

Association of Alu Insertion Polymorphism in Progesterone Receptor Gene with Risk of Multiple Sclerosis

Azam Mousavi¹,
Parisa Mohamadynejad²,
Mehdi Moghanibashi³

¹ MSc in Genetics, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

² Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

³ Assistant Professor, Department of Genetics, Faculty of Medicine, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran

(Received October 23, 2022 ; Accepted January 11, 2023)

Abstract

Background and purpose: Multiple sclerosis (MS) is a chronic autoimmune disease in which the myelin sheaths of nerve cells in the brain and spinal cord are damaged. The prevalence of disease is higher in women and it seems that sex hormones, which usually exert their effects through receptors, are involved in susceptibility to MS. Considering the functional role of Alu insertion 306 bp polymorphism of progesterone receptor in expression level of progesterone receptor, in this study, the association of Alu insertion polymorphism in intron 7 of progesterone receptor with the risk of MS was investigated.

Materials and methods: In a case-control study, genomic DNA was extracted from the blood samples of 200 patients (180 women and 20 men) with relapsing remitting MS (RRMS) and 226 healthy individuals (186 women and 40 men) as a control group. In order to determine the polymorphic genotype of Alu insertion, PCR technique was used and the PCR product was electrophoresed on 2% agarose gel. Data were analyzed in SPSS V21 using logistic regression test.

Results: Findings showed that WI (P= 0.003) and II (P= 0.001) genotypes increase the risk of MS compared to WW genotype, and allele I acts as a risk allele (P<0.001).

Conclusion: According to this study, it seems that allele I of Alu insertion polymorphism may play a dominant role in susceptibility to MS by decreasing PGR gene expression.

Keywords: multiple sclerosis, alu insertion polymorphism, progesterone receptor

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 32 (217): 57-65 (Persian).

Corresponding Author: Parisa Mohamadynejad - Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran. (E-mail: Parisa_mohamadynejad@yahoo.com)

ارتباط چندشکلی درج توالی Alu در ژن گیرنده پروژسترون با خطر ابتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس

اعظم موسوی¹پریسا محمدی نژاد²مهدی مغنی باشی³

چکیده

سابقه و هدف: مولتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری مزمن خودایمنی است که در آن غلاف‌های میلین سلول‌های عصبی در مغز و نخاع آسیب می‌بیند. با توجه به شیوع بیش‌تر بیماری MS در خانم‌ها نسبت به آقایان، به نظر می‌رسد هورمون‌های جنسی، که معمولاً اثرات خود را توسط گیرنده‌ها اعمال می‌کنند، در استعداد ابتلا به این بیماری نقش مهمی داشته باشند. با توجه به نقش عملکردی چندشکلی درج توالی Alu 306 bp گیرنده پروژسترون در میزان بیان گیرنده پروژسترون، در این مطالعه ارتباط چندشکلی درج توالی Alu در اینترون 7 ژن کدکننده گیرنده پروژسترون با خطر ابتلا به MS مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی در بیمارستان الزهراء اصفهان، DNA ژنومی از نمونه خون 200 بیمار مبتلا به RRMS (Relapsing-remitting Multiple sclerosis) شامل 180 زن و 20 مرد و 226 فرد سالم (186 زن و 40 مرد) به عنوان گروه کنترل، استخراج گردید. تعیین ژنوتیپ چندشکلی درج توالی Alu توسط تکنیک PCR انجام گرفت و محصول PCR بر روی ژل آگارز 2 درصد الکتروفورز گردید. نتایج با نرم‌افزار آماری SPSS21 و با آزمون رگرسیون لجستیک تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: آنالیز داده‌های این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ‌های WI ($P=0/003$) و II ($P=0/001$) در مقایسه با ژنوتیپ WW، خطر ابتلا به بیماری MS را افزایش می‌دهد و آلل I به عنوان آلل خطر ($P<0/000$) عمل می‌کند.

استنتاج: بر اساس نتایج مطالعه، به نظر می‌رسد آلل I چندشکلی درج Alu ممکن است با اثر بر بیان ژن گیرنده پروژسترون در استعداد ابتلا به بیماری MS نقش داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس، چندشکلی درج توالی Alu، گیرنده پروژسترون

مقدمه

شدن نوروها، تخریب سیستم عصبی و ناتوانی در برقراری ارتباط بخش‌هایی از سیستم عصبی همراه می‌شود و منجر به مشکلات متعدد جسمی و ذهنی می‌گردد (1).

بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS: Multiple Sclerosis) یک بیماری خودایمنی التهابی مزمن سیستم عصبی مرکزی است که با مجموعه‌ای از وقایع شامل دمیالینه

E-mail: Parisa_mohamadynejad@yahoo.com

مؤلف مسئول: پریسا محمدی نژاد - شهرکرد: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد

1. کارشناس ارشد ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

2. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

3. استادیار گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ دریافت: 1401/8/1 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1401/8/29 تاریخ تصویب: 1401/10/21

بیماری MS در بیماران مختلف با علائم متفاوتی ظاهر می‌شود و علائم آن یا به صورت عود مرحله‌ای (به شکل برگشتی) یا در طول زمان به شکل متناوب اتفاق می‌افتد (2). بر اساس آخرین آمارهای ارائه شده در سال 2016، تخمین زده می‌شود که دو میلیون و دویست هزار نفر در سراسر جهان از این بیماری رنج می‌برند. شیوع بیماری MS در ایران، 51-57 در هر 100 هزار نفر است و میانگین سنی بروز بیماری 28/64 سال گزارش شده است. مطالعات انجام شده در ایران حاکی از آن است که شیوع بیماری MS در ایران رو به افزایش می‌باشد (3). اگرچه بیماری MS به عنوان یک بیماری ارثی به شمار نمی‌رود، با این وجود نتایج حاصل از مطالعات جمعیت‌های مختلف بیانگر استعداد ژنتیکی در ابتلا به بیماری MS می‌باشد (4)، از جمله می‌توان افزایش احتمال ابتلا به بیماری MS در بین بستگان فرد مبتلا به ویژه بستگان درجه یک، احتمال 30 درصدی ابتلای همزمان دوقلوهای همسان در برابر احتمال 5 درصدی ابتلای همزمان دوقلوهای غیر همسان و 2 درصدی در خواهر و برادرهای فرد مبتلا، افزایش 10 برابری احتمال ابتلا در فرزندان افراد مبتلا (5)، شیوع بیش تر بیماری MS در بعضی نژادها (6) و نقش ژن‌های مشخصی مانند ژن‌های مجموعه سازگاری بافتی اصلی (MHC) در ابتلا به بیماری MS را نام برد (7). نتایج مطالعات اپیدمیولوژیک در جوامع مختلف نشان می‌دهد میزان شیوع بیماری MS در خانم‌ها نسبت به آقایان 2-3 برابر بیش تر می‌باشد. تفاوت بروز این بیماری در دو جنس دور از ذهن نیست، زیرا فاکتور جنس نقش مهمی در بروز و شیوع بیماری‌های خودایمنی دارد و معمولاً بیماری‌های خودایمنی در زنان شایع‌تر است. شواهد متعدد از جمله احتمال برابر بروز بیماری قبل از 10 سالگی در دو جنس (8)، افزایش بروز بیماری در سنی که فعالیت باروری زنان بیش تر است و قابلیت تولید مثل دارند، عود بیش تر علائم بیماری قبل از شروع عادت ماهانه و بهبود بیماری در سه ماهه دوم و سوم حاملگی و بروز مجدد با شدت بیش تر بلافاصله پس از

زایمان (9)، نشان می‌دهد که ممکن است تا حدودی هورمون‌های جنسی در تفاوت بروز بیماری MS در دو جنس نقش داشته باشند (10). امروزه مشخص شده است که هورمون‌های جنسی می‌توانند با تاثیر بر پاسخ‌های سیستم ایمنی در کنترل بیماری MS نقش داشته باشند. هورمون‌های استروژن و پروژسترون، با ایجاد تغییراتی از جمله کاهش مولکول‌های adhesion و ماتریکس متالوپروتئینازها (MMP)، جابجایی سیتوکین‌ها، کاهش نمایش آنتی‌ژن و افزایش سلول‌های تنظیم‌کننده T (Tregs) می‌توانند سیستم ایمنی را تعدیل و سرکوب کنند که منجر به کاهش التهاب و تمایز سلول‌های T به سلول‌های Th2 می‌شود که در بهبود بیماری MS مفید می‌باشد (11).

