

Original Article

The associations between 5-HTTLPR polymorphism of SLC6A4 gene and autistic disorder in North West of Iran

Sima Mansouri Derakhshan¹ , Farzad Taheri², Shahrokh Amiri¹, Liela Shekari Khanian³,
Mahmoud Shekari Khanian^{*1&4} 

¹Research Center of Psychiatry and Behavioral Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

²Department of Biology, School of Basic Sciences, Ahar Branch Islamic Azad University, Iran.

³Ministry of Education, Tabriz, Iran.

⁴Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

*Corresponding author; E-mail: Mahmoud.khaniani@gmail.com

Received: 4 July 2018 Accepted: 31 July 2018 First Published online: 13 December 2018
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January; 40(5):83-90

Abstract

Background: The serotonin transporter protein (SLC6A4) transports the neurotransmitter serotonin from synapses to presynaptic neurons. The serotonin system has been studied in many behavioural and physiological conditions. Variation of SLC6A4 gene is known to modulate its expression. In this study, the association of various alleles of 5-HTTLPR polymorphism of SLC6A4 gene with Autistic disorder was investigated.

Methods: In this study 78 samples of patients with Autistic disorder and 100 healthy controls from Iranian Azeri Turkish population were recruited. 5-HTTLPR polymorphisms were genotyped by Long Range PCR method.

Results: All statistical analyses showed no significant correlation of the genotypes and alleles of 5-HTTLPR polymorphism of SLC6A4 gene between case and control groups ($P > 0.05$).

Conclusion: This study revealed there is no association between the 5-HTTLPR polymorphism of the SLC6A4 gene and autistic disorders in the northwest of the Iranian population.

Keywords: Autistic disorder, 5-HTTLPR polymorphism, SLC6A4 gene

How to cite this article: Mansouri Derakhshan S, Taheri F, Amiri Sh, Shekari Khanian L, Shekari Khanian M. [The associations between 5-HTTLPR polymorphism of SLC6A4 gene and autistic disorder in North West of Iran]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 December - 2019 January;40(5):83-90. Persian.

مقاله پژوهشی

ارتباط پلی مورفیسم 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در شمال غرب ایران

سیما منصورى درخشان^۱، فرزاد طاهرى^۲، شاهرخ امیری^۳، لیلا شکاری خانیانی^۴، محمود شکاری خانیانی^{۱*}

^۱ مرکز تحقیقات روانپزشکی و علوم رفتاری، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران
^۳ وزارت آموزش و پرورش، تبریز، ایران
^۴ گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسؤل: ایمیل: Mahmoud.khaniani@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۷/۴/۱۳ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۹ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۹/۲۲
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. آذر و دی ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵):۸۳-۹۰

چکیده

زمینه: محصول پروتئینی ژن SLC6A4 سروتونین را از فضای سیناپتیک، به فضای پیش سیناپتیک نورون ها منتقل می کند. بعضی از پلی مورفیسم های این ژن منجر به ایجاد حالت های متفاوتی از بیان ژن و سستز پروتئین می شوند و از این طریق نقش مهمی در میزان جذب سروتونین دارند. ارتباط آلل های مختلف پلی مورفیسم های این ژن با انواع بیماری های روانپزشکی مانند اضطراب منتشر، فوبی اجتماعی، و اختلال اوتیستیک گزارش شده است در این مطالعه برای اولین بار در شمال غرب ایران ارتباط آلل های مختلف پلی مورفیسم 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد ترک آذری بررسی شد.

روش کار: در این مطالعه مقایسه ای- تحلیلی ۷۸ بیمار مبتلا به اختلال اوتیستیک و ۱۰۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل از نژاد ترک آذری از جمعیت شمال غرب ایران مورد بررسی قرار گرفت. تمام بیماران و نمونه های کنترل از نظر سنی، جنسیت و نژاد همسان بودند. پلی مورفیسم فوق الذکر با استفاده از روش Long Range PCR ژنوتایپ شد.

یافته ها: مقایسه توزیع آلل ها و ژنوتایپ های مختلف پلی مورفیسم 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 در جمعیت کنترل و بیمار با روشهای آماری مختلف در همه موارد $P > 0.05$ را نشان داد.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد ارتباط معنی داری بین آلل های مختلف پلی مورفیسم 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد ترک آذری وجود ندارد.

