دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیستم، شماره ۵، صفحه ۴۴۷ – ۴۳۷ (آذر و دی ۱۳۹۶)

Iran South Med J 2017; 20(5): 437-447

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

مطالعه ارتباط بین پلی‌مورفیسم گیرنده نیکوتینی ژن آلفا ۷ (CHRNA7) با پیشرفت اسکیزوفرنی در جمعیت ایران

شادی حقیقت (MSc)[۱]، رسول زحمتکش رودسری (PhD)[۲*]، رضا رنجبر (PhD)[۳]

[۱] گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
[۳] مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۲/۱۱- پذیرش مقاله: ۹۶/۲/۱۸)

Archive of SID

چکیده

زمینه: SCZ (اسکیزوفرنی)، اختلال شایع روانی و ذهنی، که آسیب‌پذیری ژنتیکی مشترک را نشان می‌دهد. ژن گیرنده نیکوتینی رسپتورعصبی آلفا ۷ (CHRNA۷)، بر روی کروموزوم q ۱۴-۱۳q-۱۵ قرار گرفته است. پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی بسیاری (SNPs) در اگزون، اینترون‌ها و نواحی پروموتر درون ژن CHRNA۷ وجود دارد. هدف از این تحقیق، مطالعه پلی‌مورفیسم گیرنده نیکوتینی ژن آلفا ۷ (CHRNA۷) با پیشرفت اسکیزوفرنی در جمعیت ایران است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه موردی- شاهدی شامل، ۱۰۰ بیمار مبتلا به اسکیزوفرنی و ۱۰۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل، بررسی شدند. DNA ژنومی از نمونه خون استخراج گردید. ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش PCR-RFLP شناسایی شدند. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰ انجام شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های CC، TC؛TT در بیماران به ترتیب ۱۸، ۴۲ و ۴۰ درصد و در افراد سالم به ترتیب ۱۴، ۴۵ و ۴۱ درصد بود. آنالیز آماری نشان داد که در کل نمونه‌ها (مرد و زن) ارتباط معناداری بین پلی‌مورفیسم ژن CHRNA۷ و بیماری اسکیزوفرنی وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: حضور آلل T در ژن CHRNA۷ در موقعیت rs۹۰۴۹۴۲ به عنوان عامل خطر برای بیماری اسکیزوفرنی در نظر گرفته نمی‌شود. بنابراین، مطالعات ژنتیکی با بررسی جهش‌های تک نوکلئوتیدی و تعداد نمونه‌های بیشتر که جمعیت‌های متفاوتی را شامل گردد، مورد نیاز می‌باشد.

واژگان کلیدی: اسکیزوفرنی، پلی‌مورفیسم، CHRNA۷، PCR-RFLP

* تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی
Email: rasoul130@yahoo.com

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

مقدمه

اسکیزوفرنی یک بیماری روانی حاد است که باعث تغییر در افکار و رفتار و فرایند های فکری و پاسخگویی عاطفی ضعیف در فرد بیمار می‌شود. این بیماری معمولاً خود را به صورت توهم شنیداری, توهم‌های جنون‌آمیز، تکلم و تفکر آشفته نشان می‌دهد. شروع علایم بیماری در نوجوانی می‌باشد (۱). واژه "اسکیزو" به معنی گسیختگی است و "فرنی" نیز به ذهن و روان اشاره دارد (۲). اسکیزوفرنی اغلب به اختلال گسیختگی شخصیتی اشاره دارد، زیرا افکار و احساسات فرد مبتلا به این عارضه دارای ارتباط منطقی و معمول با یکدیگر نیستند (۲). فرد مبتلا قادر نیست تخیلات خود را از واقعیت افتراق دهد و بنابراین رفتاری غیرمنطقی و غیرعادی دارد. طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی، اسکیزوفرنی اختلال شدیدی است که بیشتر در پایان دورهٔ نوجوانی و اوایل جوانی شروع می‌شود در ایالات متحدهٔ آمریکا میزان شیوع اسکیزوفرنی در طول عمر حدود ۱ درصد است (۳). در ایران نیز آمار مبتلایان به سایکوزها به ویژه اسکیزوفرنی مشابه سایر کشورها بوده و حدود ۱ درصد جمعیت عمومی می‌باشد شیوع اسکیزوفرنی در مرد و زن برابر است اما در مردها شروع بیماری زودتر است. اسکیزوفرنی غالباً در مردان در سنین پایین‌تر، معمولاً در اواخر نوجوانی یا اوایل بیست سالگی، بروز می‌کند و عموماً در زنان در سنین بیست یا اوایل سی‌سالگی بروز می‌کند (۴). شایع‌ترین سن ظهور آن بین ۱۵ تا ۳۵ سالگی است، کودکان بعد از ۵ سالگی ممکن است دچار اسکیزوفرنی شوند امّا بروز آن قبل از دوران بلوغ بسیار نادر است، ژنتیک, محیط اولیه و فرایندهای روانی و اجتماعی از عوامل مهم مؤثر در بروز بیماری فوق می‌باشد. ناحیه‌ای از کروموزوم ۶ به نام P1.6۲۲ که مسئول ایجاد ایمنی و کنترل خاموش و روشن شدن ژن است در ایجاد بیماری اسکیزوفرنی دخیل می‌باشد. از میان محل‌هایی که قوی‌ترین ارتباط را با ایجاد بیماری اسکیزوفرنی دارد ناحیه مشکوکی بر روی کروموزوم ۲۲ و بیش از ۴۵۰ منطقه مختلف بر روی کروموزوم ۶ مشهود است (۴). از جمله ژن‌های دخیل در این بیماری می‌توان به:

