Study of the association between *SHARPIN* gene rs34173062 polymorphism and Alzheimer's disease by Tetra-ARMS PCR

Feriyal Pourbabaee[1], Elham Siasi [*2], Robab Rafiei Tabatabaii [3]

Department of Genetic, School of science, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.

Abstract

Aim and Background: However, the molecular mechanisms of Alzheimer's disease are unknown. Various genetic and environmental factors can cause Alzheimer's disease and are used to diagnose and predict the disease. The aim of this study was to investigate the presence of rs34173062 polymorphism in the *SHARPIN* gene and its association with triggering Alzheimer's disease in the Iranian patient population.

Materials and Methods: This case-control study was conducted in 2021 on 50 people with Alzheimer's disease and 50 healthy controls. After DNA extraction from blood samples, genotyping was performed using the Tetra-ARMS PCR method and the data were statistically analyzed.

Results: The genotype results for rs34173062 polymorphism showed that the frequencies of AA, AG and GG genotypes in the patient group were 62%, 10% and 28%, respectively, and in the control group were 48%, 18% and 34%, respectively. There was no significant association between rs34173062 polymorphism and the risk of Alzheimer's disease (P=0.313). Among the demographic factors studied, only the association between age and affected disease was significant (P=0.029).

Conclusion: The results showed that there was no statistically significant association between the rs34173062 polymorphism of the *SHARPIN* gene and Alzheimer's disease in the Iranian population studied. To confirm the results of the present study, it is recommended to study populations from different societies and a larger number of samples.

Keywords: Single nucleotide polymorphism, Alzheimer's disease, gene, PCR, Iau Science.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]

Corresponding author:
Department of Genetic, School of science, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.
Email: emi_biotech2006@yahoo.ca

ارتباط بین حضور پلی‌مورفیسم rs34173062 ژن *شارپین* و بیماری آلزایمر با روش Tetra-ARMS PCR

فریال پوربابایی[۱] ، الهام سیاسی*[۲] ، رباب رفیعی طباطبایی[۳]

گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد تهران شمال ، تهران ، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: مکانیسم‌های مولکولی ایجادکنندهٔ بیماری آلزایمر هنوز ناشناخته هستند. عوامل ژنتیکی و محیطیِ مختلف می‌توانند در ایجاد بیماری آلزایمر مؤثر باشند و برای تشخیص و پیش‌آگهی از این بیماری استفاده شوند. هدف از این مطالعه بررسی حضور پلی‌مورفیسم rs34173062 در ژن *شارپین* و ارتباط آن با ایجاد آلزایمر در جمعیتی از بیماران ایرانی بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه در سال ۱۴۰۰ به‌صورت مورد-شاهدی بر روی ۵۰ فرد مبتلا به بیماری آلزایمر و ۵۰ فرد سالم انجام گرفت. پس از استخراج DNA از نمونه‌های خون با روش Tetra-ARMS PCR ژنوتایپینگ انجام گردید و داده‌ها آنالیز آماری شدند.

یافته‌ها: نتایج ژنوتایپینگ برای پلی‌مورفیسم rs34173062 نشان داد که فراوانی ژنوتایپ‌های AA، AG و GG در گروه بیماران به‌ترتیب ۰/۶۲، ۰/۱۰ و ۰/۲۸ و در گروه کنترل به‌ترتیب ۰/۴۸، ۰/۱۸ و ۰/۳۴ بود. بین پلی‌مورفیسم rs34173062 و احتمال ابتلا به بیماری آلزایمر ارتباط معنی‌داری وجود نداشت (P = ۰/۳۱۳). از عوامل دموگرافیک موردمطالعه تنها رابطهٔ بین سن و ابتلا به بیماری معنی‌دار بود (P = ۰/۰۲۹).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد بین حضور پلی‌مورفیسم rs34173062 در ژن *شارپین* و بروز بیماری آلزایمر در جمعیت ایرانیِ موردمطالعه رابطهٔ معنی‌داری یافت نشد. برای تأیید نتایج این پژوهش بررسی جمعیت‌هایی با قومیت متفاوت و تعداد نمونهٔ بیشتر توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی، بیماری آلزایمر، ژن، واکنش زنجیره‌ایی پلیمراز.

۱- مقدمه

درحال‌حاضر ۵۰ میلیون نفر در جهان مبتلا به آلزایمر هستند و براساس آمار جمعیت سالمندان و آمار جهانی در ایران نیز بیش از ۷۰۰ هزار نفر مبتلا به این بیماری می‌باشند. گزارش‌های انجمن آلزایمر ایران نشان می‌دهد در حدود ۸۰ درصد موارد بیماری آلزایمر نیاز به مراقبت از این بیماران است و ۵۰ درصد کسانی‌که از این بیماران مراقبت می‌کنند دچار افسردگی می‌شوند. جمیعت ایران اکنون از میان‌سالی درحال حرکت به‌سمت سالمندی است و پیش‌بینی می‌شود در دو تا سه دههٔ آینده ۲۵ درصد جمعیت کشور سالمند شوند و با توجه به ارتباط آلزایمر و بالا رفتن سن هشت تا ده درصد این جمعیت سالمند گرفتار آلزایمر خواهند شد. همچنین بنابر آمار انجمن آلزایمر ایران میزان ابتلا به آلزایمر در زنان سه درصد بیشتر از مردان نشان داده شده است (۱ و ۲). بررسی مکانیسم‌های مولکولیِ ایجادکنندهٔ بیماری آلزایمر دشوار است. علت یا علل بیماری آلزایمر به‌درستی مشخص نشده است و عوامل محیطی و ژنتیکیِ زیادی در ایجاد آن نقش دارند. ازاین‌رو شناسایی نشانگرهای عصبی و اصلاح‌کننده‌های ژنتیکی آن‌ها ممکن است به مطالعهٔ آلزایمر زودرس کمک فراوانی نماید. در واقع این بیماریِ پیچیده در نتیجهٔ برهم‌کُنش عواملی از قبیل

نویسنده مسئول:
گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد تهران شمال ، تهران ، ایران.
پست الکترونیکی:
emi_biotech2006@yahoo.ca
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۸

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]

