مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد الثالث والعشرون - المجلد التاسع - علوم الحياة - آب 2024 م
doi.org/10.52866/esj.2023.09.23.03

الكشف عن جين IL-6 (174 G>C) وعلاقته بمرضى ارتفاع ضغط الدم المزمن لدى عينة من العراقيين في بغداد

اكرم ثامر رزاق[1] , أ.د. علي صالح حسين[2] , أ.م.د أنور عبدناصر ضبعان[1]
[1] كلية التربية/الجامعة العراقية ، [2] رئاسة الجامعة العراقية
Corresponding Email : Akram.R.Youssef@aliraqia.edu.iq

مستخلص

كشفت الدراسة عن التعدد الشكلي للجين IL (174 G>C) في المرضى المصابين بارتفاع ضغط الدم . حيث جمعت 50 عينة دم لأجناس مختلفة ، 25 منها تعود لأشخاص مصابين بمرض ارتفاع ضغط الدم المزمن تراوحت أعمارهم بين 35 و 68 سنة ، و 25 عينة تعود لأشخاص أصحاء (مجموعة سيطرة) تراوحت أعمارهم بين 17 و 53 سنة. تمت دراسة التعدد الشكلي لجين IL-6 (174 G>C) باستعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل لنظام الممانعة للتضاعف Amplification refractory mutation system - PCR (ARMS – PCR). أظهرت النتائج وجود علاقة معنوية بين جين IL-6 (174 G>C) و ارتفاع ضغط الدم المزمن . ولهذه العلاقة ارتباط معنوي بالنمطين الوراثيين GG و GC لجين IL-6 (174 G>C) . حيث بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عالية للأليلين G و C. حيث اظهر إلأليل G تكرارا عاليا في عينة المصابين بنسبة ٪50 بالمقارنة مع العينة القياسية التي ظهر إلأليل G فيها بنسبة ٪16 ، بينما ظهر الاليل C بنسبة (٪84) في العينة القياسية ، و ٪50 في عينة المصابين. كما وظهر النمط الوراثي متماثل الزيجة Homozygous (GG) والنمط الوراثي متباين الزيجة Hetero-zygous (GC) بنسبة 32 ٪ و ٪36 بالتتابع كنمطين وراثيين مرتبطين بالجزء المسبب للإصابة ، بينما ظهر النمط الوراثي متماثل الزيجة Homozygous (CC) بنسبة ٪80 في العينة القياسية كنمط وراثي مرتبط بالجانب الوقائي من خطر الإصابة بالمرض.

الكلمات المفتاحية : IL-6 (174 G>C) – ضغط الدم – التعدد الشكلي .

Detection of Gene IL-6 (174 G>C) and Its Relation in Patients With Chronic Hypertension From a Sample of Iraqis in Baghdad

Akram Thamer Razzaq[1], Ali Salih Hussein[2], Anwar Abed Nasser Dhabaan[1]
Al-Iraqia University , College of Education [1] / Al-Iraqia University [2]

Abstract

The study revealed a polymorphism of the IL gene (174 G>C) in patients with blood hypertension. Fifty blood samples of different genders were collected, 25 of them were from people with chronic blood hypertension whose ages ranged between 35 and 68 years, and 25 samples belonged to healthy people (control group) whose ages ranged between 17 and 53 years. The polymorphism of the IL-6 gene (174 G>C) was studied using the Amplification refractory mutation system- polymerase chain reaction technology(ARMS-PCR). The results showed a significant relationship between the IL-6 gene (174 G>C) and chronic hypertension. This relationship has a significant correlation with the two genotypes GG and GC of the IL-6 gene (174 G>C). The results of the statistical analysis showed that there were highly significant differences for the G and C alleles. The G allele showed a high frequency in the infected sample at a rate of 50% compared to the standard sample in which the G allele appeared at a rate of 16%, while the C allele appeared at a rate of (84%) in the standard sample, and 50% in the infected sample. The homozygous genotype (GG) and the heterozygous genotype (GC) appeared at a rate of 32% and 36%, respectively, as two genotypes associated with the part causing the disease, while the homozygous genotype (CC) appeared at a rate of 80% in the standard sample as an associated genotype. In the preventive aspect of the risk of contracting the disease.

