

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

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBY-NC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

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

یاسمن همپانژاد^۱، محمد خلیج کندری^۱، مجید خدائی^۲، مهناز طالبی^۳

۱. دانشجوی کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. کد ارکید: ۸۰۸۵-۴۶۵۴-۰۰۰۲-۰۰۰۰-۰۰۰۰
۲. دانشیار، گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، (مؤلف مسئول)، تلفن ثابت: ۳۳۳۹۲۷۴۵-۰۴۱ پست الکترونیک: khalaj49@gmail.com. کد ارکید: ۸۸۹X-۹۲۳۱-۰۰۰۱-۰۰۰۰
۳. دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم طبیعی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. کد ارکید: ۸۵۸۵-۵۱۱۳-۰۰۰۲-۰۰۰۰-۰۰۰۰
۴. استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. کد ارکید: ۳۹۱۳-۷۶۱۳-۰۰۰۲-۰۰۰۰-۰۰۰۰

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 بتا درگیر است و نیز نقش مهمی در تولید پپتید آمیلوئید بتا در آلزایمر دارد. هدف این پژوهش مطالعه‌ی همراهی پلی‌مورفیسم rs2282649 و rs12285364 با بیماری آلزایمر در جمعیت آذری شمال غرب ایران بود.

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

یافته‌ها: در اسنپ rs2282649 فراوانی ژنوتیپ CC در گروه بیمار ۳۶٪ و در گروه شاهد ۳۸/۵۵٪ با $P=0/70$ بوده و فراوانی ژنوتیپ TT در گروه بیمار ۱۲٪ و در بین گروه شاهد ۷/۲۳٪ بود ($P=0/25$). فراوانی ژنوتیپ CT در گروه بیمار ۵۲٪ و در گروه شاهد ۵۴/۲۲٪ بود ($P=0/75$) و همچنین در rs12285364 فراوانی ژنوتیپ CC در گروه بیمار ۹۳٪ و در گروه شاهد ۹۰/۳۶٪ با $P=0/5$ بوده 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 ۹/۶۴٪ ($P=0/49$) بود.

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

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

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

مقدمه

بیماری آلزایمر شایع‌ترین عامل زوال عقلی در افراد مسن است و یک بیماری پیش‌رونده و برگشت‌ناپذیر مغزی است. در مرحله بالینی به صورت اختلال در عملکردهای شناختی و تکلم همراه با اختلالات رفتاری واضح در فعالیت‌های زندگی روزانه تشخیص داده می‌شود (۱،۲). در سال ۲۰۰۶ بیش از ۲۶ میلیون نفر در سراسر جهان از بیماری آلزایمر رنج می‌بردند و تخمین زده می‌شود که این تعداد تا سال ۲۰۵۰ به بیش از ۱۰۰ میلیون افزایش یابد؛ بنابراین به عامل هزینه بر اجتماعی و پزشکی مهم در جمعیت سالمندان 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 روان‌شناختی است که گذشته از هزینه بالا، این روش‌ها اغلب پس از پیشرفت بیماری و بروز آسیب‌های جدی انجام می‌شوند که برای شروع اقدامات پیشگیرانه یا درمانی مؤثر، دیگر خیلی دیر است. در نتیجه، تشخیص بیماری توسط یک مارکر ژنتیکی می‌تواند راه‌حل مناسبی برای این مشکل باشد. آلزایمر یک بیماری پیچیده است هیچ الگوی ارثی خاصی ندارد و هترو ژنی بوده و فاکتورهای ژنتیکی و عوامل محیطی متعددی در شروع و توسعه بیماری دخیل هستند (۴). ژن *SORL1* (Sortilin-related receptor) یکی از ژن‌های مرتبط با افزایش خطر ابتلا به بیماری دیررس آلزایمر است. این ژن بر روی کروموزوم 1q24.1 واقع شده و دارای ۵۳ اوزون است (۵). *SORL1* مسیر پروتئین پیش ساز آمیلوئید بتا (Amyloid Precursor Protein) (APP) به مسیرهای آندوسیتیک سلولی جهت بازیافت هدایت می‌کند و نقش مهمی در تولید آمیلوئید بتا (amyloid- β) (amyloid- β) و نقش مهمی در تولید آمیلوئید بتا (amyloid- β) (amyloid- β) دارد (۶). موش‌هایی با کمبود *SORL1* دارای سطوح آمیلوئید بتا (β) بالایی هستند (۷). بیان *SORL1* mRNA در مغز بیماران آلزایمری کاهش می‌یابد (۸). *SORL1* همچنین گیرنده‌ای است که با لیوپروتئین‌ها،

