

## Association of rs763780 variation in interleukin 17F gene with the risk of knee osteoarthritis

Hassani-Bafrani H<sup>1</sup>, Ahmadi M<sup>2</sup>, Khosravi Gh<sup>1</sup>, Khosravi E<sup>2</sup>, Karimian M<sup>1\*</sup>

1- Anatomical Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received: 2018/09/12 | Accepted: 2018/12/23

### Abstract:

**Background:** The injuries in osteoarthritis are mediated by various cytokines, growth factors, and inflammatory factors and the importance of the interleukin 17 family in this disease is increasingly evident. The aim of this study was to investigate the association between interleukin 17F rs763780 gene variation and the risk of knee osteoarthritis.

**Materials and Methods:** In this case-control study, 200 participants including 100 healthy individuals and 100 patients with knee osteoarthritis referred to Shahid Beheshti hospital were enrolled. The blood samples of the participants were collected and genotypes of the samples in the polymorphic region were detected by PCR-RFLP.

**Results:** Results showed that there was a significant association between the genotype AG and an increased risk of knee osteoarthritis (OR=3.49, 95%CI=1.48-8.25,  $P<0.01$ ). But, no significant association was found between the genotype GG and an increased risk of knee osteoarthritis. In addition, there was a significant association between the allele G and the risk of knee osteoarthritis (OR=2.97, 95% CI=1.39-6.30,  $P<0.01$ ).

**Conclusion:** Findings of the present study show that rs763780 can be a risk factor for knee osteoarthritis. Therefore, this polymorphism can be considered as a possible biomarker for the screening of susceptible individuals to knee osteoarthritis.

**Keywords:** Knee osteoarthritis, Interleukin 17, Genetic polymorphism, PCR-RFLP

### \* Corresponding Author.

**Email:** mdkarimian@gmail.com

**Tel:** 0098 315 562 1158

**Fax:** 0098 315 562 1158

**Conflict of Interests:** No

*Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2019; Vol. 23, No 1, Pages 45-51*

Please cite this article as: Hassani-Bafrani H, Ahmadi M, Khosravi Gh, Khosravi E, Karimian M. Association of rs763780 variation in interleukin 17F gene with the risk of knee osteoarthritis. *Feyz* 2019; 23(1): 45-51.

## ارتباط واریته rs763780 ژن اینترلوکین 17F با ریسک ابتلا به استئوآرتروز زانو

حسن حسنی بافرانی<sup>۱</sup>، منوره احمدی<sup>۲</sup>، غلامرضا خسروی<sup>۳</sup>، عرفان خسروی<sup>۴</sup>، محمد کریمیان<sup>۵\*</sup>

### خلاصه:

**سابقه و هدف:** آسیب‌های ناشی از استئوآرتروز به وسیله انواع سیتوکین‌ها، فاکتورهای رشد و واسطه‌های التهابی میانجی‌گری شده و اهمیت خانواده اینترلوکین ۱۷ در این بیماری به‌طور فزاینده‌ای آشکار است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط واریته rs763780 ژن اینترلوکین 17F با ریسک ابتلا به استئوآرتروز زانو می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش مورد-شاهدی ۲۰۰ شرکت‌کننده شامل ۱۰۰ فرد سالم و ۱۰۰ فرد مبتلا به استئوآرتروز زانو مراجعه-کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان وارد مطالعه شدند. بعد از جمع‌آوری نمونه‌های خون از افراد شرکت‌کننده در مطالعه، ژنوتایپ نمونه‌ها در محل پلی‌مورفیسم فوق به وسیله روش PCR-RFLP تعیین شد.

**نتایج:** آنالیز داده‌ها نشان داد که ارتباط معناداری بین ژنوتایپ AG با افزایش ریسک ابتلا به استئوآرتروز زانو وجود داشته ( $P < 0.01$ )،  $OR = 3.49$  (۹۵ درصد،  $CI = 1.48 - 8.25$ ) و ژنوتایپ GG با ریسک ابتلا به استئوآرتروز زانو ارتباط ندارد. همچنین، آنالیز آلی نشان داد که ارتباط معناداری بین آلل G و استئوآرتروز زانو وجود دارد ( $P < 0.01$ )،  $OR = 2.97$  (۹۵ درصد،  $CI = 1.39 - 6.30$ ).

**نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌های فوق، rs763780 می‌تواند یک فاکتور خطر برای استئوآرتروز زانو محسوب شود. لذا، این پلی‌مورفیسم می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر بالقوه برای غربالگری افراد مستعد به استئوآرتروز زانو مورد توجه قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** استئوآرتروز زانو، اینترلوکین ۱۷، پلی‌مورفیسم ژنتیکی، PCR-RFLP

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۹۸، صفحات ۵۱-۴۵

### مقدمه

ژن‌های کلیدی زیادی هستند که از طریق مکانیسم‌های مختلف با بیماری استئوآرتروز در ارتباط هستند. یکی از مهم‌ترین گروه‌های ژنی مرتبط با بیماری استئوآرتروز، خانواده ژنی سایتوکین می-باشد. شواهد قانع‌کننده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد سیتوکین-های التهابی مختلف از جمله  $TNF-\alpha$ ،  $IL1\beta$ ،  $IL6$  و  $IL17$  به-عنوان واسطه‌های ضد التهابی در پیشرفت این بیماری دخیل هستند [۱۱]. خانواده اینترلوکین ۱۷، از شش عضو A، B، C، D، E و F تشکیل شده است. اعضای این خانواده نقش مهمی در بیماری‌های التهابی بازی می‌کنند [۱۲] و غلظت این اینترلوکین در مایع سینوویال می‌تواند یک مارکر شیمیایی خوب در انعکاس شدت و پیشرفت بیماری استئوآرتروز باشد [۱۳]. اینترلوکین ۱۷ به‌طور عمده توسط یک زیرمجموعه خاص از سلول‌های T-helper انسانی ( $Th17$ ) بیان می‌شود. علاوه بر این، شواهد اخیر نشان می‌دهد که  $IL17$  می‌تواند توسط چندین سلول ایمنی بدن و سلول‌های T فعال یا التهابی تولید شود [۱۴]. این اینترلوکین باعث تولید ماتریکس متالوپروتینازها (MMPs) شده و با تقویت استئوکلاست و مهار فعالیت‌های استئوبلاست سبب ایجاد التهاب می‌شود [۱۵-۱۷]. سایتوکین‌های  $IL1\beta$ ،  $IL6$ ،  $IL17$ ،  $TNF-\alpha$ ، متالو-ماتریکس پروتئینازها، متالوپروتئینازهای با موتیف ترومبوسپوندين (ADAMTS) و نیتریک اکسید سنتاز (iNOS) تولید شده در مفاصل منجر به تخریب غضروف و ابتلا به استئوآرتروز می‌شوند [۱۱]. ژن کدکننده اینترلوکین 17F روی کروموزوم ۶ (p12.2)

استئوآرتروز (OA) یک بیماری مزمن مفصلی دژنراتیو است که شیوع آن در افراد سالخورده بالا می‌باشد [۱]. این بیماری در سراسر جهان شایع بوده و حدود ۱۰ درصد مردان و ۱۸ درصد زنان بالای ۶۰ سال را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۳، ۲]. استئوآرتروز به‌طور بالقوه با درد و اختلالات مفاصل همراه است و به از دست دادن تدریجی غضروف، ایجاد استئوفیت، اسکروز استخوان ساب-کندریال، التهاب سینوویوم، تکثیر سینوویوسیت‌ها، رسوب کریستال کلسیم [۴] و کاهش عملکرد مفصلی منجر می‌شود [۶، ۵]. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که عوامل مختلفی از جمله سن، جنسیت، فشار خون، افزایش قند خون، چاقی، سابقه آسیب زانو، اختلال ریختگی و اروس/والگوس، حجم کار فیزیکی بالا، ترومای مکرر، نفرس و اختلالات هورمونی بر این بیماری تاثیرگذار هستند [۷-۱۰].

<sup>۱</sup> دانشیار، مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران  
<sup>۲</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

<sup>۳</sup> استادیار، مرکز تحقیقات علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران  
<sup>۴</sup> دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران  
<sup>۵</sup> استادیار، مرکز تحقیقات علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

### \* نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات علوم تشریح

دوره نویسی: ۰۳۱ ۵۵۶۲۱۱۵۸

تلفن: ۰۳۱ ۵۵۶۲۱۱۵۸

پست الکترونیک: mdkarimian@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۰/۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۲۱

برای تعیین ژنوتایپ پلی مورفیسم rs763780 استفاده شد. بدین منظور، در ابتدا توالی کامل ژن IL17F از بانک ژنی NCBI به دست آمد. سپس، پرایمرهای اختصاصی توسط نرم افزار Oligo7 طراحی گردید. در مرحله بعد، قطعه حاوی SNP فوق الذکر به وسیله پرایمرهای اختصاصی تکثیر شد. واکنش PCR به وسیله ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) در حجم کلی ۲۵ میکرو لیتر شامل ۰/۲۵ میکرومول از پرایمرهای جلو و عقب، ۱ میکرومول  $MgCl_2$ ، ۱۰۰ میکرومول مخلوط dNTP، ۱ واحد تک پلیمرز و ۵۰ نانوگرم از DNA الگو انجام شد. همه واکنش دهنده های PCR از شرکت فرمتاز خریداری شد (Fermentas, Leon-Rot, Germany). توالی پرایمرها و شرایط PCR در جدول شماره ۲ ارائه شده است. حدود ۱۰ میکرو لیتر از محصولات PCR حاوی پلی مورفیسم rs763780 تحت تیمار با ۵ واحد از آنزیم محدود کننده *HinI* II قرار گرفت (جدول شماره ۳). آنزیم محدود کننده نیز از شرکت فرمتاز خریداری شد. ژنوتایپ های پلی مورفیسم مذکور به وسیله الکتروفورز با ژل آگاروز ۱ درصد تشخیص داده شد.

