

بررسی میزان بیان RNA غیر کدکننده بلند *GAS8-ASI* و ژن هدف *GAS8* در بیماران مالتیپل

اسکلروزیس

منا پاطوقی^۱، سوده غفوری فرد^{۲*}

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*مستول مکاتبات: s.ghafourifard@sbm.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱/۲۰

چکیده

بیان ژن مهار رشد اختصاصی ۸ (*GAS8*) و RNA آنتی-سنس طبیعی آن (*GAS8-ASI*) در بافت‌های توموری با منشأ مختلف ارزیابی شده است. با این حال، ارتباط آنها با اختلالات مرتبط با ایمنی خیلی درک نشده است. در مطالعه حاضر، ما سطح بیان این ژنها را در ۵۰ بیمار مبتلا به فرم عودکننده-بهبود یابنده‌ی مالتیپل اسکلروزیس (RRMS) با گروه کنترل افراد سالمی که از لحاظ سن و جنس هم‌سان سازی شده بودند، ارزیابی کردیم. سنجش بیان بر نمونه‌های خون محیطی افراد شرکت‌کننده در آزمایش صورت گرفت. استخراج RNA کل از خون و سنتز cDNA از خون انجام شد، سپس با روش Taq-man PCR و با طراحی پرایمر و پروبهای اختصاصی سنجش صورت گرفت. بیان هر دو ژن در مقایسه با کنترل‌ها به صورت چشم‌گیری افزایش یافت (به ترتیب $P=0.001$ و $P<0.0001$). تفاوت در بیان *GAS8* نیز در کل بیماران زن و زنان کمتر از ۵۰ سال در مقایسه با افراد کنترل مربوطه معنی‌دار بود (به ترتیب $P=0.002$ و $P=0.006$). بیان *GAS8-ASI* در بیماران مرد در هر دو زیر گروه مبتنی بر سن در مقایسه با افراد سالم مربوطه بالاتر بود ($P=0.0001$). بیان هر دو ژن در گروه مردان با سن شرکت‌کنندگان رابطه معکوس داشت اما این ارتباط با هیچ زیر گروه دیگری وجود نداشت. مطالعه حاضر اهمیت *GAS8* و *GAS8-ASI* را در پاتوژنز MS و نقش فرضی *GAS8-ASI* به عنوان یک نشانگر تشخیصی در زیرمجموعه‌های بیماران نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: *GAS8*، *GAS8-ASI*، مالتیپل اسکلروزیس، بیان ژن.

مقدمه

قبول است که ام‌اس، یک اختلال دمی‌لینه‌کننده است که سیستم ایمنی به میلین حمله کرده و سبب نورودژنراسیون می‌شود (2). از علل این عارضه این مطلب را باید مد نظر قرار داد که این بیماری به عنوان رایج‌ترین نقص کارکردی در افراد جوان بدون جراحی و زخم خاص به شمار می‌آید به طوری که عمر متوسط مبتلایان ۵ سال کاهش یافته و ناتوانی مزمن در انجام امور زندگی مهم‌ترین مشکل بیماری می‌باشد. بیماری اسکلروز چندگانه یکی از بیماری‌های پیچیده بوده و یک پروسه التهابی است که طی

بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) به عنوان یک اختلال دمی‌لینه‌کننده‌ی سیستم اعصاب مرکزی با تغییر چندین مولکول و مسیرهای سیگنالینگ در خون و سیستم اعصاب مرکزی در نظر گرفته می‌شود (1). MS دارای یک دوره پاتولوژیک ابتدایی، فاز عودکننده-بهبود یابنده و ثانویه است که به تدریج باعث نقص سیستم عصبی مرکزی می‌شود. MS یک بیماری مولتی فاکتوریال می‌باشد، بدین مفهوم که علل ژنتیکی و محیطی مختلفی، در القای بیماری دخیل می‌باشند. به طور گسترده، این نظریه مورد



Affymetrix مقایسه شد. بیان ۱۵۷۸ ژن به طرز معنی داری با عود بیماری در ارتباط بودند که اکثر این ژنها در مسیر آپاپتوز قرار دارند(۵).