از جمله ذرات حاوی آپولیپو پروتئین (APOE)، در ارتباط بوده و جذب آن‌ها را از طریق مسیرهای آندوسیتیک وساطت می‌کند (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). موتاسیون‌هایی در این ژن سبب مهار فعالیت ژن می‌شوند و همچنین واریانت‌های مختلف از این ژن سبب کاهش بیان ژن شده و منجر به افزایش میزان آمیلوئید بتا (β) می‌شوند که ممکن است این پدیده یک عامل شروع‌کننده برای بیماری آلزایمر باشد (۱۰). مطالعات گسترده ژنومی (Genome-Wide Association Study) (GWAS) همبستگی *SORL1* را با آلزایمر دیررس تک‌گیر، در جمعیت قزاقستان و آسیای تبار تأیید کردند (۱۱). بسیاری از اسنپ‌های *SORL1* در آلزایمر نقش ندارند ولی برخی بر بیان و فعالیت *SORL1* اثر دارند. اسنپ‌های *SORL1* شامل واریانت‌های کد شده و غیر کد شده در دو هاپلوتایپ در نواحی ۳ و ۵ بر روی کروموزوم انسانی 11q23_q24 می‌باشند (۱۲). اسنپ rs12285364 در ناحیه اینترون شماره ۹ و rs2282649 در ناحیه اینترون شماره ۳۸ قرار گرفته‌اند. نقش عملکردی برخی اسنپ‌ها در بیماری آلزایمر هنوز مشخص نشده ولی نقش برخی دیگر در تأثیر بر بیان و فعالیت *SORL1* نشان داده شده است. مطالعات آقای روگاوا و همکارانش (۲۰۰۷) نشان داد که اسنپ‌های 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 می‌شود (۱۲). همچنین الکس پولوس و همکارانش (۲۰۱۱) نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین rs2282649 و میزان بتا آمیلوئید (β) در مایع مغزی-نخاعی وجود دارد و می‌تواند در پاتوژنز بیماری آلزایمر مؤثر باشد (۱۳). بررسی‌های کلینیکی،

National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke /Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) (۱۶) و تست‌های عصبی - روان‌شناختی 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، دامانس‌های قابل‌برگشت، افسردگی شدید، سابقه ترومای مغزی و سابقه عقب ماندگی ذهنی بودند. افراد گروه شاهد از لحاظ بیماری‌های مغزی و شناختی سالم بودند، در بستگان درجه اول خود سابقه بروز آلزایمر نداشتند و از لحاظ سن و جنس با گروه بیمار هم‌خوان 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 نورسنجی مورد بررسی قرار گرفت. تعیین ژنوتیپ: برای بررسی چند شکلی‌های rs12285364 و rs2282649 مربوط به ژن SORL1 ابتدا DNA استخراج شده توسط PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) تکثیر شد.

همبستگی برخی اسنپ‌ها را با ویژگی‌های نوروپاتولوژیکال از جمله رسوب پلاک‌های پیری (SNP#8)، از دست دادن حجم ماده خاکستری (SNP#23) و آتروفی هیپوکامپ (rs2282649) (SNP#24) نشان داده‌اند (۱۲). در مطالعه ای که توسط وانگ و همکارانش (۲۰۱۵) بر روی سه ژن GAB2, PICALM و SORL1 انجام شد، نتایج قابل-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 اسنپ rs1699102, rs3824968 و rs2282649 به این نتیجه رسیدند که هاپلوتایپ 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 فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم‌های rs2282649 و rs12285364 ژن SORL1 در بیماران آلزایمر و افراد سالم تعیین و همراهی آن‌ها با ریسک ابتلا به آلزایمر در جمعیت شمال غرب ایران مشخص شود.