ژن‌های AKT1، CO، CHRNA7، DAO، DAOA، DISC1، DTNBP1، ERBB4، GSK3، GRM3، MT، NRG1 اشاره کرد (۵). در بین این ژن‌ها، ژن CHRNA7 در موقعیت q14۱۵ و حدود ۳۲۱ اسیدامینه داشته و از اهمیت بالا و قابل بحثی در تشخیص افراد مبتلا به این بیماری برخوردار است (۶). آنالیز ژنتیکی CHRNA7 و بررسی CHRFAM7A که روی ناحیه سانترومری ۶، ۱ Mb قرار دارد، به حالت مشخصی تعیین شده است. در این نسخه‌برداری اگزون ۵–۱۰ اینترون‌های مداخله‌گر و ناحیه غیر ترجمه شدنی ۳´ از ژن CHRNA7 حفاظت شده هستند (۷). پروتئین CHRNA7 با پروتئین‌های متعددی در تعامل هستند، بنابراین نقش‌های متعددی برای آن پیشنهاد شده است، نقش‌های گوناگونی مانند مهاجرت عصبی، رشد اکسونی، بلوغ سلول‌های عصبی، انتقال سیگنال، اسکلت سلولی و تنظیم چرخه را بر عهده دارد (۷). این پروتئین‌ها که با اختلالات عصبی مثل توهم، کمبود حافظه در دراز مدت، کاهش ماده خاکستری در هیپوکامپ و در جلوی پیشانی مرتبط است به علت درگیر کردن اعصاب منجر به اسکیزوفرنی و در نهایت باعث اختلال در منطقه‌ای از مغز می‌شود. همچنین عملکرد بیولوژیکی این پروتئین‌ها در توسعه عصبی (نورون‌ها) نقش بالقوه این ژن‌ها را در اختلالات زودرس عصبی نشان می‌دهد (۱).

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

CHRNA7 به عنوان ژن کاندید بیماری اسکیزوفرنی انتخاب شده، SNP rs904952 در ناحیه bp ۱۸۳۱ در ناحیه بالا دست تنظیمی ژن CHRNA7 به صورت قابل توجهی با بیماری اسکیزوفرنی در نمونه‌های امریکایی- افریقایی مورد بررسی قرار گرفته، که برخی بررسی‌ها، حاکی از اهمیت این ژن در این بیماری است (۸).

از آنجا که ایران از لحاظ شیوع این بیماری رتبه ۲۵ را در رنکینگ جهانی دارا می‌باشد نیاز مبرمی به چنین تست‌های ژنتیکی تشخیصی بیش از پیش احساس می‌گردد. از آنجا که بیماری اسکیزوفرنی یک بیماری شایع در جوامع امروزی است و سبب اختلالات عاطفی و روانی می‌شود و فقط با بروز علایم ظاهری تشخیص داده می‌شود در نتیجه مراکز درمانی می‌توانند از این تست برای غربالگری بیماران اسکیزوفرنی استفاده نمایند (۹ و ۱۰).

لذا نتیجه این تحقیق می‌تواند کمک شایانی در مدیریت شناسایی بیماری اسکیزوفرنی به روش ژنتیکی نماید. از این رو روش مناسبی جهت درمان فراهم می‌گردد. هدف کلی این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم گیرنده نیکوتینی ژن آلفا ۷ (CHRNA7) با پیشرفت اسکیزوفرنی در جمعیت ایران است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد- شاهدی، تعداد ۱۰۰ بیمار مبتلا به اسکیزوفرنی و۱۰۰ فرد سالم به عنوان کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی نمونه‌ها پس از تأئید پزشک متخصص جمع‌آوری شد. محدوده سنی افراد بیمار و سالم بین ۲۴ تا ۷۳ سال بود. نمونه‌ها از خون افراد پس از معاینه کامل تهیه شد و جهت استخراج DNA ژنومی به آزمایشگاه ژنتیک منتقل و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA (GeneAll) بر اساس دستور کار انجام گردید.