Keywords: **IL-6 (174 G>C) - blood pressure - Polymorphism .**

المقدمة Introduction

يعتبر مرض ارتفاع ضغط الدم (TNH) Hy-pertension من بين الحالات المرضية الأكثر شيوعًا، حيث يعاني أكثر من مليار شخص من المرض (Mills et al., 2016)، ويعتبر القاتل الأول بين أسباب الوفاة في البشر(Chow *et al*., 2013) ، كونه يتسبب بحوالي 9.4 مليون وفاة في العالم سنويًا (Poulter & Prabha-karan, 2015). نظرًا لأن HTN يعتبر واحدًا من أكثر الأمراض المزمنة التي يتم دراستها بشكل شامل، توصى دراسات عدة إلى ضرورة إدخال تحسينات في إدارة HTN في الشرق الأوسط (Yusufali et al., 2017). إن ضغط الدم هو الضغط الذي يمارسه الدم على جدران الأوعية الدموية في كل مرة ينبض فيها القلب (حوالي 60–70 مرة في الدقيقة) (Reddy et al., 2022). إن ارتفاع ضغط الدم (≤90/ 140 ملم زئبق) حالة شائعة تؤثر على شرايين الجسم، ويُطلَق عليها أيضًا فرط ضغط الدم ، تكون فيها قوة دفع الدم باتجاه جدران الشرايين عالية للغاية باستمرار، مما يجعل القلب يعمل بجهد أكبر لضخ الدم. ويمكن أن يؤدي ارتفاع ضغط الدم إلى تلف الأعضاء، بالإضافة إلى العديد من الأمراض، مثل الفشل الكلوي (الفشل الكلوي)، تمدد الأوعية الدموية، فشل القلب، السكتة الدماغية، أو الأزمة القلبية، ونزيف الشبكية وإصابة الكبيبات. المستوى الطبيعي لضغط الدم أقل من 80/ 120 حيث يمثل 120 القياس الانقباضي (ذروة الضغط في الشرايين) ويمثل 80 القياس الانبساطي (الحد الأدنى من الضغط في الشرايين) (Callejo *et al*., 2020) .

ويمكن تعريف الحركيات الخلوية Cytokines على أنها وسائط حركية مناعية تكون على شكل بروتينات ذائبة ذات سلاسل ببتيدية منخفضة الوزن الجزيئي تتراوح بين 5 الى 25 كيلو دالتون، وتعد وسائط ذات أهمية بارزة لكونها تشترك في الاستجابات المناعية ضد الأمراض ومسبباتها (Dinarello, 2007). يتم إنتاج الحركيات الخلوية Cytokines بواسطة عدد كبير من الخلايا المناعية، والتي تعمل على تنشيط المناعة الخلوية الموجهة ضد المسبب المرضي (Wang *et al*., 2010). تضم الحركيات الخلوية مجموعة واسعة من الوسائط المناعية من بينها وأهمها Interlukin-6 (IL6)، الذي يمتلك دوراً بارزاً في تنظيم الاستجابة المناعية والالتهابية في الجسم والامراض المزمنة ومنها ارتفاع ضغط الدم HTN (Mager *et al*., 2016) وإن الـ IL-6 يكون بمثابة سايتوكين استجابة أولية proinflammato-ry Cytokine كما ويعمل على إحداث الحمى وله تأثير واضح في الاستجابة المرضية والجهازية والاستجابة الالتهابية للطور الحاد.

المواد وطرائق العمل
Patients and Methods

جمع عينات الدم

تم جمع عينات الدم للأشخاص المصابين بارتفاع ضغط الدم والاصحاء بشكل عشوائي في مناطق بغداد وشملت العينات أجناس مختلفة. شملت الدراسة على 50 عينة دم، 25 عينة منها جمعت من أشخاص مصابين بمرض ارتفاع ضغط الدم المزمن تراوحت أعمارهم بين 35 و 68 سنة، و جمعت 25 عينة من أشخاص اصحاء (مجموعة السيطرة) وتراوحت أعمارهم بين 17 و 53 سنة . جمع الدم في أنابيب خاصة بحجم 2 مليلتر حاوية على مادة EDTA كمانع لتخثر الدم والتي استعملت في استخلاص DNA . وشخص المرضى من قبل أطباء اختصاص .

البوادئ (Primers)

صنعت ثلاث البوادئ من قبل شركة BIONEER الكورية وحسب الطلب، واستخدمت للكشف عن الاليل G و C في جين IL-6 (174G>C) وحضرت بحسب التعليمات المرفقة من قبل الشركة (الجدول 1).

