Expression profile of cytokines in gastric cancer patients using proteomic antibody microarray. *Oncol Lett.* 2017; 14(6): 7360-6.

[9] Diaz Orea MA, Muñoz Perez V, Gómez Conde E, Castellanos Sánchez VO, Gonzalez Lopez R, Flores Alonso JC, et al. Expression of Cytokines Interleukin-2, Interleukin-4, Interleukin-10 and Transforming Growth Factor β in Gastric Adenocarcinoma Biopsies Obtained from Mexican Patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2017; 18(2): 577-82.

[10] Mohamed HT, El-Husseiny N, El-Ghonaimy EA, Ibrahim SA, Bazzi ZA, Cavallo-Medved D, et al. IL-10 correlates with the expression of carboxypeptidase B2 and lymphovascular invasion in inflammatory breast cancer: the potential role of tumor infiltrated macrophages. *Curr Probl Cancer.* 2018; 42: 215-230.

[11] Kindlund B, Sjöling Å, Yakkala C, Adamsson J, Janzon A, Hansson L-E, et al. CD4+ regulatory T cells in gastric cancer mucosa are proliferating and express high levels of IL-10 but little TGF- β . *Gastric Cancer.* 2017; 20(1): 116-25.

[12] Mannino MH, Zhu Z, Xiao H, Bai Q, Wakefield MR, Fang Y. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer Lett.* 2015; 367(2): 103-7.

[13] Yu Z, Liu Q, Huang C, Wu M, Li G. The interleukin 10 -819C/T polymorphism and cancer risk: A HuGE review and meta-analysis of 73 studies including 15,942 cases and 22,336 controls. *OMICS.* 2013; 17: 200-214.

[14] Mirfakhhar F, Mohebi S, Azimzadeh P. Association between interleukin 10 gene polymorphism (rs1800872A/C) and chronic hepatitis B infection. *Razi J Med Sci.* ۲۰۱۷; 23(144): 91-9.

[15] Dai Z-J, Wang X-J, Zhao Y, Ma X-B, Kang H-F, Min W-L, et al. Effects of interleukin-10 polymorphisms (rs1800896, rs1800871, and rs1800872) on breast cancer risk: evidence from an updated meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2014; 18(6): 439-45.

[16] Sabet S, El-Sayed SK, Mohamed HT, El-Shinawi M, Mohamed MM. Inflammatory breast cancer: high incidence of GC haplotypes (-1082A/G, -819T/C, and -592A/C) in the

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد، خانم شایسته علی جباری رشته ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی با شماره ۱۵۷۳۰۳۹۷۲۰۰۷ می باشد و ضمن تشکر از توجه مسئولان محترم این دانشگاه به ویژه کمیته تخصصی گروه ژنتیک مولکولی، از تمامی کارکنان و اعضای محترم آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد نیز که در انجام این پروژه همکاری های لازم را مبذول فرموده اند، صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می آید. یادآور می شود هزینه های مالی این پروژه را دانشجوی مذکور تامین کردند و هیچ تعارض منافعی بین نویسندگان مقاله وجود ندارد.

۶-منابع

- [1] Machlowska J, Baj J, Sitarz M, Maciejewski R, Sitarz R. Gastric Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Classification, Genomic Characteristics and Treatment Strategies. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(11): 4012.
- [2] Sitarz R, Skierucha M, Mielko J, Offerhaus GJA, Maciejewski R, Polkowski WP. Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment. *Cancer Manag Res.* 2018; 10: 239-48.
- [3] Kuo WH, Huang CY, Fu C, Hsieh YH, Li CH, Hsu CM, et al. Effects of Interleukin-10 Polymorphisms and Smoking on the Risk of Gastric Cancer in Taiwan. *in vivo.* 2014; 28: 967-972.
- [4] Ramis IB, Vianna JS, Gonçalves CV, von Groll A, Dellagostin OA, da Silva PEA. Polymorphisms of the IL-6, IL-8 and IL-10 genes and the risk of gastric pathology in patients infected with *Helicobacter pylori*. *J Microbiol Immunol Infect.* 2017; 50(2): 153-9.
- [5] Kim J, Cho YA, Choi IJ, Lee Y-S, Kim S-Y, Shin A, et al. Effects of interleukin-10 polymorphisms, *Helicobacter pylori* infection, and smoking on the risk of noncardia gastric cancer. *PLoS One.* 2012; 7(1): e29643.
- [6] McLean MH, El-Omar EM. Genetics of gastric cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014; 11(11): 664-74.
- [7] Ouyang W, O'Garra A. IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation. *Immunity.* 2019; 50(4):