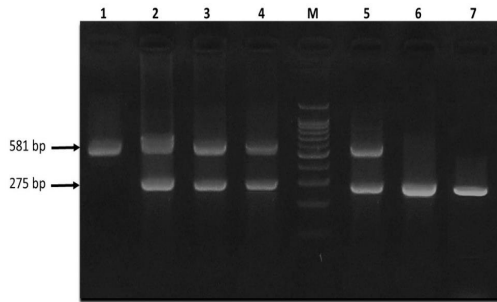
در سیستم اعصاب مرکزی (CNS)، پروژسترون فراتر از نقش خود به عنوان هورمون جنسی، یک استروئید عصبی فعال می‌باشد و در فرآیندهای فیزیولوژیکی حیاتی مثل تمایز، عملکرد و بقای سلول‌های نورونی در سراسر سیستم عصبی نقش بسزایی دارد. در طی مراحل رشد و نمو مغز، پروژسترون با القای تمایز سلول‌های پیش‌ساز الیگودندروسیت (OPCs) به الیگودندروسیت‌های بالغ و تنظیم بیان پروتئین میلین، میلینه شدن آکسون‌ها به واسطه الیگودندروسیت‌های بالغ را تسهیل می‌کند (12). هم‌چنین پروژسترون با افزایش تمایز OPC به الیگودندروسیت، که طی بیماری MS دچار آپوپتوز می‌شوند، به حفاظت نورون‌ها کمک می‌کند و پس از دمیلینه شدن آکسون‌ها در بیماری MS، تشکیل صفحات جدید میلین را تحریک می‌کند (13، 14). به همین دلیل پروژسترون به عنوان یک کاندید درمانی در بیماری MS مطرح می‌باشد (15). اثرات هورمون پروژسترون توسط گیرنده اختصاصی پروژسترون (PR) که به عنوان یک فاکتور رونویسی وابسته به لیگاند معرفی شده است، اعمال می‌گردد. برای این گیرنده دو ایزوفرم PR-A و PR-B شناخته شده که در پستان، رحم، مغز و سلول‌های مختلف سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی بیان می‌شود (16).

MS نقش داشته باشد. از آنجایی که چندشکلی Alu insertion PROGINS در میزان بیان گیرنده پروژسترون اثر دارد و با توجه به نقش احتمالی هورمون‌های جنسی در استعداد ابتلا به MS و اعمال اثر هورمون‌های جنسی از جمله پروژسترون از طریق گیرنده آن، لذا در این مطالعه برای اولین بار ارتباط چندشکلی درج توالی Alu در اینترون 7 ژن کدکننده گیرنده پروژسترون با خطر ابتلا به بیماری MS مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی، طی سال‌های 96-1395 در بیمارستان الزهراء اصفهان، 200 بیمار مبتلا به RRMS (Relapsing-remitting Multiple sclerosis) شامل 180 زن و 20 مرد و 226 نفر فرد سالم (عدم سابقه ابتلا به بیماری MS در خود فرد و خویشاوندان درجه یک) شامل 186 زن و 40 مرد به عنوان گروه کنترل که از لحاظ سن (± 5 سال) و جنس همسان‌سازی شده بودند، با تکمیل پرسشنامه به صورت آگاهانه شرکت کردند. DNA ژنومی از لنفوسیت‌های خون محیطی هر نمونه با استفاده از کیت GeNet Bio ساخت کره جنوبی استخراج شد. به منظور تعیین ژنوتیپ چندشکلی درج توالی Alu در گیرنده پروژسترون، با پرایمر رفت 5'-CAGACAGCCAAGATTATGAG-3' و پرایمر برگشت 5'-GATTTTCCTTCCATTTTCAG-3'، بخشی از اینترون 7 ژن گیرنده پروژسترون، با استفاده از تکنیک PCR تکثیر شد. واکنش PCR در حجم نهایی 12/5 میکرولیتر شامل 4/50 میکرولیتر آب مقطر استریل، 6/25 میکرولیتر PCR master mix شرکت Ampliqon، 0/6 میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای F و R (5 pmol و 1 میکرولیتر DNA (50 ng) با برنامه 5 دقیقه 94 درجه (دناتوراسیون اولیه)، و 33 سیکل 45 ثانیه 94 درجه (دناتوراسیون)، 45 ثانیه 54 درجه (جفت شدن)، 45 ثانیه 72 درجه (گسترش) و در پایان