در بین ژن هایی که با آپاپتوز در ارتباط هستند، می توان به GAS8 اشاره کرد، زیرا در همولوگ موش به عنوان یک ژن سرکوبگر توموری شناخته شده است و بیان آن در تعدادی از سرطان ها دچار تغییر شده است. GAS8 به طور مرتب در سرطان های پستان و پروستات حذف میشود (۶). علاوه بر این، محصول پروتئینی تولید شده به وسیله ی این ژن در طول تقسیم سلولی به میکروتوبول ها متصل گردیده و در عملکرد داینین (در کمپلکس نکسین-داینین) و کنترل آن نقش دارد (۷). GAS8 در دستگاه گلژی قرار گرفته است که این جایگاه وابسته به میکروتیوب های کامل است و توسط سیکل سلولی تنظیم می شود. در طول میتوز این پروتئین در میان سیتوپلاسم پراکنده می شود (۷). LncRNAs یا RNA های غیر کد کننده ی بلند د ارای طول بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید هستند و در مسیر های مختلف زیستی نقش دارند در زمان فعال شدن پاسخ ایمنی ذاتی و همچنین در زمان توسعه و تمایز و فعال شدن سلول های T تغییرات وسیعی در بیان LncRNAs صورت می گیرد (۸).

مطالعات عملکردی در رده های سلولی PTC (Papillary Thyroid Carcinoma) نقش این lncRNA را در سرکوب تقسیم سلولی و القای اتوفاژی نشان می دهد (۹). نقش GAS8 و GAS8-ASI در سرطان کبد نیز ارزیابی شده است. افزایش میزان GAS8-ASI در هنگام افزایش بیان GAS8 مشاهده شده است که از طریق حفظ کانفورماسیون کروماتین فعال در پروموتور GAS8 نقش خود را ایفا کرده و باعث سرکوب تقسیم سلولی می شود. (۹). در این مطالعه ما به بررسی بیان ژن های GAS8 و GAS8-ASI در خون بیماران RRMS پرداختیم. با

آن سلول های T (autoreactive) به میلیون واکنش نشان می دهند و سبب ازبین رفتن ماده سفید مغز و نخاع میشوند. در بروز این بیماری عوامل محیطی و ژنتیکی هردو به موازات یکدیگر دارای تاثیر عمده ای می باشند.

بهترین فرضیه مورد تایید در بیماری MS، این است که سلول های T و سلول های autoreactive B، سبب القای آسیب به میلین، التهاب و تخریب عصبی می شوند (۲). در بین علل و فاکتورهایی که به نظر می رسد در ایجاد MS، ایفای نقش می کنند، نقش پرننگ فاکتورهای ژنتیکی، غیرقابل انکار است. یکی از علل پرننگ دخیل در پاتوژنز MS، عدم تمایل سلول های T برای انجام آپاپتوز می باشد. عدم توانایی سیستم ایمنی برای حذف لنفوسیت های Self-reactive، به علت وجود نقص در ماشین مرگ سلولی ست. بنابراین، نقص در مکانیسم های سیگنالینگ مرتبط با فرایند آپاپتوز، می تواند یکی از علل بروز حملات ام اس شود (۳). بر اساس تحقیقی که بر روی بیماران RRMS با استفاده gene microarrays cDNA انجام شد، نشان داده شد که بیش از ۸۰٪ از ژن هایی که بین بیماران درمقایسه با گروه سالم، تفاوت بیان معنی دار نشان می دهند، مرتبط با مسیر پیام رسانی آپاپتوز بوده اند(۴).

بنابراین، نقص در بیان ژن های آپاپتوزی می تواند سبب افزایش احتمال و مستعد ساختن لنفوسیت های فعال

برای القای حملات شدید و ایجاد التهاب مزمن در بیماران RRMS شود. در مطالعه توسط Achiron و همکاران، بیان ژنهای دخیل در آپاپتوز در سلولهای خون محیطی تک هستهای ها (PBMC) در بیماران مبتال به RRMS در حین عود بیماری در مقایسه با بیماران در فاز خاموشی با استفاده از ریزآرایه

اطلاعات کلینیکی و پاراکلینیکی بیماران MS: مدت بیماری به طور میانگین ۵ سال بوده است. EDSS این بیماران به طور میانگین ۳/۰۷ بوده است. سن شروع بیماری در بیماران MS به طور میانگین ۳۱/۴۸ سال بوده است. تمامی بیماران فرم Relapsing-remitting بوده و دوره های فروکش را تجربه کرده اند. مشخصات بالینی بیماران در جدول ۴-۱ آورده شده است.

توزیع جنسیتی دو گروه بیمار و کنترل: از ۵۰ بیمار پاسخ دهنده به درمان مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس ۳۵ نفر زن و ۱۵ نفر مرد بوده اند. در گروه کنترل ۳۵ نفر زن و ۱۵ نفر مرد وجود داشته است.