کلیدواژه ها: اختلال اوتیستیک، پلی مورفیسم 5-HTTLPR-ژن SLC6A4

نحوه استناد به این مقاله: منصورى درخشان س، طاهرى ف، امیری ش، شکاری خانیانی ل، محمود شکاری خانیانی م. ارتباط پلی مورفیسم 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در شمال غرب ایران. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۵):۸۳-۹۰

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتو کامنز () منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

اختلال اوتیستیک (در خودماندگی) یک اختلال رشدی مغز است که بوسیله آسیب در تقابلات اجتماعی و ارتباط و همچنین رفتارهای تکراری و ویژه تقسیم بندی می شود؛ این علائم پیش از سه سالگی کودک ایجاد می شود. بر اساس DSM-IV-TR معیارهای تشخیص اختلال اوتیستیک شامل این موارد هستند: اختلال کیفی در تعامل های اجتماعی، ناتوانی در ایجاد روابط با همسالان به تناسب سطح رشدی، فقدان تقابل هیجانی یا اجتماعی، اختلال ارتباطی، چسبندگی ظاهراً انعطاف ناپذیر به عادت ها و اعمال حرکتی قالبی و تکراری. هنری مودزلی در سال ۱۸۶۷ نخستین بار این اختلال توصیف کرد و در سال ۱۹۴۳ توسط لئوکانر به نام اختلال در خودماندگی شرح داده شد (۱).

اختلال اوتیستیک یک بیماری هتروژن بوده و درباره سبب شناسی این اختلال عوامل مختلف ایمنی شناختی، عوامل پیش از تولد، عوامل نورواناتومیکی، محیطی و ژنتیکی در رابطه با این بیماری ذکر شده است. عدم وجود یک حالت مندلی شفاف و بروز بیماری در خواهران و برادران شاخص مثبتی است که نشان می دهد اوتیسم یک اختلال چند لوکوسی با ژنهای بسیار می باشد که چندین ژن مستعد در تعامل با یکدیگر با یک حالت پیچیده از وراثت منجر به فنوتیپ اوتیسم می شوند (۱).

محققان تغییر در بسیاری از ژن ها را عامل بروز اختلال اوتیستیک می دانند. بیشتر ژنهایی که باعث بروز این بیماری می شوند تنها تاثیر کمی در ایجاد این بیماری داشته و به طور کلی بر هم کنش آن ها با سایر ژن ها یا برخی از فاکتورهای محیطی، تعیین کنندهی نهایی ابتلای یک فرد به اختلال اوتیستیک می باشد. بیشتر ژن های کاندید شناخته شده در این زمینه، در تکوین و عملکرد عصبی نقش دارند. با این وجود برای بیشتر ژن های کاندید شده، جهش دقیقی که باعث افزایش خطر ابتلای فرد می شود، شناسایی نشده است. به طور کلی از نقطه نظر ژنتیکی دو فرم اختلال اوتیستیک وجود دارد: فرم سندر می و فرم غیر سندر می. در فرم سندر می فنوتیپ اختلال اوتیستیک بخشی از فنوتیپ گسترده اختلالات عصبی-تکاملی است. از جمله این فرم ها می توان به سندر می ایکس شکننده، سندر می رت و توبروس اسکروزیس اشاره کرد. در این فرم مبنای ژنتیکی بیماری از قبل شناخته شده است. برای مثال حدود ۱ تا ۳ درصد افراد ایکس شکننده فنوتیپ اختلال اوتیستیک را به عنوان بخشی از بیماری خود نمایش می دهند (۲). فرم غیر سندر می فنوتیپ غالب در این اختلال است و سایر فنوتیپ های عصبی کمتر دیده می شود. مبنای ژنتیکی این مورد کمتر شناخته شده است و شامل (CNV (copy number variation (Single Neucleotide Polymorphisms حذف ها و مضاعف شدگی ها ژن ها است (۳). ژن های فراوانی وجود دارند که تغییر در هر کدام از آن ها ممکن است باعث افزایش نسبی خطر

ابتلا به اختلال اوتیستیک به مقادیر مختلف شود. تعدادی از مهم ترین این ژن ها در جدول ۱ لیست شده اند (۴-۱).

جدول ۱: ژن های کاندید در بیماری اوتیسم

Genes	Loci
SLC6A4	17q11.2-17q12
RELN	7q22
GABR	15q11-15q13
NLGN	3q26(NLGN1), 17q13(NLGN2)
OXTR	3p24-3p25
MET	7q31.2
SLC25A12	2q31
GluR6	6q21
CNTNAP2	7q35
GLO1	6p21.3-6p21.2
TPH2	12q21.1
FMR1	Xq27.3

ژنهای **RELIN** و **FMR1** از دهه قبل به عنوان ژنهای کاندید در ایجاد اختلال اوتیستیک و سایر اختلالات طیف اوتیسم مطرح هستند و تحقیقات متعددی در ارتباط اختلال اوتیستیک و این اختلالات انجام گرفته است (۵ و ۶).