عوامل ژنتیکی سن و محیط به‌وجود می‌آید. مطالعات مختلف اپیدمیولوژیکی حاکی است که افزایش سن و سابقهٔ مثبت در خانواده و زوال عقل عوامل خطر قطعی برای آلزایمر هستند. از سوی دیگر اگر فرد دارای سابقهٔ خانوادگی در بستگان درجهٔ اول خود باشد چهار برابر خطر ابتلا به بیماری آلزایمر افزایش می‌یابد (۱۰-۳). پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی[1] نیز تفاوت‌های مشاهده‌شده در یک جایگاه نوکلئوتیدی نسبت به موقعیت مشابه آن در توالی DNA است. این جایگاه‌ها را می‌توان به‌عنوان نشانگرهای ژنتیکی مهمی در جهت بررسی تفاوت‌های ژنتیکی افراد و موجودات به‌حساب آورد. از جمله کاربردهای پلی‌مورفیسم‌ها می‌توان به استفاده از آن‌ها به‌عنوان نشانگر مولکولی در تحقیق‌های ژنتیکی، بیماری‌های مختلف و ژنومیکس داروها به‌عنوان نشانگرهای مولکولی در تحقیق‌های ژنتیکی و نژادی در نقشه‌یابی ژنتیکی و انتخاب به کمک نشانگر نام برد. اخیراً بررسی شده است که ژن‌های متعدد و پلی‌مورفیسم‌های آنان در بیماریِ آلزایمر نقش دارند (۲۴-۱۱). تحقیق‌های سال‌های اخیر درخصوص بیماری آلزایمر دخالت ژن‌ها و پلی‌مورفیسم‌های جدیدی را که عواملِ خطرِ احتمالی در آلزایمر هستند مشخص نموده است (۱۵). در این مطالعه‌ها محققان ژن‌ها را براساس مجاورت آن‌ها با ۶۰ ژنِ قویِ مرتبط با آلزایمر رتبه‌بندی کردند. آن‌ها با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیک سه ژن*SHARPIN* [2] (شارپین)، *CR2*[3] (گیرندهٔ مکمل نوع ۲) و *PTPN2*[4] (پروتئین تیروزین فسفاتاز بدون گیرندهٔ نوع ۲) را شناسایی کردند که در تنظیم مکانیسم‌های التهابی و عملکرد میکروگلیال بافت عصبی نقش دارند و می‌توانند با بروز بیماریِ آلزایمر ارتباط مؤثری داشته باشند (۱۵). همچنین براساس پژوهش‌های اخیر ژن *شارپین* و پلی‌مورفیسم‌های آن به‌عنوان یکی از عوامل خطر ژنتیکی برای بیماری آلزایمر مطرح شده است (۱۵-۱۲). ژن *شارپین* در بازوی بلند کروموزوم ۸ ناحیه ۲ و زیر باند ۳ از باند ۴ قرار گرفته است و پلی‌مورفیسم‌های متعدد از این ژن از جمله پلی‌مورفیسم rs34173062 در ایجاد بیماری آلزایمر مؤثر هستند. ازآنجایی‌که این پلی‌مورفیسم نادر است و به‌تازگی شناسایی شده، باعث تبدیل نوکلئوتید آدنین به گوانین شده و در نتیجه تبدیل اسید آمینهٔ سرین به فنیل‌آلانین را موجب می‌گردد؛ با تغییر پروتئین‌هایی که در روند مولکولیِ عملکردِ میکروگلیال‌های عصبی و تأثیر فیزیولوژی روی بافت مغز دارد سبب آتروفی و تحلیل بافت مغزی شده و می‌تواند در بروز بیماریِ آلزایمر مؤثر باشد (۱۳). در تحقیقاتی که درخصوص مکانیسم مولکولی تأثیر ژن *شارپین* و پلی‌مورفیسم‌های آن در بروز بیماریِ آلزایمر انجام گرفته، مشخص شده است که پروتئینِ حاصل از ژن *شارپین* در تنظیم عملکرد فعالیت مسیر سیگنالینگ نکروز فاکتور در ایجاد التهاب و پاسخ سیستم‌ایمنی مؤثر می‌باشد. همچنین مشخص شده است که واریانت‌های این ژن می‌تواند در تشکیل پروتئین‌های متفاوت و موقعیت جایگاه درون‌سلولی آن‌ها مؤثر باشند و در نتیجه در مسیر فعالیت تومور نکروز فاکتور آلفا (TNF-α)، مرگ سلولی و بروز بسیاری از سرطان‌ها نقش مؤثری داشته باشند. مطالعه‌های جدید نشان داده است که وجود واریانت‌ها و شرایط استرس اکسیداتیو سبب تغییر بیان‌ژن *شارپین* در ماکروفاژها و تنظیم عملکرد فاکتورهای مؤثر بر فاگوسیتوز شده و در نتیجه در ایجاد پاسخ‌های التهابی در سیستم‌ایمنی با بروز تغییرهای فیزیولوژیکیِ ساختمانی و ایجاد ضایعات عملکردیِ نورون‌های سیستم عصبی در لایه-های کورتکس مغز مؤثر است و نیز بر روی عملکرد حافظه تأثیر دارد، ازاین‌رو می‌توانند در پاتوفیزیولوژی ابتلا به بیماری آلزایمر نقش مؤثری داشته باشند (۱۵-۱۲). بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی حضور پلی-مورفیسم rs34173062که از جدیدترین و نادرترین پلی-مورفیسم‌های شناخته‌شده در ژن *شارپین* به‌عنوان کاندید برای افزایش ریسک ابتلا به آلزایمر است، در جمعیتی از نمونه‌های بیماران ایرانی و بررسیِ ارتباط آن به‌عنوان مارکر ژنتیکی برای پیش‌آگهی تشخیص و درمان بیماریِ آلزایمر بود. همچنین در این مطالعه از روش Tetra-ARMS[5] PCR با به‌کارگیری سه جفت پرایمر که جفت پرایمر اول، پرایمر درونی برای تکثیر اختصاصیِ آلل وحشی، جفت پرایمر دوم، پرایمر درونی برای تکثیر اختصاصی آلل موتانت و جفت پرایمر سوم، پرایمر بیرونی برای کنترل تکثیر کلِ قطعهٔ موردنظر هم با حضور آلل وحشی و هم با حضور آلل موتانت استفاده شد که روشی مناسب و مقرون‌به‌صرفه در تشخیص و بررسی حضور پلی‌مورفیسم‌ها می‌باشد.

