DOI: 10.48305/jims.v40.i663.0139

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهلم/شماره‌ی ۶۶۳/هفته‌ی سوم اردیبهشت ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۲۱ تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۲/۲۱

بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسید سیالیک بر بیان mir-155-5p سلول‌های گلیال انسانی

ماندانا آذرمهر[۱]، آتوسا مرادزادگان[۱]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اسید سیالیک، یک مونوساکارید ۹ کربنه است که بالاترین بیان را در سیستم عصبی مرکزی بدن داشته و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی مثل سرطان و بیماری‌های خودایمنی نقش دارد. miR-155-5p از جمله میکروRNAهای درگیر در بسیاری از پروسه‌های بیولوژیکی از جمله هماتوپوئیتیک، التهاب و ایمنی می‌باشد و در پاسخ‌های التهابی بیان آن در سلول‌های گلیال افزایش می‌یابد. از این رو پژوهش حاضر با بررسی اثر میزان اسید سیالیک بر تغییر بیان miR-155-5p در سلول‌های گلیال، به منظور کمک به شناخت مسیرهای سیگنالینگ دخیل در التهاب انجام شد.

روش‌ها: سلول‌های گلیال با غلظت‌های مختلف اسید سیالیک تیمار و IC-50 سلول با کمک MTT assay بررسی شد. سپس RNA سلولی، استخراج و جهت انجام Real time PCR سنتز cDNA انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده از آنالیز داده‌ها نشان می‌دهد که miR-155-5p در غلظت‌های مختلف نسبت به حالت کنترل، دارای افزایش بیان می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به آن‌که اسید سیالیک منجر به افزایش بیان ژن miR-155-5p و مقابله‌ی کمتر با التهاب می‌گردد، می‌توان به اهمیت miR-155-5p در بروز التهاب و نقش اسید سیالیک در تحریک التهاب اشاره نمود و در نظر داشت که آگاهی نسبت به این مسیرها می‌تواند زمینه‌ی تحقیقات بیشتری را درباره‌ی اهداف درمانی بیماری‌های التهابی نورونی ایجاد کند.

واژگان کلیدی: سیالیک اسید؛ miR-155 microRNA؛ Real-time PCR؛ سلول‌های گلیال

ارجاع: آذرمهر ماندانا، مرادزادگان آتوسا. **بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسید سیالیک بر بیان mir-155-5p سلول‌های گلیال انسانی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۶۳): ۱۴۴-۱۳۹

مقدمه

اسید سیالیک، اولیگوساکارید ۹ کربنه‌ای می‌باشد که در اشکال و مشتقات مختلف به میزان بسیار زیادی در سطح سلول‌های عصبی حضور داشته (۱) و عملکردهای بسیار مهمی نظیر نقل و انتقالات عصبی، ساختار گانگلوزیدها و تشکیل سیناپس را کنترل می‌کند (۲).

Siglec، گیرنده‌ی اسید سیالیک در سطح سلول‌های ایمنی، میکروگلیال‌ها و اولیگودندروسیت‌ها می‌باشد و کلاهک اسید سیالیک موجود در سطح گلیکوکالیکس سیستم عصبی مرکزی نرمال را شناسایی می‌کند (۳). Siglec11 اختصاصی انسان بوده، در ماکروفاژهای بافتی مانند سلول‌های کوپفر کبد و میکروگلیال مغز بیان شده و در دنباله‌ی سیتوزولی خود دارای موتیف ITIM می‌باشد که به عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی منفی میکروگلیال نه تنها بر روی التهاب بلکه بر روی عملکرد فاگوسیتوز نیز تأثیرگذار است (٤). دو کلاس عمده‌ی سلولی در مغز، نورون‌ها و گلیال‌ها می‌باشند. سلول‌های گلیال بسیار متنوع و پرجمعیت بوده و در حدود ۹۰ درصد تمام سلول‌های مغز را شامل می‌شوند (۵). سلول‌های گلیال در اطراف نورون‌ها، محیط کوچکی را فراهم آورده که برای انجام فعالیت‌های نورونی بسیار مطلوب می‌باشند. این سلول‌ها می‌توانند به دور آکسون‌های محیطی پیچیده و منجر به میلینه شدن آن‌ها گردند (٦). سلول‌های میکروگلیال حدود ۱۰ درصد از تمام سلول‌های گلیال مغز را شامل می‌شوند. این سلول، ماکروفاژهای ساکن مغز می‌باشند که در پاسخ به صدمات مغزی و التهاب، تغییر فنوتیپ داده و به واسطه‌ی تولید سایتوکاین‌های التهابی، نیتریک اکساید و رادیکال‌های آزاد، هر دو پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی را آغاز می‌کنند. بنابراین سلول‌های میکروگلیال، نقش کلیدی در فرایندهای التهابی و ترمیم ضایعات سیستم عصبی دارند (۷، ۸).

