

The Association of rs2910164 Polymorphism in mir-146a Gene with Obesity in Iranian Women

Amir Hossein Hosseini¹, Leila Kohan^{1*}, Sara Fallahi²

1- Department of genetics, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran.

2- Department of Obstetrics and Gynecology, Shiraz University of Medical Science, Shiraz, Iran.

Received: 4 May 2015, Accepted: 1 Jul 2015

Abstract

Background: Obesity is a complex, multifaceted disease resulting from a combination of genetic, environmental, and lifestyle backgrounds, and is associated with increased risk of diseases, such as hypertension, dyslipidemia, and type 2 diabetes. MiRNAs have been reported to be associated with chronic diseases such as obesity. The present study is the first investigation that examines the possible association of rs2910164 polymorphism in mir-146a gene with overweight and obesity in Iranian women.

Materials and Methods: This case-control study was conducted on 133 overweight, 75 obese and 173 healthy control women with normal weight. The rs2910164 polymorphism genotypes of mir-146a gene were determined by the Tetra-ARMS PCR method. Also, logistic regression analysis was used to estimate the association between genotypes and obesity risk.

Results: There was a significant association between GC (OR: 1.8, 95%CI: 1-3.3, p: 0.04) and CC (OR: 4.5, 95%CI: 1.6-12.6, p: 0.004) genotypes with susceptibility to obesity. In the dominant genetic model of the C allele (comparison between CC+GC vs. GG), CC+GC genotypes were associated with the risk of obesity (OR = 2.1, 95% CI: 1.2–3.7, p= 0.01).

Conclusion: This study showed that mir-146a gene rs2910164 polymorphism is associated with obesity risk and the C allele may act as a dominant allele and increase the obesity risk in Iranian women.

Keywords: Mir-146a, Obesity, Overweight, Polymorphism

*Corresponding Author:

Address: Department of genetics, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Fars, Iran.

Email: kohan@iaua.ac.ir

ارتباط پلی مورفیسم rs2910164 در ژن mir-146a با عارضه چاقی در زنان ایرانی

امیر حسین حسینی^۱، لیلا کهن^{۲*}، سارا فلاحي^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

۲- استادیار، گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

۳- پزشک، گروه زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: چاقی یک بیماری پیچیده و چند عاملی است که حاصل مجموعه‌ای از زمینه‌های ژنتیکی و محیطی و نحوه زندگی بوده و با افزایش خطر بیماری‌هایی چون فشارخون بالا، دیس لیپیدمی و دیابت نوع دو همراه می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که میکرو RNAها در ایجاد بیماری‌های مزمن از قبیل چاقی نقش دارند. پژوهش حاضر، اولین پژوهشی است که به بررسی ارتباط احتمالی پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a با اضافه وزن و چاقی در زنان ایرانی پرداخته است.

مواد و روش‌ها: مطالعه مورد - شاهدهی حاضر بر روی ۱۳۳ زن دارای اضافه وزن، ۷۵ زن چاق و ۱۷۳ زن با وزن طبیعی به عنوان گروه کنترل انجام شد. ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2910164 در ژن mir-146a با استفاده از روش Tetra-ARMS PCR تعیین گردیدند. هم‌چنین جهت بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌ها با خطر ابتلا به چاقی، از تحلیل رگرسیون لجستیک استفاده شد.

یافته‌ها: ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های GC (p=۰/۰۴، OR:۱/۸، درصد، ۹۵CI:۱-۳/۳) و CC (p=۰/۰۰۴، OR:۱/۲/۶) با استعداد ابتلا به چاقی وجود داشت. براساس مدل ژنتیک غالب برای آلل C (مقایسه بین ژنوتیپ‌های GC+CC در مقابل GG)، ژنوتیپ‌های GC+CC با خطر ابتلا به چاقی همراه بودند (p=۰/۰۱، OR:۱/۲-۳/۷، ۹۵CI:۲/۱).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a با خطر ابتلا به چاقی همراه است و آلل C می‌تواند به عنوان یک آلل غالب، خطر ابتلا به چاقی را در زنان ایرانی افزایش دهد.