جدول (1) : البوادئ المستعملة للكشف عن جين IL-6 (174G>C) وجين السيطرة

التقنية	اسم البادئ	التسلسل النيوكلوتيدي للبادئ (3 → 5)
ARMS-PCR	IL-6 174 C Forward	5-CTGCACTTTTCCCCCTAGTTGTGTCTTGCC-3
	IL-6 174 G Forward	5-TCCCCCTAGTTGTGTCTTGCG-3
	IL-6 Reverse	5-TGAGGGTGGGGCCAGAGC-3

الكشف عن جين IL-6 (174 G>C)

استعملت طريقة تفاعل سلسلة البلمرة لنظام التضاعفARMS – PCR في الكشف عن جين IL-6 (174G>C) . حضر المزيج الأساسي Pre-Mix للبوادئ الخاصة بالدراسة وبحسب تعليمات الشركة المصنعة. استعمل AccuPower PCR Pre-Mix حسب تعليمات الشركة المصنعة BIONEER. استعملت البوادئ للكشف عن الجين والاليل G,C ثم وضعت العينات في جهاز التدوير الحراري (Thermocycler) لغرض تضخيم الحامض النووي DNA وضبط برنامج الجهاز للحصول على ظروف مثالية للتفاعل. المرحلة الأولى هي مسخ القالب الأول Denature template وبدرجة حرارة 96ْم وتستمر لمدة 7 دقائق والمسخ الابتدائي الأول First initial denaturation وضبط على درجة حرارة 95ْم لمدة 30 ثانية والتحام البادئ الأول مع First annealing ضبط بدرجة حرارة 58ْم ولفترة 30 ثانية والاستطالة النهائية Final extension ضبطت بدرجة حرارة 72ْم لمدة 10 دقائق ومراحل المسخ ضبطت ب 35 دورة . حملت نواتج ARMS – PCR للدنا في المرضى المصابين بارتفاع ضغط الدم المزمن وعينة الأصحاء. تم الترحيل الكهربائي Gel electro-phoresis وحضر هلام الاكاروز بتركيز 2٪ في تجارب نظام الممانعة للتضاعف بتقنية Tetra-ARMS-PCR استعمل الواسم الجزيئي Molecular marker المنتج من قبل شركة Bioneer الكورية بحجم 2000 زوج قاعدة وبدرجة 100 زوج قاعدة .

التحليل الاحصائي Statistical analysis

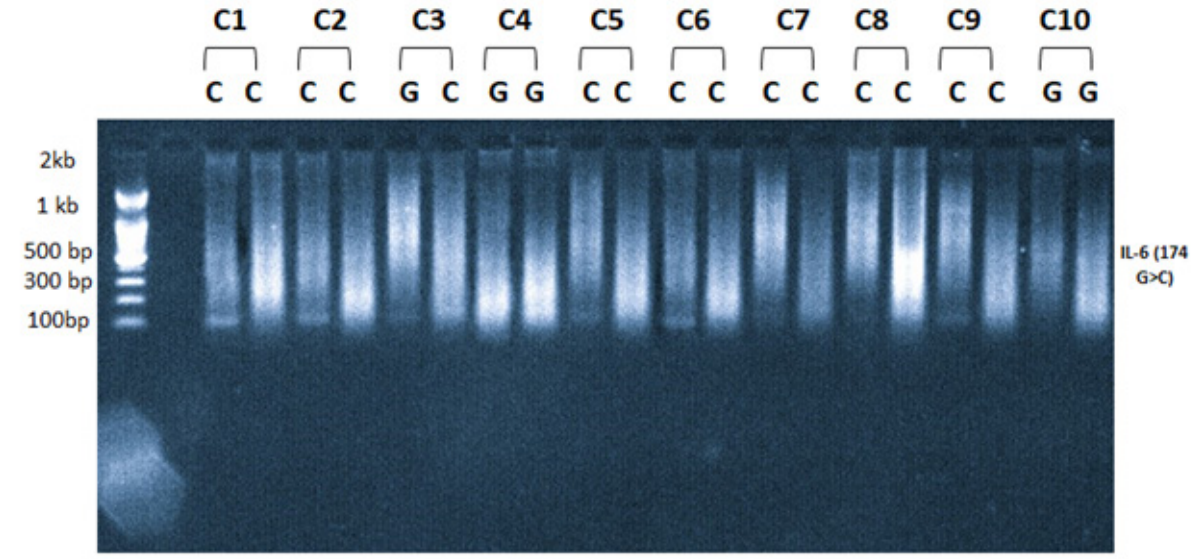
حللت بيانات نتائج تفاعل سلسلة البلمرة لنظام الممانعة للتضاعف لجين IL-6 (174 G>C) باستعمال البرنامج الاحصائي (SPSS) Statistical package for social Sciences وتم إيجاد الفروق المعنوية بين المتغيرات باستعمال اختبار فشر Fishers – test على مستوى احتمالية P<0.05. وحللت تكرارات الاليلات والانماط الوراثية والنسبة الحرجة Odds ratio (OR) ومدة الثقة Confidence Intervals (CI) باستعمال برنامج برنامج Compare VER 304 والمصنع بواسطة J. Abramson عام (2007–2003). جرى تحليل للنتائج باستعمال قانون التوازن هاردي –واينبرك Hardy – Weinberg equilibrium وحسب الموقع الألكتروني :