روش بررسی

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

جدول ۱. پرایمرهای طراحی شده برای اسنپ‌ها

نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول	نام ژن
رفت	5'-CGTGGAATAGGAAACTGGAGC-3'	۵۴۶	(rs2282649) SORL1
برگشت	5'-CTAGAGTGTCTGCCCCTTGG-3'		
رفت	5'-CGGGACATTTATGTGGGTTTC-3'	۵۳۷	rs12285364) SORL1
برگشت	5'-TCCCCTGAGCCTAAAATGC-3'		

واکنش RFLP که شامل ۴/۸ میکرولیتر آب مقطر دو بار یونیزه، ۰/۲ میکرولیتر یک واحد آنزیم محدودگر PST I (شرکت Fermentas) برای rs12285364 و یک واحد آنزیم I MSP (شرکت Fermentas) برای rs2282649، ۱ میکرو لیتر بافر اختصاصی آنزیم و ۴ میکرولیتر محصول PCR است، درون میکروتیوپها ریخته شد. سپس ۱ الی ۲ قطره روغن معدنی به هر میکروتیوپ اضافه گردید و میکروتیوپها را به مدت ۳۰ دقیقه در بن-ماری با دمای ۳۷ درجه قرار دادیم پس از این مدت، محصول تجزیه در ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید. آنزیم MSP I در حضور ژنوتیپ CC در جایگاه شناسایی آنزیم دو باند با طولهای ۱۲۶ و ۴۲۰ جفت بازی ایجاد می کند در حالی که در صورت وجود ژنوتیپ TT قطعه تکثیر یافته ۵۴۶ جفت بازی برش نمی خورد و در صورت وجود ژنوتیپ CT سه باند با طولهای ۵۴۶، ۴۲۰ و ۱۲۶ جفت بازی دیده می شود و آنزیم PST I در حضور ژنوتیپ TT در جایگاه شناسایی آنزیم دو باند با طولهای ۱۰۸ و ۴۲۴ جفت بازی ایجاد می کند در حالی که در صورت وجود ژنوتیپ CC قطعه تکثیر یافته ۵۳۷ جفت بازی برش نمی خورد و در صورت وجود ژنوتیپ CT سه باند با طولهای ۵۳۷، ۱۰۸ 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 واکنش PCR در ۳۵ چرخه و با پروفایل دمایی زیر به ترتیب برای rs12285364 شامل واسرشت (denature) اولیه در دمای ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه و واسرشت 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 واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه و واسرشت 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 ژنوتیپهای حاصل از چندشکلی های rs12285364 و rs2282649 از روش RFLP-PCR Restriction Fragment Length Polymorphism) 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 ژنوتیپی چندشکلی rs12285364 ژن SORL1 در افراد بیمار و کنترل: توزیع ژنوتیپی چندشکلی rs12285364 برای افراد مبتلا به آلزایمر و افراد کنترل محاسبه گردید. در این بررسی در بین افراد مبتلا ۹۳٪ هموزیگوت CC، ۷٪ هتروزیگوت CT و صفر درصد هموزیگوت TT تشخیص داده شدند و در میان افراد گروه کنترل ۳۶٪/۹۰، هموزیگوت CC، ۶۴٪/۹۱ هتروزیگوت CT و صفر درصد هموزیگوت TT مشاهده شدند. بر اساس محاسبات آماری توزیع ژنوتیپی، تفاوت معنی داری بین دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت. نتایج آزمون بیانگر آن است که ژنوتیپ دو گروه بیمار و غیر بیمار تفاوت معناداری ندارند ($p > 0.05$). به این ترتیب، با توجه به یافته‌های این پژوهش، اسنیپ rs12285364 در جمعیت مورد مطالعه با بیماری آلزایمر همراهی نشان نمی‌دهد. همچنین بررسی تعادل هاردی واینبرگ نشان داد که جمعیت مورد بررسی نسبت به جایگاه rs12285364 در تعادل قرار دارد (جدول ۲).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای بررسی آزمون‌های آماری از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۳ استفاده شد. فراوانی‌های ژنوتیپی و فراوانی‌های آللی دو گروه مورد و شاهد توسط آزمون Student t-test با هم مقایسه شدند و نسبت شانس (OR) برای آن‌ها تعیین گردید. وضعیت تعادل هاردی واینبرگ با استفاده از آزمون مربع کای مورد بررسی قرار گرفت. $p \leq 0.05$ در همه بررسی‌ها معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

