

مقاله اصلی

## بررسی ارتباط پلی مرفیسم rs3745453 با ریسک ابتلا به بیماری مالتیپل اسکلروزیس

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۹/۰۱

### خلاصه

#### مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (MS)، از بیماری‌های خود ایمن سیستم عصبی مرکزی است، امروزه مشخص شده است که تغییر در توالی تک نوکلئوتیدها یا SNP با ابتلا یا مقاومت به بیماری‌ها در ارتباط است. در مطالعات اخیر ارتباط پلی مرفیسم میکرو RNA با بیماری‌هایی از جمله سرطان و بیماری‌های خود ایمنی گزارش شده است. میکرو RNA گروهی از RNA های غیر کد کننده بوده که در انواع فرایندهای بیولوژیک سلولی مانند رشد، تقسیم سلولی و ایمنی اثر گذارند.

#### روش کار

از ۷۱ بیمار MS و ۷۱ فرد سالم، نمونه خون جمع آوری و DNA استخراج شد. آنالیز ژنوتیپی با تکنیک TARMS PCR بررسی شد. ارتباط پلی مرفیسم rs3745453 با بیماری ام اس با آزمون‌های آماری ارزیابی شد.

#### نتایج

فراوانی ژنوتیپی TT، TC و CC در افراد بیمار ۳۴، ۲۴، ۱۳ و در گروه کنترل ۳۹، ۱۱ و ۲۱ درصد بود. در هر دو گروه، ژنوتیپ TT غالب و فراوانی هتروزیگوتها در افراد بیمار نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. نسبت شانس (OR) در ژنوتیپ TC برابر با ۲/۷ بود. به عبارتی افراد هتروزیگوت، ۲/۷ برابر نسبت سایر افراد شانس ابتلا به بیماری MS را دارند.

#### نتیجه گیری

مطالعه حاضر اولین گزارش از ارتباط بین پلی مرفیسم mir23a و بیماری MS می باشد. با توجه به نتایج به دست آمده می توان گفت که پلی مورفیسم mir 23a با شناسه rs3745453 در MS ارتباط است (p=۰/۰۲۹).

#### کلمات کلیدی

پلی مرفیسم، میکرو RNA، مالتیپل اسکلروزیس  
پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

زینب گلشنی<sup>۱</sup> و

زهرا حاجتی<sup>۳</sup>

علی شریف زاده<sup>۴\*</sup>

وحید شایگان نژاد<sup>۵</sup>

مجتبی جعفری نیا<sup>۱</sup>

۱- گروه زیست شناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، فارس، ایران.

۲- گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات فارس، دانشگاه آزاد اسلامی، فارس، ایران.

۳- دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

۴- گروه میکروبیشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۵- مرکز تحقیقات عصب شناسی اصفهان، بیمارستان الزهرا، گروه نورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

\* گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

Email: sharifzadeh@iaush.ac.ir

## مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس یا MS از بیماری‌های خودایمن سیستم اعصاب مرکزی (مغز و نخاع) بوده که امروزه حدود ۲/۵ میلیون نفر در سراسر جهان به آن مبتلا هستند. MS از بیماری‌های مزمن التهابی و عامل ایجاد ناتوانی فیزیکی جدی خصوصا در بین جوانان و زنان در محدوده سنی ۲۰ تا ۴۰ سال می‌باشد. شیوع این بیماری در زنان چندین برابر مردان گزارش شده است (۱). علائم بالینی در افراد مختلف متفاوت بوده به طوری خستگی، اختلالات بینایی و حسی، درد و ناتوانی حرکتی با درجات متفاوت در افراد بیمار مشاهده می‌گردد. تفاوت در علائم بالینی در ارتباط با سایت‌های آسیب دیده در سیستم عصبی مرکزی است که این آسیب‌ها به علت عبور سلول‌های ایمنی از سدخونی مغزی ایجاد شده و در نهایت منجر به ایجاد التهاب، دمیالین شدن، آسیب سلول‌های گلیال<sup>۱</sup>، دژنره شدن آکسونی<sup>۲</sup> و در نتیجه اختلال در ارسال پیام عصبی می‌شود. ضایعات اغلب در نخاع، ساقه مغز، بافت اطراف بطنی و عصب بینایی ایجاد می‌شوند (۲). سلول‌های T در ایجاد ضایعات نقش اولیه دارند. بیماری با لنفوسیت‌های خود فعال آغاز شده که پاسخ‌های نابجا در برابر اتوآنتی ژن‌های CNS ایجاد می‌کنند. عبور سلول‌های ایمنی از خون محیطی که در افراد MS نوع عود کننده - بهبود یافته<sup>۳</sup> غالب است، از تارگت‌های اصلی در درمان‌های در دسترس MS است.

