Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 22, No. 2, Summer 2022, Pages 168-185

Investigating the Expression level of miRNA-21, miRNA-155, miRNA-182, and miRNA-437 along with Inflammatory Markers in Cerebrospinal Fluid of Patients with Multiple Sclerosis

Shademan B[1], Nikanfar M[2], Rezaei J[3], Hassanpour M[4], Nouri M[4], Nourazarian A*[5]

1. Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, EGE University, Izmir, Turkey
2. Department of Neurology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
3. Stem Cell Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4. Department of Biochemistry and Clinical Laboratories, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
5. Department of Basic Medical Sciences, Khoy University of Medical Sciences, Khoy, Iran

**** Corresponding author.*** Tel: +989143150061, Fax: +984436255777, E-mail: noorazarian_a@khoyums.ac.ir

Received: Oct 1, 2022 Accepted: Nov 15, 2022

ABSTRACT

Background & objectives: Evidence suggests that microRNAs (miRNAs) are essential for immune cell differentiation and function. In addition, miRNAs play an essential role in regulating the expression of pro-inflammatory genes in neurons. Therefore, we investigated the relationship between miRNA expression and inflammatory markers in the CSF of patients with multiple sclerosis.

Methods: RT-PCR analysis was performed on CSF samples from patients with multiple sclerosis (MS) and a control group to measure the expression level of miRNA-21, miRNA-155, miRNA-182, and miRNA-437. In addition, the levels of the inflammatory cytokines including IL-1β, IL-6, and TNF-α in CSF were measured using ELISA. A quantitative turbidimetric method was also used to measure high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP).

Results: A significant difference was found in the expression level of miRNAs and inflammatory factors in the CSF of patients with MS compared with the control group (p<0.05). The results of receiver operating characteristic (ROC) analysis showed the area under the curve for miRNA-21 (AUC=0.97, p<0.0001), miRNA-182 (AUC=0.97, p<0.0001), and miRNA-155 (AUC=0.96, p<0.0001). The miRNA-155 level in CSF played a very important role in the accurate diagnosis of MS. Significant correlations were found between inflammatory cytokines and miRNA-21, miRNA-155, and miRNA-182, as well as an indirect and moderate correlation between miRNA-437 and hs-CRP.

Conclusion: In MS patients, CSF levels of IL-1, IL-6, TNF-α, hs-CRP, and selected miRNAs can be used as biomarkers of CNS inflammation and neurodegenerative processes.

Keywords: Multiple Sclerosis (MS); MicroRNAs; Inflammatory Markers; Receiver Operating Characteristics (ROC)

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]

[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

بررسی بیان miRNA-21، miRNA-155، miRNA-182 و miRNA-437 همراه با نشانگرهای التهابی در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به مولتیپل‌اسکلروزیس

بهروز شادمان [۱]، مسعود نیکان فر [۲]، جعفر رضایی [۳]، مهدی حسن پور [٤]، محمد نوری [٤]، علیرضا نورآذریان [۵*]

۱. گروه زیست شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه EGE، ازمیر، ترکیه
۲. گروه بیماری‌های مغز و اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳. مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
٤. گروه بیوشیمی و آزمایشگاه‌های بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۵. گروه علوم پایه پزشکی، دانشکده علوم پزشکی خوی، خوی، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن : ۰٤٤۳۶۲۵۵۷۷۷ فاکس : ۰٤٤۳۶۲۵۵۷۷۷ پست الکترونیک: noorazarian_a@khoyums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: میکروRNAها بر تمایز و عملکرد سلول‌های التهابی تأثیر می‌گذارند. علاوه بر این، آن‌ها می‌توانند بیان ژن‌های پیش التهابی را در نورون‌ها تنظیم کنند. بنابراین در این مطالعه میزان بیان میکرو RNAها و ارتباط آن‌ها با فاکتورهای التهابی مایع مغزی نخاعی (CSF) در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (MS) بررسی شده است.

روش کار: از RT-PCR برای تعیین میزان بیان miRNA-21، miRNA-155، miRNA-182 و miRNA-437 در نمونه‌های مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به MS و گروه کنترل استفاده گردید. سطح سیتوکین‌های التهابی IL-1β، IL-6 و TNF- αدر مایع مغزی نخاعی با استفاده از الیزا اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، سطوح پروتئین hs-CRP با استفاده از تکنیک‌های کدورت‌سنجی کمی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بیان میکرو RNAها و عوامل التهابی در مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به MS به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($p<۰/۰۵$). نتایج تجزیه و تحلیل منحنی ROC نشان داد که ناحیه زیر منحنی برای miR-21(۰/۹۷ ،$p<۰/۰۰۰۱$)، miRNA-182(۰/۹۷ ،$p<۰/۰۰۰۱$) و برای miRNA-155(۰/۹۶،$p<۰/۰۰۰۱$) نشان داد. بالاترین میزان تشخیص صحیح بیماران مبتلا به MS مربوط به سطوح miRNA-155 در مایع مغزی نخاعی بود. علاوه بر این رابطه معنی‌دار آماری بین سایتوکاین‌های التهابی و miRNA-21، miRNA-155 و miRNA-182 بود، اما یک همبستگی غیرمستقیم و متوسط معنی‌دار بین miRNA-437و hs-CRPمشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطوح IL-1β، IL-6، TNF-α، hs-CRP تحت تاثیر میکرو RNAهای انتخابی مایع مغزی نخاعی قرار می‌گیرند. این میکرو RNAها می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی التهاب سیستم عصبی مرکزی و فرآیندهای تخریب عصبی در بیماران مبتلا به MS مهم تلقی شوند.

واژه‌های کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس، میکرو RNAها، نشانگرهای التهابی، منحنی عملیاتی گیرنده (ROC)

دریافت: ۱٤۰۱/۷/۹ **پذیرش:** ۱٤۰۱/۸/۲٤

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری خود ایمنی است که در آن کمبود دفاع ایمنی یکی از مشکلات اصلی در سیستم عصبی مرکزی انسان است. علیرغم عدم درک دقیق دخالت سیستم ایمنی در بیماری‌ها، هنوز عوامل مختلف زیادی وجود دارد [۱،۲] که شامل

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

ناتوانی ایمونولوژیک در تشخیص خود از غیر خود، التهاب مداوم سیستم عصبی مرکزی و تغییرات ناگهانی در ایمنی تطبیقی است. بیماری‌های ماده خاکستری در ایجاد ناتوانی در MS نقش دارند. دمیلیناسیون، از دست دادن/ آتروفی نرون، و کاهش تراکم سیناپس یا گلیال به رشد آن‌ها کمک می‌کند [۱]. میکروگلیا و آستروگلیا با حمله به سلول‌های T فعال می‌شوند و به تغییرات سیناپسی و عصبی کمک می‌کنند [۲].

مایع مغزی- نخاعی (CSF) برای حفظ ثبات شیمیایی بافت مغز و از بین بردن سموم متابولیک و مواد زائد ضروری است. ترکیب مولکولی مایع مغزی- نخاعی مانند مغز است. بنابراین، تجزیه و تحلیل مایع مغزی- نخاعی منبع بالقوه بیومارکرهای جدید بیماری‌های عصبی است. علاوه بر این، امکان ارزیابی مستقیم فرآیندهای التهابی خاص در سیستم عصبی مرکزی و تشخیص تغییرات الگوی ایمنی مرتبط با پیشرفت بیماری را فراهم می‌کند [۳]. علاوه بر این، نشانگرهای التهابی مانند اینترلوکین-۱، اینترلوکین-۶، TNF-α و CRP در مایع مغزی- نخاعی افراد مبتلا به بیماران مبتلا به MS شناسایی شده است [۴،۵]. سیتوکین‌ها برای فعال‌کردن سیستم ایمنی ضروری هستند و در توسعه و حفظ محیط التهابی نقش دارند. با این حال، پروفایل سیتوکین در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به MS محدود و ناسازگار است [۶]. چندین مطالعه نشان داده‌اند که نمونه‌های سرم بیماران مبتلا به MS، IL-6 را افزایش می‌دهند. با این حال، این مطالعات نشان می‌دهد که تغییرات کمی در مقایسه با گروه-های کنترل وجود دارد یا فقط علائم جزئی وجود دارد [۷-۹]. در طول عودها و در ارتباط با اختلالات عصبی موجود، سرم بیماران اماس عودکننده- فروکش کننده (RRMS) افزایش IL-6 را نشان می‌دهد [۱۰،۱۱]. CRP یک واکنش‌دهنده فاز حاد است که توسط بافت کبد در پاسخ به آسیب، عفونت یا التهاب منتشر می‌شود که محرک‌های مختلف گیرنده‌های خاصی را برای سیتوکین‌های اینترلوکین-۱ و اینترلوکین-۶ فعال می‌کنند [۱۲،۱۳]. در بسیاری از مطالعات، سطوح CRP در خون افراد مبتلا به زیرگروه‌های بالینی مختلف اماس با پاتوفیزیولوژی-های معمولی و مشخصه در زمان نمونه‌گیری تعیین شد. بنابراین، سطح پروتئین پلاسما و سرم در بیماران مبتلا به اماس تمایز نیافته بالینی و در طول بیماری RRMS اندازه‌گیری شد و در طول بهبودی و مرحله پیشرونده بیماری در محدوده مرجع بود [۱۴،۱۵]. افزایش سطح پروتئین خون در افراد مبتلا به RRMS در طول بهبودی بالینی، مراحل پیشرونده اولیه و ثانویه و حتی در زنان باردار مبتلا به MS مشاهده شده است [۱۶]. بنابراین، مطالعات بیشتری برای تعیین مشخصات سیتوکین مایع مغزی- نخاعی و نقش آن در پاتوژنز بیماران مبتلا به MS مورد نیاز است.

