دانشکده پردیس

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ناحیه پروموتری ژن APOE

در بیماران مبتلا به آلزایمر در استان گیلان

از:
مهرناز پورواحدی

استاد راهنما:
دکتر حمید رضا وزیری

شهریور۱۳۹۲

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده پردیس
گروه زیست شناسی
(گرایش ژنتیک)

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ناحیه پروموتری ژن APOE

در بیماران مبتلا به آلزایمر در استان گیلان

از:
مهرناز پورواحدی

استاد راهنما:
دکتر حمید رضا وزیری

استاد مشاور:
دکتر فرزام عجمیان

شهریور ۱۳۹۲

تقدیم به

مهربان فرشتگانی که:

لحظات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه های یکتا و زیبای زندگیم مدیون حضور سبز آن‌هاست؛

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

تقدیر و تشکر

از استاد محترم راهنما آقای دکتر «حمید رضا وزیری» که قبول زحمت نموده وراهنمایی پایان نامه اینجانب را بر عهده گرفته و در طول مدت آموزش و انجام این تحقیق همواره از راهنمایی‌های علمی ایشان بهره گرفته‌ام، سپاس فراوان دارم.

از استاد ارجمند مشاور جناب آقای دکتر «فرزام عجمیان»که در طول این تحقیق با رهنمودهای خود مرادر تکمیل این پایان‌نامه یاری نمودند صمیمانه قدردانی می‌نمایم.

از داوران محترم جناب آقای دکتر فرهاد مشایخی و سرکار خانم دکتر صالحی که زحمت داوری پایان نامه‌ام را برعهده گرفتند، بی نهایت سپاسگزارم.

از سایر اساتید گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان که در دوران تحصیل از وجود علمی آنان بهره‌مند گشتم سپاسگزارم.

از مدیریت و پرسنل محترم بهزیستی رشت، بندر انزلی، لاهیجان که در انجام این پروژه یاری‌ام نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم و آرزوی سلامتی و تندرستی برای یکایک بیمارانی که بدون همکاری آنان انجام تحقیق بر روی پروژه مورد نظر امکان‌پذیر نبود را از خداوند منّان خواستارم.

از دوستان و هم کلاسی‌های گرامی که در طول دوران کار در آزمایشگاه از کمک‌ها و راهنمایی‌های بی دریغ آنان بهره‌مند گشتم تشکر نموده و برای آنان آرزوی موفقیت و توفیق روزافزون در امور مختلف زندگی را دارم.

مهرناز پورواحدی

۱۳۹۲

«فهرست»

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی ---------- د
چکیده انگلیسی ---------- ذ

فصل اول

۱- مقدمه ---------- ۲
۱-۱- آلزایمر ---------- ۲
۱-۲- آناتومی مغز ---------- ۲
۱-۳- نوروپاتولوژی بیماری ---------- ۳
۱-۴- اپیدمیولوژی ---------- ۶
۱-۵- شیوع آلزایمر در زنان ---------- ۶
۱-۶- سبب شناسی ---------- ۷
۱-۷- علایم بیماری ---------- ۸
۱-۸- علل آلزایمر ---------- ۸
۱-۸-۱- علل ژنتیکی مؤثر بر آلزایمر ---------- ۸
۱-۸-۱-۱- ژن APP ---------- ۸
۱-۸-۱-۲- ژن پرسنیلین۱ ---------- ۱۱
۱-۸-۱-۳- ژن پرسنیلین۲ ---------- ۱۱
۱-۸-۱-۴- ژن APOE ---------- ۱۳
۱-۸-۲- علل غیرژنتیکی بیماری آلزایمر ---------- ۱۳
۱-۸-۲-۱- دیابت ---------- ۱۳
۱-۸-۲-۲- افزایش کلسترول ---------- ۱۴
۱-۸-۲-۳- رژیم غذایی ---------- ۱۴
۱-۸-۲-۴- آسیب به سر ---------- ۱۵
۱-۸-۲-۵- بیماری‌های قلبی عروقی ---------- ۱۵
۱-۸-۲-۶- عوامل محیطی ---------- ۱۵
۱-۸-۲-۷- عوامل ایمونولوژیکی ---------- ۱۷
۱-۸-۲-۸- سطح تحصیلات و وضعیت اقتصادی ـ اجتماعی ---------- ۱۸
۱-۹- روش‌های تشخیص ---------- ۱۹
۱-۱۰- درمان بیماری آلزایمر ---------- ۲۰
۱-۱۱- پلی مورفیسم ---------- ۲۱
۱-۱۱-۱- تعریف پلی مورفیسم ژنتیکی ---------- ۲۱
۱-۱۱-۲- منابع پلی مورفیسم ---------- ۲۲
۱-۱۱-۳- تفاوت پلی مورفیسم و جهش ژنتیکی ---------- ۲۲
۱-۱۱-۴- پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ---------- ۲۲

۱-۱۱-۵- انواع SNP ---- ۲۲
۱-۱۱-۶- کاربردهای اطلاعات حاصل از پلی مورفیسم ژنی ---- ۲۳
۱-۱۲- ژن آپولیپو پروتئین E ---- ۲۳
۱-۱۲-۱- ساختمان ژن ---- ۲۳
۱-۱۲-۲- ساختمان پروتئین APOE ---- ۲۴
۱-۱۲-۳- عملکرد APOE ---- ۲۵
۱-۱۲-۴- پلی مورفیسم شایع در ژن APOE ---- ۲۹
۱-۱۳- اهداف پایان نامه ---- ۳۰