[1] Single Nucleotid Polymorphism or SNP

[2] SHANK Associated RH Domain Interactor

[3] Complement Receptor 2

[4] Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 2

[5] Tetra-Primer Amplification Refractory Mutation System

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه‌گیری

پژوهش حاضر از نوع موردی-شاهدی بود و در سال ۱۴۰۰ انجام شد. در این پژوهش از دو گروه بیمار و کنترل پس از کسبِ رضایت‌نامه نمونه‌گیری از خون انجام گرفت. براساس روش نمونه‌گیریِ کوکران از ۵۰ نمونهٔ افراد بیمار مبتلا به آلزایمر با تأیید و تشخیص پزشک متخصص براساس مشاهده‌های بالینی خون‌گیری انجام شد. همچنین از ۵۰ فرد سالم نیز به‌عنوان گروه کنترل نمونه‌گیری انجام گرفت. گروه کنترل مبتلا به بیماری خاص و سیستمیکِ شناخته‌شده‌ای نبودند. همچنین افراد با سن بالای ۶۰ سال برای نمونه‌گیری انتخاب شدند.

۲-۲- استخراج DNA

برای استخراج DNA ژنومی حدود ۵-۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی از هر دو گروه کنترل و بیمار توسط سرنگ خلاءدار استریل گرفته شد و در لوله‌های Venoject کمپانی graner/UK که حاوی ۵۰ میلی‌مولار EDTA بود، به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. سپس استخراج DNA به‌روش استخراج نمکی انجام شد (۲۵).

۲-۳- بررسی کمیّت و کیفیت DNAهای استخراج‌شده

اندازه‌گیری کمیّت DNAهای استخراج‌شده با کمک دستگاه نانودراپِ آمریکایی (Thermo-2000) با استفاده از نسبت جذب نوریِ نمونه‌ها در طول‌موج ۲۶۰ بر ۲۸۰ نانومتر انجام شد (که مناسب‌ترین غلظت برای ارزیابی DNA نسبت ۱/۸ بود). برای ارزیابیِ کیفیِ DNA از الکتروفورز روی ژل آگاروز و عکس‌برداری با دستگاهِ ژل‌داک استفاده شد.

۲-۴- انجام واکنش Tetra-ARMS PCR

از واکنش Tetra-ARMS PCR برای ژنوتایپینگ نمونه‌ها استفاده شد. برای طراحیِ پرایمرهای موردنیاز از نرم‌افزار PRIMER1 و برای تأیید صحت پرایمرها از نرم‌افزار Oligo analyzer استفاده شد. ابتدا یک جفت پرایمر عمومی چپ و راست برای ناحیهٔ دو طرف ژن طراحی شد که پرایمرهای بیرونی نامیده می‌شوند. این پرایمرها برای هر دو آللِ موتانت و وحشی مشترک هستند. وجود این دو پرایمر سبب می‌شود که ناحیهٔ بین آن‌ها تکثیر شود و باند حاصل از تکثیر این دو پرایمر باید در همهٔ نمونه‌ها (هم موتانت و هم وحشی) مشاهده گردد و به‌عنوان یک کنترل برای درست بودنِ واکنش PCR عمل نماید. دو پرایمر چپ و راستِ داخلی نیز برای تکثیر اختصاصی پلی‌مورفیسم طراحی می‌شوند که یکی از آن‌ها مکملِ آلل وحشی و دیگری مکملِ آلل موتانت است. در جدول ۱ توالیِ پرایمرهای موردنیاز در واکنشTetra-ARMS PCR نشان داده شده است. واکنشTetra-ARMS PCR با استفاده از مواد موردنیاز برای واکنش به حجمِ نهاییِ ۲۰ میکرولیتر و دمای واسرشته شدنِ ۹۵ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۶۴ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه و دمای طویل‌سازی ۷۲ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ۶۰ ثانیه با تعداد ۳۵ چرخهٔ تکرار در دستگاه PCR (مدل BioRad و کشور سازنده آمریکا) انجام شد.

جدول ۱- پرایمرها جهت انجام واکنش Tetra-ARMS PCR (طراحی‌شده در این مطالعه با نرم‌افزار PRIMER1).

پرایمر	توالی '۵ -'۳	طول قطعهٔ تکثیری (bp)
rs34173062 پرایمر چپ خارجی	CCCAGGTGGCAAGCGGAGG	۵۲۰
rs34173062 پرایمر راست خارجی	CCAGCCTCGCCCAGCCG	۵۲۰
rs34173062 پرایمر چپ داخلی	CACAGCCAAGAGCACTGCGGAGG	۳۰۲
rs34173062 پرایمر راست داخلی	GGCGGCCTCGGACTTGGGATT	۲۶۱

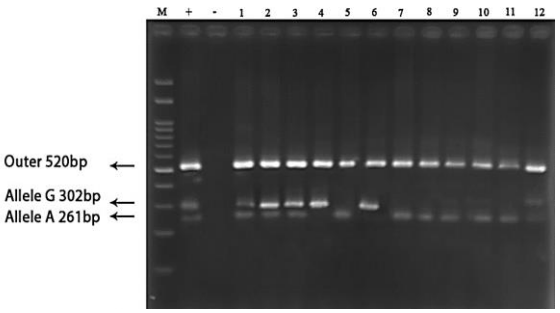
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]

۲-۵- الکتروفورز محصول PCR و عکس‌برداری از ژل

برای الکتروفورز محصول حاصل ازTetra-ARMS PCR از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. پس از اتمام الکتروفورز نیز ژل از تانک خارج شده و برای مشاهده به دستگاه ژل‌داک منتقل گردید. سپس از ژل عکس‌برداری انجام شد و نمونه‌ها تعیین ژنوتیپ شدند. باند ۵۲۰ جفت‌بازی برای بررسی صحت انجام واکنش مورداستفاده قرار گرفت. باندهای ۳۰۲ و ۲۶۱ جفت‌بازی نیز به‌ترتیب برای آلل‌های G و A درنظر گرفته شدند.