#### روش تجزیه و تحلیل

آزمون مجذور کای برای سنجش تفاوت فراوانی پلی-مورفیسم rs763780 بین جمعیت شاهد و مورد استفاده شد. برای ارزیابی تعادل هاردی وینبرگ (HWE) و همچنین آنالیز داده های دموگرافیک کیفی هم از همین تست استفاده شد. نسبت شانس (OR) و ۹۵ درصد فاصله اطمینان (CI) برای تخمین ارتباط پلی-مورفیسم rs763780 با خطر ابتلا به استئوآرتروز زانو، با استفاده از رگرسیون لجستیک محاسبه شد. جهت همسان سازی سنی از روش آنالیز Conditional Logistic Regression استفاده شد. همه آنالیزهای آماری با استفاده از بسته نرم افزاری SPSS ویرایش ۱۹ انجام شد. ارزش  $P$  کمتر از ۰/۰۵ برای نشان دادن تفاوت های معنی دار در نظر گرفته شد.

#### نتایج

##### PCR-RFLP و تعیین توالی DNA

ژنوم انسانی استخراج شده بعد از الکتروفورز باند بزرگی را با حرکت پایین روی ژل آگارز نشان داد. با استفاده از ژنوم استخراجی به عنوان الگو، قطعه IL17F حاوی پلی مورفیسم  $482A>G$  با سایز 480-bp به وسیله پرایمرها تکثیر شد. الکترو-فورز محصولات PCR-RFLP برای پلی مورفیسم  $482A>G$  نشان داد که ژنوتایپ GG دو باند (428-, 52-bp)، ژنوتایپ

قرار دارد و شامل ۴ آگزون می باشد. تنوعات ژنتیکی در این ژن ها می تواند خصوصیات مولکولی این ژن ها را تغییر داده و ریسک ابتلا به برخی بیماری ها را تغییر دهد. اینترلوکین 17F حاوی پلی-مورفیسم های تک نوکلئوتیدی (SNPs) متعددی است که واریته rs763780 ( $c.482A>G$ )، پلی مورفیسم شایع این ژن محسوب می شود. ارتباط پلی مورفیسم فوق با استئوآرتروز زانو به ندرت مطالعه شده است و همچنین در جمعیت ایرانی اصلا چنین مطالعه ای انجام نشده است. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم فوق با ریسک ابتلا به استئوآرتروز زانو در یک جمعیت ایرانی می باشد.

#### مواد و روش ها

##### جمعیت مورد مطالعه

شرکت کنندگان در این مطالعه مورد-شاهدی شامل ۱۰۰ بیمار مبتلا به استئوآرتروز زانو و ۱۰۰ فرد سالم مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی کاشان طی سال های ۱۳۹۵ تا ۱۳۹۶ می-باشند. محدوده سنی افراد سالم ۵۶-۷۸ با میانگین  $66/94 \pm 5/29$  سال و محدوده سنی افراد بیمار ۶۰-۸۸ با میانگین  $68/13 \pm 6/15$  سال بود. ابتلا به بیماری استئوآرتروز زانو به وسیله آزمایشات کلینیکال و رادیوگرافی و توسط پزشک متخصص تایید شد. بیماران با هر نوع التهاب عمومی یا بیماری خودایمنی و یا بیماری مزمن و بدخیم از مطالعه خارج شدند. گروه سالم از مرکز آزمایشات فیزیکی همان بیمارستان در دوره زمانی یکسان جمع-آوری شدند. افراد گروه شاهد نیز در معرض آزمایش های اختصاصی انجام شده برای گروه مورد قرار گرفتند. براساس تاریخچه پزشکی و بررسی کامل انجام شده توسط پزشک متخصص، گروه شاهد فاقد نشانه های استئوآرتروز زانو، سایر آرتروزها، یا بیماری های مفصلی (درد، تورم، حساسیت یا محدودیت حرکت) در هر ناحیه بودند. همچنین، این افراد دارای رادیوگرافی نرمال زانو ( $K/L \text{ grading} < 2$ ) بودند. مشخصات دموگرافیک افراد شرکت کننده در جدول شماره ۱ ارائه شده است. پس از اخذ رضایت نامه کتبی از شرکت کنندگان ۲ میلی لیتر خون از آنها در لوله های حاوی EDTA جمع آوری و در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. پروژه حاضر به وسیله کمیته اخلاق در پژوهش های پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تایید شد (IR.KAUMS.MEDNT.REC.1396.61).