میکرو RNAها، RNAهای کوتاه غیر کدکننده با طول ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتید هستند. آن‌ها به عنوان میکروRNAهای اولیه از توالی‌های DNA سنتز می‌شوند و سپس به میکرو RNAهای پیش‌ساز و بالغ پردازش می‌شوند. میکرو RNAهایی با اتصال مکمل خوب یا تقریباً کامل به میکروRNAهای هدف خود متصل و موجب تخریب میکروRNA یا کاهش ترجمه میکروRNA می‌شوند [۱۷،۱۸]. تمام مایعات بدن، بافت‌ها و اکثر انواع سلول‌ها حاوی میکروRNA هستند [۱۲]. با این حال، مکانیسم‌های مولکولی زیربنایی سیناپتوپاتی مرتبط با التهاب هنوز مشخص نیست. میکروRNAها فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیک مختلف را با سرکوب RNAهای پیام رسان پس از رونویسی کنترل می‌کنند. آن‌ها کاندیدهای خوبی برای آسیب سیناپسی التهابی هستند و بر تمایز و عملکرد سلول‌های التهابی تأثیر می‌گذارند [۱۸]. miRNA-182-5p یک فاکتور رونویسی است که بیان FOXO1 را در سلول‌های T تنظیم می‌کند و بر تمایز و فعال‌سازی آن‌ها تأثیر می‌گذارد. علاوه بر این، miR-21 تبدیل سلول‌های T به سلول‌های Th1، تولید IFN و بیان Foxp3 را تحریک می‌کند. علاوه‌براین

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

بیان miRNA-21 و miRNA-437 در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به MS نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد [۱۹]. در آستروسیت‌ها، miRNA-155 بیان ژن‌های پیش التهابی را کنترل می‌کند [۲۰]. بیان miRNA-155 در آستروسیت‌های فعال در ضایعات بیماران مبتلا به MS شناسایی شده است [۲۱]. سرکوب miRNA-155 باعث افزایش سیتوکین پیش التهابی IL-1 می‌شود [۲۲]. با توجه به اهمیت حیاتی MS و عدم درمان موثر، تشخیص دقیق و پیش‌آگهی، بررسی و کشف مسیرهای سیگنالینگ مولکولی بیماری‌زا در MS ضروری است. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین بیان miRNA-21، miRNA-155، miRNA-182 و miRNA-437 و نشانگرهای التهابی در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به MS انجام شد.

روش کار

انتخاب نمونه

این مطالعه مورد- شاهدی مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز (TBZMED.REC.1399.765) قرار گرفت. هر یک از شرکت‌کنندگان یک فرم رضایت آگاهانه کتبی را تکمیل کردند. برای این مطالعه ۵۰ نفر از بیمارستان رازی (تبریز، ایران) و کلینیک‌های تخصصی و فوق‌تخصصی دانشگاه علوم پزشکی تبریز زیر نظر متخصص مغز و اعصاب انتخاب شدند. گروه کنترل از بین افرادی که آنالیزهای بیوشیمیایی و مایع مغزی- نخاعی و نتایج MRI طبیعی داشتند انتخاب شدند. بیماران مبتلا به MS توسط یک متخصص مغز و اعصاب با تجربه با استفاده از بیومارکرهای استاندارد سرم و مایع مغزی- نخاعی تشخیص داده شدند. برای تفسیر یافته‌های MRI از معیارهای مک دونالد استفاده شد. این مطالعه بر روی افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس عودکننده- فرودکننده (RRMS) متمرکز شد. ۲۵ بیمار (۱۲ مرد و ۱۳ زن) در گروه مورد و ۲۵ نفر (۱۰ مرد و ۱۵ زن) در گروه شاهد قرار گرفتند. برای جمع‌آوری اطلاعات دموگرافیک مانند سن، جنس، سن شروع، مدت زمان بیماری و درمان از پرسشنامه استفاده شد. به عنوان گروه کنترل، از مایع مغزی- نخاعی طبیعی باقی‌مانده از افراد سالم بدون سابقه بیماری نورودژنراتیو، به ویژه بیماران مبتلا به MS، و با یافته‌های بیوشیمیایی و MRI طبیعی استفاده گردید. عوامل مخدوش‌کننده شامل بسیاری از بیماری‌های مزمن (مانند کبد، کلیه، دیابت)؛ بیماری‌های عفونی؛ سرطان؛ آلرژی؛ بیماری‌های مبتنی بر ایمنی، استفاده از داروهای سرکوب‌کننده سیستم ایمنی (کورتیکواستروئیدها)؛ استفاده از مکمل‌های غذایی؛ و سیگارکشیدن و استفاده از مواد غذایی حاوی ویتامین‌های C و E، سلنیوم، بتاکاروتن و Q-10 در طول سه ماه گذشته است که باعث اختلالات خونی و مشکلات قلبی در هنگام فعالیت بدنی شدید می‌شود.

نمونه برداری

طبق پروتکل‌های جمع‌آوری مایع مغزی- نخاعی، مایع مغزی- نخاعی بلافاصله پس از نمونه‌گیری برای استخراج مایع مغزی- نخاعی بدون سلول در g × ۴۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع مغزی- نخاعی و RNA از کشت‌های بدون سلول استخراج و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا RNA استخراج شود [۲۳].

تجزیه و تحلیل میکرو RNAهای در حال گردش

استخراج و خالص سازی RNA

RNA کل از مایع مغزی- نخاعی مطابق دستورالعمل سازنده با استفاده از کیت جداسازی mirVana-PARIS Isolation (Applied Biosystems) جدا شد. در این روش، محلول دناتوره‌کننده دو به یک با ۳۰۰ میکرولیتر مایع مغزی- نخاعی رقیق شد. مقادیر مساوی فنل اسید و کلروفرم مخلوط شدند. فاز آبی با سانتریفیوژ جمع‌آوری شد و با اتانول ۱۰۰ درصد روی کارتریج فیلتر مخلوط شد. سپس سه بار با ۴۰ میکرولیتر آب بدون نوکلئاز شسته شد.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

میکرو RNA های در گردش و تقویت محصولات

میکـرو RNAهـا از نمونـه‌هـای CSF جـدا شـد و بـا استفاده از کیت رونویسی معکوس miRNATaqMan و Multiplex RT از شـرکت Applied Biosystems پـردازش شـد. از پرایمرهـای TaqMan PreAmp Master Mix و Megaplex PreAmp Primer شرکت Applied Biosystems بصورت آماده بـرای تقویـت محصـولات RT بـرای تجزیـه و تحلیـل CSF استفاده شد. تـوالی تمـام پرایمرهـای مـورد اسـتفاده بـــرای miRNA-21، miRNA-155، miRNA-182، miRNA-437 و miRNA-17 در جـدول ۱ مشـخص شده است.

جدول ۱. توالی پرایمرهای که مورد استفاده قرار گرفته اند.

ژن ها	توالی پرایمرها
miRNA-21	Forward: 5'-CGGCGGTAGCTTATCAGACTGATGT-3' Universal Reverse: 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'
miRNA-155	Forward: 5'-CGGCGCTTAATGCTAATCGTGATAG-3' Universal Reverse: 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'
miRNA-182	Forward:5′-TCTGGCCTGGCTTGTGCTG-3′ Universal Reverse: 5′-GGCTTCCCAGCTGACTTGAG-3′
miRNA-437	Forward: 5′-CGTTATAATACAACCTGATAAGTG-3′ Universal Reverse: 5′-GGTCCCAGCTGACTATCCG-3′
miRNA-17	Forward: 5′-GGTACCTTCTTTTCTTTCAGCAGG-3′ Universal Reverse: 5′-CCTCGAGGTGTTTCAGCCTCTATCCC-3′

بررسی تغییرات بیان ژن‌ها

پروب‌های هیدرولیز (AppliedBiosystems) TaqMan برای ارزیابی کاندیدهای میکرو RNA در حال گردش در نمونه‌های اعتبار سنجی استفاده شد. بیـان هـر ژن با اسـتفاده از روش Real-Time PCR بـا اسـتفاده از ابـــزار Real-time PCR Light-Cycler® 480 (Roche Diagnostics، آلمان) تعیـین شـد. داده‌هـای خام با استفاده از روش Pfaffl با نرمال سـازی بـه ژن miRNA-17 به‌عنوان پایدارترین میکرو RNA بـرای عادی سازی سطوح بیان تجزیه و تحلیل شد.