بیماری MS، از نظر بالینی به فرم‌های زیر تقسیم بندی می‌گردد فرم Relapsing-Remitting (RR-MS) عود کننده - بهبود یافته

فرم Secondary progressive (SP-MS) پیشرونده ثانویه فرم Primary progressive (PP-MS) پیشرونده اولیه

فرم (RR-MS) به صورت عود کننده - بهبود یافته، در ۸۰ تا ۹۰٪ افراد مبتلا دیده می‌شود. در این فرم دوره‌هایی از حملات متناوب و بهبودی نسبی مشاهده می‌گردد که با گذشت

زمان و با افزایش تدریجی آسیب‌های سیستم عصبی، معلولیت‌های شدیدی را نیز به همراه خواهد داشت، به طوری که حدود ۵۰٪ از بیماران پس از ۱۹ سال به ویلچر نیاز خواهند داشت که منجر به ایجاد فرم دیگر این بیماری یعنی (SP-MS) یا پیشرونده ثانویه، خواهد شد.

فرم سوم PP-MS یا بیماری پیشرونده از ابتدا، حدود ۱۰ تا ۲۰٪ بیماران را به خود اختصاص داده که بیماران معلولیت‌های پیشرونده بدون حملات حاد را تجربه خواهند کرد (۳).

علی‌رغم پیچیدگی و مکانیسم ناشناخته این بیماری، اعتقاد بر این است که در افراد مستعد از لحاظ ژنتیکی برای مثال ناحیه<sup>۴</sup> (HLA)، مداخله فاکتورهای محیطی و اپی ژنتیکی می‌تواند زمینه ساز ابتلا به MS شود. عوامل محیطی مانند زندگی در نواحی معتدل، کمبود ویتامین D، استرس و بیماری‌های ویروسی از جمله ریسک فاکتورهای مشاهده شده در افراد بیمار است (۴).

میکرو RNA، miRNA (های کوچک غیر کدشونده تقریبا به طول ۱۸ تا ۲۳ نوکلئوتید بوده که از طریق تخریب یا مهار ترجمه‌ی mRNA تولید پروتئین را متوقف می‌کنند. امروزه نقش کلیدی این عناصر ژنتیکی در تنظیم فرایندهای سلولی مختلف مانند رشد، سیکل سلولی، تمایز، آپوپتوز، متابولیسم و رگ زایی مشخص شده است. علاوه بر این گزارش شده است که miRNAها، در مسیر های انکوژنی یا تومور ساپرسوری در تنظیم شبکه‌های بیان ژنی نیز اثر گذارند. بیان miRNAها در سلول‌های ایمنی و سیستم عصبی بسیار بالا بوده که نشان دهنده اهمیت آنها در نوروایمونولوژی است. شناسایی و پایداری این عناصر در مایعات بدن، استفاده از آنها را به عنوان بیوماکر جدید در تشخیص‌های کلینیکی هموار کرده است. مطالعات اخیر مشخص کرده است که تغییر تک نوکلئوتیدی در توالی miRNA می‌تواند تولید یا تمایل آنها برای اتصال به ژن‌های هدف را تغییر دهد و باعث ایجاد تغییرات پاتولوژیک شود. فعالیت بیولوژیک سلول‌های T و B cell

<sup>1</sup> gliosis

<sup>2</sup> axon degeneration

<sup>3</sup> (RR) Relapsing-Remitting

<sup>4</sup> Human leukocyte antigen

خود ایمنی نبودند. افراد گروه کنترل و بیمار از لحاظ سن همسان سازی شدند. پس از اخذ تاییدیه اخلاقی، برای بررسی ژنوتیپ افراد مورد مطالعه و پس از اخذ رضایت نامه، حدود ۲/۵ سی سی از خون وریدی افراد مورد پژوهش گرفته و درون لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA منتقل شد. نمونه‌های خون به همراه پرسشنامه مورد نظر، به آزمایشگاه منتقل شدند و سپس نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگه داری شدند. DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت GenetBio کره جنوبی طبق پروتوکل پیشنهادی استخراج گردید.