واژگان کلیدی: mir-146a، چاقی، اضافه وزن، پلی مورفیسم

*نویسنده مسئول: فارس، ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان، گروه ژنتیک

Email: Kohan@iaua.ac.ir

مقدمه

STAT و غیره نقش کلیدی را دارا می‌باشند (۸). نتایج حاصل از مطالعات پیشین حاکی از افزایش بیان ژن mir-146a در افراد چاق می‌باشد. هم‌چنین مشخص شده که افزایش بیان mir-146a، موجب کاهش ترشح انسولین و القای آپتوز در سلول‌های β می‌گردد (۹-۱۱). حذف در ژن‌های هدف mir-146a مثل med1، منجر به افزایش حساسیت به انسولین، بهبود تحمل گلوکز و مقاومت به چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب می‌گردد (۱۲). اگرچه چندین گزارش بالینی مبنی بر ارتباط mir-146a با چاقی وجود دارد، اما بر اساس جستجو در سایت‌های معتبر علمی به نظر می‌رسد تاکنون مطالعه‌ای مرتبط با ارتباط پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a با چاقی صورت نگرفته است. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر، بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2910164 در ژن mir-146a با اضافه وزن و چاقی در زنان ایرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه مورد-شاهدی حاضر، پلی مورفیسم ژنتیکی ژن mir-146a در ۳۸۱ زن با قومیت فارس بررسی شد. افراد شرکت‌کننده در این تحقیق شامل ۱۳۳ زن دارای اضافه وزن ($30 < \text{شاخص توده بدنی} \leq 25$)، ۷۵ زن چاق ($\text{شاخص توده بدنی} \leq 30$) و ۱۷۳ زن با وزن طبیعی ($25 < \text{شاخص توده بدنی}$) به عنوان گروه کنترل بودند که از لحاظ سن (± 5) همسان سازی شدند. دامنه سنی افراد شرکت‌کننده در این مطالعه، ۱۶ تا ۶۴ سال و میانگین سنی افراد $29/9 \pm 5/4$ بود. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: ابتلا به هر گونه بدخیمی، بیمارهای دیابت نوع دو، سندرم تخمدان پلی کیستیک و بیمارهای قلبی-عروقی. جهت بررسی توزیع پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a، بعد از اخذ رضایت نامه آگاهانه از افراد مورد مطالعه، مقدار ۵ سی‌سی خون از آن‌ها گرفته شد و در فالكون‌های حاوی EDTA به عنوان ماده ضد انعقاد ریخته شد و سپس فالكون‌ها به آرامی تکان داده شدند تا مخلوط شوند و از تشکیل لخته‌های خونی جلوگیری گردد.