اندازه‌گیری سیتوکین‌های التهابی

سطوح سیتوکین‌های التهـابی، IL-1β، IL-6، و TNF-α با استفاده از الیزا بر اساس دستورالعمل‌هـای شـرکت Elabscience Biotechnology Inc. (Cat. No. E-EL-H0149; Boster Biological Technology Inc., China), (Cat. NO. EK0410, USA) and Abcam (Cat. NO. ab181421, USA) تعیین شد. سطح سرمی hs-CRP با روش کمی کدورت سنجی تعیین شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای نمایش داده‌های کیفی، از فراوانـی و درصـد و از میانگین و انحراف معیار برای توصیف داده‌هـای کمـی استفاده شد. برای بررسی توزیع نرمال داده‌های کمی از آزمـون تـک نمونـه‌ای کولمـوگروف- اسـمیرنوف استفاده شد. از آنجایی که توزیع سنی بین گروه مورد و شـاهد نرمـال بـود، بـرای مقایسـه میـانگین سـنی آزمودنی‌ها بین گروه مـورد و شـاهد از آزمـون تـی اسـتفاده شـد. بـه دلیـل توزیـع غیرطبیعـی داده‌هـای مربوط به نشانگرهای زیستی میکروRNAها و عوامـل التهابی در مایع مغزی- نخاعی، از آزمون من- ویتنـی[1] برای ارزیابی سطوح این بیومارکرها بین گروه مـورد و شاهد استفاده شد. از آزمون اسپیرمن برای ارزیابی رابطه بین بیان میکـرو RNAهـا و عوامـل التهـابی در مایع مغزی- نخاعی اسـتفاده شـد. همچنـین از آنـالیز منحنـــی ROC بـــرای ارزیـــابی قـــدرت تشخیصـــی

[1] Mann-Whitney U

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

بیومارکرهای میکرو RNA در بیماران اماس استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS-23 انجام شد و برای ترسیم نمودارها از GraphPad Prism 8 استفاده شد.

یافته ها

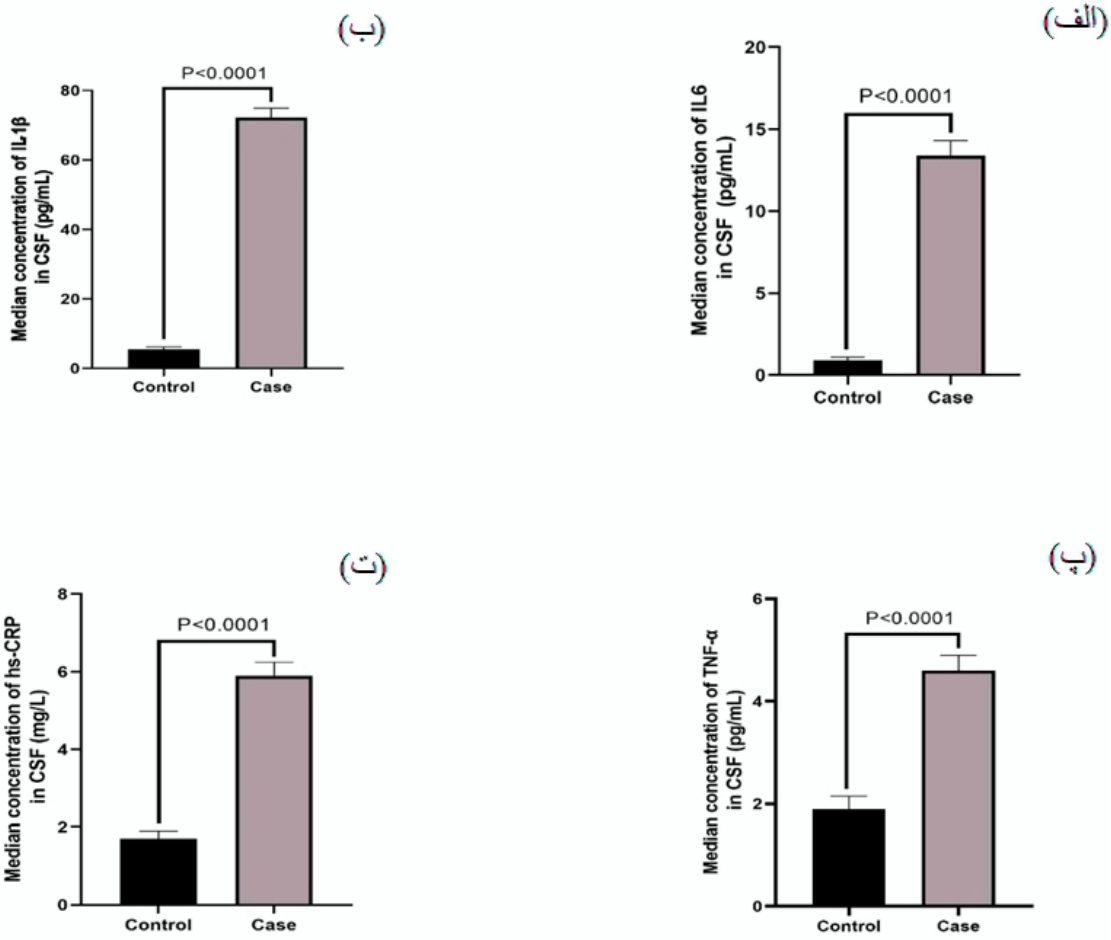
مشخصات دموگرافیکی

از ۵۰ نمونه مورد مطالعه، ۲۵ نمونه از بیماران مبتلا به MS و ۲۵ نمونه از گروه کنترل بودند. تعداد زنان ۱٤ (٥٦٪) و مردان ۱۱ (٤٤٪) در هر دو گروه یکسان بود. میانگین سنی آزمودنی‌ها در گروه مورد ۳۵/۸±٤/٤ سال و در گروه شاهد ۳۳/٤±۰/٤ سال بود که تفاوت مشاهده شده معنی‌دار نبود ($p<۰/۰۵$).

میانگین سن شروع بیماری MS در گروه مورد ۳۱/۸±۳/۸ سال (حداقل ۲۷ و حداکثر ٤۰) سال و میانگین مدت بیماری ۳/۹±۱/٤ (حداقل ۲ و حداکثر ۶) سال بود. از ۲۵ بیمار مبتلا به اماس، ۱۷ نفر (۶۸٪) تحت درمان دارویی قرار گرفتند و ۸ نفر (۳۲٪) تحت درمان نبودند.

غلظت سیتوکین‌های التهابی در مایع مغزی- نخاعی

همانطور که در جدول ۲ و شکل ۱ نشان داده شده است، بیان میکروRNAها و عوامل التهابی در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به اماس به طور قابل‌توجهی بیشتر از گروه کنترل بود.



شکل ۱. محدوده میانه و بین چارکی (IQR: Q1-Q3) غلظت مایع مغزی- نخاعی (الف) IL6، (ب) IL-1β، (پ) TNF-α و (ت) hs-CRP در گروه مورد و گروه کنترل

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

جدول ۲. خصوصیات بیوشیمیایی و بیان میکرو RNAها بین گروه مورد و شاهد

متغیرها	(۲۵= تعداد) گروه کنترل		(۲۵= تعداد) گروه مورد		p -value
	Q_1-Q_3	میانه	Q_1-Q_3	میانه	
IL-6(pg/mL)	۰/۵۰–۱/۱۰	۰/۹۰	۱۲/۹۰–۱٤/۳۰	۱۳/٤۰	<۰/۰۰۰۱
IL-1β(Pg/mL)	٤/۵۵–۶/۲۰	۵/۵۰	۷۱/۱۰–۷٤/۹۵	۷۲/۲۰	<۰/۰۰۰۱
TNF-α (pg/mL)	۱/۶۰–۲/۱۵	۱/۹۰	٤/٤۵–٤/۹۰	٤/۶۰	<۰/۰۰۰۱
hs-CRP (mg/L)	۱/۶۰-۱/۹۰	۱/۷۰	۵/۵۰–۶/۲۵	۵/۹۰	<۰/۰۰۰۱
miRNA-21	۰/۰۱-۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰٤–۰/۰۶	۰/۰۵	<۰/۰۰۰۱
miRNA-155	۰/۰۱-۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰٤–۰/۰۶	۰/۰۵	<۰/۰۰۰۱
miRNA-182	۰/۰۲–۰/۳۵	۰/۰۳	۰/۰۵-۰/۰۷	۰/۰۶	<۰/۰۰۰۱
miRNA-437	۰/۰۳-۰/۰۶	۰/۰٤	۰/۰٤–۰/۰۶	۰/۰۵	۰/۰٤۷

تجزیه و تحلیل منحنی ROC

توانایی میکرو RNAها برای تشخیص بیماران مبتلا به MS با استفاده از تجزیه و تحلیل ROC ارزیابی شد. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین سطح زیر منحنی برای (AUC= ۰/۹۷ ،$p<$ ۰/۰۰۰۱) miRNA - 21، (AUC = ۰/۹۷ ،$p<$۰/۰۰۰۱) miRNA - 182، (AUC= ۰/۹۷ ،$p<$۰/۰۰۰۱) miRNA-155 به‌دست آمد. بر اساس مقادیر بالای زیر منحنی، می‌توان نتیجه گرفت که این بیومارکرها عملکرد بسیار خوبی در تشخیص بیماران مبتلا به ام‌اس از افراد بدون ام‌اس دارند. بالاترین میزان تشخیص صحیح بیماران مبتلا به ام‌اس در مقایسه با تشخیص‌های نادرست (LR^+ =17) مربوط به miRNA-155 در مقادیر بالای ۰/۰٤۵ در مایع مغزی- نخاعی بود (جدول ۳ و شکل ۲).

