



دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تربت جام

مجله تحقیق و توسعه سلامت

دوره ۱، شماره ۲، دی ۱۴۰۲



## ارتباط بین پلی مورفیسم VNTR ژن IL-4 با دیابت نوع دو

رامین نصرالله زاده (MD)<sup>۱</sup>، محمد امین مومنی مقدم (PhD)<sup>۲</sup>، داود سالار باشی (PhD)<sup>۳</sup>، میلاد خراسانی (PhD)<sup>۴\*</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**سابقه و هدف:** یکی از بیماری های رایج که در اکثر کشورها افراد زیادی به آن مبتلا هستند، دیابت است. از جمله عوامل مهمی که در ایجاد و گسترش این بیماری نقش دارد، التهاب است. اینترلوکین چهار به عنوان یکی از سایتوکاین های ضد التهابی بوده که می تواند سبب کاهش التهاب گردد. هدف از انجام این مطالعه تعیین ارتباط بین پلی مورفیسم VNTR ژن IL-4 در افراد مبتلا به دیابت نوع دو است.

**مواد و روش ها:** این پژوهش یک مطالعه مورد- شاهد است. ۵۰ نفر از افراد مبتلا به دیابت که به بیمارستان علامه بهلول شهرستان گناباد مراجعه کرده بودند، در گروه مورد و ۵۰ نفر از افراد سالم در گروه شاهد قرار گرفتند. انتخاب افراد به صورت تصادفی انجام و در صورت داشتن معیارهای ورود، پس از اخذ رضایت آگاهانه، وارد مطالعه شدند. از هر فرد دو میلی لیتر خون با استفاده از لوله حاوی EDTA جمع آوری شد. استخراج DNA با استفاده از روش salting out صورت گرفت. برای بررسی پلی مورفیسم، ابتدا قطعه مورد نظر با استفاده از پرایمرهای مناسب تکثیر داده شد و سپس با استفاده از الکتروفورز شناسایی شد.

**یافته ها:** میانگین سنی افراد مورد مطالعه  $61.98 \pm 7.30$  سال بوده و ۵۰ درصد از آن ها مرد بودند. یافته ها نشان داد ارتباط معنی دار بین پلی مورفیسم VNTR ژن IL-4 و ابتلا به دیابت نوع دو وجود ندارد ( $P < 0.05$ ).  
**نتیجه گیری:** در جمعیت مورد مطالعه، ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم VNTR ژن IL-4 با دیابت نوع دو وجود نداشت.

**واژه های کلیدی:** پلی مورفیسم، اینترلوکین ۴، دیابت نوع ۲

نویسنده مسئول: میلاد خراسانی، استادیار بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی نیشابور، نیشابور، ایران

E-mail: miladkh24@yahoo.com

۱. دانشجوی پزشکی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران
۲. استادیار، گروه بیوشیمی، تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد
۳. استادیار، گروه بیوشیمی، تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد
۴. استادیار، گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی نیشابور، نیشابور، ایران

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۲

اصلاح: ۱۴۰۲/۰۹/۰۷

دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۲

## مقدمه

دیابت یک بیماری شایع است که شیوع آن در چند دهه گذشته افزایش یافته و به عنوان یک چالش بزرگ بهداشت عمومی در قرن بیست و یکم است (۱). طبق آمار فدراسیون بین المللی دیابت<sup>۱</sup> (IDF) در سال ۲۰۱۷، شیوع جهانی دیابت در گروه سنی ۲۰ تا ۷۹ سال ۸/۸ درصد گزارش شده است. تخمین زده می شود که تا سال ۲۰۳۰، دیابت ۴۳۹ میلیون بزرگسال را تحت تاثیر قرار دهد (۲). با این حال، تعداد بیماران دیابتی در سراسر جهان در سال ۲۰۱۴، ۴۲۲ میلیون نفر گزارش شده است (۳).