۲-۶- آنالیز آماری

پس از اتمام کار، داده‌ها مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفتند. داده‌های حاصل ابتدا وارد نرم‌افزار اکسل (نسخهٔ ۲۰۱۶) گردید و در ادامه کنترل و کُدگزاری شدند. آنالیز آماری نیز با نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۶ انجام گرفت. برای بررسی تعادل هاردی-وینبرگ، فراوانیِ آللی و فراوانی‌های ژنوتیپی (هموزیگوت‌ها و هتروزیگوت‌ها) از آزمون کای اسکوئر استفاده شد. همچنین تست آماری برای بررسی ارتباط یا همبستگی بین حضور پلی‌مورفیسم با بیماری آلزایمر و نیز ارتباط با عوامل دموگرافیک موردمطالعه در این پژوهش از آزمون کرامر استفاده شد. در تمامی آنالیزها سطح معنی‌دار بودن یا P-value کوچکتر از ۰/۰۵ درنظر گرفته شد.



شکل ۱- باندهای حاصل از الکتروفورز محصولات Tetra-ARMS PCR در نمونه‌های شمارهٔ ۱۲-۱ (ستون M: مارکر مولکولی ۱۰۰ bp. ستون +: کنترل‌مثبت. ستون -: کنترل‌منفی. ستون ۵، ۷، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱: ژنوتیپ هموزیگوت غالب AA (باند ۵۲۰ bp و باند ۲۶۱ bp). ستون ۴ و ۶: هموزیگوت مغلوب GG (باند ۵۲۰ bp و باند ۳۰۲ bp) و ستون ۱، ۲، ۳ و ۱۲: هتروزیگوت AG (باند ۵۲۰ bp، باند ۲۶۱ bp و باند ۳۰۲ bp).

۳- یافته‌ها

۳-۱- ویژگی‌های دموگرافیک نمونه‌ها

ویژگی‌های دموگرافیک نمونه‌های این پژوهش شامل سن، جنسیت و سابقهٔ خانوادگیِ ابتلا به بیماریِ آلزایمر و نیز درجهٔ بیماری بود. در این آزمایش سن نمونه‌های موردبررسی در بازهٔ ۷۲-۱۰۲ سال با میانگینِ سنیِ ۷۳/۶ ± ۸۷/۴۴ سال بود. از نظر جنسیت نیز ۴۸ زن و ۵۲ مرد در گروه بیمار و کنترل شرکت داشتند. در گروه کنترل یا شاهد نسبت جنسیتیِ زنان و مردان به‌ترتیب ۲۴ و ۲۶ نفر و در گروه بیمار نیز تعداد زنان و مردان به‌ترتیب ۲۸ و ۲۲ نفر بود. در مورد سابقهٔ بیماری در خانواده، نمونه‌ها با سابقه یا بدونِ سابقهٔ بیماریِ آلزایمر در خانوادهٔ خود بودند که در این مطالعه در کل افراد به‌ترتیب ۶۱ درصد بدونِ سابقه و ۳۹ درصد دارای سابقهٔ خانوادگی بودند. همچنین از نظر شدت بیماری در گروه ۵۰ نفریِ بیمارانِ مبتلا به آلزایمر درجه‌های مختلفِ بیماری به‌صورتِ خفیف، شدید و پیشرفته با نسبت‌های ۴۴، ۵۲ و ۴ درصد مشاهده گردید.

۳-۲- نتایج ژنوتایپینگ با واکنش Tetra-ARMS PCR

محصولات حاصل از Tetra-ARMS PCR بر روی ژل آگارز الکتروفورز شدند و نوع باندهای حاصل، روی ژل تعیین‌کنندهٔ ژنوتیپ هر نمونه برای جایگاه rs34173062 در ژن *شارپین* بودند. نمونه‌ای از نتایج ژنوتایپینگ در شکل ۱ ارائه شده است.

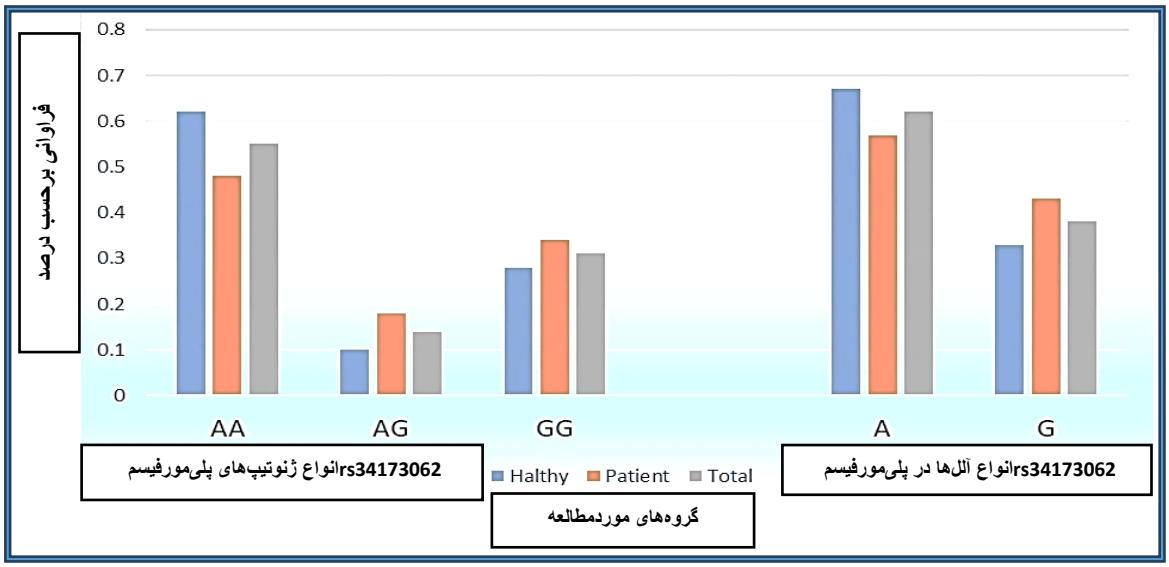
۳-۳- بررسی فراوانی‌های آللی، ژنوتیپی و تست تعادل هاردی-وینبرگ در پلی‌مورفیسم rs34173062

