

بررسی ارتباط پلی مورفیسم های rs157580 و rs8106922 ژن TOMM40 در بیماران مبتلا به آلزایمر تک گیر با شروع دیررس

● دکتر داریوش فرهود



متخصص ژنتیک، کلینیک ژنتیک، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه علوم پایه / اخلاق، فرهنگستان علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

● رعنا حاجیلو



کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

● دکتر مرجان ظریف یگانه

دکتری، کلینیک ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون ریز، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

● شراره صادقیان

کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

● دکتر غلامرضا حاجتی

دکتری روانپزشک، انجمن دمانس و آلزایمر ایران

● معصومه صالحی

کارشناس پرستاری، انجمن دمانس و آلزایمر ایران

● مهرداد خوانساری

کارشناسی ارشد علوم آزمایشگاهی، انجمن دمانس و آلزایمر ایران

● دکتر عبدالفتاح صراف نژاد

دکتری ایمونولوژی، آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

● دکتر مریم جلالی

دکتری بیوشیمی بالینی، آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: بیماری آلزایمر شایع ترین نوع دمانس یا "زوال عقل" در سنین پیری است. بروز آن با افزایش سن بیشتر می شود و با آتروفی مغز و تخریب نورونی، به ویژه در ناحیه هیپوکمپ و قسمت قاعده ای پیشانی، همراه است. بیماری آلزایمر براساس سن شروع به دو نوع زودرس (کمتر از ۶۵ سال) و دیررس (بالای ۶۵ سال) طبقه بندی می شود. آلزایمر بیماری چند عاملی است که هر دو فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در توزیع جمعیتی آن نقش دارند. پیش زمینه ژنتیکی، سن و جنس از عوامل خطر اصلی برای بروز

این بیماری هستند. برخی جهش های ژن APOE در افزایش استعداد افراد به بیماری آلزایمر در جمعیت های مختلف به خوبی به اثبات رسیده است. ژن TOMM40 در ناحیه کروموزومی 13q.19 واقع شده است که در حدود ۱۵ کیلوباز با ژن APOE فاصله دارد. در این تحقیق پلی مورفیسم های ژنتیکی rs157580 و rs 8106922 ژن TOMM40 با خطر ابتلا به بیماری آلزایمر دیررس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، DNA ژنومی از خون محیطی ۱۱۷ فرد بیمار و ۱۳۰ فرد شاهد



به روش Salting out/Protenase K استخراج شد و پلی مورفیسم های ژنتیکی rs157580 و rs8106922 ژن TOMM40 به روش ARMS-PCR و تعیین توالی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: برای rs157580 فراوانی ژنوتیپ GA در دو گروه بیمار و سالم تفاوت آماری معنا دار داشت و براساس نتایج به دست آمده دارای نقش محافظتی احتمالی می باشد ($P=0.027$). فراوانی الل G,A نیز در دو گروه بیمار و سالم تفاوت آماری معنی دار نداشت.

همچنین برای rs 8106922 فراوانی ژنوتیپ AG در دو گروه بیمار و سالم دارای تفاوت آماری معنی دار بود ($p=0.002$) و به عنوان ریسک فاکتور احتمالی می توان آن را در نظر گرفت. از طرفی ژنوتیپ GG نیز در دو گروه بیمار و سالم دارای تفاوت آماری معنی دار بود ($P=0.002$) و به عنوان عمل محافظتی احتمالی می توان آن را در نظر گرفت. فراوانی اللی برای الل A در گروه بیمار و سالم دارای تفاوت آماری معنی دار بود ($P=0.003$) و به عنوان ریسک فاکتور احتمالی می توان آن را در نظر گرفت. فراوانی اللی برای الل G در گروه بیمار و سالم دارای تفاوت آماری معنی دار بود ($P=0.003$) و به عنوان عامل حفاظتی احتمالی می توان آن را در نظر گرفت.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، ژن TOMM40 را می توان به عنوان یکی از ژن های احتمالی مرتبط با ایجاد بیماری آلزایمر در نظر گرفت. انجام بررسی های بیشتر در مورد سایر ژن های دخیل در ایجاد بیماری و همچنین مطالعات عملکردی این ژن در سطح سلولی و مولکولی پیشنهاد می گردد.