پس از اتصال پروژسترون (به عنوان لیگاند) به گیرنده و تشکیل هترو یا همو دimer از ایزوفرم‌های PR-A و PR-B، این کمپلکس در هسته به عنصر گیرنده پروژسترون (Progesterone Response Element-PRE) متصل می‌شود و بیان ژن هدف را به دنبال دارد (17). ژن کدکننده گیرنده پروژسترون بر روی کروموزوم 11q22-23 واقع شده و شامل 8 اگزون و 7 اینترون (با نام‌های A-G) است. هاپلوتیپ PROGINS در این ژن، متشکل از درج توالی Alu به طول 306 جفت باز در اینترون شماره 7 (اینترون G) و دو چندشکلی تک نوکلئوتیدی SNP- G3432T (rs1042838) در اگزون 4 که منجر به تعویض آمینو اسید (V660L) می‌شود و SNP-C3764T (rs1042839) در اگزون 5 که یک جهش خاموش (H770H) است، می‌باشد (18). توالی‌های Alu، از عناصر قابل جابه‌جایی (transposable) می‌باشد که تقریباً 1/4 میلیون کپی از این توالی در ژنوم انسان یافت شده است و تخمین زده می‌شود که در 0/1 درصد از بیماری‌های ژنتیکی نقش داشته باشند (19). در بررسی نقش عملکردی چندشکلی PROGINS مشخص شده است که حضور توالی Alu بر میزان رونویسی و بلوغ pre-mRNA اثر دارد. اگرچه چندشکلی Alu insertion به دلیل حضور توالی Alu-ERE/SP1، میزان رونویسی را تا حدودی افزایش می‌دهد اما در حضور این عنصر پایداری mRNA کاهش می‌یابد. زیرا پروتئین SR (یک خانواده از فاکتورهای splicing) می‌تواند با اتصال به نواحی غنی از پورین عنصر Alu، پایداری mRNA آن را کاهش دهد. از طرف دیگر توالی‌های Alu رونویسی شده توسط RNA pol II با PROGINS Alu جفت می‌شوند و این منجر به تخریب dsRNA می‌گردد (19). بدین ترتیب درج توالی Alu می‌تواند بیان گیرنده پروژسترون را، از طریق نوترکیبی، اثر بر بلوغ pre-mRNA، mis-Splicing و کاهش پایداری RNA، کاهش دهد (20) و از عملکرد پروژسترون جلوگیری کند و احتمالاً در استعداد ابتلا به



تصویر شماره 1: تعیین ژنوتیپ چندشکلی درج توالی Alu در اینترون 7 زن گیرنده پروژسترون، چاهک‌های 6 و 7 ژنوتیپ هموزیگوت WW، چاهک‌های 2-5 ژنوتیپ هتروزیگوت WI، چاهک 1 ژنوتیپ هموزیگوت II و چاهک M مارکر 100 bp را نشان می‌دهد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون χ^2 نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه بیمار و کنترل از تعادل هاردی واینبرگ (Hardy-Weinberg) تبعیت می‌کند. بررسی ارتباط چندشکلی درج توالی Alu با خطر ابتلا به بیماری MS (با در نظر گرفتن ژنوتیپ WW به عنوان ژنوتیپ مرجع)، نشان داد که ژنوتیپ‌های WI ($P=0/003$, $OR=1/977$, $CI=1/3-271/076$) و II ($P=0/001$, $OR=4/943$, $CI=1/12-926/681$) ابتلا به بیماری MS را به صورت معنی‌داری افزایش می‌دهند. هم‌چنین آلل I به عنوان آلل خطر استعداد ابتلا به MS را افزایش می‌دهد ($CI=1/615-3/362$ ، $OR=2/295$ ، $P<0/000$) (جدول شماره 2).

جدول شماره 2: ارتباط چندشکلی درج توالی Alu با خطر ابتلا به

بیماری MS				
ژنوتیپ	گروه کنترل (درصد)	گروه بیمار (درصد)	OR (95% CI)	سطح معنی‌داری
WW	172 (76/10)	116 (58)	1	-
WI	48 (21/23)	64 (32)	1/977 (1/3-271/076)	0/003
II	6 (2/65)	20 (10)	4/943 (1/12-926/681)	0/001
آلل				
W	392	296	1	-
I	60	104	2/295 (1/615-3/362)	<0/000

با توجه به شیوع بیش‌تر بیماری MS در زنان، ارتباط این چندشکلی در دو جنس به صورت جداگانه نیز بررسی شد. براساس نتایج، ژنوتیپ‌های WI ($P=0/008$) و II ($P=0/001$) خطر ابتلا به MS در زنان را به صورت

7 دقیقه 72 درجه (گسترش نهایی) بهینه گردید. محصول PCR بر روی ژل آگارز 2 درصد و با استفاده از DNA stain safe view I الکتروفورز گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 21 و آزمون‌های رگرسیون لجستیک و کای با محاسبه فاصله اطمینان 95 درصد تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها

مشخصات جمعیت مورد مطالعه در جدول شماره 1 مشاهده می‌شود. آنالیز داده‌ها نشان داد که میانگین سن در دو گروه بیمار و کنترل اختلاف معناداری را نشان نمی‌دهد ($P=0/08$) که با توجه به همسان‌سازی سن دو گروه قابل انتظار بود. سابقه خانوادگی ابتلا به MS در گروه بیمار بیش‌تر از گروه کنترل بود که به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P=0/001$). هم‌چنین میانگین سطح ویتامین D در خون بیماران نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بوده که به لحاظ آماری نیز معنی‌دار می‌باشد ($P=<0/000$). در الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز، مشاهده باند 275 bp بیانگر ژنوتیپ WW (Wild type)، مشاهده باند 581bp نمایانگر ژنوتیپ II (Insertion) و حضور باندهای 275/581 bp نشان‌دهنده ژنوتیپ WI (wild/insertion) است (تصویر شماره 1).

جدول شماره 1: مشخصات عمومی جمعیت مورد مطالعه

تعداد	گروه کنترل	گروه بیمار	سطح معنی‌داری
زن	186 (82/3)	180 (90)	
مرد	40 (17/7)	20 (10)	
سن	57-18	58-14	0/089
دامنه سنی میانگین $\pm$ انحراف معیار	36/15 $\pm$ 9/89	34/62 $\pm$ 9/32	
سابقه خانوادگی خیر	172	144	
بله	28	56	0/001
نامشخص	26	-	
سن بروز بیماری	-	47-9	
دامنه سنی میانگین $\pm$ انحراف معیار	-	27/50 $\pm$ 9/168	
EDSS (Expanded Disability Status Scale) میانگین $\pm$ انحراف معیار	1/94 $\pm$ 0/966		
ویتامین D میانگین $\pm$ انحراف معیار	41/322 $\pm$ 9/809	17/066 $\pm$ 5/505	<0/000

معنی داری افزایش می دهد (جدول شماره 3) درحالی که در مردان با هیچ یک از ژنوتیپ های این چندشکلی ارتباطی مشاهده نشد.

جدول شماره 3: ارتباط چندشکلی درج توالی Alu با خطر ابتلا به بیماری MS در زنان

جنس	ژنوتیپ	گروه کنترل (درصد)	گروه بیمار (درصد)	OR (95% CI)	معنی داری
زن	WW	136 (79/1)	98 (54/4)	1	-
	WI	46 (24/7)	62 (34/4)	1/870 (1/2-179/967)	0/008
	II	4 (2/20)	20 (11/1)	6/939 (2/20-299/939)	0/001

بحث

اگر چه اتیولوژی بیماری MS کاملاً شناخته شده نیست اما به نظر می رسد ابتلا به این بیماری ناشی از برهمکنش پیچیده عوامل ژنتیکی و فاکتورهای محیطی است (7). شیوع بیش تر بیماری MS در زنان، متفاوت بودن پاسخ های ایمنی در دو جنس زن و مرد، اثرات هورمون های جنسی در تعدیل سیستم ایمنی (21) و تفاوت های ساختاری و عملکردی مغز بین دو جنس (22) توجه محققان را به تأثیر هورمون های جنسی در استعداد ابتلا به MS جلب کرده است. اخیراً تفاوت در پاتوژنز MS بین دو جنس به تفاوت در میزان بیان گیرنده های هورمون های جنسی نسبت داده می شود (21).

در مطالعه حاضر برای اولین بار مشاهده شد که چندشکلی عملکردی درج توالی Alu (آلل I) در اینترون 7 ژن کدکننده گیرنده پروژسترون به صورت غالب خطر ابتلا به بیماری MS را افزایش می دهد، به طوری که در افراد واجد این آلل، استعداد ابتلا به بیماری MS بیش از 2 برابر افزایش می یابد. هم چنین ژنوتیپ های WI و II می تواند در استعداد ابتلا به بیماری MS نقش داشته باشد.