فصل دوم

۲-۱- مواد و لوازم مورد نیاز ---- ۳۲
۲-۱-۱-مواد و لوازم مورد نیازجهت نمونه‌گیری ---- ۳۲
۲-۱-۲- مواد و وسایل مورد نیازجهت استخراج DNA از لوکوسیت‌های خون محیطی ---- ۳۲
۲-۱-۳- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده ---- ۳۳
۲-۱-۴- مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ---- ۳۳
۲-۱-۵- مواد و لوازم مورد استفاده در الکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل آگارز ---- ۳۴
۲-۱-۶-آماده سازی بافرها و محلول‌ها ---- ۳۵
۲-۲- لیست دستگاه‌ها و تجهیزاتی که در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می‌گیرند ---- ۳۵
۲-۳- روش کار ---- ۳۶
۲-۳-۱- نمونه گیری ---- ۳۶
۲-۳-۲-استخراج DNA ژنومی از خون ---- ۳۶
۲-۳-۳- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده به کمک ژل آگارز ---- ۳۷
۲-۳-۴- انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ---- ۳۸
۲-۳-۴-۱- واکنش Allele-Specific PCR برای تعین ژنوتیپ APOE -219G/T ---- ۳۹
۲-۳-۴-۲- چرخه حرارتی PCR ژن APOE ---- ۴۲
۲-۳-۴-۳- پروفایل حرارتی واکنش PCR ژن APOE ---- ۴۳
۲-۴- آنالیز آماری ---- ۴۴

فصل سوم

۳-نتایج ---- ۴۶
۳-۱- خصوصیات نمونه‌ها ---- ۴۶
۳-۲- نتایج بررسی‌های مولکولی ---- ۴۶
۳-۲-۱- نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۱٪ ---- ۴۶
۳-۲-۲- نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ---- ۴۷
۳-۲-۲-۱- بررسی کیفیت قطعات DNA استخراج شده توسط ژل آگارز۲٪ ---- ۴۷
۳-۴ نتایج آنالیز آماری APOE ---- ۴۹
۳-۴-۱- بررسی فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی 219G/T- ---- ۴۹

۳-۴-۲-بررسی فراوانی آللی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی -219 G/T ---------- ۵۰

فصل چهارم

۴-۱ بحث و نتیجه گیری ---------- ۵۳
پیشنهادات برای تحقیقات آینده ---------- ۵۸
منابع ---------- ۵۹
پیوست‌ها ---------- ۷۰

«فهرست شکل‌ها»

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- آناتومی مغز ---------- ۳
شکل ۱-۲- روند تشکیل پلاک‌های بتا آمیلوئید ---------- ۴
شکل ۱-۳- عملکرد پروتئین تا (Tau) و تأثیر آن بر پایداری میکروبوتول‌ها ---------- ۵
شکل ۱-۴- بررسی شیوع بیماری آلزایمر بر حسب سن و جنس ---------- ۷
شکل ۱-۵- نحوه پردازش پروتئین APP ---------- ۱۰
شکل ۱-۶- اجزای تشکیل دهنده‌کمپلکس گاما سکرتاز ---------- ۱۲
شکل ۱-۷- پاسخ ایمنی ذاتی به آمیلوئید بتا در بیماری آلزایمر ---------- ۱۸
شکل ۱-۸- نمایی از شکل ساختار ژن APOE ---------- ۲۲
شکل ۱-۹- نمایی از شکل ساختار پروتئین APOE ---------- ۲۴
شکل ۱-۱۰- عملکرد گیرنده‌ی LRP1 و APP در پاک سازی و تولید آمیلوئید بتا ---------- ۲۶
شکل ۱-۱۱- تأثیر پروتئین رلین و ایزوفرم‌های APOE بر روی رسپتورAPOE ---------- ۲۷
شکل ۱-۱۲- عملکرد APOE در تولید و تجمع پپتید بتا آمیلوئید ---------- ۲۸
شکل ۱-۱۳- نمایی از شکل پلی مورفیسم در ناحیه کدکننده ژن APOE ---------- ۳۰
شکل ۲-۱- انطباق(Alignment) آغازگرهایAPOE-F و APOE-R با نرم افزار Oligo 7 ---------- ۴۰
شکل ۲-۲- انطباق آغازگرهای مورد استفاده با توالی ژن انسان وAPOEتوالی حاصل از تکثیر ژن ---------- ۴۱
شکل ۲-۳- پروفایل حرارتی واکنش PCR ژنAPOE مربوط به تکثیر قطعه 336 bp ---------- ۴۳
شکل ۲-۴- پروفایل حرارتی واکنش PCR ژنAPOE مربوط به تکثیر قطعه 159 bp ---------- ۴۳
شکل ۳-۱- تصویر مربوط به ژل آگارز ۱٪ DNA ژنومی استخراج شده از لوکوسیت‌های خون محیطی ---------- ۴۷
شکل۳-۲- محصولات AS-PCR برای ژن APOE بر روی ژل آگارز ۲٪ با رنگ‌آمیزی اتیدیوم برماید ---------- ۴۸
شکل ۳-۳- نموداردرصد فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده ژن APOE در دوگروه سالم و بیمار ---------- ۴۹
شکل ۳-۴- نمودار درصد فراوانی آللی ژن APOE در دو گروه کنترل و بیمار ---------- ۵۰

«فهرست جداول»