۱- گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: آتوسا مرادزادگان

Email: a.moradzadegan@iaud.ac.ir

microRNAها، که به اختصار miRNA نشان داده می‌شوند، RNAهای غیرکدکننده‌ای می‌باشند که با هدف قرار دادن mRNA و تخریب یا مهار آن‌ها، بیان ژن را در مراحل پس از رونویسی تنظیم می‌کنند (۹). miRNAها نه تنها در رشد طبیعی سلول بلکه در بیماری‌زایی، از جمله انواع سرطان و بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی دارای نقش می‌باشند. در سلول‌های سیستم ایمنی و سیستم عصبی مرکزی مقدار زیادی از انواع miRNAها بیان می‌شوند و در بسیاری از اختلالات عصبی و نورودژنراتیو ،تنظیمات آن‌ها مختل می‌گردند (۱۰، ۱۱). miR-155-5p از روی اگزون کدکننده‌ی RNA غیرکدشونده از ناحیه‌ی ژن BIC واقع در کروموزوم ۲۱، در ناحیه‌ی 21q21.3 رونویسی شده و در بسیاری از پروسه‌های بیولوژیکی از جمله التهاب و ایمنی درگیر می‌باشد (۱۲).

miR-155-5p یک تنظیم کننده‌ی پیش‌التهابی مهم در ماکروفاژها و میکروگلیال‌ها می‌باشد و منجر به افزایش بیان سایتوکاین‌های TNF، IL-6 و IL-8 در سلول‌های التهابی می‌گردد (۱۳).

MMP-9 نیز یکی از اعضای خانواده‌ی متالوپروتینازها می‌باشد که نقش‌های بیولوژیک متفاوتی مانند تخریب بافت دارد. MMP-9 یکی از هدف‌های اولیه در بیماری‌های التهابی است. اخیراً گزارش شد که ژن MMP-9 با تیمار اسید سیالیک در غلظت‌های µM ۳۰۰، ۵۰۰ µM و ۱۰۰۰ µM افزایش بیان را نشان می‌دهد و می‌توان فرض کرد که اسید سیالیک ممکن است نقش بالقوه‌ی حیاتی در تنظیم طیف گسترده‌ای از عوامل تخریب عصبی کشف نشده به عنوان اهداف پایین دست آن داشته باشد (۱۴). از سوی دیگر miR-155-5p یک میکروRNA پیش‌التهابی می‌باشد که بیان آن در سلول‌های التهابی افزایش می‌یابد و با استفاده از آنالیزهای in silico یک جایگاه اتصال برای miR-155-5p در بخش 3'UTR، MMP9 پیش‌بینی شده است (۱۵).

با توجه به اهمیت miR-155-5p در پروسه‌های التهابی، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بیان miR-155-5p در حضور و عدم حضور اسید سیالیک، به منظور شناخت هرچه بیشتر این miR-155-5p و فاکتورهای تأثیرگذار در بیان آن صورت گرفت. هرچه دانش‌ها در رابطه با مسیرهای التهابی و مهارکنندگان این مسیرها در سلول‌های مغزی افزایش یابد، می‌توان امیدوار بود که راه‌های درمانی جدید و نویدبخشی در زمینه‌ی درمان بیماری‌های التهابی سیستم عصبی به دست آید.

روش‌ها

این مطالعه، بر روی رده‌ی سلولی C118 (رده‌ی سلولی گلیال انسانی) تهیه شده از انستیتو پاستور ایران انجام شد. سلول‌های به دست آمده در محیط کشت DMEM (Gibco™ DMEM, Low Glucose)، حاوی ۱۰ درصد FBS (Gibco™ Fetal Bovine Serum)، پنی‌سیلین-استرپتومایسین و آمفوتریسین ۱ درصد کشت داده شد و سپس به منظور اطمینان از عدم حضور مایکوپلاسما، بررسی گردید. آزمایشات روتین انجام شده، عدم آلودگی به مایکوپلاسما را نشان داد. سلول‌ها در شرایط دمایی ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، دی‌اکسیدکربن ۵ درصد و رطوبت ۹۵ درصد، انکوبه گردیدند. هر سه روز یکبار، فلاسک‌های کشت توسط میکروسکوپ معکوس بررسی و توسط آنزیم Trypsin/EDTA پاساژ داده شدند. با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری شمارش سلولی انجام شد.