کلمات کلیدی: بیماری آلزایمر، پلی مورفیسم، ژن TOMM40، ایران

مقدمه

بیماری آلزایمر شایع ترین عامل زوال عقل در دوران میانسالی و پیری است که با نقص در فعالیت های شناختی، از دست دادن حافظه، از دست دادن توانایی انجام حرکات هدف دار و تغییرات شخصیتی همراه است. توصیف این

بیماری نخستین بار در سال ۱۹۰۶ توسط یک نورولوژیست آلمانی به نام آلوئیس آلزایمر بوده است (۱،۲). بیماری آلزایمر شایع ترین نوع دمانس "زوال عقل" در سنین پیری است و بروز آن با افزایش سن بیشتر می شود. بیماری آلزایمر با آتروفی مغز و تخریب متمرکز نورونی، به ویژه در ناحیه هیپوکمپ و قسمت قاعده ای پیشانی، همراه است. بارزترین مشخصه این بیماری، تخریب نورون در نتیجه آتروفی این نواحی نقص پیش رونده حافظه، اختلال شناختی و تغییرات شخصیتی در فرد مبتلا تظاهر می کند (۳-۵) علائم این بیماری با از دست دادن قدرت حفظ اطلاعات به خصوص حافظه موقت آغاز می شود (۶). آلزایمر یک بیماری چند عاملی می باشد، بدین معنی که هم فاکتورهای ژنتیکی و هم محیطی در توزیع جمعیتی آن نقش دارند، پیش زمینه ژنتیکی، سن، جنس و تغذیه جزء عوامل خطر اصلی برای بروز و گسترش این بیماری هستند (۷). ولی باید توجه داشت نقش توارث در ایجاد بیماری بیشتر است (۸).

این بیماری براساس سن شروع بیماری به دو نوع زودرس و دیررس تقسیم بندی می گردد. ژن های بسیاری در این زمینه به عنوان ریسک فاکتور مورد مطالعه قرار گرفته اند که شناخته شده ترین آن ها، ژن آپولیپوپروتئین APOE است (۹،۱۰). آپولیپوپروتئین E به عنوان مهم ترین عامل خطر در ۶۵٪ موارد آلزایمر تک گیر شناسایی شده است که خطر بروز آلزایمر را ۳ تا ۱۵ برابر افزایش می دهد (۱۱). در مطالعات گسترده ژنوم (GWAS) بیش از ۲۰ جایگاه ژنی از جمله TOMM 40, BIN1, CASS4, CD33, CD2AP, CELF1, CLU, CR1, DSG2, EPHA1, FERMT2, HLA-DRB5-DBR1, INPP5D, MS4A, MEF2C, NME8, PICALM, PTK2B, SLC24H4-RIN3, SORL1, and ZCWPW1 در ارتباط با بیماری آلزایمر با شروع دیررس شناسایی شده است. همچنین در این مطالعات برخی پلی مورفیسم های ژن Translocase of outer mitochondrial membrane 40 (TOMM40) نیز به عنوان عامل خطر ژنتیکی مستعد کننده برای بیماری آلزایمر مشخص شده اند.

با بررسی مقاله های منتشر شده پیرامون بیماری آلزایمر و لوکوس های بررسی شده در ایران و همچنین با نگاه

از طریق مصاحبه با افراد یا پرسنل شاغل در مراکز و بخشی از پرونده آن‌ها به دست آمد.