توزیع سنی دو گروه بیمار و کنترل: میانگین سنی گروه کنترل ۳۵/۳ ± ۲/۴ سال و در بازه سنی ۳۱-۵۵ بوده است. میانگین سنی گروه بیمار ۳۶/۲ ± ۲/۷ بوده و در بازه ی سنی ۳۰-۴۵ سال بوده اند. برای تطابق میانگین سن در گروه بیمار و کنترل آزمون t-test صورت گرفت و تفاوت معنی داری بین بیماران و کنترل وجود نداشت. جدول ۱ مشخصات جمعیتی (دموگرافیک) دو گروه بیمار و کنترل را نشان می دهد.

استخراج RNA: در این مرحله استخراج RNA از نمونه های خون گرفته شده با استفاده از کیت استخراج RNA شرکت GeneAll (کره ی جنوبی) و کلروفورم صورت گرفت.

سنتز cDNA: برای انجام PCR نیاز به DNA الگو می باشد و DNA پلی مرز قادر به استفاده از RNA به عنوان الگو نمی باشد. بنابراین با سنتز DNA مکمل (cDNA) از RNA و سپس انجام RT-PCR تکثیر صورت می گیرد. به این منظور از کیت سنتز cDNA (Thermo Scientific Revert Aid First Strand) cDNA Synthesis کشور سازنده آمریکا) استفاده شد. در مرحله اول روش RT-PCR از ملکول RNA به

توجه به اتیولوژی نامعلوم بیماری MS و نقش مشترک فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در این بیماری ما به دنبال بیومارکرهای جدید در این بیماری بودیم تا با توجه به آن تشخیص و درمان در این بیماران را تسریع و بهبود ببخشیم. بنابراین بر آن شدیم تا با این مطالعه در قالب یک بررسی مورد-شاهدی با ارزیابی بین ارتباط ژن های مذکور با بروز بیماری MS بین بیماران مبتلا به MS در مقایسه با گروه کنترل سالم میپردازیم.

مواد و روش ها

روش نمونه گیری و تعداد نمونه: بیماران MS بر اساس معیارهای Mc Donald (۱۰) توسط نورولوژیست تشخیص داده شدند. و افرادی که حامل آلل HLA-DRB1*15 (که طبق مطالعات شایعترین آلل مستعد کننده بیماری است) بودند از مطالعه حذف شدند و فقط بیماران فاقد این آلل در مطالعه وارد شدند. تمامی بیماران فرم relapsing remitting بیماری را داشتند که در زمان تهیهی نمونه در فاز remission بیماری خود بوده اند. تمام بیماران از اینترنترون بتا به عنوان دارو استفاده کرده اند. ۵۰ نفر بیمار مبتلا به RRMS و همچنین ۵۰ نفر فرد سالم از نظر بیماری MS و سایر بیماریهای اتوایمیون و عصبی را به طور تصادفی انتخاب کردیم و پس از توضیح هدف تحقیق به آنان و جلب رضایت آنها برای شرکت در تحقیق، ۵ سی سی خون وریدی گرفته شد و در لوله حاوی EDTA (Ethylene Diamine Tetra Aceticacid) جمع آوری و در یخچال نگهداری شد. نمونه های سالم و بیمار از لحاظ سن و جنس همسان سازی شدند. نمونه های بیماران از بیمارستان فرشچیان همدان جمع آوری شد و در آزمایشگاه ژنتیک گروه ژنتیک پزشکی دانشگاه شهید بهشتی مراحل زیر روی نمونه ها صورت گرفت.



طراحی پرایمر و پروب جهت واکنش: برای طراحی پرایمر از نرم افزار Allele ID استفاده شد و جهت تایید عملکرد اختصاصی، توالی پرایمر طراحی شده با BLAST کردن در سایت NCBI بررسی شد. توالی پرایمرها در جدول ۲ نشان داده شده است. آنالیز داده های **Real-Time PCR**: با استفاده از Package ها و Script های زبان برنامه نویسی R ما به بررسی ارتباط میان بیان هر یک از ژن ها با فاکتورهای دموگرافیک و همچنین آنالیز نتایج **Real-Time PCR** با استفاده از آزمون آماری **Multilevel Bayesian** پرداختیم. و نتایجی که **P value** کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنادار در نظر گرفته شد.