کیفیت نمونه‌ها و میزان کمیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز آگارز و اسپکتروفوتومتری (نانو دراپ) بررسی و اندازه‌گیری شد. جهت تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم rs904952 ژن CHRNA ۷ از روش PCR-RFLP استفاده شد. در این روش از آغازگرهای نام برده در جدول ۱ برای تکثیر یک قطعه ۱۳۴ جفت بازی مربوط به ژن CHRNA7 استفاده شد. حجم کلی هر واکنش PCR، ۲۵ µl و متشکل از DNA ژنومی ۲۰-۱۵نانوگرم، ۲ پیکامول از هر پرایمر،µM ۰/۴ از dNTP، ۴Mm MgCl2، ۱۰mM از Tris HCL، ۵۰ Mm KCL، ۰/۵U Taq DNA polymerase بود. تنظیم دستگاه ترموسایکلر (محصول شرکت Bio Rad) برای تکثیر توالی پلی‌مورفیک جایگاه مورد نظر به ترتیب زیر انجام گرفت: واسرشت اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، مرحله جداسازی دو رشته ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمر در دمای ۵۳ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله طویل سازی ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و تعداد ۳۰ سیکل بود. در نهایت مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه انجام شد. در پایان، محصولات واکنش PCR در ژل آگارز ۱ درصد حاوی نیم میکروگرم بر میلی‌لیتراتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید. جهت مرحلهٔ هضم آنزیمی محصولات PCR جایگاه rs904952 با یک واحد آنزیم Alu I (Bioneer کره جنوبی) به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس محصول هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۱ درصد برده و بعد از رنگ‌آمیزی با safe stain (فرمنتاز ساخت امریکا) الکتروفورز شده و سپس آشکارسازی باندها در

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

دستگاه Gel Doumentation (محصول شرکت Bio Rad) صورت گرفت (شکل ۱). جهت بررسی ژنوتایپینگ ۱۰ درصد از نمونه‌ها به‌طور تصادفی انتخاب و دوباره تعیین ژنوتیپ شد. در پایان توالی‌یابی SNP rs904952 در ژن CHRNA7 با استفاده از روش سکوانسینگ انجام شد. با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ انجام گرفت.

جدول ۱) توالی پرایمرهای مورد استفاده در PCR

Genes	SNP ID	پرایمر	الیگونوکلئوتید	دما	رفرانس
CHRNA7	rs904952	CF CR	5´ CAAATTGGTTAATTTCTGTTCCTAG 3´(25mer) 5´ CCATGGAAAACAGGATGAGTG 3´(21mer)	53°C	۶

یافته‌ها

در مجموع ۲۰۰ نمونه (۱۰۰ نمونه بیمار و ۱۰۰ نمونه سالم که همگی آنها مرد بودند) در این مطالعه بررسی و از تمامی نمونه‌های خون افراد بیمار و سالم DNA ژنومی استخراج گردید. در مرحله پس از آن با استفاده از پرایمرهای CF و CR مربوط به ژنCHRNA7، قطعه‌ای به طول ۱۳۴ جفت باز از ژن فوق تکثیر شد (جدول ۲). در این تحقیق جهت بررسی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در دو گروه بیماران و شاهد از روش PCR-RFLP استفاده گردید که نتایج آن در جدول ۲ آورده شده است. آنالیز پلی مورفیسم طول قطعه محدود شده بر برای ژن CHRNA7 در ناحیه C25197T در شکل ۱ نشان داده شده است. پلی‌مورفیسم جایگاه فوق ژن CHRNA7 سه فرم مشاهده گردید. محصولات به‌دست امده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز را تحت تأثیر آنزیم Alu I طبق دستورالعمل (۳ ساعت 37°C) بیان شده قرار گرفت و نتایج به‌دست آمده روی ژل ۳ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۲) توزیع فراوانی (تعداد و درصد) افراد سالم و بیمار بر حسب وضعیت مارکرrs 904952 در دو گروه سنی

گروه‌های سنی	گروه	نرمال	هموزیگوت	هتروزیگوت	مجموع	سطح معنی‌داری
زیر ۴۰ سال	سالم	۲۷(۴۹/۱)	۵(۹/۱)	۲۳(۴۱/۸)	۵۵(۱۰۰)	Chi=۳/۴
	بیمار	۱۶(۶۶/۷)	۰(۰)	۸(۳۳/۳)	۲۴(۱۰۰)	P.value=۰/۱۸
بالای ۴۰ سال	سالم	۲۱(۴۶/۷)	۹(۲۰)	۱۵(۳۳/۳)	۴۵(۱۰۰)	Chi=۰/۱۶
	بیمار	۳۴(۴۴/۷)	۱۴(۱۸/۴)	۲۸(۳۶/۸)	۷۶(۱۰۰)	P.value=۰/۹۲