اطلاعات و توالی‌های مربوط به دو پلی مورفیسم rs157580 و rs8106922 ژن TOMM40 از سایت‌های NCBI و Ensemble دریافت و بررسی شدند و برای نواحی مورد نظر هر کدام، پرایمر طراحی شد.

از نمونه خون افراد سالم و بیمار، DNA استخراج شد. پس از طراحی پرایمرهای مناسب، شرایط PCR-allele-specific برای هر یک از پلی مورفیسم‌ها، تنظیم شد و سپس برای تمامی نمونه‌های بیمار و شاهد، PCR قطعه مورد نظر انجام شد. نمونه‌ها پس از انجام PCR-allele-specific روی ژل پلی آکریدل آمید ۱۰٪ الکتروفورز شد، از رنگ آمیزی نیترات نقره نیز جهت مشاهده باندها استفاده گردید. در حدود ۲۰ درصد از نمونه‌ها نیز برای تعیین توالی ارسال شدند. نتایج دو گروه بیمار و شاهد جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنادار بین آن‌ها، مقایسه شدند.

□ یافته‌ها

یافته‌های دموگرافیک

میانگین سنی بیماران $68/89 \pm 6/73$ سال و در گروه سالم $69/92 \pm 6/65$ سال بود. حداقل سن در بیماران ۶۸ سال و حداکثر سن ۸۹ سال و حداقل سن در افراد سالم ۶۵ و حداکثر سن ۶۹ سال بود. در گروه کنترل ۴۴/۲ درصد (۵۰ نفر) از افراد را زنان و در گروه بیمار ۵۶/۳ درصد بیماران (۷۱ نفر) را زنان تشکیل می‌دادند (نمودار ۱).

□ یافته‌های ژنتیکی

فراوانی rs157580 با ژنوتیپ AA در گروه کنترل ۹۱/۶ درصد و در گروه بیمار ۹۷/۴۴ درصد بود. همچنین فراوانی ژنوتیپ GA در گروه شاهد ۷/۶۳ درصد و در گروه بیمار ۱/۷۱ درصد بود. فراوانی ژنوتیپ GG در گروه شاهد ۰/۷۶ درصد و در گروه بیمار فراوانی ۰/۸۵ درصد نتیجه‌گیری شده است. ژنوتیپ GA دارای P Value ۰/۰۶۲ بین گروه بیمار و سالم بود. فراوانی rs8106922 با ژنوتیپ AA در گروه

مختصر بر مطالعات روز دنیا، ژن TOMM40 جهت مطالعه انتخاب شد چرا که یکی از ریسک فاکتورهای مهم معرفی شده در اکثر جمعیت‌های مختلف برای بروز آلزایمر با شروع دیررس بوده (۱۲) و از آنجایی که تاکنون در ایران بررسی پلی مورفیسم‌های این ژن در بیماران مبتلا به آلزایمر در ایران تاکنون انجام نشده است و مطالعه‌ای در ارتباط با بیماری آلزایمر و ژن TOMM40 به انجام نرسیده است و با توجه به اهمیت شناسایی عوامل خطر ژنتیکی مرتبط با این بیماری، در این پژوهش به بررسی ارتباط دو پلی مورفیسم شایع rs157580 و rs8106922 ژن TOMM40 در بیماران مبتلا به آلزایمر تک گیر با شروع دیررس پرداخته شد.

□ مواد و روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه Analytical association از نوع موردی - شاهدهی است. اطلاعات و توالی ژن TOMM40 از سایت‌های NCBI و Ensembl دریافت شد و برای هر دو پلی مورفیسم مورد نظر با استفاده از نرم افزارهای مناسب پرایمر طراحی شد. معیار ورود برای افراد سالم نیز عدم وجود بیماری آلزایمر در خود افراد و حداقل اعضای درجه اول خانواده آنان بود. فرم رضایت نامه توسط تمامی شرکت کنندگان امضاء شد.