##### تعیین ژنوتایپ SNPها

DNA ژنومی از نمونه های خون به وسیله کیت استخراج DNA جدا شد (Bioneer, Korea). روش PCR-RFLP

آلل G با استئوآرتريت زانو ارتباط دارد ( $P < 0.01$ ),  $OR = 2/97$ ,  $CI = 1/6-39/30$ .

جدول شماره ۱- مقایسه ویژگی‌های بالینی بین گروه کنترل و بیمار

متغیرها	بیمار (n=100)	سالم (n=100)	P
جنسیت			0/070
مرد	۴۸ (۴۸)	۴۴ (۴۴)	
زن	۵۲ (۵۲)	۵۶ (۵۶)	
سیگاری			0/064
بله	۳۶ (۳۶)	۲۴ (۲۴)	
خیر	۶۴ (۶۴)	۷۶ (۷۶)	
سن (سال)	۶۸/۱۳ ± ۱۵	۶۶/۹۴ ± ۲۹	0/144

مقادیر داده‌های کمی به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

**بحث**

استئوآرتريت يك بیماری مفصلی است که به دلیل تخریب غضروف به وجود می‌آید و ترمیم غضروف قادر به جبران آن نیست [۱۸]. انحطاط غضروف ممکن است توسط انتشار کاتابولیک واسطه‌های پیش‌التهابی از غشاء سینوویال و با تولید بیش از حد آنزیم‌های پروتئولیتیک که علت شکست غضروف هستند، افزایش یابد [۱۹].

AG چهار باند (428-, 298-, 130-, 52-bp) و ژنوتایپ AA سه باند (298-, 130-, 52-bp) روی ژل آگارز دارند (شکل شماره ۱). روش PCR-RFLP به وسیله تعیین توالی مستقیم DNA نمونه‌ها با ژنوتایپ‌های متفاوت تایید گردید. قسمتی از اطلاعات مربوط به تعیین توالی DNA در موقعیت rs763780 در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

**توزیع فراوانی پلی مورفیسم rs763780**

آنالیز داده‌ها نشان داد که پراکندگی ژنوتایپ‌های پلی- مورفیسم rs763780 در گروه‌های سالم ( $P = 0.114$ ,  $\chi^2 = 2/49$ ) و بیمار ( $P = 0.879$ ,  $\chi^2 = 0/02$ ) در تعادل هاردی واینبرگ می‌باشد. فراوانی آلل‌ها و ژنوتایپ‌ها برای پلی مورفیسم فوق در جدول شماره ۴ نشان داده شده است. فراوانی ژنوتایپ‌های AA, AG و GG در گروه بیمار به ترتیب ۷۵، ۲۳ و ۲ درصد بود. این درحالی است که این مقادیر در گروه سالم به ترتیب ۹۱، ۸ و ۱ درصد بود. آنالیز آماری نشان داد ژنوتایپ AG با استئوآرتريت ارتباط دارد ( $P < 0.01$ ,  $OR = 3/49$ ,  $CI = 1/8-48/25$ ). حاملین آلل G (AG+GG) هم در معرض ریسک ابتلا به استئوآرتريت بودند ( $P < 0.01$ ,  $OR = 3/37$ ,  $CI = 1/7-48/66$ ). اما ژنوتایپ GG با استئوآرتريت ارتباط نداشت ( $P = 0.473$ ,  $OR = 22/29$ ,  $CI = 0/27$ ,  $OR = 2/43$ ). آنالیز آللی هم نشان داد که

جدول شماره ۲- توالی پرایمرها و شرایط PCR

ژن	پلی مورفیسم	نام پرایمر	توالی پرایمر	شرایط PCR	طول قطعه (bp)
IL17F	c.482A>G (rs763780)	Ff	5'- GTGTAGGAAGCTGGGCTGCATC	۳۵ سیکل شامل ۹۴°C (۳۰ ثانیه)، ۵۷°C (۳۰ ثانیه) و ۷۳°C (۴۰ ثانیه)	۴۸۰
		Rf	5'- TGTGAGTACAAGCTGGGAATGC		