برای انتخاب miRNA مقالات کار شده در زمینه پلی مرفیسم، miRNA و MS مورد بررسی قرار گرفتند و در نهایت mir23a به دلیل عملکردهای مهم در سیستم ایمنی و تمایز لنفوسیت‌ها و همچنین تارگت کردن فاکتور تنظیم کننده اینترفرون انتخاب شد. به منظور مشخص کردن SNP ژن miR 23a، ابتدا توسط سایت NCBI، واریانت‌های ژن مورد نظر بررسی شد و سپس طراحی پرایمر توسط چندین نرم افزار انجام گرفت. در ادامه پرایمرهای طراحی شده توسط نرم افزار Primer (نسخه ۳) به دلیل اندازه مناسبتر قطعات انتخاب شد. پرایمرهای طراحی شده توسط نرم افزار oligo (نسخه ۷)، از لحاظ دمای اتصال، تشکیل دایمر پرایمر، تشکیل هیرپین و ... مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت و در نهایت با استفاده از سایت Pubmed توالی پرایمرها BLAST گردید. پرایمرها توسط شرکت ماکروژن کره با واسطه شرکت سیناکلون سنتز شد.

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۰/۷۵ میکرولیتر Mgcl2، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۱/۲ میکرولیتر بافر، ۸ میکرولیتر DNA، ۱ میکرولیتر از پرایمرهای داخلی و ۲ میکرولیتر پرایمرهای کنترل و تا حجم نهایی ۲۰ آب مقطر استفاده گردید. برنامه PCR به صورت یک مرحله دنا تورا سیون اولیه، در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد برای مدت ۵ دقیقه و در ادامه ۳۴ چرخه شامل دنا تورا سیون ۹۵ درجه سانتیگراد برای مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر ۵۸ درجه سانتی گراد برای مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای مدت ۴۰ ثانیه به منظور گسترش انجام شد. در نهایت دمای ۷۲ درجه

تحت تاثیر miRNAهای خاصی قرار داشته که در تنظیم، تکوین و تمایز رده‌های مختلف سلولی دخالت دارند (۵).

رشد و تکوین Tcell در تیموس و فعالیت آن‌ها در خون محیطی در ارتباط با شبکه سیگنالینگ پروتئینی پیچیده‌ای است، که توسط miRNAها کنترل می‌شود. سیستم ایمنی ذاتی نقش مهمی در اتوایمنی ایفا می‌کند. مطالعات مشخص کرده است که تکوین سلول‌های رده میلوئید و عملکردشان در اثر تعامل داینامیک بین ترانس کریپشن فاکتورهای خاص و miRNAهاست. این miRNAها در تنظیم گرانولوسیت‌ها، منوسیت‌ها، ماکروفاژها، CDها، سلول کشنده طبیعی<sup>۱</sup> فعالیت می‌کنند (۶). در برخی از مطالعات بیان غیر نرمال miRNAها در افراد MS در مقایسه با سالم مشاهده شده است (۱۲). تغییرات و موتاسیون-های ژنتیکی در miRNA تکامل سیستم ایمنی و پاسخ ایمنی را تحت تاثیر قرار داده و در پاتوژنز بیماری‌های خود ایمنی مانند MS نقش دارند.

mir23a اولین عضو شناسایی شده در کلاستر miR-23a~27a~24-2 بوده که تاکنون نقش آن در چندین نوع سرطان، هایپر تروفی قلبی، و آتروفی ماهیچه‌ای به اثبات رسیده است و در برخی از مطالعات مشخص شده است که بیان miR23a در بیماری‌هایی مانند، AML، CLL سرطان معده و سرطان کبد و سینه افزایش می‌یابد (۷-۵).

