

Frequency of rs2282649 and rs12285364 polymorphisms in SORL1 gene and their association with Alzheimer's disease in Azari population in northwest of Iran

Yasaman Hampanezhad¹, Mohammad Khalaj-kondori², Majid Khodayi³, Mahnaz Talebi⁴

1. Masters student, Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran. ORCID ID: 0000-0002-4654-8085
2. Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran, (Corresponding Author), Tel: +984133392745 E-mail: khalaj49@gmail.com. ORCID ID: 0000-0001-9231-889X
3. Ph.D student, Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran. ORCID ID: 0000-0002-5113-8582
4. Professor, Neuroscience Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. ORCID ID: 0000-0002-7613-3913

ABSTRACT

Background and Aim: Alzheimer's disease is the most common cause of dementia in old people. AD is a progressive and irreversible neurodegenerative brain disorder. Sortilin receptor 1 (SORL1) is involved in cellular trafficking of amyloid precursor protein and plays an essential role in amyloid-beta peptide generation in the AD. The purpose of the present study was to evaluate the association of SORL1 rs2282649 and rs12285364 polymorphism with AD in Azeri population in the northwest of Iran.

Materials and Methods: This case- control study included 100 Alzheimer's disease patients as our case and 83 healthy subjects as our control group. Genotypes were determined by (PCR- RFLP) technique.

Results: In rs2282649 SNP the frequency of homozygous CC genotype was 36% in the case and 38.55% % in the control groups ($P= 0.70$). The frequencies of TT genotype were 12% and 7.23% in the case and control groups respectively ($P = 0.25$). The frequency of heterozygote CT genotype was 52% in the cases and 54.22% in the control group ($P = 0.75$). Also, in rs12285364 polymorphism the frequencies of homozygous CC genotype in the cases and the control groups were 93% and 90.36 % respectively ($P= 0.5$). The frequency of TT genotype was 0% in both case and control groups ($P = 0.00$). The frequencies of heterozygote CT genotype were 7% in the case and 9.64% in the control groups ($P = 0.49$).

Conclusion: No statistically significant difference was observed between the case and control groups in regard to the frequencies of the genotypes. Therefore we can conclude that these polymorphisms are not associated with Alzheimer's disease among the people in the northwest of Iran.

Keywords: Alzheimer's disease, polymorphism, Sortilin receptor 1 (SORL1), Northwest of Iran

Received: April 23,2019

Accepted: Nov 9,2019

How to cite the article: Yasaman Hampanezhad Mohammad Khalaj-kondori, Majid Khodayi, Mahnaz Talebi,. Frequency of rs2282649 and rs12285364 polymorphisms in SORL1 gene and their association with Alzheimer's disease in Azari population in northwest of Iran. SJKU 2020; 24 (6): 46-56

فراوانی پلی مورفیسم های rs2282649 و rs12285364 ژن SORL1 و همراهی آنها با بیماری آلزایمر در جمعیت آذربایجان غرب ایران

یاسمن همپاژزاد^۱، محمد خلج کندری^۲، مجید خدائی^۳، مهناز طالبی^۴

۱. دانشجوی کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. کد ارکید: ۴۶۵۴-۸۰۸۵-۲۴۶۵-۰۰۰۰۰۰۰۰

۲. دانشیار، گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، (مؤلف مسئول)، تلفن ثابت: ۰۴۱-۳۳۳۹۲۷۴۵-۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰، کد ارکید: khalaj49@gmail.com

۳. دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. کد ارکید: ۸۵۸۵-۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۲-۵۱۱۳-۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰

۴. استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. کد ارکید: ۰۴۱-۳۹۱۳-۷۶۱۳-۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: بیماری آلزایمر شایع‌ترین عامل زوال عقلی در افراد مسن است؛ و یک بیماری پیش‌رونده و برگشت‌ناپذیر مغزی است. گیرنده سرتیلین در نقل و انتقالات سلولی پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بنا در گیر است و نیز نقش مهمی در تولید پیتید آمیلوئید بنا در آلزایمر دارد. هدف این پژوهش مطالعه همراهی پلی‌مورفیسم rs12285364 و rs2282649 با بیماری آلزایمر در جمعیت آذربایجان غرب ایران بود.

روش بررسی: افراد مورد مطالعه در این پژوهه؛ مورد - شاهدی در دو گروه شامل ۱۰۰ نفر بیمار و ۸۳ نفر سالم به عنوان کنترل وارد شدند جهت تعیین ژنوتیپ‌ها از تکنیک (PCR-RFLP) استفاده شد.