چاقی، عارضه مزمنی است که با افزایش بیش از اندازه مقدار چربی در بدن تعریف می‌شود. چربی بیش از حد بدن، به دلیل عدم تعادل بین دریافت و مصرف انرژی می‌باشد (۱). شیوع اضافه وزن و چاقی در دنیا، به خصوص در کشورهای در حال توسعه، در دهه گذشته به شدت افزایش یافته است. امروزه بیش از ۱/۱ میلیارد نفر در دنیا اضافه وزن دارند. ۳۲۰ میلیون نفر از این افراد چاق هستند و حدود ۱۹۷ میلیون نفر در جهان به اختلال در تحمل گلوکز مبتلا می‌باشند که مهم‌ترین علت آن چاقی است (۳،۲). در ایران نیز چاقی یکی از معضلات بهداشتی و عامل خطر برای بروز بسیاری از بیماری‌هاست (۴). بر طبق مطالعات صورت گرفته، محدوده شیوع اضافه وزن و چاقی در بزرگسالان ایرانی به ترتیب ۲۷ تا ۳۸/۵ درصد و ۱۲/۶ تا ۲۵/۹ درصد و در کودکان زیر ۱۸ سال به ترتیب ۵ تا ۱۳/۵ درصد و ۳/۲ تا ۱۱/۹ درصد بوده که بیشترین میزان شیوع مربوط به زنان می‌باشد. این عارضه معمولاً با اختلالات کوتاه مدت یا بلند مدت متابولیکی، اختلالات چشم گیر فیزیولوژیکی یا روانی همراه می‌باشد (۵). مهم‌ترین بیماری‌های همراه با چاقی شامل دیابت نوع دو، افزایش فشار خون، مقاومت به انسولین، ناهنجاری‌های ماهیچه اسکلتی و اختلالات فیزیولوژیکی به همراه انواعی از سرطان‌ها می‌باشند (۶). شیوع چاقی در زنان نسبت به مردان، بیش از دو برابر گزارش شده است؛ این امر احتمالاً به دلیل تفاوت‌های فیزیولوژیکی و نوسانات غلظت هورمون‌های جنسی، کم بودن میزان مصرف انرژی پایه و کم تحرکی زنان نسبت به مردان، زایمان‌های متعدد و تغییرات وزنی متعاقب هر بارداری و عدم رسیدن به وزن قبلی می‌باشد (۱).

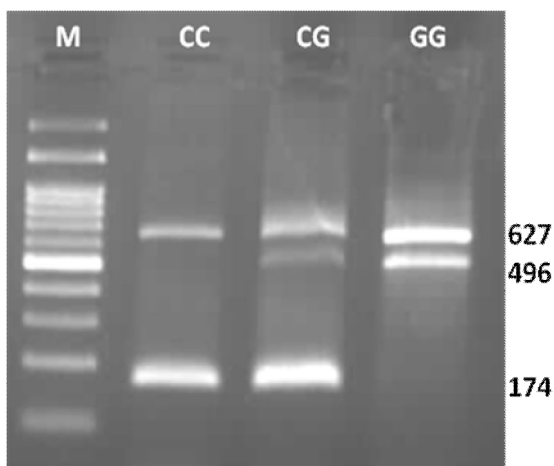
mir-146a با کاهش پروژسترون، آزادسازی استرادیول و تستوسترون در ارتباط است (۷). miR-146a ارتباط منفی را با تستوسترون سرم نشان می‌دهد و طبق تحلیل‌های بیوانفورماتیکی، ژن‌های mir-146a به عنوان اهدافی در متابولیزم، سیکل سلولی، آپتوز و مسیرهای اندوکرین، همچون مسیر پیام‌رسانی Wnt، MAPK، JAK-

ادامه یافت. سپس برای بررسی تکثیر موفق قطعه مورد نظر، ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل آگارز ۲ درصد برده شد و به کمک رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید مورد بررسی قرار گرفت.

جهت بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف پلی مورفیسم ژن mir-146a با اضافه وزن و چاقی از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و روش‌های تحلیل آماری مربع کای، رگرسیون لجستیک و محاسبه نسبت شانس با فاصله اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. در این آزمون‌های آماری، افراد دارای شاخص توده بدنی کمتر از ۲۵ به عنوان افراد کنترل در نظر گرفته شده و افراد چاق و دارای اضافه وزن با گروه کنترل مقایسه شدند.

یافته‌ها

شکل ۱ نتیجه حاصل از الکتروفورز محصولات PCR Tetra-ARMS را جهت تعیین ژنوتیپ rs2910164 ژن mir-146a نشان می‌دهد. باند ۶۲۷bp در کلیه نمونه‌ها، به عنوان کنترل داخلی دیده شد. علاوه بر این باند، ژنوتیپ CC باند ۱۷۴bp، ژنوتیپ CG دو باند ۱۷۴bp و ۴۹۶bp و ژنوتیپ GG باند ۴۹۶bp را روی ژل نشان دادند.