با توجه به اهمیت عملکرد میکرو RNAها در مراحل مختلف تکوین و عملکرد سیستم ایمنی، در این مطالعه به بررسی اثر پلی مرفیسم ژنتیکی mir23a rs3745453 و ریسک ابتلا به ام اس پرداخته شده است. مطالعه حاضر برای اولین بار به بررسی ارتباط miRNA با بیماری MS می‌پردازد.

## روش کار

این تحقیق مورد -شاهدی (case- gontrol) بر روی ۷۱ بیمار مبتلا به MS که بیماری آن‌ها توسط متخصص مغز و اعصاب تایید شده بود و ۷۱ فرد سالم به عنوان گروه کنترل انجام گرفت. افراد نرمال دارای هیچ نوع سابقه‌ای از بیماری‌های

<sup>1</sup> NK cell

## نتایج

مشخصات افراد مورد مطالعه، در جدول ۲ مشاهده می‌شود. با توجه به اینکه گروه شاهد و بیمار از لحاظ جنس و سن همسان- سازی شده اند، اختلاف آماری معنی داری بین سن افراد سالم و بیمار مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

در این مطالعه، مقایسه گروه‌های سنی ۱۷ تا ۴۵ سال در گروه بیمار نشان می‌دهد که بیشترین میزان ابتلا به MS در گروه سنی ۲۵ تا ۳۵ سال دیده می‌شود. آنالیز آماری نشان داد بین سابقه بیماری قبلی و ابتلا به MS ارتباط معنی داری وجود ندارد ( $p > 0.05 \times 2 = 0.07$ ).

توالی پرایمرها، دمای اتصال و مواد مورد نیاز PCR در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام TETRA PRIMER ARMS PCR

ژن	(۳-۵) توالی پرایمر	دمای اتصال	اندازه محصول SNP
Mir23a Outer F	CGAAGCAGAAAGACAGGAGG	۵۸/۲ °C	۸۳۷
Mir23a Outer R	CGTTTTGGTTGAGGGACAGT		
Mir23a Inner F	AAATGTGCTACATTGACTTAGAGTGC	۵۸/۲ °C	C ۳۹۴
Mir23a InnerR	GGCAGGACTTTCCAGAAATAGA		T ۴۹۰

میگرن	۱	-
کیست تخمدان	۱	-
سنگ کلیه	۱	-
فشار خون	۱	-
وضعیت شغلی (درصد)		
خانه دار/کارمند/دانشجو/سایر	۱۰/۱۶/۲۴/۵۰	-

مشخص است برای تعیین ژنوتیپ rs3745453 باند ۸۳ bp در همه نمونه‌ها باید وجود داشته باشد که نشان دهنده صحت PCR انجام شده است. اما افرادی که علاوه بر این، دارای باند ۳۹۴ bp نیز هستند، یعنی ژنوتیپ آن‌ها در این SNP، CC است.

سانتی گراد برای مدت ۱۰ دقیقه به منظور طویل سازی نهایی انجام گرفت (۹). در ادامه، محصولات حاصل از واکنش تکثیر با استفاده از ژل آگاروز ۱٪ الکتروفورز شدند. از دستگاه ژل داکيومنتیشن جهت بررسی و عکس برداری استفاده شد.

در این پژوهش، برای تخمین ارتباط بین پلی مورفیسم ژن miR23a با شناسه rs3745453 و ریسک ابتلا به MS با استفاده از آنالیز آماری رگرسیون لجستیک، آزمون تی-تست و نسبت شانس (OR) با فاصله اطمینان ۹۵٪ مورد استفاده قرار گرفت. در همه محاسبات سطح احتمال  $p < 0.05$  از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول شماره ۲، مشخصات افراد در دو گروه کنترل و بیمار را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، افراد خانه دار بیشترین فراوانی را در افراد مبتلا به MS تشکیل می‌دهند.

جدول ۲. مشخصات افراد مورد مطالعه

گروه کنترل	بیمار	فاکتور
۳۴	۳۲	میانگین سنی
۵۵/۱۶	۵۷/۱۴	مرد/زن: جنس
		سابقه بیماری

تعیین ژنوتیپ SNP با شناسه rs3745453 با تکنیک Tetra Primer ARMS- PCR ژنوتیپ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی با شناسه rs3745453 در نمونه‌های بیمار و کنترل با تکنیک Tetra Primer ARMS- PCR تعیین شد (جدول ۳). همان‌طور که در شکل ۱

نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ های پلی مرفیسم rs3745453 در ژن mir23a در شکل ۱ آمده است.