عنوان الگو برای سنتز مولکول cDNA استفاده می شود، بدین منظور یک آنزیم نسخه بردار معکوس ویروسی (RT) به همراه یک روش مناسب برای شروع واکنش پلی مریزاسیون مورد نیاز است. سپس در مرحله بعد با کمک PCR مولکول cDNA به طور لگاریتمی افزایش می یابد. **Real-Time PCR**: با استفاده از روش Taq-man PCR به بررسی کمی بیان ژن های **GAS8** و **GAS8-ASI** پرداختیم. در این مطالعه از **Master Mix** (کشور سازنده دانمارک) استفاده شد. دستگاه مورد استفاده در این مطالعه **Corbett (Rotor Gene 6000)** به عنوان نرمالیز نیز انتخاب شد.

جدول ۱- مشخصات دموگرافیک دو گروه بیمار و کنترل

variables	MS patients	Controls
Female/Male [no. (%)]	35 (70%) / 15 (30%)	35 (70%) / 15 (30%)
Age (mean \pm SD, Y)	36.2 \pm 2.7	35.3 \pm 2.4
Age (Median [Interquartile range], Y)	39 [30-45]	45 [31-55]
Age of onset (mean \pm SD, Y)	31.41 \pm 2.8	-
Disease duration (Median [Interquartile range], Y)	5 [3-10.25]	-
EDSS score (mean \pm SD)	3.07 \pm 2.5	-

جدول ۲- پرایمرهای طراحی شده

Gene name	Primer and probe sequence	Primer and probe length	Product length
<i>HPRT1</i>	F: AGCCTAAGATGAGAGTTC	18	88
	R: CACAGAACTAGAACATTGATA	21	
	FAM-CATCTGGAGTCCCTATTGACATCGC-TAMRA	24	
<i>GAS8</i>	F: CTACAACGACATCACCCCTCAAC	22	121
	R: GTTCTGCCAGACACCTCTG	20	
	FAM-TCTCCCTCTCCAGGTGGTCCCTCCT-AMRA	24	
<i>GAS8-ASI</i>	F: CCCATAGCCTGCCCCGTAAG	20	144
	R: CGTTGTCCCAGCATGTGAGC	20	
	FAM-CCCGTCTCCCTGTCCGCTTCCCAT-TAMRA	24	

نتایج

ژل آگارز ۱ درصد در بافر (TBE) 0.5X الکتروفورز شد. غلظت RNA در حدود 250 μ g/ml و OD 260/280 بین ۱.۸ تا ۲ بوده است که نشان دهنده ی کیفیت مطلوب RNA بوده. جهت بررسی کیفیت

نتایج استخراج RNA: استخراج RNA از نمونه های بیمار و سالم انجام گردید که در نتیجه ی آن غلظت و خلوص آن به وسیله دستگاه نانودراپ اندازه گیری شد. ۱۰ میکرولیتر از هر کدام از نمونه ها را بر روی

دار نبود. در جدول ۳ تمامی اطلاعات مربوط به ژن *GAS8* آورده شده است.

نتایج ژن *GAS8-ASI* : به طور کلی ژن *GAS8-ASI* در بیماران به میزان ۳/۰۸۴ افزایش بیان داشته است، از نظر آماری تفاوت معنی داری از نظر بیان ژن در دو گروه بیمار و سالم مشاهده می‌گردد، بطوریکه با کنترل اثرات سن و جنسیت، بطور متوسط نسبت بیان ژن در گروه بیمار ۳/۱ واحد بیشتر از گروه سالم برآورد گردید که پس از تعیین ارزش $P < 0.0001$ مشخص شد که معنی دار می باشد. در جدول ۴ تمامی اطلاعات مربوط به ژن *GAS8-ASI* آورده شده است. شکل‌های ۲ و ۳ نشان‌دهنده‌ی بیان نسبی *GAS8* و *GAS8-ASI* در گروه بیماران ام اس و افراد سالم می باشد.

ارزیابی قدرت تشخیصی ژن‌ها و منحنی ویژگی عامل گیرنده: بر اساس ارزش AUC، ژن *GAS8-ASI* دارای دقت ۹۹.۶٪ در تمییز بیماران مرد مبتلا به ام اس را در می باشد. (شکل ۴). با این وجود قدرت تشخیص این ژن در تمام بیماران کمتر بود ($AUC=0.746$ ، حساسیت = ۰/۹۲، اختصاصیت = ۰/۵۲). قدرت تشخیص *GAS8* در بیماران ژن ($AUC= 0.757$ ، حساسیت = ۶۸.۵، اختصاصیت = ۷۱.۴) بیشتر از بیماران مرد بود ($AUC= 0.533$ ، حساسیت = ۷۳.۳، اختصاصیت = ۸۰) (شکل ۴).

