

Original Article

Lack of association between the variant rs10735810 in the VDR gene and the pathogenicity of Multiple Sclerosis in patients of Khuzestan MS Society

Hamid Galehdari^{1*}, Masumeh Ranjbar², Parisa Mohammadi-Nejad², Tahere Seifi¹,
Nastaran Majdi-Nasab³

¹Department of Genetics, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

²Department of Genetics, Shahr-e-Kord Azad Islamic University, Branch Shahr-e-Kord, Iran

³Department of Neurology, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

*Corresponding author; E-mail: galehdari187@yahoo.com

Received: 10 June 2018 Accepted: 29 August 2018 First Published online: 26 Feb 2020
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 April- May; 42(1):91-96

Abstract

Background: Multiple sclerosis (MS) seems to be a multifactorial disease in which the environment and genetics are involved. One of the factors associated with MS disease is the reduction in vitamin D levels and its specialized role in its pathogenicity. In Iran, Khuzestan province has a high relative incidence of the Multiple sclerosis (MS) after the provinces of Isfahan and Markazi, The polymorphism rs10735810 in the VDR gene with change in the initial codon is one of the factors associated with other known diseases, including osteoporosis and diabetes.

Methods: In this study, the association of this variant in one hundred and fifty individuals with MS disease was compared with one hundred and fifty healthy individuals. PCR-sequencing was used to determine genotypes.

Results: In the patient group, 16 cases had CC genotype, 59 had CT genotype and 75 had TT genotype, which did not show any significant difference in comparison with the control group ($P > 0.05$). Also, there was no significant difference in the alleles distribution in the patient population compared to control (50% vs. 47.55% $P = 0.47$). Additionally, no association was found between age and sex, and the ethnicity of patients ($p > 0.05$).

Conclusion: The polymorphism rs10735810 in the VDR gene showed no association to the etiology of MS.

Keyword: Multiple sclerosis, Gene variants, Vitamin D, Khuzestan Province

How to cite this article: Galehdari H, Ranjbar M, Mohammadi-Nejad P, Seifi T, Majdi-Nasab N. [Lack of association between the variant rs10735810 in the VDR gene and the pathogenicity of Multiple Sclerosis in patients of Khuzestan MS Society]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 April- May; 42(1):91-96. Persian.

مقاله پژوهشی

عدم همراهی واریانت rs10735810 در ژن VDR با روند بیماریزایی مالتیپل اسکلروزیس در بیماران MS استان خوزستان

حمید گله داری^{۱*}، معصومه رنجبر^۲، پریسا محمدی نژاد^۳، طاهره سیفی^۱، نسترن مجدی نسب^۳

^۱ گروه ژنتیک دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
^۲ گروه ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، شهرکرد، ایران
^۳ گروه مغز و اعصاب دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
 * نویسنده مسوول؛ ایمیل: galehdari187@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۰ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۷ انتشار برخط: ۱۳۹۸/۱۲/۷
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۹؛ ۹۶-۹۱(۱):۴۲

چکیده

زمینه: در ایران پس از استان های اصفهان و مرکزی، استان خوزستان دارای فراوانی نسبی بالایی از بیماری مالتیپل اسکلروزیس (MS) است. بنظر می رسد که MS یک بیماری چند عاملی باشد که محیط و ژنتیک در بروز آن نقش دارند. یکی از عواملی که به بیماری MS نسبت داده می شود کاهش سطح ویتامین دی و نقش گیرنده تخصصی آن در روند بیماریزایی آن است. در این بین واریانت rs10735810 در ژن گیرنده ویتامین دی یا VDR با تغییر در کدون آغازین از عواملی است که همراهی آن با بیماری های دیگری از جمله نرمی استخوان و دیابت گزارش شده است.

روش کار: در این مطالعه همراهی این واریانت در ۱۵۰ نفر فرد مبتلا به بیماری MS در مقایسه با ۱۵۰ نفر فرد سالم مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین ژنوتایپ از روش PCR-sequencing استفاده شد.

یافته ها: در گروه بیمار ۱۶ نفر ژنوتیپ CC، ۵۹ نفر ژنوتیپ CT و ۷۵ نفر ژنوتیپ TT داشتند که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری مشاهده نگردید ($P > 0.05$). همچنین اختلاف معنی داری در توزیع آلل ها در جمعیت بیمار نسبت به کنترل مشاهده نشد ($P > 0.05$). علاوه بر این هیچ همراهی میان این آلل با سن، جنسیت و قومیت بیماران دیده نشد ($P > 0.05$).