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- مواد مصرفی در واکنش PCR ژن مورد بررسی ---- ۳۹
جدول ۲-۲- فهرست آغازگرهای مورد استفاده برای AS-PCR در ژن APOE ---- ۴۱
جدول ۲-۳-برنامه زمانی و حرارتی واکنش PCR برای ژن APOE با استفاده از پرایمرهای F1 و R1 ---- ۴۲
جدول ۲-۴- برنامه زمانی و حرارتی واکنش PCR برای ژن APOE با استفاده از پرایمرهای F2 و R2 ---- ۴۲
جدول ۳-۱- خصوصیات نمونه‌ها ---- ۴۶
جدول ۳-۲- فراوانی ژنوتیپی در ژن APOE ---- ۴۹
جدول ۳-۳- فراوانی آللی در ژن APOE ---- ۵۰

چکیده

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ناحیه پروموتری ژنAPOE در بیماران مبتلا به آلزایمر در استان گیلان

مهرناز پورواحدی

آلزایمر یک بیماری چند عاملی و پیشرونده و مخرب نورونی می‌باشد که مناطق خاصی از مغز را تحت تاثیر قرار می‌دهد. از ویژگی‌های اصلی نوروپاتولوژی بیماری، انباشتگی خارج سلولی پروتئین بتا آمیلوئید و تشکیل درون سلولی کلاف‌های نوروفیبریلاری می‌باشد. زمانی که بیماری قبل از سن ۶۵ سالگی رخ دهد، آلزایمر زودرس یا پیش از پیری تلقی می‌شود و در صورتی که بعد از سن ۶۵ سالگی اتفاق بیفتد، آلزایمر دیررس یا وابسته به پیری نامیده می‌شود. تا به امروز ارتباط تنها ۴ ژن به طور واضح با بیماری آلزایمر مشخص گردیده است، که تنها یکی از آن‌ها به نام ژن آپولیپوپروتئین E (APOE) با فرم رایج دیررس آلزایمر مرتبط است. APOE در انتقال چربی‌ها نقش داشته و به واسطه جذب لیپوپروتئین، به گیرنده‌های سطح سلول متصل می‌شود. APOE از مهم‌ترین آپولیپوپروتئین سنتز شده در مغز می‌باشد. چهارSNP شایع (۱۱۳+، ۲۱۹-، ۴۲۷-، ۴۹۱-) در ناحیه غیرکد کننده APOE وجود دارد. جابجایی تک نوکلئوتیدی در ۴۹۱- و ۲۱۹- بر فعالیت پروموتر و تمایل اتصال فاکتورهای رونویسی تاثیرگذار می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی مورفیسم در موقعیت ۲۱۹- ناحیه پروموتر ژن APOE در بیماران مبتلا به آلزایمر می‌باشد. این مطالعه شامل ۵۰ فرد بیمار مبتلا به آلزایمر و ۵۰ فرد سالم از سالمندان استان گیلان می‌باشد و یک رضایت نامه اگاهانه از تمامی افراد گرفته شد. ابتدا DNA ژنومی از لکوسیت‌های خون محیطی استخراج گردید. فراوانی ژنوتیپی و آللی در بیماران و افراد کنترل با استفاده از روش Allel-Specific PCR انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Medcalc (ویرایش ۱۲) صورت گرفت. در رابطه با APOE فراوانی ژنوتیپ‌های GT،GG، TT در افراد بیمار به ترتیب برابر ۴۸٪، ۳۸٪، ۱۴٪ و در افراد سالم برابر با ۳۶٪، ۵۶٪، ۸٪ بود. ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم APOE و آلزایمر نشان داده نشد (P>0.05). فراوانی آللی (T,G) ژن مزبور در افراد بیمار به ترتیب ۶۷٪ و ۳۳٪ و در افراد سالم برابر با ۶۴٪ و ۳۶٪ بود. در نتیجه، بین واریانت APOE و بیماری آلزایمر نیز در این جمعیت هیچ ارتباطی دیده نشد. اگرچه برای مشخص شدن نقش پلی مورفیسم APOE در این بیماری به تحقیقات بیشتری نیاز است.

کلیدواژه: پلی مورفیسم ژنتیکی، APOE، ناحیه پروموتری، آلزایمر

Abstract

The association of a polymorphism in the promoter region of APOE gene in Alzheimer's patients from Guilan province

Mehrnaz Pourvahedi

Alzheimer's disease (AD) is a multifactorial and progressive neurodegenerative disease that affects specific areas of the brain. The main neuropathological features are extracellular deposition of amyloid β-protein (Aβ) and intracellular formation of neurofibrillary tangles. When the disease occurs before the age of 65, it is called early onset or presenile AD while; late onset or senile AD occurs after the age of 65. To date, only four genes have been unambiguously associated with AD, of which only Apolipoprotein E gene (APOE), is associated with the common, late-onset form of AD. APOE is involved in lipid transport and binds to cell surface receptors to mediate lipoprotein uptake. APOE is the major apolipoprotein synthesized in the brain . There are four common single nucleotide polymorphisms at -491, -427, -219 and +113 in the non- coding region of APOE gene. The base substitutions at -491 and -219 were found to alter promoter activity and transcription factor binding affinity. The aim of this study was to evaluate the association of polymorphism in the promoter region of APOE gene (-219G/T) in Alzheimer's patients. This study included 50 patients and 50 healthy volunteers from the elderly hospitals in Guilan province. An informed consent letter was taken from all cases. Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes. Genotypes and allele frequencies were determined in patients and controls using allele-specific PCR. Statistical analysis was performed using the MedCalc program for Windows version 12. The prevalence of genotype frequencies of the ApoE (GG, GT, TT) were 48%, 38% and 14%, respectively, in Alzheimer subject, whiles in healthy volunteers were 36%, 56% and 8%, respectively There was no significant association between APOE polymorphism and AD ($P>0.05$). The prevalence of allele frequencies of the gene (G and T) were 67% and 33%, respectively in the patients, whiles in control subjects were 64% and 36%. Inconclusion, there was no evidence that APOE allelic (G,T) variants were associated with AD in this population. However, further research is required to clarify role of the ApoE polymorphism in the disease.

