



Original Paper

Effects of Interleukin-10 (-1082/-819) and Interleukin-6 (-174) Gene Polymorphisms on Corpus Callosum Changes in Women with Multiple Sclerosis

Maryam Abolghazi¹ , Majid Shahbazi (Ph.D)²  , Mohammad Jafar Gholipour (Ph.D)^{*3}  

¹ M.Sc Student of Anatomy, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ² Professor of Molecular Biology, Medical Cellular and Molecular Research Center, School of Advanced Technologies in Medical Sciences, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ³ Professor of Anatomical Sciences, Gorgan Congenital Malformations Research Center, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Demyelinating lesions, widespread tissue damage, and neuronal connectivity impairments in white matter are associated with reduced cognitive decline in multiple sclerosis (MS) patients. These findings are particularly prominent in the corpus callosum of the brain. Interleukin-10 (IL-10) is an anti-inflammatory cytokine secreted by regulatory T cells (Tregs) with anti-inflammatory properties and can inhibit the production of pro-inflammatory cytokines produced by macrophages and T cells. IL-6 is a multifunctional cytokine involved in the immune system of autoimmune diseases. The IL-6 gene consists of 5 exons, 4 introns, and a proximal promoter region located on the 7p21 chromosomal locus in humans. This study aimed to determine the effects of IL-10 (-1082/-819) and IL-6 (-174) gene polymorphisms on corpus callosum changes in women with MS.

Methods: This case-control study was conducted on 40 women with MS aged 20-40 years referring to Golestan and Kowsar Magnetic Resonance Imaging (MRI) centers in Gorgan and 20 women without MS, autoimmune or inflammatory diseases over 40 years during 2015. Ten mL of blood was taken from the subjects for genotyping. Additionally, DNA extraction was performed using the phenol-chloroform method, and DNA genotyping was performed using the sequence specific primer-polymerase chain reaction (SSP-PCR) method. Brain MRI images of the subjects were employed to measure the corpus callosum and to investigate the relationship with the investigated polymorphisms.

Results: After performing the tests and obtaining different IL-6, IL-10 (-819), and IL-10 (-1082) genotypes, no significant statistical correlation was observed between IL genotypes in the case and control groups. Additionally, no significant correlation was observed between the different IL-6, IL-10 (-819), and IL-10 (-1082) genotypes and changes in the size of different parts of the corpus callosum, including rostrum width, splenium width, body width, the ratio of body length to anteroposterior length, and the ratio of body length to maximum height between the case and control groups. Reductions in the variables of rostrum width, splenium width, body width, the ratio of body width to anteroposterior length, and the ratio of body width to maximum height were significant in both case and control groups ($P < 0.05$). Only the reduction in splenium width was significantly associated with the occurrence of MS ($P < 0.009$, odds ratio [OR]=2.35, 95% confidence interval [CI]=4.51-1.22).

Conclusion: There was no relationship between the morphometric changes of reduced corpus callosum and the changes in IL-6, IL-10 (-819), and IL-10 (-1082) genotypes in patients with MS.

Keywords: Multiple Sclerosis, Corpus Callosum, Magnetic Resonance Imaging, Interleukin-6, Interleukin-10

*Corresponding Author: Mohammad Jafar Gholipour (Ph.D), E-mail: mjgolipour@yahoo.com



Received 6 Feb 2024

Final Revised 8 Sep 2024

Accepted 10 Sep 2024

Published Online 23 Dec 2024

Cite this article as: Abolghazi M, Shahbazi M, Gholipour MJ. [Effects of Interleukin-10 (-1082/-819) and Interleukin-6 (-174) Gene Polymorphisms on Corpus Callosum Changes in Women with Multiple Sclerosis]. J Gorgan Univ Med Sci. 2024; 26(4): 38-46. [Article in Persian]





Introduction

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune and inflammatory disease in which the myelin sheath in the central nervous system is attacked by the immune system. Studies indicate that both genetic and environmental factors influence the disease. Attack to various parts of the nervous system and the impact of environmental factors contribute to the highly variable symptoms of MS, which can include weakness, numbness and tingling in one or more limbs, dizziness, facial pain, and double vision. The onset of this disease typically occurs in young adulthood, between the ages of 20 and 40. Women are at a higher risk of developing MS, with a prevalence rate 2-3 times greater than men. The corpus callosum, the largest fiber bundle in the brain, forms the main connection between the two cerebral hemispheres and is involved in complex functions, such as cognition and sensory integration. The corpus callosum is frequently abnormal in MS. Cognitive impairments affect approximately 50% of MS patients and are categorized by impaired attention, reduced memory, slow information processing, deficits in executive functions, and visuospatial impairments. The corpus callosum consists of several distinct parts, including the rostrum, genu, body, and splenium. The corpus callosum is a common target in MS, often exhibiting focal demyelinating lesions and atrophy in the early stages of the disease. Therefore, studies have been directed toward investigating the corpus callosum. Interleukin-6 (IL-6) is a multifunctional cytokine expressed in most tissues involved in inflammatory processes and is involved in regulating the immune response. In fact, this protein has a multifunctional role. That is, while it plays a role in creating inflammation, it is also involved in preventing inflammation. Abnormally high concentrations of IL-6 may give rise to excessive inflammation and increased MS disease activity. Furthermore, increased IL-6 levels can disrupt the clearance of pathogenic microbial agents that have played a role in T cell activity and may be covertly involved in the progression of MS. IL-10 is a type of regulatory cytokine secreted by Th2 cells and is an anti-inflammatory cytokine whose function leads to the cessation of inflammation and lesions in MS. According to research, systemic levels of IL-10 decrease before the recurrence and activation of MS and gradually increase at the beginning of the recovery phase.

IL-10 is secreted by regulatory T cells (Tregs) with anti-inflammatory properties and can inhibit the production of pro-inflammatory cytokines produced by macrophages and T cells. The IL-6 gene consists of 5 exons, 4 introns, and a proximal promoter region located on the 7p21 chromosomal locus in humans. This study aimed to determine the effects of IL-10 (-1082/-819) and IL-6 (-174) gene polymorphisms on corpus callosum changes in women with MS.

Methods

This case-control study was conducted on 40 women with MS aged 20-40 years referring to Golestan and Kowsar Magnetic Resonance Imaging (MRI) centers in Gorgan, Iran and 20 women without MS, autoimmune or inflammatory diseases over 40 years in 2015.

The disease in the case group was diagnosed by a neurologist, and after the diagnosis, blood samples were collected from the volunteers. The control group was confirmed by a specialist physician to be free of any autoimmune or inflammatory diseases.

The inclusion criteria for the case group included a diagnosis of MS and an age range of 20 to 40 years. For the control group, the criteria were the absence of MS, autoimmune, or inflammatory diseases, and an age range over 40 years.

Ten mL of blood was taken from the subjects. Blood samples were stored in 15-mL sterile Falcon tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) anticoagulant, and DNA was extracted using the phenol-chloroform method. Samples were amplified using the sequence specific primer-polymerase chain reaction (SSP-PCR) method. This method was used for genotyping single nucleotide polymorphisms (SNPs).

