

An Association Study of rs2829803 Polymorphism in miRNA-155 with Multiple Sclerosis in Patients Referred to Farshchian Hospital of Hamadan City, (Iran)

Sanaz Abolfathirad¹, Soyar Sari^{1*}, Reza Mirfakhraie²

¹Department of Cellular & Molecular Sciences, Faculty of Advanced Science & Technology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

²Department of Medical Genetics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Corresponding Author:
Soyar Sari, Department of Cellular & Molecular Sciences, Faculty of Advanced Science & Technology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Email:
sari.s@iaups.ac.ir

Received:

Accepted:

Abstract

Background and Objectives: Multiple sclerosis is a chronic autoimmune disease with inflammation of the myelin sheath of the central nervous system. A series of factors, such as environmental factors and polymorphisms have been known to be associated with it. In this study, the correlation between polymorphism of rs2829803 in miR-155 and multiple sclerosis, was investigated in the patients referred to Farshchian Hospital of Hamadan City.

Methods: In this case-control study, 130 patients (29% male, 71% female) with multiple sclerosis (age range, 17-69 years) and 150 healthy subjects (38% male, 62% female) (age range, 19-63 years), were selected as the control group. Genotyping was performed by Tetra-ARMS-PCR method.

Results: A significant difference was observed in the genotypic distribution of miR-155 rs2829803 in dominant form (OR: 0.33, 95% CI: 1.19-0.58) ($p=0.0001$) and heterozygote (OR: 1.92, 95% CI:1.17-3.16) ($p=0.01$) in patients compared to the healthy subjects.

Conclusion: In line with previous studies on the relationship between miR-155 polymorphism (rs2829803) and multiple sclerosis disease, the results of this study confirmed the association of this polymorphism with increased risk of developing the disease.

Keywords: Multiple sclerosis; MicroRNAs; Polymorphism, Genetic.

بررسی همراهی پلی مورفیسم miRNA-155 rs2829803 و ارتباط آن با بیماری مالتیپل اسکلروزیس در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان فرشچیان همدان

ساناز ابوالفتحی راد^۱، سویار ساری^{۱*}، رضا میرفخرایی^۲

چکیده

زمینه و هدف: مالتیپل اسکلروزیس، یک بیماری خودایمنی با التهاب مزمن غلاف میلین در سیستم اعصاب مرکزی است. مجموعه‌ای از فاکتورها مانند عوامل محیطی و پلی مورفیسم در ارتباط با آن شناخته شده است. در این مطالعه همبستگی پلی مورفیسم rs 2829803 در miR-155 با بیماری مالتیپل اسکلروزیس در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان فرشچیان همدان بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه مورد - شاهدی، ۱۳۰ بیمار (۲۹٪ مرد، ۷۱٪ زن) مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس (محدوده سنی ۶۹-۱۷ سال) و ۱۵۰ فرد سالم (۳۸٪ مرد، ۶۲٪ زن) (محدوده سنی ۶۳-۱۹ سال) به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. تعیین ژنوتیپ با روش Tetra-ARMS-PCR انجام گرفت.

یافته‌ها: تفاوت معنی داری در توزیع ژنوتیپی miR-155 rs2829803 در حالت غالب و هتروزیگوت (OR: ۱/۹۲، CI: ۱/۱۷-۳/۱۶، p=۰/۰۱) در بیماران در مقایسه با افراد سالم مشاهده گردید.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه در راستای مطالعات پیشین مبنی بر ارتباط پلی مورفیسم miR-155 (rs 2829803) با بیماری مالتیپل اسکلروزیس، همراهی این پلی مورفیسم را با افزایش خطر ابتلا به بیماری تأیید می کند.

کلید واژه‌ها: مالتیپل اسکلروزیس؛ میکرو RNA؛ چند شکلی؛ ژنتیک.

