

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

Mirzaii-Fini F¹, Dowlati MA^{2*}, Dehghani-Ashkezari M¹, Kouchaki-Nasrabadi E³

1- Medical Biotechnology Research Center, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, I. R. Iran.

2- Anatomical Sciences Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

3- Department of Neurology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received: 2018/08/21 | Accepted: 2018/10/17

Abstract:

Background: Alzheimer's disease is the most common cause of dementia in the elderly and the genetic and environmental factors interfere with its creation. The *BDNF* gene is responsible for producing a brain-derived neuronal factor. In this disease, the valine66methionine polymorphism and nucleotide changes of 196 (G>A) *BDNF* are genetic risk factors. This polymorphism has not been investigated in patients with Alzheimer's disease in Iran. This study aimed to provide appropriate information on the prognosis of the disease and the ability to get it.

Materials and Methods: In this case-control study, 73 patients with Alzheimer's disease and 100 healthy controls were evaluated. Blood samples were taken from the subjects and DNA was extracted. After quantitative and qualitative DNA analysis, PCR-RFLP was performed and the results of both groups were analyzed and compared.

Results: Fourteen patients and seven controls had polymorphisms of *BDNF* gene. Fifty-nine patients had normal allele, 8 patients with heterozygote allele and 6 patients had methionine/methionine allele. In the controls, 93 patients had normal allele, 5 with heterozygote allele and 2 had methionine/methionine allele.

Conclusion: The findings of this study indicate that the increase in valine/methionine polymorphism in the *BDNF* gene in Alzheimer's patients compared to the control group can express the role of this polymorphism in this disease. Also, patients with this polymorphism had a worse clinical status than patients without this polymorphism. Therefore, evaluation of this polymorphism can provide appropriate information about the patient's condition.

Keywords: Alzheimer's disease, *BDNF* gene, Polymorphism, Valine/methionine

* Corresponding Author.

Email: dr_dovlati@yahoo.com

Tel: 0098 913 261 4802

Fax: 0098 315 546 7977

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2019; Vol. 22, No 6, Pages 617-623

Please cite this article as: Mirzaii-Fini F, Dowlati MA, Dehghani-Ashkezari M, Kouchaki-Nasrabadi 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* 2019; 22(6): 617-23.

بررسی ارتباط پلی مورفیسم Val/Met ژن BDNF با بروز بیماری در بیماران آلزایمری و مقایسه آن با افراد سالمند سالم در ایران

فاطمه میرزایی فینی^۱، محمد علی دولتی^{۲*}، محمود دهقانی اشکذری^۳، ابراهیم کوچکی نصرآبادی^۴

خلاصه:

سابقه و هدف: آلزایمر شایع ترین علت زوال عقل در سالمندان بوده و عوامل ژنتیکی و محیطی در ایجاد آن دخالت دارند. در آلزایمر تغییر نوکلئوتیدی (G>A) یا پلی مورفیسم والین-۶۶-متیونین ژن فاکتور نورونزایی مشتق شده از مغز (BDNF) ریسک فاکتور می-باشد. در ایران بررسی این پلی مورفیسم در بیماران آلزایمری صورت نگرفته و شاید این مطالعه بتواند در زمینه پیش آگهی بیماری و استعداد ابتلا به آن اطلاعات مناسبی را فراهم کند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی ۷۳ نفر بیمار مبتلا به آلزایمر و ۱۰۰ نفر به عنوان گروه کنترل سالم بررسی شدند. از افراد مذکور خونگیری به عمل آمده و DNA استخراج گردید. پس از بررسی کمی و کیفی DNA آزمایش PCR-RFLP انجام گردیده و نتایج هر دو گروه با هم مقایسه شد.

نتایج: تعداد ۱۴ نفر از بیماران و ۷ نفر از گروه کنترل دارای پلی مورفیسم ژن BDNF بودند. در بیماران، تعداد افراد دارای آلل نرمال ۵۹ نفر و افراد هتروزیگوت ۸ نفر و افراد دارای آلل متیونین/متیونین ۶ نفر بودند. در گروه کنترل، تعداد افراد نرمال ۹۳ نفر و افراد هتروزیگوت ۵ نفر و افراد دارای آلل متیونین/متیونین ۲ نفر بودند.