نتیجه گیری: بر خلاف بررسی های قبلی بر روی بیماران MS، این واریانت ارتباط معناداری با اتیولوژی بیماری نشان نداد.

کلید واژه ها: مالتیپل اسکلروزیس، گیرنده ویتامین دی، واریانت های ژنی، استان خوزستان

نحوه استناد به این مقاله: گله داری ح، رنجبر م، محمدی نژاد پ، سیفی ط، مجدی نسب ن. عدم همراهی واریانت rs10735810 در ژن VDR با روند بیماریزایی مالتیپل اسکلروزیس در بیماران انجمن MS استان خوزستان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۹۶-۹۱(۱):۴۲

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیس (OMIM126200) یک بیماری عصبی التهابی مزمن خود ایمنی سیستم اعصاب مرکزی است که طی آن سیستم ایمنی به آکسون‌های میلینه در سیستم اعصاب مرکزی حمله می‌کند و میلین را در آکسون‌ها به میزان متفاوتی تخریب می‌کند (۲) و (۱). این بیماری شایع‌ترین بیماری دمیالینه کننده‌ی التهابی سیستم اعصاب مرکزی و فراوان‌ترین عامل ناتوانی عصبی بدون ضرب‌دیدگی در افراد جوان و میان‌سال می‌باشد (۳). فراوانی این بیماری در زنان بین سنین ۲۰-۴۰ نسبت به مردان دو برابر بوده و در این بین سفیدپوستان آسیب‌پذیرتر هستند (۶ و ۵). مالتیپل اسکلروزیس در نتیجه‌ی ترکیب فاکتورهای محیطی و ژنتیکی حاصل می‌گردد (۷). تفاوت‌های بین فردی نیز در دوره و شدت بیماری دیده می‌شود (۸). مطالعات جامع ژنومی یا GWAS واریانت‌های ژنتیکی مستعد کننده‌ی بسیاری از جمله نقش ویتامین دی را برای مالتیپل اسکلروزیس پیشنهاد می‌کند (۹). جذب ویتامین دی به‌طور معنی‌داری ریسک مالتیپل اسکلروزیس را کاهش می‌دهد و سطح ویتامین دی به‌طور معکوس با ریسک رخداد مالتیپل اسکلروزیس در طول زندگی مرتبط است (۱۰). ویتامین دی یا به‌صورت خوراکی یا به‌صورت سنتز شده در پوست فراهم می‌شود. سنتز ویتامین دی تحت اثر عرض جغرافیایی، فصل، استفاده از ضد آفتاب و رنگ‌دانه‌های پوست است (۱۱). اخیراً مشخص شده است که تعداد زیادی از عناصر پاسخ‌گو به ویتامین دی (VDRE) در سراسر ژنوم هدف اتصال VDR می‌باشند. ۷-دی هیدروکلیسترون ساخته‌شده در سلول‌های پوست، در کبد تبدیل به ۲۵ هیدروکسی ویتامین D₃ و در کلیه به فرم فعال ویتامین دی تبدیل می‌گردد. این ترکیب با اتصال به VDR و سپس دایمریزه شدن به شکل هتروداپمر وارد هسته می‌شود. این کمپلکس در هسته به نواحی پرموتوری ژن‌های پاسخ‌گو به ویتامین دی متصل و بیان ژن‌های پاسخ‌گو به ویتامین دی را القا می‌کند (۱۲ و ۱۳). قابل توجه است که لوکوس‌های ژنی شناخته شده و همراهی‌کننده با مالتیپل اسکلروزیس به‌طور قابل توجهی غنی از محل‌های اتصال به VDR هستند (۱۴ و ۱۵). با توجه به اهمیت این گیرنده در اتیولوژی MS و همچنین گزارش‌های همراهی پلی مورفیسم rs10735810 واقع در ناحیه‌ی تنظیمی ژن VDR، ۱۵۰ فرد مبتلا به مالتیپل اسکلروزیس در مقایسه با ۱۵۰ فرد سالم تعیین ژنوتیپ شدند. لازم بذکر است که پلی مورفیسم مذکور منجر به تغییر ساختار آمینواسیدی (با تغییر ACG به ATG باعث ایجاد کدون آغاز جدید و افزودن سه آمینواسید به ابتدای این گیرنده می‌شود) گیرنده ویتامین دی می‌گردد.