در سال ۲۰۱۱، شیوع دیابت در بزرگسالان ۲۵ تا ۷۰ ساله ۱۱/۹ درصد در ایران گزارش شده است که نسبت به سال ۲۰۰۵، ۳۵ درصد افزایش داشته است (۴). تخمین زده می شود که در سال ۲۰۳۰ نزدیک به ۹/۲ میلیون ایرانی به مبتلا به دیابت باشند (۵). بسیاری از افراد مبتلا به دیابت، به دلیل سطح کنترل نشده گلوکز خون از عوارض آن آگاه نیستند (۶). در صورت عدم مراقبت و کنترل مناسب این بیماری عوارض جدی مانند مشکلات قلبی-عروقی، رتینوپاتی، نوروپاتی و نفروپاتی ایجاد خواهد شد (۵). در دیابت نوع دو، سلول های بتا، انسولین را به درستی ترشح می کنند، اما بدن قادر به استفاده بهینه از آن نیست و میزان قند خون بالا می ماند (۷). عوامل ژنتیکی و محیطی هر دو نقش مهمی در بروز دیابت نوع دو (T2DM) دارند (۸). عوامل ژنتیکی مانند تنوع و بیان ژن سیتوکین ها می توانند بر این اختلال متابولیک تأثیر بگذارند (۹). در اوایل دهه ۱۹۹۰ محققان التهاب را به عنوان عامل اصلی مقاومت به انسولین و ابتلا به دیابت نوع دو شناسایی کردند (۱۰). در بیماران با T2DM، وجود التهاب مزمن می تواند باعث اختلال در عملکرد سلول های بتا انسولین و مقاومت به انسولین در بافت های مختلف بدن شود. این التهاب می تواند ناشی از فعالیت زیاد سیستم ایمنی، تنش اکسیداتیو و تغییرات متابولیسمی در سلول ها باشد (۱۱).

درک این که ژنتیک و محیط چگونه با یکدیگر تعامل می کنند و در بروز T2DM نقش دارند، در تحقیقات و پژوهش های جاری در حوزه این بیماری اهمیت دارد (۱۲).

وجود التهاب سیستمیک در بیماران T2DM برای ایجاد عوارض قلبی-عروقی نقش مهمی دارد. در T2DM، وجود سطوح بالای مارکرهاي التهابی مانند پروتئین واکنش دهنده C (CRP) و فاکتورهای پیش برنده التهابی مانند فاکتور نکروز دهنده تومور-آلفا (TNF- $\alpha$ ) و اینترلوکین ۶ (IL-6) (۶) با عوارض قلبی-عروقی مرتبط است (۱۳). در کنار این عوامل پیش برنده التهابی، اینترلوکین ۴ (IL-4) به عنوان یک سایتوکاین ضد التهابی از طریق مکانیسم های متعدد، از جمله تنظیم مستقیم لیپولیز در سلول های چربی و افزایش حساسیت به انسولین تجمع لیپید را در داخل بدن کاهش می دهد (۱۴). نوتروفیل ها، ماست سل ها و سلول های T2 از جمله تولیدکنندگان اصلی این سایتوکین هستند. IL-4 با خصوصیات Th2 عمل می کند که به سرکوب سیستم ایمنی سلولی و در نهایت جلوگیری از تخریب سلول های جزایر لانگرهانس توسط سلول های سیستم ایمنی می پردازد (۱۵). این سایتوکاین تأثیری در تعادل بین سلول های التهابی و ضد التهابی دارد و می تواند به کاهش التهاب مورد نظر بیمار کمک کند. با این حال، لازم به ذکر است که نقش IL-4 در برخی بیماری ها هنوز به طور کامل مشخص نبوده و نیاز به مطالعات بیشتر است (۱۳).

پلی مورفیسم های موجود در ژن های سایتوکاین ها می توانند تأثیر قابل توجهی بر تولید و ترشح سایتوکاین ها داشته و در نتیجه در تعادل و شدت پاسخ ایمنی بدن تأثیر گذار باشند (۱۶). همچنین، پلی مورفیسم های ژنتیکی در سایتوکاین ها می تواند بر روی قابلیت ارتباط سلول های ایمنی با یکدیگر و در نتیجه فعالیت سلول های ایمنی، التهاب و پاسخ دفاعی بدن موثر باشد (۱۷). تعداد متغیر تکرار پشت سر هم<sup>۲</sup> (VNTR) یک نوع متداول پلی مورفیسم در ژن ها است که می تواند بر سرعت رونویسی و پایداری mRNA تأثیر بگذارد (۱۸).