در کلِ جمعیت موردمطالعه، فراوانیِ ژنوتیپ‌های AA، AG و GG به‌ترتیب در ۱۰۰ نفر گروه بیمار و کنترل، ۰/۵۵، ۰/۱۴ و ۰/۳۱ بود. در گروه کنترل (۵۰ نفر) این فراوانی‌ها به‌ترتیب ۰/۶۲، ۰/۱۰ و ۰/۲۸ و نیز در گروه بیمار (۵۰ نفر) به‌ترتیب ۰/۴۸، ۰/۱۸ و ۰/۳۴ بود. فراوانیِ آلل غالب A در گروه کنترل و بیمار به‌ترتیب ۰/۶۸، ۰/۳۲ و فراوانیِ آللِ مغلوب G در گروه کنترل و بیمار به‌ترتیب ۰/۵۸ و ۰/۴۲ بود (نمودار ۱). نتایج آزمون مربع کای نیز نشان داد که بین افراد سالم و بیمار از لحاظ فراوانیِ ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs34173062 در ژن *شارپین* تفاوت معناداری وجود نداشت (P>۰/۰۵). همچنین مقدار کای اسکوئر

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]

محاسبه‌شده برای تست تعادل هاردی-وینبرگ نشان‌دهندهٔ عدم‌وجود تعادل هاردی-وینبرگ در کل جمعیت افراد سالم و گروه بیمار بود (P<۰/۰۰۱). با توجه به‌مقدار P-value محاسبه‌شده برای فراوانی ژنوتایپ‌های مشاهده‌شده و موردانتظار در کل جمعیت و در گروه‌های کنترل و سالم درصورتی‌که P-value کمتر از ۰/۰۵ و یا ۰/۰۱ باشد، نشان از وجود تفاوت معنی‌دار بین فراوانی‌های ژنوتیپیِ مشاهده‌شده و موردانتظار بوده که این امر نشان‌دهندهٔ عدم‌وجود تعادل هاردی-وینبرگ در آن جمعیت می‌باشد. همچنین این پژوهش نیز مشاهده شد که هم در کل جمعیت و هم برای گروه بیمار و سالم مقادیر P-value از ۰/۰۱ کوچکتر به‌دست آمده است. بنابراین می‌توان با اطمینان ۹۹ درصد مطرح نمود که در این گروه‌ها تعادل هاردی-وینبرگ برقرار نمی‌باشد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]



نمودار ۱- نمودار فراوانیِ آللی و ژنوتیپی، در سه گروه بیمار، سالم و کل جمعیت (ژنوتیپ هموزیگوت غالب AA، ژنوتیپ هتروزیگوت AG و ژنوتیپ هموزیگوت مغلوب GG است. آلل غالب A و آلل مغلوب G است. گروه سالم با نمودار آبی‌رنگ و گروه بیمار با نمودار نارنجی‌رنگ و کل جمعیت با نمودار خاکستری‌رنگ نشان داده شده است).

۴-۳

- ارتباط پلی‌مورفیسم rs34173062 با عوامل دموگرافیک

در بیماران مبتلا به آلزایمر شدت بیماری مشخص‌شده و ارتباط آن با ژنوتیپ‌ها ارزیابی گردیده است. از افراد بیمار با ژنوتیپ AA تعداد افراد با شدت بیماریِ خفیف، شدید و پیشرفته به‌ترتیب ۹، ۱۴ و ۱ نفر و در ژنوتیپِ AG به‌ترتیب ۵، ۴، صفر و برای ژنوتیپ GG به‌ترتیب ۸، ۸ و ۱ نفر بود. نتایج آزمون کای اسکوئر نیز با توجه به‌مقدار محاسبه‌شده برای آن غیرمعنی‌دار بود (P=۱/۴۱). بنابراین ارتباط معنی‌داری بین شدت بیماری و ژنوتیپ افراد بیمار مشاهده نشد. آزمون کای اسکوئر نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین گروه‌های سنی و ژنوتیپ افراد برای جایگاه موردبررسی وجود داشت (P=۰/۰۲۹). در این مورد ضریب همبستگی کرامر محاسبه‌شده نیز معنی‌دار بود و مقدار ۰/۲۶ را نشان داد که البته میزان این همبستگی با وجود معنی‌دار بودن به‌مقدار پایین نشان داده شده است. نتایج بررسیِ سابقهٔ خانوادگی ابتلا به آلزایمر در افراد هر دو گروه کنترل و بیمار نشان داد که بین بروز بیماری با سابقهٔ بیماری در هر دو گروه نیز هیچ ارتباط معنی‌داری وجود نداشت (P=۰/۱۵۱). بین جنسیت افراد شرکت‌کننده در این مطالعه با احتمال ابتلا به بیماریِ آلزایمر نیز با اینکه در گروه بیماران تعدادِ زنان بالاتر از مردان بود و در گروه کنترل نسبت جنسیتی به‌هم نزدیک بود، نتایج آزمون کای اسکوئر نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه سالم و بیمار وجود نداشت (P=۰/۴۲۳).

۵- بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در جمعیت موردمطالعه هر سه ژنوتیپِ هموزیگوت غالب (AA)، هتروزیگوت (AG) و هموزیگوت مغلوب (GG) از پلی‌مورفیسم rs34173062 وجود دارد. به عبارت دیگر چندشکلی (پلی‌مورفیسم) در جایگاه موردنظر در جمعیت ایرانیِ موردبررسی وجود داشت. فراوانی این سه ژنوتیپ در گروه بیمار به‌ترتیب ۴۸، ۱۸ و ۳۴ درصد بود و این فراوانی‌ها در گروه کنترل نیز به‌ترتیب ۶۲، ۱۰ و ۲۸ درصد بود. در کلِ جمعیت نیز فراوانی‌های هر سه ژنوتیپِ مشاهده‌شده به‌ترتیب ۵۵، ۱۴ و ۳۱ درصد به‌دست آمد. فراوانی آلل‌های A و G نیز با توجه به فراوانی‌های ژنوتیپی در کلِ جمعیت به‌ترتیب ۶۲ و ۳۸ درصد، در گروه شاهد به‌ترتیب ۶۸ و ۳۲ درصد و در گروه بیمار نیز به‌ترتیب ۵۸ و ۴۲ درصد بود. همچنین نتایج نشان داد که کمترین فراوانیِ ژنوتایپ‌ها به فراوانیِ هتروزیگوت‌ها در گروه کنترل و بیمار اختصاص دارد و به همین علت تفاوت معنی‌داری هم بین آن‌ها مشاهده نشد. نتایج تست تعادل هاردی-وینبرگ نشان داد که در کلِ جمعیت و همچنین در هر دو گروه بیمار و سالم تعادل هاردی-وینبرگ برقرار نمی‌باشد. غیرمعنی‌دار بودن ارتباط به‌خاطر آن است که تفاوت فراوانیِ ژنوتیپ‌ها در دو گروه