روش کار

با توجه به اینکه در شروع انجام این تحقیق نزدیک به ۲۰۰ بیمار در انجمن بیماران MS در اهواز ثبت شده بودند، در این مطالعه از ۱۵۰ فرد مبتلا به MS در دسترس و داوطلب مشارکت در این تحقیق و همچنین از ۱۵۰ فرد سالم به صورت تصادفی نمونه‌گیری

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از افراد بیمار با گروه کنترل شامل ۱۵۰ فرد سالم مورد مقایسه قرار گرفت. افراد گروه کنترل هیچ‌گونه سابقه بیماری خودایمنی یا هرگونه بیماری التهابی دیگر را نداشته و از نظر سن و جنس با جامعه بیمار مطابقت داشتند و در تعادل هاردی واینبرگ بودند. اطلاعات در مورد سن و جنس و قومیت گروه بیمار و کنترل بر اساس پرسشنامه‌های تنظیم شده در جدول ۱ آورده شده است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری مربوط به تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم rs10735810 مورد مطالعه در ۳۰۰ نمونه در جدول ۲ ارائه شده است. نسبت قومیت بیماران با ۵۲٪ فارس و ۴۸٪ عرب محاسبه شد. همچنین فراوانی آللی برای آلل T در جامعه بیمار و کنترل ۷۰٪ و برای آلل C ۳۰٪ مشاهده گردید. بیشترین و کمترین درجه ناتوانی (EDSS) در بیماران برترتیب با ۲٪ برای درجه ۵ و ۶۴٪ برای درجه ۳-۱ بوده است. از نظر علائم بالینی، ۷۶٪ بیماران دارای علائم حسی، ۷۰٪ علائم حرکتی و ۶۴٪ علائم منحنه ایی داشته‌اند. بیشترین نوع بیماری با ۸۲٪ متعلق به نوع عودکننده فروکش کننده یا RRMS مشاهده گردید.

جدول ۱: اطلاعات عمومی دو گروه مورد مقایسه و بر اساس پرسشنامه در این بررسی بشرح زیر می باشد:

گروه	جنسیت	تعداد	قومیت	تعداد(%)	مجموع
بیمار	زن	۱۰۸(۷۲)	عرب	۶۲(۴۱/۳)	۱۵۰
	مرد	۴۲(۲۸)	غیرعرب	۸۸(۵۸/۷)	
کنترل	زن	۹۴(۶۲/۷)	عرب	۵۵(۳۶/۷)	۱۵۰
	مرد	۵۶(۳۷/۳)	غیرعرب	۹۵(۶۳/۳)	

جدول ۲: فراوانی ژنوتیپ افراد مورد مطالعه در rs10735810 C>T ژن VDR

ژنوتیپ	بیمار			کنترل		
	مرد(N%)	زن(N%)	کل(N%)	مرد(N%)	زن(N%)	کل(N%)
TT	۲۵(۳۳/۳)	۵۰(۶۶/۷)	۷۵(۵۰)	۲۷(۳۸)	۴۴(۶۲)	۷۱(۴۷/۳)
CT	۱۴(۲۳/۷)	۴۵(۷۶/۳)	۵۹(۳۹/۳)	۲۲(۳۲/۸)	۴۵(۶۷/۲)	۶۷(۴۴/۷)
CC	۳(۱/۸)	۱۳(۱۸/۲)	۱۶(۱۰/۷)	۷(۵/۸)	۵(۴/۷)	۱۲(۸)

دهد، در بین دو گروه بیمار و کنترل مقایسه‌ای بین مجموع ژنوتیپ TT+CT و CC+CT صورت گرفت که باز هم اختلاف معناداری مشاهده نشد که تایید کننده‌ی مطالعه اخیر است (۱۸). طی محاسبات صورت گرفته برای تعیین فراوانی ژنوتیپ به تفکیک قومیت و جنسیت، اختلاف معناداری بین ژنوتیپ‌های افراد بیمار و کنترل در مرد و زن و قومیت عرب و غیرعرب مشاهده نشد.