شکل ۱. نتیجه ژل الکتروفورز محصولات Tetra-ARMS PCR برای پلی مورفیسم rs2910164 در ژن mir-146a

میانگین سنی گروه کنترل $29/8 \pm 5/4$ سال، گروه دارای اضافه وزن $30/1 \pm 5$ سال و گروه افراد چاق

نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه منتقل شدند و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. DNA ژنومی از نمونه خون محیطی افراد به روش استاندارد نمک زدن استخراج شد. پلی مورفیسم rs2910164 در ژن mir-146a به کمک روش Tetra-ARMS PCR تعیین شد. جهت طراحی پرایمرها از نرم افزار Oligo نسخه ۷ استفاده گردید. در روش Tetra-ARMS PCR مورد استفاده جهت تعیین ژنوتیپ mir-146a، از دو پرایمر خارجی FO و RO با توالی FO: 5' TCTACCATACACATCCCCTACA 3' و RO: 5' CACTCTCCTTATACCTTCAGAGC3' استفاده شد که برای هر دو آلل C و G مشترک بود و یک محصول مشترک با طول ۶۲۷ جفت باز ایجاد کرد و به عنوان کنترل داخلی به کار رفت. هم‌چنین از دو پرایمر داخلی FI و RI با توالی FI (G allele): 5' GTTGTGTCAGTGTTCAGACGTC 3' و RI (C allele): 5' CCAGCTGAAGAACTGAATTTGA 3' استفاده گردید که این پرایمرها برای هر آلل اختصاصی بوده و برای آلل C یک محصول ۱۷۴ جفت بازی و برای آلل G یک محصول ۴۹۶ جفت بازی ایجاد می‌کردند و در واقع تمایز دو آلل به کمک محصول PCR به دست آمده از این دو پرایمر امکان پذیر می‌گشت.

واکنش Tetra-ARMS PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۰/۷۵ میکرولیتر MgCl₂، ۱ میکرولیتر از پرایمرهای FO و RO، ۱ میکرولیتر از پرایمرهای RI و FI، ۰/۵ میکرولیتر از dNTP، ۰/۳ میکرولیتر DNA پلی مراز (سیناژن، ایران) Taq و ۲ میکرولیتر DNA انجام شد. برنامه PCR به صورت یک مرحله ذوب ابتدایی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و در ادامه ۳۰ چرخه شامل دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه به منظور گسترش انجام شد. این مرحله با ۱ چرخه تحت دمای ۷۲ سانتی‌گراد برای مدت ۱۰ دقیقه به منظور طویل‌سازی نهایی

($p=0/06$ ، $df:1$ ، $\chi^2:3/7$)، دارای اضافه وزن ($p=0/06$)
 و چاق ($p=0/2$ ، $df:1$ ، $\chi^2:0/19$) برای توزیع ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2910164 C/G ژن mir-146a در تعادل هاردی-واینبرگ بودند.

اختلاف آماری معنی داری بین میانگین سنی گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد ($p=0/9$). فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2910164 C/G ژن mir-146a در جدول ۱ آورده شده است. گروه‌های کنترل

جدول ۱. بررسی فراوانی آلی و ژنوتیپی در گروه‌های طبقه بندی شده بر اساس شاخص توده بدنی

وضعیت	آلل		ژنوتیپ		تعداد کل
	C(%)	G(%)	GC(%)	GG(%)	
نرمال	۹۵(۲۷)	۲۵۱(۷۲)	۷۹(۴۵/۷)	۸۶(۴۹/۷)	۱۷۳
اضافه وزن	۷۳(۲۷)	۱۹۳(۷۳)	۵۵(۴۱/۴)	۶۹(۵۱/۹)	۱۳۳
چاق	۶۱(۴۱)	۸۹(۵۹)	۴۱(۵۴/۷)	۲۴(۳۲)	۷۵