- 2015; 8(8): 9580–5.
- [26] Zhu ZY, Liu JB, Liu X, Qia LX. Association of interleukin 10 rs1800896 polymorphism with susceptibility to breast cancer: a meta-analysis. *J Int Med Res.* 2020; 48(4): 1–14.
- [27] Jaradat S, Ababneh K, Jaradat S, Abbadi M, Taha A, Karasneh J, et al. Association of interleukin-10 gene promoter polymorphisms with chronic and aggressive periodontitis. *Oral Dis.* 2012; 18(3): 271–9.
- interleukin-10 gene promoter correlates with over-expression of interleukin-10 in patients carcinoma tissues. *Tumor Biol.* 2017: 1-11.
- [17] Martinez-Compos C, Torres-Poveda K, Camorlinga-Ponce M, Flores-Luna L, Maldonado-Bernal C, Madrid-Marina V, et al. Polymorphisms in IL-10 and TGF-B gene promoter are associated with lower risk to gastric cancer in a Mexican population. *BMC cancer.* 2019; 19: 453-461.
- [18] Namazi A, Forat yazdi M, Jafari MA, Farahnak S, Nasiri R, Foroughi E, et al. Association of interleukin-10 -1082 A/G (rs1800896) polymorphism with susceptibility to gastric cancer: meta-analysis of 6,101 cases and 8,557 controls. *Arq Gastroenterol.* 2018; 55(1); 33-40.
- [19] Li C, Tong W, Liu B, Zhang A, Li F. The -1082A.G polymorphism in promoter region of interleukin-10 and risk of digestive cancer: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2014; 4(5335): 1-7.
- [20] Pan XF, Yang SJ, Loh M, Xie Y, Wen YY, Tian Z, et al. Interleukin-10 Gene Promoter Polymorphisms and Risk of Gastric Cancer in a Chinese Population: Single Nucleotide and Haplotype Analyses. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2013; 14 (4): 2577-2582.
- [21] Wangy J, Dingy Q, Shiy Y, Cao Q, Qin C, Zhu J, et al. The interleukin-10-1082 promoter polymorphism and cancer risk: a meta-analysis. *Mutagenesis.* 2012; 27(3): 305–312.
- [22] Chand-Bhayal A, Krishnaveni D, Pandu-Ranga-Rao K, Prabhakar B, Vidyasagar A, Murali-Krishna B, et al. Association of interleukin-10 promoter polymorphism (-1082 g/a) and gastric cancer in andhra pradesh population of South India. *Iran J cancer Prev.* 2012; 5(3): 117–23.
- [23] Peihua Ni P, Xu H, Xue H, Lin B, Lu Y. A Meta-Analysis of Interleukin-10-1082 Promoter Polymorphism Associated with Gastric Cancer Risk. *DNA Cell Bio.* 2012; 31(4): 582-591.
- [24] Fei C, Yao XM, Sun Y, Gu XZ, Yu LQ, Lai X. Interleukin-10 polymorphisms associated with susceptibility to acute myeloid leukemia. *Genet Mol Res.* 2015; 14(1): 925–30.
- [25] Yang Y, Fa X. Role of IL-10 gene polymorphisms on the susceptibility for esophageal cancer and its association with environmental factors. *Int J Clin Exp Pathol.*

Polymorphism (-1082G/A) in Interleukin 10 Gene and its relation to gastric Cancer by Tetra Arms-PCR

Shayesteh Alijabari¹, Elham Siasi^{*2}, Robab Rafiei Tabatabaai³

1. MSc degree, Department of Genetic, School of science, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.
2. Association Professor, Department of Genetic, School of science, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.
3. Association Professor, Department of Genetic, School of science, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.

emi_biotech2006@yahoo.ca

Receipt: 2021/06/12

Accepted: 2023/04/09

Abstract

Gastric cancer is the second common cause of cancer death worldwide. Cytokines are mediators of peptides that are involved in the regulation of immunological responses, inflammatory systemic responses, and repair responses to risk factors. Interleukins are cytokines that are produced on other lymphocytes. Interleukin-10, is one of the body's most important interleukin that to inhibit inflammatory and immune responses. Different polymorphisms are found in the promoter region of interleukin 10 gene, which by changing the rate of this gene expression, could be altered its function. In this present research, was studied of relation between (-1082G/A) polymorphism in interleukin 10 gene and gastric cancer. Two groups consist of 50 patients and 50 controls, were selected as the study samples population and were taken blood samples from them. Next DNA extraction from samples, genotyping of this polymorphism was used by Tetra-ARMS-PCR. Then was analyzed the results. Samples genotyping was showed frequency of A and G alleles 74% and 26%, in patient groups and in control groups 68% and 32%, respectively. There was a significant association between GG genotype in this polymorphism and gastric cancer (P=0.013). This study results shown that can be used (-1082G/A) polymorphism in interleukin 10 gene as a molecular biomarker for gastric cancer in Iranian patients' population.

Keywords: Gastric cancer, Interleukin 10 gene, Polymorphism, Tetra Arms PCR.