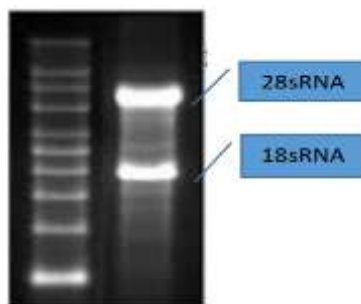
RNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید. (شکل ۱).

تعیین کیفیت cDNA: برای تعیین کیفیت و صحت cDNA ساخته شده، طول محصول ژن *HPRT1* بر روی آگارز ۲ درصد نشان میدهد.

تکثیر ژن *HPRT1* واکنش به صورت دوپلیکیت (duplicate) بر روی نمونه‌های نرمال و بیمار انجام شد. CT نمونه‌های فوق ۱۶/۵ و ۱۷ میباشد و کارایی انجام کار برای نمونه‌های فوق ۱.۸۱ و ۱.۷۶ می باشد.

نتایج واکنش Real-time RT-PCR : واکنش Real-time RT-PCR با استفاده از cDNA سنتز شده از نمونه‌های نرمال و بیمار برای ژن‌های *GAS8-ASI* و *GAS8* انجام شد.

نتایج ژن *GAS8* : به طور کلی ژن *GAS8* در بیماران به میزان ۴/۱۰۵ افزایش بیان داشته است، از نظر آماری تفاوت معنی داری از نظر بیان ژن در دو گروه بیمار و سالم مشاهده میگردد، بطوریکه با کنترل اثرات سن و جنسیت، بطور متوسط نسبت بیان ژن در گروه بیمار ۴/۱ واحد بیشتر از گروه سالم برآورد گردید. که پس از تعیین ارزش ($p = ۰/۰۰۱$) مشخص شد که معنی دار می باشد. با کنترل اثرات جنسیت و سن، از نظر آماری اختلاف معنی داری بین نسبت بیان ژن دو گروه بیمار و کنترل مشاهده گردید ($p=0.011$)، ارتباط بین بیان ژن با سن و جنس از نظر آماری معنی



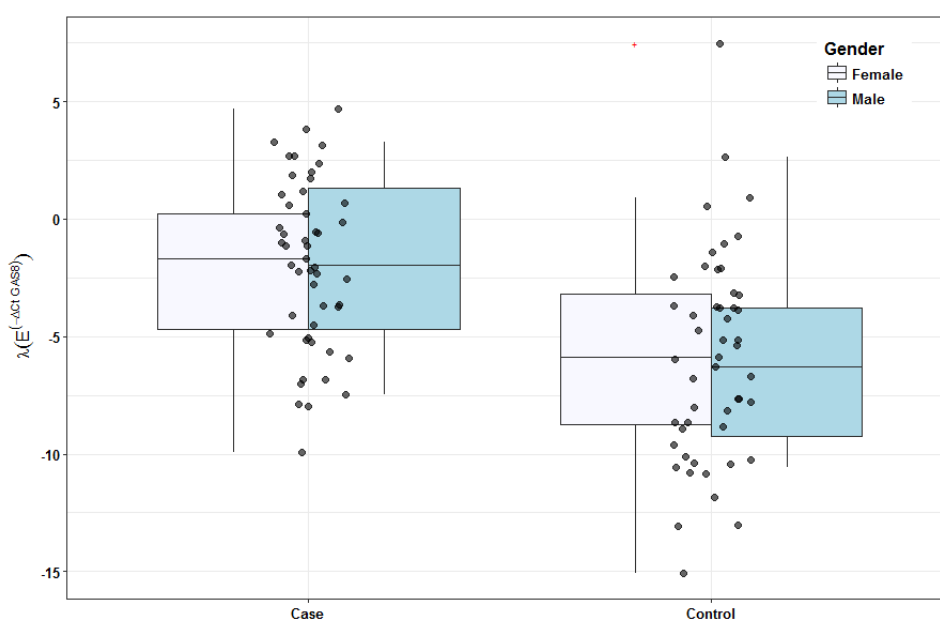
شکل ۱- RNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد باندهای 28S و 18S نشان دهنده کیفیت RNA استخراج شده می باشد.