در بررسی همراهی ژنوتیپ‌های این پلی مورفیسم با درجه‌ی EDSS هیچ گونه اختلاف معناداری مشاهده نشد. همچنین بین نوع MS و ژنوتیپ‌های مختلف این پلی مورفیسم اختلاف معناداری مشاهده نشد. در این تحقیق مانند مطالعه‌ی قومیتی که در سال ۲۰۱۳ توسط sharfedin Zadeh و همکاران در استان خوزستان انجام شد علائم به چهار دسته کلی حسی و حرکتی و بینایی و مخچه‌ای تقسیم شد (۲۰ و ۱۹). بررسی همراهی علائم و ژنوتیپ‌های مختلف این پلی مورفیسم نیز اختلاف معناداری را نشان نداد. در جمعیت بیمار مورد مطالعه نسبت زنان به مردان ۲/۵۷ بود که این یافته با ابتلای بیشتر زنان به این بیماری مطابقت دارد (۲۲-۲۰). این نسبت در سال ۲۰۱۳ در ایران بین ۱/۸ تا ۳/۸ گزارش شده است (۵). همچنین نشان داده شد که فراوانی بیماران با قومیت فارس (۵۸/۷٪) بیش از بیماران با قومیت عرب (۴۱/۳٪) می‌باشد. این یافته تاییدکننده‌ی گزارشات قبلی در خوزستان است که نشان می‌دهد شیوع این بیماری در قومیت فارس بیشتر از قومیت عرب می‌باشد (۶). یکی از مطالعات بالینی انجام شده، بررسی نوع MS در این بیماران بود. نوع بیماری با توجه به تعداد حملات و فاصله‌ی بین آنها، طول دوره‌ی بیماری، شدت و پیشرفت بیماری و غیره توسط پزشک تعیین شد. نتایج حاکی از این بود که بیشترین فراوانی مربوط به RRMS (۸۲ درصد از بیماران) بوده که این یافته نیز با نتایج به دست آمده در دیگر مطالعات هم‌خوانی دارد. به عنوان مثال در مطالعه‌ی Kalanie در سال ۲۰۰۳ تعداد بیماران RRMS ۸۸٪ گزارش شد (۲۳). همانطور که قبلاً گفته شد، بیماری MS علائم بالینی متنوعی داشته و در

برای تعیین فراوانی ژنوتیپی بین زنان و مردان، اختلاف معناداری بین ژنوتیپ‌ها در مرد و زن در افراد بیمار و کنترل مشاهده نگردید. از نظر قومیتی نیز در دو قوم عرب (P=۰/۴۳) و فارس (P=۰/۷۳) اختلاف معناداری بین ژنوتیپ افراد بیمار و کنترل مشاهده نگردید. در یک مقایسه کلی بین فراوانی ژنوتیپی دو گروه بیمار و کنترل، صرف‌نظر از جنسیت و قومیت، اختلاف معناداری را نشان ندادند (P>۰/۰۵). با استفاده از رگرسیون لجستیک، Odd Ratio و P-value ژنوتیپ مورد نظر، سنجیده شد. با فرض اینکه وجود یک ال C یا یک ال T هم می‌تواند احتمال خطر بیماری را تغییر دهد، در بین دو گروه بیمار و کنترل مقایسه‌ای بین مجموع ژنوتیپ TT + TC و CC+CT صورت گرفت که در هیچ یک از موارد فوق اختلاف معناداری بین دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد. جهت بررسی و شناخت بیشتر ارتباط پلی مورفیسم و نوع بیماری، فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم rs10735810 بر اساس جنسیت نمونه‌ها با نوع MS مورد بررسی قرار گرفت و آنالیزهای آماری ارتباط میان EDSS و گروه بیماری با ژنوتیپ را در سطح P=0.64 و P=0.06 رد کرد.

بحث

در این مطالعه سعی بر آن بود که همراهی میان پلی مورفیسم rs10735810 ژن VDR و بیماری MS در جمعیت استان خوزستان بررسی گردد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط سه ژنوتیپ ممکن این پلی مورفیسم با بیماری MS بوده است. در حقیقت بدون هیچ‌گونه پیش‌فرض و انتظاری در مورد ارتباط ژنوتیپی خاص از این پلی مورفیسم‌ها با بیماری MS، فراوانی هر سه ژنوتیپ در دو گروه بیمار و شاهد برآورد گردید. در پلی مورفیسم rs10735810 در یک مقایسه کلی بین فراوانی ژنوتیپی دو گروه بیمار و کنترل، صرف‌نظر از جنسیت و قومیت اختلاف معناداری بین دو گروه مشاهده نشد. با فرض اینکه وجود یک ال T یا یک ال C هم می‌تواند احتمال خطر بیماری را تغییر