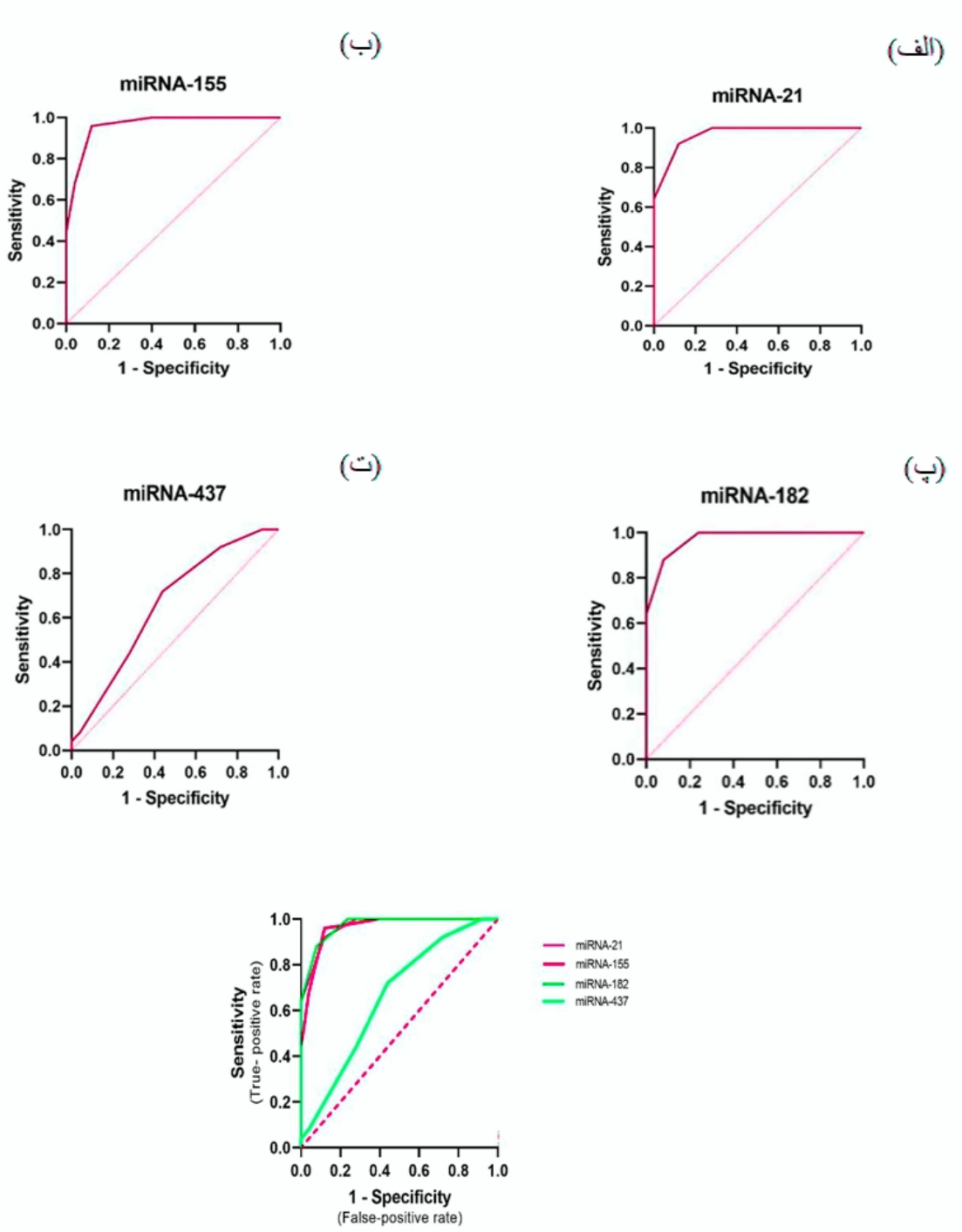
سطح بیان متفاوت میکرو RNAها در بیماران MS و گروه‌های کنترل

همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، اهمیت آماری گروه‌ها بر اساس بیان تغییر یافته چهار میکروRNA موجود در نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی ارزیابی شد. گروه‌ها افزایش قابل توجهی در بیان miRNA-21، miRNA-155، miRNA-182 و miRNA-437 نشان دادند.

جدول ۳. پتانسیل پیش بینی میکرو RNAهای انتخاب شده به عنوان نشانگرهای زیستی در بیماران مبتلا به MS

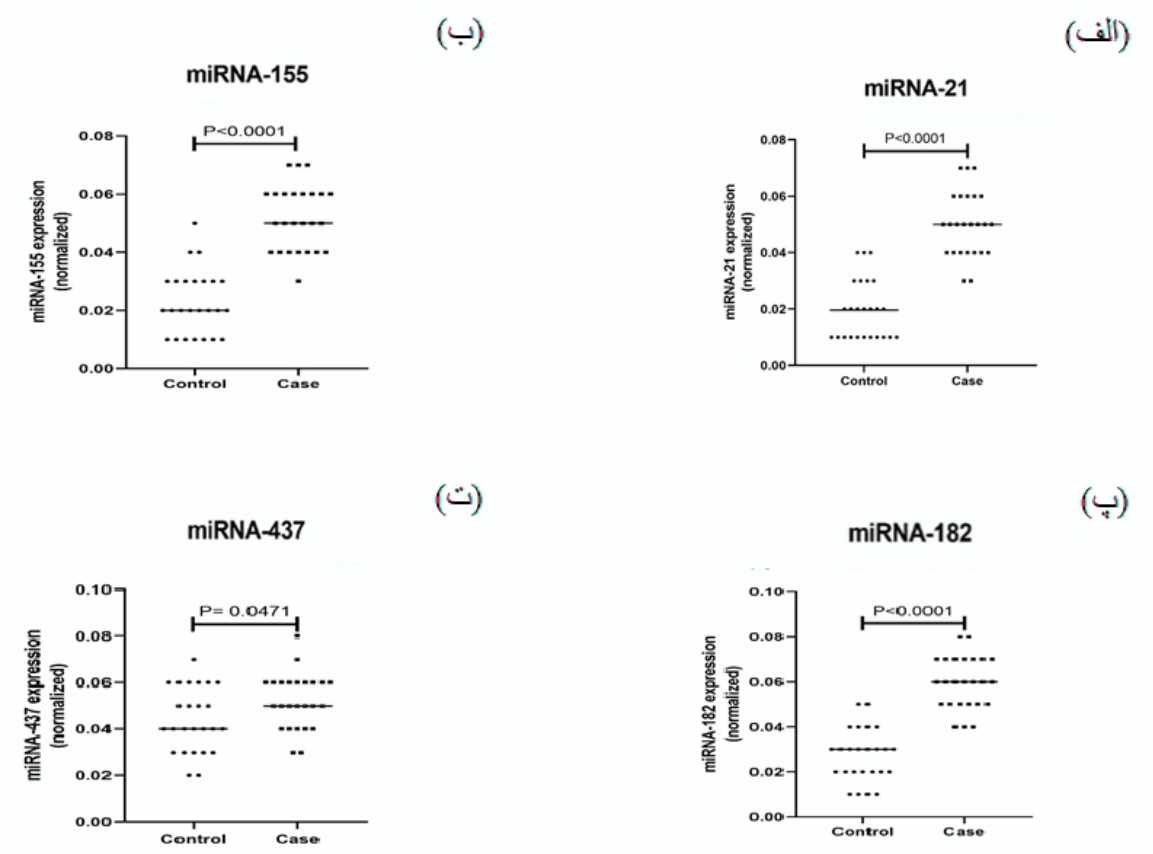
	ناحیه زیر منحنی	SE	CI ٪۹۵	P-value	Cut off value	حساسیت	اختصاصیت	LR^+	LR^-
miRNA-21	۰/۹۷	۰/۰۲	۰/۹۲ تا ۱/۰۰	<۰/۰۰۰۱	>۰/۰۳۵	۰/۹۲	۰/۸۸	۷/۶۷	۰/۰۹۰
miRNA-155	۰/۹۶	۰/۰۲	۰/۹۱ تا ۱/۰۰	<۰/۰۰۰۱	>۰/۰٤۵	۰/۶۸	۰/۹۶	۱۷	۰/۰٤۵
miRNA-182	۰/۹۷	۰/۰۲	۰/۹۳ تا ۱/۰۰	<۰/۰۰۰۱	>۰/۰٤۵	۰/۸۸	۰/۹۲	۱۱	۰/۱۳
miRNA-437	۰/۶۶	۰/۰۸	۰/۵۱ تا ۰/۸۱	۰,۰۵۳۵	>۰/۰۶۵	۰/۸۰	۰/۹۶	۲	۰/۲

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]



شکل ۲. تجزیه و تحلیل منحنی ROC برای (الف) miRNA-21، (ب) miRNA-155، (پ) miRNA-182 و (ت) miRNA-437 در بیماران مبتلا به MS