گروه آموزشی علوم سلولی مولکولی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

سویار ساری، گروه آموزشی علوم سلولی مولکولی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

sari.s@iaups.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۶

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۹

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Abolfathi Rad S, Sari S, Mirfakhraie R. An association study of rs2829803 polymorphism in miRNA-155 with multiple sclerosis in patients referred to farshchian hospital of Hamadan City (Iran). Qom Univ Med Sci J 2018;12(2):28-34. [Full Text in Persian]

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس (MS)، یک بیماری خودایمنی است که با التهاب غلاف میلین در سیستم اعصاب مرکزی باعث از دست رفتن عملکرد نورولوژیکی می شود (۱). MS شایع ترین بیماری خودایمنی در سنین جوانی بوده و تعداد مبتلایان به آن حدوداً ۲ میلیون نفر در سراسر جهان گزارش شده است. شیوع MS در ایران در حال افزایش است و طبق مطالعات اخیر در تهران، از هر ۱۰۰۰۰۰ نفر، ۵۱/۹ نفر مبتلا و در اصفهان از هر ۱۰۰۰۰۰ نفر، ۷۳/۳ نفر مبتلا هستند (۲،۳). این بیماری اتیولوژی ناشناخته‌ای دارد و عوامل ژنتیکی، محیطی و اپی ژنتیکی در ایجاد آن نقش به‌سزایی ایفا می‌کنند (۴). براساس ناتوانی نورولوژیکی می‌توان بیماران را به گروه‌های پیشرونده - اولیه (Primary-progressive)، پیشرونده - ثانویه (Secondary-progressive)، عودکننده - فروکش‌کننده (Relapsing-Remitting) و عودکننده - پیش‌رونده (Progressive - Relapsing) تقسیم کرد. روند بیماری MS در ۸۰٪ از بیماران مبتلا، به‌صورت عودکننده - فروکش‌کننده (RR) و در ۲۰٪ مابقی پیشرونده - اولیه (PP) و پیشرونده - ثانویه (SP) می‌باشد (۵). در سال ۲۰۰۱

میکرو RNA (miRNA) به‌عنوان نوعی از RNA که در تنظیم بیان ژن نقش به‌سزایی دارد یا به‌عرصه مطالعات ژنتیکی نهاد. با توجه به توانایی بالقوه این مولکول‌های کوچک، پژوهش‌های بسیاری در ارتباط با نقش آنها در بیماری‌های مختلف از جمله بیماری MS صورت گرفته است (۶). miRNAها به‌شکل تک‌رشته‌ای و غیرکدکننده بوده که طول بسیار کوتاهی در حدود ۱۹-۲۴ نوکلئوتید دارند (۷) و در تنظیم بیان ژن در سطح پس از رونویسی نقش به‌سزایی ایفا می‌کنند، همچنین نقش حیاتی در فرآیندهای بیولوژیکی مانند تکثیر، تمایز، سوخت‌وساز بدن، رگزایی، تنظیم سیستم ایمنی ذاتی، اکتسابی و جلوگیری از خودایمنی دارند (۸). توالی ۸ نوکلئوتیدی در miRNA مکمل، قسمت خاصی از توالی mRNA هدف بوده که ناحیه seed نامیده می‌شود. در صورتی که اتصال به‌طور کامل اتفاق بیفتد mRNA هدف، تجزیه خواهد شد و اگر این اتصال در یک یا چند نوکلئوتید از این ناحیه انجام نگیرد تنها از ترجمه mRNA هدف جلوگیری خواهد کرد. از آنجا که miRNAها واحدهای عملکردی کوچکی هستند؛