سروتونین یا ۵-هیدروکسی تریپتامین (5-Hydroxytryptamine:5-HT) نوروترانسمیتری است که توسط دسته ای از نورون های سیستم عصبی مرکزی و سلول های انتروکرومافین دستگاه گوارش (روده) سنتز می شود و به عنوان یک ماده کلیدی تنظیم کننده در انواع اعمال روانشناختی، رفتاری و عملکردهای فیزیولوژیکی مانند خلق و خواب و اشتها تاثیر به سزایی دارد (۷). اخیراً نقش ژن **SLC6A4** به عنوان یکی از ژن های دخیل در بعضی بیماری های روانپزشکی مانند افسردگی، اسکیزوفرنی و اضطراب گزارش شده است. طی بررسی ها و مطالعات مهم مشخص شده است که میزان سروتونین در اختلال اوتیستیک بالا بوده و از طرفی ژن **SLC6A4** در میزان بیان سروتونین نقش ایفا می کند (۷) لذا این ژن به عنوان یک ژن کاندید برای اختلال اوتیستیک نیز انتخاب شده و تحقیقات گسترده ای در ارتباط این ژن با اختلال اوتیستیک در حال انجام است. محصول پروتئینی آن یعنی **SERT** یک انتقال دهندهی سروتونین می باشد و به وسیله ژن **SLC6A4** رمزگذاری می شود. این ناقل نورونی در سیستم عصبی یک تنظیم کنندهی کلیدی سطوح سروتونین در پایانه های نورونی سیناپسی و پس سیناپسی نورن های سروتونرژیک می باشد (۸). این ژن در لوکوس 17q11.2 قرار گرفته و از ۱۴ اگزون تشکیل شده است و ارتباط پلی مورفیسم های این ژن با بیماری های مختلف گزارش شده است. واریانت ۵-HTTLPR در ناحیه فرا دست پروموتور ژن دارای دو نوع ال ۵-HTTLPR ال بلند (Alleil L) (حاوی ۴۴ نوکلئوتید اضافی) و کوتاه (Alleil S) (بدون ۴۴ نوکلئوتید) می باشد (شکل ۲). این ژن پروتئینی با ۶۳۰ اسید آمینه است که به عنوان انتقال دهنده سروتونین عمل می کند. به دلیل طبیعت هتروژنی اختلالات طیف اوتیسم

PCR: برای ژنوتایپینگ پلی مورفیسم فوق‌الذکر واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، از کلرید منیزیم (MgCl₂) با غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار، بافر PCR با غلظت نهایی یک برابر، یک واحد آنزیم Taq پلیمرز، داکسی نوکلئوتیدتری فسفات (Triphosphate) dNTP Deoxynucleotide با غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار و غلظت نهایی ۰/۱ میلی‌مولار از هر کدام از پرایمرهای 3' GCCGTTGCCGCTCTGAATGCCA 5' 5.HTTLP- F= 5.HTTLP- GAGGGACTGAGCTGGACAACACAC 5' R=3' استفاده گردید. برنامه PCR برای تکثیر قطعه مورد نظر عبارت بود از: ۵ دقیقه واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی-گراد و سپس ۳۰ چرخه تکثیر هر چرخه شامل: ۳۰ ثانیه واسرشت سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه دمای اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه دمای طویل سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. پس از انجام PCR قطعه مورد نظر بر روی ژل آگارز ۳ درصد الکتروفورز گردید و با استفاده از Safe Sine رنگ آمیزی شد و زیر اشعه‌ی تراویوله بررسی شد. پس از گردآوری داده‌ها و نتایج به دست آمده از PCR، تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R نسخه (۰,۴,۳) با تجزیه و تحلیل رگرسیون لجستیک و آزمون کای دو انجام شد. فراوانی مربوط به هریک از ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها در گروه‌های مختلف با یکدیگر مقایسه شد و با استفاده از تعادل هاردی واینبرگ آنالیز تحلیلی انجام شد. در این مطالعه مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

در جمعیت بیمار فراوانی آللی و ژنوتیپی به وسیله‌ی نرم‌افزار R محاسبه شد که در این گروه از بین ۷۸ نفر ۲۱ نفر (۰/۲۶/۹) دارای ژنوتیپ LL و ۴۳ نفر (۰/۵۵/۱) دارای ژنوتیپ LS و ۱۴ نفر (۰/۱۷/۹) دارای ژنوتیپ SS بودند، همچنین فراوانی آللی در این گروه برای آلل L=۰/۵۴۴ و برای آلل S=۰/۴۵۶ بود (جدول ۲). همچنین در جمعیت کنترل فراوانی آللی و ژنوتیپی نیز محاسبه شد که در این گروه از بین ۱۰۰ نفر ۳۵ نفر (۰/۳۵) دارای ژنوتیپ LL ۴۲ نفر (۰/۴۲) دارای ژنوتیپ LS و ۲۳ نفر (۰/۲۳) دارای ژنوتیپ SS بودند و فراوانی آللی در این گروه برای آلل L=۰/۵ و برای آلل S=۰/۵ بود (جدول ۳).