فراوانی ژنوتیپی چند شکلی rs2282649 ژن SORL1 در افراد بیمار و کنترل: توزیع ژنوتیپی چند شکلی rs2282649 برای افراد مبتلا به آلزایمر و افراد کنترل محاسبه گردید. در این بررسی در بین افراد مبتلا ۳۶٪ هموزیگوت CC، ۵۲٪ هتروزیگوت CT و ۱۲٪ هموزیگوت TT تشخیص داده شدند و در میان افراد گروه کنترل ۵۵٪/۳۸، هموزیگوت CC، ۲۲٪/۵۴ هتروزیگوت CT و ۲۳٪/۷ هموزیگوت TT مشاهده شدند. نتایج آزمون بیانگر آن است که ژنوتیپ دو گروه بیمار و غیر بیمار تفاوت معنی داری ندارند ($p > 0.05$). به این ترتیب، با توجه به یافته‌های این پژوهش، اسنیپ rs2282649 در جمعیت مورد مطالعه با بیماری آلزایمر همراهی نشان نمی‌دهد.

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپ‌های اسنیپ‌های (rs12285364, rs2282649)

H.W	p-value	OR (95%CI)	سال (۸۳ نفر)	بیمار (۱۰۰ نفر)	ژنوتیپ	نام اسنیپ
۰/۲۹	۰/۷۰۹	۰/۸۹۷	۳۲ (۳۸/۵۵)	۳۶ (۳۶)	CC	Rs2282649
		۰/۴۸۵-۱/۶۵۶				
		۰/۷۵۳	۰/۹۱۵	۴۵ (۵۴/۲۲)	۵۲ (۵۲)	
۰/۲۹	۰/۷۰۹	۰/۵۰۵-۱/۶۵۶	۶ (۷/۲۳)	۱۲ (۱۲)	TT	Rs12285364
		۰/۲۵۳	۱/۷۵۰			
		۰/۶۱۱-۵/۱۲۶				
۰/۹۲	۰/۷۰۹	۱/۴۱۷	۷۵ (۹۰/۹۳۶)	۹۳ (۹۳)	CC	Rs12285364
		۰/۴۶۷-۴/۳۷۸				
		۰/۴۹۹	۰/۷۰۶	۸ (۹/۶۴)	۷ (۷)	
		۰/۲۲۸-۲/۱۴۲			TT	

فراوانی آلل T برای گروه کنترل ۱۰/۲۵٪ و در گروه بیمار ۳/۵٪ به دست آمد. نتایج آزمون بیانگر آن است که فراوانی آلل های C و T در هر دو اسنیپ در دو گروه بیمار و غیر بیمار تفاوت معنی دار ندارند ($p > ۰/۰۵$). به این ترتیب، با توجه به یافته‌های این پژوهش، آلل‌های این اسنیپ‌ها با بیماری آلزایمر در جمعیت مورد مطالعه همراهی نشان نمی‌دهند (جدول ۳).