با توجه به مطالب بیان شده و همچنین به علت کمبود اطلاعات ارتباط پلی مورفیسم VNTR ژن IL-4 و بیماری T2DM در جامعه ایرانی، این مطالعه با هدف تعیین ارتباط

<sup>2</sup> Variable number of tandem repeats

<sup>1</sup> International Diabetes Federation

به منظور طراحی پرایمر از نرم افزار oligo7 استفاده و توسط سایت [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) و قسمت blast primer کنترل کیفی گردید. پس از اطمینان از عملکرد درست پرایمر ها، برای ساخت، به شرکت سیناکلون سفارش داده شد. پس از تحویل ابتدا بر اساس توضیحات شرکت سازنده با اضافه کردن آب مقطر از حالت لیوفیلیزه بصورت محلول در آورده شد و تا زمان استفاده در دمای - $20^{\circ}\text{C}$  نگهداری گردید. توالی پرایمر در جدول یک ذکر شده است.

به منظور انجام PCR و تکثیر قطعه مورد نظر، یک میکرولیتر از پرایمر Forward، یک میکرولیتر از پرایمر Revers به همراه یک میکرولیتر از DNA استخراج شده و مسترمیکس (شرکت Ampliqon دانمارک) در میکروتیوب مخلوط و در دستگاه ترمال سایکلر Bio Rad قرار گرفت. تنظیم دستگاه ترمال سایکلر برای تکثیر ژن IL-4 مطابق جدول دو صورت گرفت.

پس از اتمام فرآیند PCR به منظور شناسایی قطعات و ژنوتیپ های ژن مورد نظر، الکتروفورز ژل آگارز دو درصد انجام شد.

داده ها در نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ وارد شد. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون T test، کای اسکور و رگرسیون لجستیک استفاده شد. سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

پلی مورفیسیم VNTR ژن IL-4 در افراد مبتلا به T2DM و گروه کنترل انجام شد.

## روش کار

این مطالعه به صورت مورد-شاهدی انجام شد. حجم نمونه براساس نسبت بدست آمده برای گروه مورد و شاهد در مطالعه مشابه (۱۹) و با در نظر گرفتن فاصله اطمینان ۹۵ درصد، توان ۸۰ درصد و  $d = 0.2$ ، ۴۹ نفر برای هر گروه محاسبه شد. لذا این مطالعه موردی-شاهدی بر روی ۵۰ نفر بیمار مبتلا به T2DM و ۵۰ نفر فرد سالم که هیچ ارتباط خویشاوندی با افراد مبتلا نداشته و همچنین فاقد هر نوع بیماری سیستمی دیگر بودند، که هر گروه شامل ۲۵ نفر مرد و ۲۵ نفر زن بود انجام شد.

پس از کسب مجوز از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گناباد از بین مراجعین به بیمارستان علامه بهلول گنابادی شهرستان گناباد در سال ۱۴۰۰-۱۴۰۱ بیماران دیابتی انتخاب گردیدند. بعد از اخذ رضایت نامه آگاهانه، از هر یک از شرکت کنندگان در مطالعه دو سی سی خون در لوله های حاوی EDTA جمع آوری و تا زمان استخراج DNA در فریزر  $20^{\circ}\text{C}$  نگهداری گردید. استخراج DNA و مشخص کردن ژنوتیپ IL-4 استخراج DNA با کمک روش salting out صورت گرفت (۲۰). به منظور ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده از الکتروفورز بروی آگارز یک درصد استفاده گردید.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی پلی مورفیسیم ها

نام ژن	3' → 5' توالی پرایمر
IL-4	Forward: AGGCTGAAAGGGGAAAGC CTGTTCACCTCAACTGCTCC Reverse:

جدول ۲. برنامه دستگاه PCR

Gene	Initially denaturation		Numbers Of cycles	Denaturation		Annealing		Extension		Final extension	
	Time	Temperature		Time	Temperature	Time	Temperature	Time	Temperature	Time	Temperature
VNTR of IL-4	5 min	95 °C	30	30 s	95 °C	30 s	56 °C	45 s	72 °C	5 min	72 °C

## یافته ها

ژنوتیپ RP1/RP2 و هشت درصد ژنوتیپ RP2/RP2 مشاهده شد. نتایج مقایسه ژنوتیپ‌های ژن IL-4 در دو گروه نشان دهنده عدم وجود ارتباط معنی دار بین پلی مورفیسیم ژن IL-4 و T2DM بود (جدول ۳).