بحث

در این مطالعه، ارتباط پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a با استعداد چاقی در زنان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این پلی مورفیسم با استعداد ابتلا به چاقی در زنان ارتباط دارد و آلل C به عنوان یک آلل غالب و پرخطر برای استعداد ابتلا به چاقی عمل می‌کند. چاقی، بیماری پیچیده و چند عاملی است که حاصل مجموعه‌ای از عوامل ژنتیکی، محیطی و نحوه زندگی می‌باشد (۱۳). بروز چاقی به تعامل هماهنگ بین هیپرتروفی (افزایش اندازه سلول‌های چربی) و هیپرپلازی ادیوسیت‌ها (افزایش تعداد سلول‌های چربی) و آتزیوزن بستگی دارد (۱۴). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که میکرو RNAها، نقش تنظیمی مهمی در توسعه و تمایز سلول‌های چربی، حساسیت به انسولین و متابولیسم لیپید دارند (۱۵، ۱۶). به علاوه، میکرو RNAها در متعهد کردن سلول‌های بنیادی پر توان جهت تمایز به سلول‌های چربی و در نتیجه افزایش تعداد سلول‌های چربی نقش مهمی دارند (۱۵). این RNAهای کوچک تنظیمی با التهاب، استرس اکسیداتیو، پیام‌رسانی انسولین و هم‌چنین آپتوز و رگ‌زایی مربوط به چاقی نیز در ارتباط هستند (۱۹-۱۶). نتایج حاصل از مطالعات اخیر، حاکی از تغییر بیان میکرو RNAها در بافت‌های چربی اولیه طی فرآیند تکوین سلول‌های چربی و همین‌طور در افراد چاق می‌باشد (۱۵).

بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a با اضافه وزن و چاقی نشان داد که ژنوتیپ‌های GC ($p=0/04$ ، $OR:1/8$) و CC ($p=0/004$ ، $OR:4/5$) ارتباط معنی داری با عارضه چاقی دارند (جدول ۲). هم‌چنین، نتایج نشان داد که این آلل تحت مدل ژنتیک غالب برای آلل C (ژنوتیپ‌های GC+CC در برابر ژنوتیپ GG)، خطر ابتلا به چاقی را افزایش می‌دهد ($p=0/01$ ، $OR:2/3$)، $OR:2/1$ درصد).

جدول ۲. بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a با اضافه وزن و چاقی

شاخص توده بدنی	ژنوتیپ	۹۵CI	p
$25 \leq$	مرجع		-
	GG		-
	GC	۰/۸۷(۰/۵۴-۱/۴)	۰/۵۵
	CC	۱/۴(۰/۵۱-۳/۸)	۰/۵
$25 <$	مرجع		-
	GG		-
	GC	۱/۸(۱-۳/۳)	۰/۰۴
	CC	۴/۵(۱/۶-۱۲/۶)	۰/۰۰۴
	GC+CC	۲/۱(۱/۲-۳/۷)	۰/۰۱

BMI < 25 به عنوان کنترل در نظر گرفته شده است

بوده و آلل C باعث افزایش خطر ابتلا به سندروم متابولیک می‌گردد (۲۹). هم‌چنین زیونگ و همکاران نشان دادند که ژنوتیپ‌های GC و CC در پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی و به تبع آن افزایش علائم سندروم متابولیک همراه می‌باشند (۳۰). با توجه به تفاوت ژنتیکی جمعیت‌ها و نحوه زندگی افراد، توصیه می‌شود که جهت تأیید نتایج حاصل از این مطالعه، مطالعاتی در سطح وسیع‌تر و در جمعیت‌های نژادی مختلف صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بین پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a و استعداد ابتلا به عارضه چاقی ارتباط وجود دارد و افراد واجد ژنوتیپ‌های CC و CG نسبت به افراد دارای ژنوتیپ GG بیشتر در معرض خطر ابتلا به چاقی می‌باشند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی جهت فراهم آوردن تجهیزات لازم، کارشناسان محترم آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه آزاد واحد ارسنجان، سرکار خانم‌ها نسیمه جعفری و نجمه نوروزی بابت همکاری صمیمانه در پیش‌برد مراحل عملی تحقیق و هم‌چنین از کلیه شرکت کنندگان در مطالعه قدردانی و تشکر می‌نمایند.