To ensure the reliability of PCR results, a primer named human growth hormone (HGH) was utilized as an internal control. PCR products were electrophoresed on a 1.5% agarose gel containing safe stain and their results were visualized using a gel documentation system (Gel doc).

The diagnosis of MS was confirmed based on T2-weighted imaging and

fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) sequences. For morphometric measurements of the corpus callosum, midsagittal images (T1-weighted imaging) and Syngo Fast View software were used. The corpus callosum indices measured in both case and control groups included rostrum width (a), splenium width (b), body width (c), anteroposterior length (d), maximum height (e), the ratio of body width to anteroposterior length (c/d), and the ratio of body width to maximum height (c/e).

Results

The mean rostrum width of the corpus callosum (in cm) was determined to be 6.110 ± 2.01 in the case group and 10.170 ± 2.42 in the control group. A statistically significant decrease in the rostrum width was observed in the case group compared to the control group ($P < 0.001$).

The mean splenium width of the corpus callosum (in cm) was determined to be 7.035 ± 1.59 in the case group and 11.595 ± 1.44 in the control group. A statistically significant decrease in the splenium width was observed in the case group compared to the control group ($P < 0.001$).

The mean body width of the corpus callosum (in cm) was determined to be 3.425 ± 1.07 in the case group and 6.055 ± 0.87 in the control group. A decrease in the body width of the corpus callosum was observed in the case group compared to the control group ($P < 0.001$).

No significant statistical correlation was found between the anteroposterior length and height of the corpus callosum in the case group compared to the control group. However, a significant decrease was observed in the ratio of body width to anteroposterior length, as well as in the ratio of body width to maximum height of the corpus callosum in the case group compared to the control group ($P < 0.001$).

Following tests and obtaining various IL-6, IL-10 (-819), and IL10 (-1082) genotypes, no significant statistical correlation was found between interleukin genotypes in the case and control groups.

No significant correlation was found between the various genotypes of IL-6, IL-10 (-819), and IL-10 (-1082) and alterations in the dimensions of different parts of the corpus callosum, including rostrum width, splenium width, body width, the ratio of body length to anteroposterior length, and the ratio of body length to maximum height between the case and control groups. Furthermore, no significant statistical difference was observed in the CC, AC, and AA genotypes of IL-10 at location -819 and rostrum width of the corpus callosum between the case and control groups.

Reductions in the variables of rostrum width, splenium width, body width, the ratio of body width to anteroposterior length, and the ratio of body width to maximum height were statistically significant in both the case and control groups ($P < 0.05$).

None of the factors demonstrated a statistically significant association with MS. Only a decrease in splenium width was significantly associated with the occurrence of MS ($P < 0.009$, odds ratio [OR]=2.35, 95% confidence interval [CI]=4.51-1.22).

Conclusion

There is no correlation between morphometric changes of reduced corpus callosum dimensions and the changes in IL-6, IL-10(-819), and IL10 (-1082) genotypes in patients with MS.

Ethical Statement

This study was approved by the Ethics Committee of Golestan University of Medical Sciences (IR.GOUMS.REC.1395.153).

Funding

This article has been extracted from the master's thesis of Ms. Maryam Abolqazi in Anatomy at the Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences.

Conflicts of Interest

No conflict of interest.

Acknowledgement

The authors would like to thank Kowsar and Izadi Comprehensive MRI centers, the MS Association of Golestan Province, and all participants in the study.

There was no relationship between the morphometric changes of reduced corpus callosum and the changes in IL-6, IL-10 (-819), and IL-10 (-1082) genotypes in patients with MS.



تحقیقی

اثر پلی مورفیسم ژن‌های IL6 (-174) و IL10 (-1082/-819) بر تغییرات جسم پینه‌ای در زنان مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس

مریم ابوالقاسمی^۱، دکتر مجید شهبازی^۲، دکتر محمدجعفر گلعلی پور^{۳*}

۱ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۲ استاد بیولوژی مولکولی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۳ استاد علوم تشریحی، مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های مادرزادی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: ضایعات دمیالینه، آسیب بافتی منتشره و اختلالات اتصال عصبی در ماده سفید با کاهش زوال شناختی در بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS) مرتبط است و این یافته‌ها در کارپوس کالوزوم (جسم پینه‌ای) مغز بسیار برجسته است. اینترلوکین-۱۰ جزء سایتوکاین‌های ضدالتهابی است. IL-10 مترشح از سلول‌های T تنظیمی Treg ویژگی‌های ضدالتهابی داشته و قادر است تا تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی تولید شده ماکروفاژها و سلول‌های T را مهار کند. اینترلوکین-۶ نوعی سایتوکاین چندعملکردی است که در سیستم دفاعی بیماری‌های خودایمن وجود دارد. ژن IL-6 از ۵ اگزون، ۴ اینترون و یک منطقه پروگزیمال پروموتور است که واقع در لوکوس کروموزومی 7P21 در انسان است. این مطالعه به منظور تعیین اثر پلی مورفیسم ژن‌های IL6 (-174) و IL10 (-1082/-819) بر تغییرات جسم پینه‌ای در زنان مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه مورد - شاهده روی ۴۰ زن مبتلا به MS در محدوده سنی ۴۰-۶۰ سال مراجعه کننده به مرکز تصویربرداری MRI گلستان و کوثر گرگان و ۲۰ زن غیرمبتلا به MS، بیماری اتوایمن و التهابی بالای ۴۰ سال در سال ۱۳۹۴ انجام شد. به منظور انجام ژنوتایپینگ از آزمودنی‌ها ۱۰ میلی‌لیتر خون اخذ شد. استخراج DNA به روش فنل کلروفرم انجام شد و ژنوتایپینگ DNA ها به روش SSP-PCR صورت گرفت. از تصاویر MRI مغز آزمودنی‌ها، به منظور اندازه‌گیری کارپوس کالوزوم و بررسی ارتباط با پلی مورفیسم‌های مورد مطالعه استفاده گردید.

یافته‌ها: پس از انجام آزمایشات و به دست آوردن ژنوتایپ‌های مختلف IL-6، IL-10(-819) و IL10(-1082)، ارتباط آماری معنی‌داری بین ژنوتایپ‌های اینترلوکین‌ها در دو گروه مورد و شاهد مشاهده نگردید. بین ژنوتایپ‌های مختلف IL-6، IL-10(-819) و IL10(-1082) و تغییرات اندازه بخش‌های مختلف کارپوس کالوزوم شامل پهنای رستروم، پهنای اسپلنیوم، پهنای تنه، نسبت طول تنه به طول قدامی خلفی و نسبت طول تنه به حداکثر ارتفاع بین گروه مورد و شاهد ارتباط معنی‌داری مشهود نبود. کاهش متغیرهای پهنای رستروم، پهنای اسپلنیوم، پهنای تنه، نسبت پهنای تنه به طول قدامی خلفی و نسبت پهنای تنه به حداکثر ارتفاع در گروه مورد و شاهد معنی‌دار بودند ($P < 0/05$). تنها کاهش پهنای اسپلنیوم با وقوع بیماری MS ارتباط آماری معنی‌دار داشت ($P < 0/009$ ، $OR = 2/35$ ، $95\% CI = 1/22 - 4/51$).