میانگین سنی بیماران دیابت و افراد گروه شاهد به ترتیب  $65/43 \pm 6/79$  و  $58/53 \pm 8/64$  بود ( $p < 0.001$ ). یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که بیماران مبتلا به دیابت ۹۲ درصد ژنوتیپ RP1/RP1، چهار درصد ژنوتیپ RP1/RP2 و چهار درصد ژنوتیپ RP2/RP2 را داشتند. این در حالی بود که در افراد سالم، ۸۰ درصد ژنوتیپ RP1/RP1، ۱۲ درصد

جدول ۳: توزیع ژنوتیپ IL-4 در دو گروه بیمار و گروه شاهد

ژنوتیپ	بیمار فراوانی (درصد)	شاهد فراوانی (درصد)	OR (نسبت شانس)	معنی داری
RP1/RP1	۴۶ (۹۲٪)	۴۰ (۸۰٪)	رفرنس	رفرنس
RP1/RP2	۲ (۴٪)	۶ (۱۲٪)	۰/۲۹ (۰/۵۵-۱/۵۲)	۰/۱۲۳
RP2/RP2	۲ (۴٪)	۴ (۸٪)	۰/۴۳ (۰/۰۷-۲/۵)	۰/۳۳۳

نحوه دقیق عملکرد IL-4 در بیماری T2DM هنوز به طور کامل مشخص نیست. در بررسی‌های انجام شده، نشان داده شده است که در بیماران مبتلا به T2DM، یک التهاب مزمن وجود دارد. این التهاب می‌تواند باعث مقاومت به انسولین در بدن شود و سلول‌های بتای پانکراس را به آپوپتوز (مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده) دچار کند (۲۱). افزایش میزان پاسخ دهی آلل RP1 در فعالسازی رونویسی می‌تواند منجر به بیان بیش از حد IL-4 شود که این موضوع خود

## بحث

در این مطالعه به بررسی ارتباط پلی مورفیسیم VNTR ژن IL-4 در افراد مبتلا به T2DM پرداخته شد. نتایج حاصل از این مطالعه ارتباط معنی داری بین این پلی مورفیسیم و T2DM را نشان نداد.

اینترلوکین یک تنظیم کننده قوی التهاب است. افزایش بیان IL-4 می‌تواند به منظور تنظیم پاسخ التهابی در بدن استفاده شود و می‌تواند عوارض التهاب را کاهش دهد. اما

باسول و همکاران در سال ۲۰۱۳ پلی مورفیسم VNTR ژن IL-4 را در ابتلا به نوروپاتی محیطی دیابتی موثر گزارش کردند. کنترل وضعیت متابولیک و کنترل کامل چربی برای پیشگیری از نوروپاتی محیطی ضروری است (۲۸). همانطور که قبلاً بیان شد، IL-4 در کنترل وضعیت چربی بدن نقش دارد. لذا پلی مورفیسم‌های این ژن می‌تواند باعث افزایش احتمال ابتلا به این عارضه گردد. نلوفر و همکاران در مطالعه خود در زمینه تاثیر پلی مورفیسم ژن IL-4 در بیماران T2DM مبتلا به نارسایی مزمن کلیه، پلی مورفیسم این ژن را در ابتلا به نارسایی مزمن کلیه مرتبط دانستند (۲۹). اگرچه نارسایی مزمن کلیه در بیماران T2DM به عنوان یک اختلال غیرایمنی در نظر گرفته می‌شود، اما شواهد نشان دهنده نقش مهم سیستم ایمنی در توسعه و پیشرفت این بیماری است (۳۰).

### نتیجه گیری

این مطالعه نشان دهنده عدم ارتباط پلی مورفیسم VNTR ژن IL-4 با ابتلا به دیابت نوع دو در جامعه مورد مطالعه است. درک کامل و دقیق تر از نقش پلی مورفیسم ژن IL-4 در T2DM نیازمند انجام تحقیقات بیشتر و دقیق تر است. مطالعات مختلف ممکن است به دلیل تفاوت در جمعیت‌های مورد مطالعه، روش‌های استفاده شده و تفسیر همبستگی‌ها، نتایج متناقضی را نشان دهند. این نتایج معمولاً نشان می‌دهند که برای تعیین نقش دقیق ژنتیک در بیماری‌ها، لازم است عوامل‌های دیگری مانند محیط و عوامل دیگر هم در نظر گرفته شوند.