پروژسترون به عنوان یک فاکتور تعدیل کننده سیستم ایمنی شناخته می شود (23): زیرا پروژسترون به واسطه گیرنده های خود، در سلول های سیستم ایمنی با افزایش ترشح سیتوکین های ضد التهابی IL3، IL4 و IL10 و کاهش ترشح سیتوکین های التهابی IL-17، TNF- α ،

γ TNF و IL-2 و تمایز سلول های T به سمت یک فنوتیپ غالب Th2، عملکرد سیستم ایمنی را تعدیل کرده، پاسخ های ایمنی را بهبود می بخشد و کاهش قابل توجه التهاب را به همراه داشت (24). بدین ترتیب شدت بیماری، دمیلینه شدن آکسون ها و ضایعات در موش EAE کاهش می یابد و با بهبودی سریع همراه می گردد (25).

در CNS، میلین توسط نوع خاصی از گلیا به نام اولیگودندروسیت های بالغ تولید می شود که با تولید پروتئین های میلین از جمله پروتئین پایه میلین (MBP)، گلیکوپروتئین الیگودندروسیت میلین (MOG)، گلیکوپروتئین مرتبط با میلین (MAG)، برای ساخت صفحات میلین تخصص یافته شده اند. این سلول ها با آکسون ها تماس پیدا می کنند و چندین بار آن ها را در بر می گیرند. با این حال اولیگودندروسیت های بالغ فاقد ظرفیت تکثیر هستند و پتانسیل محدودی برای بازسازی میلین در پاسخ به هر گونه آسیب به غلاف میلین دارند (25). مطالعات مختلف در محیط آزمایشگاهی و *in vivo* نشان می دهد که پروژسترون بلوغ الیگودندروسیت و ترمیم میلین حتی در آسیب های شدید را تحریک می کند و شدت علائم بیماری را در مدل حیوانی MS، کاهش می دهد (25). در واقع به دنبال دمیلیناسیون CNS، پروژسترون با تنظیم بیان ژن های MBP و 2-3-نوکلئوتید-3-فسفودی استراز (CNPase) و القا بیان گیرنده پروژسترون، اثرات پیش - میلیناسیون را در الیگودندروسیت های بالغ اعمال می کند که به پتانسیل درمانی پروژسترون اشاره دارد (26). در همین راستا مشخص شده درمان با پروژسترون باعث تغییر فنوتیپ میکروگلیا از پیش التهابی به ضد التهابی می شود و التهاب ناشی از دمیلینه شدن را، در موش سرکوب می کند (27). هم چنین درمان با a-DHP5، یک متابولیت پروژسترون، بیان MBP را در نخاع موش افزایش می دهد (25). لازم به ذکر است که پروژسترون می تواند مسیرهای سیگنالینگ محافظت کننده عصبی مانند افزایش بیان پروتئین ضد آپوپتوز لنفوم سلول B2 (Bcl-2) را نیز تحریک کند که به

عنوان یک پاسخ محافظتی و ضد التهابی در ضایعات MS شناخته شده است (28).

در این فرایندها، گیرنده پروژسترون (PR) به عنوان واسطه کلیدی عملکرد pro-remyelinating پروژسترون عمل می کند به طوری که در موش های PR-/- صفحات میلین مجدداً ساخته نمی شود و در PR+/- ترمیم میلین خیلی کم تر رخ می دهد. به عبارتی عملکرد پروژسترون به بیان گیرنده آن وابسته است (29). بنابراین نتایج این مطالعه غیرمنتظره نیست زیرا چندشکلی درج توالی Alu به عنوان یک چندشکلی عملکردی باعث کاهش بیان گیرنده پروژسترون می شود (19، 20) که به نوبه خود در بیماری MS تاثیر خواهد داشت. مطابق مدلی که توسط Romano و همکاران در سال 2007 ارائه شده است درج توالی Alu و 2 چندشکلی تک نوکلئوتیدی (Single Nucleotide Polymorphism-SNPs) در عدم تعادل پیوندی کامل هستند؛ به عبارتی چندشکلی درج توالی Alu با آل های T دو چندشکلی تک نوکلئوتیدی rs1042838 و rs1042839 همراه است و تغییر یک چندشکلی تغییر دو چندشکلی دیگر را به همراه خواهد داشت (19).