نتیجه گیری: افزایش تجمع پلی مورفیسم والین/متیونین ژن BDNF در بیماران آلزایمری نسبت به کنترل می تواند نقش این پلی مورفیسم را بیان نماید. از نظر بالینی نیز بیماران دارای پلی مورفیسم مذکور وضعیت بالینی نامناسب تری در مقایسه با بیماران فاقد آن داشتند. بنابراین ارزیابی وجود این پلی مورفیسم می تواند اطلاعات مناسبی را از وضعیت بیماری ارائه نماید.

واژگان کلیدی: بیماری آلزایمر، ژن BDNF، پلی مورفیسم، والین/متیونین

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۹۷، صفحات ۶۲۳-۶۱۷

مقدمه

بیماری آلزایمر (Alzheimer's disease; AD) نوعی بیماری از بین برنده سلول های عصبی بوده و مهم ترین عامل اختلال تحلیل عصبی در بالغین است. این بیماری با ازدست دادن تدریجی و پیش رونده آگاهی و حافظه خود را نشان می دهد و متداول ترین شکل جنون دوره میان سالی و پیری است. در حال حاضر، شیوع بیماری در حدود ۱/۵ درصد در بین افراد میان سال کشورهای توسعه یافته است [۱]. بر طبق اطلاعات انجمن آلزایمر ایران آمار دقیقی از مبتلایان به آلزایمر در ایران وجود ندارد و احتمال می رود حدود ۵۰۰ هزار نفر در ایران به آلزایمر مبتلا باشند [۲].

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، یزد، ایران

^۲ مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

^۳ استادیار، مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، یزد، ایران

^۴ دانشیار، گروه نورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات علوم تشریح

تلفن: ۰۹۱۳۲۶۱۴۸۰۲ | دورنویس: ۰۳۱۵۵۴۶۷۹۷۷

پست الکترونیک: dr_dovlati@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۳۰ | تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۷/۲۵

تابلو پاتولوژیک AD با تشکیل پلاک های بتا آمیلوئید در قسمت های مختلف مغز همراه می باشد. اگرچه در AD عموماً اختلال در ماده خاکستری مغز وجود دارد، اما مشکلات ماده سفید مغز نیز در آن گزارش شده است. در بروز بیماری آلزایمر عوامل متعدد ژنتیکی دخیل می باشند. ژن های مربوط به پروتئین پیش ساز آمیلوئید (APP) و ژن های پرسنیلین ۱ و ۲ و آپولیپوپروتئین E از جمله ژن های شناخته شده اند و موتاسیون در این سه ژن باعث ایجاد فرم غالب و زودرس بیماری آلزایمر می شود. از جمله عوامل ژنتیکی شناخته شده دیگر در بیماری آلزایمر عملکرد ژن فاکتور نورونزایی مشتق شده از مغز (BDNF) می باشد [۱]. ژن BDNF مسئول تولید فاکتور نورونزایی مشتق شده از مغز می باشد. این فاکتور از خانواده نوروتروپین ها بوده و باعث گسترش شبکه عصبی می شود. BDNF نقش مهمی در تکامل نورون ها و نگه داری تراکنش آن ها با هم در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی دارد [۳]. این ژن از نظر جایگاه کروموزومی روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱۱ بوده، در ناحیه P14.1 کد شده و دارای ۹ اگزون می باشد [۴]. تحقیقات نشان داده است که بیان این ژن یک فاکتور ضروری برای رشد آکسونی بوده و قطع بیان آن باعث اختلال در راه رفتن و ایستادن و ایجاد حرکات ناهماهنگ در