تیمار با سیالیک اسید و روش MTT: به منظور ارزیابی زنده‌مانی سلول‌ها و محاسبه‌ی IC۵۰، از روش MTT assay استفاده شد (۱۶). محلول استوک اسید سیالیک (Sigma-Aldrich, A0812) با غلظت ۵mM و اسیدیته‌ی ۷/۴ تهیه و با عبور از فیلتر، استریل گردید. سلول‌های انسانی C118 با تراکم ۸۰۰۰ سلول در هر چاهک، در چاهک‌های پلیت ۹۶تایی (Nunc, Rockslide, Denmark)، ریخته شد و در شرایط دمایی ۳۷ درجه و دی‌اکسید کربن ۵ درصد، در معرض غلظت‌های ۲۰ الی ۱۴۰۰ میکرومول اسید سیالیک برای ۲۴ ساعت قرار گرفت. سلول‌هایی که تنها محیط کشت به آن‌ها اضافه شده بود، به عنوان گروه شاهد منفی در نظر گرفته شد. سپس میزان جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه خوانش الایزا (SpectraFluor, Tecan, Männedorf, Switzerland) اندازه‌گیری شد. سلول‌های زنده با توجه به درصد جذب فورمازان اندازه‌گیری شدند. برای ارزیابی IC۵۰ در سلول درمانی و مطالعه‌ی بیان ژن، از سه غلظت اسید سیالیک (۳۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومول) استفاده و برای هر گروه، شش تکرار در نظر گرفته شد. در ادامه سلول‌ها (۳×۱۰^{۶} سلول در هر پتری دیش) در پتری دیش‌های ۷ سانتی‌متری کشت داده و بعد از ۲۴ ساعت، محیط کشت قدیمی دور ریخته شد. سپس غلظت‌های ۳۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولی از اسید سیالیک در محیط کشت آماده و به گروه هدف اضافه گردید. به منظور مطالعه‌ی اثر اسید سیالیک بر miR-155-5P، پتری دیش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه، دی‌اکسیدکربن ۵ درصد و رطوبت ۹۵ درصد انکوبه گردید.

استخراج RNA و سنتز cDNA: miRNA از حدود ۱۰×۱۰^{۶} سلول رده‌ی C118، با استفاده از کیت Mirvana PARIS (Ambion, USA)، طبق دستورالعمل شرکت سازنده، جداسازی گردید و سپس با استفاده از دستگاه نانودراپ (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) کیفیت آن سنجیده شد. علاوه بر این، کیفیت RNA استخراج شده با بارگذاری بر روی

ژل آگارز ۲ درصد تحت شرایط استاندارد بررسی گردید. سپس ۲ میکروگرم miRNA استخراج شده از هر نمونه برای ساخت cDNA استفاده شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت miScript II RT (USA Qiagen) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده‌ی آن صورت گرفت. PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده در جدول ۱ انجام گردید (جدول ۱). محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد، بارگذاری شد و نتایج نشان‌دهنده‌ی محصولات تک باند با اندازه‌ی مورد انتظار بود.

جدول ۱. توالی رفت و برگشت پرایمرهای ژن‌های miR-155-5P و U6

ژن	توالی پرایمر
miR-155-5P	F: TGCTAATCGTGATAGGGG R: GAACATGTCTGCGTATCTC
U6	F: GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT R: CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی Real Time PCR برای اندازه‌گیری سطح بیان miR-155-5P از ۰/۱ پیکومول پرایمر miR-155-5p و کالیبراتور (House keeping) U6، استفاده گردید. ریل تایم PCR در دستگاه ABI7500 Fast (ABI7500; ABI, Foster City, CA, USA) انجام شد. در این مرحله ۱۰۰ نانوگرم cDNA، ۱۰ میکرولیتر مسیکس سایبرگرین ریل تایم (Takara, SYBR Green ® Premix Ex Taq TM II, RR830Q)، ۰/٤ میکرولیتر ROX و ۰/٦ میکرولیتر DH_20 استفاده شد. از یک واکنش بدون الگو نیز به عنوان کنترل منفی (Negative template control) NTC استفاده گردید. دماها و زمان‌های واکنش، مطابق دستورالعمل کیت تنظیم شد (جدول ۲).