Keywords: Gene polymorphism, ApoE, promoter region, Alzheimer.

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

۱-۱- آلزایمر

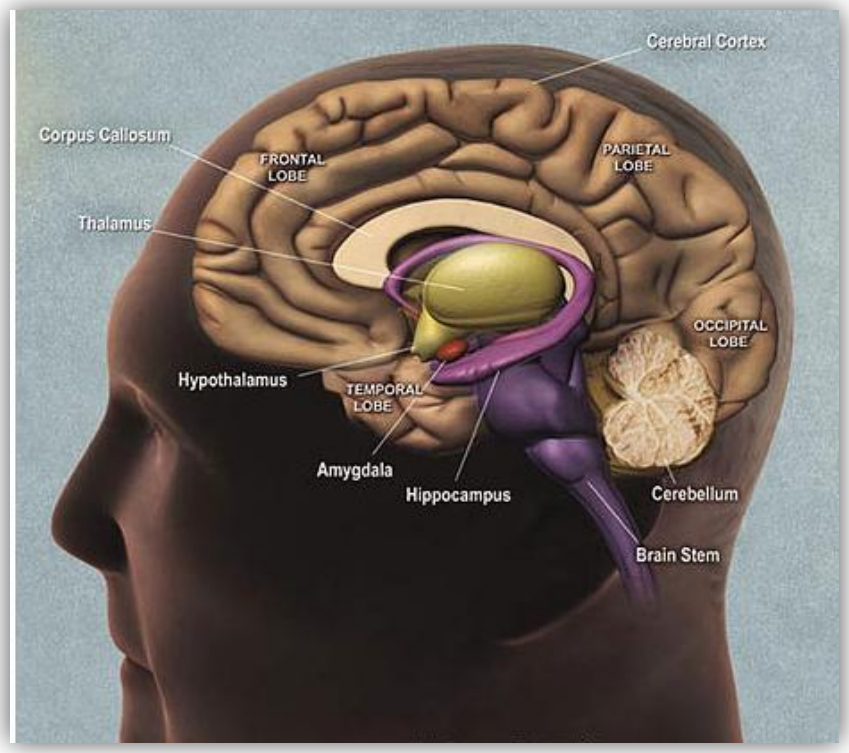
یک بیماری چندعاملی[1] و پیشرونده و مخرب نورونی[2] می‌باشد (Sharma *et al.*, 2012). این بیماری با کاهش نورون‌ها و سیناپس‌ها در مناطقی از مغز تشخیص داده می‌شود (Zilkova *et al.*, 2006). بیماری آلزایمر اولین بار توسط یک نوروپاتولوژیست و روانشناس آلمانی به نام «آلوئیس آلزایمر» در سال ۱۹۰۶ توصیف شد (مرور شده در Berchtold and Cotman, 1998). با توجه به درگیری مغز، ابتدا به آناتومی مغز پرداخته می‌شود.

۱-۲- آناتومی مغز

مغز، پیچیده‌ترین عضو بدن انسان است که در سر و سیستم عصبی مرکزی واقع شده است. مغز انسان شامل دو نیمکره می‌باشد که اساسا متقارن هستند و شکاف عمیق سراسری جلو به عقب آن‌ها را از هم جدا می‌کند. بخش قشری مغز[3]، خارجی ترین بافت عصبی مغز را تشکیل می‌دهد و شامل یک لایه ضخیم از بافت عصبی است که بیشتر مغز را مورد پوشش قرار می‌دهد. این قشر از ۴ بخش یا لوب به نام‌های پیشانی[4]، آهیانه‌ای[5]، پس سری[6] و گیجگاهی[7]تشکیل شده است (Bellotti and Pascazio, 2012). لوب گیجگاهی میانی[8]در بخش داخلی لوب گیجگاهی واقع است که مهم‌ترین بخش سیستم لیمبیک می‌باشد. از مهم‌ترین اجزای سیستم لیمبیک هیپوکامپ[9]، آمیگدالا[10] و مناطق قشری احاطه کننده (اینتورینال قشری[11]، پرینال قشری[12]، پاراهیپوکامپ قشری[13]) می‌باشند، که این ساختارها نقش مهمی در یادگیری، حافظه، احساسات ایفا می‌کنند (مرور شده در Barense *et al.*, 2005). هیپوکامپ از اجزای مهم سیستم لیمبیک[14] می‌باشد که نقش مهمی در جهت یابی و تبدیل خاطرات کوتاه مدت به

[1] Multifactorial
[2] Neurodegenerative
[3] Cerebral cortex
[4] Frontal
[5] Parietal
[6] Occipital
[7] Temporal
[8] medial Temporal lobe
[9] Hippocampus
[10] Amygdale
[11] Entorhinal cortex
[12] Perihinal cortex
[13] Parahippocampal cortex
[14] Limbic system

بلندمدت ایفا می‌کند و اینتورینال قشری رابط اصلی بین هیپوکامپ و نئوکورتکس[1] بوده که نقش مهمی در پردازش حافظه دارد. این دو منطقه جزء اولین مناطقی می‌باشند که طی بیماری آلزایمر آسیب پذیر می‌شوند. تصویر مربوط به آناتومی مغز در شکل ۱-۱ قابل مشاهده است (Zilkova *et al.*, 2006).