تغییرات تک‌نوکلئوتیدی و پلی مورفیسم در توالی آنها باعث افزایش و یا کاهش بیان و تغییر در عملکرد بیولوژیکی می‌شود (۹). بیماری MS از جمله بیماری‌هایی است که نقش مهم میکرو RNA در آن به اثبات رسیده است (۱۰). miR-155 یکی از miRNAهایی است که مطالعات فراوانی روی آن صورت گرفته و نقش مهمی در بسیاری از بیماری‌ها من جمله MS، روماتوئید آرتریت و لوپوس ایفا می‌کند (۱۱). این miRNA در پاسخ‌های التهابی ایمنی ذاتی و اکتسابی مانند رشد و تکامل سلول‌های Tcell، Bcell (Th1، Th2، Th17)، دندریتیک و ماکروفاژ نقش دارد (۱۲، ۱۳). ژن این میکرو RNA به نام miR-155HG روی کروموزوم ۲۱q۲۱ واقع است که دارای ۳ اگزون بوده و pre-mRNA روی اگزون سوم قرار دارد (۱۴). در پلی مورفیسم miR-155 rs 2829803 تغییر آلل G به A صورت می‌گیرد که با افزایش میزان بیان miR-155 در پاسخ‌های التهابی، در بیماری MS مؤثر است. پس با توجه به اهمیت نقش SNPها در ابتلا به بیماری MS، در این مطالعه پلی مورفیسم miR-155 در مراجعه‌کنندگان به مرکز MS همدان بررسی گردید.

روش بررسی

این مطالعه به‌صورت مورد - شاهدی، بر روی ۱۳۰ بیمار مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس (MS) و ۱۵۰ فرد سالم (گروه شاهد) از مراجعه‌کنندگان به مرکز MS بیمارستان فرشچیان همدان انجام شد. قابل ذکر است انتخاب این تعداد نمونه، براساس امکانات و دسترسی محدود به نمونه‌ها بود و همه بیماران در قالب RR بودند. اطلاعات بالینی لازم با پرسش از افراد شاهد و مطالعه پرونده بیماران پس از کسب رضایت از ایشان و مطلع‌سازی آنها از هدف تحقیق حاضر به دست آمد و در کمیته اخلاق (با کد IR.UMSHA.REC.1394.402) به تصویب رسید.

پس از دادن آگاهی و کسب رضایت‌نامه، ۴ میلی‌لیتر خون محیطی از افراد مورد بررسی در لوله‌های حاوی EDTA گرفته شد. استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های خون افراد بیمار و گروه کنترل، به روش کیت MTU (تولید گروه ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی) صورت گرفت. DNA استخراج‌شده تا زمان بررسی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

۱۰ پیکومول برلیتر از پرایمرهای داخلی، ۱۰ پیکومول برلیتر از پرایمرهای خارجی و آب { صورت گرفت. تکثیر در ۳۲ سیکل تحت دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه (داناتوراسیون)، ۹۴ درجه به مدت ۱ دقیقه، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه (دمای اتصال پرایمرها)، ۷۲ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه (طویل سازی) انجام شد.

محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ حاوی رنگ محصولات Red safe (SMO Bio Taiwan) به مدت ۳۰ دقیقه با ولتاژ ۱۵۰ ولت الکتروفورز شدند که در نهایت، باندهای تفکیک شده به وسیله دستگاه ترانس ایلومیناتور مشاهده و مورد آنالیز قرار گرفتند. در ادامه، تعدادی از نمونه‌ها جهت تأیید ژنوتیپ، تعیین توالی شدند (محصول ۲۷۸ نوکلئوتیدی، حاصل تکثیری است که با استفاده از پرایمرهای خارجی صورت گرفته و به عنوان کنترل داخلی در واکنش PCR عمل می‌کند و در همه ژنوتیپ‌ها وجود دارد). در افراد هموزیگوت AA، باندهایی با طول ۱۳۴bp و ۲۷۸bp مشاهده گردید. در افراد هموزیگوت GG، باندهایی به اندازه ۲۰۱bp و ۲۷۸bp دیده شد و در افراد هتروزیگوت AG علاوه بر باند کنترل ۲۷۸bp هر دو باند ۱۳۴bp و ۲۰۱bp قابل مشاهده بود.