www. had2know.com/academics.html

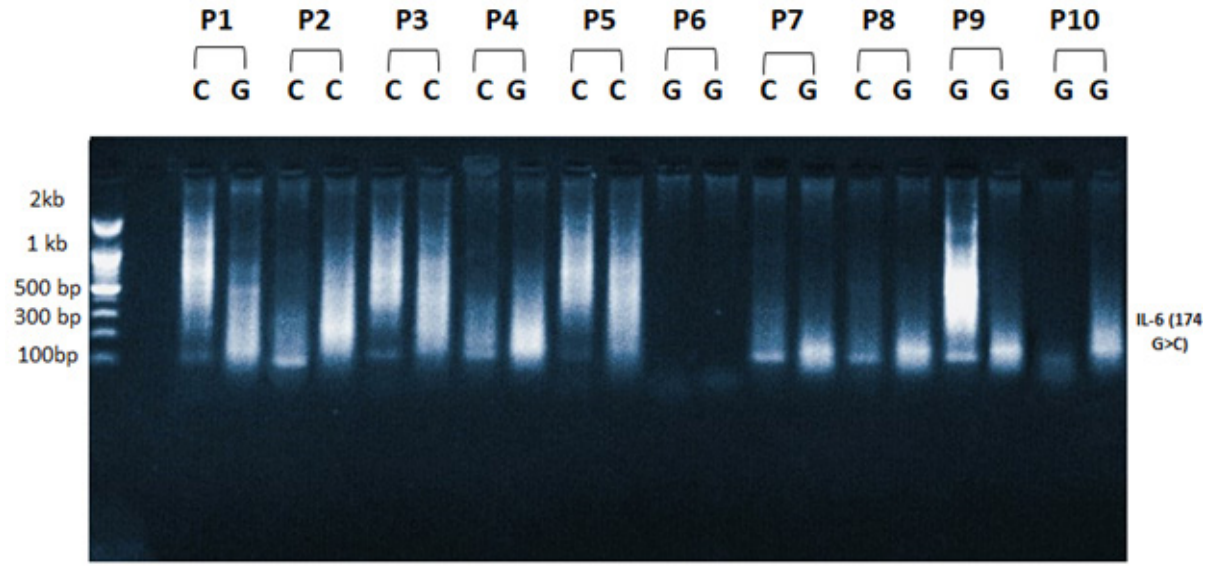
النتائج Results

الكشف عن التعدد الشكلي لجين IL-6 (174 G>C)

درس تعدد الاشكال الوراثية Genetic poly-morphism – لجين IL-6 (174G>C) في الأشخاص المصابين بمرض ارتفاع ضغط الدم المزمن وتم مقارنتها مع العينات الأصحاء (العينات القياسية). أظهرت نتائج التحليل الوراثي للجين المدروس الى وجود ثلاث أنماط وراثية هي GG و CC و GC في عينة المصابين بمرض ارتفاع ضغط الدم المزمن والعينة القياسية تم الحصول عليها من نتائج اليل G واليل C (الشكل1 والشكل 2) .