یافته‌ها: در اسینپ rs2282649 فراوانی ژنوتیپ CC در گروه بیمار ۳۶٪ و در گروه شاهد ۳۸٪ با $P=0.70$ بوده و فراوانی ژنوتیپ TT در گروه بیمار ۱۲٪ و در بین گروه شاهد ۷٪ بود ($P=0.25$). فراوانی ژنوتیپ CT در گروه بیمار ۵۲٪ و در گروه شاهد ۲۲٪ بود ($P=0.75$) و همچنین در اسینپ rs12285364 فراوانی ژنوتیپ CC در گروه بیمار ۹۳٪ و در گروه شاهد ۳۶٪ با $P=0.54/22$ بود ($P=0.22$) و فراوانی ژنوتیپ TT در گروه بیمار و در بین گروه شاهد صفر درصد بود و فراوانی ژنوتیپ CT در گروه بیمار ۷٪ و در گروه شاهد ۹٪ بود ($P=0.49$).

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه هر دو گروه در فراوانی ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. مشاهده گردید؛ که این پلی مورفیسم‌ها با بیماری آلزایمر در جمعیت شمال غرب ایران ارتباطی ندارند.

کلمات کلیدی: بیماری آلزایمر، پلی مورفیسم، گیرنده سرتیلین SORL1، شمال غرب ایران

وصول مقاله: ۹۸/۲/۳ اصلاحیه نهایی: ۹۸/۷/۲۸ پذیرش: ۹۸/۸/۱۸

مقدمه

از جمله ذرات حاوی آپولیپو پروتئین (APOE)، در ارتباط بوده و جذب آنها را از طریق مسیرهای آندوسیتیک وساطت می کند^(۶)؛ بنابراین نقش SORL1 در کنترل شکافت پیش ساز آمیلوئید بتا (APP) و جذب آپولیپو پروتئین (APOE) ممکن است برای حفظ عملکرد سیگنالینگ در مغز مهم باشد^(۹). موتاسیون هایی در این ژن سبب مهار فعالیت ژن می شوند و همچنین واریانت های مختلف از این ژن سبب کاهش بیان ژن شده و منجر به افزایش میزان آمیلوئید بتا (A β) می شوند که ممکن است این پدیده یک عامل شروع کننده برای بیماری آلزایمر باشد^(۱۰). مطالعات گسترده ژنومی Genome-Wide Association (GWAS) Study همبستگی SORL1 را با آلزایمر دیررس تک گیر، در جمعیت قراصستان و آسیابی تبار تأیید کردند^(۱۱). بسیاری از اسنیپ های SORL1 در آلزایمر نشان دارند و لی برخی بر بیان و فعالیت SORL1 اثر دارند. اسنیپ های SORL1 شامل واریانت های کد شده و غیر کد شده در دو هاپلوتایپ در نواحی ۳ و ۵ بر روی کروموزوم انسانی 11q23_q24 می باشند^(۱۲). اسنیپ rs12285364 در ناحیه ایترون شماره ۳۸ قرار گرفته اند. rs2282649 در ناحیه ایترون شماره ۳۸ که اسنیپ های بلوک نقش عملکردی برخی اسنیپ ها در بیماری آلزایمر هنوز مشخص نشده ولی نقش برخی دیگر در تأثیر بر بیان و فعالیت SORL1 نشان داده شده است. مطالعات آقای رو گاوا و همکارانش^(۲۰۰۷) نشان داد که اسنیپ های بلوک هاپلوتایپ ناحیه ۳ که rs2282649 در آن قرار دارد، منجر به کاهش ۵۰ درصدی بیان سطح mRNA در لنفوبلاست بیماران مبتلا به آلزایمر اسپورادیک می شود^(۱۲). همچنین الکس پولوس و همکارانش^(۲۰۱۱) نشان دادند که ارتباط معنی داری بین rs2282649 و میزان بتا امیلوئید (A β)₁₋₄₂ در مایع مغزی - نخاعی وجود دارد و می تواند در پاتوژنز بیماری آلزایمر مؤثر باشد^(۱۳). بررسی های کلینیکی،