نتیجه‌گیری: بین تغییرات مورفومتریک کاهش کارپوس کالوزوم و تغییرات ژنوتایپ‌های IL-6، IL-10(-819) و IL10(-1082) در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس ارتباطی وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس، کارپوس کالوزوم، MRI، اینترلوکین-۶، اینترلوکین-۱۰

* نویسنده مسؤول: دکتر محمدجعفر گلعلی پور، پست الکترونیکی: mjgolalipour@yahoo.com

نشانی: گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز تحقیقات ناهنجاری‌های مادرزادی، تلفن ۰۱۷-۳۲۵۵۸۶۰۰

وصول ۱۴۰۲/۱۱/۱۷ اصلاح نهایی ۱۴۰۳/۶/۱۸ پذیرش ۱۴۰۳/۶/۲۰ انتشار ۱۴۰۳/۱۰/۳

مقدمه

و به سلول‌های دفاعی بدن اجازه ورود به بافت مغز را می‌دهد و در آن غلاف میلین در سیستم اعصاب مرکزی مورد هجوم سیستم ایمنی قرار می‌گیرد.^۱ مطالعات حاکی از اثر عوامل ژنتیکی و محیطی بر روی بیماری است.^۲ مورد هجوم قرار گرفتن قسمت‌های مختلف از

بیماری مولتیپل اسکلروزیس (Multiple sclerosis: MS) یک نوع بیماری اتوایمن و التهابی است که به دنبال یک التهاب مزمن، سدخونی- مغزی خاصیت نفوذپذیری انتخابی خود را از دست داده

۴ اینترون و یک منطقه پروگزیمال پروموتور است که واقع در لوکوس کروموزومی 7P21 در انسان است. این مطالعه به منظور تعیین اثر پلی مورفیسم ژن‌های IL10 (-1082/-819) و IL6 (-174) بر تغییرات جسم پینه‌ای در زنان مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه مورد - شاهدی روی ۴۰ زن مبتلا به MS در محدوده سنی ۲۰-۴۰ سال مراجعه کننده به مرکز تصویربرداری MRI کوثر و ایزدی گرگان و ۲۰ زن غیرمبتلا به MS، بیماری اتوایمن و التهابی بالای ۴۰ سال در سال ۱۳۹۴ انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان (IR.GOUMS.REC.1395.153) قرار گرفت. از آزمودنی‌ها فرم رضایت‌نامه کتبی شرکت آگاهانه در مطالعه اخذ شد.

بیماری گروه مورد توسط نورولوژیست تشخیص داده شده بود و پس از تشخیص بیماری در صورت داوطلب شدن از آنها نمونه‌گیری به عمل آمد. گروه شاهد از نظر پزشکی متخصص فاقد هر گونه بیماری اتوایمن و التهابی بودند. حجم نمونه مطابق با مطالعه قبلی^{۱۸} تعیین شد.

معیارهای ورود به مطالعه در گروه مورد ابتلا به MS و محدوده سنی ۲۰ تا ۴۰ سال و در گروه شاهد عدم ابتلا به MS، بیماری اتوایمن و التهابی و محدوده سنی بیش از ۴۰ سال بودند.

از آزمودنی‌ها ۱۰ میلی لیتر خون اخذ شد. نمونه‌های خون در لوله‌های فالتکون ۱۵ میلی‌لیتر استریل حاوی ضدانعقاد EDTA نگهداری و DNA آنها به روش فلن-کلروفرم استخراج گردید. نمونه‌ها به روش SSP-PCR تکثیر شدند. از این روش به منظور ژنوتایپینگ جایگزین‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) استفاده می‌گردد. به این منظور، آنزیم Taq پلی‌مراز دئوکسی نوکلئتید تری‌فسفات‌ها با بافر و دو پرایمر الیگنوکلئوتیدی و سایر ترکیبات در لوله آزمایش مخلوط شده و درون دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت و تکثیر انجام شد. دو نوع پرایمر اختصاصی و یک نوع پرایمر عمومی در این واکنش طراحی می‌شوند که نتیجه آنها در نوع محصول است که یکی از آنها مختص آلل جهش یافته و دیگری مختص آلل طبیعی است. پرایمرها در PCR بسیار مهم هستند که موفقیت یا عدم موفقیت آن بسته به نوع طراحی پرایمرها است و بایستی طوری طراحی شوند که با توالی دو سر ناحیه هدف روی مولکول الگو تطابق داشته باشند. هر پرایمر بایستی مکمل رشته الگو باشد تا هیبریداسیون انجام پذیرد و انتهای ۳ پرایمر هیبرید شده هم با هم در یک راستا باشند. برای اطمینان یافتن از نتایج PCR از یک پرایمر به عنوان کنترل داخلی به نام HGH استفاده نمودیم. محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد حاوی Safe Stain منتقل گردید و نتایج آنها توسط دستگاه عکس برداری از ژل (Gel doc) قرائت شد.