جدول ۳- جدول اطلاعات مربوط به بیان ژن GAS8

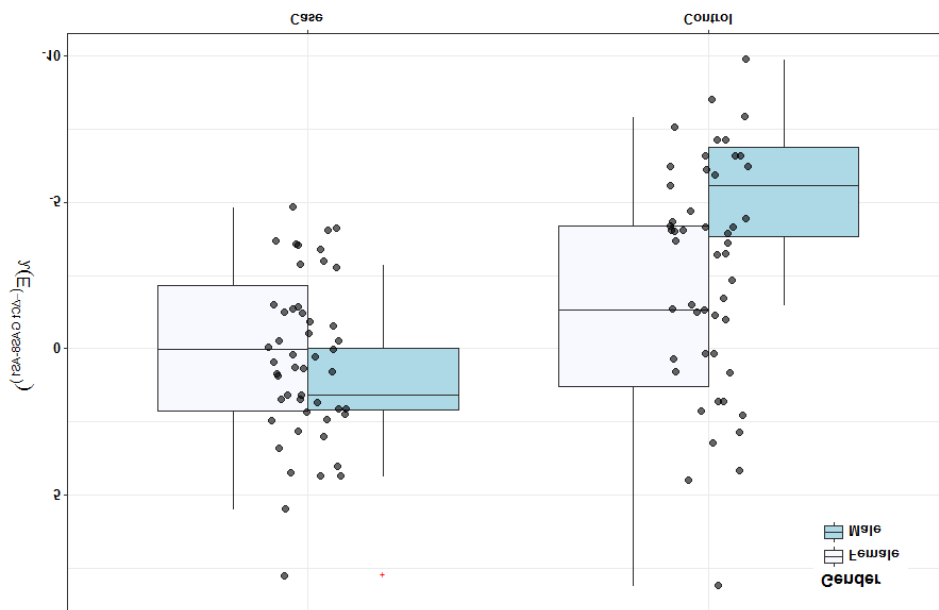
GAS8 expression	Control no.	patient no.	Posterior RE diff ^a	SE	P-value	95% CrI for RE dif
Total	50	50	4.105	0.87	0.001	[2.46, 5.83]
Male	15	15	4.739	2.09	0.181	[0.58, 8.75]
Female	35	35	3.761	0.97	0.002	[1.96, 5.76]
≤50 Male	5	13	3.795	2.3	0.075	[-0.84, 8.34]
Female	27	30	4.506	1.16	0.006	[2.19, 6.8]
>50 Male	10	2	4.223	3.91	0.273	[-3.9, 12.03]
Female	8	5	0.791	2.49	0.932	[-4.33, 5.74]

جدول ۴- جدول اطلاعات مربوط به ژن GAS8-AS1

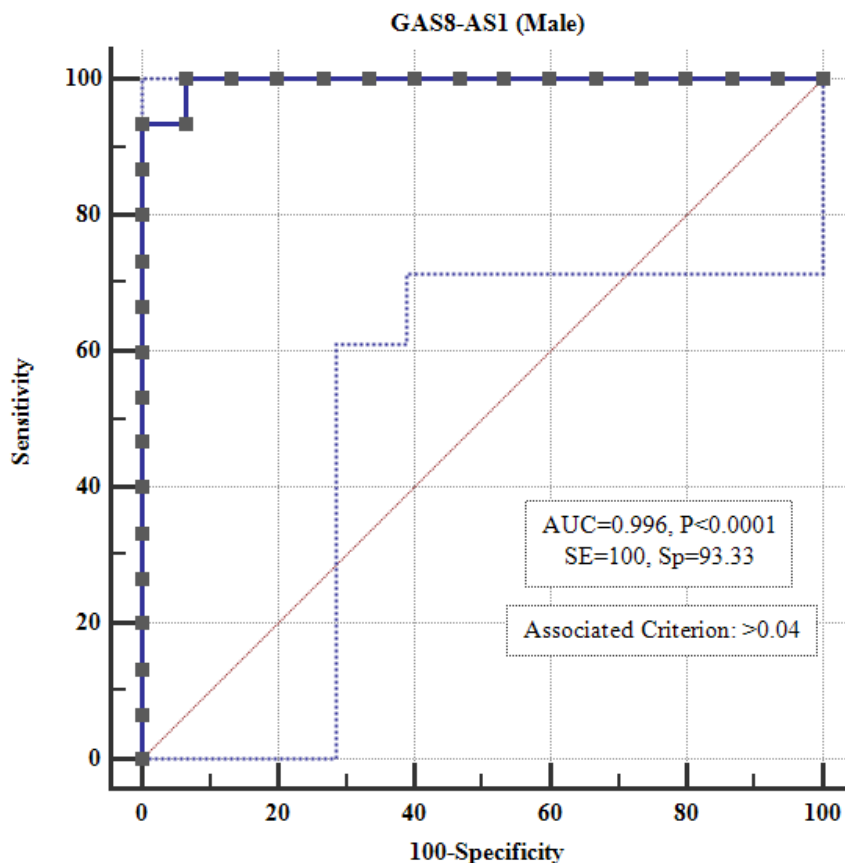
GAS8-AS1 expression	Control no.	patient no.	Posterior RE diff	SE	P-value	95% CrI for RE dif
Total	50	50	3.084	0.71	<0.0001	[1.71, 4.46]
Male	15	15	7.883	1.24	<0.0001	[5.54, 10.33]
Female	35	35	1.495	0.84	0.304	[-0.17, 3.12]
<50 Male	5	13	7.207	1.68	<0.0001	[3.87, 10.4]
Female	27	30	1.595	0.86	0.339	[0.03, 3.26]
≥50 Male	10	2	7.21	1.73	<0.0001	[3.79, 10.6]
Female	8	5	1.224	3.35	0.68	[-5.48, 7.81]