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]

به‌هم نزدیک می‌باشند. بنابراین مقدار کای اسکوئر محاسبه‌شده در این حالت (۲/۳۲) غیرمعنی‌دار بود. همچنین میزان ارتباط و همبستگی بین ژنوتیپ‌ها و وضعیت بیماری نیز که با ضریب کرامر اندازه‌گیری شده است ۰/۱۵ به‌دست آمد که مقداری پایین و غیرمعنی‌دار است. نتایج آزمون کای اسکوئر درخصوص ارتباط بین حضور این پلی‌مورفیسم با احتمالِ وقوع بیماریِ آلزایمر نشان داد که ارتباط معنی‌داری از نظر آماری بین نوع ژنوتیپ افراد و بیمار یا سالم بودنِ آن‌ها وجود نداشت (P>۰/۰۵)، به عبارتی ژنوتیپ فرد برای این جایگاه نمی‌تواند پیش‌بینی‌کنندهٔ خوبی برای خطر بروز آلزایمر تلقی گردد. این امر برای عواملی از قبیل سن افراد، جنسیت آن‌ها، شدت بیماری و سابقهٔ وجود بیماری در خانواده نیز بررسی گردید و در بین این عواملِ دموگرافیک، تنها ارتباط معنی‌دار بین سن افراد و ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم موردبررسی نشان داده شد (P>۰/۰۵) و ضریب همبستگیِ کرامر محاسبه‌شده نیز دراین‌خصوص معنی‌دار بود و مقدار ۰/۲۲ را نشان می‌داد که البته این همبستگی با وجودِ معنی‌دار شدن پایین بود اما می‌توانست احتمال ابتلا به آلزایمر را نشان دهد. همچنین با بررسیِ سن افراد موردمطالعه (در هر دو گروه) نتایجِ حاصل نشان داد که در کل نمونه‌ها به‌ترتیب ۳۵، ۴۲ و ۲۳ نفر که در گروه های سنی (به‌ترتیب) ۷۲-۸۲، ۸۲-۹۲ و بالای ۹۲ سال بودند. در گروه شاهد تعداد این افراد نیز به‌ترتیب ۱۲، ۲۲ و ۱۶ نفر و همچنین در گروه بیمار به‌ترتیب ۲۳، ۲۰ و ۷ نفر بودند. با بررسیِ ارتباطِ احتمالِ بروزِ بیماری با سن در دو گروه ارتباط معنی‌داری مشاهده شد (P=۰/۰۲۹). از طرفی ضریب کرامر که نشان‌دهندهٔ همبستگی بین دو متغیر سن و ابتلا به بیماری است، ۰/۲۶۶ ب‌دست آمد که همبستگیِ نسبتاً پایین اما معنی‌داری را نشان داد. همچنین بین سایر عوامل فوق با ژنوتیپِ نمونه‌ها ارتباط معنی‌داری یافت نشد. افراد موردمطالعه در این پژوهش به‌صورت مستقل و بدون وابستگیِ خویشاوندی با انتخاب تصادفی و براساس سن، جنسیت، شدت پیشرفت بیماری و وجود سابقهٔ بیماری در خانواده‌های افرادِ بیمار گزینش شدند. همچنین براساس رضایتمندی برای شرکت در پژوهش و تشخیصِ پزشک متخصص موردبررسی قرار گرفتند، ازاین‌رو امکان دارد درصورتی‌که معیارهای دیگر از قبیلِ خویشاوندیِ نمونه‌ها یا تعلق به قومیت و نژادِ ویژه و یا سکونت در مناطقِ جغرافیاییِ خاص در نمونه‌گیری بین گروهِ کنترل و بیمار اعمال شود، نتایجِ متفاوتی حاصل گردد که توصیه می‌شود در مطالعه‌های بعدی به بررسیِ روابطِ ژنتیکی و فاکتورهای محیطیِ بیشتری در این راستا پرداخته شود، زیرا بیماری آلزایمر از جمله بیماری‌های چندعاملی است و فاکتورهای پیچیده‌ای در بروز و پیشرفتِ آن می‌تواند مؤثر باشد.

در مقایسهٔ نتایج پژوهش حاضر با مطالعه‌های گذشته می‌توان چنین عنوان نمود که در تحقیق‌های Asanomi و همکاران در سال‌های ۲۰۱۹ و ۲۰۲۲، ارتباط معنی‌داری بین حضور پلی‌مورفیسمِ بیان‌شده و سایر پلی‌مورفیسم‌های ژنِ *شارپین* و بسیاری از پلی‌مورفیسم‌های مرتبط با بیماریِ آلزایمر دیررس در جمعیت ژاپن نشان داده شد (۱۱ و ۱۲) که نتایجی متفاوت با نتایجِ پژوهش حاضر نشان داده است و این تفاوت می‌تواند به‌دلیل تفاوتِ حجم نمونه‌ها، نژاد و قومیتِ جمعیت‌های موردبررسی باشد. در تحقیق Yin و همکاران در سال ۲۰۱۹ و مطالعهٔ Desikan و همکاران در سال ۲۰۱۵، دو جایگاه تک‌نوکلئوتیدیِ مؤثر بر آلزایمر شناسایی شد که شامل rs13113697 در نزدیکیِ ژن *HS3ST1* و rs7920721 در نزدیکیِ ژن *ECHDC3* بود (این دو پلی‌مورفیسم تأثیرگذار بر ژنِ *شارپین* گزارش شدند). نتایج آن‌ها نشان‌دهندهٔ تغییر بیانِ معنی‌دار این دو ژن (*HS3ST1* و *ECHDC3*) در مغزِ بیمارانِ مبتلا به آلزایمر نسبت به افراد سالم بود (۱۷ و ۲۳) که این بررسیِ اختصاصی درخصوصِ تغییر بیان‌ژن *شارپین* در پژوهشِ حاضر انجام نگرفته است. در تحقیقاتی دیگر نیز که توسط Soheili-Nezhad و همکاران در سال ۲۰۲۲ در ارتباط با سایر پلی‌مورفیسم‌های جدید در ژن *شارپین* و بیماری آلزایمر انجام گرفته است، احتمال ریسک‌فاکتور بودن این واریانت‌ها و ارتباط معنی‌دار با بیماریِ بیان‌شده مشخص شده است (۱۶).