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

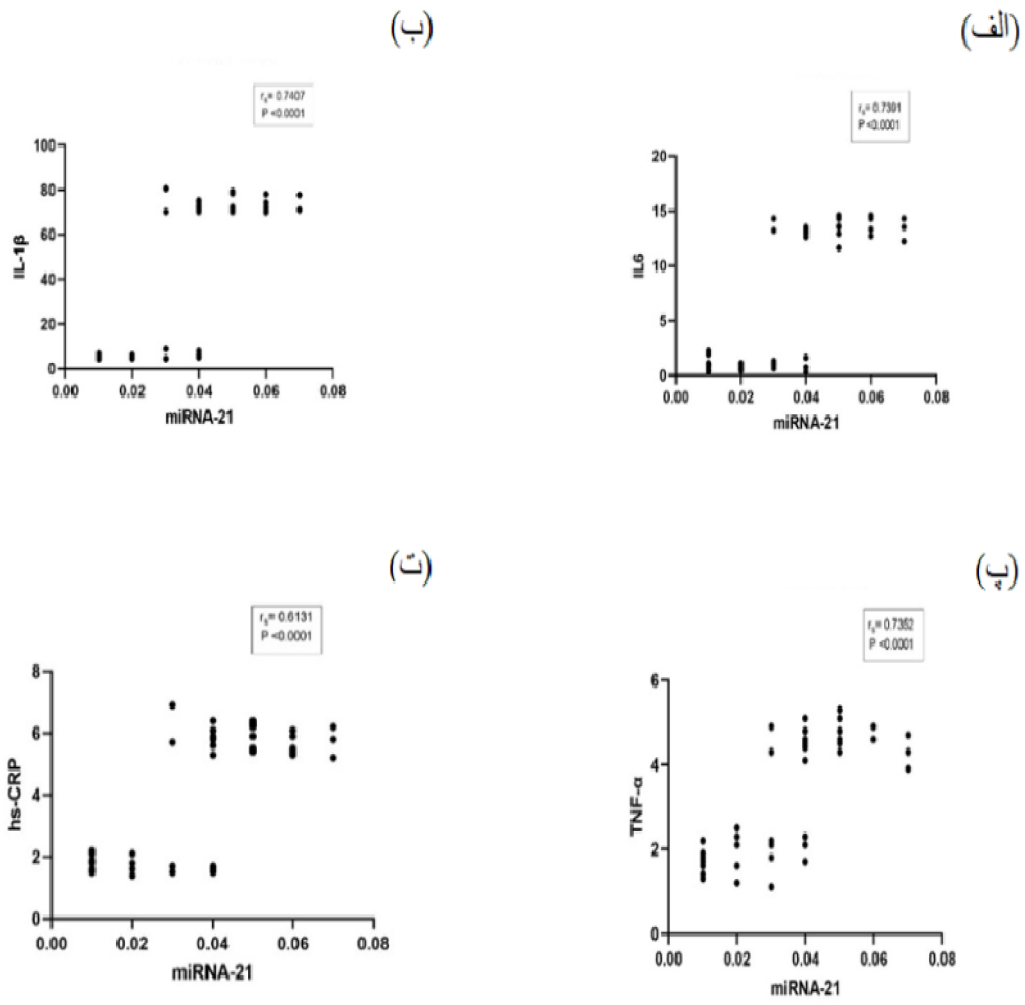


شکل ۳. میکروRNAهای بیان شده متفاوت. نمودارهای نقطه‌ای برای مقدار نرمال (الف) miRNA-21،(ب) miRNA-155،(پ) miRNA-182 و (ت) miRNA-437 در گروه مورد و کنترل. خط نشان دهنده میانه است و برای تعیین تفاوت‌های آماری بین گروه‌ها از آزمون U Mann-Whitney استفاده شده است.

ارتباط بین miRNA ها و سیتوکین‌های التهابی در مایع مغزی- نخاعی

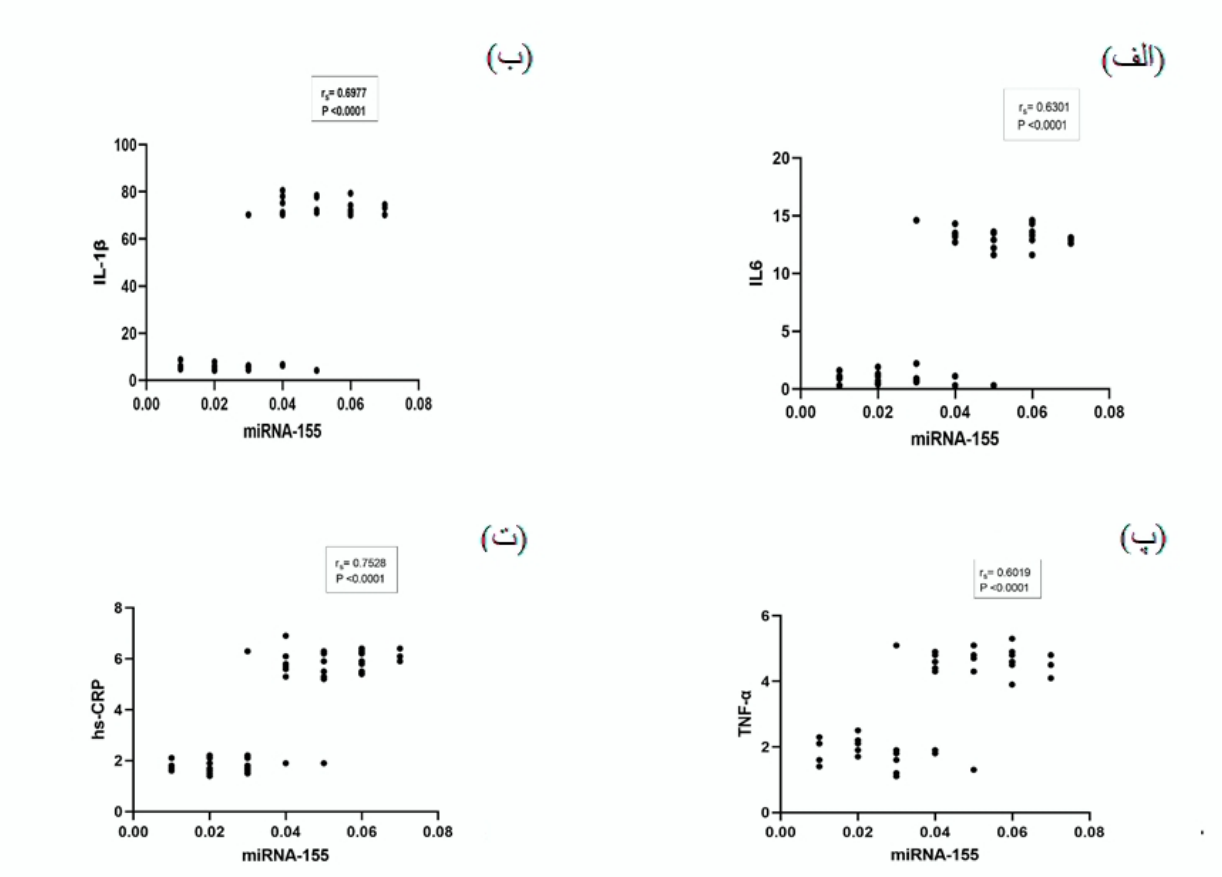
هنگامی که رابطه بین سطوح سایتوکین‌های التهابی و میکرو RNAها در مایع مغزی- نخاعی کل جمعیت مورد مطالعه (مورد و شاهد، ۵۰ تعداد) مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که رابطه بین سیتوکین‌های التهابی و miRNA-21، miRNA-155، و miRNA-182 از نظر آماری معنی‌دار بود (شکل‌های ٤، ٥، ٦ و ٧)، اما بین miRNA-182 و TNF-α بین بیماران مورد و شاهد همبستگی مستقیم و متوسطی وجود داشت (r= ۰/٤۲، p=۰/۰٤). علاوه بر این، یک همبستگی غیرمستقیم و متوسط بین miRNA-437 و hs-CRP وجود داشت (r = ۰/٤۷، p=۰/۰۲)، که از نظر آماری نیز معنی‌دار بود (جدول ٤ و شکل ٨).

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]



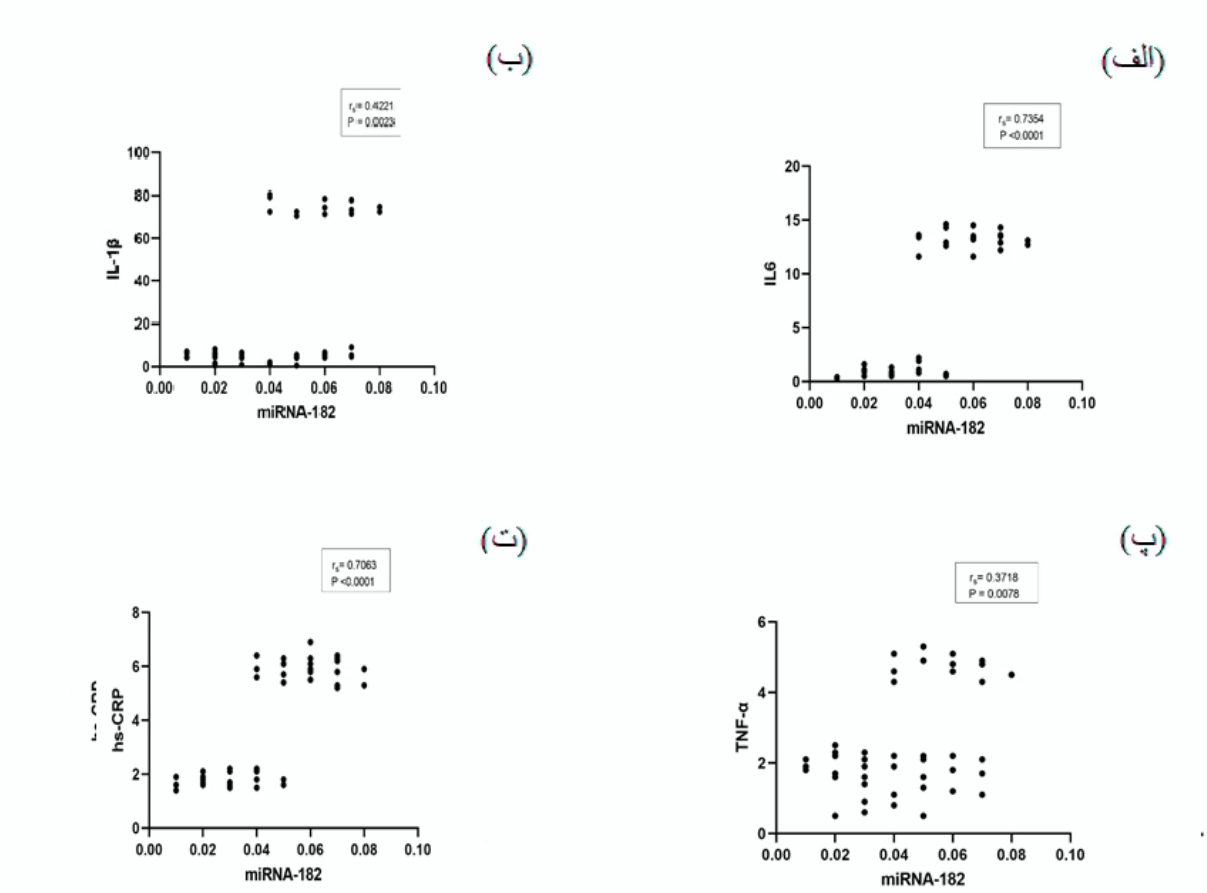
شکل ٤. ارتباط بین سطح بیان miRNA-21 و عوامل التهابی (الف) IL6، (ب) IL-1β، (پ) TNF-α و (ت) hs-CRP در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به MS