پیشنهاد شده است که اثرات جایگزینی والین به جای لوسین در چندشکلی rs1042838 ممکن است زاویه یا انعطاف پذیری ناحیه لولا این گیرنده را، که بین جایگاه اتصال به DNA و اتصال به لیگاند قرار دارد، تغییر دهد. این تغییر در ساختار سه بعدی پروتئین می تواند مانع اتصال گیرنده پروژسترون به لیگاند آن (پروژسترون) شود. هم چنین حتی اگر اتصال لیگاند طبیعی باشد، تغییر شکل پروتئین گیرنده می تواند بر دایمر شدن گیرنده های متصل به لیگاند و توانایی گیرنده های دایمر شده برای اتصال به توالی DNA ژن های هدف تاثیر بگذارد (19) و منجر به کاهش فعالیت گیرنده پروژسترون می گردد. بنابراین چندشکلی PROGINs میزان رونویسی و فعالیت گیرنده پروژسترون را کاهش داده و مجموعاً می تواند به پاتوژنز بیماری MS کمک کنند. هم چنین

پاسخ های ایمنی در بیماری MS بین دو جنس متفاوت می باشد، به طوری که در مردان مبتلا به MS، سنتز استروژن و مسیرهای سیگنالینگ آن القا می گردد و در مقابل در زنان بیمار، سنتز پروژسترون و مسیرهای سیگنالینگ مربوطه راه اندازی می شود (30). با توجه به تفاوت جنسی ذکر شده در پاسخ های ایمنی بین دو جنس، نتیجه این مطالعه مبنی بر ارتباط چندشکلی درج توالی Alu به عنوان یک عامل خطر در استعداد ابتلا به MS در زنان (نه مردان) منطقی به نظر می رسد. نتایج مطالعات قبلی در مورد نقش ویتامین D به عنوان یک عامل خطر در بروز و پیشرفت بیماری MS بحث برانگیز است، زیرا تا حدی اثرات ویتامین D ممکن است تحت تاثیر بیان گیرنده ویتامین D (VDR) و سایر ژن ها نیز باشد (31). در سلول های T التهابی، پروژسترون به واسطه عنصر گیرنده پروژسترون در ناحیه پروموتور، به طور مستقیم بیان ژن VDR را القا می کند و منجر به سرکوب موثر IFN γ در سلول های Th1 و IL-17 در سلول های Th17 می شود (32). بنابراین، کاهش بیان گیرنده پروژسترون و فعالیت آن به دلیل چندشکلی PROGINs شاید بتواند بر بیان گیرنده ویتامین D نیز تاثیر بگذارد و در کاهش سطح ویتامین D بیماران مبتلا به MS نقش داشته باشد. تعداد کم نمونه های بیمار و کنترل از محدودیت اصلی این مطالعه است که می تواند بر قدرت نتایج تاثیر بگذارد و لازم است این مطالعه در نمونه های جمعیتی بزرگ تر بررسی و اعتبارسنجی شود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد به شماره مصوب 13330503932004 در گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی شهر کرد است. در پایان از جناب آقای دکتر اعتمادی فر و انجمن MS اصفهان بابت همکاری صمیمانه در پیشبرد این پروژه تشکر و قدردانی می گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافع را اعلام نکرده اند.

References

1. Křenek P, Benešová Y, Bienertová-Vašků J, Vašků A. The impact of five VDR polymorphisms on multiple sclerosis risk and progression: a case-control and genotype-phenotype study. *J Mol Neurosci* 2018; 64(4): 559-566.
2. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 1996; 46(4): 907-911.
3. Forouhari A, Taheri G, Salari M, Moosazadeh M, Etemadifar M. Multiple sclerosis epidemiology in Asia and Oceania; A systematic review and meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord* 2021; 54: 103119.
4. Ho SM. Estrogen, progesterone and epithelial ovarian cancer. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1(1): 1-8.
5. Tiwari-Woodruff S, Voskuhl RR. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of estrogen receptor ligand treatment in mice. *J Neurol Sci* 2009; 286(1-2): 81-85.
6. 18. Lange CA, Shen T, Horwitz KB. Phosphorylation of human progesterone receptors at serine294 by mitogen-activated protein kinase signals their degradation by the 26S proteasome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(3): 1032-1037.
7. Compston A, Alasdair C. Multiple sclerosis. *Lancet* 2008; 372(9648): 1502-1517.
8. Hawkins Sa, McDonnell Gv. Benign multiple sclerosis Clinical course, long term follow up, and assessment of prognostic factors. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67(2): 148-152.
9. Whitacre CC. Sex differences in autoimmune disease. *Nat Immunol* 2001; 2(9): 777-780.
10. Emerson CS, Headrick Jp, Vink R. Estrogen improves biochemical and neurologic outcome following traumatic brain injury in male rats, but not in females. *Brain Res* 1993; 608(1): 95-100.
11. Avila M, Bansal A, Culberson J, Peiris AN. The role of sex hormones in multiple sclerosis. *Eur Neurol* 2018; 80(1-2): 93-99.
12. Gold SM, Voskuhl RR. Estrogen and testosterone therapies in multiple sclerosis. *Prog Brain Res* 2009; 175: 239-251.
13. Kipp M, Amor S, Krauth R, Beyer C. Multiple sclerosis: neuroprotective alliance of estrogen-progesterone and gender. *Front Neuroendocrinol* 2012; 33(1): 1-6.
14. Spence RD, Voskuhl RR. Neuroprotective effects of estrogens and androgens in CNS inflammation and neurodegeneration. *Front Neuroendocrinol* 2012; 33(1): 105-115.
15. Pozzilli C, Tomassini V, Marinelli F, Paolillo A, Gasperini C, Bastianello S. 'Gender gap' in multiple sclerosis: magnetic resonance imaging evidence. *Eur J Neurol* 2003; 10(1): 95-97.
16. Offner H. Neuroimmunoprotective effects of estrogen and derivatives in experimental autoimmune encephalomyelitis: therapeutic implications for multiple sclerosis. *J Neurosci Res* 2004; 78(5): 603-624.
17. Kansakar E, Chang YJ, Mehrabi M, Mittal V. Expression of estrogen receptor, progesterone receptor, and vascular endothelial growth factor-A in thyroid cancer. *Am Surg* 2009; 75(9): 785-789.
18. Rockwell LC, Rowe EJ, Arnson K, Jackson F, Froment A, Ndumbe P, et al. Worldwide distribution of allelic variation at the progesterone receptor locus and the incidence