شکل ۱-۱- آناتومی مغز. قشر مغز از ۴ لوب گیجگاهی ـ پس سری ـ پیشانی ـ آهیانه‌ای تشکیل شده است (برگرفته از Rodgers, 2008).

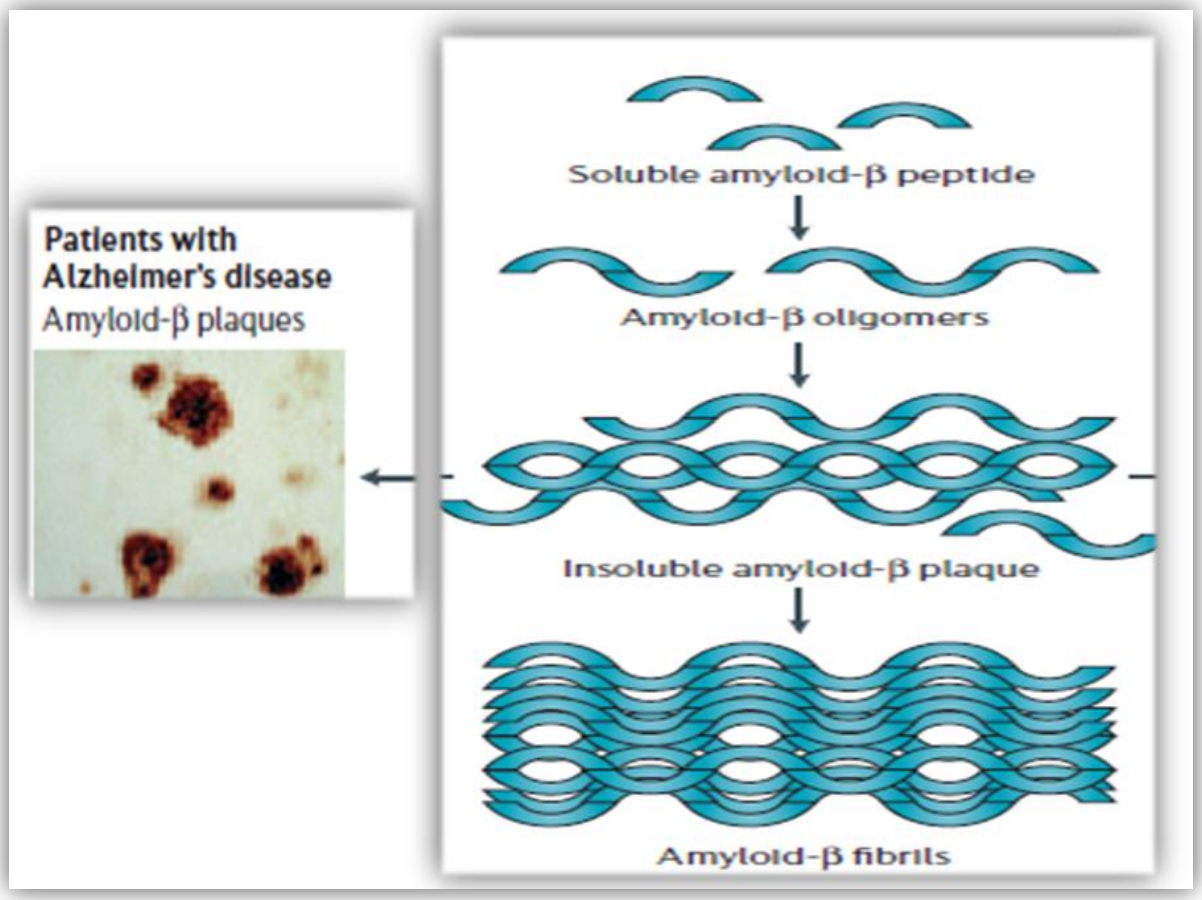
۱-۳- نوروپاتولوژی بیماری

از ویژگی‌های نوروپاتولوژیکی این بیماری می‌توان به انباشتگی پلاک‌های نورونی به نام پلاک‌های بتا آمیلوئیدی و کلاف‌های نوروفیبریلاری که حاصل انباشتگی هیپرفسفریلاسیون پروتئین‌های وابسته به میکروتوبول[2] از قبیل پروتئین تا (Tau) در داخل سلول‌های نورونی می‌باشد، اشاره داشت (Tang and Gershon, 2003).

[1] Neocortex
[2] Microtubule associated protein

پلاک نورونی[1]: پلاک‌های نورونی ساختارهای پروتئینی کروی شکلی می‌باشند که در خارج سلول‌های عصبی تجمع می‌یابند. بخش اصلی تشکیل دهنده‌ی این پلاک‌ها پپتید بتا آمیلوئید می‌باشد که نقش بارزی را در بیماری آلزایمر ایفا می‌کند (Ban *et al.*, 2006).