بیماری آلزایمر شایع ترین عامل زوال عقلی در افراد مسن است و یک بیماری پیش رونده و برگشت ناپذیر مغزی است. در مرحله بالینی به صورت اختلال در عملکردهای شناختی و تکلم همراه با اختلالات رفتاری واضح در فعالیت های زندگی روزانه تشخیص داده می شود^(۱۲). در سال ۲۰۰۶ بیش از ۲۶ میلیون نفر در سراسر جهان از بیماری آلزایمر رنج می برند و تخمین زده می شود که این تعداد تا سال ۲۰۵۰ به بیش از ۱۰۰ میلیون افزایش یابد؛ بنابراین به عامل هزینه بر اجتماعی و پزشکی مهم در جمعیت سالماندان جهان تبدیل خواهد شد^(۳). با توجه به روند رو به رشد بیماری آلزایمر تشخیص زود هنگام آن ضروری است. تشخیص آن بر پایه ارزیابی کلینیکی و عصبی روان شناختی است که گذشته از هزینه بالا، این روش ها اغلب پس از پیشرفت بیماری و بروز آسیب های جدی انجام می شوند که برای شروع اقدامات پیشگیرانه یا درمانی مؤثر، دیگر خیلی دیر است درنتیجه، تشخیص بیماری توسط یک مارکر ژنتیکی می تواند راه حل مناسبی برای این مشکل باشد. آلزایمر یک بیماری پیچیده است هیچ الگوی ارشی خاصی ندارد و هترو ژنی بوده و فاكتورهای ژنتیکی و عوامل محیطی متعددی در SORL1 شروع و توسعه بیماری دخیل هستند^(۴). ژن Sortilin-related receptor (Sortilin-related receptor) یکی از ژن های مرتبط با افزایش خطر ابتلا به بیماری دیررس آلزایمر است. این ژن بر روی کروموزوم ۱۱q24.1 واقع شده و دارای ۵۳ اوزون است^(۵). SORL1 مسیر پروتئین پیش ساز آمیلوئید بتا (Amyloid Precursor Protein) (APP) مسیرهای آندوسیتیک سلولی جهت بازیافت هدایت می کند و نقش مهمی در تولید آمیلوئید بتا (-amyloid- A β) (amyloid-beta) دارد^(۶). موش هایی با کمبود SORL1 سطوح آمیلوئید بتا (A β) بالایی هستند^(۷). بیان mRNA در مغز بیماران آلزایمری کاهش می یابد^(۸). SORL1 همچنین گیرندهای است که با لیپوپروتئین ها،

National Institute of Neurological and) Communicative Disorders and Stroke /Alzheimer's Disease and Related - (Disorders Association) (۱۶) و تست‌های عصبی - روان‌شنختی (MMSE) Mini–Mental State (Examination)، بررسی‌های آزمایشگاهی و آزمون‌های نورولوژیکی توسط متخصص مغز و اعصاب بیمارستان امام رضای تبریز تشخیص داده شدند. معیارهای خروج افراد از گروه بیمار شامل، نداشتن رضایت، عدم مطابقت علائم با معیارهای تشخیص آلزایمر، دماتس‌های قابل برگشت، افسردگی شدید، ساققه ترومای مغزی و سابقه عقب ماندگی ذهنی بودند. افراد گروه شاهد از لحاظ بیماری‌های مغزی و شناختی سالم بودند، در بستگان درجه اول خود ساققه بروز آلزایمر نداشتند و از لحاظ سن و جنس با گروه بیمار هم خوان بودند. از تمام افراد مورد مطالعه و یا قیم آن‌ها فرم رضایت‌نامه آگاهانه اخذ شد.

استخراج DNA ژنومی: در این مطالعه استخراج DNA توسط روش نمکی (Salting Out) انجام شد DNA استخراج شده از نظر کیفی و هم از نظر کمی به روش الکتروفورز و نور سنجی مورد بررسی قرار گرفت. تعیین ژنتیپ: برای بررسی چند شکلی‌های rs12285364 و rs2282649 مربوط به ژن SORL1 ابتدا استخراج شده توسط PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) تکثیر شد.

همبستگی برخی اسنیپ‌ها را با ویژگی‌های نورولوژیکال از جمله رسوب پلاک‌های پیری (SNP#8)، از دست دادن حجم ماده خاکستری (SNP#23) و آتروفی هیپوكامپ (SNP#24)(rs2282649) نشان داده‌اند (۱۲). در مطالعه ای که توسط وانگ و همکارانش (۲۰۱۵) بر روی سه ژن SORL1 و GAB2، PICALM انجام شد، نتایج قبل- توجهی به دست آمد. ۳ واریانت از ژن SORL1 (rs12285364، rs2070045، rs2282649) با افزایش AD همراه بودند (۱۴). تان و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه بر روی سه اسنیپ rs3824968، rs1699102 و rs2282649 به این نتیجه رسیدند که هاپلوتاپ این سه ژن با کاهش خطر ابتلا به آلزایمر همراهی نشان می‌دهد (۱۵). با توجه به اهمیت این پلی مورفیسم‌ها در ریسک ابتلا به بیماری آلزایمر در مطالعه حاضر تلاش شد ژن SORL1 و rs2282649 فراوانی ژنتیپی و آللی پلی مورفیسم‌های rs12285364 در بیماران آلزایمر و افراد سالم تعیین و همراهی آن‌ها با ریسک ابتلا به آلزایمر در جمعیت شمال غرب ایران مشخص شود.

روش بودی

در این مطالعه مورد – شاهدی، افراد مورد مطالعه شامل ۱۰۰ نفر بیمار مبتلا به آلزایمر با محدوده سنی (۵۷-۸۱) و ۸۳ نفر سالم به عنوان گروه کنترل با محدوده سنی (۶۵-۹۱) سال) از جمعیت آذربایجانی‌های شمال غرب ایران می‌باشند.