فراوانی آللی افراد مبتلا به آلزایمر و کنترل مربوط به چندشکلی rs12285364,rs2282649: در محاسبه‌ی توزیع آللی rs2282649 برای این چندشکلی فراوانی آلل C برای گروه کنترل ۶۵/۶۶٪ و برای گروه بیمار ۶۲٪ است. فراوانی آلل T برای گروه کنترل ۳۴/۳۴٪ و در گروه بیمار ۳۸٪ به دست آمد و برای rs12285364 فراوانی آلل C برای گروه کنترل ۸۹/۷۵٪ و برای گروه بیمار ۹۶/۵٪ است.

جدول ۳. فراوانی ال‌های (rs12285364,rs2282649)

نام اسنیپ	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	۰/۵۹

بحث

(APP)(Amyloid precursor protein) حاصل می‌شود (۱۹). شکست APP به ترتیب توسط عملکرد آلفا-سکرتاز (α -secretase) یا بتاسکرتاز (β -secretase) و گاماسکرتاز (γ -secretase) صورت می‌گیرد. در واقع پردازش قسمت اعظم APP توسط آلفاسکرتاز صورت می‌گیرد و منجر به ایجاد محصولات غیر آمیلوئیدوژنیک (Non-amyloidogenic) می‌شود (۲۰). پروتئین پیش ساز آمیلوئید بتا که پردازش نشده از سطح سلول به اندوزوم داخلی برگشت داده می‌شود در بخش‌های آندوسیتیک، APP توسط بتاسکرتاز و گاماسکرتاز پردازش می‌شود (۲۱ و ۲۲). تجمع داخل سلولی (۲۳) و همچنین ترشح پپتیدهای $A\beta$ ، توسط آگروزوم‌ها (۲۴) و سایر روش‌های آگروسیتوز (۲۵)، باعث افزایش بار آمیلوئیدی مغز می‌شود. یافته‌ها نشان می‌دهند که SORL1 به عنوان یک گیرنده

بیماری آلزایمر یک اختلال پیش‌رونده‌ی مغزی است که با کاهش تدریجی حافظه باعث اختلال در فعالیت‌های روزانه فرد می‌شود. با افزایش امید به زندگی و مسن شدن جمعیت در آینده، تحقیقات در زمینه‌ی این بیماری رو به افزایش است. تحقیقات نشان داده است عوامل زیادی در بیماری آلزایمر دخالت دارند (۱۷). در واقع بیماری آلزایمر یک اختلال چند عاملی است و تعاملات پیچیده بین عوامل ژنتیک، اپی ژنتیک و محیط باعث ظهور بیماری آلزایمر می‌شود. از عوامل ژنتیکی دخیل در این بیماری می‌توان به آمیلوئید بتا و پروتئین تاو اشاره کرد (۱۸). آمیلوئید بتا یک متالوپروتئین (Metalloprotein) خود جمع شونده‌ی با ۳۹-۴۳ اسید آمینه است که از شکافت پروتئولیتیکی (Proteolytic) پروتئین پیش ساز آمیلوئید بتا

دادند (۲۷). میاشیتا و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه (Genome-Wide Association Study) سه مرحله‌ای 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 اسنپ-های rs2070045 (SNP19), rs3824968 (SNP24), rs2282649 (SNP23) در جمعیت هان چین ارتباط برخی از هاپلوتیپ‌های این سه اسنپ با MCI (Mild Cognitive Impairment) را تأیید کرد (۲۹). با توجه به نتایج متناقض به دست آمده از مطالعات قبلی در جمعیت‌های مختلف و اهمیت این ژن در ریسک ابتلا به بیماری آلزایمر در مطالعه حاضر دو اسنپ (rs12285364, rs2282649) در جمعیت آذری شمال غرب ایران مورد آنالیز قرار گرفت و نتایج حاصل نشان داد که هیچ کدام از آن‌ها با بیماری آلزایمر در جمعیت مورد مطالعه همراهی معنی‌داری ندارد. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج حاصل از پژوهش‌های مذکور در بالا هم‌خوانی نداشت. این عدم تطابق می‌تواند ناشی از تفاوت‌های نژادی و زمینه ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه باشد. با این وجود نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج برخی دیگر از مطالعات مطابقت نشان می‌دهد. به عنوان مثال ریان مینستر و همکاران (۲۰۰۸) طی مطالعه‌ای که بر روی ۶ اسنپ از ژن sorl1 در جمعیت قفقازی آمریکایی انجام دادند، عنوان کردند که هیچ ارتباط معنی‌داری بین این ژن و بیماری آلزایمر وجود ندارد (۳۰). همچنین در مطالعه‌ای که Guven و همکاران (۲۰۱۹) در ترکیه، در سال ۲۰۱۸، درباره ۲۵۷ فرد مبتلا به آلزایمر و ۴۱۴ فرد سالم انجام دادند، برای اسنپ rs2282649 نتایج آماری معنی‌داری به دست نیامد (۳۱). علاوه بر آن، لی و همکاران (۲۰۰۹) در یک مطالعه، ۷ اسنپ (rs641120, rs689021, rs668387, rs3824968, rs2282649, rs1699102) و