سیستم عصبی و نیز اثرگذاری عوامل محیطی باعث می‌شود که علائم بیماری MS بسیار مختلف باشد که این علائم شامل ضعف و احساس گزگز و مورمور شدن اندام‌ها در یک یا چند اندام، سرگیجه، درد صورت و دو بینی است.^۳ سن بروز این بیماری در سنین جوانی بین ۲۰ تا ۴۰ سالگی است. گرچه احتمال دارد در سنین پایین‌تر و یا بالاتر نیز بروز پیدا کند. معمولاً سن افراد مبتلا بین ۱۵ تا ۳۰ است؛ اما میانگین سن ابتلا ۳۰ سال است.^۴ بیشترین جنسیت در معرض ابتلا زنان هستند که به میزان ۲ الی ۳ برابر بیشتر از مردان در خطر ابتلا قرار دارند.^۵ کارپوس کالوزوم (جسم پینه‌ای) بزرگ‌ترین دستگاه فیبری در مغز است که اتصال اصلی بین دو نیم کره مغزی را شکل داده و در عملکردهای پیچیده مانند شناخت و یکپارچه‌سازی حسی دخالت دارد. جسم پینه‌ای در اکثر موارد در بیماری MS غیرطبیعی است.^۶ اختلالات شناختی در MS حدوداً ۵۰ درصد از بیماران را تحت تاثیر قرار می‌دهد و توسط اختلال در توجه، کاهش حافظه، پردازش کند اطلاعات، اختلال در مهارت‌های اجرایی و اختلالات دیداری فضایی دسته‌بندی می‌شود.^۷ جسم پینه‌ای از چندین بخش مختلف از قبیل روستروم، زانو، جسم و اسپلنیوم تشکیل شده است.^۸ کارپوس کالوزوم در MS هدف رایجی است که اغلب در مراحل اولیه بیماری، ضایعات دمیلینه کننده کانونی (فوکال) و آتروفی را نشان می‌دهد. از این رو مطالعات به سمت پژوهش بر روی کارپوس کالوزوم سوق داده می‌شود.^۹ اینترلوکین-۶ یک سایتوکین چندکاره است که در اکثر بافت‌های دخیل در فرایندهای التهابی بیان می‌شود و در تنظیم پاسخ ایمنی دخالت دارد.^{۱۰-۱۱} در واقع این پروتئین یک نقش چند عملکردی دارد. یعنی همان‌طور که در ایجاد التهاب نقش دارد؛ در عین حال در جلوگیری از التهاب نیز موثر است.^{۱۲} همچنین برخی مطالعات اظهار داشتند که غلظت بالای غیرطبیعی IL-6 ممکن است سبب افزایش التهاب پیش از حد و فعالیت بیماری MS گردد. همچنین بالا رفتن سطح IL-6 می‌تواند سبب مختل کردن پاکسازی عوامل میکروبی بیماری‌زایی شود که در فعالیت سلول‌های T نقش داشتند و به‌طور پنهانی در گسترش و پیشروی بیماری MS نقش داشته باشند.^{۱۳} اینترلوکین-۱۰ جزء دسته‌ای از سایتوکاین‌های تنظیمی محسوب می‌شود که سلول‌های Th2 آنها را ترشح نموده و جزء سایتوکاین‌های ضدالتهابی هستند که عملکردش سبب توقف التهاب و ضایعه در MS می‌شود. بر اساس پژوهش‌ها، سطح سیستمیک اینترلوکین-۱۰ قبل از عود بیماری و فعال شدن بیماری MS کاهش می‌یابد و میزان آن نیز به تدریج و در هنگام شروع فاز بهبودی افزایش می‌یابد.^{۱۴-۱۷} IL-10 مترشحه از سلول‌های T تنظیمی Treg ویژگی‌های ضدالتهابی داشته و قادر است تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی که به‌وسیله ماکروفاژها و سلول‌های T تولید می‌شوند را مهار کند. ژن IL-6 از ۵ اگزون،

پهنای اسپلنیوم گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد دیده شد ($P < 0.001$) (جدول یک).

جدول ۱: مقایسه میانگین قسمت های مختلف کارپوس کالوزوم در گروه مبتلا به مولتیبل اسکلروزیس و گروه سالم

P-value	میانگین و انحراف معیار		متغیرها
	گروه شاهد	گروه مورد	
0.001	10.117 ± 2.42	6.11 ± 2.01	پهنای رستروم
0.001	11.59 ± 1.44	7.03 ± 1.59	پهنای اسپلنیوم
0.001	6.05 ± 0.87	3.42 ± 1.07	طول تنه
0.111	69.19 ± 3.57	67.32 ± 3.65	طول قدامی خلفی
0.992	24.90 ± 2.62	24.91 ± 2.29	حداکثر ارتفاع
0.001	0.87 ± 0.11	0.53 ± 0.17	طول قدامی خلفی / طول تنه
0.001	2.42 ± 0.38	1.37 ± 0.46	حداکثر ارتفاع / طول تنه

میانگین پهنای جسم کارپوس کالوزوم (سانتی متر) در گروه مورد 3.42 ± 1.07 و شاهد 6.11 ± 2.01 تعیین شد. حداقل پهنای جسم کارپوس کالوزوم در گروه مورد 1/4 و در گروه شاهد 4/6 و حداکثر پهنای جسم کارپوس کالوزوم در گروه مورد 6/7 و در گروه شاهد 7/5 تعیین شد. کاهش پهنای جسم کارپوس کالوزوم در گروه مورد نسبت به گروه شاهد دیده شد ($P < 0.001$) (جدول یک).

بین طول قدامی-خلفی و ارتفاع کارپوس کالوزوم در گروه مورد نسبت به گروه شاهد ارتباط آماری معنی داری یافت نشد. بین نسبت پهنای جسم به طول قدامی - خلفی و نیز بین نسبت پهنای جسم به حداکثر ارتفاع کارپوس کالوزوم گروه مورد نسبت به گروه شاهد کاهش آماری معنی داری مشاهده شد ($P < 0.001$) (جدول یک).

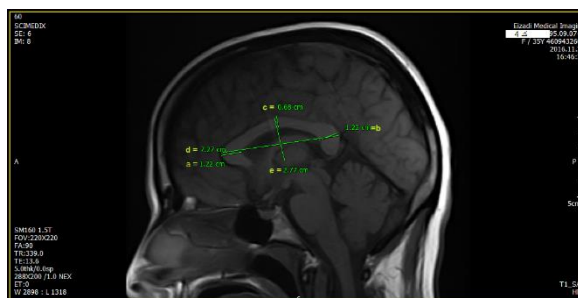
پس از انجام آزمایشات و به دست آوردن ژنوتایپ های مختلف IL-6، IL-10(-819) و IL-10(-1082)، ارتباط آماری معنی داری بین ژنوتایپ های اینترلوکین ها در دو گروه مورد و شاهد مشاهده نگردید (جدول ۲) (شکل های ۲ و ۳).

جدول ۲: ارتباط ژنوتایپ های مختلف بین گروه مبتلا به مولتیبل اسکلروزیس و گروه سالم

P-value	تعداد (درصد)		متغیرها	IL6
	گروه شاهد	گروه مورد		
0.818	11 (64.7)	11 (55)	GG	IL6
	3 (17.6)	5 (25)	GC	
	3 (17.6)	4 (20)	CC	
0.890	1 (5.9)	1 (5)	AA	IL10 (-819)
	8 (47.1)	11 (55)	AC	
	8 (47.1)	8 (40)	CC	
0.979	4 (22.2)	5 (25)	AA	IL10 (-1082)
	13 (72.2)	14 (70)	AG	
	1 (5.6)	1 (5)	GG	

بین ژنوتایپ های مختلف IL-6، IL-10(-819) و IL-10(-1082) و تغییرات اندازه بخش های مختلف کارپوس کالوزوم شامل پهنای رستروم، پهنای اسپلنیوم، پهنای تنه، نسبت طول تنه به طول قدامی خلفی و نسبت طول تنه به حداکثر ارتفاع بین گروه مورد و شاهد ارتباط معنی داری مشهود نبود (جدول ۳). همچنین اختلاف آماری

در نهایت تعیین ژنوتایپ با مشاهده نتایج انجام گردید. تایید تشخیص بیماری MS، از تصاویر (T2 weighted imaging) و FLAOR و برای اندازه گیری های مورفومتریک کارپوس کالوزوم از تصاویر میدساژیتال (T1 weighted imaging) و نرم افزار Syngo Fast View استفاده شد. شاخص های کارپوس کالوزوم شامل پهنای رستروم (a)، پهنای اسپلنیوم (b)، پهنای جسم (c)، طول قدامی - خلفی (d)، حداکثر بلندی (e) نسبت پهنای جسم به طول قدامی - خلفی (c/d) و نسبت پهنای جسم به حداکثر ارتفاع (c/e) در گروه های مورد و شاهد اندازه گیری گردید (شکل یک).