منابع

1. Sidik SM, Rampal L. The prevalence and factors associated with obesity among adult women in Selangor, Malaysia. *Asia Pac Fam Med*. 2009; 8(1):2-3.
2. Gill T. Epidemiology and health impact of obesity: an Asia Pacific perspective. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2006; 15(Suppl):3-14.
3. WHO. Obesity and Overweight. 2006; 311. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

miR-146a کلاس حفاظت شده‌ای از RNAهای تنظیمی است که یک نقش کلیدی در تحریک پاسخ‌های التهابی، تنظیم حساسیت به انسولین و متابولیسم انرژی دارد (۲۰). بیان غیر معمول mir-146a در شکل‌گیری التهاب مزمن نقش داشته و این در حالی است که چاقی با التهاب مزمن همراه می‌باشد (۲۱). چندین مطالعه، بیان mir-146a را در افراد چاق و مبتلا به دیابت بررسی کردند. نتایج حاصل از این مطالعات نشان‌گر افزایش بیان این میکرو RNA در افراد چاق و مبتلا به دیابت بوده است (۱۰، ۱۱، ۲۲). هم‌چنین مشخص شده که mir-146a دارای فعالیت آنژیوژنتیک می‌باشد (۱۰، ۱۱). با این وجود مکانیسم دقیق نقش این میکرو RNA در چاقی هنوز به درستی مشخص نیست (۹).

پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs2910164 در hsa-mir-146a منجر به جا به جایی نوکلئوتیدی G>C و تغییر جفت باز G:U به C:U در ساختار ساقه مولکول پیش ساز has-mir-146a می‌گردد که این تغییر نوکلئوتیدی اختصاصیت has-mir-146a بالغ را در اتصال به مولکول‌های هدفش تحت تاثیر قرار می‌دهد و منجر به افزایش بیان has-mir-146a می‌شود (۲۳). در سال‌های اخیر، پلی مورفیسم rs2910164 در ژن mir-146a توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است و مطالعاتی در زمینه‌ی ارتباط این پلی مورفیسم با انواع بیماری‌ها نظیر سل (۲۴)، آرتریت روماتیسم (۲۵)، مالتیپل اسکلروزیس (MS) (۲۶) و چندین نوع سرطان (۲۷، ۲۸) منتشر شده و اهمیت عملکردی این پلی مورفیسم به خوبی روشن گردیده است؛ این در حالی است که تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با نقش این پلی مورفیسم در استعداد ابتلا به چاقی گزارش نگردیده است. نتایج مطالعه حاضر، ارتباط بین واریانت ژنتیکی rs2910164 ژن mir-146a را برای اولین بار نشان داد. در همین راستا، مهانا و همکاران در سال ۲۰۱۴ مطالعه‌ای بر روی ارتباط پلی مورفیسم rs2910164 ژن mir-146a با ابتلا به سندروم متابولیک انجام داده و گزارش کردند که ژنوتیپ‌های GC و CC با افزایش شاخص توده بدن همراه