- of female reproductive cancers. *Am J Hum Biol* 2012; 24(1): 42-51.
19. Romano A, Delvoux B, Fischer DC, Groothuis P. The PROGINS polymorphism of the human progesterone receptor diminishes the response to progesterone. *J Mol Endocrinol* 2007; 38(2): 331-350.
 20. Williams SP, Sigler PB. Atomic structure of progesterone complexed with its receptor. *Nature* 1998; 393(6683): 392-396.
 21. Tan IJ, Peeva E, Zandman-Goddard G. Hormonal modulation of the immune system—A spotlight on the role of progestogens. *Autoimmun Rev* 2015; 14(6): 536-542.
 22. Voskuhl RR. The effect of sex on multiple sclerosis risk and disease progression. *Mult Scler* 2020; 26(5): 554-560.
 23. Yates MA, Li Y, Chlebeck P, Proctor T, Vandenbark AA, Offner H. Progesterone treatment reduces disease severity and increases IL-10 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 2010; 220(1-2): 136-139.
 24. Ghomari AM, Abi Ghanem C, Asbelaoui N, Schumacher M, Hussain R. Roles of progesterone, testosterone and their nuclear receptors in central nervous system myelination and remyelination. *Int J Mol Sci* 2020; 21(9): 3163.
 25. Ibanez C, Shields SA, El-Etr M, Leonelli E, Magnaghi V, Li WW, et al. Steroids and the reversal of age-associated changes in myelination and remyelination. *Prog Neurobiol* 2003; 71(1): 49-56.
 26. Aryanpour R, Pasbakhsh P, Zibara K, Namjoo Z, Boroujeni FB, Shahbeigi S, et al. Progesterone therapy induces an M1 to M2 switch in microglia phenotype and suppresses NLRP3 inflammasome in a cuprizone-induced demyelination mouse model. *Int Immunopharmacol* 2017; 51: 131-139.
 27. Rafiee Zadeh A, Ghadimi K, Mohammadi B, Hatamian H, Naghibi SN, Danaeiniya A. Effects of estrogen and progesterone on different immune cells related to multiple sclerosis. *Caspian J Neurol Sci* 2018; 4(2): 83-90.
 28. Avila M, Bansal A, Culberson J, Peiris AN. The role of sex hormones in multiple sclerosis. *Eur Neurol* 2018; 80(1-2): 93-99.
 29. Luchetti S, van Eden CG, Schuurman K, van Strien ME, Swaab DF, Huitinga I. Gender differences in multiple sclerosis: induction of estrogen signaling in male and progesterone signaling in female lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 2014; 73(2): 123-135.
 30. Ascherio A, Munger KL, Simon KC. Vitamin D and multiple sclerosis. *The Lancet Neurol* 2010; 9(6): 599-612.
 31. Kim CH. A functional relay from progesterone to vitamin D in the immune system. *DNA Cell Biol* 2015; 34(6): 379-382.