این پژوهش از نظر جنبهٔ جدید بودن آن که پلی-مورفیسم rs34173062 غیر از پلی‌مورفیسم‌های بررسی‌شده در مطالعهٔ Soheili-Nezhad در جمعیت ایران موردمطالعه قرار گرفت و برخلاف نتایج پلی‌مورفیسم‌های قبلی نتایج معنی‌داری بین حضور پلی‌مورفیسمِ جدیدِ موردبررسی با بیمارانِ ایرانیِ موردمطالعه مشاهده نشده است. نتایج تحقیق Rojas و همکاران در سال ۲۰۱۹ نیز نشان داد که پلی‌مورفیسم‌های متعدد دخیل در ایجاد بیماریِ آلزایمر وجود دارد که آن‌ها پلی‌مورفیسم rs34674752 در ژنِ

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]

شارپین را مطرح نمودند که می‌تواند با بروز بیماریِ آلزایمر مرتبط باشد (۱۳) که با نتایجِ پژوهشِ حاضر مغایرت داشت و می‌تواند به‌دلیل تفاوت حجم و مشخصات بیماران بررسی‌شده در این پژوهش با مطالعهٔ Rojas باشد. در مقایسه با مطالعه‌های گذشته که دراین‌خصوص انجام گرفته است تاکنون گزارشی دربارهٔ وجود ارتباط پلی‌مورفیسم rs34173062در ژنِ *شارپین* و بیماریِ آلزایمر در جمعیتِ ایرانی گزارش نشده و در پژوهشِ حاضر برای اولین‌بار نقش این پلی‌مورفیسم جدید و نادر در بروزِ آلزایمر در جمعیت ایرانی موردبررسی قرار گرفت و نتایجی متفاوت از نتایج تحقیق‌های گذشته که در مورد حضور این پلی‌مورفیسم در سایر جمعیت‌ها انجام گرفته بود نشان داد و این عدم‌شباهت در بررسیِ نقشِ پلی‌مورفیسم rs34173062 در افزایشِ خطر بروز بیماریِ آلزایمر در جمعیت موردمطالعهٔ ایرانی می‌تواند به‌دلیل نادر بودنِ فراوانیِ این پلی‌مورفیسم ژن *شارپین* در مقایسه با سایر پلی‌مورفیسم‌ها در این ژن باشد و تفاوت نژادی و قومیتی بین جمعیت‌های موردمطالعه در تحقیق‌های گذشته و پژوهش حاضر نیز می‌تواند در تفاوتِ نتایج مؤثر باشد. ازسوی‌دیگر بیماری آلزایمر یک بیماریِ چندعاملی است و عوامل محیطی، سبک زندگی و عادت‌های روزانهٔ فردی-خانوادگی و جمعیتی در ابتلا به این بیماری می‌تواند تأثیرگذار باشد. بنابراین نتایج پژوهش در جمعیت ایرانی که از نظر عادت‌های زندگی متفاوت از جمعیت‌های ژاپنی، اروپایی و آمریکایی هستند و از نظر ویژگی‌های جغرافیایی و منطقه‌ای نیز متفاوت از آنان می‌باشند، می‌تواند تفاوت داشته باشند. همچنین تعداد نمونه‌های موردمطالعه و ویژگی‌های دموگرافیک و خانوادگی بیماران و نیز روش و تکنیک‌های بررسیِ نمونه‌ها در این مطالعه‌ها متفاوت بوده است که همهٔ این فاکتورها می‌تواند بر نتایج حاصل از این پژوهش‌ها تأثیرگذار باشد. بنابراین پژوهش حاضر با نتایجی متفاوت از نتایج تحقیق‌های گذشته که در سایر جمعیت‌ها انجام گرفته بود می‌تواند نشانگر عدم‌نقش مؤثر پلی‌مورفیسم rs34173062 در افزایش خطر بروزِ بیماریِ آلزایمر در جمعیت موردمطالعهٔ ایرانی به‌دلیل تفاوتِ نژادی و یا ویژگی‌های محیطی، جغرافیایی، همچنین سبک زندگی و یا تعداد نمونه‌های موردمطالعه باشد، امّا تأیید این نتایج به تحقیق‌ها با تعداد نمونه‌های بیشتر از قومیت‌های متفاوت در جمعیتِ ایرانی نیاز دارد.

۶- نتیجه‌گیری

از نتایج این مطالعه نتیجه‌گیری می‌گردد که بین حضور پلی‌مورفیسم rs34173062 در افزایش خطر بروزِ بیماری آلزایمر در جمعیتِ بیماران ایرانیِ موردمطالعه ارتباط معنی‌داری وجود ندارد و این پلی‌مورفیسم را نمی‌توان به‌عنوان مارکرِ مولکولی در تشخیص، پیش‌آگهی و درمان بیماریِ بیان‌شده برای بیمارانِ ایرانی به‌کار گرفت. البته تحقیق‌های بیشتر و بررسیِ جمعیت‌های بزرگتری از بیمارانِ ایرانی برای تأیید این نتایج توصیه می‌گردد.