Hin1 III (یا آنزیم *NlaIII*) قابل شناسایی می‌باشد و همان‌طور که در شکل شماره ۱ (الف و ب) مشاهده می‌گردد، محل شناسایی آنزیم *Hin1 II* توالی *CATG* بوده و محل برش آن نوکلئوتید *G* توالی مذکور می‌باشد که در واقع نوکلئوتید شماره ۱۹۶ ژن *BDNF* خواهد بود. چنانچه نوکلئوتید *G* تبدیل به نوکلئوتید *A* شود، توسط آنزیم مذکور برش می‌خورد. از آنجایی که بررسی پلی-مورفیسم ژن مذکور در جمعیت آلزایمری در ایران در هیچ مطالعه-ای تاکنون صورت نگرفته، به نظر می‌رسد این مطالعه ضروری بوده و بتواند اطلاعاتی از پیش‌آگهی بیماری و استعداد ابتلا به آن را در اختیار پزشکان قرار دهد. همچنین، بررسی فاکتورهای ایجاد خطر در پیش‌بینی ابتلا به آلزایمر در افراد دارای سابقه فامیلی یکی از مواردی است که ضرورت تحقیق را ایجاب می‌کند.



شکل شماره ۱- الف: آل A برش با آنزیم، ب: آل G، عدم برش با آنزیم

بدون فنل (رسوب الکلی) یا روش دستی DNA استخراج گردید و سپس نمونه‌های DNA استخراج شده بیماران با دستگاه Biophotometer ساخت شرکت Eppendorf آلمان مورد ارزیابی کمی قرار گرفت. همچنین، با انجام الکتروفورز ژل آگاروز کیفیت DNA مورد ارزیابی قرار گرفت. برای بررسی چندریختی ($G>A$) در ژن *BDNF* از روش PCR_RFLP استفاده گردید. برای این کار ابتدا پرایمرهای مناسب جهت تکثیر قطعه مورد نظر دارای چندریختی مذکور در ژن *BDNF* با استفاده مطالعات قبلی [۱۱] و همچنین با استفاده از نرم‌افزار BLAST موجود در سایت NCBI انتخاب گردیدند (جدول شماره ۱) تا کاملاً برای این ژن اختصاصی باشند [۱۲]. سپس، جهت تایید و بررسی طول قطعات تکثیر شده توسط PCR، محصول حاصل از تکثیر روی ژل آگاروز ۲ درصد الکتروفورز شد و اندازه قطعه تکثیر شده ۳۴۳ جفت بازی تعیین گردید که همان قطعه مورد انتظار بود (شکل شماره ۲). برای انجام آزمایش RFLP و بررسی وجود چندریختی $G>A$ در محصولات تکثیر شده از آنزیم *Hin1 II* یا *NlaIII* ساخت شرکت Thermo scientific با Lot. Number 00350199 استفاده گردید. ابتدا آنزیم

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی ۷۳ نفر بیمار ایرانی مبتلا به آلزایمر بررسی شدند. نمونه‌گیری خون از بیماران پس از مشاوره و اخذ رضایت‌مندی از طریق سرپرست بیمار به عمل آمد. تشخیص بیماری این بیماران براساس معیارهای تشخیصی DSM-IV-IR [۹] و NINCDS-ADRDA [۱۰] توسط نورولوژیست باتجربه مورد تأیید قرار گرفت. این معیارهای تشخیصی به‌طور خلاصه شامل معاینات عصبی، آزمون‌های نوروفیزیولوژی و تصاویر مغزی است. تعداد ۱۰۰ نفر به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند که همگی غیرخویشاوند بوده و بالای ۶۵ سال سن داشتند؛ این افراد هیچ‌گونه سابقه شخصی و خانوادگی جنون ازجمله بیماری آلزایمر یا اختلال تخریب‌کننده عصبی نداشتند و برای اطمینان از وضعیت ذهنی، پس از انجام آزمون ۳۰ نمره‌ای MMSE، افراد واجد نمره بالای ۲۸ به مطالعه وارد شدند. در ضمن گروه شاهد از نظر سن و جنس با گروه بیمار هم‌خوان بودند. از بیماران و افراد کنترل در محل آزمایشگاه ولیعصر شهرستان کاشان نمونه‌گیری به‌عمل آمد. از نمونه‌های خون بیماران که روی ضد انعقاد EDTA گرفته شده بود، با روش فنل کلروفرم