### سپاسگزاری

پژوهش حاضر حاصل پایان نامه پزشکی عمومی با کد اخلاق IR.GMU.REC.1400.181 در دانشگاه علوم پزشکی گناباد است. ن مراتب قدردانی خود را از معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی گناباد را به منظور حمایت های صورت گرفته اعلام می‌دارند.

باعث بهبود تولید آنتاگونیست رسپتور اینترلوکین یک شده و التهاب را کاهش می‌دهد (۲۲).

تظاهرات بالینی دیابت نوع دو تحت تاثیر پلی مورفیسم ژن‌های مختلف قرار دارد. اکثر مطالعات در مورد IL-4 و T2DM به بررسی تاثیر پلی مورفیسم‌های این ژن بر عوارض ناشی از دیابت پرداخته بودند.

در مطالعات مختلف، نتایج متناقضی درباره نقش پلی مورفیسم ژن IL-4 در بیماری‌ها گزارش شده است. مطالعه دانشمندی و همکاران (۲۳) و مایسون (۲۴) نشان دادند که پلی مورفیسم ژن IL-4 در گروه‌های سالم و گروه‌های مبتلا به T2DM تفاوت قابل توجهی نداشت. اما، تریپاتی و همکاران در مطالعه خود در هند نشان دادند که پلی مورفیسم VNTR IL-4 ارتباط معناداری با ابتلا به دیابت نوع دو دارد (۲۲). همچنین، مطالعه هو و همکاران نشان داد که پلی مورفیسم ژن IL-4 منجر به افزایش احتمال ابتلا به دیابت نوع دو و عوارض آن می‌شود (۲۵). همچنین، علی و همکاران نیز در مطالعه‌ای که بر روی بیماران T2DM انجام دادند نشان دادند که پلی مورفیسم ژن IL-4 خطر ابتلا به دیابت را تا چهار برابر افزایش می‌دهد (۲۶). در کل، درک کامل و دقیق تر از نقش پلی مورفیسم ژن IL-4 در بیماری‌ها نیازمند انجام تحقیقات بیشتر و دقیق تر است. مطالعات مختلف ممکن است به دلیل تفاوت در جمعیت‌ها و نژاد‌های مورد مطالعه، روش‌های استفاده شده و تفسیر همبستگی‌ها، نتایج متناقضی را نشان دهند. این نتایج معمولاً نشان می‌دهند که برای تعیین نقش دقیق ژنتیکی در بیماری‌ها، لازم است عوامل‌های دیگری مانند محیط و عوامل دیگر هم در نظر گرفته شوند.

در مطالعه کاظمی نتایج نشان داده شد که پلی مورفیسم‌های موجود در ژن IL-4 بر نوروپاتی در بیماران مبتلا به T2DM و افراد غیر دیابتی موثر بوده و باعث افزایش احتمال ابتلا می‌شود (۲۷). همچنین در مطالعه بدر و همکاران پلی مورفیسم ژن IL-4 با اختلال چربی خون و فشار خون در بیماران دیابتی مرتبط بود (۲۱). اینترلوکین چهار با افزایش لیپولیز به عنوان یک عامل ضد لیپوژنیک عمل کرده و تمایز سلول‌های چربی را مهار می‌کند (۲۵).