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]



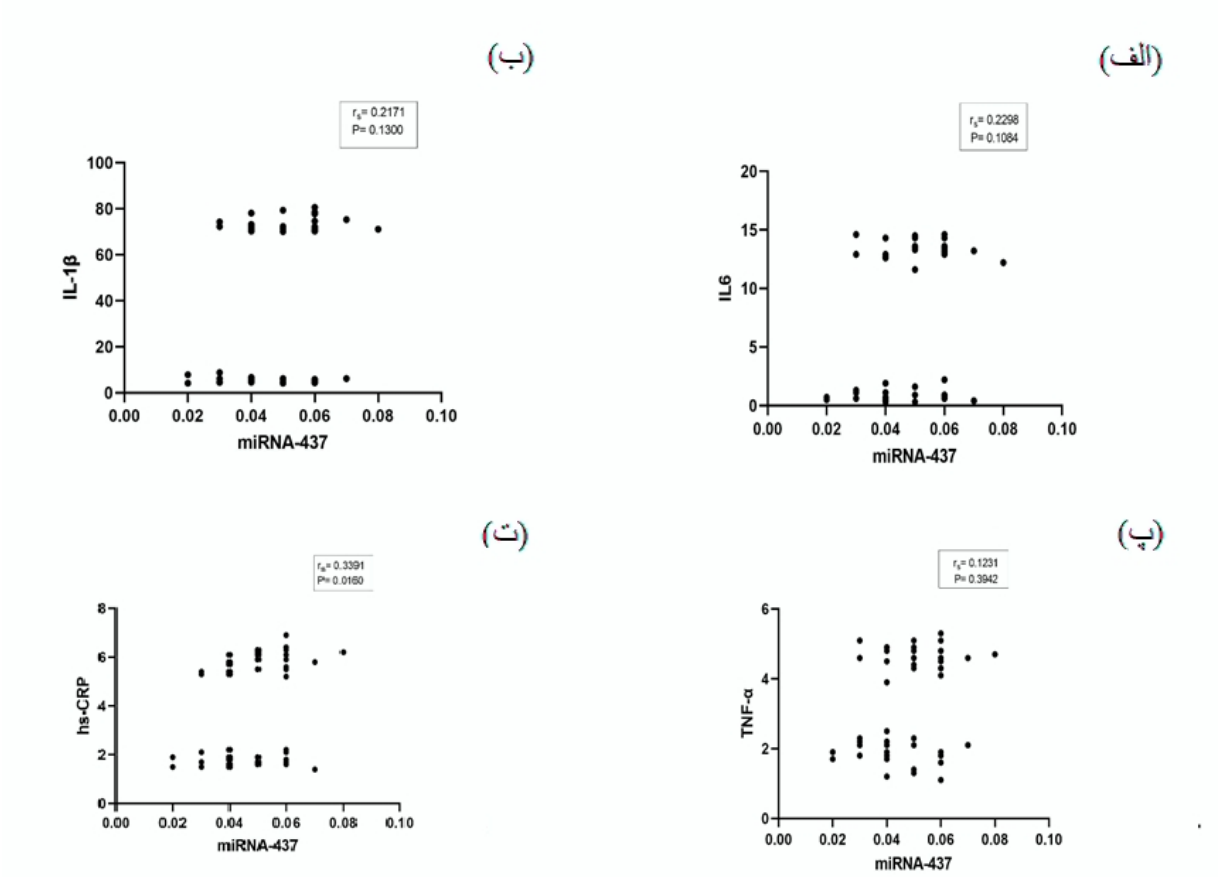
شکل ۵. ارتباط بین سطح بیان miRNA-155 و عوامل التهابی (الف) IL6، (ب) IL-1β، (پ) TNF-α و (ت) hs-CRP در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به MS

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]



شکل ۶. ارتباط بین سطوح بیان miRNA-182 و عوامل التهابی (الف) IL6، (ب) IL-1β، (پ) TNF-α و (ت) hs-CRP در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به MS

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]



شکل ۷. ارتباط بین سطح بیان miRNA-437 و عوامل التهابی (الف) IL6، (ب) IL-1β، (پ) TNF-α و (ت) hs-CRP در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به MS

جدول ٤. ارتباط بین سطح بیان میکرو RNAها و عوامل التهابی IL6، IL-1β، TNF-α، و hs-CRP در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به MS و گروه‌های کنترل

	miR-21				miR-155				miR-182				miR-437			
	کنترل		مورد		کنترل		مورد		کنترل		مورد		کنترل		مورد	
	r	p	r	p	r	p	R	p	r	p	r	p	r	p	R	p
IL-6(pg/mL)	۰/۰۱	۰/۹۶	۰/۲۰	۰/۳۳	-۰/۲۵	۰/۲۳	-۰/۱۸	۰/۳۸	۰/۳۵	۰/۰۹	-۰/۱۷	۰/۴۲	-۰/۰۲	۰/۹۰	-۰/۰۵	۰/۸۳
IL-1β(Pg/mL)	۰/۲۶	۰/۲۱	-۰/۰۷	۰/۷۵	-۰/۱۲	۰/۵۶	۰/۰۷	۰/۷۲	-۰/۰۱	۰/۹۹	۰/۲۲	۰/۲۸	-۰/۰۶	۰/۷۷	-۰/۰۲	۰/۹۱
TNF-α (pg/mL)	۰/۱۸	۰/۳۷	-۰/۰۶	۰/۷۹	-۰/۴۷	۰/۰۲	-۰/۲۱	۰/۳۲	۰/۰۴	۰/۸۳	-۰/۴۷	۰/۰۲	-۰/۳۶	۰/۰۸	-۰/۱۲	۰/۵۷
hs-CRP(mg/L)	-۰/۴۵	۰/۰۲	-۰/۲۶	۰/۲۱	۰/۲۷	۰/۱۹	۰/۰۸	۰/۷۱	۰/۰۳	۰/۹۰	-۰/۰۸	۰/۶۹	-۰/۰۲	۰/۹۴	۰/۴۲	۰/۰۴

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

شکل ۸. ارتباط معنی‌دار بین سطوح بیان miRNA-437 و miRNA-182 با سیتوکین‌های التهابی TNF-α و hs-CRP در مایع مغزی- نخاعی بیماران مبتلا به MS

بحث

تجزیه و تحلیل اختلال عملکرد میکروRNAها و تغییرات در عوامل التهابی ممکن است به درک بهتر علت MS و یافتن روش‌های جایگزین جدید برای تشخیص و درمان بیماری کمک کند. در مطالعه حاضر اثرات میکروRNAها بر روی عوامل التهابی، از جمله IL-1β، IL-6، TNF-α و hs-CRP در توسعه بیماران مبتلا به MS بررسی گردید. ارتباطی بین IL-1β، IL-6، TNF-α، hs-CRP و میکرو RNAهای دخیل در ایجاد بیماران مبتلا به MS پیدا شد. چندین میکرو RNA از جمله miRNA-21، miRNA-155، miRNA-182 و miRNA-437 برای بررسی ارتباط آن‌ها با عوامل التهابی انتخاب گردید. همچنین سطوح IL-1β، IL-6، TNF-α، hs-CRP و میکرو RNAها در مایع مغزی- نخاعی بیماران MS و افراد سالم بررسی شد.