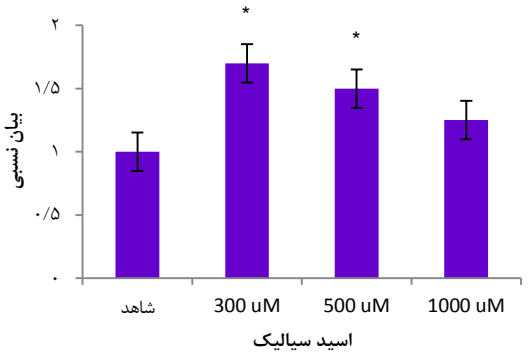
جدول ۲. شرایط دمایی و زمانی واکنش
Real-time polymerase chain reaction

چرخه‌ها	طول چرخه‌ها	دما (سانتی‌گراد)
۱	۲ دقیقه	۹۵
۴۰	۵ ثانیه	۹۵
	۳۰ ثانیه	۶۰
۱	Melting analysis	۹۵–۵۵

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری Graphpad نسخه‌ی ۷ و نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, IBM Corporation, Armonk, NY) استفاده شد. آزمون T-test برای ارزیابی بیان miR-155-5P بین نمونه‌های تیمار شده و کنترل استفاده گردید. داده‌ها به صورت میانگین بیان شده است. مقدار P کمتر از ۵ درصد به لحاظ آماری معنی‌دار بود.

یافته‌ها

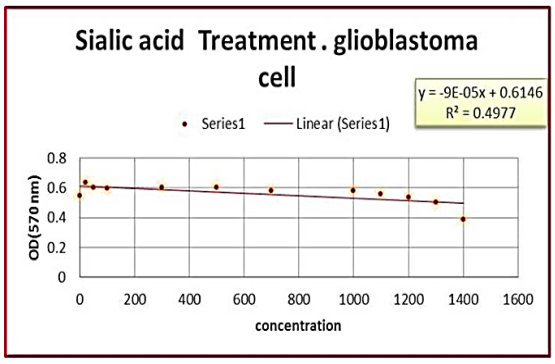
در بررسی انجام شده، میزان بیان miR-155-5P در نمونه‌های تیمار شده با اسید سیالیک نسبت به نمونه‌ی کنترل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون T-test برای مقایسه‌ی تغییرات بیان بین نمونه‌های تیمار شده و کنترل استفاده شد. نتایج نشان‌دهنده‌ی افزایش بیان miR-155-5P در حضور غلظت‌های متفاوت اسید سیالیک بود ($P < ۰/۰۰۰۱$) (شکل ۱).



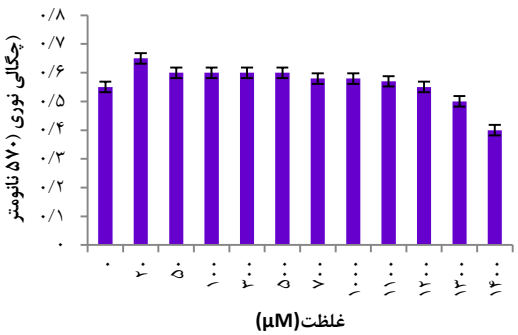
شکل ۱. نمودار تغییرات بیان ژن miR-155-5P در حضور غلظت‌های متفاوت اسید سیالیک.

*: نشان‌دهنده‌ی معنی‌دار بودن رابطه است ($P < ۰/۰۰۰۱$)

پس از کشت سلولی، در تراکم ۸۰ درصد، سلول‌ها با اسید سیالیک تیمار شده و پس از ۲٤ ساعت، میزان بقای سلول با روش MTT و رسم منحنی رشد سلولی، ارزیابی گردید. پس از رسم منحنی و حاصل شدن معادله‌ی خط، با به کار بردن غلظت‌های مختلف سیالیک اسید، درصد سلول‌های زنده محاسبه و به شکل نمودار ارائه شد (شکل ۲). میزان IC۵۰ طبق معادله‌ی IC ۵۰ = (۰/۵–a) /b محاسبه گردید که در آن a و b از معادله‌ی خطی (y = ax + b) برگرفته شده است (شکل ۳).