شکل ۱: کاراکترهای اندازه گیری کارپوس کالوزوم در بیماران مورد مطالعه

شاخص های مورفومتریک کارپوس کالوزوم پس از ورود به کامپیوتر با نرم افزار آماری SPSS-16 تجزیه و تحلیل گردید. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شد. با استفاده از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف نرمال بودن توزیع داده ها بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون رگرسیون لجستیک و کای اسکور به منظور بررسی ارتباط بین متغیرها و سپس از آزمون آنالیز واریانس و T-test مستقل استفاده شد. اندازه گیری ها بر حسب میلی متر و به صورت میانگین و انحراف معیار در گروه های مورد و شاهد ارائه گردید. سطح معنی داری همه آزمون ها کمتر از 0.05 در نظر گرفته شد.

یافته ها

میانگین پهنای رستروم کارپوس کالوزوم (سانتی متر) در گروه مورد 3.42 ± 1.07 و شاهد 6.11 ± 2.01 تعیین شد. حداقل پهنای رستروم کارپوس کالوزوم در گروه مورد 3/1 و در گروه شاهد 4/6 و حداکثر پهنای رستروم کارپوس کالوزوم در گروه مورد 6/7 و در گروه شاهد 7/5 تعیین شد. کاهش آماری معنی دار بین پهنای رستروم گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد دیده شد ($P < 0.001$) (جدول یک).

میانگین پهنای اسپلنیوم کارپوس کالوزوم (سانتی متر) در گروه مورد 7.03 ± 1.59 و شاهد 11.59 ± 1.44 تعیین شد. حداقل پهنای اسپلنیوم کارپوس کالوزوم در گروه مورد 4/5 و در گروه شاهد 9/8 و حداکثر پهنای اسپلنیوم کارپوس کالوزوم در گروه مورد 11/2 و در گروه شاهد 14/9 تعیین شد. کاهش آماری معنی دار بین

(جدول ۴).

جدول ۴: ارتباط بین پهنای رستروم، پهنای اسپلنیوم، پهنای تنه، نسبت پهنای تنه به طول قدامی خلفی و نسبت پهنای تنه به حداکثر ارتفاع در گروه مورد و شاهد

P-value	EXP(B)(OR)	فاصله اطمینان	متغیرها
۰/۰۰۱	۱/۱۵۳	۰/۵۵۷-۲/۳۳۸	پهنای رستروم
۰/۰۰۹	۰/۱۹۸	۰/۰۲۷-۱/۴۷۹	پهنای اسپلنیوم
۰/۰۰۱	۰/۴۶۵	۰/۰۶۹-۳/۱۱۱	پهنای تنه
۰/۰۰۱	۰/۷۴۹	۰/۴۱۳-۱/۳۵۷	پهنای تنه / طول قدامی خلفی
۰/۰۰۱	۱/۱۲۸	۰/۵۳۱-۲/۳۹۵	پهنای تنه / حداکثر ارتفاع

هیچکدام از فاکتورها با MS رابطه آماری معنی داری نداشتند. تنها کاهش پهنای اسپلنیوم با وقوع بیماری MS رابطه آماری معنی داری داشت (95% CI=۴/۵۱-۱/۲۲, OR=۲/۳۵, P<۰/۰۰۹).

بحث

با توجه به بررسی ما، تاکنون ارزیابی بین پلی مورفیسم ژن‌های مرتبط در مکانیسم بیماری MS و MRI مغزی آنها انجام نشده است. با توجه به نتایج این مطالعه، متغیرهای پهنای رستروم، پهنای اسپلنیوم، پهنای تنه، نسبت پهنای تنه به طول قدامی خلفی و نسبت پهنای تنه به حداکثر ارتفاع کارپوس کالوزوم در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری معنی دار بودند. تنها فاکتور پهنای اسپلنیوم با MS رابطه آماری معنی داری نشان داد. به عبارتی دیگر پهنای اسپلنیوم با وقوع بیماری MS رابطه آماری داشت.

در مطالعه پورحسین و همکاران در اصفهان، پلی مورفیسم 174C/C- در پروموتور IL-6 در ۱۱۰ بیمار مبتلا به MS نوع Relapsing Remitting مورد ارزیابی قرار گرفت و اختلاف آماری معنی داری بین بیماری مولتیپل اسکلروزیس نوع RR با ۱۱۰ بیمار گروه کنترل یافت نشد. همچنین نتایج بیانگر عدم وجود ارتباط آماری معنی دار بین گروه‌های خونی، سن و جنس بود. در نهایت مشخص گردید که این SNP یک واریانت ژنی موثر برای توسعه بیماری مولتیپل اسکلروزیس نوع RR نیست.^{۱۹}

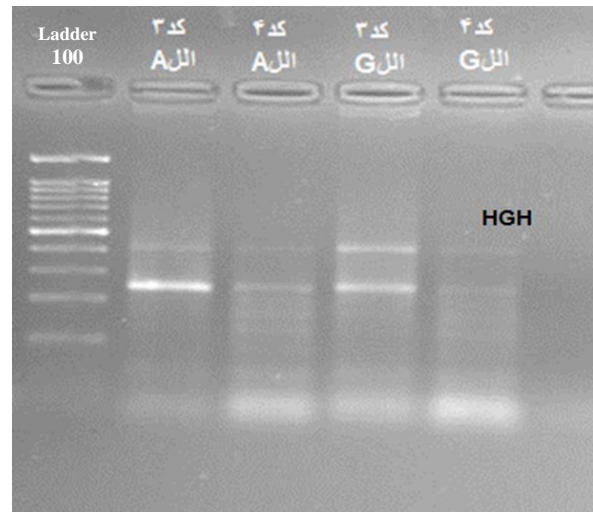
در متاآنالیز Hu و همکاران پلی مورفیسم ژن IL-6 در جایگاه 174C- ارزیابی شد و ارتباط آماری معنی داری بین این پلی مورفیسم و خطر ابتلا به MS مشاهده نگردید. همچنین مطالعه آنان نشان داد که ژنوتایپ IL6-174C/C در نژاد آسیایی خطر ابتلا به بیماری را ۱/۸۷ برابر افزایش داده است.^{۲۰}

در مطالعه Lufriu و همکاران اثر آسیب کارپوس کالوزوم بر اختلالات فیزیکی و شناختی در بیماری MS ارزیابی و نتیجه‌گیری شد که اختلالات شناختی و ناتوانایی‌های فیزیکی در بیماری MS می‌تواند ناشی از قطع ارتباط مناطق مغزی بوده و منجر به آسیب کارپوس کالوزوم شود. آنان به شواهدی از اختلالات زیرساختاری کارپوس کالوزوم در ارتباط با دستگاه حرکتی در MS دست پیدا کردند و در نتیجه بیان داشتند که آسیب به کارپوس کالوزوم می‌تواند سبب اختلالات شناختی شده و در حد کمتر از طریق یک