معیارهای انتخاب بیماران: تشخیص بیماری با معیار DSM-IV، سن بالای ۶۵ سال و امضای فرم رضایت نامه توسط بیمار یا قیم وی به عنوان معیار ورود مطالعه محسوب می‌شوند. سن کمتر از ۶۵ سال، وجود هر گونه بیماری نورولوژیک یا روانپزشکی همراه، وجود سابقه خانوادگی و عدم تمایل به همکاری از طرف بیمار و یا قیم وی به عنوان معیار خروج برای انتخاب بیماران در نظر گرفته شد.

پس از تأیید بیماری آلزایمر افراد با معیار DSM-IV توسط روانپزشک، خون محیطی از آن‌ها گرفته شد. بیماران از افراد بستری یا ساکن انجمن آلزایمر تهران از زمستان ۱۳۹۴ تا پاییز ۱۳۹۵ انتخاب شدند. افراد در دو گروه مورد و شاهد بر حسب فاکتورهای سن، جنس، شغل و قومیت همسان شدند. اطلاعات این مطالعه از طریق مراجعه حضوری به انجمن آلزایمر تهران انجام شد. بخشی از داده‌ها



بود (OR= 0.3482) (P=0.003) و به عنوان عامل حفاظتی احتمالی می‌توان آن را در نظر گرفت بنابراین افراد دارای الل G به احتمال ۲/۵ برابر شانس کمتری برای ابتلا به آلزایمر را دارند (جدول ۱-۲).

□ بحث

براساس نتایج حاصل از این مطالعه، می‌توان ژن TOMM40 را به عنوان یکی از ژن‌های احتمالی مرتبط با بیماری آلزایمر در جمعیت ایران در نظر گرفت. به طوری که فراوانی ژنوتیپ GA در rs157580 دو گروه بیمار و سالم تفاوت آماری معنا دار داشت و براساس نتایج به دست آمده دارای نقش محافظتی احتمالی می‌باشد. فراوانی ژنوتیپ GA نیز در rs8106922 دو گروه بیمار و سالم تفاوت آماری معنی دار بود و به عنوان عامل محافظتی احتمالی می‌توان آن را در نظر گرفت. از طرفی فراوانی ژنوتیپ AA در این پلی مورفیسم در دو گروه بیمار و سالم دارای تفاوت آماری معنا دار بود و به عنوان ریسک فاکتور احتمالی می‌توان آن را در نظر گرفت.

تاکنون چندین مطالعه در نقاط مختلف دنیا، به بررسی ارتباط rs157580 و rs8106922 با بیماری آلزایمر پرداخته است که نتایج متفاوتی حاصل شده است.

طبق مطالعات انجام شده سایر جمعیت‌های جهان بر روی این ژن و اثر آن بر بیماری آلزایمر می‌توان به موارد زیر اشاره کرد مطالعات از جمله بین گروه‌های آسیایی و Caucasians برای SNPrs157580 در TOMM40 تفاوت معنی داری داشته و آل A در rs157580 به عنوان عامل محافظتی برای بیماری آلزایمر بودند ($P=0.001$) (OR = 0.62). (۱۳)

در مطالعه‌های دیگر، مربوط به ژاپن و بررسی ژن TOMM40 rs157580 با استفاده از آزمون کای دو بررسی شد. هیچ ارتباط معنا داری بین گروه بیمار و سالم دیده نشد (۱۴). ارزیابی ارتباط تنوع ژنتیکی rs157580 در ژن TOMM40 با بیماری آلزایمر در سفید پوستان آمریکایی اثر معنا داری بر این بیماری ندارند (OR=1.09 P Value=0.130) (۱۵) در مطالعه‌ای دیگر مربوط به جمعیت اتریش، در ژن TOMM40 از