جدول شماره ۳- شرایط هضم آنزیمی و الگوی ژنوتایپ

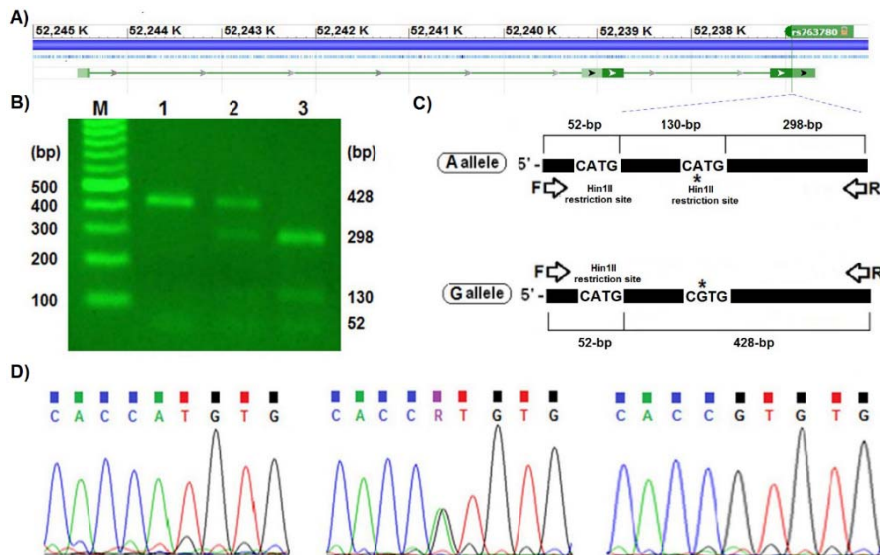
ژن	پلی مورفیسم	آنزیم محدودکننده	ژنوتایپ GG	ژنوتایپ AA	ژنوتایپ AG
IL17F	c.482A>G (rs763780)	HinIII	۴۲۸ و ۵۲	۲۹۸ و ۱۳۰، ۵۲	۴۲۸ و ۲۹۸، ۱۳۰، ۵۲

نمونه‌های با ژنوتایپ‌های AA, AG به ترتیب حاوی ۳، ۲ و ۴ باند روی ژل آگارز هستند.

جدول شماره ۴- فراوانی ژنوتیپ و آلل پلی مورفیسم rs763780

ژنوتیپ/آلل	تعداد (درصد)		OR (%95 CI)	P
	بیمار	کنترل		
AA	۷۵ (۷۵/۰)	۹۱ (۹۱/۰)	-	-
AG	۲۳ (۲۳/۰)	۸ (۸/۰)	۳/۴۹ (۱/۸-۴۸/۲۵)	> 0.01*
GG	۲ (۲/۰)	۱ (۱/۰)	۲/۴۳ (۰/۲۷-۲۲/۲۹)	0.473
AG+GG	۲۵ (۲۵/۰)	۹ (۹/۰)	۳/۳۷ (۱/۷-۴۸/۶۶)	> 0.01*
A	۱۷۳ (۸۶/۵)	۱۹۰ (۹۵/۰)	-	-
G	۲۷ (۱۳/۵)	۱۰ (۵/۰)	۲/۹۷ (۱/۶-۳۹/۳۰)	> 0.01*

OR: odds ratio. CI: confidence interval. اختلافات معنی‌دار بین گروه‌های سالم و بیمار با \* نشان داده شده است.



شکل شماره ۱- نقشه ژنی و تعیین ژنوتایپ  $482A>G$  (A). نقشه ژن اینترلوکین 17F که پلی مورفیسم  $482A>G$  در پایین دست ژن قرار گرفته است. (B) نتایج PCR-RFLP (M: مارکر 100-bp، ۱: ژنوتایپ GG، ۲: ژنوتایپ AG، ۳: ژنوتایپ AA). (C) الگوی شماتیک PCR-RFLP که وجود نوکلئوتید A باعث ایجاد جایگاه برش برای آنزیم *HinIII* می شود. (D) نتایج تعیین توالی DNA در جایگاه پلی مورفیک که نمونه‌ها از سمت چپ به راست نشان‌دهنده ژنوتایپ‌های AA، AG و GG می‌شود.