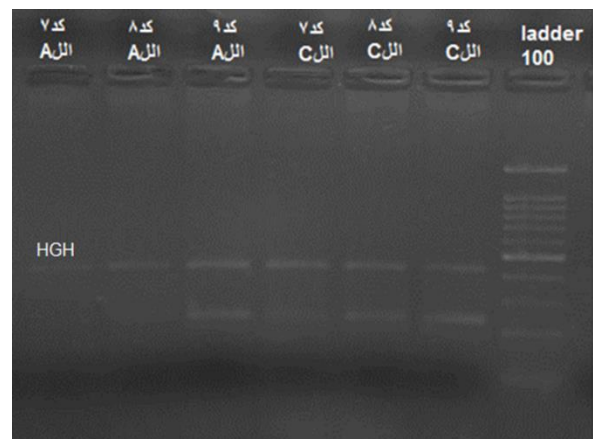
معنی دار در ژنوتایپ CC، AC و AA اینترلوکین-۱۰ جایگاه ۸۱۹- و پهنای رستروم کارپوس کالوزوم بین گروه مورد نسبت به شاهد دیده نشد.

جدول ۳: ارتباط ژنوتایپ‌های مختلف با کارپوس کالوزوم

متغیرها	P-value	
	IL10(-1082)	IL10(-819)
پهنای رستروم (a)	۰/۱۸۳	۰/۶۹۵
پهنای اسپلنیوم (b)	۰/۵۹۵	۰/۹۳۲
طول تنه (c)	۰/۴۱۶	۰/۵۰۴
طول قدامی خلفی (d)	۰/۰۷۶	۰/۳۳۵
حداکثر ارتفاع (e)	۰/۹۸۷	۰/۳۲۲
نسبت طول تنه به طول قدامی خلفی (c/d)	۰/۶۱۷	۰/۴۷۹
نسبت طول تنه به حداکثر ارتفاع (c/e)	۰/۵۰۵	۰/۴۴۶



شکل ۲: باندهای ال A و G در گروه شاهد IL10 (-1082) (Product Length=258)



شکل ۳: باندهای ال A و C در گروه شاهد IL10 (-819) (Product Length=234)

کاهش متغیرهای پهنای رستروم، پهنای اسپلنیوم، پهنای تنه، نسبت پهنای تنه به طول قدامی خلفی و نسبت پهنای تنه به حداکثر ارتفاع در گروه مورد و شاهد از نظر آماری معنی دار بودند (P<۰/۰۵)

نتایج این مطالعه نشان داد که بین پلی مورفیسم rs1929992 و استعداد ابتلا به الگوهای مختلف بیماری MS ارتباط آماری معنی داری وجود دارد.^{۲۵}

در مطالعه سیف زاده و همکاران به منظور تعیین ارتباط SNPs IL-13، C-1112T، A-1512C و G+2044A با خطر ابتلا به MS تعداد ۶۸ بیمار RRMS و ۱۱۰ فرد سالم ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که فراوانی ژنوتیپ های CC، CC و AA به طور معنی داری بالاتر و آلل های C، C و A به ترتیب ۱۱۱۲-CT، 1512AC- و GA SNP۲۰۴۴+ در گروه بیمار وجود دارد. ارتباط آماری معنی داری بین آلل C-1112 و سن شروع MS یافت شد و ارتباط آماری معنی داری بین هیچ ژنوتیپ یا آلل و مقیاس وضعیت ناتوانی گسترده (EDSS) بیماران مشاهده نشد.^{۲۶}

در مطالعه Bakr و همکاران ارتباط بین پلی مورفیسم های ژنی در اینترلوکین-۱۶ (rs4072111 C/T)، فاکتور نکروز تومور α (rs1800629 G/A) و حساسیت و ویژگی های بالینی MS در کشور مصر بررسی شد. نتایج نشان داد که ژنوتیپ AA TNF- α -308 و آلل A می تواند با پیشرفت ناتوانی و شدت MS و آلل AA IL-18-607 ژنوتیپ A می تواند با حساسیت به بیماری در گروه مصری مرتبط باشد.^{۲۷}

بر اساس مطالعه صیاد و موفق اثر پلی مورفیسم ژن اینترلوکین-۲ (IL2)-330 بر سطح پلاسمایی آن در ۱۰۰ بیمار مبتلا به MS و ۱۰۰ فرد سالم از نظر قومیتی، سنی و جنسیتی انتخاب شدند. نتایج نشان داد که فراوانی ژنوتیپ 330 T/T-IL2 در بیماران مبتلا به MS در مقایسه با افراد عادی بیشتر است. بر این اساس، سطح پلاسمایی IL2 در بیماران در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری بود و نتیجه گیری شد که ژنوتیپ 330 T/T-IL2 در بیماران مبتلا به MS با سطح بالاتر IL2 پلازما مرتبط است.^{۲۸}

اگرچه علت MS به طور کامل شناخته نشده است؛ عوامل محیطی و ژنتیکی نقش مهمی ایفا می کنند. در مطالعه Simsek و همکاران^{۲۹} ارتباط بین MS و ژن IL7R - 449 (A/G) ، (T/C) 504 - و 1085- (G/T) پروموتور پلی مورفیسم در ۳۶۴ بیمار مبتلا به MS و ۱۹۱ فرد سالم در کشور ترکیه بررسی شدند. سه ناحیه چند شکلی در پروموتور IL7R شناسایی و این نواحی با پرایمرهای مناسب تکثیر شدند. بر اساس نتایج توزیع ژنوتیپ و فراوانی آللی چندشکلی ۴۴۹- هیچ ارتباط آماری معنی داری با MS به طور مستقیم یافت نشد. با اینحال، ژنوتیپ های GA 449 - IL7R برای AOMS و AA برای EOMS توجه به سن شروع بیماری، عوامل خطر بودند. علاوه بر این، آلل IL7R-449 به عنوان یک عامل خطر برای EOMS شناخته شد و ارتباط آماری معنی داری بین ژنوتیپ هتروزیگوت

مکانیسم قطع ارتباطی، گسترش کمتری یابد.^{۲۱} در مطالعه آذربیرا و همکاران ارتباط پلی مورفیسم IL-10 در بین بیماران ایرانی مبتلا به MS ارزیابی شد. آنها ۱۱۰ بیمار مبتلا به MS و ۱۰۰ فرد کنترل را که از نظر سن و قومیت با هم برابر بودند؛ مورد بررسی قرار دادند. سپس سه SNP که در ناحیه بالادست پروموتور ژن IL-10 (-1082,-819,-592) قرار داشتند را از طریق ARMS-PCR و RFLP-PCR بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که ژنوتیپ های 1082G/A، 819 T/C و 592 A/C در بین جمعیت مبتلا به بیماری MS و کنترل مشابه بوده و اختلاف آماری معنی داری بین فراوانی آللی و ژنوتایی در بین گروه مورد و شاهد یافت نشد. علاوه بر این در سن ایندکس پیشرفت نیز اختلاف معنی دار آماری بین فراوانی ژنوتایی و آللی دیده نشد.^{۲۲}