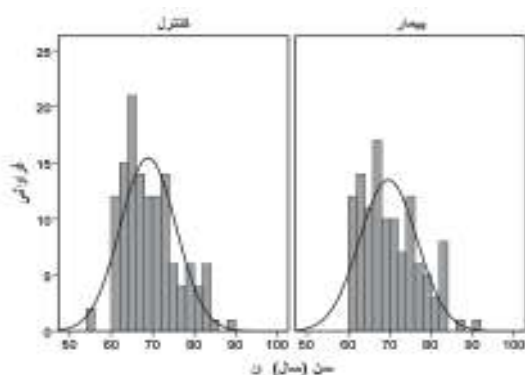
کنترل ۴۸/۰۹ درصد و در گروه بیمار ۶۷/۵۲ درصد می‌باشد. همچنین فراوانی ژنوتیپ AG در گروه کنترل ۵۱/۱۵ درصد و در گروه بیمار ۳۲/۴۸ درصد است. فراوانی در ژنوتیپ GG در گروه کنترل ۰/۷۶ درصد و در گروه بیمار فراوانی آن صفر بود. ژنوتیپ AA دارای P Value = ۰/۰۰۲ بین گروه بیمار و سالم بود (معنا دار). (نمودار ۲).

□ فراوانی ژنوتیپی rs 157580 و rs 8106922 ژن TOMM40 در افراد بیمار و کنترل

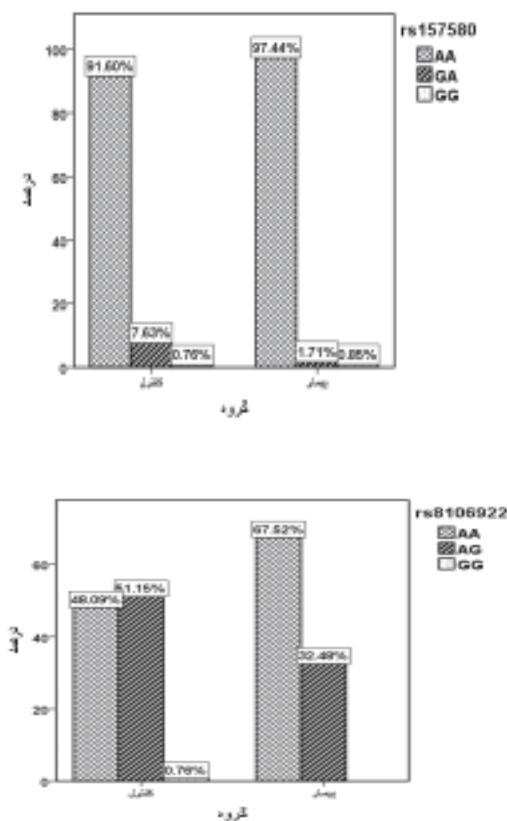
طبق بررسی‌های آماری انجام گرفته برای rs157580 و با استفاده از آزمون کای دو، فراوانی ژنوتیپ AA در دو گروه بیمار و سالم تفاوت آماری معنا دار نداشت. فراوانی ژنوتیپ GA در دو گروه بیمار و سالم تفاوت آماری معنا دار داشت و براساس نتایج به دست آمده دارای نقش محافظتی احتمالی می‌باشد (P=0.027, OR=0.210). بدین ترتیب افراد دارای ژنوتیپ GA به میزان ۴,۷ برابر شانس کمتری برای ابتلا به آلزایمر دارند. ژنوتیپ GG نیز در دو گروه بیمار و سالم فاقد تفاوت آماری معنا دار بود. فراوانی الل‌های A و G نیز در دو گروه بیمار و سالم تفاوت آماری معنی دار نداشت.