۷- ملاحظات اخلاقی

مقالهٔ حاضر مستخرج از پایان‌نامهٔ دانشجوی کارشناسی‌ارشد رشتهٔ ژنتیک خانم فریال پوربابایی با کد اخلاق به شمارهٔ IR.IAU.TNB.REC.1400.081 است.

۸- تشکر و قدردانی

از کلیهٔ مسئولان و اعضای محترم گروه ژنتیک دانشگاه آزاد واحد تهران‌شمال و آزمایشگاه پاسارگاد که در مراحل اجرای این پروژه همکاری و بذل توجه فرمودند سپاسگزاری می‌گردد.

۹- تعارض منافع

ندارد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]

۱۱- منابع

1. Navipour E, Neamatshahi M, Barabadi Z, Neamatshahi M, Keykhsravi A. Epidemiology and Risk Factors of alzheimer's disease in Iran: A systematic review. Iran J Public Health, 2019; 48(12): 2133-39. (full text in Persian)

2. Mirzaei-Fini F, Dowlati MA, Dehghani Ashkezari M. .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 J of Kashan Uni of Med Sci, 2018; 22, 617-23. (full text in Persian)

3. Bellenguez C, Küçükali F, Jansen I, Kleineidam L, Moreno-Grau S, Ami N, et al. New insights into the genetic etiology of alzheimer's disease and related dementias. Natu Gene, 2022; 54: 412–36.

4. Armstrong R. Risk factors for alzheimer's disease. Folia Neuro pathol, 2019; 57 (2): 87-105.

5. Sims R, Hill M, Williams J. The multiplex model of the genetics of alzheimer's disease. Natu neur sci, 2020; 23: 311-22.

6. Trepso W. Risk Factors for Alzheimer's Disease. Sci Insigt, 2020; 32(2): 125-132.

7. Ferreira Silva MV, Loures CG, Vieira Alves LC, Cruz de Souza L, Gomes Borges KB, Gracas Carvalho M. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. J Bio med Sci, 2019; 26(33): 1-11.

8. Perkovic MN, Pivac N. Genetic markers of alzheimer's disease. Front in Psy chi, 2019; 1192: 27-52.

9. Mintun MA, LO AC, Duggan Evans C, Wessels A. M. Donanemab in early alzheimer's disease. New England J Med, 2021; 384: 1691-1704.

10. Sahiner M, Yilmaz AS, Gungor B, Sahiner N. A review on phytotherapeutic approaches in alzheimer's disease. J Funct Bio mat, 2023; 14: 50.

11. Asanomi Y, Shigemizu D, Akiyama Sh, Miyashita A, Mitsumori R, Har N, et al. A functional variant of sharpin confers increased risk of lateonset alzheimer's disease. J Hum Gene, 2022; 67: 203–8.

12. Asanomi Y, Shigemizu D, Miyashita A, Mitsumori R, Mori T, Hara N, et al. A rare functional variant of sharpin attenuates the inflammatory response and associates with increased risk of late-onset alzheimer's disease. Mol Med, 2019; 25(20): 1-9.

13. Rojas DI, Hernández I. Genome-wide association analysis of dementia and its clinical endophenotypes reveal novel loci associated with alzheimer's disease and three causality networks. Alzheimers Dement, 2019; 15(10):1333-47.

14. Park JY, Lee D, Lee JJ, Gim J, Gunasekaran TI, Choi KY, et al. A missense variant in sharpin mediates alzheimer's disease specific brain damages. Transl Psychiatry, 2021; 11: 590.

15. Kamboh MI. Genomics and functional genomics of alzheimer's disease. Neuro therap, 2022; 19: 152–172.

16. Soheili-Nezhad S, Jahanshad N, Guelfi S, Khosrowabadi R, Saykin AJ, Thompson PM, et al. Imaging genomics discovery of a new risk variant for alzheimer's disease in the postsynaptic sharpin gene. Hum Brain Map, 2020; 41:3737–48.

17. Yin J, Feng W, Yuan H, Yuan J, Wu L. Association analysis of polymorphisms in STARD6 and near ECHDC3 in alzheimer's disease patients carrying the apop ε4 allele. Neuro psy dis treat, 2019; 15: 213.

18. Esmaeili Anvar N, Bazazzadegan N, Ohadi M, Kamali K. Association between interleukin 16 gene polymorphisms (rs1131445, rs4072111) and late onset of alzheimer's disease in Iranian patients. Iranian J Age, 2016; 11(1): 64-71.

19. Hampanezhad Y, Khalaj-Kondori M, Khodaei M, Talebi M. Frequency of rs2282649 and rs12285364 polymorphisms in SORL1 gene and their association with alzheimer's disease in Azari population in northwest of Iran. Sci Jl Kurdistan Uni Med Sci, 2020; 24: 46-56. (Full text in Persian)

20. Kim YJ, Paik JW, Kang WS, Kim SK, Lee K. Genetic association of STARD6 polymorphisms with alzheimer's disease in a Korean population. J neuro sci, 2016; 366: 100-1.

21. Bossù P, Ciaramella A, Moro ML, Bellincampi L, Bernardini S, Federici G, et al. Interleukin-18 gene polymorphisms predict risk and outcome of alzheimer's disease. J Neuro surg Psy, 2007: 1-14.

22. Cordeiro Q, Noguti R, Bottino C, Vallad H. Study of association between genetic polymorphisms of phospholipase A2 enzymes and alzheimer's disease. Arq Neuro Psi, 2010; 68(2): 189-193.

23. Desikan RS, Schork AJ, Wang Y, Thompson WK, Dehghan A, Ridker PM, et al. Polygenic overlap between C-reactive protein, plasma lipids, and alzheimer disease. Circul, 2015; 131: 2061- 69.

24. Andrade-Guerrero J, Santiago-Balmaseda A, Jeronimo-Aguilar P, Vargas-Rodríguez I, Cadena-Suárez AR, Sánchez-Garibay C, et al. Alzheimer's disease: An updated overview of Its genetics. Int J Mol Sci, 2023; 24: 3754.

25. Shokrzadeh M, Mohammadpour A. Evaluation of a modified salt-out method for DNA extraction from whole blood lymphocytes: A simple and economical method for gene polymorphism. Pharm Biomed Res, 2018; 4(2): 28-32.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-02-01]