جدول شماره ۳- پروتکل انجام PCR ژن *BDNF*

مقدار	اجزای واکنش
۱ میکرولیتر	DNA استخراج شده
۰/۷ میکرولیتر	پرایمر F
۰/۷ میکرولیتر	پرایمر R
۱۰/۱ میکرولیتر	آب مقطر
۱۲/۵ میکرولیتر	مستر میکس (2X) ^۱
۲۵ میکرولیتر	حجم نهایی واکنش

^۱ غلظت مستر میکس مصرفی ۲ برابر نرمال بود

جدول شماره ۴- برنامه نهایی انجام آزمایش PCR جهت ژن

<i>BDNF</i>			
تعداد سیکل	زمان (ثانیه)	دما (درجه سلسیوس)	مرحله PCR
۱	۶۰۰	۹۵	دنا تورا سیون اولیه DNA
۵۰	۴۵	۶۳/۵	دما ی اتصال پرایمرها
۱	۱۸۰	۷۲	طول شدن رشته
۱	۱۸۰	۷۲	طول شدن نهایی



شکل شماره ۲- بررسی طول قطعات تکثیر شده در کنار DNA Ladder 50: طول قطعه در نمونه های ۱ تا ۶ که محصول PCR هستند ۳۴۳ جفت باز می باشد.



شکل شماره ۳- الکتروفورز ژل آگاروز محصول PCR پس از مواجهه با آنزیم *HinI II* در کنار DNA Ladder 50bp. آلل G دو قطعه و آلل A سه قطعه ایجاد کرده است.

با بافر B19 به میزان ۱ به ۹ رقیق شده و سپس طبق جدول زمانی و دمایی شماره ۲ محصولات PCR با آنزیم مذکور مجاور گردید. سپس، بر اساس جداول شماره ۳ و ۴ پروتکل و برنامه PCR اجرا گردید. به منظور ارزیابی وضعیت برش محصولات PCR طبق شکل شماره ۳ روی ژل آگاروز ۲ درصد در کنار DNA Ladder 50bp الکتروفورز انجام گردید. بعد از بررسی تک تک افراد از نظر ژنوتیپ، داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. فراوانی ۳ حالت هموزیگوت سالم، هتروزیگوت و هموزیگوت جهش یافته در دو گروه سالم و شاهد برای این چند شکلی ها با استفاده از آزمون آماری مجذور کای مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده با سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ مقایسه شد.

نتایج

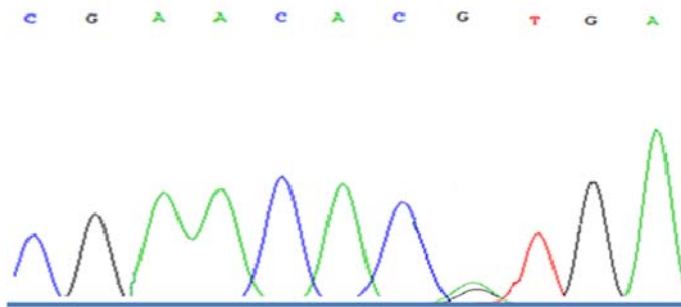
با استفاده از هضم آنزیمی نمونه های دارای آلل G یک برش خورده و دو قطعه ۲۳۹ و ۹۴ جفت بازی تولید می کند که نمایانگر آلل Val/Val (دو آلل دارای والین) خواهد بود و نمونه های دارای آلل A با دو برش آنزیمی سه قطعه ۷۱، ۱۶۴ و ۹۴ جفت بازی تولید خواهند کرد که نمایانگر آلل هتروزیگوت Val/Met یا آلل هموزیگوت Met/Met خواهد بود. شکل شماره ۳ این موضوع را روی ژل الکتروفورز نشان می دهد. برای جداسازی افراد دارای آلل Val/Met و Met/Met همان طور که در شکل شماره ۴ مشاهده می شود، از آزمایش تعیین توالی استفاده گردید تا هتروزیگوت یا هموزیگوت بودن فرد مشخص گردد.