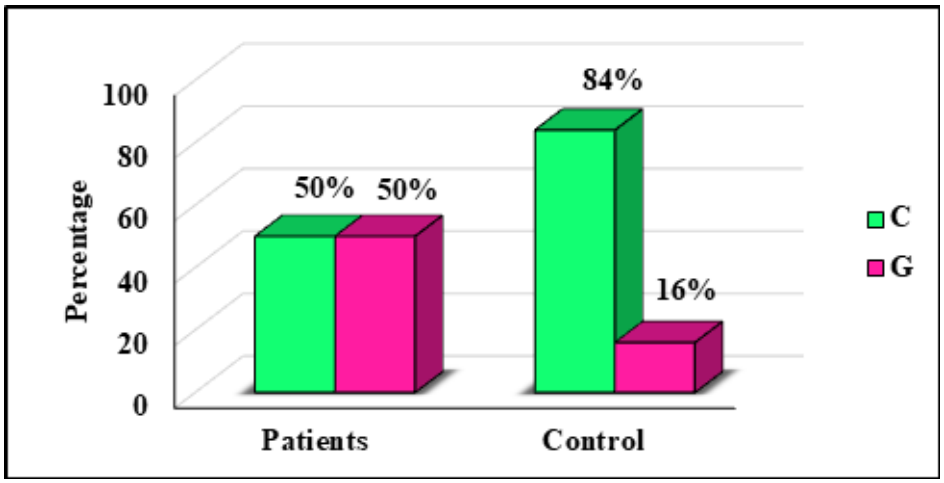


الشكل (1) الترحيل الكهربائي للجين IL-6 (174 G>C) موضحا فيه الأليلين G و C في عينة المصابين بمرض ارتفاع ضغط الدم



الشكل (2): الترحيل الكهربائي للجين IL-6 (174 G>C) موضحا فيه الأليلين G و C في عينة الاصحاء

تبين النتائج الإحصائية في الشكل 3 والجدول 2، وجود نتائج متغايرة في التوزيع التكراري للاليلين C و G للجين (IL-6) بين عينة المصابين والعينة القياسية. حيث سجل الاليل C في عينة المصابين نسبة 50٪ بينما سجل في العينة الغير قياسية نسبة 84٪ ، ويلاحظ وجود اختلاف معنوي $p\ value = 0 < 0.05$ ، وكانت الـ odd ratio = 0.19 و CI 95% كانت تساوي (0.08 – 0.48). كما وسجل الاليل G نسبة 50٪ في عينة المصابين و نسبة 16٪ في العينة القياسية. يلاحظ وجود إخلاف معنوي p value = 0 < 0.05، وكانت ال odd ratio = 5.25 و CI 95٪ كانت تساوي (2.08 – 13.28).



شكل3 : تكرار الاليلين C و G لجين (IL-6) في عينة المصابين والعينة القياسية

جدول : 2 تكرار الاليلين C و G لجين (IL-6) في عينة المصابين والعينة القياسية

الجين	الاليل	عينة المصابين	العينة القياسية	OR (CI 95%)	P value
		50	50		
IL-6	C	(٪50) 25	(٪84) 41	0.19 (0.48 – 0.08)	0.000**
174 G>C	P.F	68.00٪			–
	G	(٪50) 25	(٪16) 9	5.25 (13.28 – 2.08)	0.000**
	E.F	40.50٪			–

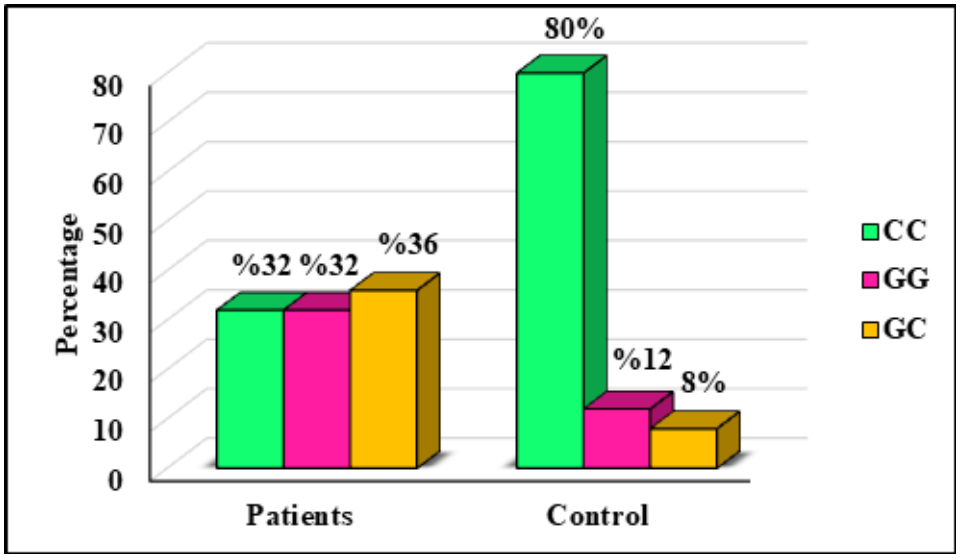
* الاختلاف معنوي (p value < 0.05) OR = Odds ratio (النسبة الحرجة)، CI= Confidence Intervals (مدة الثقة)، P.F= Preventive faction (نسبة الجزء الوقائي)، E.F= Etiological faction (نسبة الجزء المسبب).