در حالت اول در صورتی که در نتیجه این هضم انزیمی قطعات ۲۵ و ۱۰۹ جفت بازی حاصل شود نشان دهنده وجود نوکلئوتید سیتوزین در جایگاه برش بوده که در حالت غالب دیده می‌شود (CC). در حالت بعدی در صورتی که قطعات ۲۵ و ۱۰۹ و ۱۳۴ جفت بازی حاصل شود نشان دهنده حالت هتروزیگوت (CT) می‌باشد. در حالت نهایی در صورتی که در نتیجه تغییر نوکلئوتیدی از سیتوزین به تیمین جایگاه برش از دست برود فقط قطعه ۱۳۴ جفت بازی حاصل می‌آید که نشان دهنده حالت مغلوب است (TT). آنالیز داده‌های به‌دست آمده از ژن CHRNA7 جهت بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs904952 در دو گروه افراد سالم و بیمار مبتلا به

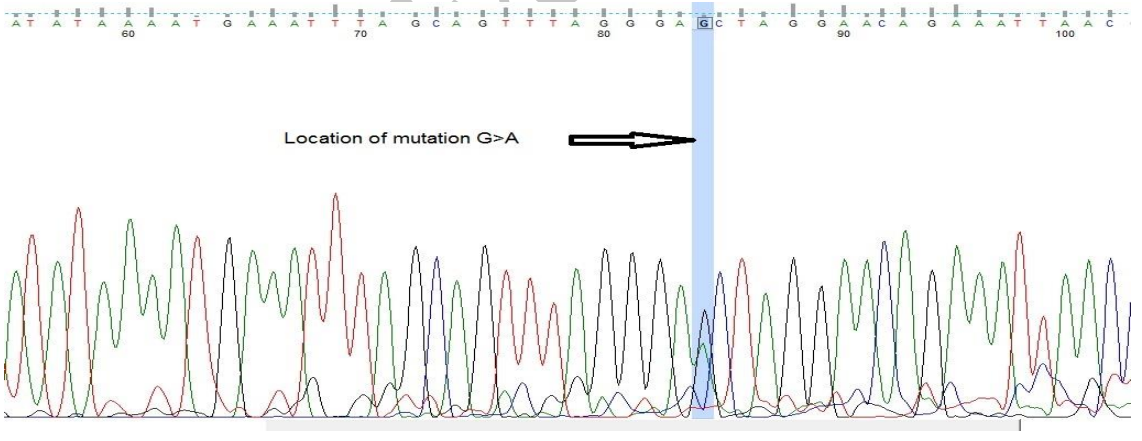
www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

اسکیزوفرنی با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ انجام گرفت. آنالیز داده‌های به‌دست آمده در دو گروه سنی زیر ۴۰ سال (نمودار ۱) و بالای ۴۰ سال (نمودار ۲) در ژن CHRNA7 بیانگر معنادار نبودن ارتباط این ژن با بیماری اسکیزوفرنی می‌باشد (جدول ۲) .طبق نتایج به‌دست آمده در جدول زیر در گروه سالم ۴۸ درصد افراد نرمال ۱۴ درصد افراد هموزیگوت و ۳۸ درصد افراد هتروزیگوت دارای rs904952 می‌باشند و در گروه بیمار ۵۰ درصد افراد نرمال ۱۴ درصد افراد هموزیگوت و ۳۶ درصد افراد هتروزیگوت دارای rs904952 می‌باشند که در نمودار، توزیع فراوانی آنها رسم شده است(نمودار ۱ و ۲). بررسی‌های آماری نشان داد P.value برای ژن CHRNA7 در افراد زیر ۴۰ سال p=۰/۱۸ و در افراد بالای ۴۰ سال p=۰/۹۲ می‌باشد. برای مارکر rs904952 در این افراد با توجه به p-value به‌دست آمده ارتباط قابل توجهی مشاهده نشد. پس از بررسی و مطالعه SNPهای مربوط به ژن CHRNA7 با استفاده از روش RFLP-PCR محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز پس از هضم آنزیمی جهت تأیید نتیجه نهایی توالی‌یابی گشتند. (توسط شرکت تکاپو زیست) بدین صورت که چند نمونه که بهترین هضم آنزیمی را داشتند توالی‌یابی گشتند که نتیجه توالی‌ها (شکل ۱) مشاهده می‌گردد.

پس ازآن که نمونه‌ها توالی‌یابی شدند جهت تأیید جایگاه SNP توالی‌های مربوط با استفاده از نرم‌افزار chromas مورد آنالیز و بررسی قرار گرفتند که در شکل زیر مشاهده می‌شود (شکل ۱).