شکل ۲- بیان نسبی GAS8 در گروه بیماران ام اس و افراد سالم



شکل ۳- بیان نسبی GAS8-ASI در گروه بیماران ام اس و افراد سالم



شکل ۴- آنالیز منحنی ROC برای ارزیابی قدرت تشخیصی GAS8-ASI در مردان مبتلا به MS



بحث

ایمنی ذاتی و اکتسابی می شوند (13) ممکن است در برهمکنش بین بیان GAS8-AS1 و جنسیت در این مطالعه نشان داده شود. ما هم بستگی معکوس معناداری بین بیان ژن های ذکر شده و سن بیماران مورد مطالعه در مردان مبتلا پیدا کردیم. عدم وجود همبستگی بین بیان GAS8 و GAS8-AS1 و سن در افراد مونث، از یک سو از تنظیمات جنسیتی این ژن ها پشتیبانی می کند و از سوی دیگر این ژن ها را به عنوان نشانگرهای مستقل سن برای ام اس در افراد مونث معرفی می کند. به رغم نقش مورد انتظار GAS8-AS1 در تنظیم بیان GAS8، ما هیچ ارتباط معنی داری بین بیان این ژن ها در خون محیطی بیماران یا افراد سالم نداشتیم که ممکن است مستلزم سازوکارهای نظارتی مستقل برای آنها باشد. در نهایت، قدرت تشخیصی GAS8 و GAS8-AS1 را در تمام زیر گروه بیماران و افراد سالم مورد بررسی قرار دادیم و بالاترین عملکرد را برای سطوح رونویسی GAS8-AS1 در تشخیص وضعیت بیماری در افراد مرد یافتیم. همانطور که انتظار می رود از تجزیه و تحلیل بیان، سطوح رونویسی GAS8 در تمایز وضعیت بیماری در افراد زن در مقایسه با بیماران مردانه موثر بود.

اگر چه نتایج ما نشان می دهد که سرخ های اولیه برای طراحی پنل های بیومارکر خاص جنس برای ام اس یافته ایم اما بر اساس تعداد کم نمونه های مورد بررسی در این مطالعه، این داده ها باید با احتیاط تفسیر شود.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه ی حاضر را اینطور می توان خلاصه کرد که بیان نسبی هر دو ژن GAS8 و GAS8-AS1 در گروه بیماران در مقایسه با افراد سالم افزایش چشم

MS به عنوان یک اختلال دمیلینه کننده ی سیستم اعصاب مرکزی با تغییر چندین مولکول و مسیرهای سیگنالینگ در خون و سیستم اعصاب مرکزی در نظر گرفته می شود (۱). MS دارای یک دوره پاتولوژیک ابتدایی، فاز عود کننده-بهبود یابنده و ثانویه است که به تدریج باعث نقص سیستم عصبی مرکزی می شود. ام اس یک بیماری مولتی فاکتوریال می باشد، بدین مفهوم که علل ژنتیکی و محیطی مختلفی، در القای بیماری دخیل می باشند. به طور گسترده، این نظریه مورد قبول است که ام اس، یک اختلال دمیلینه کننده است که سیستم ایمنی به میلین حمله کرده و سبب نورودژنراسیون می شود (۲).