برخی مطالعات ارتباط بین ژن SLC6A4 و اوتیسم را نشان داده‌اند. آلل S پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR بازدهی رونویسی mRNA مربوط به پیش برنده‌ی ژن SLC6A4 را کاهش می‌دهد که منجر به بیان اندک ژن شده و آن نیز باعث کاهش جذب سروتونین می‌شود و آلل L این پلی‌مورفیسم باعث بالا رفتن رونویسی و بیان بیشتر ژن SERT و افزایش سروتونین و جذب آن می‌شود (۸ و ۹). از آنجایی که ارتباط بین واریانت‌های ژن SLC6A4 و اختلال اوتیستیک در جمعیت ایران مورد بررسی قرار نگرفته است. در این مطالعه ارتباط آللهای مختلف پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 و اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد ترک آذری بررسی شد.

روش کار

بیماران پس از اخذ شرح حال دقیق و معاینه وضعیت روانی و بررسی رشد آنها براساس معیارهای بین المللی (DSM- IV-TR) توسط فوق تخصص روان‌پزشکی کودک و نوجوان به کلینیک ژنتیک معرفی شدند و بعد از مشاوره و توضیح اهداف آزمایش و امضاء رضایت‌نامه آگاهانه کتبی توسط والدین قانونی از بیماران خون گیری شد. این مطالعه در کمیته منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به تصویب رسیده است (شماره تصویب ۵۷۴۴۱). بیماران مبتلا به سایر بیماری‌های عصبی روانی مانند اختلالات همبود روان‌پزشکی و جسمی و همچنین مبتلایان به سندرم X شکننده که قبلاً مورد بررسی قرار گرفته بودند از مطالعه خارج شدند. ۷۸ بیمار پسر مبتلا به اختلال اوتیستیک با سنین کمتر از ۱۵ سالگی از نژاد ترک آذری از جمعیت شمال غرب ایران وارد مطالعه شدند و ۱۰۰ نفر پسر سالم با پیشرفت تحصیلی خوب و با سنین کمتر از ۱۵ سالگی از نژاد ترک آذری از جمعیت شمال غرب ایران به عنوان کنترل انتخاب شدند حدود ۵-۳ سی‌سی خون از ورید بازویی در شرایط استریل در لوله‌های حاوی Ethylen Di Amin Tetra Acetic Acid (EDTA) از بیماران و افراد کنترل تهیه شد.

بررسی مولکولی: DNA از نمونه خون بیماران و افراد کنترل به روش Solting-out استخراج شد. قطعه 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به روش Long Range PCR تکثیر شدند و دونوع ال پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR الی بلند (حاوی ۴۴ نوکلئوتید اضافی) و کوتاه (بدون ۴۴ نوکلئوتید) با استفاده از روش ژل آگاروز ۳ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۲: فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم 5-HTTLPR در گروه بیمار

فراوانی ژنوتیپی (%)		فراوانی آللی	
SS	LS	LL	S
۱۴ (۰/۱۷/۹)	۴۳ (۰/۵۵/۱)	۲۱ (۰/۲۶/۹)	۷۱ (۰/۴۶)
			L ۸۵ (۰/۵۴)

جدول ۳: فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم 5-HTTLPR در گروه کنترل

فرکانس آللی		فرکانس ژنوتیپی (%)		
L	S	LL	LS	SS
۱۱۲ (۰/۵۶)	۸۸ (۰/۴۴)	۳۵ (۰/۳۵)	۴۲ (۰/۴۲)	۲۳ (۰/۲۳)

داده‌ها از طریق مقایسه توزیع ژنوتیپ‌ها (آنالیز ژنوتیپی) بین دو گروه آنالیز شدند. آنالیز ژنوتیپی بوسیله رگرسیون و با در نظر گرفتن الگوهای توارث مختلف از جمله Log-Additive, overdominant, Recessive, Dominant, codominant صورت گرفت.