خاصیت ماکروفاژی دارند، فاگوسیت می‌شوند و در نتیجه انواعی از سیتوکین‌ها را ترشح می‌کنند که موجب التهاب سینوویوم می‌شود [۲۵]. از طرف دیگر، سلول‌های التهابی مانند مونوسیت‌ها و ماکروفاژها نیز به سینوویوم وارد شده و در تولید سیتوکین‌ها و سایر واسطه‌های التهابی نقش ایفا می‌کنند [۲۶]. این سیتوکین‌ها روی گیرنده‌های موجود روی کندروسیت‌ها قرار گرفته و باعث تحریک کندروسیت و اصطلاحاً ایجاد فنوتیپ استئوآرتریتی کندروسیت می‌شوند که از سطح بالایی از فعالیت تکثیر و تولید واسطه‌های التهابی برخوردار هستند [۲۷]. سیتوکین‌های متعددی از جمله IL17 به‌عنوان فاکتور ضد التهابی در توسعه این بیماری دخیل هستند [۲۸]. این اینترلوکین به‌همراه برخی فاکتورهای التهابی دیگر منجر به تخریب غضروف مفاصل و ایجاد استئوآرتریت می‌شود [۲۹]. همان‌طور که گفته شد، این اینترلوکین می‌تواند با تولید ماتریکس متالوپروتئینازها استئوکلاست را تقویت کرده و فعالیت‌های استئوبلاست را مهار می‌کند که این امر منجر به ایجاد التهاب می‌شود. اینترلوکین ۱۷ اغلب به‌عنوان مولکول پیام‌رسان بین سلولی عمل می‌کند و بعد از اتصال به گیرنده سلول هدف، فعالیت‌های بیولوژیکی را به جریان می‌اندازد. این خانواده شامل ۶ سیتوکین می‌باشد که از نظر ساختاری به هم مرتبط هستند. سیتوکین IL17F جز شناخته‌شده‌ترین اعضای این خانواده می‌باشد. شواهد نشان می‌دهد IL17 می‌تواند در تجمع نوتروفیل‌ها، فعال‌سازی نوترو-فیل‌ها در ریه، فضای مفصلی، دستگاه عصبی مرکزی و بافت

استئوآرتریت نتیجه مداخله فاکتورهای متعدد از جمله ژنتیک، التهاب موضعی، نیروهای مکانیکی و فرایندهای بیوشیمیایی و سلولی می‌باشد [۲۰]. مطالعات قبلی نشان می‌دهند که تنوعات ژنتیکی در خانواده ژنی اینترلوکین‌ها می‌تواند ریسک ابتلا به این بیماری را تغییر دهد [۲۲، ۲۱]. در این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم rs763780 مربوط به ژن IL17F با ریسک ابتلا به استئوآرتریت زانو در جمعیت کاشان بررسی گردید. نتایج مطالعه ما نشان داد که ژنوتایپ rs763780-AG و آلل rs763780-G با افزایش ریسک ابتلا به استئوآرتریت زانو ارتباط دارد. Han و همکاران در سال ۲۰۱۴ به بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs763780 با استئوآرتریت زانو در جمعیت کره پرداختند. مطالعه آن‌ها نشان داد که این پلی-مورفیسم با بیماری استئوآرتریت زانو ارتباط معنی‌داری ندارد [۲۳]. مطالعه دیگری در جمعیت کرواسی نشان داد که پلی مورفیسم rs763780 با استئوآرتریت لگن ارتباط داشته، اما با استئوآرتریت زانو ارتباط ندارد. نتایج متناقض حاصل از مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از فاکتورهای محیطی، عوامل نژادی و جغرافیایی باشد. کشف ردپای التهاب در بروز استئوآرتریت موضوع جدیدی نیست و سال‌هاست که مشخص شده درجاتی از التهاب سینوویوم در مفصل وجود دارد [۲۴]. یک تئوری در شروع التهاب، بدین ترتیب است که اگر به هر دلیلی تکه‌های بسیار کوچکی از غضروف کنده شده و به‌عنوان آنتی‌ژن در فضای مفصلی شناور شود، از آنجا که لایه‌های سطحی غضروف عروق ندارند، آنتی‌ژن‌های سینوویوم که

سريع و مقرون به صرفه در آناليزهاى مولكولى به خصوص در بررسى اثرات مولكولى جهش‌هاى ژنتيكي به حساب آيد [37-34]. باتوجه به عدم ارزايابى بيوانفورماتيكي جهش‌هاى فوق، مطالعات بعدى در اين زمينه مى‌تواند بسيار سودمند باشد. برخى محدوديت‌ها در مطالعه ما وجود دارد كه بايد به آن‌ها اشاره كرد: حجم نمونه گروه‌هاى مورد و شاهد نسبتا كم مى‌باشد. همچنين، در اين مطالعه ما اثرات متقابل ژن-ژن و ژن-محيط را بررسى نكرديم. بنا بر اين مطالعات بعدى با حجم نمونه بيشتر و حاوى قوميت‌هاى متفاوت و باتوجه به اينتركشن‌هاى مذكور مى‌تواند نتايج دقيق‌ترى را حاصل سازد.

#### نتيجه‌گيرى

مطالعه ما نشان مى‌دهد كه rs763780 مى‌تواند يك فاكور خطر براى ابتلا به استئوآرترت زانو محسوب شود. لذا، اين پلى مورفيسم مى‌تواند به عنوان يك بيوماركر بالقوه براى غربال‌گرى افراد مستعد به استئوآرترت زانو مورد توجه قرار گيرد.