همان‌گونه که در شکل مشاهده می‌گردد بر اساس نوع پیک‌ها و اندازه آنها جایگاه SNP مشخص گردید که نتیجه هر کدام در زیر شکل آورده شده است.



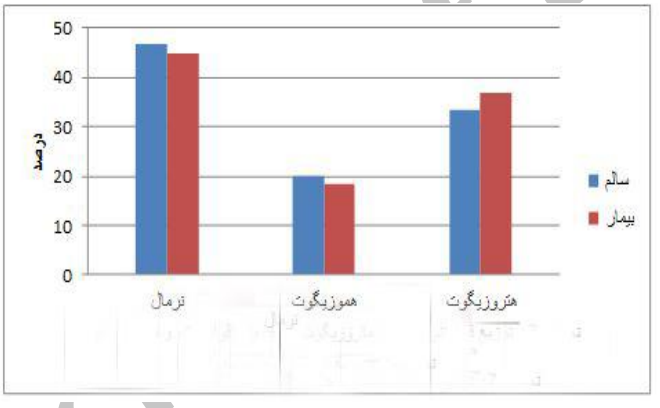
شکل ۱. نتیجه توالی یابی SNP rs904952 در ژن *CHRNA7* همان‌گونه که در شکل مشاهده می‌کنید ناحیه حضور SNP به صورت پیک‌های کوتاه و روی هم به رنگ سبز و مشکی مشاهده می‌گردد. (به صورت تغییر نوکلئوتید A به نفع G در بیماران اسکیزوفرنی)(توالی‌یابی انجام شده به صورت دو طرفه بوده است.)

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

نمودار ۱) نمودار توزیع فراوانی مارکر rs904952 در گروه سنی زیر ۴۰ سال

Fig 1) Distribution chart of marker rs904952 in the age group under 40 years



نمودار ۲) نمودار توزیع فراوانی مارکر rs904952 در گروه سنی بالای ۴۰ سال

Fig 1) Distribution chart of rs904952 marker in the age group over 40 years

بحث

اسکیزوفرنی یک اختلال پیچیده‌ی روانی است که تا حد زیادی تحت تأثیر اثرات ژنتیکی می‌باشد. اسکیزوفرنی یا جنون جوانی یکی از پیچیده‌ترین نوع اختلالات روانی است که قدیمی‌ترها از آن به‌عنوان تحلیل تدریجی خصوصیات عقلی و شخصیت ذکر می‌کردند که فرد در خود فرو رفته و گرفتار تخیلات و تصورات بیمارگونه و عجیبی شده بود امروزه اصطلاح اسکیزوفرنی یاجنون زودرس، مجموعه اختلالاتی است که با آشفتگی در گفتار، ادراک، تفکر، اراده، عاطفه و فعالیت اجتماعی مشخص می‌گردد (۱۱). ژن CHRNAv ژن ارزشمند و مستعد کننده در ابتلا به اختلالات روانی می‌باشد. همولوگ این ژن در تمام خانواده‌های بزرگ مهره‌داران از جمله شامپانزه، میمون، موش، گاو و سگ شناسایی شده است. علاوه بر این دو ژن، ژن‌های دیگری نیز به عنوان کاندیدا برای بیماری اسکیزوفرنی و سایر بیماری‌های روانی وجود دارند که با این ژن در تعامل‌اند که می‌توان از میان آنها به DISC ۱ اشاره کرد (۹).

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

یک مطالعه دیگر با هدف بررسی رابطه بین پلی‌مورفیسم DISC Leu ۱ phe ۶۰۷ و حجم ماده خاکستری جلوی مغز با استفاده از MRI انجام شد. در میان بیماران و افراد سالم حاملان ۶۰۷phe به طور قابل ملاحظه‌ای ماده خاکستری کمتری در شکنج پیشانی فوقانی و شکنج کمربندی قدامی در مقایسه با هموزیگوت‌های Leu/Leu دارند. بیماران حامل ۶۰۷phe شدت بیشتری از علایم مثبت را که در نشان می‌دهد که پیشنهاد می‌شود این پلی‌مورفیسم بالینی از نظر روانی قابل توجه است (۱۲ و ۱۳).

برخی دیگر از مطالعات ژنتیکی نشان داده که این ژن دخیل در ایتلا به اسکیزوفرنی, افسردگی، اختلال دوقطبی و اختلال اسکیزوافکتیو می‌باشند. با یاداوری این نکته که ارتباط آن در جوامع و نواحی مختلف جهان با بیماری اسکیزوفرنی متفاوت می‌باشد که در این مطالعه به بررسی این تفاوت‌ها در جامعه ایران و سایر نقاط دنیا پرداخته می‌شود (۱۴).