چندین مطالعه بیان میکرو RNAها را در مایع مغزی- نخاعی بدون سلول بررسی کرده‌اند [۲۲،۲۴،۲۵]، مایع مغزی- نخاعی یک مایع بیولوژیکی که رویدادهای سیستم عصبی مرکزی را منعکس می‌کند. با این حال، هیچ مطالعه‌ای ارتباط آن را با ضایعات فعال MS بررسی نکرده است. بیان متفاوت میکرو RNAها در مایع مغزی- نخاعی بیماران MS یک شاخص ارزشمند از التهاب سیستم عصبی مرکزی است. در یک مطالعه، میکرو RNAها در مایع مغزی- نخاعی و سرم سگ‌های مبتلا به بیماری عصبی شناسایی شد. مشخص شد که سطح miRNA-21 در مایع مغزی- نخاعی سگ‌های دارای MUO بالاتر از سگ‌های مبتلا به OND و NCC است [۲۶]. فنوگلیو[1] و همکاران دریافتند که miRNA-21 در بیماران مبتلا به MS عودکننده در مقایسه با گروه کنترل بیش از حد در PBMCها نشان داده شده است. آن‌ها فرض کردند که این افزایش به طور کامل در فاز حاد اماس رخ می‌دهد و تولید و کنترل سلول‌های CD4+ T را فراهم می‌کند که در فرآیندهای التهابی مؤثر بر سیستم عصبی مرکزی و مرتبط با بیماران مبتلا به MS نقش دارند [۲۷،۲۸]. miRNA-21 در فعال‌سازی و مرگ سلول‌های T، فعالیت و رشد سلول Treg و تمایز سلولی Th17 نقش دارد [۲۹]. miRNA-155 یک تنظیم‌کننده ضروری التهاب است و به تعدیل پاسخ خود ایمنی در MS کمک می‌کند. miRNA-155 در تجزیه سد خونی مغزی تحت شرایط التهابی با کاهش پروتئین‌های حیاتی پیوندی نقش دارد [۳۰]. علاوه بر این، یک مطالعه نشان داد که بیماران مبتلا بهMS بیان

[1] Fenoglio

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

بالاتری از miRNA-182-5p نسبت به گروه کنترل داشتند [۳۱]. مطالعه دیگری نشان داد که افراد مبتلا به افسردگی بیان miRNA-182-5p در خونشان افزایش یافته است [۳۲]. این نتایج مشاهدات ما را تایید کرد. تغییرات در میکرو RNAها در مایع مغزی- نخاعی با دقت بیشتری منعکس‌کننده تغییرات در میکرو RNAها در بافت مغز بیمار نسبت به نمونه‌های خون یا مغز پس از مرگ است. در تحقیقات انسانی عمدتاً با استفاده از نمونه‌های پس از مرگ مورد مطالعه قرار می‌گیرد. با این حال، تاخیر طولانی مدت پس از مرگ و مصرف زودتر دارو بر مطالعه بافت‌های مغزی پس از مرگ تأثیر می‌گذارد [۲]. خون محیطی نمی‌تواند به طور دقیق سطوح بیان ژن را در مغز منعکس کند. نشانگرهای مایع مغزی- نخاعی کشف بیومارکرهای جدید سیستم عصبی مرکزی را امکان‌پذیر می‌کنند زیرا مغز ارتباط نزدیکی با مایع مغزی- نخاعی دارد. وان و همکاران چندین میکروRNA را در مایع مغزی- نخاعی از بیماران مبتلا به MDD شناسایی کردند [۳۳،۳۴]. نتایج نشان داد که رابطه بین سیتوکین‌های التهابی و miRNA-21، miRNA-155 و miRNA-182 از نظر آماری معنی‌دار بود. با این حال، ارتباط مستقیم و متوسطی بین سطوح miRNA-182 و TNF-α بین گروه مورد و شاهد وجود داشت. علاوه بر این، بین سطوح miRNA-437 و hs-CRP همبستگی غیرمستقیم و متوسط وجود داشت که از نظر آماری نیز معنی‌دار بود. miRNA-155 یک تنظیم‌کننده ضروری التهاب است و به تعدیل پاسخ‌های خود ایمنی کمک می‌کند. شواهد فزاینده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد درد نوروپاتیک یک اختلال عملکرد عصبی مرتبط با افزایش فعالیت سیستم ایمنی است. miRNA-155 اثر مشخصی بر متغیرهای التهابی مرتبط با درد نوروپاتیک، از جمله اینترلوکین-۱، اینترلوکین-۶، TNF-، NF-B و پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK) p38 دارد [۳۷-۳۵]. بیان miR-155 در قشر جلوی مغز موش‌های مبتلا به درد التهابی افزایش می‌یابد [۳۸]. میکرو RNAها بر تمایز و عملکرد سلول‌های التهابی تأثیر می‌گذارند. miRNA-182 یک فاکتور رونویسی است که بیان FOXO1 را در سلول‌های T تنظیم می‌کند و بر تمایز و فعال‌شدن آن‌ها تأثیر می‌گذارد. علاوه بر این، miRNA-21 باعث رشد سلول‌های T به سلول‌های Th1، تولید IFN و بیان Foxp3 می‌شود. در سلول‌های آستروسیت، miRNA-155 تولید ژن‌های پیش التهابی را کنترل می‌کند [۱۹]. در این مطالعه، افزایش miRNA-155 با افزایش متغیرهای التهابی همراه بود. نتایج بیشتر رابطه آماری معنی‌داری را بین سایتوکاین‌های پیش التهابی و بیان miRNA-182 و miRNA-437 نشان داد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که این میکرو RNAها می‌توانند به عنوان اهداف درمانی در آینده مورد استفاده قرار گیرند.

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که miRNA-21 برای پایان دادن به التهاب و محدود کردن منفی پاسخ پیش التهابی ناشی از بسیاری از محرک‌هایی که بیان miRNA-21 را افزایش می‌دهند، حیاتی است. در ماکروفاژها، miRNA-21 یک تعدیل‌کننده حیاتی پاسخ ضد التهابی است [۳۹].

در افراد Gd+MS، افزایش مداوم بیان miRNA-21 در طول زمان مشاهده شد. همبستگی مثبتی بین این افزایش و فراوانی ضایعات Gd+ و غلظت زنجیره سبک نوروفیلامنت (NF-L) وجود داشت [۴۰]. با این حال، یانگ و همکاران [۴۱] نشان داد که موش‌های فاقد miRNA-21 در مقایسه با موش‌های WT (MI) بقای بدتر، اختلال عملکرد قلبی شدیدتر و انفارکتوس و نواحی اسکار گسترده‌تری پس از انفارکتوس میوکارد داشتند. موش‌های حذفی miRNA-21 دارای سطوح بالاتری از سایتوکین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1، IL-6 و TNF در بافت قلب و افزایش نفوذ مونوسیت‌ها/ماکروفاژهای CD11b+ با تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی بودند. در مطالعه حاضر،

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

بیان miRNA-21 در مایع مغزی- نخاعی بیماران اماس افزایش یافت. این افزایش بیان باعث افزایش سطح عوامل التهابی شد. مقایسه نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات نشان داد که تغییرات بیان miRNA-21 در بافت‌ها و بیماری‌های مختلف متفاوت است. تجزیه و تحلیل منحنی ROC نشان داد که بیشترین سطح زیر منحنی به ترتیب برای miRNA - 21 ، miRNA - 182 ، miRNA - 155 و miRNA - 437 به دست آمد. مقادیر بالای منحنی نشان می‌دهد که نشانگرهای زیستی عملکرد عالی در تشخیص بیماران مبتلا به MS از بیماران بدون MS دارند و می‌توان از آن‌ها برای پیگیری روند بهبودی استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

در بیماران مبتلا به MS بیان میکرو RNAهای مانند miRNA-21، miRNA-155، miRNA-182 و miRNA-437 و نشانگرهای التهابی در مایع مغزی- نخاعی افزایش می‌یابد. افزایش بیان miRNA-21، miRNA-155، miRNA-182 و miRNA-437 در مایع مغزی- نخاعی باعث کاهش فعالیت محافظت عصبی می‌شود، که ممکن است به دلیل تغییر سیستم ایمنی به التهاب از طریق تولید IL-1، IL-6، TNF و hs-CRP باشد. افزایش برخی از میکروRNAها، از جمله miRNA-21، miRNA-155، miRNA-182، و miRNA-437، ممکن است به حفظ التهاب مزمن در MS کمک کند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطوح IL-1β، IL-6، TNF-α، hs-CRP، و میکروRNAهای انتخاب شده در مایع مغزی- نخاعی، می‌تواند به عنوان نشانگرهای زیستی التهاب سیستم عصبی مرکزی و فرآیندهای تخریب عصبی در بیماران مبتلا به MS مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی از دانشگاه علوم پزشکی تبریز (TBZMED. REC.1399. 765) انجام شد. در این مطالعه مورد- شاهدی کد اخلاقی (TBZMED.REC.1399.765) از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز دریافت شد. رضایت آگاهانه همه بیماران در این مطالعه اخذ شده است. از تمامی همکارانی که در مرکز تحقیقات علوم اعصاب تبریز در مطالعه حاضر همکاری کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

References

1- Moharami S, Nourazarian A, Nikanfar M, Laghousi D, Shademan B, Joodi Khanghah O, et al. Investigation of serum levels of orexin□A, transforming growth factor β, and leptin in patients with multiple sclerosis. J Clin Lab Anal. 2022 Jan; 36(1):e24170.

2- Alam A, Thelin EP, Tajsic T, Khan DZ, Khellaf A, Patani R, et al. Cellular infiltration in traumatic brain injury. J Neuroinflammation. 2020 Nov; 17(1):328.

3- Scazzone C, Agnello L, Sasso BL, Ragonese P, Bivona G, Realmuto S, et al. Klotho and vitamin D in multiple sclerosis: an Italian study. Arch Med Sci. 2020 May; 16(4):842-847.