شکل ۲. نمودار خطی اثر سیالیک اسید بر بقای سلول گلیال (همراه با معادله‌ی خط)



شکل ۳. نمودار تغییرات زنده‌مانی سلول‌های گلیال در پاسخ به اسید سیالیک

رقت کشنده‌ی بهینه برای اسید سیالیک برابر با IC ۵۰ = ۱۳۰۰ µM بود. در این رقت، ۵۰ درصد کاهش بقای سلول‌های تحت درمان مشاهده شد. به منظور به حداقل رساندن اثر اسید سیالیک بر روی زنده ماندن سلول، غلظت‌های کمتر از (غلظت‌های ۳۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) محاسبه شده و برای تیمار سلول‌ها انتخاب شدند.

بحث

به دلیل اهمیت مسیرهای مولکولی درگیر در روند دژنراسیون (Degeneration)، کشف علل بیولوژیکی و مولکولی بیماری‌های ناتوان‌کننده‌ی نورودژنراتیو، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران علوم مختلف قرار گرفته است. التهاباتی که با تولید عوامل متعددی مانند متالوماتریکس پروتئازها (Matrix metalloproteinases) MMPs و سایتوکین‌ها، توسط CNS ساکن، سلول‌های گلیال (میکروگلیا و آستروسیت‌ها)، سلول‌های اندوتلیال و مشتقات محیطی سلول‌های ایمنی فعال می‌شوند (۱۷).

یکی از مولکول‌هایی که اخیراً در بیماری‌های نورودژنراتیو بسیار مورد توجه بوده، اولیگوساکارید اسید سیالیک می‌باشد. اسید سیالیک یا N–استیل نورامینیک اسید که در سطح سلولی تمامی مهره‌داران وجود دارد، واکنش‌های متنوعی نظیر تحریک یا مهار پاسخ ایمنی، فعال‌سازی سیستم کمپلمان و پیام‌رسانی سلولی را ایجاد می‌کند. از این‌رو نقش مهمی را در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک سلول دارد (۲، ۱۸). از سوی دیگر مطالعه‌ی اسید سیالیک به عنوان یک فاکتور اصلی دخیل در سیگنالینگ سلول و التهاب‌های عصبی مرتبط با سلول‌های گلیال حائز اهمیت است. سلول‌های گلیال، گیرنده‌های اسید سیالیک (Siglec) را بر روی خود دارند و می‌توانند MMPs را تولید کنند.

به همین دلیل هدف از این مطالعه، بررسی اثرات احتمالی اسید سیالیک بر روی بیان ژن miR-155-5P در سلول‌های گلیال انسانی برای اولین دفعه می‌باشد.

نتایج این مطالعه به وضوح نشان داد که غلظت‌های منتخب اسید سیالیک، منجر به تغییرات بیان ژن miR-155-5P در مقایسه با گروه شاهد (تیمار نشده) می‌شود. نتایج این پژوهش احتمال دخیل بودن NANA در تنظیمات بیان ژن miR-155-5P در شبکه‌ی پیچیده التهابی که مرتبط با پروسه‌ی دژنراسیون عصبی می‌باشد، را نشان می‌دهد. مطالعات نشان داد که بیان miR-155-5P تحت کنترل مسیرهای سیگنالینگ متفاوتی است و سایتوکاین‌های تنظیمی مانند TGF-β بیان آن را القا یا مهار می‌کنند (۱۹).

از سوی دیگر محققان نشان داده‌اند که عوامل ضدالتهابی مانند پروتئین IFR3 یا Resolvin D1 به ترتیب باعث کاهش بیان miR-155-5P در سلول‌های آستروسیت و قرنیه می‌شوند (۲۰، ۲۱). بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسید سیالیک نشان‌دهنده‌ی تغییرات بیان ژن‌های MMP-9، NF-kB، miR-218 و TIMP-1 در سلول‌های گلیال تیمار شده (۱۰۰۰ µM، ۵۰۰ µM، ۳۰۰ µM) در مقایسه با گروه شاهد (تیمار نشده) بود (۱٤). همه‌ی این مولکول‌های ذکر شده، یک توالی پیچیده‌ای از رویدادهای سیگنالینگ را فعال می‌کنند که منجر به آزاد شدن مولکول‌های سیگنال‌دهی درون‌سلولی، از طریق مکانیسم‌های واسطه- گیرنده (Receptor-mediated) شده و در نهایت باعث آسیب به میلین، الیگو دندروسیت‌ها، آکسون‌ها و نورون‌ها می‌گردد (۲۲).