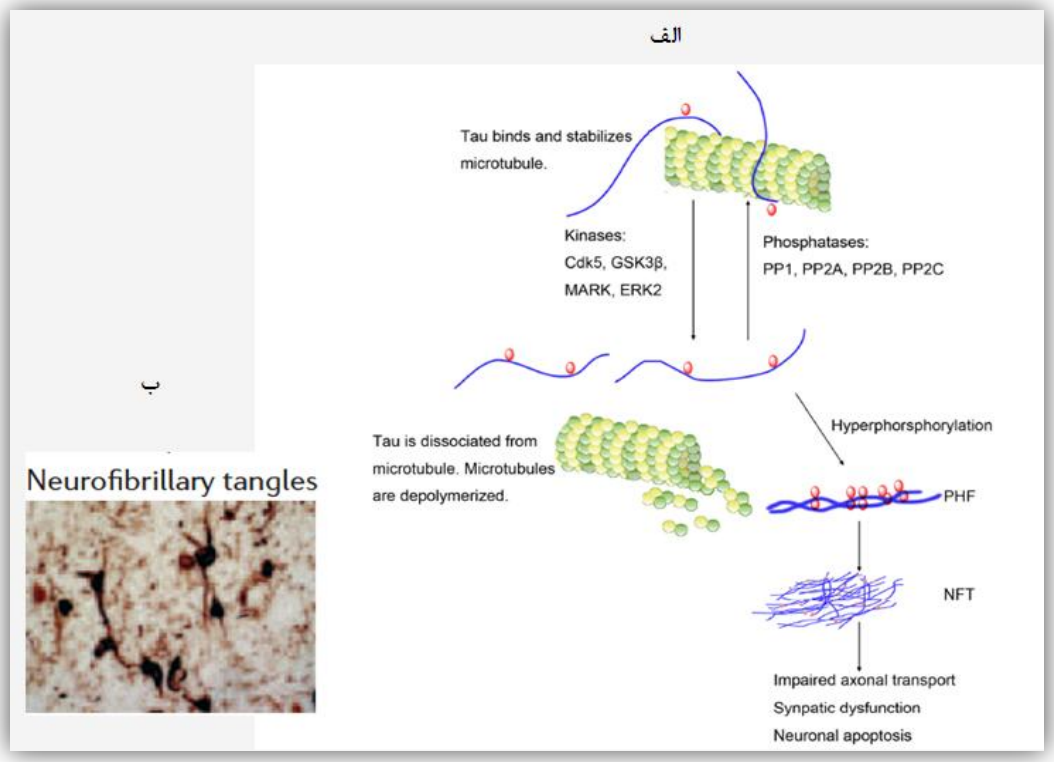
آمیلوئید بتا پپتیدی کوچک با ۴۲-۴۰ اسید آمینه و وزن مولکولی ۴-۳ کیلو دالتون می‌باشد (Edelstein-keshet and Spiros, 2002). در تشکیل پلاک‌های بتا آمیلوئید، پپتیدهای بتا آمیلوئید محلول به شکل الیگومرهایی پلیمریزه می‌شوند که بر اثر پیچ و تاب خوردن الیگومرها فیبرهای β -sheet ایجاد خواهند شد. متراکم شدن فیبرهای نامحلول موجب ایجاد تغییرات پاتولوژیکی در نورون‌های مغز می‌شود. در شکل ۱-۲ نحوه‌ی تشکیل پلاک‌های بتا آمیلوئید قابل مشاهده است (Weiner and Frenkel, 2006).



شکل ۱-۲- روند تشکیل پلاک‌های بتا آمیلوئید. ابتدا الیگومریزاسیون پپتیدهای بتا آمیلوئید صورت گرفته که بر اثر پیچ و تاب خوردن الیگومرها فیبرهای β -sheet ایجاد خواهند شد. متراکم شدن فیبرهای نا محلول موجب ایجاد تغییرات پاتولوژیکی در نورون‌های مغز می‌شود (برگرفته از Weiner and Frenkel, 2006).

[1]Neuritic Plaques

کلاف‌های نوروفیبریلاری[1]: Tau پروتئین وابسته به میکروتوبول و فسفوپروتئینی است که در اکثر بافت‌ها یافت می‌شود ولی بیشترین سطح بیان آن در سیستم عصبی مرکزی و محیطی می‌باشد. پروتئین Tau در آکسون نورون‌ها قرار داشته و با داشتن اثرات متقابل با α و β توبولین باعث پایداری میکروتوبول‌ها می‌شود. در نورون‌ها، میکروتوبول‌ها نقش اساسی و مهمی در حفاظت از ساختار نورونی، عملکرد آکسونی و شکل‌گیری سیناپس‌ها ایفا می‌کنند. فعل و انفعالات بین پروتئین تا (Tau) و توبولین ها باعث القای پلی مریزاسیون و مهار دپلیمریزاسیون سریع توبولین‌ها می‌شود. این فرایند با تنظیم فسفریلاسیون و دفسفریلاسیون پروتئین تا (Tau) صورت می‌گیرد. افزایش در فعالیت کینازها و کاهش فعالیت فسفاتازها سبب هیپرفسفریلاسیون پروتئین تا (Tau) شده که در نتیجه منجر به ته‌نشین شدن فیلامنت‌های مارپیچی شکل (کلاف‌های نوروفیبریلاری) در فضای داخل سلول‌های عصبی خواهد شد. کلاف‌های نوروفیبریلاری به عنوان یک ضایعه میکروسکوپی عمده در بیماری آلزایمر به شمار می‌رود که موجب اختلال در عملکرد آکسونی و شکل پذیری سیناپس‌ها خواهد شد. در شکل ۱-۳ عملکرد پروتئین تا (Tau) و تأثیر آن بر پایداری میکروتوبول‌ها قابل مشاهده می‌باشد (Paula and Guimaras, 2009).