طبق بررسی آماری انجام گرفته برای rs8106922 و با استفاده از آزمون کای دو، فراوانی ژنوتیپ AA در دو گروه بیمار و سالم دارای تفاوت آماری معنا دار بود و به عنوان ریسک فاکتور احتمالی می‌توان آن را در نظر گرفت (P=0.008, OR=2.383). فراوانی ژنوتیپ GA در دو گروه بیمار و سالم دارای تفاوت آماری معنی دار بود و به عنوان عامل محافظتی احتمالی می‌توان آن را در نظر گرفت (p=0.002) (OR= 0.459) و بنابراین افراد دارای ژنوتیپ GA به احتمال ۳/۹۲ کمتر در معرض خطر ابتلا به آلزایمر قرار دارند. فراوانی اللی برای الل A در گروه بیمار و سالم دارای تفاوت آماری معنی دار بود (P=0.003) و به عنوان ریسک فاکتور احتمالی می‌توان آن را در نظر گرفت. بنابراین افراد دارای الل A به احتمال ۲/۱ برابر شانس بیشتر ابتلا به آلزایمر را دارند. فراوانی اللی برای الل G در گروه بیمار و سالم دارای تفاوت آماری معنی دار

آلزایمر نماید، بسیار حائز اهمیت است.



نمودار ۱. مقایسه سن در دو گروه بیمار و سالم



نمودار ۲. مقایسه درصد ژنوتیپ های پلی مورفیسم های rs157580 و rs8106922 در دو گروه بیمار و سالم

rs157580 نیز ارتباط معنی داری بین گروه بیمار و سالم یافت نگردید (۱۶). مطالعه‌ای شامل ۸۹۰ بیمار AD و شاهد سالم جمعیت فنلاند، rs157580 بررسی گردید که با $p \text{ value} < 0.0001$ اثر معنا داری در این بیماری داشته است (۱۷). داده‌های ژنتیکی و فنوتیپی از شرکت‌کنندگان اسپانیایی برای rs8106922 بین گروه بیمار و سالم، تفاوت معنی داری داشت. ارزیابی ارتباط تنوع ژنتیکی rs8106922 در ژن TOMM40 با بیماری آلزایمر (AD) در سفیدپوستان آمریکایی اثر معناداری بر این بیماری نداشت. ارزیابی ارتباط تنوع ژنتیکی rs8106922 در ژن TOMM40 با بیماری آلزایمر (AD) در آفریقا آمریکایی‌ها، اثر معنا داری بر این بیماری ندارند و $P \text{ Value} = 0.144$ و $OR = 1.18$ (۱۸) نمونه ۱۴۴ مورد AD و ۱۵۰ شاهد بیماری‌های نورودژنراتیو از بانک مغز بخش آسیب شناسی اعصاب، بیمارستان دانشگاه کیپلر، لینز و اتریش تهیه شد. در ژن TOMM40 از rs8106922 هیچ اثر قابل توجهی نشان ندادند. مطالعه‌ای شامل ۸۹۰ بیمار AD و سالم جمعیت فنلاند برای rs8106922 فنلاند با $p \text{ value} < 0.0001$ اثر معنا داری در این بیماری داشته است (۱۹).

به نظر می‌رسد اثرات ژنتیکی snp های TOMM40 بر تغییرات ساختاری و عملکردی در مغز خطرات بالقوه‌ای مرتبط با روند بیماری را نشان می‌دهند (۲۰). توصیه می‌شود که مطالعات در این زمینه نیز با حجم نمونه بالاتر انجام شود. سایر عوامل، مانند ویژگی‌های بیولوژیکی فردی و عوامل محیطی نیز باید با هم مورد بررسی قرار گیرند تا تعامل بین عوامل مختلفی که ممکن است به طور قابل توجهی بر ایجاد بیماری AD تأثیر بگذارد، ارزیابی شود. امروزه، نزدیک به ۵۰ میلیون نفر در سراسر جهان به بیماری آلزایمر (AD) یا زوال عقل مرتبط مبتلا هستند. محققان تخمین می‌زنند که برای درمان همه این بیماران بیش از ۸۰۰ میلیارد دلار در سال هزینه می‌شود و با افزایش جمعیت سالمندان جهان، تعداد بیماران دمانس در سراسر جهان نیز افزایش خواهد یافت (۱۸). بنابراین شناسایی عوامل ژنتیکی و محیطی ایجاد کننده بیماری آلزایمر که می‌تواند به پیشگیری از بیماری و یا تأخیر در شروع بیماری