مرتب‌سازی عصبی با پروتئین پیش ساز آمیلوئید بتا در تعامل بوده و بر نقل و انتقالات سلولی و پردازش پروتئولیتیک این پروتئین در سلول‌های مغز تأثیر می‌گذارد به طوری که APP را به محوطه گلژی محدود می‌کند و حمل و نقل به سطح سلول و پردازش پروتئولیتیک آن را کاهش می‌دهد (۶). موتاسیون‌هایی در این ژن سبب مهار فعالیت ژن می‌شوند و همچنین واریانت‌های مختلف از این ژن سبب کاهش بیان ژن شده و منجر به افزایش میزان $A\beta$ می‌شوند که ممکن است این پدیده یک عامل شروع‌کننده برای بیماری آلزایمر باشد. بسیاری از اسنپ‌های SORL1 در آلزایمر نقش ندارند ولی برخی بر بیان و فعالیت SORL1 اثر دارند. اسنپ‌های نانکدینگ ممکن است از طریق تغییر در رونویسی SORL1 کار کنند. این اسنپ‌ها شامل واریانت‌های کد شده و غیر کد شده در دو هاپلوتیپ در نواحی ۳ و ۵ بر روی کروموزوم انسانی 11q23_q24 می‌باشند (۱۲). تاکنون چندین مطالعه به بررسی ارتباط اسنپ‌های rs2282649 و rs12285364 با بیماری آلزایمر پرداخته است که نتایج متفاوتی حاصل شده است. در پژوهشی، با روش whole-genome microarrays، ژن SORL1 جزو ژن‌هایی عنوان شد که با اختصاصیت بالا در خون بیماران آلزایمری بیان می‌شود (۲۶). وانگ و همکاران (۲۰۱۶) در یک مطالعه متاآنالیزی بر روی چند شکلی‌های ژن SORL1 همراهی آن‌ها را در آلزایمر دیررس مورد بررسی قرار دادند. این مطالعه شامل ۳۵ فرد بیمار و کنترل بود که در آن در کل ۱۵ اسنپ را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که ۳ اسنپ 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 قرار دادند. ۴ اسنپ، از بین ۸ اسنپ به صورت چشمگیری با بیماری آلزایمر همراهی نشان

قفقاز مطابق بوده اما با نتایج مطالعات در جمعیت‌های چین، کره و ژاپن مغایرت دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان‌نامه کارشناسی ارشدخانم یاسمن همپانژاد است. نویسندگان این مقاله از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز و از تمام کسانی که در انجام این پروژه همکاری و حمایت نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

rs1010159 را مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که شواهد ژنی برای همراهی بین اسنیپ‌های SORL1 و بیماران AD وجود ندارد (۳۲).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که اسنیپ‌های rs2282649 و rs12285364 در ژن SORL1 در جمعیت آذری شمال غرب ایران با بیماری آلزایمر همراهی ندارند و این نتایج با نتایج مطالعات در جمعیت‌های 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*. 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, Wu 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, Pernecky 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 A β 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, Moshiah 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 amnesic 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.