شکل ۱-۳- عملکرد پروتئین تا (Tau) و تأثیر آن بر پایداری میکروبوتول‌ها. الف) اتصال پروتئین تا (Tau) به توبولین‌ها. اتصال Tau به میکروتوبول‌ها توسط سطح فسفریلاسیون آن تنظیم می‌شود (برگرفته از Duan *et al.*, 2012). **ب) تجمع کلاف‌های نوروفیبریلاری در داخل نورون‌ها** (برگرفته از Weiner and Frenkel, 2006).

[1]Neurofibrillary Tangeles

۱-۴- اپیدمیولوژی

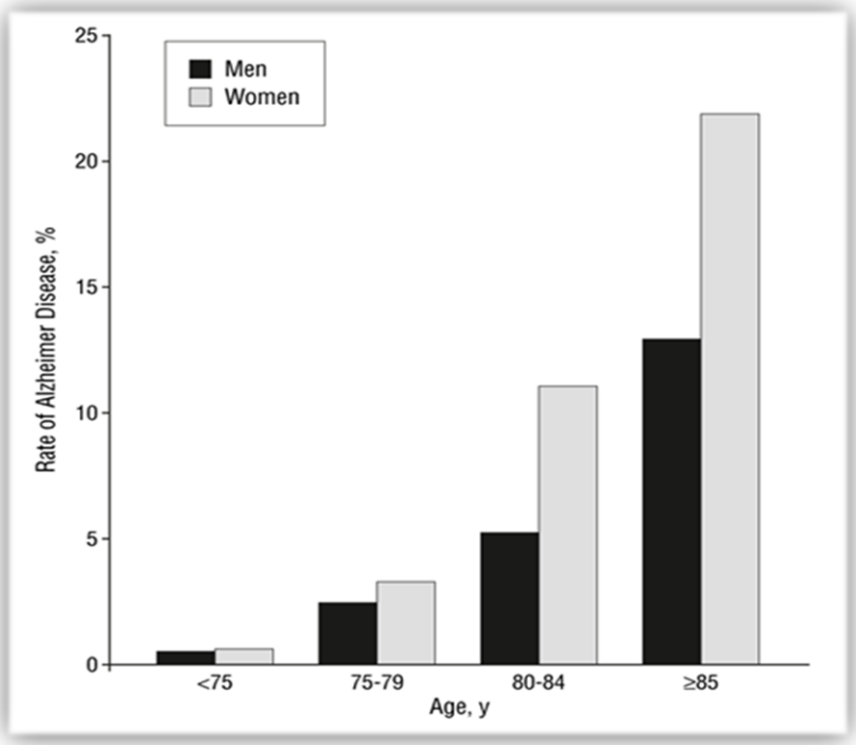
بیماری آلزایمر یکی از شایع‌ترین علل زوال عقل در افراد مسن می‌باشد که $\frac{۱}{۲۰}$ افراد بالای ۶۰ سال و $\frac{۱}{۵}$ افراد بالای ۸۰ سال را تحت تأثیر قرار می‌دهد(Ambrose, 2004). بیشترین میزان وقوع بیماری در کشورهای غربی می‌باشد به طوری که به عنوان ششمین علت منجر به مرگ در ایالت متحده آمریکا گزارش شده است. این بیماری زندگی ۵/۲ میلیون نفر را در آمریکا تحت تأثیر قرار داده است که حدود ۲۰۰/۰۰۰ نفر آن مبتلا به آلزایمر زودرس و ۵ میلیون نفر مبتلا به نوع دیررس این بیماری می‌باشند و همچنین تخمین زده شده است که تا سال ۲۰۵۰، ۱۳/۸ میلیون آمریکایی به آلزایمر مبتلا خواهند شد. تفاوت بین کشورهای غربی و شرقی می‌تواند به علت گوناگونی در شیوه زندگی غربی باشد (Thies and Bleiler, 2013).

۱-۵- شیوع آلزایمر در زنان

یک فاکتور خطر مهم در پیشرفت آلزایمر سن و جنس می‌باشد. شیوع[۱] این بیماری در زنان بیشتر از مردان است و این به سادگی نمی‌تواند به طول عمر بیشتر زنان در مقابل مردان نسبت داده شود. در شکل ۱-۴ بررسی شیوع بیماری آلزایمر بر حسب سن و جنس نشان داده شده است. در این زمینه مورد قابل توجه نقش میتوکندری در بیماری‌زایی[۲] آلزایمر است. میتوکندری‌ها اندامک‌های درون سلولی‌اند که در تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن[۳]نقش دارند (Vina and Lloret, 2010). رادیکال‌های آزاد گونه‌های شیمیایی هستند که دارای یک الکترون جفت نشده در اوربیتال اتمی خود می‌باشند و به علت داشتن الکترون جفت نشده بسیار واکنش پذیر بوده و در تلاشند که با یک الکترون آزاد دیگر جفت شده که در نتیجه آن، رادیکال آزاد دیگری را تولید نمایند. رادیکال آزاد تولیدشده در اکثر موارد ناپایدار است و می‌تواند با مولکول‌های دیگر واکنش داده و تولید رادیکال آزاد کند. بنابراین یک واکنش زنجیره‌ای از رادیکال آزاد رخ خواهد داد که جزء واکنش‌های مخرب می‌باشد. در مقابل انواع مختلفی از آنتی اکسیدان‌ها نظیر کاتالاز ـ سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز و ویتامین‌های A، C، E وجود دارند که سطح ناکافی این آنتی اکسیدان‌ها و یا مهار این آنزیم‌ها سبب ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب و مرگ سلول می‌شود (Gemma *et al.*, 2007). در مورد نقش رادیکال‌های آزاد در بیماری آلزایمر می‌توان به این نکته اشاره داشت که پپتیدهای بتا آمیلوئید باعث افزایش شکل‌گیری گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن می‌شوند که در نهایت این رادیکال‌ها سبب ایجاد یک مکانیزم شامل آزادسازی سیتوکروم C و ایجاد مسیر آپاپتوز[۴] نورونی خواهند شد. به نظر می‌رسد که زنان جوان در برابر سمّیت میتوکندری محافظت می‌شوند که علت آن تنظیم