نتیجه گیری

در نهایت می توان احتمال داد که بر خلاف اهمیت ویتامین دی و گیرنده آن در بیماری های پیشرونده تحلیل عصبی و بخصوص MS، پلی مورفیسم مورد مطالعه حاضر نقشی در روند بیماری زایی MS نداشته است هر چند این پلی مورفیسم باعث تغییر در ساختار اولیه ژن می شود. لذا پیشنهاد می گردد که بررسی مشابه ایی در سایر اقوام ایرانی صورت گیرد تا بتوان بصورت مطمئن تری بر وجود یا عدم وجود همراهی این پلی مورفیسم در بیماران ایران نتیجه گیری نمود.

قدردانی

با تشکر از انجمن MS خوزستان و بیمارانی که ما را در این مطالعه یاری نمودند.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه تحت نظارت کمیته اخلاق انجمن MS خوزستان انجام شد.

منابع مالی

این مطالعه منابع مالی ندارد.

منافع متقابل

مؤلفان اظهار می دارند که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مؤلفان

ح گ و ن م و بقیه همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشته اند. ح گ همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

افراد مختلف تعدادی از این علائم بروز می یابد، بنابراین اطلاعات مربوط به علائم بالینی در پرسشنامه جمع آوری شده و در چهاردسته کلی قرار داده شد و میزان فراوانی هریک از آن ها مورد بررسی قرار گرفت و می توان گفت که بیشترین علائم مربوط به علائم حسی و کمترین آن مربوط به علائم مخچه ای در جمعیت استان خوزستان می باشد. از نظر درجه ی ناتوانی یا EDSS نیز بیشترین افراد در جمعیت مورد مطالعه درجه ی ناتوانی بین ۳-۱ داشتند و فراوانی بیماران با درجه ی ناتوانی بیشتر از ۵ نیز بسیار کم بود. در این مورد نیز نتایج مشابه مطالعات دیگر می باشد. البته میانگین درجه ی ناتوانی بدست آمده در جمعیت مورد مطالعه ۱/۴۶ بود که این میزان از نتایج مطالعات قبلی که در دانشگاه شهید چمران انجام شده، کمتر بود (نتایج هنوز منتشر نشده است). همانطور که قبلا گفته شد MS یک بیماری چندعاملی است که بروز آن تحت تاثیر عوامل مختلف ژنتیکی، اپی ژنتیکی و محیطی قرار دارد. مطالعه ی نقش عوامل ژنتیکی در بروز MS بسیار گسترده و پیچیده است. تحلیل این بیماری از نظر ژنتیکی علاوه بر شناسایی، مطالعه و تخمین سهم اثر ژن های مختلف دخیل در این بیماری و واریانت های موجود در آنها، نیازمند شناسایی و درک میانکنش های بین این ژن ها و واریانت ها و همچنین اثرات تجمعی آنها می باشد. علاوه بر این مسائلی مانند تاثیرات اپی ژنتیک، تفاوت های نژادی (نقش و اثر متفاوت واریانت های ژنتیکی موجود در جمعیت های نژادی مختلف)، نقش عوامل محیطی و سبک زندگی، معیار و روش انتخاب و تهیه ی نمونه ها و روش تعیین ژنوتیپ و تحلیل های آماری عوامل دیگری هستند که بر پیچیدگی این مطالعات می افزایند. لذا عوامل ذکر شده می تواند تفاوت و تنوع موجود در نتایج مطالعات ذکر شده و مطالعه ی حاضر را توجیه نماید.