در این روش برای طراحی پرایمرهای مورد نیاز برای انجام واکنش PCR، توالی نواحی مجاور SNP هدف با مراجعه به بانک اطلاعاتی dbSNP واقع در پایگاه اینترنتی <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP> استفاده از نرم‌افزار Primer1 طراحی شدند. همچنین این پرایمرها به وسیله سرویس BLAST موجود در سایت NCBI برای یافتن نواحی دارای همولوژی در ژنوم انسان ارزیابی شدند. SNP مورد نظر توسط پرایمرهای اختصاصی آلل با توجه به آخرین نوکلئوتید در انتهای ۳' پرایمر و مکمل ناحیه SNP با استفاده از تکنیک Tetra-ARMS-PCR تعیین ژنوتیپ شد. در این تکنیک به ۴ پرایمر برای تکثیر یک قطعه از DNA الگو حاوی SNP نیاز است که دو پرایمر به عنوان کنترل داخلی و دو پرایمر دیگر هر یک از دو محصول آلل‌ها را حاصل می‌کند (جدول شماره ۱). پرایمرها به نحوی طراحی شدند که قطعات تکثیر شده آللی در اندازه‌های متفاوت به دست آیند و به وسیله ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز متمایز شدند. برای تکثیر قطعات اطراف پلی مورفیسم مورد نظر، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجم ۲۵ میکرولیتر {حاوی ۲ میکرولیتر ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱۰ میکرولیتر Master Mix PCR 2x (Ampliqon)}

جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی چندشکلی miR-155 G>A

پرایمر	توالی
5'ATCTACAAGAGGACTCCTTGCTTTGAGT 3'	F (outer)
5'TTCATCATTTTATTGATGAAGAAATTGAGG 3'	R (outer)
5'ACAAAGGCACTTAAAGAAAAGCTGTGATA 3'	F (inner)
5'CAAATGCTCTTCAAATAAGGCATTTACC 3'	R (inner)

بین دو گروه بیمار و سالم از نظر سن و جنس، اختلاف معنی داری مشاهده نشد و همه بیماران در فاز Relapsing-remitting بودند، همچنین بین شدت بیماری با ژنوتیپ افراد بیمار، ارتباط معنی داری دیده شد. گروه‌ها از نظر سن و جنس مانند هم بودند و با توجه به آمار، بیماری در زنان و در سن ۵۰-۲۷ سال شایع تر بود که خود تأییدکننده ارتباط معنی دار بین جنسیت، ژنوتیپ و بیماری می‌باشد.

در شکل نمونه‌هایی از نتایج الکتروفورز آگارز برای تعیین ژنوتیپ در افراد مورد بررسی نشان داده شده است. فراوانی اللی و ژنوتیپی گروه‌های مورد مطالعه در جدول شماره ۲ آمده است.

جهت تعیین وجود ارتباط بین پلی مورفیسم مورد مطالعه و وقوع بیماری مالتیپل اسکلروزیس، از آزمون مربع کای و نرم‌افزار STAT – SNP استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم miR-155 G>A با بیماری مالتیپل اسکلروزیس در ۱۳۰ بیمار مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس (۲۹٪ مرد، ۷۱٪ زن با محدوده سنی ۶۹-۱۷ سال و میانگین سنی ۳۷/۴±۵/۲) و ۱۵۰ فرد سالم (۳۸٪ مرد، ۶۲٪ زن با محدوده سنی ۶۳-۱۹ سال و میانگین سنی ۳۶/۹±۶/۴) به عنوان گروه شاهد بررسی گردید.



شکل: نمونه‌ای از ژل آگارز جهت تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم miR-155 G>A در جمعیت مورد مطالعه.

ستون‌های ۱، ۳، ۸ افراد با ژنوتیپ AA؛ ستون‌های ۵، ۲، ۷ و ۹ افراد با ژنوتیپ GG و ستون ۶ فرد با ژنوتیپ AG است. ستون ۴، ladder 50bp می‌باشد.