#### تشكر و قدردانى

نويسندگان مقاله از تمامى شركت كنندگان در اين پروژه تشكر مى‌نمايند. منابع مالى اين مطالعه توسط معاونت تحقيقات و فناورى دانشگاه علوم پزشكى كاشان تامين گرديده است (كد طرح: 96130).

#### References:

- [1] Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *Instr Course Lect* 1998; 47: 487-504.
- [2] Glyn-Jones S, Palmer AJ, Agricola R, Price AJ, Vincent TL, Weinans H, et al. Osteoarthritis. *Lancet* 2015; 386(9991): 376-87.
- [3] Felson DT. The epidemiology of knee osteoarthritis: results from the Framingham Osteoarthritis Study. *Semin Arthritis Rheum* 1990; 20(3 Suppl 1): 42-50.
- [4] McCarthy GM, Cheung HS. Point: Hydroxyapatite crystal deposition is intimately involved in the pathogenesis and progression of human osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2009; 11(2): 141-7.
- [5] Blanco FJ. Osteoarthritis: something is moving. *Reumatol Clin* 2014; 10(1): 4-5.
- [6] Abramson SB, Attur M. Developments in the scientific understanding of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2009; 11(3): 227.
- [7] Yin YW, Sun QQ, Hu AM, Wang Q, Liu HL. Association of rs9340799 polymorphism in estrogen receptor alpha gene with the risk of osteoarthritis: evidence based on 8,792 subjects. *Mol Genet Genomics* 2015; 290(2): 513-20.
- [8] Brandt KD, Dieppe P, Radin E. Etiopathogenesis of osteoarthritis. *Med Clin North Am* 2009; 93(1): 1-24.

روده‌اى اثرگذار باشد. سايتوكاين IL17 قادر است ماکروفاژها، فيبروبلاستها، ترشح سايتوكاين‌هاى IL6، IL1، IL8، ترشح پروستاگلاندين E2 و نيتريك اكسايده را فعال كند [30]. به اعتقاد برخى پژوهشگران سطح پلاسمايى IL17 ممكن است شاخص بيوشيميايى مفيد براى تعيين التهاب حاد توليد شده در عضلات اسكلتى باشد. موارد ذكر شده نشان از نقش كليدى اينترلوکين 17 در ايجاد و توسعه استئوآرترت زانو دارد. بنا بر اين، هرگونه تغيير در ساختار، بيان و عملکرد IL17 مى‌تواند ريسك ابتلا به استئوآرترت زانو را تغيير دهد. پلى مورفيسم‌هاى ژنتيكي بسته به موقعيت‌شان روى ساختار ژن مى‌توانند بيان و ساختار يك پروتين را تغيير دهند [31، 32]. تنوعات ژنتيكي مى‌تواند روى نواحى كدكننده يا غيركدكننده ژن‌ها اتفاق بيفتد. جهش‌هاى نواحى غيركدكننده همانند جهش‌هاى نواحى كدكننده مى‌توانند بيان ژن و اسپلايسينگ RNA را تحت تاثير قرار دهند. جهش روى نواحى پروموتري مى‌تواند مستقيما با بيان ژن ارتباط داشته باشد [33]. بانك داده NCBI مشخص كرد كه پلى مورفيسم rs763780 از نوع جهش‌هاى بدمعنى مى‌باشد كه باعث تغيير نوع آمينواسيد در ساختار پروتين مى‌شود. بنا بر اين، اثرات پاتوژنز اين پلى مورفيسم مى‌تواند ناشى از تغيير در ساختار و عملکرد پروتين باشد. بررسى اثرات مولكولى پلى مورفيسم‌ها در شرايط برون و درون‌تى، كار زمان‌بر و هزينه‌برى است. برخى مطالعات قبلى نشان مى‌دهند كه آناليزهاى محاسباتى با ابزارهاى بيوانفورماتيكي مى‌تواند روشى

- [9] Bastick AN, Runhaar J, Belo JN, Bierma-Zeinstra SM. Prognostic factors for progression of clinical osteoarthritis of the knee: a systematic review of observational studies. *Arthritis Res Ther* 2015; 17(1): 152.
- [10] Davis MA, Ettinger WH, Neuhaus JM, Cho SA, Hauck WW. The association of knee injury and obesity with unilateral and bilateral osteoarthritis of the knee. *Am J Epidemiol* 1989; 130(2): 278-88.
- [11] Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier JP, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2011; 7(1): 33-42.
- [12] Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004; 21(4): 467-76.
- [13] Alsalameh S, Mollenhauer J, Hain N, Stock KP, Kalden JR, Burmester GR. cellular immune response to and human articular chondrocytes t cell reactivities against chondrocyte and fibroblast membranes in destructive joint diseases. *Arthritis Rheum* 1990; 33(10): 1477-86.
- [14] Maione F. IL-17 in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting. *Front Pharmacol* 2016; 7: 250.
- [15] Koshy PJ, Henderson N, Logan C, Life PF, Cawston TE, Rowan AD. Interleukin 17 induces cartilage collagen breakdown: novel synergistic effects