جدول شماره ۱- پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام PCR ژن

<i>BDNF</i>	
Forward Primer (F)	5'ACTCTGGAGAGCGTGAATGG 3'
Reverse Primer (R)	5'CAGTCTTTTGTCTGCCGCC 3'

جدول شماره ۲- پروتکل نحوه مجاور کردن آنزیم *HinI II* با

محصول PCR جهت برش آنزیمی	
مقدار	اجزای واکنش
۷ میکرولیتر	محصول PCR
۲ میکرولیتر	بافر G
۱۵ میکرولیتر	آب مقطر
۱ میکرولیتر	آنزیم <i>HinI II</i> رقیق شده
۲۵ میکرولیتر	حجم کل
۲۷ درجه سلسیوس	دمای انکوباسیون
یک ساعت	مدت زمان انکوباسون



شکل شماره ۴- تغییر نوکلئوتید ۱۹۶ و تبدیل G به A که به صورت هتروزیگوت صورت گرفته است. در این شکل آلل Val/Met یا آلل G/A که با آنزیم دو برش می خورد، تعیین توالی شده است.

داده شده است و طبق آنالیز آماری انجام شده، تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین هردو گروه وجود دارد. همان‌طور که در جدول شماره ۷ مشاهده می‌شود، محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SNP Stat نشان می‌دهد که توزیع آللی ژن *BDNF* تابع قانون هاردی واینبرگ بوده و در واقع از نظر آماری به این مفهوم می‌باشد که جامعه مورد مطالعه در تعادل هاردی واینبرگ قرار داشته است. طبق جدول شماره ۸ محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SNP Stat و SPSS نشان می‌دهد با $P < 0.05$ تفاوت معنی‌داری بین گروه بیماران و گروه کنترل در نوع آلل ژن *BDNF* وجود دارد. همان‌طور که در جدول شماره ۸ دیده می‌شود، مدل توارث برای چند شکلی ژن *BDNF* می‌تواند غالب، مغلوب و یا هم‌غالب باشد و در واقع نشان‌گر این موضوع می‌باشد که بین حالت هتروزیگوت (G/A) در این ژن با هموزیگوت (G/G) تفاوت وجود دارد.

همان‌طور که در جدول شماره ۵ مشاهده می‌گردد، از مجموع بیماران مورد بررسی ۳۳ نفر زن و ۴۰ نفر را مرد تشکیل می‌دادند. تعداد افراد بیمار دارای آلل Val/Val که DNA آن‌ها برش نخورده بود، ۵۹ نفر (۲۷ نفر زن و ۳۲ نفر مرد) بودند و مجموع افراد دارای تغییر نوکلئوتیدی که DNA آن‌ها با آنزیم *HinIII* برش خورد، ۱۴ نفر بودند. از این تعداد، ۸ نفر هتروزیگوت دارای آلل والین/متیونین شناسایی شد که شامل ۴ نفر زن و ۴ نفر مرد بودند. همچنین، تعداد افراد هموزیگوت دارای آلل متیونین/ متیونین ۶ نفر شامل ۲ زن و ۴ مرد بودند. در گروه کنترل که جمعا ۱۰۰ نفر (۴۳ نفر زن و ۵۷ نفر مرد) بودند. تعداد افراد دارای آلل Val/Val ۹۳ نفر و تعداد افراد دارای آلل Val/Met ۵ نفر بودند که شامل ۲ زن و ۳ مرد می‌شدند. تعداد افراد دارای آلل Met/Met در گروه کنترل ۲ نفر مرد بودند. در جدول شماره ۶ مقایسه فراوانی آللی در گروه کنترل و بیماران با $P < 0.05$ نشان

جدول شماره ۵- مقایسه نتایج بررسی ژن *BDNF* در بیماران و گروه کنترل پس از برش با آنزیم *HinII*