افرادی که علاوه بر باندهای ۸۳۷bp و ۳۹۴bp دارای باند ۴۹۰bp نیز باشند ژنوتیپ آن‌ها TC و اگر فردی فقط دو باند ۸۳۷bp و ۴۹۰bp داشته باشد TT می‌باشد.

جدول ۳. فراوانی ژنوتیپ های پلیمریسم rs3745453 در افراد کنترل و بیمار

Genotype frequencies rs3745453	Patients (n=71)	Controls (n=71)	Pvalue	OR <sup>c</sup> (CI:95%) <sup>b</sup>
TT	۳۴ (۴۷٪)	۳۹ (۵۴٪)		۰/۷ (۰/۱ - ۰/۰۶)
CC	۱۳ (۱۸٪)	۲۱ (۲۹٪)		۰/۵۲ (۰/۱ - ۰/۰۸)
CT	۲۴ (۳۳٪)	۱۱ (۱۵٪)	۰/۰۲۹	۲/۷ (۰/۱ - ۰/۰۷)
T allele	۰/۶۴	۰/۶۶		
C allele	۰/۳۶	۰/۳۴		

علاوه بر این SNP های عملکردی موجود در pre-miRNA می‌تواند با تغییر حساسیت نسبت به بسیاری از بیماری‌ها مانند انواع سرطان و بیماری‌های خودایمنی در ارتباط باشد (۸). در زمینه مطالعات پلی مرفیسم miRNA، اخیراً چندین مطالعه صورت گرفته است. هاشمی و همکاران در سال ۲۰۱۶ ارتباط پلی مرفیسم miR-196a2، miR-499، و miR-146a و miR-149 را در سرطان پروستات بررسی کردند. در این مطالعه مشخص شد ژنوتیپ CC پلی مرفیسم miR-499 با افزایش ریسک سرطان پروستات در ارتباط است. در سال ۲۰۱۴ نیز هاشمی و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند پلی مرفیسم rs2910164 hsa-miR-146a با افزایش ریسک ALL<sup>۱</sup> در ارتباط است (۹).

در سال ۲۰۱۵ لی<sup>۲</sup> و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند پلی مرفیسم miR-146a با بیماری‌های خود ایمنی در ارتباط است (۱۰).

کلاستر ژنی 2-24-27a-miR23a در پروسه های بیولوژیک و پاتولوژیک مانند تکوین، تکثیر، تمایز، آپوپتوز، پاسخ ایمنی و متاستاز نقش مهمی ایفا می‌کنند. همچنین بیان غیر نرمال این کلاستر در انواع سرطان‌ها مانند سینه، پروستات، معده، هیپاتوسلولار، کلاژیو کرسینوما و



شکل ۱. تعیین ژنوتیپ SNP با شناسه rs3745453 ژن miR23a به کمک تکنیک Tetra Primer ARMS-PCR، ژنوتیپ‌های TC چاهک ۴۹۰، ژنوتیپ TT چاهک ۳۹۴ و ۱۰۰ bp ladder نیز در چاهک ۱ دیده می‌شود

## بحث

میکرو RNA (miRNA) RNA های کوچک غیر کدشونده ۱۸ تا ۲۳ نوکلئوتیدی بوده، که تا کنون نقش آن‌ها در تنظیم پروسه‌های حیاتی مختلف مانند رشد، سیکل سلولی، تمایز، آپوپتوز، متابولیسم و ایمنی مشخص شده است. علاوه بر این miRNA در فعالیت‌های مختلف سلولی مانند ترشح انسولین، سنتز نوروترانسمیترها و ریتم شبانه روزی دخالت دارند. تخمین زده شده که حدود ۶۰٪ از miRNA های شناسایی شده تا امروز در سیستم عصبی مرکزی (CNS) بیان می‌شوند. طبق مطالعات اخیر مشخص شده است که miRNA ها نقش مهمی در سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی ایفا می‌کنند.