در مجموع نتایج ما در مورد این ژن نشان می‌دهد جهش‌های ایجاد شده به نفع تغییر A به G نقش مهمی را در اسکیزوفرنی دارند و با توجه به اینکه ژن CHRNA7 در مسیرهای رشد و تکاملی نورون‌ها در مغز نقش دارند، وجود اینگونه جهش‌ها در این ژن می‌تواند نقش مهمی در افزایش استعداد ابتلا به اسکیزوفرنی داشته باشد. از این رو جهش‌های C>T، (C25197T) rs 904952در ژن CHRNA7 می‌تواند کاندید یکی از مارکرهای تشخیصی برای اسکیزوفرنی در جمعیت ایران باشد (۱۵).

در مطالعهٔ ما ژن CHRNA7 ارتباط قابل توجهی با بیماری اسکیزوفرنی در جمعیت ایران نداشت. در حالی که، سینکاس (Sinkus) و همکاران، در بررسی پلی‌مورفیسم ژن CHRNA7 در جمعیت قفقازی و امریکایی- افریقایی به ارتباط این ژن با اسکیزوفرنی در این جمعیت‌ها رسیدند. آنالیز ژنتیکی CHRNA7 با نسخه‌برداری جزئی به صورت بغرنج می‌باشد اما با بررسی CHRFAM7A که روی ناحیه سانترومری ۱/۶Mb قرار دارد این مسئله به حالت مشخصی تعیین شده است. در این نسخه‌برداری اگزون ۵-۱۰ اینترون‌های مداخله‌گر و ناحیه غیرترجمه شدنی ۳´ از ژن CHRNA7 حفاظت شده هستند.

CHRNA7 به عنوان بهترین ژن کاندید بیماری اسکیزوفرنی انتخاب شده، SNP rs3087454 در ناحیه bp -۱۸۳۱ در ناحیه بالا دست تنظیمی ژن CHRNA7 به صورت قابل توجهی با بیماری اسکیزوفرنی در نمونه‌های امریکایی- افریقایی مورد بررسی در این تحقیق مشاهده شده است (۱۶).

باکانیز (Bakanidze) و همکاران به بررسی SNP ژن CHRNA7 پرداختند که از بین این SNPها SNP rs904959 در جمعیت ۲۲۴ نفری بیمار آلمانی مبتلا به اسکیزوفرنی دارای بیشترین ارتباط با این بیماری بود, همچنین این SNP به صورت قابل توجهی با پوشش پشتی بصری مغز در این بیماران در ارتباط است که در واقع نتایج آن برخلاف مطالعات ما بود به طوری که بر اساس نتایج این مطالعه، در گروه سالم، ۴۸ درصد افراد نرمال، ۱۴ درصد افراد هموزیگوت و ۳۸ درصد افراد هتروزیگوت دارای rs ۹۰۴۹۵۲ می‌باشند و در گروه بیمار ۵۰ درصد افراد نرمال، ۱۴ درصد افراد هموزیگوت و ۳۶ درصد افراد هتروزیگوت دارای ۹۰۴۹۵۲rs می‌باشند (۱۷).

در این مطالعه، بررسی‌های آماری نشان داد که P.value برای ژن CHRNA7 در افراد زیر ۴۰ سال p=۰/۱۸ و در افراد بالای ۴۰ سال p=۰/۹۲ می‌باشد. برای مارکر ۹۰۴۹۵۲rs در این افراد با توجه به p-value به‌دست

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

آمده ارتباط قابل توجهی مشاهده نشد و در حالی که زامیت (Zammit) و همکاران با بررسی جمعیت ۷۵۰ نفری بیمار مبتلا به اسکیزوفرنی و ۶۸۸ فرد سالم به مطالعه ژنوتیپی ارتباط ژن CHRNA7 و رسپتور CNRI (Cannabinoid receptor) پرداختند و در این مطالعه همانند تحقیق ما، هیچ مدرکی دال بر ارتباط این ژن و رسپتور با بیماری اسکیزوفرنی نیافتند (۱۸).

در مطالعه‌ای که توسط یاسو (Yasui) و همکاران در کشور ژاپن انجام شد، نتایج نشان داد که ژن CHRNA7 دارای اینتراکشن با پروتئین PWS-IC بوده و بنابراین از دست دادن میزان بالایی از کروماتین در ناحیهٔ q۱۵ ۱۳/۳-۱۱/۲ در بسیاری از اختلالات عصبی می‌تواند مشارکت داشته باشد (۱۹).

در مطالعه‌ای که در جامعهٔ کره توسط جو (Joo) و همکاران انجام شد همانند مطالعهٔ ما در جمعیت ایران، هیچ موردی مبنی بر ارتباط این ژن با اختلالات دوقطبی و بیماری اسکیزوفرنی در قومیت‌های مختلف یافت نشد. که در واقع پیشنهاد شد که این مسئله به علت هتروژنسیتی بالا در ژن CHRNA7 می‌باشد. از سویی دیگر به علت میزان زیاد SNPها و ساختار ژنتیکی بسیار پیچیدهٔ این ژن نیازمند مطالعات ملکولی بیشتر در این زمینه وجود دارد (۲۰).