جدول ۱. مقایسه توزیع ژنوتیپ ها در دو گروه بیمار و سالم با استفاده از آزمون کای دو

	Genotype/Allele	Control (n=131)	Case (n=117)	PValue	OR
rs157580	AA	%91.6 (120)	%97.44 (114)	0.062	0.9972
	GA	%7.63 (10)	%1.71 (2)	0.027	0.210
	GG	%0.76 (1)	%0.85 (1)	0.722	0.04514
rs8106922	AA	%48.09 (63)	%67.52 (79)	0.008	1.088
	AG	%51.15 (67)	%32.48 (38)	0.003	0.459
	GG	%0.76 (1)	%0 (0)	-	-

جدول ۲. مقایسه توزیع الل ها در دو گروه بیمار و سالم با استفاده از آزمون کای دو

	Genotype/Allele	Control (n=131)	Case (n=117)	PValue	OR
rs157580	A	%95.42 (250)	%98.29 (230)	0.116	0.82
	G	%4.58 (12)	%1.71 (4)	0.116	0.1152
rs8106922	A	%73.66 (193)	%83.76 (196)	0.003	1.184
	G	%26.34 (69)	%16.24 (38)	0.003	0.3482

References

- 1- Abraham R MV, Sims R, Hollingworth P, Morgan A, Georgieva L, et al. A genome-wide association study for late-onset Alzheimer's disease using DNA pooling. *BMC medical genomics*. 2008;1(1):1-13. genome-wide association study for late-onset Alzheimer's disease using DNA pooling. *BMC medical genomics*. 2008;1(1):1-13.
- 2- Kim S, Swaminathan S, Shen L, Risacher S, Nho K, Foroud T, et al. Genome-wide association study of CSF biomarkers A β 1-42, t-tau, and p-tau181p in the ADNI cohort. *Neurology*. 2011;76(1):69-79.
- 3- Araria-Goumidji L, Lambert J, Cotel D, Amouyel P, Chartier-Harlin M. No association of the HLA-A2 allele with Alzheimer's disease. *Neuroscience letters*. 2002;335(2):75-8.
- 4- Bagnoli S, Piaceri I, Tedde A, Bessi V, Bracco L, Sorbi S, et al. TOMM40 polymorphisms in Italian Alzheimer's disease and frontotemporal dementia patients. *Neurological Sciences*. 2013;34(6):995-8.
- 5- Chen JA, Wang Q, Davis-Turak J, Li Y, Karydas AM, Hsu SC, et al. A multiethnic genome-wide exome array study of Alzheimer disease, frontotemporal dementia, and progressive supranuclear palsy. *JAMA neurology*. 2015;72(4):414-22.
- 6- Cochran JN, Rush T, Buckingham SC, Roberson ED. The Alzheimer's disease risk factor CD2AP maintains blood-brain barrier integrity. *Human molecular genetics*. 2015;24(23):6667-74.