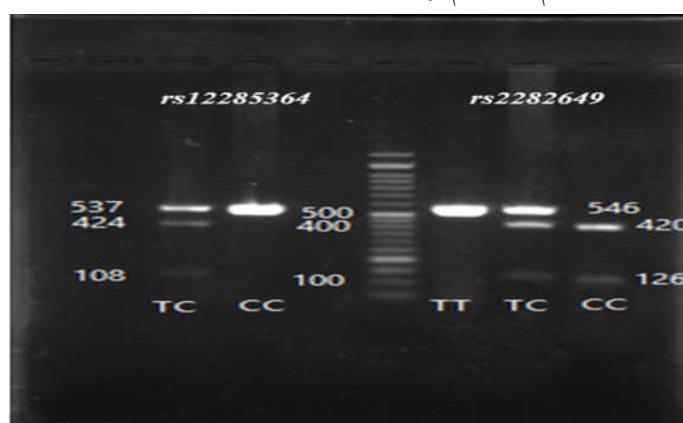
بیماران بر اساس معیارهای NINCDS-ADRDA

جدول ۱. پرایمرهای طراحی شده برای اسنیپ‌ها

نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه	نام ژن
		محصول	
رفت	5'-CGTGGAAATAGGAAACTGGAGC-3'	۵۴۶	
برگشت	5'-CTAGAGTGTCTGCCCTTGG-3'		(rs2282649) SORL1
رفت	5'-CGGGACATTTATGTGGGTTC-3'	۵۳۷	rs12285364) SORL1
برگشت	5'-TCCCCACTGAGCCTAAAATGC-3'		

واکنش RFLP که شامل ۴/۸ میکرولیتر آب مقطر دو بار یونیزه، ۰/۲ میکرولیتر یک واحد آنزیم محدودگر I (شرکت Fermentas) برای rs12285364 و یک واحد آنزیم I MSP (شرکت Fermentas) برای rs2282649، ۱ میکرولیتر بافر اختصاصی آنزیم و ۴ میکرولیتر محصول PCR است، درون میکروتیوب ها ریخته شد. سپس ۱ الی ۲ قطره روغن معدنی به هر میکروتیوب اضافه گردید و میکروتیوب ها را به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۷ درجه قراردادیم پس از این مدت، محصول تجزیه در ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید. آنزیم I MSP در حضور ژنتوتیپ CC در جایگاه شناسایی آنزیم دو باند با طول های ۱۲۶ و ۴۲۰ جفت بازی ایجاد می کند در حالی که در صورت وجود ژنتوتیپ TT قطعه تکثیر یافته ۵۴۶ جفت بازی برش نمی خورد و در صورت وجود ژنتوتیپ CT سه باند با طول های ۵۴۶، ۴۲۰ و ۱۲۶ جفت بازی دیده می شود و آنزیم I PST در حضور ژنتوتیپ TT در جایگاه شناسایی آنزیم دو باند با طول های ۱۰۸ و ۴۲۴ جفت بازی ایجاد می کند در حالی که در صورت وجود ژنتوتیپ CC قطعه تکثیر یافته ۵۳۷ جفت بازی برش نمی خورد و در صورت وجود ژنتوتیپ CT سه باند با طول های ۱۰۸، ۵۳۷ و ۴۲۴ جفت بازی دیده می شود (شکل ۱).

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر با استفاده از ۱ میکروگرم از DNA ژنومی و ۱۰ میکرولیتر مستر میکس (2X) (شرکت Ampliqon) و ۱۲ میکرولیتر آب مقطر و یک میکرومولار از هر دو پرایمر (ساخته شده در شرکت Metabion) انجام شد و واکنش PCR در ۳۵ چرخه و با پروفائل دمایی زیر به ترتیب برای rs12285364 شامل و اسرشت (denature) اولیه در دمای ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه و اسرشت بعدی در ۹۵ درجه به مدت ۳۵ ثانیه مرحله اتصال در دمای ۵۸ درجه به مدت ۳۵ ثانیه و مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه به مدت ۳۵ ثانیه و مرحله تکثیر نهایی زنجیره با دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و برای rs2282649 و اسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه و اسرشت بعدی در ۹۵ درجه به مدت ۳۵ ثانیه مرحله اتصال در دمای ۶۱ درجه به مدت ۳۵ ثانیه و مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه به مدت ۳۵ ثانیه و مرحله تکثیر نهایی زنجیره با دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید و پس از رنگ آمیزی با safe stain زیر نور UV بررسی شد. برای تعیین ژنتوتیپ های حاصل از چندشکل های (RFLP-PCR) rs12285364 و rs2282649 از روش Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) استفاده شد ابتدا تمام مواد لازم برای



تصویر ۱. آنالیز PCR-RFLP مربوط به rs12285364 و rs2282649

همچنین بررسی تعادل هاردی واینبرگ نشان داد که جمعیت مورد بررسی نسبت به جایگاه rs2282649 در تعادل قرار دارد (جدول ۲).