جنس	تعداد	آلل Val/Val (آلل G/G)	آلل Val/Met (آلل G/A)	آلل Met/Met (آلل A/A)
گروه بیماران				
زن	۳۳	۲۷ (۸۱/۸۸)	۴ (۱۲/۱۲)	۲ (۶)
مرد	۴۰	۳۲ (۸۰)	۴ (۱۰)	۴ (۱۰)
گروه کنترل سالم				
زن	۴۳	۴۱ (۹۵/۳۵)	۲ (۴/۶۵)	۰
مرد	۵۷	۵۲ (۹۱/۲۴)	۳ (۵/۲۶)	۲ (۳/۵)

جدول شماره ۷- بررسی توزیع آللی در تعادل هاردی واینبرگ:

وضعیت	هموزیگوت (G/G)	هتروزیگوت (G/A)	هموزیگوت (A/A)	P
بیمار	۵۹ (۸۰/۸)	۸ (۱۱)	۶ (۸/۲)	۰/۰۱۴
سالم	۹۳ (۹۳)	۵ (۵)	۲ (۲)	۰/۰۱۵

توزیع داده‌ها از تعادل تبعیت دارد.

جدول شماره ۶- مقایسه نتایج بررسی ژن *BDNF* در بیماران و گروه

کنترل پس از برش با آنزیم در نرم‌افزار SNP Stat	بیمار (تعداد آلل)	سالم (تعداد آلل)	P
آلل	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
G	۱۲۶ (۸۶)	۹۱ (۹۲)	۰/۲۸
A	۲۰ (۱۴)	۹ (۸)	۰/۰۳۶

نتایج با $P < 0.05$ قابل اعتماد می‌باشند.

جدول شماره ۸- مقایسه آماری بیماران و گروه کنترل برای ژن *BDNF*

مدل توارث	ژنوتیپ	بیمار تعداد(درصد)	سالم تعداد(درصد)	P
هم‌غالب	G/G	۵۹(۸۰/۸)	۹۳(۹۳)	۰/۰۴۴
	G/A	۸(۱۱)	۵(۵)	
	A/A	۶(۸/۲)	۲(۲)	
غالب	G/G	۵۹(۸۰/۸)	۹۳(۹۳)	۰/۰۱۶
	G/A- A/A	۱۴(۱۹/۲)	۷(۷)	
مغلوب	G/G- G/A	۶۷(۹۱/۸)	۹۸(۹۸)	۰/۰۵۴
	A/A	۶(۸/۲)	۲(۲)	

نتایج مقایسه آلی در دو گروه با $P < ۰/۰۵$ قابل اعتماد می‌باشد.

بحث

در این مطالعه ارزیابی چندشکلی Val/66Met روی ۷۳ بیمار آلزایمری در کنار گروه کنترل انجام گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که تعداد ۱۴ نفر از بیماران و ۷ نفر از افراد گروه کنترل دارای این چند شکلی بودند که با $P < ۰/۰۵$ تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده شد. در سال ۱۹۹۸ Tessarollo و همکاران [۱۳] و همچنین در سال ۲۰۰۱ Huang و همکاران [۱۴] نقش بسیار حیاتی فاکتور نوروتروپیک مشتق شده از مغز را در تکامل سیستم عصبی و قلبی عروقی ثابت نمودند. در سال ۲۰۰۲ Ventriglia و همکاران نقش پلی‌مورفیسم Val/66Met را در بیماری آلزایمر مهم دانستند [۱۵]. مطالعه حاضر نیز تایید کننده نقش جهش ژن مذکور در بیماری آلزایمر می‌باشد. Momose و همکاران نیز در سال ۲۰۰۲ به اهمیت این پلی‌مورفیسم در بیماری پارکینسون اشاره نموده‌اند [۱۶]. مطالعات گسترده دیگر نیز پلی‌مورفیسم فوق را در بیماری‌های عصبی روانی به‌ویژه در کاهش حافظه دارای اهمیت دانسته‌اند [۸]. تجمع پلی‌مورفیسم مذکور در بیماران در مقایسه با گروه کنترل در پژوهش حاضر نیز هم‌سو با مطالعات انجام شده دیگران به نقش احتمالی آن در بیماری آلزایمر اشاره دارد. در همین راستا، در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۵ توسط Bian و همکاران انجام گردید، به نقش محافظت کننده نوکلئوتید G در موقعیت ۱۹۶ ژن *BDNF* یعنی آلل Val/Val در برابر ابتلا به آلزایمر در زنان مورد بررسی اشاره شده، درحالی‌که ارتباط پلی‌مورفیسم Val/Met را با این بیماری مورد سوال قرار داده است [۱۷]. این موضوع به راحتی در پژوهش حاضر قابل مشاهده می‌باشد؛ به‌طوری‌که در گروه بیماران ۸ نفر دارای چندشکلی Val/Met و ۶ نفر دارای چندشکلی Met/Met بودند و بررسی بالینی که در این بیماران انجام گردید، نشان داد این افراد از نظر وضعیت حافظه نسبت به سایرین مشکل بیشتری داشتند. این یافته‌ها با مطالعه Nagata و همکاران در سال ۲۰۱۲ که به نقش مهم