جدول شماره ۲: فراوانی آللی چندشکلی miR-155 G>A در جمعیت مورد مطالعه

pvalue	OR (95%CI)	گروه بیمار		گروه‌ها	ژنوتیپ
		تعداد (درصد)	گروه کنترل		
	۱ (reference)	۶۲ (۴۱/۳۳)	۲۴ (۱۸/۴۶)	GG	miR-155G>A(rs2829803)
۰/۰۱	۱/۹۲ (۱/۱۷-۳/۱۶)	۴۲ (۲۸)	۵۶ (۴۳/۰۷)	AG	
۰/۱۹	۱/۳۴ (۰/۸۵-۲/۲۹)	۴۶ (۳۰/۶۷)	۵۰ (۳۸/۴۷)	AA	
۰/۰۰۱	۰/۳۳ (۱/۱۹-۰/۵۸)	-	-		Dominant(GG vs. AG+AA)
۰/۱۹	۱/۳۲ (۰/۴۴-۱/۱۸)	-	-		Recessive(GG+AG vs. AA)
۰/۰۰۰۳	۰/۵۴ (۰/۳۸-۰/۷۵)	۱۶۶ (۵۵/۳۳)	۱۰۴ (۴۰)	G	Allele
۰/۰۰۰۳	۱/۸۶ (۱/۳۳-۲/۶۰)	۱۳۴ (۴۴/۶۷)	۱۵۶ (۶۰)	A	

بحث

امروزه، مطالعات متعددی با بررسی پروفایل بیان و پلی مورفیسم miRNA در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران مبتلا به مالتیل اسکروزیس برای فهم بهتر این بیماری انجام شده است (۱۵). بروز پلی مورفیسم در توالی miRNA، عملکرد تنظیمی آنها را به ۳ حالت کلی به شرح زیر تحت تأثیر قرار می‌دهد:

۱- با تغییرات در ناحیه seed اتصال miRNA به mRNA هدف به درستی صورت نمی‌گیرد و mRNA ترجمه نمی‌شود.

۲- پلی مورفیسم‌ها در روند پردازش pre-miRNA به شکل بالغ و فرم تنظیمی آن تأثیرگذارند و ۳- پلی مورفیسم‌های miRNA تنظیمات اپی ژنتیک ژن‌های miRNA را تغییر می‌دهند (۱۶).

Kiselev و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان "ارتباط بین میکرو RNA و بیماری مالتیل اسکروزیس" با بررسی بر روی جمعیت روسیه نشان دادند همبستگی دو پلی مورفیسم

miR-196A2 (rs11614913)+ miR-499a(rs3746444) در زنان روس با بیماری در ارتباط است (۱۷).

همچنین در مطالعه‌ای دیگر، You و همکاران با بررسی ارتباط پلی مورفیسم miR-146a(2910164)G>C با بیماری MS در جمعیت چین، به این نتیجه رسیدند که آلل C در این پلی مورفیسم باعث افزایش بیان miR-146a شده و با تشدید پاسخ ایمنی و التهابی در ابتلا به بیماری MS در زنان چینی نقش اساسی دارد (۱۸). miRNA-155 یکی از miRNAهایی است که نقش آن در بیماری‌های مالتیل اسکروزیس تأیید شده است.

این miRNA در تنظیم، تکوین و عملکرد ایمنی ذاتی و اکتسابی نقش به‌سزایی دارد. بیان متعادل miR-155 در Tcell، Bcell، (Th1، Th2، Th17)، ماکروفاژ و گرانولوسیت برای حفظ هموستازی ایمنی لازم است و با تغییر بیان این میکرو RNA به واسطه پلی مورفیسم در عملکرد پاسخ التهابی و ترشح سایتوکاین‌ها اختلال ایجاد می‌شود (۱۹). miRNA-155 برای ساخت گاماگلوبولین (IgG) ضروری است؛ به‌علاوه در پی فعال شدن سلول‌های T(CD4+)، بیان miR-155 به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد.

در مطالعه حاضر نقش SNP miRNA-155 rs2829803G>A در بیماری MS مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه که بر روی ۱۳۰ بیمار مبتلا به MS و ۱۵۰ نفر شاهد انجام شد، تفاوت معنی داری در توزیع ژنوتیپی miR-155 rs2829803 در حالت غالب و هتروزیگوت در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس در مقایسه با افراد سالم مشاهده گردید که در نهایت، فراوانی ژنوتیپ miR-155AA در بیماران مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس و در نتیجه ارتباط پلی مورفیسم miR-155 G>A با بیماری مالتیپل اسکلروزیس نشان داده شد.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم مورد نظر با بیماری MS در دو گروه شاهد و بیمار در حالت غالب و هتروزیگوت وجود دارد. یکی از علل انتخاب این ژن نقش گسترده آن در تنظیمات هموستازی، سیستم عصبی و مغزی است که در مطالعات بسیاری به آن پرداخته شده است. از این رو پیشنهاد می گردد در قومیت های مختلف و در تعداد بیشتر این تحقیق صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق، حاصل نتایج بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته سلولی مولکولی بوده که در آزمایشگاه ژنتیک نیکا انجام شد. بدین وسیله از همکاری صمیمانه و ارزشمند جناب آقای دکتر نصیری و تمامی افراد شرکت کننده در طرح تحقیقاتی پایان نامه تشکر و قدردانی می گردد.