مدل codominant (تست اول)
ژنوتیپ LL چون فراوانی بیشتری نسبت به ژنوتیپ SS دارد به عنوان ژنوتیپ رفرنس انتخاب شد، بنابراین ژنوتیپ‌های LS و SS نسبت به ژنوتیپ LL مقایسه می‌شوند. نسبت شانس (OR)LS در مقایسه با LL برابر است با $OR = 1/71$. به عبارتی می‌توان گفت افرادی ژنوتیپ LS دارند نسبت به افراد LL، به میزان ۱/۷۱ برابر خطر بیشتری برای ابتلا به بیماری دارند. در مقایسه ژنوتیپ SS با LL، میزان نسبت شانس ۱/۰۱ بدست آمد. از طرفی چون $P = 0/21932$ بدست آمد، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش اندک خطر ابتلا به بیماری در افراد SS نسبت به افراد LL از لحاظ آماری معنی دار نیست.

روش Dominant (تست دوم)
در این تست فرض بر این است که وجود یک آلل برای ابتلا به بیماری کافی است. در این تست آلل LL به عنوان مرجع در نظر گرفته شد و ژنوتیپ‌های LS و SS در یک گروه قرار گرفتند و با ژنوتیپ LL مقایسه شدند. نسبت شانس این مقایسه $OR = 1/46$ و $P = 0/24769$ بدست آمد که در این حالت افرادی که حداقل یک آلل S دارند با افرادی که ژنوتیپ LL دارند مقایسه می‌شوند ولی P نشان دهنده‌ی این بود که افزایش خطر مشاهده شده از لحاظ آماری معنی دار نبوده و طبق این تست هم روی تغییر ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک اثری نداشت.

روش Recessive (تست سوم)
در این مدل فرض بر این است که حضور دو آلل برای بروز بیماری ضروری است پس در این حالت افرادی که دارای دو آلل

روش log Additive (تست پنجم)
در این مدل، تغییر ریسک ابتلا به بیماری افزایشی است به صورتی که نشان می‌دهد اضافه شدن هر آلل به میزان مشخصی ریسک ابتلا به بیماری را تغییر می‌دهد. این تست تا حدودی تست آماری را پوشش می‌دهد و دیگر به انجام تست آللی نیازی نیست. در این روش به صورت افزایشی با افزایش تعداد آلل ریسک بیماری تغییر پیدا می‌کند. در این مدل $OR = 1/06$ و $P = 0/77$ است که نشان می‌دهد پلی مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک همراهی ندارد (جدول ۴).

روش codominant (تست اول)
ژنوتیپ LL چون فراوانی بیشتری نسبت به ژنوتیپ SS دارد به عنوان ژنوتیپ رفرنس انتخاب شد، بنابراین ژنوتیپ‌های LS و SS نسبت به ژنوتیپ LL مقایسه می‌شوند. نسبت شانس (OR)LS در مقایسه با LL برابر است با $OR = 1/71$. به عبارتی می‌توان گفت افرادی ژنوتیپ LS دارند نسبت به افراد LL، به میزان ۱/۷۱ برابر خطر بیشتری برای ابتلا به بیماری دارند. در مقایسه ژنوتیپ SS با LL، میزان نسبت شانس ۱/۰۱ بدست آمد. از طرفی چون $P = 0/21932$ بدست آمد، می‌توان نتیجه گرفت که افزایش اندک خطر ابتلا به بیماری در افراد SS نسبت به افراد LL از لحاظ آماری معنی دار نیست.

روش Dominant (تست دوم)
در این تست فرض بر این است که وجود یک آلل برای ابتلا به بیماری کافی است. در این تست آلل LL به عنوان مرجع در نظر گرفته شد و ژنوتیپ‌های LS و SS در یک گروه قرار گرفتند و با ژنوتیپ LL مقایسه شدند. نسبت شانس این مقایسه $OR = 1/46$ و $P = 0/24769$ بدست آمد که در این حالت افرادی که حداقل یک آلل S دارند با افرادی که ژنوتیپ LL دارند مقایسه می‌شوند ولی P نشان دهنده‌ی این بود که افزایش خطر مشاهده شده از لحاظ آماری معنی دار نبوده و طبق این تست هم روی تغییر ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک اثری نداشت.