نتیجه‌گیری

این مطالعه با هدف بررسی اثر اسید سیالیک بر مسیر سیگنالینگ التهاب عصبی که در فرایندهای تخریب عصبی نقش دارد، انجام شد. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که غلظت پایین اسید سیالیک، منجر به افزایش بیان ژن miR-155-5P می‌شود و با افزایش غلظت اسید سیالیک همچنان با بیان بالای miR-155-5P در مقایسه با گروه شاهد (تیمار نشده) مواجه هستیم و به تدریج با افزایش غلظت اسید سیالیک و بیان miR-155-5P پاسخ‌های التهابی بیشتر شده و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود. باید توجه داشت که بیشترین بیان در غلظت ۳۰۰ میکرومول، حاصل شده و بعد از آن شاهد کاهش نسبی بیان miR-155-5P هستیم که می‌توان احتمال داد در غلظت‌های بالاتر برای ژن‌های بالا دست تنظیم‌کننده، فیدبک منفی (Negative feedback) وجود دارد. برای تأیید بیشتر این یافته‌ها، مطالعه‌ی بیان ژن، ترشح سیتوکین‌ها و سایر فاکتورهای التهابی در حضور اسید سیالیک، می‌تواند یک بینش جدید در مورد پتانسیل نقش‌های سیگنالینگ اسید سیالیک در فرایندهای دخیل در تخریب عصبی ایجاد کند (۲۲). بنابراین، با توجه به افزایش تنظیم miR-155-5P در این مطالعه و عدم وجود اطلاعات کافی برای شبکه‌ی

تنظیم‌کننده‌ی بالادست miR-155-5P، مطالعات بیشتر باید روی عوامل بالادستی مانند عناصر پروموتر، عوامل رونویسی، تغییرات اپی‌ژنتیکی و همچنین RNAهای طولانی غیرکدکننده، برای یافتن چگونگی اثرگذاری اسید سیالیک بر بیان miR-155-5P متمرکز شود.

باید توجه داشت که هر چه دانش ما در زمینه‌ی ترمیم و بازسازی مغز و شناسایی مولکول‌هایی که این فرایند را راه‌اندازی می‌کنند، بیشتر شود، می‌توان به کشف راه‌های درمانی جدید امیدوارتر بود و این خود، نویدبخش آینده‌ای روشن در زمینه‌ی درمان بیماری‌های نورودژنراتیو می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی ۹۵۰۴۷۰۱۸۵ در مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی سلوای و مولکولی می‌باشد که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول به تصویب رسیده است.