فراوانی ژنتیکی چندشکلی rs12285364 ژن SORL1 در افراد بیمار و کنترل: توزیع ژنتیکی چندشکلی rs12285364 برای افراد مبتلا به آلزایمر و افراد کنترل محاسبه گردید. در این بررسی در بین افراد مبتلا ۹۳٪ هموژیگوت CC، ۷٪ هتروژیگوت CT و صفر درصد هموژیگوت TT تشخیص داده شدند و در میان افراد گروه کنترل ۳۶٪ هموژیگوت CC، ۵۴٪ هتروژیگوت CT و صفر درصد هموژیگوت TT مشاهده شدند. بر اساس محاسبات آماری توزیع ژنتیکی، تفاوت معنی داری بین دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت. نتایج آزمون بیانگر آن است که ژنتیپ دو گروه بیمار و غیر بیمار تفاوت معناداری ندارند ($p > 0.05$). به این ترتیب، با توجه به یافته های این پژوهش، اسنیپ rs12285364 در جمعیت مورد مطالعه با بیماری آلزایمر همراهی نشان نمی دهد. همچنین بررسی تعادل هاردی واینبرگ نشان داد که جمعیت مورد بررسی نسبت به جایگاه rs12285364 در تعادل قرار دارد (جدول ۲).

تجزیه و تحلیل داده ها: برای بررسی آزمون های آماری از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۳ استفاده شد. فراوانی های ژنتیکی و فراوانی های آللی دو گروه مورد و شاهد توسط آزمون Student t-test با هم مقایسه شدند و نسبت شانس (OR) برای آن ها تعیین گردید. وضعیت تعادل هاردی واینبرگ با استفاده از آزمون مربع کای مورد بررسی قرار گرفت. $p \leq 0.05$ در همه بررسی ها معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

فراوانی ژنتیکی چند شکلی rs2282649 ژن SORL1 در افراد بیمار و کنترل: توزیع ژنتیکی چند شکلی rs2282649 برای افراد مبتلا به آلزایمر و افراد کنترل محاسبه گردید. در این بررسی در بین افراد مبتلا ۳۶٪ هموژیگوت CC، ۵۲٪ هتروژیگوت CT و ۱۲٪ هموژیگوت TT تشخیص داده شدند و در میان افراد گروه کنترل ۳۸٪ هموژیگوت CC، ۵۴٪ هتروژیگوت CT و ۷٪ هموژیگوت TT مشاهده شدند. نتایج آزمون بیانگر آن است که ژنتیپ دو گروه بیمار و غیر بیمار تفاوت معنی داری ندارند ($p > 0.05$). به این ترتیب، با توجه به یافته های این پژوهش، اسنیپ rs2282649 در جمعیت مورد مطالعه با بیماری آلزایمر همراهی نشان نمی دهد.

جدول ۲. فراوانی ژنتیکی اسنیپ های اسنیپ های (rs12285364, rs2282649)

H.W	p-value	OR (95%CI)	سالم (۸۳ نفر)	بیمار (۱۰۰ نفر)	ژنتیپ	نام اسنیپ	
۰/۲۹	۰/۷۰۹	۰/۰۸۹۷	۳۲٪/۳۸٪/۵۵	۳۶٪/۳۶٪	CC	Rs2282649	
		۰/۴۸۵-۱/۶۵۶					
	۰/۷۵۳	۰/۰۹۱۵	۴۵٪/۵۴٪/۲۲	۵۲٪/۵۲٪			
		۰/۰۵۰-۱/۶۵۶			TC		
	۰/۲۵۳	۱/۰/۵۰	۶٪/۷٪/۲۳	۱۲٪/۱۲٪	TT		
		۰/۰۱۱-۵/۱۲۶					
۰/۹۲	۰/۵	۱/۰/۱۷	۷۵٪/۹۰٪/۹۳٪	۹۳٪/۹۳٪	CC	Rs12285364	
		۰/۰۴۶-۴/۳۷۸					
	۰/۰۹۹	۰/۰/۰۶	۸٪/۹٪/۶٪	۷٪/۷٪			
		۰/۰۲۲-۲/۱۴۲			TC		
	-	-	-	-	TT		

فراوانی آلل T برای گروه کنترل $10/25\%$ و در گروه بیمار $3/5\%$ به دست آمد. نتایج آزمون یانگ آن است که فراوانی آلل های C و T در هر دو اسینپ در دو گروه بیمار و غیر بیمار تفاوت معنی دار ندارند ($p > 0.05$). به این ترتیب، با توجه به یافته های این پژوهش، آلل های این اسینپ ها با بیماری آلزایمر در جمعیت مورد مطالعه همراهی نشان نمی دهند (جدول ۳).