<sup>1</sup> Acute lymphoblastic leukemia

<sup>2</sup> Li

نتایج این مطالعه و جمعیت MS ایتالیایی، شاید به دلیل اختلاف تعداد نمونه‌های بررسی یا نوع نمونه (mirRNA های سرم در مقابل خون) باشد.

### نتیجه گیری

با توجه به ارتباط پلی مرفیسم mirRNA با ریسک ابتلا به MS، پیشنهاد می‌شود که مطالعات دیگری در آینده، با استفاده از تعداد نمونه‌های بیشتر و در سایر مناطق کشور نیز صورت گیرد. به نظر می‌رسد که مطالعه حاضر بتواند به عنوان مقدمه ای برای بررسی ارتباط پلی مرفیسم سایر mirRNA ها با بیماری MS گردد.

### تشکر و قدردانی

از افراد شرکت کننده در این مطالعه و همچنین از آقای حسینیان مسؤل محترم بیمارستان تامین اجتماعی سپاسگزاری می‌شود.

کولورکتال گزارش شده است. الگوی بیانی پیچیده این کلاستر بیان می‌کند که این کلاستر اختصاص - بافتی عمل می‌کند به طوری که برخی اعضا در یک نوع سرطان کاهش بیان و برخی افزایش بیان را نشان می‌دهند (۱۱).

پلی مرفیسم miR23a با شناسه rs3745453 در تنظیم بیان اعضای این کلاستر نقش داشته است. در مطالعه‌ای که یانگ<sup>۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۷ بر روی کپی نامبر واریانت‌های چندین miRNA با روش Taq Man PCR انجام دادند مشخص شد، کپی نامبر miR23a در بیماران مبتلا به التهاب قرنيه افزایشی را نشان می‌دهد (۷-۱۱).

در مطالعه حاضر برای اولین بار پلی مرفیسم mir23a با شناسه rs3745453 از طریق تکنیک TARMs PCR مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش که بر روی ۷۱ فرد مبتلا به MS و ۷۱ فرد سالم انجام شد، فراوانی آلل (T(wild Type) در افراد بیمار (۰/۶) و گروه کنترل نسبت به آلل C(۰/۳) بیشتر بود. فراوانی ژنوتیپی TT، TC و CC در افراد بیمار به ترتیب ۳۴، ۲۴، ۱۳٪ و در افراد گروه کنترل به ترتیب ۳۹، ۱۱، ۲۱٪ در هر دو گروه مورد مطالعه، ژنوتیپ TT نسبت به سایر ژنوتیپ ها غالب بود. فراوانی هتروزیگوت ها در افراد بیمار نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. به طوری که نسبت شانسی (OR) در ژنوتیپ TC برابر با ۲/۷ بود. به عبارتی افراد با ژنوتیپ هتروزیگوتی، ۲/۷ برابر نسبت سایر افراد شانسی ابتلا به بیماری MS را دارند (p=۰/۰۲۹). در مطالعه‌ای مشابه در ایتالیا ریدولفی<sup>۲</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بررسی پروفایل بیانی در افراد MS دریافتند که سطح سرمی miR-15b, miR-223, miR-23a در افراد Ms در مقایسه با نرمال کاهش می‌یابد. آن‌ها همچنین گزارش دادند فرکانس آلل C در miR-23a با شناسه rs3745453 به طور معناداری در افراد MS در مقایسه با نرمال افزایش می‌یابد (۱۲). بنابراین آلل C را در rs3745453 SNP به عنوان ریسک فاکتوری در بیماری MS پیشنهاد دادند. در حالی که بر خلاف نتایج ریدولفی در ایتالیا در این مطالعه، فراوانی آلل T، واز لحاظ ژنوتیپی هتروزیگوت ها غالب بودند. علت تفاوت