References

- Bogdan F, Popescu Gh, Istvan P, Claudia F. Pathology of Multiple Sclerosis: Where Do We Stand? *American Academi of Neurology* 2013; **19**(4): 901-992. doi: 10.1212/01.CON.0000433291.23091.65.
- Bettencourt A, Boleixa D, Luísa A, Bárbara G, Cláudia L, Sandra C, Raquel B, et al. The vitamin D receptor gene FokI polymorphism and Multiple Sclerosis in a Northern Portuguese population. The vitamin D receptor gene FokI polymorphism and Multiple Sclerosis in a Northern Portuguese population. *Neuroimmunology* 2017; **309**: 34-37. doi: 10.1016/j.jneuroim.2017.05.005
- Cierny D, Michalik J, Skerenova M, Kantorova E, Sivak S, Javor J. ApaI, BsmI and TaqI VDR gene polymorphisms in association with multiple sclerosis in Slovaks. *Neurological Research* 2016. doi: 10.1080/01616412.2016.1200287
- Olaf Stuve J O. Multiple Sclerosis Overview. 2010.
- Elhami S R. A 20-year incidence trend (1989–2008) and point prevalence (March 20, 2009) of multiple sclerosis in Tehran, Iran: a population-based study. *Neuroepidemiology* 2011; **36**: 141-147. doi: 10.1159/000324708
- Etemadifar M. Epidemiology of multiple sclerosis in Iran: a systematic review. *European neurology* 2013; **70**: 356-363. doi: 10.1159/000355140
- Conner P. Key issues in the diagnosis and treatment of multiple sclerosis. *Neurology* 2002; **59**: 1-33. doi: 10.1212/WNL.59.6_suppl_3.S1.
- Antel J. Primary progressive multiple sclerosis: part of the MS disease spectrum or separate disease entity? *Acta Neuropathologica* 2012; **123**: 627-638. doi: 10.1007/s00401-012-0953-0
- Stephen S, JM Franklin R, Ban M. Multiple sclerosis genetics. *The Lancet Neurology* 2014; **13**: 700-709.

10. Fatimah M. Update in vitamin D and multiple sclerosis. *Neurosciences (Riyadh)* 2015; **20**(4), 329-335. doi: 10.17712/nsj.2015.4.20150357
11. Martina B, Mark S, Anthony T. Vitamin D and Multiple Sclerosis: A Comprehensive Review. *Neurol Ther* 2018; **7**: 59-85. doi: 10.1007/s40120-017-0086-4
12. Rabeah A, Al-Temaimi A, Al-Enezi A, Al-Serri R, Al-Mulla F. The Association of Vitamin D Receptor Polymorphisms with Multiple Sclerosis in a Case-Control Study from Kuwait. doi: 10.1371/journal.pone.0142265
13. Xiao-Long Ch, Ming-Liang Z. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of multiple sclerosis: An updated meta-analysis. *Microbial Pathogenesis* 2017; **110**: 594-602. doi:10.1016/j.micpath.2017.08.002
14. Dirk F, Simons M. Chronic progressive multiple sclerosis-pathogenesis of neurodegeneration and therapeutic strategies. *Current neuropharmacology* 2010; **8**: 305-315. doi: 10.2174/157015910792246218
15. Fred L D, Baier M, Cutter G. Effect of relapses on development of residual deficit in multiple sclerosis. *Neurology* 2003; **61**: 1528-1532. doi: 10.1212/01.wnl.0000096175.39831.21
16. Polman C H. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Annals of neurology* 2005; **58**: 840-846.
17. McDonald W. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of neurology* 2001; **50**: 121-127. doi: 10.1002/ana.1032
18. Tsang B K, Macdonell R. Multiple sclerosis-diagnosis, management and prognosis. *Australian family physician* 2011; **40**: 948-955.
19. Hauser Stephen L, Oksenberg J R. The neurobiology of multiple sclerosis: genes, inflammation, and neurodegeneration. *Neuron* 2006; **52**: 61-76. doi: 10.1016/j.neuron.2006.09.011
20. Hanne F, Harbo M, Tintore M. Sex and gender issues in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord* 2013; **6**(4): 237-248. doi: 10.1177/1756285613488434
21. Klein R, Burton J. The Gender Divide in Multiple Sclerosis. *A Review of the Environmental Factors Influencing the Increasing Prevalence of Multiple Sclerosis in Women* 2014; **82**.
22. Izadi S, Nikseresh A R, Poursadeghfard M, Borhanihaghighi A, Heydari S T. Prevalence and Incidence of Multiple Sclerosis in Fars Province, Southern Iran. *IJMS* 2015; **40**(5): 238.
23. Kalanie H, Gharagozli K, Kalanie A R. Multiple sclerosis: report on 200 cases from Iran. *Multiple Sclerosis* 2003; **9**(1): 36-38. doi: 10.1191/1352458503ms887oa