كما تبين النتائج الموضحة في الجدول 3 والشكل 4 ان التوزيع التكراري للنمط الوراثي ، GG ، CC GC لجين (IL-6) ذا نتائج متغايرة بين عينة المصابين والعينة القياسية. حيث سجل النمط الوراثي CC في عينة المصابين نسبة ٪32 بينما سجل في العينة قياسية بنسبة ٪80 . ويلاحظ وجود إخلاف معنوي p value = 0.001 < 0.05 ، وكانت ال odd ratio = 0.12 و CI 95٪ كانت تساوي (0.42–0.03). كما وسجل النمط الوراثي GG نسبة 32% في عينة المصابين ونسبة ٪12 في العينة قياسية . ويلاحظ وجود إخلاف معنوي p value = 0.085 > 0.05 ، وكانت الـ odd ratio = 3.45 و CI 95٪ كانت تساوي (14.57–0.82). واخيراً، سجل النمط الوراثي GC في عينة المصابين نسبة ٪36 بينما سجل في العينة قياسية بنسبة ٪8، ونلاحظ انه يوجد اخلاف معنوي حيث ان p value = 0.085 > 0.05 ، وكانت الـ odd ratio = 6.47 و CI 95٪ كانت تساوي (32.89–1.27).

جدول 3 : نتائج التحليل الاحصائي والوراثي للأنماط الوراثية المشاهدة لجين (IL-6) في عينة المصابين والعينة القياسية

الجين	النمط الوراثي	عينة المصابين	العينة القياسية	OR (CI 95%)	P value
		25	25		
IL-6	CC	8 (٪32)	20 (٪80)	0.12 (0.03-0.42)	0.001**
G>C 174	P.F	70.60٪			–
	GG	8 (٪32)	3 (٪12)	3.45 (0.82-14.57)	0.085
	E.F	22.70٪			–
	GC	9 (٪36)	2 (٪8)	6.47 (32.89 – 1.27)	0.019 *
	E.F	30.47٪			–

* * الاختلاف معنوي (p value < 0.05) OR = Odds ratio (النسبة الحرجة)، CI= Confidence Intervals (مدة الثقة)، P.F= Preventive faction (نسبة الجزء الوقائي)، E.F= Etiological faction (نسبة الجزء المسبب).



شكل4 : تكرار الانماط الوراثية لجين (IL-6) في عينة المصابين والعينة القياسية

المناقشة Discussion

ان IL-6 هو احد الحركيات الخلوية الالتهابية الذي يلعب دوراً مهماً في الاستجابات الوراثية والمناعية (Brull *et al.*, 2001) . IL-6 هو سيتوكين متعدد التوجيهات التي تزيد من خطر وتطور بعض الامراض بما في ذالك من خطر الإصابة بمرض ارتفاع ضغط الدم (Volpato *et al.*, 2001). ان معظم SNP في الموقع (174G>C) لجين IL-6 يؤثر على ربط المستقبل وبالتالي يمنع التنشيط السخي للبروتينات الالتهابية (Ridker et al., 2000). حيث تبين في دراستنا الحالية ان النمطين

الوراثيين GC و GG لجين IL- في الموقع (174G>C) مرتبطا بشكل كبير مع زيادة خطر الإصابة بمرض ارتفاع ضغط الدم المزمن . بينما النمط الوراثي CC لجين IL-6 في الموقع (174G>C) ظهر كعامل وقائي من خطر الإصابة بمرض ارتفاع ضغط الدم المزمن . بينما ظهر الاليل G كالاليل مرتبط مع تطور خطر الإصابة بمرض ارتفاع ضغط الدم . كذالك بينت دراستنا الحالية ان الاليل C هو اليل وقائي من خطر الإصابة بمرض ارتفاع ضغط الدم المزمن .