تاکنون بسیاری از پروتئین های هدف miR-155 با پتانسیل ایمنولوژیک شناسایی شده اند. فاکتورهای رونویسی، از قبیل c-MAF،SOCS1، همچنین سایتوکاین ها و پروتئین های سیگنالی از جمله CD47، پروتئین های هدف miRNA-155 هستند (۲۰). سلول های ماکروفاژ و میکروگلیال فعال از سلول های غالب در پلاک های فعال MS محسوب می شوند. مطالعات اخیر نشان می دهد miR-155 با هدف قرار دادن IL13Rα1، تأثیر مستقیم در تنظیم فنوتیپ سلول های ماکروفاژ دارد (۲۱). بیان miR-155 تحت تأثیر سایتوکاین های التهابی (TNFα،IL-1) افزایش می یابد و موجب هدف گیری و مهار CD47 می شود (۲۲). پروتئین سطحی CD47، سیگنال ضد فاگوسیت شدن را در سطح سلول ها برای جلوگیری از مرگ ایجاد می کند (۲۳). محققین نشان داده اند یکی از راه های آسیب در MS فعال در مقایسه با غیرفعال، افزایش بیان miR-155 بوده که میکروRNAهای تنظیم نشده در آسیب های MS، نشانگر غشایی CD47 را در سلول های مستقر در مغز کاهش داده و این امر منجر به رها شدن ماکروفاژها از کنترل های مهارتی می گردد (۲۴). بدین ترتیب miR-155 با کاهش بیان CD47 می تواند به طور مستقیم در فعالیت ماکروفاژها در پلاک های فعال MS تأثیر گذار باشد (۲۵).

همکاران در تحقیق بر روی جمعیت ایتالیایی، سه مورد SNP (rs2282471، rs2829803، rs2829806) miR-155 را به روش HRM تعیین ژنوتیپ کردند. این مطالعه بر روی ۶۶۲ نفر به عنوان گروه کنترل و ۳۶۰ بیمار مبتلا به MS انجام شد که در نتیجه مشخص گردید هاپلوتیپ GTT متشکل از پلی مورفیسم های rs2829803، rs2829806 و rs2282471 با افزایش خطر ابتلا به MS ارتباط دارد (۲۶).

References:

- Dai R, Ahmed SA. MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases. *Transl Res* 2011;157(4):163-79. [PubMed](#)
- Sahraian MA, Khorramnia S, Ebrahim M, Moin-far Z, Lotfi J, Pakdaman H. Multiple sclerosis in Iran: A demographic study of 8,000 patients and changes over time. *Eur Neurol* 2012;64(6):331-6. [PubMed](#)
- Etemadifar M, Abtahi SH. Multiple sclerosis in Isfahan, Iran: past, present and future. *Int J Prev Med* 2012;3(5):301-2. [PubMed](#)