در مطالعه‌ای که در کانادا توسط پریرا (Pereira) و همکاران انجام شد، پنج خانوادهٔ اسکیزوفرنی مورد ژنوتایپ قرار گرفت که در پایان نتایج نشان داد که ناحیهٔ ژن CHRNA7 هیچ گونه ارتباطی با بیماری اسکیزوفرنی ندارد (۲۱). بررسی‌های آماری در مطالعهٔ ما نیز تأیید کنندهٔ عدم ارتباط این جهش تک نوکلئوتیدی با بیماری اسکیزوفرنی است.

در پایان ذکر این نکته مهم است که از آنجا که ایران از لحاظ شیوع این بیماری در رنکینگ جهانی رتبه ۲۵ را دارا می‌باشد نیاز بسیاری به چنین تست‌های ژنتیکی بیش از پیش است در ایران تشخیص ژنتیکی این بیماری انجام نشده است لذا ضروریست با تحقیقات بیشتر با استفاده از روش PCR این موتاسیون‌ها در جمعیت ایران بررسی گردد و تحقیقات ملکولی بیشتر در این زمینه می‌تواند کمک شایانی در مدیریت شناسایی بیماری اسکیزوفرنی به روش ژنتیکی نماید. از این رو روش مناسبی جهت درمان فراهم می‌گردد. بنابراین روشن شدن اساس مولکولی این جهش‌ها در مبتلایان به اختلال اسکیزوفرنی برای تشخیص بهتر و مدیریت درمان ضروری است.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه، ژن CHRNA7 در جمعیت ایران با بیماری اسکیزوفرنی ارتباط معناداری ندارد. با وجود نتایج این مطالعه، به علت پیچیدگی ساختاری ژن CHRNA۷ و ناکافی بودن اطلاعات در این زمینه، مطالعات ژنتیکی با بررسی جهش‌های جهش‌های تک نوکلئوتیدی بیشتر و تعداد نمونه‌های بیشتر که جامعهٔ آماری بیشتری را شامل گردد، همراه با اطلاعات کافی از ساختار ملکولی ژن CHRNA۷ مورد نیاز و ضروری می‌باشد.

سپاس و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن جهت حمایت‌های مادی برای انجام این مطالعه تشکر نمایند.

تضاد منافع

هیچگونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

References:

1.Stewart LR, Hall AL, Kang SH, et al. High frequency of known copy number abnormalities and maternal duplication 15q11-q13 in patients with combined schizophrenia and epilepsy. BMC Med Genet 2011;12: 154.

2.Toulopoulou T, Picchioni M, Rijsdijk F, et al. Substantial genetic overlap between neurocognition and schizophrenia: genetic modeling in twin samples. Arch Gen Psychiatry 2007; 64(12): 1348-55.

3.Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. Nature 2009; 460(7256): 744-7.

4.Zhou D, Gochman P, Broadnax DD, et al. 15q13.3 duplication in two patients with childhood-onset schizophrenia. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2016;171(6): 777-83.

5.Freund RK, Graw S, Choo KS, et al. Genetic knockout of the α۷ nicotinic acetylcholine receptor gene alters hippocampal long-term potentiation in a background strain-dependent manner. Neurosci lett 2016; 627: 1-6.

6.Gass N, Weber-Fahr W, Sartorius A, et al. An acetylcholine alpha7 positive allosteric modulator rescues a schizophrenia-associated brain endophenotype in the 15q13.3 microdeletion, encompassing CHRNA7. Eur Neuropsychopharmacol 2016; 26(7): 1150-60.

7.Parikh V, Kutlu MG, Gould TJ. nAChR dysfunction as a common substrate for schizophrenia and comorbid nicotine addiction: Current trends and perspectives. Schizophr Res 2016; 171(1-3): 1-15.

8.Klemettilä J-P, Kampman O, Solismaa A, et al. Association study of arcuate nucleus neuropeptide Y neuron receptor gene variation and serum NPY levels in clozapine treated patients with schizophrenia. Eur Psychiatry 2017; 40: 13-9.

9.Nadalin S, Ristić S, Rebić J, et al. The insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and nicotine dependence in schizophrenia patients. J Neural Transm (Vienna) 2017; 124(4): 511-8.