در رابطه با بیان نسبی ژن های GAS8 و GAS8-AS1 افزایش بیان بالایی را در مقایسه با گروه کنترل در بیماران MS مشاهده کردیم. ارتباط بین پروتئین GAS8 و دستگاه گلژی و برهم کنش فیزیکی بین رستورهایمانند Toll و این دستگاه سلولی ممکن است یک ارتباط عملکردی بین ام اس و پاتوژن آن مهیا سازد (۱۱). الگوی بیان جنسیتی در هر دو ژن را به گونه ای یافتیم که تفاوت در بیان GAS8 در زنان بیمار معنی دار بود، در حالی که اختلاف بیان GAS8-AS1 در بیماران مذکر در مقایسه با افراد سالم مورد بررسی معنی دار بود. آنالیزهای پیشین بیان ژن کل ژنوم نیز در بیماران فاز RRMS مکانیسم های مولکولی متفاوتی را در زنان و مردان نشان داده است. این آنالیزها مشارکت ویژه ای بر اساس جنسیت بیماران در RNA های غیر کد کننده گزارش داده اند (۱۲). یافته های ما همراه با ارزیابی های بیانی به روش high throughput بر روی این موضوع که جنسیت بر فعالیت، دامنه و نقص پاسخ های ایمنی اثر گذار می باشد تاکید می کند. این واقعیت که زنان نسبت به مردان باعث القای بیش تر

Characterization and Screening for Mutations of the Growth Arrest-Specific 11 (GAS11) and C16orf3 Genes at 16q24.3 in Breast Cancer. *Genomics*. 1998;52(3):325-31

7. Colantonio JR, Vermot J, Wu D, Langenbacher AD, Fraser S, Chen JN, et al. The dynein regulatory complex is required for ciliary motility and otolith biogenesis in the inner ear. *Nature*. 2009 Jan 8;457(7226):205-U102. PubMed PMID: WOS:000262360200035. English

8. K. Imamura and N. Akimitsu, "Long non-coding rnas involved in immune responses," *Frontiers in immunology*, vol.5, 2014.

9. Qin Y, Sun W, Zhang H, Zhang P, Wang Z, Dong W, et al. LncRNA GAS8-AS1 inhibits cell proliferation through ATG5-mediated autophagy in papillary thyroid cancer. *Endocrine*. 2018 Mar;59(3):555-64. PubMed PMID: 29327301. Epub 2018/01/13. eng.

10. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an Expanded Disability Status Scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33: 1444-1452.

11. Marloes S. van Kester et al, A Meta-Analysis of Gene Expression Data Identifies a Molecular Signature Characteristic for Tumor-Stage Mycosis Fungoides, *Journal of Investigative Dermatology* (2017), Volume 132

12. Lazarou M, Narendra DP, Jin SM, Tekle E, Banerjee S, Youle RJ (2013). "PINK1 drives Parkin self-association and HECT-like E3 activity upstream of mitochondrial binding". *Journal of Cell Biology*. 200 (2): 163-172.

13. Andrew J. Solomon, MD et al, "Undiagnosing" multiple sclerosis: the challenge of misdiagnosis in MS, *Neurology* 78 June 12, 2012.

گیری داشته است. همچنین، بر اساس آنالیز های منحنی عامل گیرنده ژن GAS8-AS1 در گروه مردان دارای قدرت تشخیص بیماری معرفی گردید. علاوه بر این ما در نتایج، الگوی بیان ژن ها بر اساس جنسیت را نیز مشاهده کردیم. بر خلاف مطالعات پیشین همبستگی ای بین ژن ها مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

از بیماران مالتیپل اسکلروزیس شهر همدان که با رضایت در مطالعه شرکت کردند قدردانی میکنیم. در ضمن نسخه تغییر یافته این مقال قبلا در ژورنال *Immunobiology* به زبان انگلیسی به چاپ رسیده است.

منابع

1. M. Gironi, A. Bergami, E. Brambilla, Immunological markers in multiple sclerosis, *Neurological Sciences*, 2016, Volume 21, Number 2, Page S871
2. Milo R, Kahana E. Multiple sclerosis: geoeidemiology, genetics and the environment. *Autoimmunity reviews*. 2010;9(5):A387-A94.
3. Zozulya AL, Wiendl H. The role of regulatory T cells in multiple sclerosis. *Nature Reviews Neurology*. 2008;4(7):384.
4. Achiron A, Feldman A, Mandel M, Gurevich M. Impaired Expression of Peripheral Blood Apoptotic-Related Gene Transcripts in Acute Multiple Sclerosis Relapse. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1107(1):155-67.
5. Satoh J-i, Nakanishi M, Koike F, Miyake S, Yamamoto T, Kawai M, et al. Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiology of disease*. 2005;18(3):537-50
6. Whitmore SA, Settasatian C, Crawford J, Lower KM, McCallum B, Seshadri R, et al.