4. He X, Yu Y, Awatramani R, Lu QR. Unwrapping myelination by microRNAs. *Neuroscientist* 2012;18(1):45-55. [PubMed](#)
5. Stys PK, Zamponi GW, Geurts JJ, Van Minnen J. Will the real multiple sclerosis please stand up. *Nat Rev Neurosci* 2012;13(7):507-14. [PubMed](#)
6. Bentwich I, Avniel A, Karov Y, Aharonov R, Gilad S, Barad O, et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet* 2005;37(7):766-70. [PubMed](#)
7. Carissimi C, Fulci V, Macino G. MicroRNAs: Novel regulators of immunity. *Autoimmun Rev* 2009;8(6):520-4. [PubMed](#)
8. Garzon R, Calin GA, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Med* 2009;60:167-79. [PubMed](#)
9. Bartel DP. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009;136(2):215-33. [PubMed](#)
10. Fenoglio C, Ridolfi E, Cantoni C, De Riz M, Bonsi R, Villa C, et al. Decreased circulating miRNA levels in patients with primary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler* 2013;19(14):1938-42. [PubMed](#)
11. Pauley KM, Cha S, Chan EK. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. *J Autoimmun* 2009;32(3-4):189-94. [PubMed](#)
12. Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science* 2007;316(5824):608-11. [PubMed](#)
13. Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, Lin LL, Taganov KD, Hanada T, et al. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell* 2010;142(6):914-29. [PubMed](#)
14. Hoppenbrouwers IA, Hintzen RQ. Genetics of multiple sclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2011;1812(2):194-201.
15. Cox MB, Cairns MJ, Gandhi KS, Scott RJ, Broadley S, Moscovis S, et al. MicroRNAs miR-17 and miR-20a inhibit T cell activation genes and are under expressed in MS whole blood. *PLoS One* 2010;5(8):e12132. [Link](#)
16. Mishra PJ, Bertino JR. MicroRNA polymorphisms: The future of pharmacogenomics, molecular epidemiology and individualized medicine. *Pharmacogenomics* 2009;10(3):399-416. [PubMed](#)
17. Kiselev I, Bashinskaya V, Kulakova O, Baulina N, Boyko A, Popova E, et al. Variants of MicroRNA Genes: Gender-specific Associations with Multiple sclerosis Risk and Severity. *Int J Mol Sci* 2015;16(8):20067-81. [PubMed](#)
18. You L, Chen D, Wei W, Guoda M, Lili C, Hua T, et al. Genetic Association of Mir-146a With Multiple sclerosis Susceptibility in the Chines Population. *Cell Physiol Biochem* 2015;35(1):281-91. [PubMed](#)
19. He X, Yu Y, Awatramani R, Lu QR. Unwrapping myelination by microRNAs. *Neuroscientist* 2012;18(1):45-55. [PubMed](#)
20. Honardoost MA, Mesrian TH, Etemadifari M, Rahgozar S, Salehi M, Ghaedi K. The role of miRNAs in multiple sclerosis. *Genet 3rd Millennium* 2014;12(1):3448-69. [Full Text in Persian]
21. Martinez-Nunez RT, Louafi F, Sanchez-Elsner T. The interleukin 13 pathway in human macrophages is modulated by micro RNA -155 via direct targeting of interleukin 13 receptor $\alpha 1$. *J Biol Chem* 2011;286(3):1786-94.
22. Balak DM, Hengstman GJ, Cakmak A, Thio HB. Cutaneous adverse events associated with disease-modifying treatment in multiple sclerosis: A systematic review. *Mult Scler* 2012;18(12):1705-17. [PubMed](#)
23. Takuji Y, Tetsuya N, Osamu T, Uichi N, Tetsuya H, Takashi K, et al. Negative regulation of platelet clearance and of the macrophage phagocytic response by the transmembrane glycol-protein SHPS-1. *J Biol Chem* 2002;277(42):39833-9.
24. Ishikawasekigami T, Kaneko Y, Okazawa H, Tomizawa T, Okaja J, Saito Y, et al. SHPS-1 promotes the survival of circulating erythrocytes through inhibition of phagocytosis by splenic macrophages. *Blood* 2006;107(1):341-8. [PubMed](#)
25. Junker A, Krumbholz M, Eisele S, Mohan H, Bittner R, Meini E, et al. MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47. *Brain* 2009;132(Pt 12):3342-52. [PubMed](#)
26. Paraboschi EM, Solda G, Gemmati D, Orioli E, Zeri G, Barizzone N, et al. Genetic Association and Altered gene Expression of Mir-155 in Multiple sclerosis patients. *Int J Mol Sci* 2011;12(12):8695-712. [PubMed](#)