References

1. Schnaar RL, Gerardy-Schahn R, Hildebrandt H. Sialic acids in the brain: gangliosides and polysialic acid in nervous system development, stability, disease, and regeneration. Physiol Rev 2014; 94(2): 461-518.
2. Yoo SW, Motari MG, Susuki K, Prendergast J, Mountney A, Hurtado A, et al. Sialylation regulates brain structure and function. FASEB 2015; 29(7): 3040-53.
3. Linnartz-Gerlach B, Mathews M, Neumann H. Sensing the neuronal glycocalyx by glial sialic acid binding immunoglobulin-like lectins. Neuroscience 2014; 275: 113-24.
4. Linnartz-Gerlach B, Kopatz J, Neumann H. Siglec functions of microglia. Glycobiology 2014; 24(9): 794-9.
5. Verkhratsky A, Butt A. Glial neurobiology: a textbook. New York, NY: J ohn Wiley & Sons, Ltd; 2007.
6. Longstaff A. Neuroscience. 3rd ed. New York, NY: Garland Science; 2011.
7. Saini V, Kaur T, Kalotra S, Kaur G. The neuroplasticity marker PSA-NCAM: Insights into new therapeutic avenues for promoting neuroregeneration. Pharmacol Res 2020; 160: 105186.
8. Li L, Acioglu C, Heary RF, Elkabes S. Role of astroglial toll-like receptors (TLRs) in central nervous system infections, injury and neurodegenerative diseases. Brain Behav Immun 2021; 91: 740-55.
9. Ma X, Zhou J, Zhong Y, Jiang L, Mu P, Li Y, et al. Expression, regulation and function of microRNAs in multiple sclerosis. Int J Med Sci 2014; 11(8): 810-8.
10. Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103(7): 2257-61.
11. Bhalala OG, Srikanth M, Kessler JA. The emerging roles of microRNAs in CNS injuries. Nat Rev Neurol 2013; 9(6): 328-39.
12. Eis PS, Tam W, Sun L, Chadburn A, Li Z, Gomez MF, et al. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102(10): 3627-32.
13. Moore CS, Rao VTS, Durafourt BA, Bedell BJ, Ludwin SK, Bar-Or A, et al. miR-155 as a multiple sclerosis-relevant regulator of myeloid cell polarization. Ann Neurol 2013; 74(5): 709-20.
14. Shabani Sadr NK, Shafiei M, Galehdari H, Khirolah AR. The Effect of Sialic Acid on the Expression of miR-218, NF-kB, MMP-9, and TIMP-1. Biochem Genet 2020; 58(6): 883-900.
15. Liu J, Mail A, Aguor ENE, Siddiqi S, Vrijsen K, Jaksani S, et al. MiR-155 inhibits cell migration of human cardiomyocyte progenitor cells (hCMPC s) via targeting of MMP-16. J Cell Mol Med 2012; 16(10): 2379-86.
16. Stockert JC, Horobin RW, Colombo LL, Blázquez-Castro A. Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. Acta Histochemica 2018; 120(3): 159-67.
17. Watanabe Y, Taguchi K, Tanaka M. Ubiquitin, autophagy and neurodegenerative diseases. Cells 2020: 9(9): 2022.
18. Khatua B, Roy S, Mandal C. Sialic acids siglec interaction: a unique strategy to circumvent innate immune response by pathogens. Indian J Med Res 2013; 138(5): 648-62.
19. Valeri N, Gasparini P, Fabbri M, Braconi C, Veronese A, Lovat F, et al. Modulation of mismatch repair and genomic stability by miR-155. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107(15): 6982-7.
20. Tarassishin L, Loudig O, Bauman A, Shafit-Zagardo B, Suh HS, Lee SC. Interferon regulatory factor 3 inhibits astrocyte inflammatory gene expression through suppression of the proinflammatory miR-155 and miR-155*. Glia 2011; 59(12): 1911-22.
21. Rajasagi NK, Bhela S, Varanasi SK, Rouse BT. Frontline Science: aspirin-triggered resolvin D1 controls herpes simplex virus-induced corneal immunopathology. J Leukoc Biol 2017; 102(5): 1159-71
22. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Ramirez-Acuna JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. Int J Mol Sci 2020; 21(24): 9739.

DOI: *10.48305/jims.v40.i663.0139*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 40, No. 663, 3rd Week, May 2022**

Received: 21.02.2022 Accepted: 11.05.2022 Published: 11.05.2022

The Effect of Varied Concentrations of Sialic Acid on the Expression of mir-155-5p in Human Glial Cells

Mandana Azarmehr[1], Atousa Moradzadegan[1],

Original Article

Abstract

Background: Sialic acid is a 9-carbon monosaccharide that is predominantly expressed by the central nervous system and is involved in many physiological and pathological events like cancer and autoimmune diseases. miR155-5p is one of the microRNAs playing an active role in hematopoietic, inflammatory, and immune related responses and in inflammatory responses its expression increases in glial cells. Therefore, the present study was performed to investigate the effect of sialic acid on altering the expression of miR-155-5p in glial cells to identify the signaling pathways involved in inflammation.

Methods: Glial cells were treated with different concentrations of sialic acid and IC-50 cells were examined by MTT assay. Then cell RNA was extracted and cDNA synthesis was performed for real-time PCR.

Findings: The results from data analysis show that miR-155-5p had higher rate of expression at different concentrations compared to the control state.

Conclusion: Considering that sialic acid increases the expression of miR-155-5p gene and results in a weaker defense against inflammation, the significance of miR-155-5p in inflammation and the role of sialic acid in stimulating inflammation is brought to attention, and extensive study into the knowledge of these pathways could pave the way for further research on the therapeutic goals of neuro-inflammatory diseases.

Keywords: Sialic acid; miR-155 microRNA; Real-time PCR; Glial cell

Citation: Azarmehr M, Moradzadegan A. **The Effect of Varied Concentrations of Sialic Acid on the Expression of mir-155-5p in Human Glial Cells.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(663): 139-44.

1- Department of Experimental Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran
Corresponding Author: Atousa Moradzadegan, Assistance Professor, Department of Experimental Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran; Email: a.moradzadegan@iaud.ac.ir