روش Recessive (تست سوم)
در این مدل فرض بر این است که حضور دو آلل برای بروز بیماری ضروری است پس در این حالت افرادی که دارای دو آلل

جدول ۴: مقایسه فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم 5-HTTLPR در گروه کنترل و بیمار و نتایج آنالیز ژنوتیپی به وسیله ۵ تست آنالیز ژنوتیپی

Codominant	Control	Case	OR(95% CI)	p-value
L/L	۳۵ (۰/۳۵)	۲۱ (۰/۲۶/۹)	۱	۰/۲۱۹۳۲
L/S	۴۲ (۰/۴۲)	۴۳ (۰/۵۵/۱)	۱/۷۱ (۰/۸۶-۳/۴)	
S/S	۲۳ (۰/۲۳)	۱۴ (۰/۱۷/۹)	۱/۰۱ (۰/۴۳-۲/۳۹)	
Dominant				
L/L	۳۵ (۰/۳۵)	۲۱ (۰/۲۶/۹)	۱	۰/۲۴۷۶۹
L/S-S/S	۶۵ (۰/۶۵)	۵۷ (۰/۳۳/۱)	۱/۴۶ (۰/۷۶-۲/۷۹)	
Recessive				
L/L-L/S	۷۷ (۰/۷۷)	۶۴ (۰/۸۲/۱)	۱	۰/۴۰۷۶۹
S/S	۲۳ (۰/۲۳)	۱۴ (۰/۱۷/۹)	۱/۷۳ (۰/۳۵-۱/۵۴)	
Overdominant				
L/L-S/S	۵۸ (۰/۵۸)	۳۵ (۰/۴۴/۹)	۱	۰/۰۸۱۵۷
L/S	۴۲ (۰/۴۲)	۴۳ (۰/۵۵/۱)	۱/۷ (۰/۹۳-۳/۰۸)	
log-Additive				
0,1,2	-	۷۸ (۰/۴۳/۸)	۱/۰۶ (۰/۷-۱/۶۱)	۰/۷۷۹۳۷

طی آنالیزهای انجام شده و نتایجی که بدست آمد، در همه موارد $P > 0/05$ نشان دهنده این است که آلل‌های مختلف پلی مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 ارتباط معنی داری با اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد ترک آذری وجود ندارد.

بحث

بررسی قرار دادند و ارتباط معنی‌دار آللهای مختلف این پلی- مورفیسیم با بیماری اسکیزوفرنیا را گزارش کردند (۱۲).

Coutinho و همکاران در مورد عوامل تغییر دهنده‌ی بیان ژن انتقال دهنده‌ی سروتونین (SLC6A4) از جمله پلی‌مورفیسیم 5-HTTLPR و نقش آن در بروز اختلال اوتیستیک را مورد مطالعه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که آللهای مختلف این پلی- مورفیسیم ارتباط معنی‌داری با اختلال اوتیستیک دارد (۱۳). همچنین Adamsen و همکاران در مطالعه دیگری رابطه اختلال اوتیستیک و اثرات واریانت 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 مورد مطالعه قرار دادند و به نتیجه مشابه رسیدند (۱۴).

Hung و همکاران طی یک مطالعه مرور سیستماتیک نتیجه گرفتند که در بین نمونه‌های مورد بررسی بیشترین تعداد آلل دیده شده در افراد اوتیسمی آلل هتروزیگوت LS بود که با مطالعه ما همخوانی داشت. آلل S پلی‌مورفیسیم 5-HTTLPR بازدهی رونویسی m-RNA مربوط به پیش برنده‌ی ژن SLC6A4 را کاهش می‌دهد که منجر به کاهش بیان 5-HTT و باعث کاهش جذب سروتونین می‌شود که با این اعمال آلل 5-HTTLPR را به عنوان عاملی بی‌تاثیر روی اختلال اوتیستیک گزارش کردند (۷).

Goldman و همکاران رابطه آللهای مختلف پلی‌مورفیسیم 5-HTTLPR با افسردگی را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که در کسانی که ژنوتیپ SS یا LS را دارند ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسیم 5-HTTLPR و افسردگی وجود دارد (۹).

Giabriele و همکاران به بررسی سیستماتیک و تجزیه و تحلیل سطح بالای سروتونین خون و تاثیر آن در اختلالات طیف اوتیسمی پرداختند؛ در این مطالعه سیستماتیک به این نتیجه رسیدند که به طور قابل توجهی آلل L واریانت 5-HTTLPR با اختلال اوتیستیک مرتبط است به این دلیل که میزان سروتونین افراد دارای این نسبت به افراد کنترل بالاتر بود. بنابراین نتیجه‌گیری کردند ارتباط معنی‌داری بین آلل L واریانت 5-HTTLPR با اختلال اوتیستیک وجود دارد (۱۵). همچنین طی مطالعاتی که روی متابولیسم، انتقال و نقش سروتونین در بدن و ارتباط آن با بعضی از بیماریهای روانپزشکی انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که بین تغییرات غلظت سروتونین و آللهای مختلف ژن انتقال دهنده سروتونین و گیرنده‌های آن، با برخی بیماری‌ها از جمله اختلال اوتیستیک ارتباط وجود دارد به طوری که با مصرف داروهایی که بر این عوامل تاثیرگذارند می‌توان به درمان آن بیماری‌ها پرداخت (۱۰).