<sup>1</sup> Yang

<sup>2</sup> Ridolfi

## References

- 1- Hauser SL, Oksenberg JR. The neurobiology of multiple sclerosis: genes, inflammation, and neurodegeneration. *Neuron* 2006; 52:61-76.
- 2- Ramagopalan SV, Dobson R, Meier UC, Giovannoni G. Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways. *Lancet Neurol* 2010; 9:727-39.
- 3- Calabresi PA. Diagnosis and management of multiple sclerosis. *Am Family Phys* 2004; 70:1935-44.
- 4- Belbasis L, Bellou V, Evangelou E, Ioannidis JP, Tzoulaki I. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet Neurol* 2015; 14:263-73.
- 5- Cox MB, Cairns MJ, Gandhi KS, Carroll AP, Moscovis S, Stewart GJ, et al. MicroR- NAsmiR-17 and miR-20a inhibit T cell activation genes and are under- expressed in MS whole blood. *PLoS One* 2010; 5:e12132.
- 6- Lu LF, Liston A. MicroRNA in the immune system, microRNA as an immune system. *Immunology* 2009; 127:291-8.
- 7- Schwarzenbach H, Nishida N, Calin GA, Pantel K. Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11:145-56.
- 8- Kato N, Takeuchi F, Tabara Y, Kelly TN, Go MJ, Sim X, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies common variants associated with blood pressure variation in East Asians. *Nat Genet* 2011; 43:531-8.
- 9- Hashemi M, Moradi N, Ziaee SA, Narouie B, Soltani MH, Rezaei M, et al. Association between single nucleotide polymorphism in miR-499, miR-196a2, miR-146a and miR-149 and prostate cancer risk in a sample of Iranian population. *J Adv Res* 2016; 7:491-8.
- 10- Li C, Fu W, Zhang Y, Zhou L, Mao Z, Lv W, et al. Meta-analysis of microrna-146a rs2910164 g>c polymorphism association with autoimmune diseases susceptibility, an update based on 24 studies. *PLoS One* 2015; 10:e0121918.
- 11- Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:2257-61.
- 12- Ridolfi E, Fenoglio C, Cantoni C, Calvi A, De Riz M, Pietroboni A, et al. Expression and Genetic Analysis of MicroRNAs Involved in Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci* 2013; 14:4375-84.

Archive of SID

*Original Article***Association between rs3745453 Gene Polymorphism and the Risk of Multiple Sclerosis**

Received: 23/10/2017 - Accepted: 22/11/2017

Zeynab Golshani<sup>1,2</sup>Zohreh Hojati<sup>3</sup>Ali Sharifzadeh<sup>4\*</sup>Vahid SHaygannejad<sup>5</sup>Mojtaba Jafarinia<sup>1</sup>

1-Department of Biology, Marvdasht branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Fars, Iran.

2-Department of Biology, Fars science and Reserch branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.

3-Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

4-Department of Microbiology, Islamic Azad University Shahrekord branch, Shahrekord, Iran.

5-Isfahan Neurosciences Research Center, Alzahra Hospital, Department of Neurology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

\* Department of Microbiology, Islamic Azad University Shahrekord branch, Shahrekord, Iran.

Email: sharifzadeh@iaush.ac.ir

**Abstract**

**Introduction:** Multiple Sclerosis (MS) is a major autoimmune disease of the central nervous system. Today it is specified that changes in the sequence of single nucleotides or SNPs are associated with disease or resistance to disease. In recent studies, the association of micro-RNA polymorphism has been reported with diseases such as cancer and autoimmune diseases. Micro RNA is a group of non-coding RNA that affects a variety of biological processes such as growth, cell division, and immunity.

**Materials&Methods:** blood samples were collected from 71 MS patients and 71 healthy subjects, and DNA was extracted. Genotyping analysis was performed using TARMS PCR technique. The relationship between rs3745453 polymorphism and MS was evaluated by statistical tests.

**Results:** TT, TC and CC genotypic frequencies are 34, 24 and 13 in patients and 39, 11 and 21% in control group respectively. In both groups, the TT genotype was dominant and heterozygote frequencies were higher in patients than control group. Odd ratio (OR) in TC genotype was 2.7. In other words, heterozygote individuals have a 2.7 times higher chance of MS than others

**Conclusion:** This study was the first report of the relationship between mir23a polymorphism and MS disease. According to the results, we can say that mir 23a rs3745453 polymorphism is associated with Multiple sclerosis (P = 0.029). It is suggested that further studies should be done with more samples.

**Key words:** Polymorphism, Micro RNA, Multiple sclerosis

**Acknowledgement:** There is no conflict of interest.