[1]Prevalence
[2] Pathogenesis
[3]Reactive Oxygen Species (ROS)
[4] Apoptosis(Programmed Cell Death)

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی است که در زنان جوان اتفاق افتاده و حضور هورمون استروژن در آن نقش دارد. هورمون استروژن بیان آنزیم‌های آنتی اکسیدان را افزایش داده و باعث کاهش استرس اکسیداتیو و محافظت در مقابل سمّیت بتا آمیلوئید می‌شود. پس در نتیجه میزان سیگنال‌های آپاپتوتیک[1] و ابتلا به این بیماری در زنان جوان و آقایان بسیار پایین‌تر از زنان مسن بوده است (Vina *et al.*, 2007).



شکل ۱-۴- بررسی شیوع بیماری آلزایمر بر حسب سن و جنس (برگرفته از Gatz *et al.*, 2006).

۱-۶- سبب شناسی[2]

بیماری آلزایمر بر اساس سن شروع بیماری به ۲ نوع زودرس و دیررس طبقه بندی می‌شود.

آلزایمر زودرس[3]: در نوع زودرس بیماری شروع علایم بالینی قبل از سن ۶۵ سالگی می‌باشد که به آن آلزایمر پیش از پیری[4] گفته می‌شود. بیشتر از نوع وراثتی بوده و الگوی توارث اتوزومال غالب[5] دارند و ژن‌های دخیل در نوع زودرس بیماری پرسنیلین ۱، پرسنیلین ۲، APP می‌باشند.

[1] Apoptotic signals
[2] Etioligy
[3] Early onset Alzheimer
[4] Presenile Alzheimer
[5] Autosomal dominant

آلزایمر دیررس[1]: در نوع دیررس این بیماری شروع علایم بالینی بعد از سن ۶۵ سالگی می‌باشد که به آن آلزایمر وابسته به پیری[2] گویند. الگوی توارث آن واضح نیست و شواهد نشان می‌دهند آلزایمر یک بیماری چندعاملی بوده که نتیجه بروز جهش‌ها در ژن‌های چندگانه بوده، اغلب با عوامل محیطی مزدوج شده‌اند. بسیاری از شواهد ژنتیکی نشان می‌دهند که ژن APOE به عنوان عامل خطر برای نوع دیررس تک گیر یا وراثتی این بیماری نقش ایفا می‌کند (Yokes, 2007).

۱-۷- علایم بیماری

علایم بیماری آلزایمر از علایم خفیف از دست دادن حافظه تا دمانس بسیار شدید پیشرفت می‌کند. این بیماری توسط ۳ گروه از علایم تشخیص داده می‌شود.

علایم آلزایمر خفیف: از دست دادن حافظه، پریشانی و دستپاچگی در محیط‌های ناآشنا، تغییرات خلق و خوی و شخصیتی، افزایش اضطراب.

علایم آلزایمر متوسط: مشکلات زبانی، مشکل در شناسایی چهره‌های آشنا، زودرنجی، افسردگی، افکار هذیانی، مشکلات ادراکی ـ حرکتی (کاهش هماهنگی در حرکات اندام‌ها)

علایم آلزایمر شدید: قادرنبودن به برقراری ارتباط، از دست دادن وزن، عفونت‌های پوستی، اشکال در بلع غذا، ناله و زاری، خواب آلودگی، بی اختیاری ادرار و مدفوع، که در نهایت منجر به مرگ خواهد شد (Rogers and Lasprilla, 2006).

۱-۸- علل آلزایمر

آلزایمر با علل غیر ژنتیکی و ژنتیکی در ارتباط می‌باشد که در ادامه به آن اشاره خواهد شد.

۱-۸-۱- علل ژنتیکی مؤثر بر آلزایمر عبارتند از:

۱-۸-۱-۱- ژن APP: یکی از ژن‌های دخیل در آلزایمر زودرس پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید[3] می‌باشد. این ژن بر کروموزوم ۲۱(21q21) واقع بوده و دارای ۱۸ اگزون و اندازه‌ای حدودا ۲۴۰kb می‌باشد که در بیشتر بافت‌ها و ارگان‌ها از جمله سیستم عصبی مرکزی بیان می‌شود (Zheng and Koo, 2006). پردازش متناوب در APP mRNA منجر به ایجاد ایزوفرم‌های مختلف APP با تعداد آمینواسیدهای متفاوت می‌شود. مهم‌ترین ایزوفرم‌های APP شامل APP695، APP751، APP770 می‌باشد (مرور شده در Sisodia *et al.*, 1993). ایزوفرم‌های APP751 و APP770 در بخش خارج سلولی خود

[1]Late onset Alzheimer
[2]Senile Alzheimer
[3]Amyloid precursor protein (APP)