## References

1. Tomic D, Shaw JE, Magliano DJ. The burden and risks of emerging complications of diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*. 2022;18(9):525-539.
2. Carracher AM, Marathe PH, Close KL. International diabetes federation 2017. Wiley Online Library; 2018 May;10(5):353-356
3. Khan RMM, Chua ZJY, Tan JC, Yang Y, Liao Z, Zhao Y. From pre-diabetes to diabetes: diagnosis, treatments and translational research. *Medicina*. 2019;55(9):546.
4. Esteghamati A, Etamad K, Koohpayehzadeh J, Abbasi M, Meysamie A, Noshad S, et al. Trends in the prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in association with obesity in Iran: 2005–2011. *Diabetes research and clinical practice*. 2014;103(2):319-327.
5. Buraczynska M, Buraczynska K, Zukowski P, Ksiazek A. Interleukin-4 Gene Intron 3 VNTR Polymorphism in Type 2 Diabetes Patients with Peripheral Neuropathy. *Immunol Invest*. 2018 Feb;47(2):146-153.
6. Mirzaei M, Rahmanian M, Mirzaei M, Nadjarzadeh A, Dehghani Tafti AA. Epidemiology of diabetes mellitus, pre-diabetes, undiagnosed and uncontrolled diabetes in Central Iran: results from Yazd health study. *BMC public health*. 2020;20:1-9.
7. Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. *The lancet*. 2017;389(10085):2239-2251.
8. Pilon NJ, Loos RJ, Marshall SM, Zierath JR. Metabolic consequences of obesity and type 2 diabetes: Balancing genes and environment for personalized care. *Cell*. 2021;184(6):1530-1544.
9. Zhang D, Tang Z, Huang H, Zhou G, Cui C, Weng Y, et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation. *Nature*. 2019;574(7779):575-580.
10. De Luca C, Olefsky JM. Inflammation and insulin resistance. *FEBS letters*. 2008;582(1):97-105.
11. Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*. 2019;11(3):45.
12. Khdair SI, Al-Naimat OS, Jarrar W, Al-Qerem W, Khudeir FA. The Influence of TNF- $\alpha$ , IL-6, TGF- $\beta$ 1, IFN- $\gamma$ , IL-10 Polymorphisms on Predisposition to Diabetes Mellitus among Jordanian Patients. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*. 2023;23(5):681-691.
13. Creusot RJ, Chang P, Healey DG, Tcherepanova IY, Nicolette CA, Fathman CG. A Short Pulse of IL-4 Delivered by DCs Electroporated With Modified mRNA Can Both Prevent and Treat Autoimmune Diabetes in NOD Mice. *Molecular Therapy*. 2010;18(12):2112-2120.
14. Michurina S, Stafeev I, Beloglazova I, Zubkova E, Mamontova E, Kopylov A, et al. Regulation of glucose transport in adipocytes by interleukin-4. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. 2022;42(3):127-136.
15. Kannourakis G, Abbas A. The role of cytokines in the pathogenesis of Langerhans cell histiocytosis. *The British journal of cancer Supplement*. 1994 Sep;23:S37-40.
16. Salimi S, Mohammadoo-Khorasani M, Yaghmaei M, Mokhtari M, Moossavi M. Possible association of IL-4 VNTR polymorphism with susceptibility to preeclampsia. *BioMed Research International*. 2014;1(2):1-10.
17. Phu TA, Ng M, Vu NK, Bouchareychas L, Raffai RL. IL-4 polarized human macrophage exosomes control cardiometabolic inflammation and diabetes in obesity. *Molecular Therapy*. 2022; 30(6):2274-2297.
18. Ibrahim M, Moossavi M, Mojarad EN, Musavi M, Mohammadoo-Khorasani M, Shahsavari Z. Positive correlation between interleukin-1 receptor antagonist gene 86bp VNTR polymorphism and colorectal cancer susceptibility: a case-control study. *Immunologic research*. 2019;67:151-156.
19. Ali R, Saber L, Al-Harbi A. A novel association between IL1-Ra (receptor antagonist) gene polymorphism and T1DM in Al-Madina Al-Mounawra. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2015;19(19):3701-3708.
20. Mohammadoo-Khorasani M, Salimi S, Tabatabai E, Sandoughi M, Zakeri Z. Association of interleukin-1 receptor antagonist gene 86bp VNTR polymorphism with systemic lupus