Mihailova و همکاران در بلغارستان، پلی مورفیسم ژن های پیش التهابی و ضد التهابی را در ۵۵ بیمار مبتلا به MS و ۸۶ فرد سالم مورد مطالعه قرار دادند. نمونه های خون از بیماران گرفته شد و پس از استخراج DNA از طریق SSP-PCR پلی مورفیسم موجود شناسایی گردید. نتایج آنان نشان داد که ژنوتیپ CC در جایگاه های 819- و 592- پروموتور ژن اینترلوکین-۱۰ به طور معنی داری در افراد مبتلا به بیماری MS بیشتر دیده شد. این ژنوتیپ با سطح سرمی پایین اینترلوکین-۱۰ همراه بود.^{۲۳}

در مطالعه آزادی و همکاران به ارزیابی ارتباط واریانت ژنتیکی rs1801275 گیرنده IL-4 در ۶۱۱ بیمار مبتلا به RRMS و ۶۱۱ فرد سالم در شهر اصفهان پرداخته شد. سپس استخراج DNA انجام شد و پلی مورفیسم rs1801275 گیرنده اینترلوکین ۴ با روش Real Time PCR HRM مورد بررسی قرار گرفت. گروه شاهد ۱۵ درصد دارای ژنوتیپ طبیعی (AA)، ۱۱ درصد هتروزیگوت (AG) و ۶۵ درصد دارای ژنوتیپ هموزیگوت (GG) بودند و گروه بیمار ۲۱ درصد دارای ژنوتیپ طبیعی (AA)، ۵۵ درصد هتروزیگوت (AG) و ۲۲ درصد هموزیگوت (GG) بودند.^{۲۴}

در مطالعه جمالی و همکاران ارتباط بین پلی مورفیسم ژن IL-33 در ناحیه rs1929992 با استعداد ابتلا به بیماری MS بررسی شد. به طوری که نمونه خون ۱۴۰ بیمار مبتلا به MS و ۱۴۰ فرد سالم که از نظر سن و جنس همسان بودند؛ انتخاب شدند. بر اساس نتایج اختلاف معنی داری بین دو گروه بیمار و سالم در فراوانی ژنوتایپ وجود داشت. به طوری که فراوانی ژنوتایپ AA در بیماران نوع پیشرونده- ثانویه (SP-MS) و نوع پیشرونده-اولیه (PP-MS) بیشتر از گروه کنترل بود. در بیماران نوع عودکننده-بهبود یابنده (RR-MS)، فراوانی ژنوتایپ AG کمتر از گروه کنترل بود. همچنین در بیماران RRMS، PPMS و SPMS فراوانی آلل A بالاتر از گروه کنترل بود؛ اما آلل G در این الگوهای بیماری کمتر از گروه کنترل مشاهده شد.

می‌شود.^{۳۰}

با توجه به اینکه اکثر بیماران مبتلا به MS قومیت فارس داشتند؛ سایر قومیت‌ها وارد مطالعه نشدند که از محدودیت‌های مطالعه به‌شمار می‌رود. تعداد افراد مبتلا به MS در جامعه محدود و کم بوده و برای جمع‌آوری نمونه‌های گروه مورد با محدودیت جدی مواجه بودیم. پیشنهاد می‌شود که مطالعات مشابه بر روی هردو جنس مرد و زن و طیف وسیع‌تری از جمعیت با محیطی بزرگتر انجام شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که بین تغییرات مورفومتریک کاهش کارپوس کالوزوم و تغییرات ژنوتایپ‌های IL-6، IL-10(-819) و IL10 (-1082) در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس ارتباطی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم مریم ابوالقاسی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم تشریحی از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود. بدین‌وسیله از مرکز جامع تصویربرداری پزشکی کوثر و ایزدی، انجمن MS استان گلستان و نیز از شرکت‌کنندگان در مطالعه، صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد. بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

References

- Hafler DA. Multiple sclerosis. *J Clin Invest*. 2004 Mar;113(6):788-94. doi: 10.1172/JCI21357.
- Gourraud PA, Harbo HF, Hauser SL, Baranzini SE. The genetics of multiple sclerosis: an up-to-date review. *Immunol Rev*. 2012 Jul;248(1):87-103. doi: 10.1111/j.1600-065X.2012.01134.x.
- Kasper DL, Braunwald E, Hauser S, Longo D, Jameson JL, Fauci AS. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. New York: McGraw-Hill Professional. 2004; pp: 2461-71.
- Hoffmann V, Pöhlau D, Przuntek H, Epplen JT, Hardt C. A null mutation within the ciliary neurotrophic factor (CNTF)-gene: implications for susceptibility and disease severity in patients with multiple sclerosis. *Genes Immun*. 2002 Feb;3(1):53-55. doi: 10.1038/sj.gene.6363818.
- Vinayak R. Chemical synthesis, analysis, and purification of ribozymes. *Methods Mol Biol*. 1997;74:51-58. doi: 10.1385/0-89603-389-9:51.
- Larson EB, Burnison DS, Brown WS. Callosal function in multiple sclerosis: bimanual motor coordination. *Cortex*. 2002 Apr;38(2):201-14. doi: 10.1016/s0010-9452(08)70650-6.
- Gronwall DM. Paced auditory serial-addition task: a measure of recovery from concussion. *Percept Mot Skills*. 1977 Apr;44(2):367-73. doi: 10.2466/pms.1977.44.2.367.
- Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. *Gray's anatomy*. 37th ed. London: Churchill Livingstone. 1989.
- Audoin B, Ibarrola D, Malikova I, Soulier E, Confort-Gouny S, Duong MV, et al. Onset and underpinnings of white matter atrophy at the very early stage of multiple sclerosis--a two-year longitudinal MRI/MRSI study of corpus callosum. *Mult Scler*. 2007 Jan;13(1):41-51. doi: 10.1177/1352458506071215.
- Kubaszek A, Pihlajamäki J, Punnonen K, Karhapää P,

TC 504 - IL7R و MS مشاهده شد. پلی‌مورفیسم IL7R-1085 (G/T) ارتباطی با MS نشان نداد. فراوانی RRMS در جمعیت ترک کاهش یافته و فراوانی SPMS بر اساس مقایسه با نتایج سایر جمعیت‌ها به شدت افزایش یافته بود. علاوه بر این، بیماران مذکر فراوانی SPMS را به طور قابل توجهی افزایش دادند. در نتیجه، این مطالعه‌ای بود که ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم‌های پروموتور IL7R و سن شروع MS را نشان داد.^{۲۹}