4- Glasnović A, Stojić M, Dežmalj L, Tudorić-Đeno I, Romić D, Jeleč V, et al. RANKL/RANK/OPG axis is deregulated in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients at clinical onset. Neuroimmunomodulation. 2018; 25(1):23-33.

5- Malekzadeh A, Van de Geer-Peeters W, De Groot V, Teunissen CE, Beckerman H. Fatigue in patients with multiple sclerosis: is it related to pro-and anti-inflammatory cytokines?. Dis markers. 2015; 2015: 758314.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

6- Kothur K, Wienholt L, Brilot F, Dale RC. CSF cytokines/chemokines as biomarkers in neuroinflammatory CNS disorders: a systematic review. Cytokine. 2016 Jan; 77:227-37.
7- Hofer LS, Mariotto S, Wurth S, Ferrari S, Mancinelli CR, Delogu R, et al. Distinct serum and cerebrospinal fluid cytokine and chemokine profiles in autoantibody-associated demyelinating diseases. Mult Scler J Exp Transl Clin. 2019 May; 5(2): 2055217319848463.
8- Matejčíková Z, Mareš J, Přikrylová Vranová H, Klosova J, Sladkova V, Dolakova J, et al. Cerebrospinal fluid inflammatory markers in patients with multiple sclerosis: a pilot study. J Neural Transm (Vienna). 2015 Feb; 122(2):273-7.
9- Mouzaki A, Rodi M, Dimisianos N, Emmanuil A, Kalavrizioti D, Lagoudaki R, et al. Immune parameters that distinguish multiple sclerosis patients from patients with other neurological disorders at presentation. PLoS One. 2015 Aug; 10(8): e0135434.
10- Sosvorova LK, Kanceva R, Vcelak J, Kancheva L, Mohapl M, Starka L, et al. The comparison of selected cerebrospinal fluid and serum cytokine levels in patients with multiple sclerosis and normal pressure hydrocephalus. Neuroendocrinol Lett. 2016 Jan; 36(6):564-71.
11- Peiravian F, Rajaian H, Samiei A, Gholijani N, Gharesi-Fard B, Mokaram P, et al. Altered serum cytokine profiles in relapse phase of relapsing-remitting multiple sclerosis. Iran J Immunol. 2016 Sep; 13(3):186-96.
12- Halushka MK, Fromm B, Peterson KJ, McCall MN. Big strides in cellular microRNA expression. Trends Genet. 2018 Mar; 34(3):165-167.
13- Eklund CM. Proinflammatory cytokines in CRP baseline regulation. Adv Clin Chem. 2009; 48:111-36.
14- Boylan MT, Crockard AD, Duddy ME, Armstrong MA, McMillan SA, Hawkins SA. Interferon-β1a administration results in a transient increase of serum amyloid A protein and C-reactive protein: comparison with other markers of inflammation. Immunol lett. 2001 Jan; 75(3):191-7.
15- Rasooli Tehrani A, Gholipour S, Sharifi R, Yadegari S, Abbasi-Kolli M, Masoudian N. Plasma levels of CTRP-3, CTRP-9 and apelin in women with multiple sclerosis. J Neuroimmunol. 2019 Aug; 333:576968.
16- Ji AL, Liu ZH, Chen WW, Huang WJ. The clinical significance of level changes of hs-CRP, IL-10 and TNF for patients with MS during active and relieving period. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016 Oct; 20(20):4274-4276.
17- Shademan B, Karamad V, Nourazarian A, Masjedi S, Isazadeh A, Sogutlu F, et al. MicroRNAs as Targets for Cancer Diagnosis: Interests and Limitations. Adv Pharm Bull. 2022 Jul:1-18.
18- Gunel NS, Birden N, Kurt CC, Bagca BG, Shademan B, Sogutlu F, et al. Effect of valproic acid on miRNAs affecting histone deacetylase in a model of anaplastic thyroid cancer. Mol Biol Rep. 2021 Aug; 48(8):6085-6091.
19- Abdelrahman SA, El-Shal AS, Abdelrahman AA, Saleh EZ, Mahmoud AA. Neuroprotective effects of quercetin on the cerebellum of zinc oxide nanoparticles (ZnoNps)-exposed rats. Tissue Barriers. 2022 Aug: 2115273-.
20- Ksiazek-Winiarek DJ, Kacperska MJ, Glabinski A. MicroRNAs as novel regulators of neuroinflammation. Mediators Inflamm. 2013; 2013:172351.
21- Junker A, Krumbholz M, Eisele S, Mohan H, Augstein F, Bittner R, et al. MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47. Brain. 2009 Dec; 132(Pt 12):3342-52.
22- Ceppi M, Pereira PM, Dunand-Sauthier I, Barras E, Reith W, Santos MA, et al. MicroRNA-155 modulates the interleukin-1 signaling pathway in activated human monocyte-derived dendritic cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Feb; 106(8):2735-40.
23- Khajenobar NB, Mahboob S, Nourazarian A, Shademan B, Laghousi D, Moayed ZB, et al. Comparison between cerebrospinal fluid and serum levels of myelin-associated glycoprotein, total antioxidant capacity, and 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine in patients with multiple sclerosis. Clin Neurol Neurosurg. 2021 Jan; 200:106377.
24- Kopkova A, Sana J, Fadrus P, Slaby O. Cerebrospinal fluid microRNAs as diagnostic biomarkers in brain tumors. Clin Chem Lab Med. 2018 May; 56(6):869-879.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]

25- Wu KQ, Zhang SF, Bao CH, Zou X, Gu X, Wang CN, et al. Circulating MicroRNAs as Potential Biomarkers in the Diagnosis of Neurosyphilis: A Case Control Study. Inter J Dermatol Venereol. 2021 Mar; 4(01):16-25.
26- Gaitero L, Russell SJ, Monteith G, LaMarre J. Expression of microRNAs miR-21 and miR-181c in cerebrospinal fluid and serum in canine meningoencephalomyelitis of unknown origin. Vet J. 2016 Oct; 216:122-4.
27- Fenoglio C, Cantoni C, De Riz M, Ridolfi E, Cortini F, Serpente M, et al. Expression and genetic analysis of miRNAs involved in CD4+ cell activation in patients with multiple sclerosis. Neurosci Lett. 2011 Oct; 504(1):9-12.
28- Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. Annu Rev Immunol. 2005; 23:683-747.
29- Wang S, Wan X, Ruan Q. The microRNA-21 in autoimmune diseases. Int J Mol Sci. 2016 Jun; 17(6):864.
30- Maciak K, Dziedzic A, Miller E, Saluk-Bijak J. MiR-155 as an important regulator of multiple sclerosis pathogenesis. A review. Int J Mol Sci. 2021 Apr; 22(9):4332.
31- Piotrzkowska D, Miller E, Kucharska E, Niwald M, Majsterek I. Association of miRNA and mRNA levels of the clinical onset of multiple sclerosis patients. Biology(Basel). 2021 Jun; 10(6):554.
32- Li YJ, Xu M, Gao ZH, Wang YQ, Yue Z, Zhang YX, et al. Alterations of serum levels of BDNF-related miRNAs in patients with depression. PLoS one. 2013 May; 8(5):e63648.
33- McKeever PM, Schneider R, Taghdiri F, Weichert A, Multani N, Brown RA, et al. MicroRNA expression levels are altered in the cerebrospinal fluid of patients with young-onset Alzheimer's disease. Mol Neurobiol. 2018 Dec; 55(12):8826-8841.
34- Wan Y, Liu Y, Wang X, Wu J, Liu K, Zhou J, et al. Identification of differential microRNAs in cerebrospinal fluid and serum of patients with major depressive disorder. PloS one. 2015 Mar;10(3):e0121975.
35- Vallejo R, Tilley DM, Vogel L, Benyamin R. The role of glia and the immune system in the development and maintenance of neuropathic pain. Pain Prac. 2010 May-Jun; 10(3):167-84.
36- Ledeboer A, Gamanos M, Lai W, Martin D, Maier SF, Watkins LR, et al. Involvement of spinal cord nuclear factor κB activation in rat models of proinflammatory cytokine-mediated pain facilitation. Eur J Neurosci. 2005 Oct; 22(8):1977-86.
37- Xu L, Huang Y, Yu X, Yue J, Yang N, Zuo P. The influence of p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor on synthesis of inflammatory cytokine tumor necrosis factor alpha in spinal cord of rats with chronic constriction injury. Anesth Analg. 2007 Dec; 105(6):1838-44.
38- Poh KW, Yeo JF, Ong WY. MicroRNA changes in the mouse prefrontal cortex after inflammatory pain. Eur J Pain. 2011 Sep; 15(8):801.e1-12.
39- Sheedy FJ. Turning 21: induction of miR-21 as a key switch in the inflammatory response. Front Immunol. 2015 Jan; 6:19.
40- Muñoz-San Martín M, Reverter G, Robles-Cedeño R, Buxò M, Ortega FJ, Gómez I, et al. Analysis of miRNA signatures in CSF identifies upregulation of miR-21 and miR-146a/b in patients with multiple sclerosis and active lesions. J Neuroinflammation. 2019 Nov 14;16(1):220.
41- Yang L, Wang B, Zhou Q, Wang Y, Liu X, Liu Z, et al. MicroRNA-21 prevents excessive inflammation and cardiac dysfunction after myocardial infarction through targeting KBTBD7. Cell Death Dis. 2018 Jul; 9(7):769.

[Downloaded from ejournals.arums.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.22287280.1401.22.2.8.5]
[DOI: 10.52547/jarums.22.2.168]