همانطور که ملاحظه می‌شود، نتایج ضد و نقیضی در رابطه با آللهای مختلف واریانت 5-HTTLPR با اختلال اوتیستیک تا به حال گزارش شده است و دلایل آن ممکن است مربوط به حجم

مطالعات زیادی ثابت کرده‌اند که اختلال اوتیستیک یک بیماری مولتی فاکتوریال می‌باشد و مطالعات دوقلوها وراثت پذیری ۹۰-۳۸ درصدی اختلال اوتیستیک را نشان داده است ولی هنوز مکانیسم اکثر ژنهای کاندید در ایجاد اختلال اوتیستیک نامشخص می‌باشد. حدود ۹۰ درصد موارد اختلال اوتیستیک دارای اتیولوژی ایدیوپاتیک یا بدون علت می‌باشند و حدود ۵-۱۰ درصد مبتلایان، اختلال اوتیستیک ثانویه دارند. اوتیسم ثانویه در اثر عواملی مثل فاکتورهای محیطی، ناهنجاری‌های کروموزومی و بیماری‌های تک ژنی ایجاد می‌شوند. در طی مطالعات متعدد مناطقی از ژنوم انسان که تغییرات ژنی در آن مناطق ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک را بالا می‌برد شناسایی شده است و یکی از این مناطق با ریسک بالا برای ابتلا به اختلال اوتیستیک نواحی ژنی روی کروموزوم ۱۷ می‌باشد که ژن SLC6A4 نیز در روی این ناحیه قرار دارد (۱۰).

ژن‌هایی که در ابتلا به اختلال اوتیستیک موثر شناخته شده‌اند اکثراً با تاثیری که بر میزان سروتونین خون دارند ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک را افزایش می‌دهند، به صورتی که ژن SLC6A4 چون سطح سروتونین خون را تغییر می‌دهد، به عنوان یکی از ژن‌های کاندید برای اختلال اوتیستیک در نظر گرفته می‌شود. (۱۰) Liu و همکاران در سال ۲۰۱۵ با مطالعاتی که روی ژن SLC6A4 انجام دادند به این نتیجه رسیدند که پلی‌مورفیسیم‌های مختلف ژن SLC6A4 می‌توانند تغییرات عمده در بیان ژن داشته باشند و از طریق افزایش یا کاهش جذب سروتونین با اختلال اوتیستیک ارتباط دارد. طی مطالعات انجام شده آلل S پلی‌مورفیسیم 5-HTTLPR این ژن فعالیت رونویسی کمتر و جذب سروتونین کمتری نسبت به نوع آلل L دارد و محققان معتقدند که با اثری که هر یک از این آلل‌ها در میزان سروتونین دارند باعث تغییر در ریسک ابتلا به اختلال اوتیستیک می‌شود (۱۱).

در مطالعه حاضر در افراد کنترل از ۱۰۰ نفر ۳۵ نفر به صورت LL بودند، ۴۲ نفر به صورت LS و ۲۳ نفر به صورت SS و از بین افراد بیمار از ۷۸ نفر ۲۱ نفر LL، ۴۳ نفر LS و ۱۴ نفر SS بودند که نشان دهنده‌ی بالا بودن ژنوتیپ LS در بین افراد کنترل و بیمار بود که طی تحقیقات گذشته نیز این مورد گزارش شده بود. این مطالعه نشان داد هیچ ارتباط معنی‌داری بین آلل‌های مختلف پلی- مورفیسیم‌های 5-HTTLPR-ژن SLC6A4 با اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد آذری ترک وجود ندارد. در مطالعاتی که در گذشته برای یافتن ارتباط دو آلل L و S این پلی‌مورفیسیم با اختلال اوتیستیک انجام شده به نتایج متفاوتی رسیده‌اند.

Fan و همکاران درباره‌ی ارتباط پلی‌مورفیسیم‌های 5-HTTLPR ژن SCL6A4 و استعداد ابتلا به اسکیزوفرنیا را مورد

منابع مالی

مرکز تحقیقات روانپزشکی و علوم رفتاری دانشگاه علوم پزشکی تبریز که تامین مالی این مطالعه بخشی از منابع مالی (به شماره ۵۷۴۴۱) این پژوهش را قبول کرده است. این مقاله بر اساس پایان نامه دوره کارشناسی ارشد آقای فرزاد طاهری تهیه شده است.