پلی‌مورفیسم ژن *BDNF* در بیماری آلزایمر اشاره شده، مطابقت دارد [۱۸]. همچنین، در مطالعه Weinstein و همکاران در سال ۲۰۱۴ که روی میزان سرمی *BDNF* در افراد مختلف طی ۱۰ سال انجام گرفت و ریسک فاکتورهای متفاوتی را مورد بررسی قرار داد، وجود پلی‌مورفیسم Val/Met در ژن *BDNF* با مقادیر پایین سرمی این فاکتور نوروتروپیک همراه بود؛ ایشان مقادیر بالای سرمی *BDNF* را برای ابتلا به آلزایمر محافظت کننده دانستند [۱۹]. بنابراین، جهش مذکور با توجه به اثری که روی بیان ژن دارد، می‌تواند تاثیر بالینی قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. Ward و همکاران در سال ۲۰۱۴ وجود هم‌زمان آلل 4 ε APOE و پلی‌مورفیسم ژن *BDNF* را جهت ابتلا به آلزایمر در افراد بزرگ‌سال لازم دانستند [۲۰]. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد افزایش تجمع پلی‌مورفیسم Val/Met در ژن *BDNF* در بیماران آلزایمری مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل می‌تواند به نقش این پلی‌مورفیسم اشاره داشته باشد و این یافته با مطالعه Ye و همکاران مطابقت دارد [۲۱]. همچنین، در بررسی انجام شده توسط Cohen-Cory و همکاران در سال ۲۰۱۵، نقش پلی‌مورفیسم Val/Met در ژن *BDNF* در بیماری آلزایمر در افراد نژاد آسیایی با اهمیت معرفی شده است [۶]. شناخت مبنای ژنتیکی و اساس مولکولی بیماری‌ها در بسیاری از موارد به تشخیص زودهنگام بیماری و جلوگیری از پیشرفت آن کمک خواهد نمود. در بیماری آلزایمر تاکنون عملکرد ژن‌های مختلفی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر و همچنین مطالعات سایرین اهمیت چندشکلی‌های ژن *BDNF* در بیماری آلزایمر روشن شده است. لذا، در صورت به‌دست آمدن نتایج قابل قبول در بررسی‌های گسترده و کارآزمایی‌های بالینی از تغییر نوکلئوتیدی مذکور می‌توان در تشخیص استعداد ابتلا به بیماری، بررسی پیش‌آگهی بیماری و اجرای پروتکل درمانی به‌ویژه تنظیم دوز دارو استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی-ژنتیک می‌باشد. در این راستا از تمامی همکاران آزمایشگاه ولیعصر کاشان، مرکز توان‌بخشی سالمندان میعاد کاشان و مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی دانشگاه اشکذر یزد و سایر دوستانی که ما را در اجرای این پژوهش یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