فراوانی آللی افراد مبتلا به آلزایمر و کنترل مربوط به چندشکلی rs12285364,rs2282649 برای این چندشکلی فراوانی آلل rs2282649 توزیع آللی برای گروه کنترل $65/66\%$ و برای گروه بیمار 62% است. C فراوانی آلل T برای گروه کنترل $34/34\%$ و در گروه بیمار $38/38\%$ به دست آمد و برای آلس C فراوانی آلل rs12285364 برای گروه کنترل $89/89\%$ و برای گروه بیمار $96/5\%$ است.

جدول ۳. فراوانی آلل های (rs12285364,rs2282649)

نام اسینپ	الل	بیمار	سالم	OR (95%CI)	p-value
Rs2282649	C	۱۲۶(٪۶۲)	۱۰۹(٪۶۵/۶۶)	۰/۸۵۳ ۰/۴۶۰-۱/۵۸۳	۰/۵۹۰
	T	۷۴(٪۳۸)	۵۷(٪۳۴/۳۴)	۱/۱۷۲ ۰/۶۳۲-۲/۱۷۶	۰/۵۹۰
Rs12285364	C	۱۹۳(٪۹۶/۵)	۱۴۹(٪۸۹/۷۵)	۳/۱۴۹ ۰/۳۲۸-۱۳/۳۹۹	۰/۶
	T	۷(٪۳/۵)	۱۷(٪۱۰/۲۵)	۰/۳۱۸ ۰/۰۷۵-۱/۲۱۴	۰/۰۹

بحث
بیماری آلزایمر یک اختلال پیش روندهی مغزی است که با کاهش تدریجی حافظه باعث اختلال در فعالیت های روزانه فرد می شود. با افزایش امید به زندگی و مسن شدن جمعیت در آینده، تحقیقات در زمینه ای این بیماری رو به افزایش است. تحقیقات نشان داده است عوامل زیادی در بیماری آلزایمر دخالت دارند (۱۷). درواقع بیماری آلزایمر یک اختلال چند عاملی است و تعاملات پیچیده بین عوامل ژنتیک، اپی ژنتیک و محیط باعث ظهور بیماری آلزایمر می شود. از عوامل ژنتیکی دخیل در این بیماری می توان به آمیلوئید بتا و پروتئین تاو اشاره کرد (۱۸). آمیلوئید بتا یک متالوپروتئین (Metalloprotein) خود جمع شونده ای با ۳۹-۴۳ اسید آمینه است که از شکافت پروتئولیتیکی (Proteolytic) پروتئین پیش ساز آمیلوئید بتا

دادند(۲۷). میاشیتا و همکاران (۲۰۱۳) در Genome-Wide Association Study() سه مطالعه ای ثابت کردند که SORL1 به صورت ژنتیکی با آلزایمر دیررس همراه است. این مطالعه بر روی سه جمعیت ژاپن، کره و مردمان قفقازی انجام شد(۲۸). همچنین نتایج مطالعات گائو(Gao) و همکاران(۲۰۱۴) بر روی اسنیپ- rs2070045 (SNP19), rs3824968 (SNP23), rs2282649 (SNP24) در جمعیت هان MCI چین ارتباط برجی از هاپلوتیپ های این سه اسنیپ با (Mild Cognitive Impairment) را تأیید کرد(۲۹). با توجه به نتایج متناقض به دست آمده از مطالعات قبلی در جمعیت های مختلف و اهمیت این ژن در ریسک ابتلا به بیماری آلزایمر در مطالعه حاضر دو اسنیپ (rs12285364, rs2282649) در جمعیت آذربایجان داد غرب ایران مورد آنالیز قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که هیچ کدام از آن ها با بیماری آلزایمر در جمعیت مورد مطالعه همراهی معنی داری ندارد. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج حاصل از پژوهش های مذکور در بالا هم خوانی نداشت. این عدم تطابق می تواند ناشی از تفاوت های نژادی و زمینه ژنتیکی جمعیت های مورد مطالعه باشد. با این وجود نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج برجی دیگر از مطالعات مطابقت نشان می دهد. به عنوان مثال ریان مینستر و همکاران (۲۰۰۸) طی مطالعه ای که بر روی ۶ اسنیپ از ژن sorl1 در جمعیت قفقازی آمریکایی انجام دادند، عنوان کردند که هیچ ارتباط معنی داری بین این ژن و بیماری آلزایمر وجود ندارد(۳۰). همچنین در مطالعه ای که Guven و همکاران(۲۰۱۹) در ترکیه، در سال ۲۰۱۸، درباره ۲۵۷ فرد مبتلا به آلزایمر و ۴۱۴ فرد سالم انجام دادند، برای اسنیپ rs2282649 نتایج آماری معنی داری به دست نیامد(۳۱). علاوه بر آن، لی و همکاران(۲۰۰۹) در یک مطالعه، ۷ اسنیپ rs668387, rs689021, rs641120, rs1699102, rs3824968, rs2282649 و