- erythematosus in south east of Iran. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2013 Oct 15;16(12)..
21. Badr E, Assar M, Elshayeb EI, Fath El-Bab S, El-Kousy S. A preliminary study of the relation between IL-4 and hypertension in type II diabetes mellitus. *Molecular biology reports*. 2018;45(6):1967-1972.
22. Tripathi A, Shukla S, Tripathi J, Saket R, Kol S, Mishra P, et al. Association of genetic polymorphism of inflammatory genes (IL-1 $\beta$  and IL-4) with diabetes type 2. *Enliven: J Genet Mol Cell Biol*. 2015;1(1):004.
23. Daneshmandi S, Pourfathollah AA, Kazemi Arababadi M, Hasan Shahi GH, Rezaeian M, Asyabanha Rezaee M. Evaluation of relation between IL-4 and IFN- $\gamma$  polymorphisms and type 2 diabetes [Research(Original)]. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2008;18(66):35-41
24. Hassan MM. The significance of interleukin 4 (IL-4)(590-C/T) gene polymorphism in Iraqi patients with type 2 diabetes mellitus: A case-control study. *Res J Pharm Technol*. 2019;12(11):5133-5137.
25. Ho K-T, Shiao M-Y, Chang Y-H, Chen C-M, Yang S-C, Huang C-N. Association of interleukin-4 promoter polymorphisms in Taiwanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2010;59(12):1717-1722.
26. Ali R, El-Said A, El-Baz H, Settin A. Ethnic variation of IL-4 intron 3 VNTR gene polymorphism; its association with type 2 diabetes mellitus and its complication (neuropathy) in Egyptian subjects. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2018;177(7):635-640.
27. Kazemi AM. Interleukin-4 gene polymorphisms in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Iranian Journal of Kidney Diseases*. 2010;4(4):302-306.
28. Basol N, Inanir A, Yigit S, Karakus N, Kaya SU. High Association of IL-4 Gene Intron 3 VNTR Polymorphism with Diabetic Peripheral Neuropathy. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2013;51(2):437-441.
29. Neelofar K, Ahmad J, Ahmad A, Alam K. Study of IL4-590C/T and IL6-174G/C Gene Polymorphisms in Type 2 Diabetic Patients With Chronic Kidney Disease in North Indian Population. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2017;118(7):1803-1809.
30. Arababadi MK, Nosratabadi R, Hassanshahi G, Yaghini N, Pooladvand V, Shamsizadeh A, et al. Nephropathic complication of type-2 diabetes is following pattern of autoimmune diseases? *Diabetes research and clinical practice*. 2010;87(1):33-37.



## Association between IL-4 Gene VNTR Polymorphism and Type 2 Diabetes

Ramin Nasrollahzadeh<sup>1</sup>, Mohammad Amin Momeni Moghadam<sup>2</sup>, Davood Salarbashi<sup>3</sup>, Milad Khorasani<sup>4</sup>

1-Medical student, School of Medicine, Gorgan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

2-Department of Biochemistry, Nutrition, and Food Industries, School of Medicine, Gorgan University of Medical Sciences.

3-Department of Biochemistry, Nutrition, and Food Industries, School of Medicine, Gorgan University of Medical Sciences.

4- Department of Biochemistry and Nutrition, Neyshabur University of Medical Sciences, Neyshabur, Iran

### Original Article

#### Abstract

**Background and purpose:** Diabetes is a prevalent condition affecting a significant portion of the population worldwide, with inflammation playing a crucial role in its development and progression. Interleukin-4 (IL-4), as an anti-inflammatory cytokine, has the potential to reduce inflammation. The aim of this study was to determine the association between IL-4 gene VNTR polymorphism in individuals with type 2 diabetes.

**Methods:** This case-control study included 50 individuals with diabetes who presented to Alameh Behlol Hospital in Gonabad, and 50 healthy individuals in the control group. Participants were randomly selected and, upon meeting inclusion criteria, entered the study after providing informed consent. Two milliliters of blood were collected from each participant using EDTA-containing tubes. DNA extraction was performed using the salting-out method. The targeted DNA segment was amplified using appropriate primers, and electrophoresis was employed for identification.

**Results:** The mean age of the study participants was  $30.7 \pm 9.8$  years, with 50% being male. The results indicated no significant association between IL-4 gene VNTR polymorphism and the occurrence of type 2 diabetes ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** In the studied population, there was no significant association between IL-4 gene VNTR polymorphism and type 2 diabetes.

**Keywords:** Polymorphism, Interleukin-4, Type 2 Diabetes

**Corresponding author:** Milad Khorasani, Assistant Professor in Clinical Biochemistry at Neyshabur University of Medical Sciences, Neyshabur, Iran. E-mail address: [miladkh24@yahoo.com](mailto:miladkh24@yahoo.com)

Received: 13.11.2023

Revised: 28.11.2023

Accepted: 13.12.2023