References:

- [1] Berwick DM. From the Centers for Disease Control and Prevention. Public health and aging: trends in aging-United States and worldwide. *JAMA* 2003; 289(11): 1371-73.
- [2] Sabayan B, Bonneux L. Dementia in Iran: how soon it becomes late. *Arch Iran Med* 2011; 14(4): 290-1.
- [3] Genecard human database of BDNF. Available at: www.Genecards.org.
- [4] Mikko Hiltunen, Amolecular genetic study of factors involved in Alzheimer's disease, in Department of Clinical Genetics, Chromosome and DNA Laboratory Kuopio University Hospital. Kuopio University: Kuopio; 2001. p. 1-63.
- [5] Ji H, Dai D, Wang Y, Jiang D, Zhou X, Lin P, et al. Association of BDNF and BCHE with Alzheimer's disease: Meta-analysis based on 56 genetic case-control studies of 12,563 cases and 12,622 controls. *Exp Ther Med* 2015; 9(5): 1831-40.
- [6] Cohen-Cory S, Kidane AH, Shirkey NJ, Marshak S. Brain-derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. *Dev Neurobiol* 2010; 70(5): 271-88.
- [7] Ikegame T, Bundo M, Murata Y, Kasai K, Kato T, Iwamoto K. DNA methylation of the BDNF gene and its relevance to psychiatric disorders. *J Hum Genet* 2013; 58(7): 434-8.
- [8] Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, et al. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 2003; 112(2): 257-69.
- [9] American Psychiatric Association: Diagnostic and statistical. manual of mental disorders. 4th ed. 1995.
- [10] 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(7): 939-44.
- [11] Suriyaprom K, Tungtrongchitr R, Thawnasom K. Measurement of the levels of leptin, BDNF associated with polymorphisms LEP G2548A, LEPR Gln223Arg and BDNF Val66Met in Thai with metabolic syndrome. *Diabetol Metab Syndr* 2014; 6(1): 6.
- [12] The Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) finds regions of local similarity between sequences. Available at: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. 2017.
- [13] Tessarollo L. Pleiotropic functions of neurotrophins in development. *Cytokine Growth Factor Rev* 1998; 9(2): 125-37.
- [14] Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 677-736.
- [15] Ventriglia M, Bocchio Chiavetto L, Benussi L, Binetti G, Zanetti O, Riva MA, et al. Association between the BDNF 196 A/G polymorphism and sporadic Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 2002; 7(2): 136-7.
- [16] Momose Y, Murata M, Kobayashi K, Tachikawa M, Nakabayashi Y, Kanazawa I, et al. Association studies of multiple candidate genes for Parkinson's disease using single nucleotide polymorphisms. *Ann Neurol* 2002; 51(1): 133-6.
- [17] Bian JT, Zhang JW, Zhang ZX, Zhao HL. Association analysis of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene 196 A/G polymorphism with Alzheimer's disease (AD) in mainland Chinese. *Neurosci Lett* 2005; 387(1): 11-6.
- [18] Nagata T, Shinagawa S, Nukariya K, Yamada H, Nakayama K. Association between BDNF polymorphism (Val66Met) and executive function in patients with amnesic mild cognitive impairment or mild Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2012; 33(4): 266-72.
- [19] Weinstein G, Beiser AS, Choi SH, Preis SR, Chen TC, Vorges D, Au R, Pikula A, Wolf PA, DeStefano AL, Vasan RS, Seshadri S. Serum brain-derived neurotrophic factor and the risk for dementia: the Framingham Heart Study. *JAMA Neurol* 2014; 71(1): 55-61.
- [20] Ward DD, Summers MJ, Saunders NL, Janssen P, Stuart KE, Vickers JC. APOE and BDNF Val66Met polymorphisms combine to influence episodic memory function in older adults. *Behav Brain Res* 2014; 271: 309-15.
- [21] Ye Q, Bai F, Zhang Z. Shared Genetic Risk Factors for Late-Life Depression and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 2016; 52(1): 1-155.