مرتب سازی عصبی با پروتئین پیش ساز آمیلوبئید بتا در تعامل بوده و بر نقل و انتقالات سلولی و پردازش پروتولیتیک این پروتئین در سلول های مغز تأثیر می گذارد به طوری که APP را به محوطه گلزاری محدود می کند و حمل و نقل به سطح سلول و پردازش پروتولیتیک آن را کاهش می دهد(۶). موتاسیون هایی در این ژن سبب مهار فعالیت ژن می شوند و همچنین واریانت های مختلف از این ژن سبب کاهش بیان ژن شده و منجر به افزایش میزان A β می شوند که ممکن است این پدیده یک عامل شروع کننده برای بیماری آلزایمر باشد. بسیاری از اسنیپ های SORL1 در آلزایمر نقش ندارند ولی برخی بر بیان و فعالیت آثر دارند. اسنیپ های نانکدینگ ممکن است از طریق تغییر در رونویسی SORL1 کار کنند. این اسنیپ ها شامل واریانت های کد شده و غیر کد شده در دو هاپلوتایپ در ۱۱q23_q24 می باشند(۱۲). تاکنون چندین مطالعه به بررسی ارتباط اسنیپ های rs2282649 و rs12285364 با بیماری آلزایمر پرداخته است که نتایج متفاوتی حاصل شده است. در whole-genome microarrays، با روش SORL1 جزو ژن هایی عنوان شد که با اختصاصیت بالا در خون بیماران آلزایمری بیان می شود(۲۶). وانگ و همکاران (۲۰۱۶) در یک مطالعه متآنالیزی بر روی چند شکلی های ژن SORL1 همراهی آن ها را در آلزایمر دیررس مورد بررسی قراردادند. این مطالعه شامل ۳۵ فرد بیمار و کنترل بود که در آن در کل ۱۵ اسنیپ را مورد بررسی قرار دادند. آن ها نشان دادند که ۳ اسنیپ شامل rs2070045*G s2282649*T, rs12285364*T با افزایش خطر ابتلا به AD همراهی دارد(۱۴). کیمورا و همکاران(۲۰۰۹) اثرات خطر را در سطح بزرگ شامل ۴۳۷ فرد مبتلا به آلزایمر دیررس و ۴۱۵ نمونه کنترل از جمعیت ژاپن مورد بررسی قراردادند. ۴ اسنیپ، از بین ۸ اسنیپ به صورت چشمگیری با بیماری آلزایمر همراهی نشان

فقاقد مطابق بوده اما با نتایج مطالعات در جمیعت های چین، کره و ژاپن مغایرت دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان نامه کارشناسی ارشد خانم یاسمون همپانزه است. نویسندهای این مقاله از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز و از تمام کسانی که در انجام این پژوهه همکاری و حمایت نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

(rs1010159) را مورد بررسی قراردادند و نتایج نشان داد که شواهد ژنی برای همراهی بین اسینپ های SORL1 و بیماران AD وجود ندارد (۳۲).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که اسینپ های rs12285364 و rs2282649 در ژن SORL1 در جمیعت آذری شمال غرب ایران با بیماری آلزایمر همراهی ندارند و این نتایج با نتایج مطالعات در جمیعت های ترکیه و

References

1. Prince M, Bryce R, Albanese E, Wimo A, Ribeiro W, Ferri CP. The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. *Alzheimers Dement*. 2013; 9(1):63-75.
2. Hooijmans CR, Kiliaan AJ. Fatty acids, lipid metabolism and Alzheimer pathology. *Eur J Pharmacol*. 2008; 585: 176-96.
3. Tarkesh N, Rahgozar M, Biglarian A, Khorram Khorshid H . Identification of Genetic Polymorphism Interactions in Sporadic Alzheimer's disease Using Logic Regression. *IRJ*. 2011; 9(2): 45-50
4. Shibata N, Kawarai T, Lee JH, Lee HS, Shibata E, Sato C, et al. Association studies of cholesterol metabolism genes (CH25H, ABCA1 and CH24H) in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2006; 391(3):142-6.
5. Rosenberg RN, Lambracht-Washington D, Yu G, Xia W. Genomics of Alzheimer disease: a review. *JAMA neurology*. 2016; 73(7):867-74.
6. Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, Gu Y, Kawarai T, Zou F, et al. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet Nat Genet*. 2007; 39(2):168-77.
7. Dodson SE, Andersen OM, Karmali V, Fritz JJ, Cheng D, Peng J, et al. Loss of LR11/SORLA enhances early pathology in a mouse model of amyloidosis: evidence for a proximal role in Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 2008; 28:12877-12886.
8. Sager KL, Wuu J, Leurgans SE, Rees HD, Gearing M, Mufson EJ, et al. Neuronal LR11/sorLA expression is reduced in mild cognitive impairment. *Ann Neurol*. 2007; 62(6):640-7.
9. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry*. 2015; 77(1):43-51.
10. Feng X, Hou D, Deng Y, Li W, Tian M, Yu Z. SORL1 gene polymorphism association with late-onset Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2015; 584:382-9.
11. Lambert JC, Ibrahim-Verbaas CA, Harold D, Naj AC, Sims R, Bellenguez C, et al. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat Genet*. 2013; 45(12):1452-8.
12. Andersen OM, Rudolph IM, Willnow TE. Risk factor SORL1: from genetic association to functional validation in Alzheimer's disease. *Acta neuropathologica*. 2016; 132(5):653-665.