اتفقت دراستنا مع دراسة ((Ren *et al*., 2016)) على عينة من السكان الاسيوين على وجود علاقة بين التعدد الشكلي لجين IL-6 (174G>C) وخطر الإصابة بمرض ارتفاع ضغط الدم . وكذلك اتفقت دراستنا مع دراسة (Fishman *et al*., 1998). على ان النمط الوراثي لجين IL-6 (174G>C) نمط وراثي وقائي من خطر الإصابة بمرض ارتفاع ضغط الدم . كشفت دراسة اوربية عن عدم وجود ارتباط بين التعدد الشكلي لجين IL-6 (174G>C) وخطر الإصابة بمرض ارتفاع ضغط الدم المزمن.

References المراجع

- Brull, D. J., Montgomery, H. E., Sanders, J., Dhamrait, S., Luong, L., Rumley, A., . . . Humphries, S. E. (2001). Interleukin-6 gene− 174g> c and− 572g> c promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 21(9), 1458-1463.
- Callejo, M., Mondejar-Parreño, G., Esquivel-Ruiz, S., Olivencia, M. A., Moreno, L., Blanco, I., . . . Perez-Vizcaino, F. (2020). Total, bioavailable, and free vitamin D levels and their prognostic value in pulmonary arterial hypertension. *Journal of Clinical Medicine*, 9(2), 448.
- Chow, C. K., Teo, K. K., Rangarajan, S., Islam, S., Gupta, R., Avezum, A., . . . Diaz, R. J. J. (2013). Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries. 310(9), 959-968.
- Dinarello, C. A. (2007). Historical insights into cytokines. *European journal of immunology*, 37(S1), S34-S45.
- Fishman, D., Faulds, G., Jeffery, R., Mohamed-Ali, V., Yudkin, J. S., Humphries, S., & Woo, P. (1998). 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. *The Journal of clinical investigation*, 102(7), 1369-1376.
- Mager, L. F., Wasmer, M.-H., Rau, T. T., & Krebs, P. (2016). Cytokine-induced

modulation of colorectal cancer. *Frontiers in oncology*, 6, 96.

- Mills, K. T., Bundy, J. D., Kelly, T. N., Reed, J. E., Kearney, P. M., Reynolds, K., . . . He, J. (2016). Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. *Circulation*, 134(6), 441-450.
- Poulter, N. R., & Prabhakaran, D. J. H. L. (2015). Caulfield M. 386(9995), 801-812.
- Reddy, A. M., Iqbal, M., Chopra, H., Urmi, S., Junapudi, S., Bibi, S., . . . Abdel-Daim, M. M. (2022). Pivotal role of vitamin D in mitochondrial health, cardiac function, and human reproduction. *EXCLI journal*, 21, 967.
- Ren, H., Zhang, Y., Yao, Y., Guo, T., Wang, H., Mei, H., & Hu, Y. (2016). Association between the interleukin-6 genetic polymorphism 174 G/C and thrombosis disorder risk: meta-analysis of 10,549 cases and 19,316 controls. *Medicine*, 95(27).
- Ridker, P. M., Rifai, N., Stampfer, M. J., & Hennekens, C. H. (2000 .(Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*, 101(15), 1767-1772.
- Volpato, S., Guralnik, J. M., Ferrucci, L., Balfour, J., Chaves, P., Fried, L. P., & Harris, T. B. (2001 .(Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. *Circulation*, 103(7), 947-953.
- Wang, J., Tang, S., & Shen, H. (2010). Association of genetic polymorphisms in the IL12-IFNG pathway with susceptibility to and prognosis of pulmonary tuberculosis in a Chinese population. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 29, 1291-1295.
- Yusufali, A. M., Khatib, R., Islam, S., Alhabib, K. F., Bahonar, A., Swidan, H. M., . . . Yusuf, S. J. J. o. h. (2017). Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in four Middle East countries. 35(7), 1457-1464.