- 7- Cuyvers E, De Roeck A, Van den Bossche T, Van Cauwenberghe C, Bettens K, Vermeulen S, et al. Mutations in ABCA7 in a Belgian cohort of Alzheimer's disease patients: a targeted resequencing study. *The Lancet Neurology*. 2015;14(8):814-22.
- 8- Deelen J, Beekman M, Uh H-W, Broer L, Ayers KL, Tan Q, et al. Genome-wide association meta-analysis of human longevity identifies a novel locus conferring survival beyond 90 years of age. *Human molecular genetics*. 2014;23(16):4420-32.
- 9- Herculano-Houzel S. Scaling of brain metabolism with a fixed energy budget per neuron: implications for neuronal activity, plasticity and evolution. *PloS one*. 2011;6(3):e17514.
- 10- Hirsch-Reinshagen V, Zhou S, Burgess BL, Bernier L, McIsaac SA, Chan JY, et al. Deficiency of ABCA1 impairs apolipoprotein E metabolism in brain. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(39):41197-207.
- 11- Jones L, Holmans PA, Hamshere ML, Harold D, Moskvin V, Ivanov D, et al. Genetic evidence implicates the immune system and cholesterol metabolism in the aetiology of Alzheimer's disease. *PloS one*. 2010;5(11):e13950.
- 12- Tan L, Yu J-T, Zhang W, Wu Z-C, Zhang Q, Liu Q-Y, et al. Association of GWAS-linked loci with late-onset Alzheimer's disease in a northern Han Chinese population. *Alzheimer's & dementia*. 2013;9(5):546-53.
- 13- Bao J, Wang X-j, Mao Z-f. Associations between genetic variants in 19p13 and 19q13 regions and susceptibility to Alzheimer disease: A meta-analysis. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2016;22:234.
- 14- Huong VTQ, Deubel V. Genetic study of Japanese encephalitis viruses from Vietnam. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1993;49(5):538-44.
- 15- Logue MW, Schu M, Vardarajan BN, Buross J, Green RC, Go RC, et al. A comprehensive genetic association study of Alzheimer disease in African Americans. *Archives of neurology*. 2011;68(12):1569-79.
- 16- Soyala SM, Kwik M, Kalev O, Lenz S, Zara G, Strasser P, et al. A TOMM40/APOE allele encoding APOE-E3 predicts high likelihood of late-onset Alzheimer's disease in autopsy cases. *Molecular genetics & genomic medicine*. 2020;8(8):e1317.
- 17- Elias-Sonnenschein LS, Helisalmi S, Natunen T, Hall A, Paajanen T, Herukka S-K, et al. Genetic loci associated with Alzheimer's disease and cerebrospinal fluid biomarkers in a Finnish case-control cohort. *PloS one*. 2013;8(4):e59676.
- 18- Mark W. Logue PMS, MS; Badri N. Vardarajan, MS; Jacki Buross, BA; Robert C. Green, MD, MPH; Rodney C. P. Go, PhD; Patrick Griffith, MD; Thomas O. Obisesan, MD; Rhonna Shatz, MD; Amy Borenstein, PhD; L. Adrienne Cupples, PhD; Kathryn L. Lunetta, PhD; M. Daniele Fallin, PhD; Clinton T. Baldwin, PhD; Lindsay A. Farrer, PhD. for the Multi-Institutional Research on Alzheimer Genetic Epidemiology (MIRAGE) Study Group. A Comprehensive Genetic Association Study of Alzheimer Disease in African Americans., on December 12, 2011.
- 19- Lyzel S. Elias-Sonnenschein SH, # 2, * Teemu Natunen, 2 Anette Hall, 2 Teemu Paajanen, 2, Sanna-Kaisa Herukka, 2 Marjo Laitinen, 2 Anne M. Remes, 2 Anne M. Koivisto, 2 Kari M. Mattila, 3 Terho Lehtimäki, 3 Frans R. J. Verhey, 1 Pieter Jelle Visser, 1, 4 Hilka Soininen, 2 and Mikko Hiltunen 2 Genetic Loci Associated with Alzheimer's Disease and Cerebrospinal Fluid Biomarkers in a Finnish Case-Control Cohort. 2013 Apr 3.
- 20- Selma M. Soyala MK, 1 Ognian Kalev, 2 Stefan Lenz, 2 Greta Zara, 1 Peter Strasser, 3 Wolfgang Patsch, 1 and Serge Weis 2. A 2020 Aug; 8(8): e1317. TOMM40/APOE allele encoding APOE-E3 predicts high likelihood of late-onset Alzheimer's disease in autopsy cases
- 21- Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nature genetics*. 2009;41(10):1088-93.