13. Alexopoulos P, Guo LH, Kratzer M, Westerteicher C, Kurz A, Perneczky R. Impact of SORL1 single nucleotide polymorphisms on Alzheimer's disease cerebrospinal fluid markers. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2011; 32(3): 164–170.
14. Wang Z, Lei H, Zheng M, Li Y, Cui Y, Hao F. Meta-analysis of the Association between Alzheimer Disease and Variants in GAB2, PICALM, and SORL1. *Mol Neurobiol.* 2016; 53(9):6501-6510.
15. Tan EK, Lee J, Chen CP, Teo YY, Zhao Y, Lee WL. SORL1 haplotypes modulate risk of Alzheimer's disease in Chinese. *Neurobiol Aging.* 2009; 30(7):1048-51.
16. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology.* 1984; 34: 939-944.
17. Mirzaii-Fini F, Dowlati M, Dehghani M, Kouchaki E. Investigating the association of Val/Met polymorphism of the BDNF gene with the incidence of disease in patients with Alzheimer and comparison with healthy elderly people in Iran. *Feyz.* 2018; 22(6): 617-623.
18. Alagiakrishnan K1, Gill SS, Fagarasanu A. Genetics and epigenetics of Alzheimer's disease. *Postgrad Med J.* 2012; 88(1043):522-9.
19. Masters CL, Cappai R, Barnham KJ, Villemagne VL. Molecular mechanisms for Alzheimer's disease: implications for neuroimaging and therapeutics. *J Neurochem.* 2006; 97(6):1700-25.
20. Adlard PA, Tran BA, Finkelstein DI, Desmond PM, Johnston LA, Bush AI. A review of β -amyloid neuroimaging in Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2014; 8:327.
21. Rajendran L, Schneider A, Schlechtingen G, Weidlich S, Ries J, Braxmeier T, et al. Efficient inhibition of the Alzheimer's disease beta-secretase by membrane targeting. *Science.* 2008; 320(5875):520-3.
22. Sannerud R, Declerck I, Peric A, Raemaekers T, Menendez G, Zhou L, et al. ADP ribosylation factor 6 (ARF6) controls amyloid precursor protein (APP) processing by mediating the endosomal sorting of BACE1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108(34):E559-68.
23. Bayer TA, Wirths O. Intraneuronal Abeta as a trigger for neuron loss: can this be translated into human pathology? *Biochem Soc Trans.* 2011; 39(4):857-61.
24. Rajendran L, Honsho M, Zahn TR, Keller P, Geiger KD, Verkade P. Alzheimer's disease beta-amyloid peptides are released in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103(30):11172-7.
25. Annunziata I, Patterson A, Helton D, Hu H, Moshiach S, Gomero E, Nixon R, d'Azzo A. Lysosomal NEU1 deficiency affects amyloid precursor protein levels and amyloid-beta secretion via deregulated lysosomal exocytosis. *Nat Commun.* 2013; 4:2734.
26. Bai Z, Stamova B, Xu H, Ander BP, Wang J, Jickling GC, et al. Distinctive RNA expression profiles in blood associated with Alzheimer's disease after accounting for white matter hyperintensities. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2014; 28(3):226-33.
27. Kimura R, Yamamoto M, Morihara T, Akatsu H, Kudo T, Kamino K, Takeda M. SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease in a Japanese population. *Neurosci Lett.* 2009 18; 461(2):177-80.
28. Miyashita A, Koike A, Jun G, Wang LS, Takahashi S, Matsubara E, et al. SORL1 is genetically associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese, Koreans and Caucasians. *PLoS One.* 2013; 8(4):e58618.

29. Gao X, Liu M, Sun L, Qin B, Yu H, Yang Z, Qi R, Gao F, et al. SORL1 genetic variants modulate risk of amnestic mild cognitive impairment in northern Han Chinese. *Int J Neurosci.* 2014;124(4):296-301
30. Minster RL, DeKosky ST, Kamboh MI. No association of SORL1 SNPs with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2008; 440(2): 190-192.
31. Guven G, Vurgun E, Bilgic B, Hanagasi H, Gurvit H, Ozer E, et al. Association between selected cholesterol-related gene polymorphisms and Alzheimer's disease in a Turkish cohort. *Mol Biol Rep.* 2019; 46(2):1701-1707.
32. Liu F, Ikram MA, Janssens AC, Schuur M, de Koning I, Isaacs A, et al. A study of the SORL1 gene in Alzheimer's disease and cognitive function. *J Alzheimers Dis.* 2009; 18(1):51-64.