در مطالعه مجیدی‌نسب و همکاران ارتباط ژن IL7R پلی‌مورفیسم rs6897932 در بیماران مبتلا به MS ارزیابی شد. ۱۲۷ بیمار مبتلا به MS عودکننده - فروکش‌کننده (RRMS) با میانگین سنی ۳۲/۲۵ سال و محدوده سنی ۵۷-۱۶ سال و ۱۰۹ نفر از نظر قومیتی و جنس به عنوان گروه کنترل سالم انتخاب شدند. بررسی پلی‌مورفیسم ژن IL7R نشان داد که آلل T و ژنوتیپ‌های C/T و T/T به ترتیب در ۵۳/۵ درصد، ۴۲/۵ درصد و ۴ درصد بیماران مبتلا به MS و در ۶۸/۸ درصد، ۲۶/۶ درصد و ۴/۶ درصد گروه شاهد وجود داشت. مقایسه آلل و ژنوتیپ در گروه بیمار و سالم تفاوت‌های قابل توجهی را نشان دادند. توزیع پلی‌مورفیسم rs6897932 در استان خوزستان به‌طور قابل توجهی متفاوت بود. این پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی باعث پیوند جایگزین در آگرون ۶ ژن IL7R با تأثیر احتمالی خودایمنی

Vauhkonen I, Laakso M. The C-174G promoter polymorphism of the IL-6 gene affects energy expenditure and insulin sensitivity. *Diabetes*. 2003 Feb;52(2):558-61. doi: 10.2337/diabetes.52.2.558.

- Galun E, Nahor O, Eid A, Jurim O, Rose-John S, Blum HE, et al. Human interleukin-6 facilitates hepatitis B virus infection in vitro and in vivo. *Virology*. 2000 May;270(2):299-309. doi: 10.1006/viro.2000.0210.
- Kakumu S, Shinagawa T, Ishikawa T, Yoshioka K, Wakita T, Ida N. Interleukin 6 production by peripheral blood mononuclear cells in patients with chronic hepatitis B virus infection and primary biliary cirrhosis. *Gastroenterol Jpn*. 1993 Feb;28(1):18-24. doi: 10.1007/BF02774999.
- van der Poll T, Keogh CV, Guirao X, Buurman WA, Kopf M, Lowry SF. Interleukin-6 gene-deficient mice show impaired defense against pneumococcal pneumonia. *J Infect Dis*. 1997 Aug;176(2):439-44. doi: 10.1086/514062.
- Maimone D, Guazzi GC, Annunziata P. IL-6 detection in multiple sclerosis brain. *J Neurol Sci*. 1997 Feb;146(1):59-65. doi: 10.1016/s0022-510x(96)00283-3.
- van Boxel-Dezaire AH, Hoff SC, van Oosten BW, Verweij CL, Dräger AM, Adèr HJ, et al. Decreased interleukin-10 and increased interleukin-12p40 mRNA are associated with disease activity and characterize different disease stages in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1999 Jun;45(6):695-703. doi: 10.1002/1531-8249(199906)45:6<695::aid-ana3>3.0.co;2-r.
- Petereit HF, Pukrop R, Fazekas F, Bamborschke SU, Röpele S, Kölmel HW, et al. Low interleukin-10 production is associated with higher disability and MRI lesion load in secondary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2003 Feb;206(2):209-14. doi: 10.1016/s0022-510x(02)00420-3.
- Waubant E, Gee L, Bacchetti P, Sloan R, Coteleur A, Rudick R, et al. Relationship between serum levels of IL-10, MRI activity

- and interferon beta-1a therapy in patients with relapsing remitting MS. *J Neuroimmunol.* 2001 Jan;112(1-2):139-45. doi: 10.1016/s0165-5728(00)00355-6.
18. Nouri Hosseini H, Mohammadi MR, Aarabi M, Mohammadi N, Gosalipour MJ. Ethnicity Influences Corpus Callosum Dimensions. *Neurol Res Int.* 2018 May;2018:8916035. doi: 10.1155/2018/8916035.
19. Pourhossein M, Ghavimi R, Alsahebhosoul F, Ghaedi K. Association between rs1800795 (-174 G/C) Polymorphism in the Promoter of IL6 Gene and Risk of Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (RRMS) in Isfahan Population. *Open Journal of Genetics.* 2014;4(5):407-13. doi: 10.4236/ojgen.2014.45038.
20. Hu S, Chen Y, Sun XD, Li FJ, Shu QF, Liu XL, Jiang SF. Association between IL-6-174G/C polymorphism and risk of multiple sclerosis: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2014 Feb;18(2):127-30. doi: 10.1089/gtmb.2013.0387.
21. Llufrui S, Blanco Y, Martinez-Heras E, Casanova-Molla J, Gabilondo I, Sepulveda M, et al. Influence of corpus callosum damage on cognition and physical disability in multiple sclerosis: a multimodal study. *PLoS One.* 2012;7(5):e37167. doi: 10.1371/journal.pone.0037167.
22. Azarpira N, Borhani Haghighi A, Pourjafar M, Shariat A. Interleukin 10 gene polymorphism in Iranian patients with multiple sclerosis. *Acta Neurol Taiwan.* 2010 Jun;19(2):107-11.
23. Mihailova S, Ivanova M, Mihaylova A, Quin L, Mikova O, Naumova E. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene polymorphism profiles in Bulgarian multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol.* 2005 Nov;168(1-2):138-43. doi: 10.1016/j.jneuroim.2005.06.020.
24. Azadi M, Alsahebhosoul F, Salehi R, Tajbakhsh E, Etemadifar M. [Investigation of genetic variation of IL-4 receptor rs1801275 in patients with multiple sclerosis in Isfahan]. *NCMBJ.* 2019;9(34):93-102. [Article in Persian]
25. Jamali M, Rostami Rad M, Anani Sarab G, Mahdavi R. [IL-33 polymorphism rs1929992 and its association with susceptibility to different pattern of multiple sclerosis]. *Tehran Univ Med J.* 2018;76(7):446-51. [Article in Persian]
26. Seyfizadeh N, Kazemi T, Farhoudi M, Aliparasti MR, Sadeghi-Bazargani H, et al. Association of IL-13 single nucleotide polymorphisms in Iranian patients to multiple sclerosis. *Am J Clin Exp Immunol.* 2014 Dec 5;3(3):124-29.
27. Bakr NM, Hashim NA, El-Baz HAE, Khalaf EM, Elharoun AS. Polymorphisms in proinflammatory cytokines genes and susceptibility to Multiple Sclerosis. *Mult Scler Relat Disord.* 2021 Jan;47:102654. doi: 10.1016/j.msard.2020.102654.
28. Sayad A, Movafagh A. The association of -330 interleukin-2 gene polymorphism with its plasma concentration in Iranian multiple sclerosis patients. *Scientifica (Cairo).* 2014;2014:724653. doi: 10.1155/2014/724653.
29. Simsek H, Geckin H, Sensoz NP, List EO, Arman A. Association Between IL7R Promoter Polymorphisms and Multiple Sclerosis in Turkish Population. *J Mol Neurosci.* 2019 Jan;67(1):38-47. doi: 10.1007/s12031-018-1205-0.
30. Majdinasab N, Hosseini Behbahani M, Galehdari H, Mohaghegh M. Association of interleukin 7 receptor gene polymorphism rs6897932 with multiple sclerosis patients in Khuzestan. *Iran J Neurol.* 2014 Jul;13(3):168-71.