4. Ayatollahi S, Ghoreshizadeh Z. Prevalence of obesity and overweight among adults in Iran. *Obesity reviews*. 2010; 11(5):335-7.
5. Jafari-Adli S, Jouyandeh Z, Qorbani M, Soroush A, Larijani B, Hasani-Ranjbar S. Prevalence of obesity and overweight in adults and children in Iran; a systematic review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2014; 13(1):121.
6. Alberti K, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009; 120(16):1640-5.
7. Sirotkin AV, Ovcharenko D, Grossmann R, Lauková M, Mlynček M. Identification of MicroRNAs controlling human ovarian cell steroidogenesis via a genome-scale screen. *Journal of cellular physiology*. 2009; 219(2):415-20.
8. Long W, Zhao C, Ji C, Ding H, Cui Y, Guo X, et al. Characterization of serum microRNAs profile of PCOS and identification of novel non-invasive biomarkers. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2014; 33(5):1304-15.
9. Bao B, Wang Z, Li Y, Kong D, Ali S, Banerjee S, et al. The complexities of obesity and diabetes with the development and progression of pancreatic cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2011; 1815(2):135-46.
10. Kong L, Zhu J, Han W, Jiang X, Xu M, Zhao Y, et al. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study. *Acta diabetologica*. 2011; 48(1):61-9.
11. Kolfshoten I, Roggli E, Nesca V, Regazzi R. Role and therapeutic potential of microRNAs in diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2009; 11(s4):118-29.
12. Chen W, Zhang X, Birsoy K, Roeder RG. A muscle-specific knockout implicates nuclear receptor coactivator MED1 in the regulation of glucose and energy metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107(22):10196-201.
13. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS, et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *Jama*. 2003; 289(1):76-9.
14. Spiegelman BM, Flier JS. Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell*. 1996; 87(3):377-89.
15. McGregor R, Choi M. microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity. *Current molecular medicine*. 2011; 11(4):304-15.
16. Rottiers V, Näär AM. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2012; 13(4):239-50.
17. Hulsmans M, De Keyzer D, Holvoet P. MicroRNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis. *The FASEB Journal*. 2011; 25(8):2515-27.
18. Ling C, Groop L. Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2009; 58(12):2718-25.
19. Wei Y, Schober A, Weber C. Pathogenic arterial remodeling: the good and bad of microRNAs. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2013; 304(8):H1050-H9.
20. Huszar J, Payne C. miR-146a Influences Energy Metabolism. *Cell Differentiation and Innate Immunity Metabolomics*. 2013; 3(119):2153-0769.
21. Kamanemi S, Ying W, Bazer FW, Zhou B. MicroRNA Regulated Macrophage Activation in Obesity. *J Nutr Food Sci*. 2013; 3(220):2-3.
22. Lovis P, Roggli E, Laybutt DR, Gattesco S, Yang J-Y, Widmann C, et al. Alterations in microRNA expression contribute to fatty acid-induced pancreatic β -cell dysfunction. *Diabetes*. 2008; 57(10):2728-36.
23. Chatzikyriakidou A, Voulgari PV, Georgiou I, Drosos AA. miRNAs and related polymorphisms in rheumatoid arthritis susceptibility. *Autoimmunity reviews*. 2012; 11(9):636-41.
24. Li D, Wang T, Song X, Qucuo M, Yang B, Zhang J, et al. Genetic study of two single nucleotide polymorphisms within corresponding microRNAs and susceptibility to tuberculosis in

- a Chinese Tibetan and Han population. *Human immunology*. 2011; 72(7):598-602.
25. Hashemi M, Eskandari-Nasab E, Zakeri Z, Atabaki M, Bahari G, Jahantigh M, et al. Association of pre-miRNA-146a rs2910164 and pre-miRNA-499 rs3746444 polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis. *Molecular medicine reports*. 2013; 7(1):287-91.
26. 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. *Neuroscience letters*. 2011; 504(1):9-12.
27. Mittal RD, Gangwar R, George GP, Mittal T, Kapoor R. Investigative role of pre-microRNAs in bladder cancer patients: a case-control study in North India. *DNA and cell biology*. 2011; 30(6):401-6.
28. Akkız H, Bayram S, Bekar A, Akgöllü E, Üsküdar O, Sandıkçı M. No association of pre-microRNA-146a rs2910164 polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma development in Turkish population: a case-control study. *Gene*. 2011; 486(1):104-9.
29. Mehanna E, Ghattas M, Mesbah N, Saleh S, Abo-Elmatty D. Association of MicroRNA-146a rs2910164 Gene Polymorphism with Metabolic Syndrome. *Folia Biologica (Praha)*. 2015; 61:43-8.
30. Xiong X-d, Cho M, Cai X-p, Cheng J, Jing X, Cen J-m, et al. A common variant in pre-miR-146 is associated with coronary artery disease risk and its mature miRNA expression. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2014; 761:15-20.