10.Klemettilä JP. Metabolic adverse effects in clozapine-treated patients with schizophrenia: Cytokine and adipokine alterations, neuropeptide Y, and genetic associations. 2016 ,978-952-03-0293-1

11.Quintela García I. Bases genéticas de la discapacidad intelectual y los trastornos del espectro autista: aplicación de las nuevas tecnologías al análisis de variantes del número de copias (CNVs). 2017-01-17T11:31:09Z

12.Firouzabadi SG, Karimine jad R, Vameghi R, et al. Copy number variants in patients with autism and additional clinical features: report of VIPR2 duplication and a novel microduplication Syndrome. Mol Neurobiol. In press 2016.

13.Bulayeva K, Bulayev O, Glatt S. Genomic Architecture of Schizophrenia Across Diverse Genetic Isolates: A Study of Dagestan Populations. New York City: Springer, 2016, 978-3-319-31964-3.

14.Lomartire S. Analysis of Copy Number Variants identifies new candidate genes for Autism Spectrum Disorder and Intellectual Disability. Alma, 2015.

15.Callicott JH, Straub RE, Pezawas L, et al. Variation in DISC1 affects hippocampal structure and function and increases risk for schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102(24): 8627-32.

16.Sinkus ML, Graw S, Freedman R, et al. The human CHRNA7 and CHRFAM7A genes: A review of the genetics, regulation, and function. Neuropharmacology 2015; 96(Pt B): 274-88.

17.Bakanidze G, Roinishvili M, Chkonia E, et al. Association of the nicotinic receptor α۷ subunit gene (CHRNA۷) with schizophrenia and visual backward masking. Front Psychiatry 2013; 4: 133.

18.Zammit S, Spurlock G, Williams H, et al. Genotype effects of CHRNA۷, CNR۱ and COMT in schizophrenia: interactions with tobacco and cannabis use. Br J Psychiatry 2007; 191: 402-7.

19.Yasui DH, Scoles HA, Horike S-i, et al. 15q11.2-13.3 chromatin analysis reveals

www.SID.ir

epigenetic regulation of CHRNA7 with deficiencies in Rett and autism brain. Hum Mol Genet 2011; 20(22): 4311-23.

20.Joo EJ, Lee KY, Kim HS, et al. Genetic association study of the alpha 7 nicotinic receptor (CHRNA7) with the development of schizophrenia and bipolar disorder in Korean population. Psychiatry Investig 2010; 7(3): 196-201.

21.Neves-Pereira M, Bassett AS, Honer WG, et al. No evidence for linkage of the CHRNA7 gene region in canadian schizophrenia families. Am J Med Genet 1998; 81(5): 361-3.

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

Archive of SID

http://bpums.ac.ir
www.SID.ir

Iran South Med J 2017; 20(5): 437-447

Original Article

Study of Association Between Polymorphism Alpha7 Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunit Gene (*CHRNA7*) with the Development of Schizophrenia in Iranian Population

SH. Haghighat [1], R. Zahmatkesh Roodsari [2], R. Ranjbar [3]*

[1] Department of Genetics, School of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
[2] Department of Biology, School of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
[3] Molecular Biology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received 8 May, 2017 Accepted 1 Mar, 2017)

Abstract

Background: SCZ (Schizophrenia) is common psychiatric and mentally disorder which display common genetic vulnerability. The α7 neuronal nicotinic receptor gene (*CHRNA7*) is located on chromosome 15q13-q14. There are many single nucleotide polymorphisms (SNPs) in exons, introns and promoter sites inside the *CHRNA7* gene. The aim of this research was study of polymorphism *CHRNA7* with the development of schizophrenia in Iranian population.

Materials and Methods: This case-control study included 100 patients with schizophrenia and 100 normal peoples as a control group were investigated. Genomic DNA was extracted from blood samples. Genotypes were detected by using a PCR-RFLP method. Statistical analysis was done by using the SPSS software version 20.

Results: Frequency of CC, TC, TT genotypes in patients group were 18% ,42% ,40% and in normal groups were 14%,45%,41%, respectively. Statistical analysis were showed that in the total sample (male and female), there was no significant association between *CHRNA7* gene polymorphism with schizophrenia disease.

Conclusion: The presence of the T allele in *CHRNA7* gene at rs904942 is not considered as a risk factor for schizophrenia. Therefore, further genetic studies with more SNPs and larger samples covering various populations, are needed.

Key words: Schizophrenia, polymorphism, *CHRNA7*, PCR-RFLP

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Haghighat SH, Zahmatkesh Roodsari ,Ranjbar R. Study of Association Between Polymorphism Alpha7 Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunit Gene (CHRNA7) with the Development of Schizophrenia in Iranian Population. Iran South Med J 2017; 20(5): 437-447

Copyright © 2017 Haghighat, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

Address for correspondence: Department of Biology, School of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran. Email: rasoul130@yahoo.com

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

Downloaded from ismj.bpums.ac.ir at 12:17 +0330 on Tuesday January 2nd 2018

www.SID.ir