منافع متقابل

در این مقاله هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

مشارکت مولفان

س م د، ف ط و همکاران. طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشت. همچنین محمود شکاری خانینانی مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

نمونه مورد بررسی یا جمعیت مورد بررسی با نژادهای مختلف و با شرایط محیطی متفاوت باشد.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم 5-HTTLPR ژن SLC6A4 و اختلال اوتیستیک در جمعیت ایرانی با نژاد آذری ترک وجود ندارد.

قدردانی

از صبر و حوصله بیماران اوتیسم و همکاری خانواده‌های آنها و همچنین از زحمات فراوان کارکنان مرکز ژنتیک پزشکی ابن سینا تبریز که در انجام این مطالعه ما را یاری نمودند صمیمانه تشکر می‌نماییم.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه در کمیته منطقه‌ای اخلاق در پژوهش‌های علوم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به تصویب رسیده است (شماره تصویب ۵۷۴۴۱)

References

- Folstein S E, Rosen-Sheidley B. Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. *Nat Rev Genet* 2001; **2**(12): 943-955. doi: 10.1038/35103559
- Shekari Khaniani M, Amini Yeganeh F, Amiri Sh, Mansouri Derakhshan. Autistic Phenotype of Permutation and Intermediate Alleles of FMR1 Gene. *Iran J Pediatr* 2017; **27**(4): 9445. doi: 10.5812/ijp.9445
- Sorte H S, Gjevik E, Sponheim E, Eiklid K L, Rødningen Olaug K. Copy number variation findings among 50 children and adolescents with autism spectrum disorder. *Psychiatr Genet* 2013; **23**(2): 61-69. doi: 10.1097/YPG.0b013e32835d718b
- Ayhan F, Konopka G. Genomics of autism spectrum disorder. *Approach to therapy. F1000Res* 2018; **7**: 627. doi: 10.12688/f1000research.13865.1.
- Bayou N. Autism: an overview of genetic aetiology. *Tunis Med* 2008; **86**(6): 573-578.
- Chen N. Meta-analyses of RELN variants in neuropsychiatric disorders. *Behav Brain Res* 2017; **332**: 110-119. doi: 10.1016/j.bbr.2017.05.028.
- Huang C H, Santangelo S L. Autism and serotonin transporter gene polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008; **147b**(6): 903-913. doi: 10.1002/ajmg.b.30720.
- Blair KS, Finger E, Marsh AA, Morton J, Mondillo K, Buzas B, et al. The role of 5-HTTLPR in choosing the lesser of two evils, the better of two goods: examining the impact of 5-HTTLPR genotype and tryptophan depletion in object choice. *Psychopharmacology (Berl)* 2008; **196**(1): 29-38. doi: 10.1007/s00213-007-0920-y.
- Goldman N, Goldman N, Gleib DA, Lin YH, Weinstein M. The serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR): allelic variation and links with depressive symptoms. *Depress Anxiety* 2010; **27**(3): 260-269. doi: 10.1002/da.20660.
- Bloch B, Reshef A, Cohen T, Tafla A, Gathas S, Israel S, et al. Preliminary effects of bupropion and the promoter region (HTTLPR) serotonin transporter (SLC6A4) polymorphism on smoking behavior in schizophrenia. *Psychiatry Res* 2010; **175**(1-2): 38-42. doi: 10.1016/j.psychres.2008.12.015.
- Liu Y, Garrett M E, Dennis M F, Green K T, Ashley-Koch A E, Hauser M A, et al. An examination of the association between 5-HTTLPR, combat exposure, and PTSD diagnosis among U.S. veterans. *PLoS One* 2015; **10**(3): e0119998. doi: 10.1371/journal.pone.0119998.
- Fan J B, Sklar P. Meta-analysis reveals association between serotonin transporter gene STin2 VNTR polymorphism and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2005; **10**(10): 928-938. doi: 10.1038/sj.mp.4001690.
- Coutinho A M, Oliveira G, Morgadinho T, Fesel C, Macedo TR, Bento C, et al. Variants of the serotonin transporter gene (SLC6A4) significantly contribute to

- hyperserotonemia in autism. *Mol Psychiatry* 2004; **9**(3): 264-271. doi: 10.1038/sj.mp.4001409.
14. Adamsen D, Meili D, Blau N, Thöny B, Ramaekers V. *Autism associated with low 5-hydroxyindolacetic acid in CSF and the heterozygous SLC6A4 gene Gly56Ala plus 5-HTTLPR L/L promoter variants. Mol Genet Metab* 2011; **102**(3): 368-373. doi: 10.1016/j.ymgme.2010.11.162.
15. Gabriele S, Sacco R, Persico A M. Blood serotonin levels in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Eur Neuropsychopharmacol* 2014; **24**(6): 919-929. doi: 10.1016/j.euroneuro.2014.02.004