- in combination with proinflammatory cytokines. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(8): 704-13.
- [16] Kim YG, Park JW, Lee JM, Suh JY, Lee JK, Chang BS, et al. IL-17 inhibits osteoblast differentiation and bone regeneration in rat. *Arch Oral Biol* 2014; 59(9): 897-905.
- [17] Kotake S, Udagawa N, Takahashi N, Matsuzaki K, Itoh K, Ishiyama S, et al. IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest* 1999; 103(9): 1345-52.
- [18] Chu CR, Szczodry M, Bruno S. Animal models for cartilage regeneration and repair. *Tissue Eng Part B Rev* 2010; 16(1): 105-15.
- [19] Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Abramson SB. Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets. *Arthritis Rheum* 2001; 44(6): 1237-47.
- [20] Guilak F. Biomechanical factors in osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2011; 25(6): 815-23.
- [21] Valdes AM, Spector TD. The contribution of genes to osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2008; 34(3): 581-603.
- [22] Loughlin J. The genetic epidemiology of human primary osteoarthritis: current status. *Expert Rev Mol Med* 2005; 7(9): 1-12.
- [23] Han L, Lee HS, Yoon JH, Choi WS, Park YG, Nam SW, et al. Association of IL-17A and IL-17F single nucleotide polymorphisms with susceptibility to osteoarthritis in a Korean population. *Gene* 2014; 533(1): 119-22.
- [24] Goldring MB, Otero M. Inflammation in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2011; 23(5): 471-8.
- [25] Berenbaum F, Eymard F, Houard X. Osteoarthritis, inflammation and obesity. *Curr Opin Rheumatol* 2013; 25(1): 114-8.
- [26] Bondeson J, Blom AB, Wainwright S, Hughes C, Caterson B, van den Berg WB. The role of synovial macrophages and macrophage-produced mediators in driving inflammatory and destructive responses in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62(3): 647-57.
- [27] Zhang Y, Pizzute T, Pei M. Anti-inflammatory strategies in cartilage repair. *Tissue Eng Part B Rev* 2014; 20(6): 655-68.
- [28] Wojdasiewicz P, Poniatowski ŁA, Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators Inflamm* 2014; 2014: 561459.
- [29] Berenbaum F. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). *Osteoarthritis Cartilage* 2013; 21(1): 16-21.
- [30] Miljkovic D, Trajkovic V. Inducible nitric oxide synthase activation by interleukin-17. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15(1): 21-32.
- [31] Zamani-Badi T, Nikzad H, Karimian M. IL-1RA VNTR and IL-1 $\alpha$  4845G>T polymorphisms and risk of idiopathic male infertility in Iranian men: A case-control study and an in silico analysis. *Andrologia* 2018; 50(9): e13081.
- [32] Nejati M, Atlasi MA, Karimian M, Nikzad H, Azami Tameh A. Lipoprotein lipase gene polymorphisms as risk factors for stroke: a computational and meta-analysis. *Iran J Basic Med Sci* 2018; 21(7): 701-8.
- [33] Karimian M, Aftabi Y, Mazoochi T, Babaei F, Khamechian T, Boojari H, et al. Survivin polymorphisms and susceptibility to prostate cancer: A genetic association study and an in silico analysis. *EXCLI J* 2018; 17: 479-91.
- [34] Nouredini M, Mobasseri N, Karimian M, Behjati M, Nikzad H. Arg399Gln substitution in XRCC1 as a prognostic and predictive biomarker for prostate cancer: evidences from 8662 subjects and a structural analysis. *J Gene Med* 2018; 20(10-11): e3053.
- [35] Zamani-Badi T, Karimian M, Azami-Tameh A, Nikzad H. Association of C3953T transition in interleukin 1 $\beta$  gene with idiopathic male infertility in an Iranian population. *Hum Fertil (Camb)* 2017; 1-7.
- [36] Mobasseri N, Nikzad H, Karimian M. Protective effect of estrogen receptor  $\alpha$ -PvuII transition against idiopathic male infertility: A case-control study and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2019; pii: S1472-6483(19)30058-6.
- [37] Tameh AA, Karimian M, Zare-Dehghanani Z, Aftabi Y, Beyer C. Role of Steroid Therapy after Ischemic Stroke by n-Methyl-d-Aspartate Receptor Gene Regulation. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2018; 27(11): 3066-75.